



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL

**GENERACIÓN DE BIOELECTRICIDAD MEDIANTE CELDAS DE
COMBUSTIBLE MICROBIANAS USANDO AGUAS RESIDUALES
DE MINERÍA AURÍFERA CON *Pleurococcus sp* COMO
BIOCATALIZADOR EN LA CÁMARA CATÓDICA**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AMBIENTAL

AUTORAS:

JENNIFER CAROLINA CUADRADO CASTILLO

GÉNESIS MAYTÉ RODRÍGUEZ PINTO

Riobamba – Ecuador

2022



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL

**GENERACIÓN DE BIOELECTRICIDAD MEDIANTE CELDAS DE
COMBUSTIBLE MICROBIANAS USANDO AGUAS RESIDUALES
DE MINERÍA AURÍFERA CON *Pleurococcus sp* COMO
BIOCATALIZADOR EN LA CÁMARA CATÓDICA**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AMBIENTAL

AUTORAS: JENNIFER CAROLINA CUADRADO CASTILLO

GÉNESIS MAYTÉ RODRÍGUEZ PINTO

DIRECTOR: Dr. CELSO GUILLERMO RECALDE MORENO, PhD.

Riobamba – Ecuador

2022

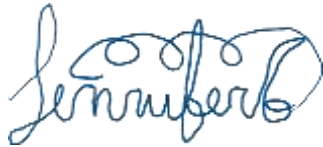
© 2022, Jennifer Carolina Cuadrado Castillo & Génesis Mayté Rodríguez Pinto

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 de Autor.

Nosotras, JENNIFER CAROLINA CUADRADO CASTILLO y GÉNESIS MAYTÉ RODRÍGUEZ PINTO, declaramos que el presente Trabajo de Integración Curricular es de nuestra autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autoras, asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular. El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 22 de noviembre de 2022






Jennifer Carolina Cuadrado Castillo
C.I. 060618036-2



Génesis Mayté Rodríguez Pinto
C.I. 17283116-0

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación, **GENERACIÓN DE BIOELECTRICIDAD MEDIANTE CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS USANDO AGUAS RESIDUALES DE MINERÍA AURÍFERA CON *Pleurococcus sp* COMO BIOCATALIZADOR EN LA CÁMARA CATÓDICA**, realizado por las señoritas: **JENNIFER CAROLINA CUADRADO CASTILLO y GÉNESIS MAYTÉ RODRÍGUEZ PINTO**, ha sido cuidadosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Ana Rafaela Pacurucu Reyes, MSc. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	 _____	2022-11-22
Dr. Celso Guillermo Recalde Moreno, PhD. DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	 _____	2022-11-22
Ing. Juan Carlos González García, PhD. ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	 _____	2022-11-22

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico primeramente a Dios por esta segunda oportunidad de vida, el infinito amor y las bendiciones que me ha dado en el transcurso de mi vida. A mis padres y a mi hermano que ha sido mi más grande amigo en mi vida, a mi abuelito Manuel Cuadrado por ser la persona que me motiva hacer lo que me gusta y elegir mi camino para ser feliz, a mi mejor amiga Danny Lara, a mis amigos Alex, May, Eri, Yadi, Tanya, Vivi, Mafer. A mis mascotas Louve, Pirata, Estrella y Harry. A mi doctor Jorge Fabian Chonata por ayudarme en todo este camino y a todos los guerreros que luchan cada día contra el Lupus.

Jennifer

Dedico este trabajo a mis padres Ciro y Nancy, a mi hermano Saúl y hermana Estefanía, a mis sobrinos Itati y Amir. A mi mejor amiga Fesho y a mis demás amigos que han estado conmigo en toda mi etapa estudiantil. A mis mascotas Mailo, Negrito y Tiana. Los amo a todos, los llevo en mi corazón.

Génesis

AGRADECIMIENTO

Nuestro más sincero agradecimiento al Grupo de Energías Alternativas y Ambiente GEAA de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por su ayuda en cada etapa de nuestra investigación, al Dr. Celso Recalde por su paciencia, ayuda y abrirnos las puertas de su grupo de investigación, a la Ing. Ana Rafaela Pacurucu por su guía en el proceso de nuestro trabajo de integración curricular y al Ing. Juan Carlos González por guiarnos en el transcurso de la redacción de nuestro trabajo. A los técnicos Biof. Gilson Pucha, Ing. Luis Anilema, Ing. Alex Jordan, Ing. Mariela Moreno, Ing. Romel e Ing. Johana Iza. A los técnicos docentes Ing., Maritza Yáñez, Ing. Mauricio Álvarez y Dra. Gina Álvarez por su infinita sabiduría y paciencia. A nuestra familia por su apoyo y amor.

Jennifer & Génesis

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xiii
ÍNDICE DE ECUACIONES	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xvi
RESUMEN.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1.	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1.	Planteamiento del Problema	2
1.2.	Limitaciones y delimitaciones	2
1.3.	Problema general de Investigación.....	2
1.4.	Problemas específicos	3
1.5.	Objetivos	3
1.5.1.	<i>Objetivo General</i>	3
1.5.2.	<i>Objetivos Específicos</i>	3
1.6.	Justificación	4
1.6.1.	<i>Justificación teórica</i>	4
1.6.2.	<i>Justificación metodológica</i>	4
1.6.3.	<i>Justificación práctica</i>	5

CAPÍTULO II

2.	MARCO TEÓRICO	6
2.1.	Antecedentes de la investigación.....	6
2.1.1.	<i>Generalidades</i>	6
2.1.2.	<i>Estudios sobre CCM realizados a nivel nacional e internacional</i>	7
2.1.3.	<i>CCM con microalgas</i>	7
2.1.4.	<i>Requerimientos principales de los cultivos de microalgas</i>	8
2.1.4.1.	<i>Factores físicos-químicos</i>	8

2.1.4.2.	<i>Factores Nutritivos</i>	9
2.1.5.	<i>Medios de cultivos para microalgas</i>	9
2.1.5.1.	<i>BG-11 Medium</i>	9
2.1.5.2.	<i>Bold's Basal Medium (BBM)</i>	11
2.1.6.	<i>Ley de Ohm</i>	12
2.1.7.	<i>Remoción de metales pesados</i>	12
2.2.	Marco Conceptual	14
2.2.1.	<i>Celda de combustible microbiana (CCM)</i>	14
2.2.2.	<i>Celda de combustible microbiano de cámara única (SMFC)</i>	14
2.2.3.	<i>Fibra de Carbono</i>	14
2.2.4.	<i>Ánodo</i>	14
2.2.5.	<i>Cátodo</i>	15
2.2.6.	<i>Membrana Intercambiadora de Protones (MIP)</i>	15
2.2.7.	<i>Bioenergía</i>	15
2.2.8.	<i>Metal pesado</i>	15
2.2.9.	<i>Microalgas</i>	15
2.2.10.	<i>Pleurococcus sp</i>	16
2.2.11.	<i>Biopelícula</i>	16
2.2.12.	<i>Biorremediación</i>	16
2.2.13.	<i>Agua residual minera</i>	16

CAPÍTULO III

3.	METODOLOGÍA	17
3.1.	Hipótesis y especificación de las variables	17
3.1.1.	<i>Planteamiento de hipótesis</i>	17
3.1.1.1.	<i>Hipótesis General</i>	17
3.1.1.2.	<i>Hipótesis Específicas</i>	17
3.1.2.	<i>Identificación de variables</i>	17
3.2.	Tipo y Diseño de Investigación	17
3.3.	Unidad de Análisis	18
3.4.	Población de estudio	18
3.5.	Tamaño de la Muestra	19
3.6.	Selección de la muestra	20
3.7.	Lógica de la Investigación	20
3.7.1.	<i>Análisis e Interpretación de la Investigación</i>	20

3.7.2.	<i>Primer paso</i>	20
3.7.2.1.	<i>Muestreo de microalgas</i>	20
3.7.2.2.	<i>Cultivo y aislamiento</i>	22
3.7.2.3.	<i>Identificación de microalgas</i>	23
3.7.2.4.	<i>Crecimiento y obtención de biomasa</i>	23
3.7.3.	<i>Segundo paso</i>	24
3.7.3.1.	<i>Muestreo de agua y relaves de la minería aurífera</i>	24
3.7.3.2.	<i>Condiciones para el funcionamiento de las celdas de combustible microbianas</i>	24
3.7.3.2.	<i>Formación del biofilm del biocátodo</i>	26
3.7.4.	<i>Tercer paso</i>	27
3.7.5.	<i>Cuarto paso</i>	29
3.7.5.1.	<i>Análisis Físicoquímicos</i>	29
3.7.6.	<i>Quinto paso</i>	30

CAPÍTULO IV

4.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	32
4.1.	Aislamiento, cultivo y crecimiento de <i>Pleurococcus sp</i>	32
4.1.1.	<i>Parámetros in situ de la laguna Rodeococha</i>	32
4.1.2.	<i>Prueba de Lugol</i>	32
4.1.3.	<i>Aislamiento</i>	33
4.1.4.	<i>Identificación morfológica</i>	33
4.2.	Monitoreo de las celdas de Combustible microbiana	36
4.3.	Curva de polarización	41
4.4.	Pruebas de hipótesis	46
4.4.1.	<i>Análisis de la Varianza ANOVA para la primera etapa</i>	46
4.4.2.	<i>Análisis de la Varianza ANOVA para la segunda etapa</i>	47
4.5.	Pruebas Post Hoc	48
4.5.1.	<i>Prueba de Tukey para la Fase 1</i>	49
4.5.2.	<i>Prueba de Tukey para la Fase 2</i>	50
4.6.	Análisis Físicoquímicos	52
4.7.	Resultados del Análisis microbiológico inicial	58
4.7.1.	<i>Aerobios en agua</i>	58
4.7.2.	<i>Anaerobios en agua</i>	58
4.7.3.	<i>Aerobios en suelo</i>	58
4.7.4.	<i>Anaerobios en suelo</i>	59

4.8.	Resultados del análisis microbiológico final	59
4.8.1.	<i>Aerobios y anaerobios en el agua</i>	60
4.8.2.	<i>Aerobios y anaerobios en suelo</i>	61
4.9.	Características morfológicas de las colonias aisladas	62

CAPÍTULO V

5.	MARCO PROPOSITIVO	64
5.1.	Propuesta	64

CONCLUSIONES..... 65

RECOMENDACIONES..... 66

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Solución madre 1 BG-11	9
Tabla 2-1:	Solución madre 2 BG-11	10
Tabla 3-1:	Solución madre 3 BG-11	10
Tabla 4-1:	Volúmenes de las soluciones para la preparar BG-11	10
Tabla 5-1:	Composición de las soluciones madre (1-6) BBM	11
Tabla 6-1:	Composición de la solución madre 7-10 BBM.....	11
Tabla 7-1:	Composición del medio de cultivo BBM.....	12
Tabla 1-3:	Puntos de recolección de muestras de agua en la Laguna Rodeococha.....	21
Tabla 2-3:	Volúmenes de agua residual y lodo activado añadidos en las CCM en la etapa uno	28
Tabla 3-3:	Volúmenes de agua residual añadidas a cada una de las CCM en la etapa dos ...	29
Tabla 4-3:	Parámetros químicos analizados en la etapa uno.....	29
Tabla 5-3:	Parámetros químicos analizados en la etapa dos.....	30
Tabla 1-4:	Resultados de los parámetros insitu de la Laguna Rodeococha.....	32
Tabla 2-4:	Clasificación taxonómica de las microalgas <i>Pleurococcus sp</i>	34
Tabla 3-4:	Crecimiento celular de <i>Pleurococcus sp</i> en diferentes medios de cultivo	35
Tabla 4-4:	Promedio del Voltaje generado en las CCM fase 1	37
Tabla 5-4:	Valores estadísticos en celdas de Combustible Microbiana CCM fase 1	38
Tabla 6-4:	Promedio del Voltaje generado en celdas de Combustible Microbiana CCM fase 2	39
Tabla 7-4:	Valores estadísticos de celdas de Combustible Microbiana CCM fase 2	40
Tabla 8-4:	Voltaje generado en un circuito cerrado en las CCM	41
Tabla 9-4:	Intensidad de la Corriente en un circuito cerrado en las CCM	42
Tabla 10-4:	Densidad de la Corriente en las CCM.....	42
Tabla 11-4:	Potencia generada en las Celdas de Combustible Microbianas	43
Tabla 12-4:	Densidad de Potencia generada en las CCM	43
Tabla 13-4:	Factores para determinar el Análisis de Varianza.....	47
Tabla 14-4:	Análisis de Varianza (ANOVA) en la Etapa 1	47
Tabla 15-4:	Factores para determinar el Análisis de Varianza.....	48
Tabla 16-4:	Análisis de Varianza (ANOVA) en la Etapa 2	48
Tabla 17-4:	Factores para el cálculo Prueba de Tukey.....	49
Tabla 18-4:	Valores promedios de las CCM fase 1	49
Tabla 19-4:	Diferencias medias entre las CCM en la fase 1.....	49

Tabla 20-4:	Resultado de la Prueba de Tukey fase 1	50
Tabla 21- 4:	Factores para el cálculo de la Prueba de Tukey fase 2.....	50
Tabla 22-4:	Valores promedios de las CCM fase 2.....	51
Tabla 23-4:	Diferencias medias entre las CCM en la fase 2.....	51
Tabla 25-4:	Análisis de agua extraída en Nambija.....	52
Tabla 26-4:	Análisis de la Fase 1 CCM1.....	53
Tabla 27-4:	Análisis de la Fase 1 CCM2.....	53
Tabla 28-4.	Análisis de la Fase 1 CCM3.....	54
Tabla 29-4:	Análisis de la Fase 1 CCM4.....	54
Tabla 30-4:	Análisis de la Fase 2 CCM1.....	55
Tabla 31-4:	Análisis de la Fase 1 CCM2.....	56
Tabla 32-4:	Análisis de la Fase 2 CCM3.....	56
Tabla 34-4:	Conteo de aerobios en la muestra agua inicial	58
Tabla 36-4:	Conteo de Aerobios en la muestra de suelo inicial	59
Tabla 37-4:	Conteo de Anaerobios de la muestra de suelo inicial	59
Tabla 38-4:	Conteo de aerobios y anaerobios en agua en la CCM1.....	60
Tabla 39-4:	Conteo de aerobios y anaerobios en agua en la CCM2.....	60
Tabla 40-4:	Conteo de aerobios y anaerobios en agua en la CCM3.....	60
Tabla 41-4:	Conteo de aerobios y anaerobios en agua en la CCM4	61
Tabla 42-4:	Conteo de aerobios y anaerobios en suelo en la CCM1	61
Tabla 43-4:	Conteo de aerobios y anaerobios en suelo en la CCM2.....	61
Tabla 44-4:	Conteo de aerobios y anaerobios en suelo en la CCM3.....	62
Tabla 45-4:	Conteo de aerobios y anaerobios en suelo en la CCM4.....	62
Tabla 46-4:	Características morfológicas.....	62

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1-2:	<i>Pleurococcus sp.</i> en microscopio óptico 50x. Escala 5 um.....	16
Ilustración 1-3:	Configuración de la CCM	18
Ilustración 2-3:	Mapa de la zona minera del catón Zamora.....	19
Ilustración 3-3:	Composición de biopelícula en celdas de combustible microbiana	19
Ilustración 4-3:	Puntos de muestreo en la Laguna de Rodeococha del Parque Nacional Llanganates	22
Ilustración 5-3:	Clave taxonómica <i>Pleurococcus</i>	23
Ilustración 6-3:	Recolección de muestras	24
Ilustración 7-3:	Configuración de las CCM.....	25
Ilustración 8-3:	Ánodo sumergido en solución de peróxidulfato de amonio y ácido sulfúrico	25
Ilustración 9-3:	Cátodo sumergido en agua destilada.....	26
Ilustración 10-3:	Electrodo cátodo sumergido en cultivo puro de microalgas para la formación de biofilm	26
Ilustración 11-3:	Biopelícula de algas <i>Pleurococcus sp</i> en el biocátodos	27
Ilustración 12-3:	Proceso de construcción de CCM	27
Ilustración 13-3:	CCM construidas.....	28
Ilustración 14-3:	Determinación de microorganismos de suelo y agua	31
Ilustración 1-4:	Prueba con positiva de Lugol	33
Ilustración 2-4:	Cultivo axénico de <i>Pleurococcus sp</i> en medio BBM	33
Ilustración 3-4:	Curva de crecimiento de la microalga <i>Pleurococcus sp</i>	36
Ilustración 4-4:	Obtención de biomasa en tres medios de cultivos.....	36
Ilustración 5-4:	Producción de Voltaje en CCM durante la etapa 1	37
Ilustración 6-4:	Producción de Voltaje en CCM durante fase 2	39
Ilustración 7-4:	Producción de Voltaje en CCM durante la experimentación.....	41
Ilustración 8-4:	Grafica de la curva de polarización CCM1	44
Ilustración 9-4:	Grafica de la Curva de Polarización de la CCM2	45
Ilustración 10-4:	Grafica de la Curva de Polarización de la CCM3	45
Ilustración 11-4:	Gráfica de la Curva de Polarización de la CCM4	46
Ilustración 12-4:	Comparación de las medias fase 1	50
Ilustración 13-4:	Comparación de las medias fase 2	52
Ilustración 14-4:	Gráfico de la remoción de metales pesados en la primera fase.....	55
Ilustración 15-4:	Porcentaje de Remoción de Metales Pesados en las CCM Fase 2	57

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1-2:	Ley de Ohm	12
Ecuación 2-2:	Remoción de metales pesados	13
Ecuación 1-3:	Concentración celular por mililitro.....	23

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** AISLAMIENTO Y CULTIVO DE MICROALGAS *Pleurococcus sp*
- ANEXO B:** PREPARACION DEL ÁNODO Y CÁTODO
- ANEXO C:** CONSTRUCCIÓN Y MONITOREO DE LAS CCM
- ANEXO D:** ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS
- ANEXO E:** CONTEO DE AEROBIOS Y ANAEROBIOS
- ANEXO F:** RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS
- ANEXO G:** PRODUCCIÓN DE VOLTAJE EN LAS CCM DURANTE LAS DOS FASES

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ESPOCH.	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
F1.	Fase uno
F2.	Fase dos
MM.	Muestra matriz
CCM.	Celdas de combustible microbianas
SMFC.	Celda de combustible microbiana de cámara única
CCM1.	Celdas de combustible microbiana 1
CCM2.	Celdas de combustible microbiana 2
CCM3.	Celdas de combustible microbiana 3
CCM4.	Celdas de combustible microbiana 4
MIP.	Membrana Intercambiadora de protones
Hg.	Mercurio
Pb.	Plomo
Cu.	Cobre
Na.	Sodio
K.	Potasio
Ca.	Calcio
Mg.	Magnesio
Fe.	Hierro
Zn.	Zinc
Mn.	Manganeso
B.	Boro
Br.	Bromo
Si.	Silicio
Cu.	Cobre
Co.	Cobalto
Cl.	Cloro
I.	Yodo
Sr.	Estroncio
Rb.	Rubidio
Al.	Aluminio
pH.	Potencial de Hidrogeno
BG-11.	Blue- Green Medium 11
BBM.	Bold's Basal Medium

°C.	grados centígrados
ml.	mililitro
cm.	centímetro
cm².	centímetro cuadrado
mW.	mili Watts
L.	litro
g.	gramos
ppm.	partes por millón
mV.	milivoltios
mA.	miliamperios
DBO5.	Demanda Bioquímica de Oxígeno
DQO.	Demanda Química de Oxígeno
PCA.	Agar de recuento en placa
TDS.	Sólidos totales disueltos
DCA.	Diseño completamente aleatorio

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue generar bioelectricidad mediante celdas de combustible microbianas usando aguas residuales y relaves mineros de la minería aurífera con *Pleurococcus sp* como biocatalizador en la cámara catódica, y evaluar la remoción de metales pesados como mercurio, plomo, cobre en la cámara anódica. Para lo cual se aisló la microalga *Pleurococcus sp* extraída de la Laguna Rodeococha del Parque Nacional Llanganates. El experimento se realizó en cuatro celdas de combustible microbianas de cámara simple (SMFC) donde CM1, CM2, CM3 tenían *Pleurococcus sp* como biocatalizador y CM4 sin biocatalizador cada una con 150 ml de agua residual y 150 g de relaves mineros. Se utilizó papel celofán como membrana intercambiadora de protones la cual separan 1 cm la parte anaerobia de la aerobia, para los electrodos ánodo y cátodo se utilizó fibra de carbono y fueron sometidos a tratamientos para eliminar impurezas y favorecer la formación del biofilm. El voltaje se registró en un DAQ NI 6212 durante un periodo de 21 días. Los resultados muestran que las CCM con microalgas *Pleurococcus sp* tienen éxito en la generación de bioelectricidad en comparación a la celda control, teniendo una producción mayor de voltaje en un 31, 6% y 21,35 %. Mediante análisis fisicoquímicos se determinó una remoción de metales pesados, durante la primera fase la CCM1 tuvo una mayor remoción del 92 % en Mercurio y 95% en Cobre; y la CCM4 un 94% en Plomo. En la segunda fase la CCM4 tuvo una remoción del 97 %, 95,3% y 95% para Mercurio, Cobre y Plomo respectivamente. Se puede concluir que los cátodos asistidos por *Pleurococcus sp* muestran una mayor estabilidad y generación de voltaje en las CCM, y se recomienda que para próximas investigaciones se pueda utilizar consorcios de microalgas para la obtención de mejores resultados.

Palabras claves: <CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANO>, <ÁNODO>, <CÁTODO>, <BIOELECTRICIDAD>, <VOLTAJE>, <MICROALGA (*Pleurococcus sp*)>.

2321-DBRA-UPT-2022



ABSTRACT

The objective of this study was to generate bioelectricity through microbial fuel cells using wastewater and mine tailings from gold mining with *Pleurococcus sp* as biocatalyst in the cathode chamber and evaluate the removal of heavy metals such as Mercury, lead, and copper in the anode chamber. The *Pleurococcus sp* microalga was isolated from the Rodeococha Lagoon of the Llanganates National Park. The experiment was carried out in four single-chamber microbial fuel cells (SMFC) where CM1, CM2, and CM3 had *Pleurococcus sp* as biocatalyst and CM4 without biocatalyst each with 150 ml of wastewater and 150g of mine tailings. Cellophane paper was used as a proton exchange membrane which separates the anaerobic part from the aerobic part by 1 cm; for the anode and cathode electrodes, carbon fibre was used, and they were subjected to treatments to eliminate impurities and favour the formation of biofilm. Voltage was recorded on an NI 6212 DAQ over 21 days. The results show that the CCM with *Pleurococcus sp* microalgae is successful in generating bioelectricity compared to the control cell, with a higher voltage production of 31.6% and 21.35%. Through physicochemical analysis, the removal of heavy metals was determined; during the first phase, the CCM1 had a more effective removal of 92% in Mercury and 95% in copper, and the CCM4 94% in Lead. In the second phase, CCM4 removed 97%, 95.3% and 95% of Mercury, Copper, and Lead, respectively. It can be concluded that the cathodes assisted by *Pleurococcus sp* show more excellent stability and voltage generation in the MCCs. Therefore, it is recommended that for future investigations, consortia of microalgae can be used to obtain better results.

Keywords: <MICROBIAL FUEL CELLS>, <ANODE>, <CATHODE>, <BIOELECTRICITY>, <VOLTAGE>, <MICROALGAE (*Pleurococcus sp*)>.



Ing. Ángel Paul Obregón Mayorga, Mgs.

C.I. 060102712-2

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la población a implicado una mayor demanda de energía, lo que ha hecho necesario promover el uso de energías basadas en tecnologías verdes (Páez et al. 2019, p.262) ,la utilización de energías renovables es importante y se requieren para poder disminuir la dependencia a los combustibles fósiles que se tiene en la actualidad, la utilización de tecnologías verdes ayuda a reducir impactos ambientales y de esta forma crear energías más confiables y ambientalmente seguras. Las celdas de combustible microbianas son una tecnología recientemente explorada y podría llegar a ser una solución prometedora para satisfacer las necesidades energéticas con la implementación a gran escala de las CCM, este tipo de tecnología aparte de poder generar bioelectricidad también dan tratamiento aguas residuales provenientes de procesos industriales o domésticos y una de sus ventajas es que estas pueden operar a temperatura ambiente. (Vanegas, Cardona, Zapata, 2020, p.3)

En este estudio se generó bioelectricidad a partir de 4 tratamientos de CCM a escala de laboratorio, en la primera fase del escrito se encontrarán las diferentes problemáticas dadas para esta investigación la cual más importante a mencionar es la poca investigación que se ha dado en el país referente a la utilización de microalgas y microorganismos para poder crear soluciones ambientalmente amigables, en la siguiente fase se mostrará el marco teórico y conceptual en el cual se utilizó diversas bibliografías extraídas de diferentes revistas de alto impacto indexadas o artículos científicos publicados en varios repositorios, como es el caso de Scielo y ScienceDirect; posteriormente se describirá la metodología utilizada para la recolección de las muestras de microalgas del Parque Nacional Llanganates y el tipo de muestreo empleado para las aguas residuales y sedimentos provenientes de las actividades mineras de Nambija también se mostrará los pasos que se siguió para el armado de las celdas de combustible microbianas y la metodología utilizada para los análisis físicos-químicos del agua residual. Finalmente se mostrarán los resultados de los voltajes generados en las CCM, de los cuales se realizaron pruebas estadísticas como ANOVA y Tukey para la posterior interpretación de los resultados obtenidos y en el último apartado se realiza una propuesta de la implementación de las CCM dentro de la minería ASOMNABILE a escala piloto, se describen las conclusiones y recomendaciones necesarias dentro de la investigación realizada.

1.PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema

Falta de conocimiento en los sectores mineros artesanales del país en la implementación de tecnologías verdes dentro de sus procesos de extracción y también su mala gestión de los residuos finales generados sumándole que en el Ecuador existen muy pocos estudios referentes a la utilización de las celdas de combustible microbiano con aguas residuales y relaves mineros con biocátodos asistidos por microalgas el aprovechamiento de microorganismos para la generación de biotecnologías en el país es muy escaso ya que las industrias siguen utilizando procesos químicos lo que involucra que se generen más impactos ambientales.

1.2. Limitaciones y delimitaciones

La principal limitación de la investigación es la falta de cooperación de los involucrados en el sector minero en el Ecuador debido a una falta de conocimiento en los estudios de biorremediación y bioelectricidad por lo cual nos restringieron el acceso para recolección de muestras de agua y sedimentos

Otra limitación es la zona donde se encuentra ubicada la concesión minera ya que se encuentra al sur del país a 12 horas de la ciudad de Riobamba, lo que involucra altos costos de traslado de muestras, materiales, instrumentos y personal.

De esta forma se delimito la zona de estudio a las aguas residuales y lodos activados generados en las actividades de extracción de oro en ASONAMBILE, que es una concesión minera artesanal ubicada en el sector de Nambija perteneciente a la provincia de Zamora Chinchipe. Debido a los recursos disponibles tanto tecnológicos como económicos se optó por estudiar la remoción de tres metales pesados que se encontraban en mayor porcentaje en la zona de estudio.

1.3. Problema general de Investigación

En Ecuador los procesos de extracción minera artesanal emplean productos químicos lo que ha provocado la contaminación por metales pesados como Hg, Pb, As, Mg, Zn y Cd en ríos, suelos o efluentes y estos rebasan el límite máximo permisible (Oviedo et al. 2017, p.4) y el poco conocimiento de las personas ha ocasionado graves problemas ambientales en estas zonas mineras. La mala gestión de los residuos y el escaso conocimiento de cómo aprovechar las grandes cantidades de aguas residuales y lodos generados dentro de esta industria también ha repercutido negativamente dentro de estos lugares.

1.4. Problemas específicos

Las microalgas y microorganismos son escasamente estudiados dentro del país, ya que no existe este interés por parte de los investigadores.

Se requieren más investigaciones referentes a la utilización de celdas de combustible microbiano con cátodos asistidos por microalgas que por medio de la fotosíntesis producen oxígeno que actúa como aceptor de electrones permitiendo juntamente con los microorganismos capaces de usar contaminantes como los metales pesados en su actividad metabólica logrando la biorremediación de aguas residuales y la generación de bioelectricidad.

La minería artesanal es una de las actividades que más residuos tóxicos generan ya que la explotación se realiza cerca de cuerpos hídricos o a cielo abierto lo que ocasiona que estos se vean contaminados por químicos como el cianuro, mercurio y otros metales pesados que pueden llegar a ser muy perjudiciales para la biota como para el ser humano.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Generar bioelectricidad mediante celdas de combustible microbianas usando aguas residuales de la minería aurífera con *Pleurococcus sp* como biocatalizador en la cámara catódica.

1.5.2. Objetivos Específicos

- Aislar y cultivar microalgas *Pleurococcus sp* extraídas de la Laguna Rodeococha del Parque Nacional Llanganates.
- Demostrar la capacidad biocatalizadora de *Pleurococcus sp* en Celdas de Combustible Microbiano para la producción de bioelectricidad.
- Calcular el porcentaje de remoción de metales pesados como mercurio (Hg), plomo (Pb), y cobre (Cu) en las Celdas de Combustible Microbiano.

1.6. Justificación

1.6.1. Justificación teórica

Las energías renovables se han convertido en protagonistas en la actualidad, debido a que son una solución al creciente consumo de energía y la fuerza mitigadora contra el cambio climático (Buscher y Fletcher, 2020, p.1). Uno de los vectores energéticos del futuro son las microalgas, microorganismos acuáticos que convierten la luz solar en biomoléculas de alto valor energético. Estos organismos exhiben altas eficiencias fotosintéticas y rinden hasta el doble que las plantas terrestres, siendo así un objeto atractivo de estudio para mejorar la sostenibilidad de la producción futura de bioenergía. La gran diversidad de microalgas representa un recurso intacto, existen 200 000 a varios millones de especies en el mundo de las cuales únicamente 50 000 han sido estudiadas. (Singh, 2015, p.1).

En la actualidad, científicos de todo el mundo están investigando las mejores cepas de microalgas y el desarrollo más eficiente de energía. Las Celdas de Combustible Microbianas (CCM) son una tecnología emergente que contribuye a solucionar dos problemas críticos en la actualidad como la crisis energética y la disponibilidad de agua que no esté contaminada.

Pleurococcus sp es una microalga verde que pertenece a la familia Chaetophoraceae, se caracteriza por tener células esféricas con paredes celulares pesadas que la protegen contra la resequedad. Hay evidencia fósil que muestra que existieron desde el Proterozoico, hace 540 millones de años (University of Oxford 2019). Habitan en agua dulce, aguas residuales, suelos y cortezas de árboles; en el Ecuador existe evidencia de su presencia en la Laguna de Rodeococha del Parque Nacional Llanganates. (Guamán, 2016, p.1) esta especie de microalga ha sido poco estudiada en nuestro país.

Esta investigación se realiza con el propósito de aportar al conocimiento existente sobre las celdas de combustible microbianas con biocátodos asistidos por organismos fotosintéticos como las microalgas para la generación de bioelectricidad y la biorremediación de aguas residuales, cuyos resultados podrán sistematizarse en una propuesta para la industria minera para ser incorporado como un futuro tratamiento de remediación siendo sostenible con el ambiente.

1.6.2. Justificación Metodológica

Para lograr los objetivos de la investigación se ha planteado un proceso metodológico ordenado y sistematizado, se utilizaron técnicas de investigación cuantitativa orientadas al análisis de los datos obtenidos del voltaje registrado por el sistema de adquisición de datos de National Instruments DAQ NI USB 6212 durante un periodo de monitoreo de 21 días y el porcentaje de

remoción de metales pesados en cada una de las celdas de combustible microbianas, una vez demostrada la influencia de utilizar un biocátodo asistido por microalgas *Pleurococcus sp* los resultados obtenidos podrán ser utilizados en futuras investigaciones.

1.6.3. Justificación Práctica

Esta investigación se realiza porque existe la necesidad de encontrar biocátodos asistidos por microalgas que sean capaces de usar todo tipo de aceptores de electrones sin limitarse a utilizar el oxígeno permitiendo la generación de bioelectricidad y la biorremediación del agua en las celdas de combustible microbianas. *Pleurococcus sp* en investigaciones anteriores ya ha demostrado ser eficaz en la remoción de mercurio por lo cual es importante analizar su desempeño con otros metales pesados.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1. Generalidades

A finales del siglo XVIII el ser humano comenzó a utilizar el combustible a base de carbono y en 1785 se comercializaba el gas natural en Gran Bretaña para la iluminación, la sociedad no se habría podido desarrollar sin estos combustibles, sin embargo, el uso del carbón produce dióxido de azufre, óxidos de nitrógeno entre otros contaminantes (Gudynas, 2010; citado en Carrasco; León, 2018, p.49).

Molina et al., (2017, p. 2) en la actualidad existe una gran demanda de consumo de energía eléctrica debido al crecimiento poblacional e industrial es por esta razón que muchos países buscan encontrar una solución amigable con el ambiente mediante la utilización de energías renovables como es la energía solar, eólica e hidroeléctrica, pero en los últimos años también han encontrado una solución en la utilización de celdas de combustibles microbianas, que mediante catalizadores se genera bioelectricidad.

Con la utilización de las CCM se puede también contribuir a la biorremediación de compuestos como xenobióticos o metales pesados provenientes de aguas residuales, es por esto por lo que la perspectiva de disponer agua limpia para liberar al ambiente se ha fortalecido gracias a la utilización de las celdas de combustible (Revelo et al., 2013, p.17).

Es muy difícil pensar en las actividades económicas sin la implicación de estándares de sostenibilidad y consideraciones que exigen el respeto a la naturaleza (Gudynas, 2010; citado en Carrasco y León, 2018, p.49), como es en el caso de Ecuador que uno de los sectores comerciales más importante es la minería sin embargo a traído muchos conflictos ambientales y sociales por las malas prácticas que realizan en la extracción de los minerales dentro de estos lugares (Asociación para la Acción sobre la economía verde, 2021, p. 9).

Una de las zonas mineras más conflictivas se encuentra en el sur del país en la provincia de Zamora Chinchipe en el sector de Nambija, muchas personas de este lugar se dedican actividades mineras artesanales lo que ha provocado condiciones de vida precaria e insegura sumando a una explotación antiética ya que un aspecto importante a resaltar es la utilización de Mercurio dentro de las explotaciones mineras, este compuesto químico es liberado al ambiente lo cual ha provocado que se contamine el agua y el suelo; y por ende se deteriora los servicios ecosistémicos (Guevara et al., 2015: pp. 5-6).

2.1.2. Estudios sobre CCM realizados a nivel nacional e internacional

Las investigaciones científicas sobre las CCM son variadas, pero cada una de estas con diferentes puntos de vista. (Lovley, 2006, p.327) indica que el estudio adicional de estos sistemas ha llevado al descubrimiento de microorganismos que conservan energía para sustentar su crecimiento mediante la oxidación completa de compuestos orgánicos a dióxido de carbono con la transferencia directa de electrones a los electrodos, mientras que (Angenent, 2006, p.2009) realiza una revisión bibliográfica que aborda el desarrollo y el progreso experimental de biocátodos en celdas de combustible microbianas e indica que los biocátodos son prometedores en las CCM y anticipa una aplicación exitosa después que se realicen más investigaciones, a la vez (Pant et al. 2010, p.1533) expresa que las CCM han ganado mucha atención en los últimos años como un modo de convertir residuos orgánicos incluidas las aguas residuales de baja concentración y la biomasa lignocelulósica en bioelectricidad.

El estudio de las CCM es un trabajo multidisciplinario que involucra las áreas de electricidad, microbiología, química y ambiente, al unir todas estas áreas se pueden realizar mejores investigaciones y no solo a escala de laboratorio, sino poder aplicarlas en industrias y poblaciones con una generación de electricidad más limpia y sustentable (Revelo et al., 2013, p.18).

En Ecuador las revisiones bibliográficas son diversas por ejemplo se tiene una línea de investigación realizada por el Grupo de Energías Alternativas y Ambiente (GEAA), un grupo de investigación de la Facultad de Ciencias perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en las cuales en el 2015 se realizó una investigación sobre la generación de bioelectricidad a partir de Residuos Vegetales y Frutas en suelos altoandinos en el cual se probó una mezcla de materia orgánica del suelo en las SMFC y se generó un voltaje de salida de 330 mV en la SMFC3 que contenía una mezcla de 75:25 de frutas y verduras (Logroño et al., 2015, p.2009) Por mencionar otra investigación se tiene que en el 2016 se realizó un estudio de un biosensor basado en las Celdas de Combustible Microbiano de Cámara Única terrestre para la Demanda Bioquímica de Oxígeno de aguas residuales lavadas con arroz sintético en el cual se crearon 3 celdas con suelo andino y los picos máximos de voltaje de circuito abierto estaban entre 40,6 y 58,8 mV y entre 18,2 y 32,9 mV para la Cámara uno y dos, respectivamente (Logroño et al., 2016, p.1).

2.1.3. CCM con microalgas

Actualmente se está utilizando microalgas como biocátodos fotosintéticos para la producción de bioelectricidad en las CCM. Las microalgas en el cátodo pueden incrementar el movimiento de los electrones en el circuito eléctrico producto de las altas concentraciones de oxígeno disuelto provocadas por la obtención de oxígeno in situ de las microalgas, ya que en la fotosíntesis utilizan

los compuestos carbónicos como el bicarbonato y el dióxido de carbono para producir oxígeno en presencia de luz (Chaparro, 2020, p.100).

Las CCM se encuentran en un continuo proceso de desarrollo e investigación y gracias a esto se ha logrado muchos avances y de esta forma se ha encontrado usos alternativos que pueden aplicarse para la biorremediación de problemas ambientales, las microalgas en comparación con otros biocátodos son más útiles ya que su biomasa se considera un producto valioso que ayudan a mitigar el CO₂ liberado del tratamiento de aguas residuales (Chaparro, 2020, p.103).

Un ejemplo de la utilización de microalgas en cámaras de combustible microbiano es un estudio realizado por el Grupo de Energías Alternativas y Ambiente (GEAA) en el cual con una biopelícula de microalgas *Chlorella vulgaris* en la cámara catódica, se realizó una evaluación preliminar de la generación de bioelectricidad y biodegradación de aguas residuales textiles de tinte real” en la cual las celdas superaron un voltaje de circuito abierto entre un 18 % y un 43 % más alto que el control (Logroño et al., 2017, p.1).

Otro estudio realizado por Song et al. (2020, p.1) en el cual se añade *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*) al cátodo para producir oxígeno como aceptor de electrones. Los resultados mostraron que la adición de *C. vulgaris* en el cátodo de las SMFC redujo significativamente su resistencia interna y se produjo una densidad de potencia máxima de 5,17 W/m³, que fue 6 veces mayor que la de las SMFC sin la adición de *C. vulgaris*. También obtuvieron eficiencias de remoción de materia orgánica 37.2%.

2.1.4. Requerimientos principales de los cultivos de microalgas

Las microalgas requieren un tiempo de aclimatación más largo ya que estas tienen una característica de retrasar el crecimiento hasta poder asimilar completamente el medio, lo que resulta en una producción menor de biomasa. (Hernández, Pérez, Labbé, 2014, pp.159-160)

Para el cultivo de microalgas se requieren los siguientes factores físicos-químicos y nutritivos: (Hernández et al., 2014, pp.159-160).

2.1.4.1. Factores físicos-químicos

- Luz entre los 2000 a 4000 lux
- Temperatura que oscile entre los 15 a 22°C
- Salinidad de 0,37 %
- pH alcalino entre 7-9

2.1.4.2. Factores Nutritivos

- Sales (Na, K, Ca, Mg) 1 g/100 ml
- Sales (Fe, Zn, Mn, B, Br, Si) 1 mg/100 ml
- Sales (Cu, Co, Cl, I, Sr, Rb, Al) 1 µg/100 ml

2.1.5. Medios de cultivos para microalgas

Los medios de cultivos son una disolución de nutrientes inorgánicos necesarios para el crecimiento de las microalgas, esto se utilizó con el fin de la producción de biomasa; principalmente contiene fuentes de carbono, fósforo y nitrógeno y puede contener otros elementos dependiendo de la especie de microalga (Fernández, 2014, p.1).

2.1.5.1. BG-11 Medium

El medio BG-11 se destinó para el cultivo de cianobacterias de agua dulce, del suelo, térmicas y marinas. Se caracteriza por el aumento de NaNO_3 siendo los niveles de nitrato y fosfato son altos en este medio (Andersen, 2005, p.435).

- Composición del medio de cultivo BG11 (Blue-Green Medium 11)
- Solución madre 1

La solución madre 1 del medio de cultivo BG11 está compuesto en su mayoría de Nitrato de Sodio este compuesto es fundamental para el crecimiento de las microalgas *Pleurococcus sp.*

Tabla 1-1: Solución madre 1 BG-11

Componente	g/L H ₂ O
Nitrato de sodio (NaNO_3)	10

Fuente: Andersen, 2005, p.435.

- Solución madre 2

La solución madre 2 del medio de cultivo BG11 está compuesto en su mayoría por el Sulfato de magnesio pentahidratado, seguido del compuesto Fosfato de potasio dibásico, ambos son compuestos importantes para el desarrollo y alimentación de las microalgas.

Tabla 2-1: Solución madre 2 BG-11

Componente	g/500 ml H ₂ O
Ácido Nítrico (HNO ₃)	0,3
Cloruro de calcio (CaCl ₂)	1,8
Fosfato de potasio dibásico (K ₂ HPO ₄)	2
Citrato de amonio férrico verde (C ₆ H ₁₁)	0,3
Sulfato de magnesio (MgSO ₄ · 7H ₂ O)	3,75
Carbonato de sodio (Na ₂ CO ₃)	1
EDTA disódico (C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈)	0,05

Fuente: Andersen, 2005, p. 435.

- Solución madre 3

Esta solución está compuesta por trazas de metales, aunque siguen siendo muy importantes para el crecimiento de las microalgas.

Tabla 3-1: Solución madre 3 BG-11

Componente	g/L H ₂ O
Nitrato de Cobalto (Co (NO ₃) ₂ · 6H ₂ O)	0,05
Ácido Bórico (H ₃ BO ₃)	2,86
Molibdato de sodio (Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O)	0,39
Sulfato cúprico (CuSO ₄ · 5H ₂ O)	0,08
Cloruro de manganeso (MnCl ₂ · 4H ₂ O)	1,81
Sulfato de Zinc (ZnSO ₄ · 7H ₂ O)	0,22

Fuente: Andersen, 2005, p.436.

Para la preparación del medio de cultivo BG11 se tomó de las 3 soluciones madres antes descritas y se afora a un 1L de agua destilada las siguientes cantidades (Andersen, 2005, pp.436):

Tabla 4-1: Volúmenes de las soluciones para la preparar BG-11

Solución madre 1	100 ml
Solución madre 2	10 ml
Solución madre 3	1 ml

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Y posteriormente se ajustó a un pH de 7,1, óptimo para el crecimiento de las algas.

2.1.5.2. Bold's Basal Medium (BBM)

Este medio carece de vitaminas, y algunas concentraciones de metales traza son altas. Este es un medio útil para muchas algas (Andersen, 2005, p.437).

- Solución madre (1-6)

Esta solución está compuesta en su mayoría por nitrato de sodio y fosfato de potasio dibásico, todos estos compuestos importantes en la alimentación de las microalgas.

Tabla 5-1: Composición de las soluciones madre (1-6) BBM

N°	Componente	g/400 ml H ₂ O
1	Cloruro de calcio (CaCl ₂)	1
2	Sulfato de magnesio (MgSO ₄ · 7H ₂ O)	3
3	Nitrato de sodio (NaNO ₃)	10
4	Fosfato de potasio monobásico (K ₂ HPO ₄)	7
5	Fosfato de potasio dibásico (KH ₂ PO ₄)	3
6	Cloruro de sodio (NaCl)	1

Fuente: Andersen, 2005, p.437.

- Solución madre (7-10)

En la solución madre 7-10 del medio de cultivo BBM se tiene que el compuesto EDTA en mayor proporción.

Tabla 6-1: Composición de la solución madre 7-10 BBM

N°	Componente	g/L H ₂ O
7	Sulfato de Zinc (ZnSO ₄ ·7H ₂ O)	8,82
	Cloruro de Manganeso (MnCl ₂ · 4H ₂ O)	1,44
	Trióxido de Molibdeno (MoO ₃)	0,71
	Sulfato Cúprico (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	1,57
	Nitrato de cobalto (Co (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O)	0,49
8	Ácido bórico (H ₃ BO ₃)	11,4
9	EDTA (C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈)	50
	Hidróxido de potasio (KOH)	31
10	Sulfato ferroso (FeSO ₄ ·7H ₂ O)	4,98
	Ácido sulfúrico concentrado (H ₂ SO ₄)	1

Fuente: Andersen, 2005, p.437.

Para la preparación del medio de cultivo BBM de la solución madre (1-6) se toma 10 mL de cada componente y de la solución 7-10 un mililitro, esta se aforará en un 1L de agua destilada o desionizada (Andersen, 2005, p.437):

Tabla 7-1: Composición del medio de cultivo BBM

Solución madre 1-6	10 ml
Solución madre 7-10	1 ml

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Y posteriormente se ajustará a un pH de 7,1 valor óptimo para el crecimiento de las microalgas.

2.1.6. Ley de Ohm

La generación de voltaje en una CCM se calcula con la ley de Ohm y se determina con la siguiente ecuación: (Torres, Estrada, 2018, p.1)

$$V = I \times R$$

Ecuación 1-2: Ley de Ohm

Donde:

I es la corriente que pasa a través del conductor

V es el voltaje medido a través del conductor

R es la resistencia del conductor

2.1.7. Remoción de metales pesados

El porcentaje de remoción de los metales pesados será calculado con la siguiente fórmula propuesta por Vela, Guamán, González (2019, p. 921):

$$Pr = \frac{(Cf_t \times 100)}{Co_t} - 100$$

Ecuación 2-2: Remoción de metales pesados

Donde:

Pr es el porcentaje de remoción del metal pesado.

Co la concentración inicial de un tiempo determinado t.

Cf la concentración final de un tiempo determinado t.

2.2. Marco Conceptual

2.2.1. Celda de combustible microbiana (CCM)

Las celdas de combustible microbianas son dispositivos de laboratorio utilizadas para generar energía a partir de microorganismos, esto se da en ciertas condiciones en las cuales los microorganismos transfieren los electrones que producen en su actividad metabólica a un electrodo comúnmente llamado ánodo y luego son transferidos al cátodo con un aceptor final de electrones como el oxígeno (Hincapié, 2014, p.10).

2.2.2. Celda de combustible microbiano de cámara única (SMFC)

Una SC-MFC está compuesta por un par de cámaras una aeróbica y otra anaeróbica en un solo compartimiento, en medio de las cuales hay un separador llamado membrana intercambiadora de protones y en las dos cámaras se instala un electrodo (ánodo y cátodo), en la cámara anaeróbica se ubica el electrodo ánodo y en la cámara aeróbica se ubica el electrodo cátodo (Revelo et al., 2013, pp.17-28).

En la cámara anódica se puede suministrar sedimentos activos y agua residual que es la capa inferior de la cámara de celda única donde los microorganismos metabolizaran el sustrato orgánico generando electrones y H^+ , debajo de estos sedimentos se colocara el electrodo anódico, mientras que el cátodo se ubica en la parte superior de la SC-MFC con el objetivo que esta favorezca las relaciones entre el oxígeno atmosférico, electrones y los H^+ que se difunden a través de la membrana de intercambio protónico (Logroño et al., 2015, p.63).

2.2.3. Fibra de Carbono

Es un componente desarrollado por fibras compuestas especialmente de átomos de carbono que tienen un diámetro de 10 a 50 micrómetros, lo que esto proporciona una resistencia muy alta y son buenos conductores eléctricos y tienen un área de superficie para que se pueda formar la biopelícula de microalgas o biopelículas microbianas (Nava y Castillo, 2018, p.29).

2.2.4. Ánodo

Es un electrodo en el cual se producen reacciones de oxidación de las especies presentes en el medio y mediante este proceso se desprenden o pierde electrones usualmente se lo relaciona con el polo positivo, pero su polaridad puede variar dependiendo del dispositivo utilizado teniendo en cuenta el flujo y la dirección de la corriente eléctrica (Silva y Peña, 2020, p.20).

2.2.5. Cátodo

Es el electrodo que tiene carga negativa en el cual se producen reacciones de reducción de las especies presentes en el medio y es el encargado de receptor los electrones, una corriente eléctrica se transportara del ánodo hacia el cátodo debido a que existe una diferencia en su potencial en los dos electrodos (Silva y Peña, 2020, p.20).

2.2.6. Membrana Intercambiadora de Protones (MIP)

La MIP puede evitar el paso de electrones desde la cámara anódica a la catódica y solo permite el paso de protones, comúnmente para esta membrana es utilizado el Nafion 17 pero también existen otros productos de más fácil acceso económico como es el papel celofán que puede también ser utilizada como MIP (Ñacato, 2018, pp.13-14).

2.2.7. Bioenergía

Se refiere a la energía renovable que es producida a partir de diversas fuentes biológicas, en la actualidad existen varias formas de aprovechar esta energía que mediante sistemas bioelectroquímicos donde los sustratos orgánicos se convierten en electrones estos pueden ser recuperados directamente produciendo bioelectricidad (Sepúlveda y Asprilla, 2015, p.461).

2.2.8. Metal pesado

Es un metal que tiene un alto peso específico y pueden llegar a ser tóxicos al superar ciertos umbrales, su presencia en la corteza terrestre es inferior al 0,1 % aunque también se pueden encontrar en bajas concentraciones en la corteza. Algunos de los metales pesados que se presentan normalmente son el Hg, As, Pb (Méndez et al., 2009, p.10).

2.2.9. Microalgas

Son organismos eucariotas que poseen un solo núcleo y mediante la fotosíntesis pueden convertir la energía luminosa en energía química. Las condiciones óptimas para el cultivo de microalgas varían dependiendo la especie (Fidalgo et al., 2019, pp.458-460).

2.2.10. *Pleurococcus* sp

Es una especie de microalgas verdes que pertenece a la familia Chaetophoraceae. En su morfología presentan colonias redondas que forman delgados tapetes verdes sobre superficies húmedas. Habitan en agua dulce, suelos y cortezas de los árboles. En el Ecuador se encuentran en la laguna de Rodeococha del Parque Nacional Llanganates (Guamán y González, 2016, p.80).

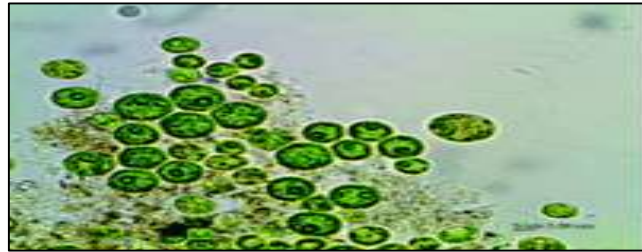


Ilustración 1-2: *Pleurococcus* sp. en microscopio óptico 50x. Escala 5 um

Fuente: Guamán y González, 2016, p.80.

2.2.11. *Biopelícula*

Son comunidades de microorganismos que presentan una adherencia a superficies sólidas, tejidos vegetales y animales que pueden tener las condiciones óptimas para la formación de la biopelícula a medida que responden a condiciones ambientales (Campuzano et al., 2017, p.40).

2.2.12. *Biorremediación*

Proceso biotecnológico que se utiliza para convertir contaminantes orgánicos e inorgánicos en compuestos con poca o en el mejor de los casos con ninguna contaminación, estos procesos son empleados para remediar suelos, agua o también se pueden realizar procesos más complejos como es la producción de bioelectricidad (Campuzano et al., 2017, p.45).

2.2.13. *Agua residual minera*

En la industria minera, las aguas residuales se pueden generar de varias maneras, dependiendo de factores como el proceso de tratamiento, si la explotación minera se realiza de forma subterránea o a cielo abierto; el agua de mina muchas veces contiene varios componentes y es susceptible a la contaminación ya que puede contener metales disueltos, ácidos libres, metales pesados o productos químicos de alta salinidad (Muñoz, 2020, p.275).

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA

3.1. Hipótesis y especificación de las variables

3.1.1. Planteamiento de hipótesis

3.1.1.1. Hipótesis General

La microalga *Pleurococcus sp* como biocatalizador en celdas de combustible microbiano tienen influencia sobre la generación de bioelectricidad.

3.1.1.2. Hipótesis Específicas

- Se puede aislar y cultivar las microalgas *Pleurococcus sp* extraídas de la Laguna Rodeococha del Parque Nacional Llanganates
- Es posible demostrar la influencia de la microalga *Pleurococcus sp* como biocatalizador en Celdas de Combustible Microbiano para la producción de bioelectricidad.
- Es posible calcular el porcentaje de remoción de metales pesados como Hg, Pb y Cu en las Celdas de Combustible Microbiano.

3.1.2. Identificación de variables

- **Variables dependientes:** Potencial generado de bioelectricidad y Eficiencia de remoción de metales pesados
- **Variables independientes:** Composición de las celdas de combustible microbianas en función de la concentración celular de microalgas en su biopelícula.

3.2. Tipo y Diseño de Investigación

La generación de bioelectricidad mediante celdas de combustible microbianas usando aguas residuales de minería aurífera con *Pleurococcus sp* como biocatalizador en la cámara catódica, se realiza por el método de investigación mixta debido a que los resultados serán presentados mediante valores numéricos, según el objetivo de estudio se considera aplicativa, según el nivel de profundización en el objeto de estudio se considera explicativa ya que describe el fenómeno

que ocurre en la celda de combustible microbiana por la actividad del biofilm formado con los microorganismos de los relaves mineros en la cámara anódica y la microalga *Pleurococcus sp* en la cámara catódica para la generación de Bioelectricidad, según la manipulación de variables es un diseño experimental DCA ya que se estudia la variable independiente composición de las celdas de combustible microbianas en función de la concentración celular de microalgas y la variable dependiente generación de bioelectricidad y remoción de metales pesados, mismos que va ser generados durante la investigación, según el tipo de inferencia es considerada hipotética-deductiva porque se pretende relacionar la remoción de los metales pesados con la producción de bioelectricidad, según el periodo temporal es transversal ya que el análisis de la variable respuesta se realiza en un periodo determinado.

3.3. Unidad de Análisis

La unidad de análisis en la presente investigación son Celdas de Combustible Microbianas, las cuales están constituidas por un ánodo (biofilm de microorganismos de relaves mineros), un cátodo (biofilm de *Pleurococcus sp*), una membrana de intercambio de protónico (papel celofán), sustrato (agua residual de minería aurífera), la misma se estudia bajo ciertas condiciones óptimas para examinar el comportamiento de cada una de las CCM respecto a cada configuración y sustrato administrado, con el propósito de que cada una genere un voltaje representativo.

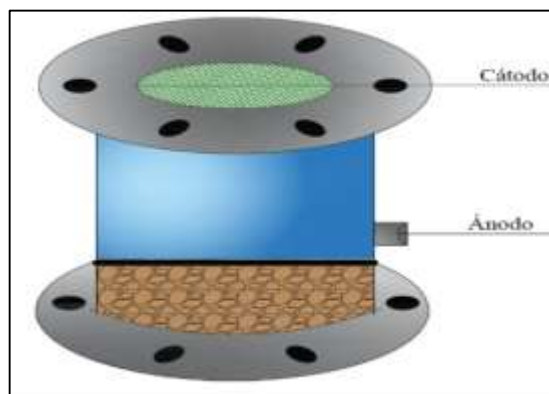


Ilustración 1-3: Configuración de la CCM

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

3.4. Población de estudio

La población de estudio fue el agua residual de salida de las actividades mineras recolectadas en el sector denominado Nambija ubicado en la provincia de Zamora Chinchipe, cantón Zamora, parroquia San Carlos de las Minas, a 2600 msnm. Cuenta con un área aproximada de 69 has Según el Censo del año 2010, tiene una población de 91 376 (GAD Zamora Chinchipe, 2019, p.1).



Ilustración 2-3: Mapa de la zona minera del catón Zamora

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Para el presente diseño experimental se utilizaron soluciones de medio de cultivo BG-11 con diferentes concentraciones celulares de microalgas: $2,63 \times 10^8$ cell/mL para la CCM1 y $3,325 \times 10^8$ cell/mL para la CCM2 y la CCM3, las mismas que fueron el punto de partida para la formación de las biopelículas.

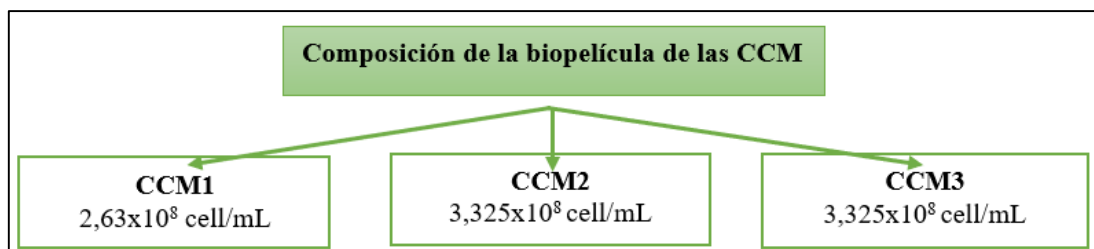


Ilustración 3-3: Composición de biopelícula en celdas de combustible microbiana

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

3.5. Tamaño de la Muestra

Para el presente diseño experimental se realizó un muestreo compuesto del agua residual de acuerdo a la NORMA INEN 2169:2013: Agua, Calidad del agua, Muestreo, Manejo y

Conservación de muestras procedente de las actividades mineras desarrolladas por la asociación de mineros artesanales ASONAMBILE del sector San Carlos de las Minas en el cantón Nambija. Se tomó un volumen de 125 ml por celda como son 4 celdas se necesitó un volumen total de 1000 ml para las dos fases, los mismos que fueron tomados en el punto de descarga del agua residual hacia la quebrada y 150 g de los relaves mineros para cada celda con un total de 600 g. Además, se necesitó un volumen de 1L para el análisis físico- químico y 500 ml para el análisis microbiológico, con un total de 5000 ml de agua residual minera. Para análisis microbiológicos de los relaves mineros es necesario 500 g.

3.6. Selección de la muestra

El tipo de muestro fue probabilístico simple debido a que todos los elementos de la población tienen la probabilidad de ser escogidas en esta investigación, en este caso el agua residual minera que se recolectó de manera aleatoria.

3.7. Lógica de la Investigación

3.7.1. Análisis e Interpretación de la Investigación

La investigación fue llevada a cabo en cinco pasos:

- Primer paso fue al aislamiento y cultivo de las microalgas *Pleurococcus sp*
- El segundo paso fue la configuración y funcionamiento de las celdas de combustible microbiana
- El tercer paso fue el monitoreo de las Celdas de Combustible microbiana
- En el cuarto paso se llevó a cabo los análisis fisicoquímicos de las muestras de agua residuales y sedimentos de la minería aurífera.
- En el quinto paso se realizaron análisis microbiológicos de las muestras de agua residuales y sedimentos de la minería aurífera.

3.7.2. Primer paso

3.7.2.1. Muestreo de microalgas

El muestreo se realizó de acuerdo con la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2169:2013: Agua. Calidad del Agua. Muestreo, manejo y conservación de muestras. (INEN 2013). Las

muestras de agua se recolectaron en botellas de vidrio color ámbar de 1L previamente esterilizadas y se almacenaron a una temperatura de 4°C para su conservación y transporte, estas fueron extraídas de la Laguna Rodeococha del Parque Nacional Llanganates, que se ubica en las coordenadas UTM según el datum WGS 84 Zona 17 Sur descritas a continuación:

Tabla 1-3: Puntos de recolección de muestras de agua en la Laguna Rodeococha.

Punto	Longitud	Latitud	Altitud	Parámetros in situ
1	793427	9877542	3633	CE: 78 μ s °T: 18,8 °C TDS: 39 ppm PH: 7,1 Hora: 12:35 pm
2	793590	9877525	3635	CE: 297 μ s °T: 17,8 °C TDS: 148 ppm PH: 7,2 Hora: 1 pm
3	793348	9877561	3642	CE: 52 μ s °T: 15,7 °C TDS: 25 ppm PH: 7,1 Hora: 1:15 pm

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Se recolectó muestras de los tres puntos que se visualizan en el mapa, debido a ser una zona pantanosa de difícil acceso, por lo cual se tomó muestras en la orilla de la laguna.

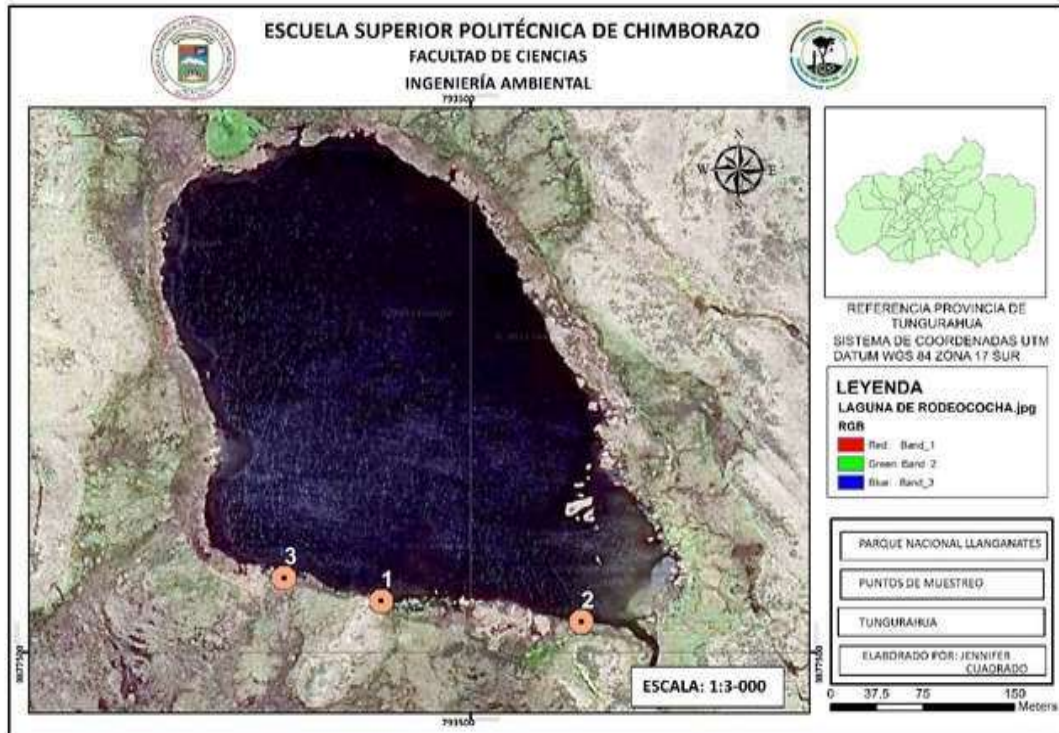


Ilustración 4-3: Puntos de muestreo en la Laguna de Rodeococha del Parque Nacional Llanganates

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Los parámetros in situ (conductividad eléctrica, temperatura, sólidos totales disueltos, pH) fueron tomados con un multiparámetro. Todas las muestras fueron colectadas bajo el permiso N° MAAE-ARSFC-2021-1673 concedido por el Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica.

3.7.2.2. Cultivo y aislamiento

Las muestras se cultivaron en medios selectivos BG11 y BBM al 1,5% de agar. Para ellos se sembraron 0,1 mL de agua siguiendo la técnica de siembra por extensión dispersando la muestra con un asa de Digralski estéril en las cajas Petri. Posteriormente las cajas se incubaron por 15 días a una temperatura de 25 °C, con periodos de luz y oscuridad de 12 horas cada uno y con una intensidad lumínica de 1200 luxes. Después de 15 días se observó colonias verdes individuales y definidas, las mismas que se replicaron bajo las mismas condiciones en medio de cultivo BBM con agar. El proceso de repique de las colonias se repitió hasta obtener cultivos axénicos observados a través de un microscopio.

3.7.2.3. Identificación de microalgas

Se tomaron las colonias aisladas para identificar los grupos de microalgas presentes. Para lo cual se observaron los caracteres morfológicos que se compararon con claves taxonómicas

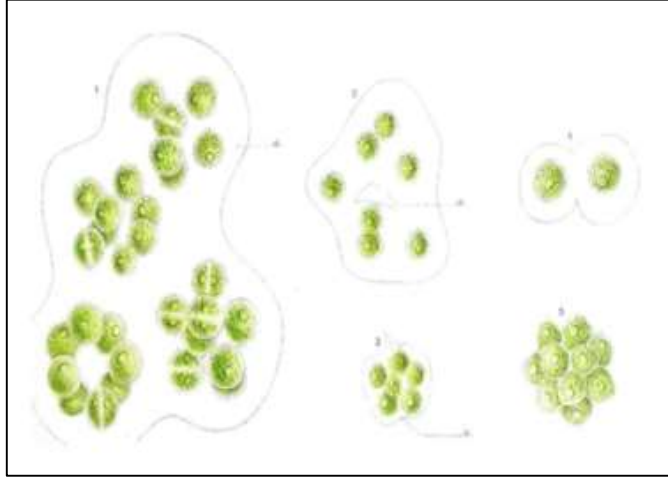


Ilustración 5-3: Clave taxonómica *Pleurococcus*

Fuente: Snow, 1903.

Para la verificar que las microalgas *Pleurococcus sp* pertenezcan a la división Chlorophyta se realizó una prueba bioquímica, ya que este tipo de algas tienen como sustancia de almacenamiento almidón formado por amilasa y amilopectina como en plantas superiores, para lo cual se empleó en el medio de cultivo una prueba de Lugol.

3.7.2.4. Crecimiento y obtención de biomasa

Las microalgas aisladas *Pleurococcus sp* fueron inoculadas en tubos de ensayo con diferentes medios de cultivo (BBM, BG11 y Nitrofoska foliar) que estimularon su crecimiento. Posteriormente se diseñó fotobiorreactores de hasta 3 litros para la producción de biomasa, se controló las condiciones de laboratorio como la temperatura de 25 °C, periodos de luz y oscuridad de 12 horas cada uno, una intensidad lumínica de 1500 luxes y un suministro de aire. Para la curva de crecimiento de biomasa de realizó un conteo diario de las células en crecimiento utilizando la cámara de Neubauer y la Ecuación 1-3.

$$\text{Concentración (cell/mL)} = \frac{\text{Total de células} \times 10000}{\text{Número de cuadros} \times \text{dilución}}$$

Ecuación 1-3: Concentración celular por mililitro

3.7.3. Segundo paso

3.7.3.1. Muestreo de agua y relaves de la minería aurífera

Las muestras de lodo y agua residual de la minera se tomaron de los canales de salida del proceso de extracción de oro, las muestras de agua se colocaron en botellas ámbar estériles y las muestras de lodo fueron colocadas en fundas Ziploc; debidamente etiquetadas y su almacenamiento fue a 4 °C en un cooler para su posterior traslado hasta Riobamba y sus análisis correspondientes.



Ilustración 6-3: Recolección de muestras

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

3.7.3.2. Condiciones para el funcionamiento de las celdas de combustible microbianas

En este estudio se utilizaron celdas de combustible microbianas de una sola cámara (SMFCs) con el cátodo al aire. Las SMFCs son de láminas de vinilo de 5 mm de grosor, de forma redonda, con un diámetro de 12 cm, con volumen de trabajo de 175 ml por cada celda. La cámara del ánodo y del cátodo se separa por papel celofán entre electrodos.

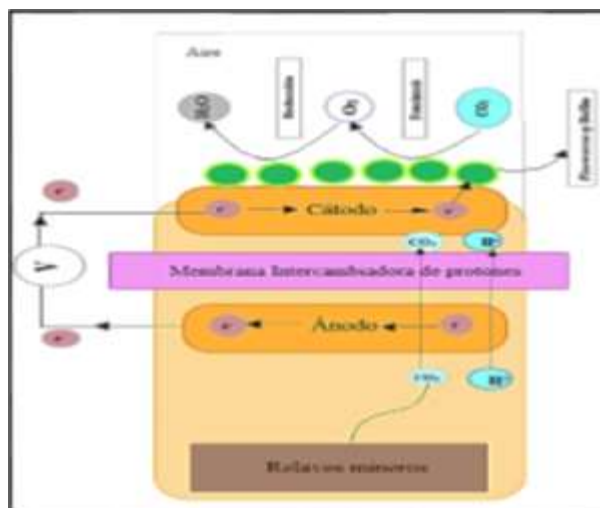


Ilustración 7-3: Configuración de las CCM

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

El ánodo se pre trató con el objetivo de mejorar la formación del biofilm de microorganismos autóctonos de los relaves mineros, a través del siguiente proceso: se remojo en acetona pura en la noche y al siguiente día se lavó 5 veces en agua destilada, posteriormente se remojo en una solución con un volumen 500 mL que contenía: peróxidisulfato de amonio (100 g) y ácido sulfúrico concentrado (50 ml), durante 15 minutos; después, los electrodos se calentaron durante 30 minutos en una mufla a 450 °C (Feng et al., 2010: pp. 1841-1844). Mientras que el cátodo se humedece en agua destilada en la noche con el fin de eliminar las impurezas.



Ilustración 8-3: Ánodo sumergido en solución de peróxidisulfato de amonio y ácido sulfúrico

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

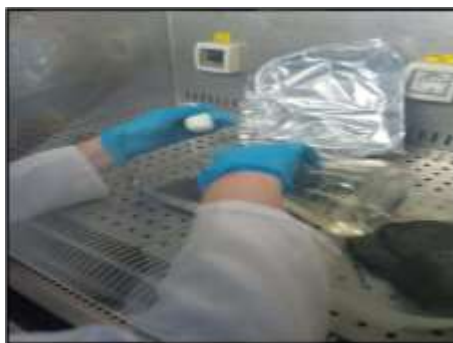


Ilustración 9-3: Cátodo sumergido en agua destilada

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

3.7.3.2. Formación del biofilm del biocátodos

La fibra de carbono pretratada fue sumergida en cultivos puros de microalgas *Pleurococcus sp* con dos concentraciones $2,63 \times 10^8$ cell/mL y $3,33 \times 10^8$ cell/mL durante un periodo de siete días con las condiciones óptimas para su desarrollo como una temperatura de 25 °C, fotoperiodos de luz de 12 horas y aireación continua, en el que se pudo observar la formación de colonias sobre la fibra de carbono de color verde.

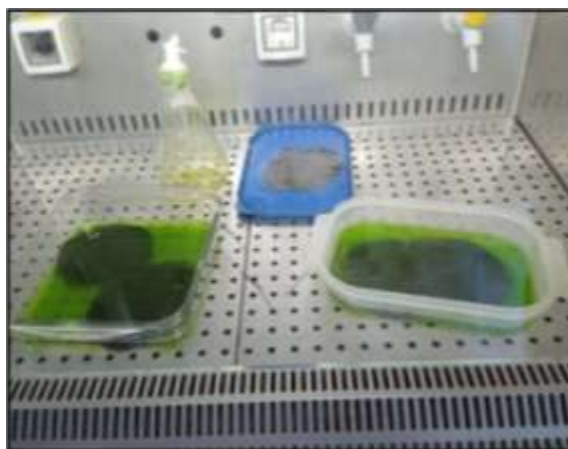


Ilustración 2-3: Electrodo cátodo sumergido en cultivo puro de microalgas para la formación de biofilm

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En las CCM armadas la cámara catódica fue alimentada diariamente con el medio de cultivo BG11 para precautelar el desarrollo y crecimiento de las microalgas, manteniéndolas activas y estables durante el periodo de experimentación

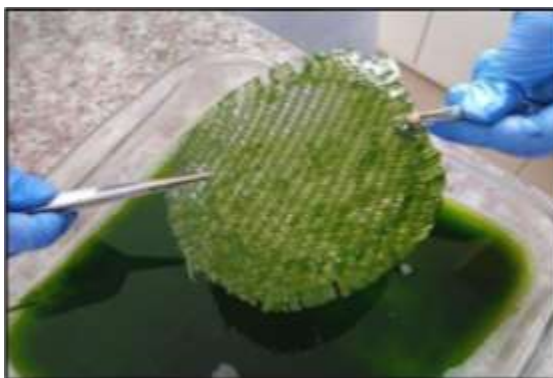


Ilustración 3-3: Biopelícula de algas *Pleurococcus* sp en el biocátodos

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

3.7.4. Tercer paso

El día 17 de mayo del 2022 se armó las celdas de combustible microbianas. Para la experimentación se armaron cuatro CCM, 3 celdas con la nomenclatura CCM1, CCM2, CCM3 que contienen en su biocátodos *Pleurococcus* sp y una celda de control CCM4 sin biofilm en la cámara catódica, se armaron el martes 17 de mayo del 2022 desde las 15 h hasta las 20 h en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias como se muestra en la ilustración 12-3.



Ilustración 4-3: Proceso de construcción de CCM

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la 13-3, se puede observar que las CCM está compuesta de una cámara anódica y una catódica separada con papel celofán como MIP (membrana de intercambio protónico), en la cámara anódica se colocó la fibra de carbono previamente tratada y los volúmenes de agua residual y lodo presentados en la tabla 2-3, en la cámara catódica de las CCM1, CCM2 y CCM3 se coloca el biocátodo con el biofilm de la microalga *Pleurococcus* sp formado en la fibra de carbono (electrodo), en la cámara catódica de la CCM4 se coloca solo el electrodo sin biofilm.



Ilustración 5-3: CCM construidas

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Tabla 2-3: Volúmenes de agua residual y lodo activado añadidos en las CCM en la etapa uno

Número de CCM	Volumen de agua residual (ml)	Peso de lodo activo (g)
CCM1	142	152.81
CCM2	143	151.34
CCM3	145	154.07
CCM4	148	152.27

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Se inoculó cuatro celdas al inicio de la experimentación con agua residual y relaves provenientes de la minera aurífera. El Voltaje generado por las CCM fueron registrados cada 1 minuto mediante el uso de un software llamado DAQ NI USB 6212 y un ordenador, el tiempo total de monitoreo fue de 22 días, siendo la primera fase desde el 20 de mayo hasta el 30 de mayo y la segunda fase que fue desde el 01 de junio al 10 de junio, todo este proceso estuvo compuesto por dos ciclos, el primer ciclo se llevó a cabo el armado de las CCM y los análisis físico-químicos de la primera fase y una nueva alimentación de agua residual con volúmenes que se detallan en la tabla 3-3, en el ciclo dos el proceso constó de la extracción del agua de cada celda y la realización del análisis físico-químico, además en este ciclo se realizó una curva de polarización mediante el uso de resistencias externas de 1 k Ω , 2 k Ω , 5 k Ω , 6.1 k Ω , 10 k Ω y 1 M Ω . Cabe destacar que no se realizó un tercer ciclo ya que los microorganismos entran en fase de muerte y por ende los valores de voltajes obtenidos resultarían muy bajos.

Tabla 3-3: Volúmenes de agua residual añadidas a cada una de las CCM en la etapa dos

Número de CCM	Volumen de agua residual (ml)
CCM1	136
CCM2	101
CCM3	120
CCM4	134

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

3.7.5. Cuarto paso

3.7.5.1. Análisis Fisicoquímicos

- Primera etapa de análisis de agua residual

Se realizaron análisis in situ de pH, temperatura y conductividad en el momento de la toma de muestras del agua residual minera, con las cuales se armó las celdas de combustible microbianas. Los análisis químicos de las muestras de agua residual minera se realizaron en el laboratorio certificado CESTTA de la ciudad de Guayaquil. Los parámetros analizados fueron: Mercurio, Nitratos, Sulfatos, Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), Demanda Química de Oxígeno, Cobre y Plomo el método que se utilizó para cada uno se detalla en la tabla 4-3.

Tabla 4-3: Parámetros químicos analizados en la etapa uno.

ENSAYO	MÉTODO/NORMA
Mercurio	PE/AL/10 EPA 3015 A, Rev 1, 2007.
	EPA 245.1, Rev.3, 1994EPA 7470a, Rev.1, 1994.
Nitratos	PE-AL-40 Standard Methods Ed.23.2017,
	4500 NO ₃ A HACH 8039
Sulfatos	PE/AL/25 Standard Methods
	Ed.23.2017 4500 E SO ₄
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅)	PE/AL/28 Standard Methods Ed.23.2017 5210B
	HACH, Method 8166
Demanda Química de Oxígeno	PE/AL/05
	Standard Methods Ed.23.2017 5220D
Cobre	PE/AL/17
	EPA 200.7 ICP-AES Rev.4.4 1994
Plomo	PE/AL/17
	EPA 200.7 ICP-AES Rev.4.4 1994

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

- Segunda etapa de análisis de agua residual

Al día 11 se descargó el agua de cada una de las cuatro celdas (100 ml por cada celda) y se realizó una digestión ácida para cada una de las muestras y se procede nuevamente a la determinación de nuevos análisis fisicoquímicos. Entre los parámetros que se analizaron fueron: Mercurio, Nitratos, Sulfatos, Cobre y Plomo el método que se utilizó para cada uno se detalla en la tabla 5-3. El proceso fue realizado en el laboratorio de Química Instrumental y Laboratorio de Calidad del Agua.

Tabla 5-3: Parámetros químicos analizados en la etapa dos

ENSAYO	MÉTODO/NORMA
Mercurio	Standard Methods Ed.23.2017, 3112 B.
Nitratos	Standard Methods Ed.23.2017,4500 NO ₃ A HACH 8039
Sulfatos	Standard Methods Ed.23.2017 4500 E SO ₄
Cobre	Standard Methods Ed.23.2017, 3111 B
Plomo	Standard Methods Ed.23.2017, 3111 B

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

3.7.6. Quinto paso

El análisis microbiológico de las muestras iniciales y las muestras de descarga de las celdas para microorganismos anaeróbicos y aeróbicos se realizó en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH. Para la siembra de microorganismos anaerobios y aerobios, se realizaron 7 diluciones para agua y suelo respectivamente que contenían 9 mL de agua peptonada. Se realizaron las diluciones siguiendo el procedimiento detallado en la ilustración 14-3. Posteriormente se preparó el medio de cultivo PCA con el agente inhibidor acronistina para evitar el crecimiento de hongos. Se prepararon 16 cajas para conteo de aerobios en suelo y agua, 16 cajas para anaerobios, por lo cual se vertió 20 mL en cada caja petri para conteo de aerobios y 30 mL para el conteo de anaerobios y para la siembra se eligieron las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-5} y 10^{-6} . En la siembra de microorganismos se vertió 0,1 mL de cada dilución en cada caja petri anteriormente etiquetada, se extendió la muestra con una espátula de Drigalski en toda la superficie del medio de cultivo previamente enfriado. Mientras que para la siembra de anaerobios se añadió 1 mL en cada caja petri y luego se vierte los 30 mL de medio PCA tibio. Para su incubación se colocaron las cajas a una temperatura de 32 °C y las cajas para el conteo de anaerobios fueron sometidas en una condición de anaerobiosis a la misma temperatura que los aerobios. Después de 48h se realizó el conteo de aerobios y anaerobios.

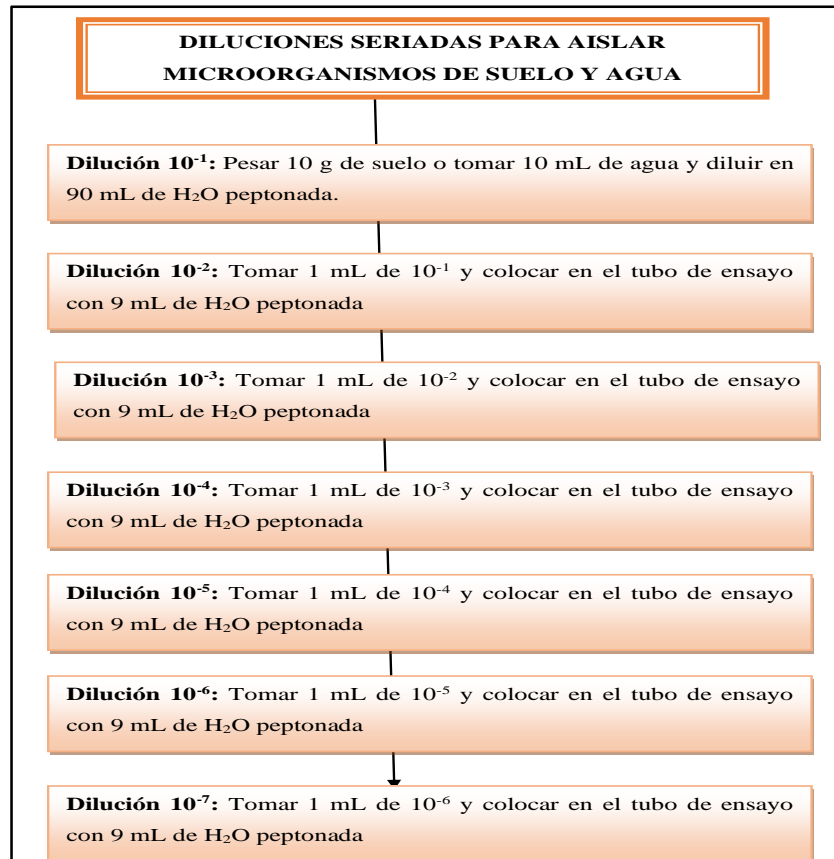


Ilustración 6-3: Determinación de microorganismos de suelo y agua

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Aislamiento, cultivo y crecimiento de *Pleurococcus sp*

4.1.1. *Parámetros in situ de la laguna Rodeococha*

El valor de pH promedio que se obtuvo en los puntos de muestreo de la laguna de Rodeococha fue de 7,1 por lo cual los medios de cultivo para su crecimiento se ajustaron a este pH, la conductividad eléctrica y los sólidos totales disueltos en el segundo punto de muestreo fue mayor ya que se encontraba en una vertiente de agua que proporcionaba mayor cantidad de minerales a la laguna en comparación a los puntos 1 y 3.

Tabla 8-4: Resultados de los parámetros insitu de la Laguna Rodeococha

Punto	PH	Conductividad (μs)	Temperatura °C	TDS (ppm)
1	7,1	78	18,8	39
2	7,2	297	17,8	148
3	7,1	52	15,7	25

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.1.2. *Prueba de Lugol*

El yodo contenido en el reactivo Lugo reacciona con el polisacárido almidón a nivel de las algas generando una coloración marrón, confirmando la presencia de Chlorophytas en la muestra de agua.



Ilustración 1-4: Prueba con positiva de Lugol

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.1.3. Aislamiento

Luego de realizar repiques consecutivos a partir de las muestras obtenidas de la laguna de Rodeococha en el Parque Nacional Llanganates en medio de cultivo BBM y BG11 con agar, se logró obtener un cultivo de colonias axénicas en placa, visualizadas en la Ilustración 2-4. Se observaron colonias de color verde, individuales y bien definidas.



Ilustración 2-4: Cultivo axénico de *Pleurococcus* sp en medio BBM

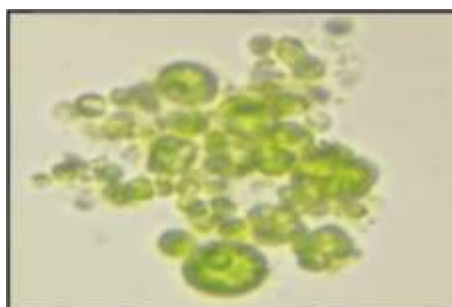
Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.1.4. Identificación morfológica

Las microalgas fueron identificadas taxonómicamente de acuerdo a su morfología *Pleurococcus* sp presenta colonias redondas, todas las células contienen un solo cloroplasto parietal de extensión considerable, equipado con un solo pirenóide. Las claves taxonómicas utilizadas para identificarla fueron (Murray, 1911, p. 256) (Guamán y González, 2016, p.1) (Snow, 1903, p.1).

Tabla 2-4: Clasificación taxonómica de las microalgas *Pleurococcus sp*

Pleurococcus sp (40X)



Taxonomía

Reino	Plantae
División	Chlorophyta
Clase	Chlorophyceae
Orden	Chaetophorales
Familia	Chaetophoraceae
Género	Pleurococcus

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.1.5. Cultivo y Crecimiento celular

Para la obtención de biomasa se realizó cultivos por triplicado en fotobiorreactores de 300 mL utilizando 3 distintos medios de cultivo BBM, BG-11 y Nitrofoska foliar 5% p/v, durante 15 días. Los cultivos se llevaron a cabo en condiciones controladas de laboratorio como la temperatura de 25 °C, periodos de luz y oscuridad de 12 horas cada uno, una intensidad lumínica de 1200 luxes y un suministro de aire. En el primer día se inoculó las muestras de los diferentes medios de cultivo con 1mL de microalgas *Pleurococcus sp* aisladas una concentración inicial de $1,5 \times 10^6$ células/mL. Durante los días posteriores se contó mediante una Cámara de Neubauer la concentración de células por cada mililitro de medio de cultivo. Como se puede observar en la tabla 3-4.

Tabla 3-4: Crecimiento celular de *Pleurococcus sp* en diferentes medios de cultivo

Fecha	Días	Concentración de células /mL		
		Medio de cultivo		
		BG11	BBM	Nitrofoska 5%
6/7/2022	0	1500000	1500000	1500000
7/7/2022	1	5350000	3550000	2030000
8/7/2022	2	7540000	5780000	2500000
9/7/2022	3	9750000	7840000	3650000
10/7/2022	4	15350000	9550000	5300000
11/7/2022	5	18050000	11750000	6800000
12/7/2022	6	21300000	14100000	8350000
13/7/2022	7	28900000	15400000	8950000
14/7/2022	8	34200000	17400000	11600000
15/7/2022	9	39600000	21200000	15600000
16/7/2022	10	45350000	25400000	19300000
17/7/2022	11	48400000	32800000	21900000
18/7/2022	12	51600000	38000000	22700000
19/7/2022	13	54300000	41800000	26200000
20/7/2022	14	57800000	44300000	28900000
21/7/2022	15	59700000	46300000	31200000
22/7/2022	16	62100000	48900000	33600000
23/7/2022	17	65800000	51200000	35100000
24/7/2022	18	68400000	53700000	37300000
25/7/2022	19	69700000	55600000	38600000
26/7/2022	20	72300000	58900000	39700000
27/7/2022	21	74600000	59800000	42600000
28/7/2022	22	76600000	63900000	46200000
29/7/2022	23	78300000	66400000	48300000

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Se puede observar en la Ilustración 3-4 que el medio de cultivo con el que *Pleurococcus sp* desarrolló una mayor tasa de crecimiento fue BG-11 (Blue Green 11) siendo este medio de amplia utilización a nivel mundial por desarrollar una mayor cantidad de biomasa algal. El segundo medio de cultivo fue BBM (Bold's Basal Medium) que tiene una composición similar en compuestos químicos al BG-11 teniendo un rendimiento medio en el crecimiento de esta microalga. El tercer medio de cultivo tuvo una tasa de crecimiento baja en comparación de los

dos medios, una ventaja de este medio es su bajo costo y que se encuentra de forma comercial en nuestro país.

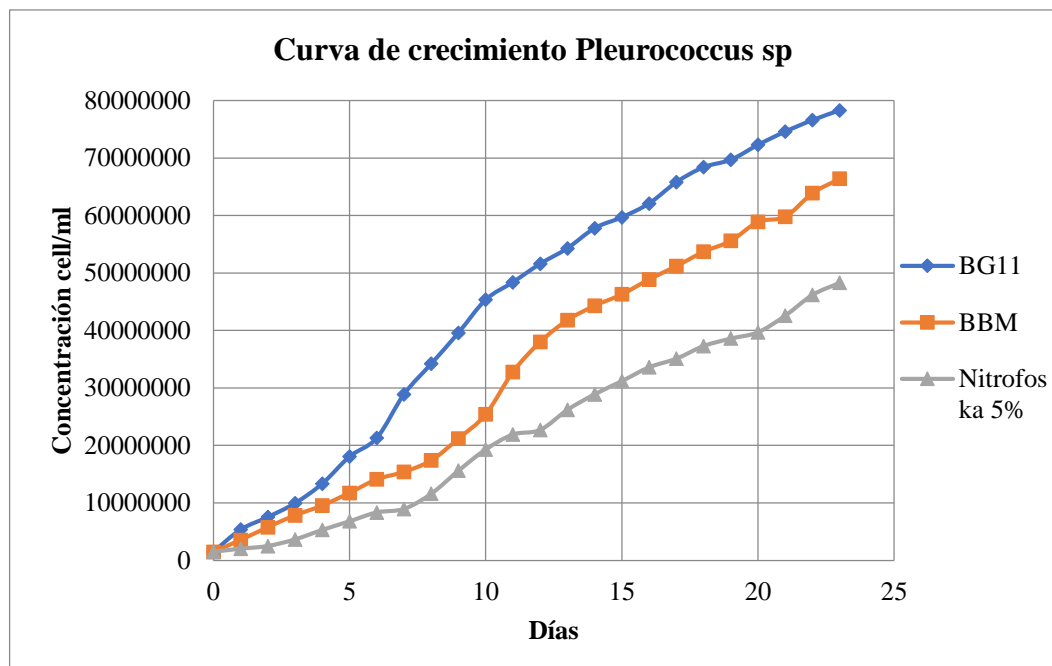


Ilustración 3-4: Curva de crecimiento de la microalga Pleurococcus sp

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.



Ilustración 4-4: Obtención de biomasa en tres medios de cultivos

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.2. Monitoreo de las celdas de Combustible microbiana

En la ilustración 20-4 se muestra el comportamiento de las CCM de la producción de voltaje en la primera etapa que tuvo un lapso de 11 días.

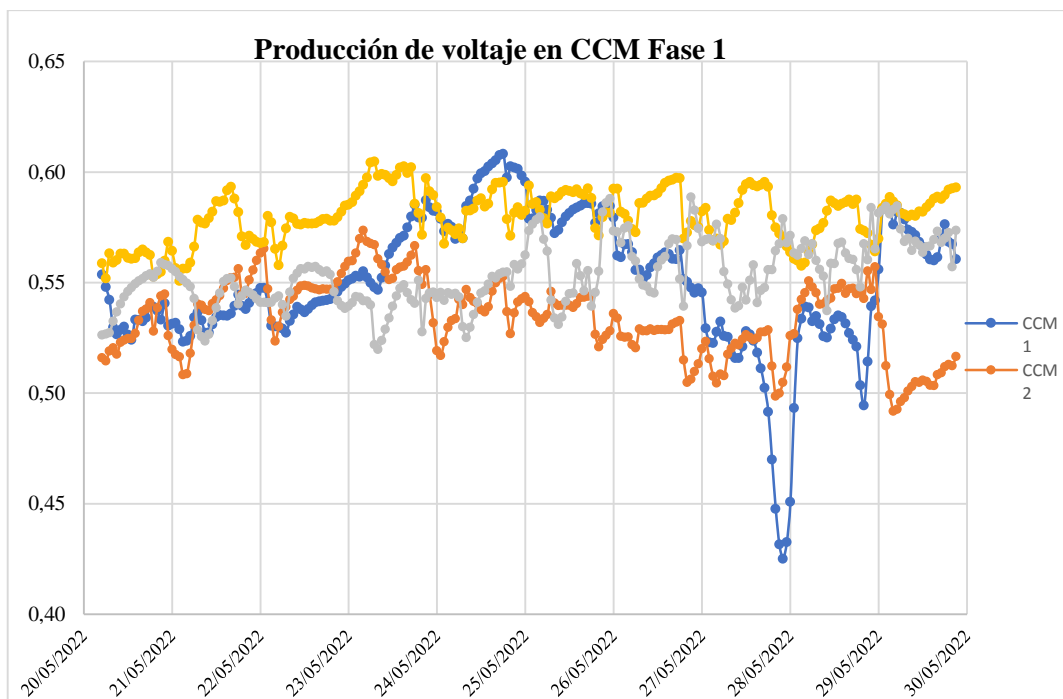


Ilustración 5-4: Producción de Voltaje en CCM durante la etapa 1

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 4-4, se muestra los promedios por día de cada una de las celdas en relación a la generación de voltaje.

Tabla 4-4: Promedio del Voltaje generado en las CCM fase 1

	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
20/05/2022	0,54	0,52	0,56	0,53
21/05/2022	0,52	0,52	0,55	0,54
22/05/2022	0,53	0,54	0,57	0,54
23/05/2022	0,55	0,56	0,59	0,54
24/05/2022	0,59	0,54	0,58	0,53
25/05/2022	0,59	0,53	0,57	0,54
26/05/2022	0,57	0,52	0,58	0,55
27/05/2022	0,54	0,52	0,58	0,56
28/05/2022	0,50	0,53	0,58	0,56
29/05/2022	0,55	0,53	0,58	0,57
30/05/2022	0,57	0,51	0,59	0,57

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 5-4 se muestra la estadística descriptiva de la fase uno para las cuatro celdas de combustible microbiano, en esta se puede observar que la celda CCM3 con biopelícula

Pleurococcus sp. es la que mayor producción de voltaje genera con un máximo de 1,0008 V con respecto a la celda de control sin biopelícula con 0,71 V. Las celdas uno y dos generan un valor máximo de 0,804 y 0,753 respectivamente.

Tabla 5-4: Valores estadísticos en celdas de Combustible Microbiana CCM fase 1

Estadística Descriptiva Fase 1				
	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
Media	0,56	0,53	0,58	0,55
Error típico	0,00014	0,00007	0,00007	0,00009
Mediana	0,56	0,54	0,58	0,55
Moda	0,53	0,54	0,56	0,55
Desviación Estándar	0,03	0,02	0,02	0,02
Varianza de la muestra	0,0010	0,0003	0,0003	0,0005
Curtosis	5,71	111,53	155,91	73,31
Coficiente de asimetría	-0,76	-5,46	-6,73	-3,88
Rango	0,7	0,65	0,89	0,61
Mínimo	0,104	0,101	0,115	0,104
Máximo	0,804	0,753	1,0008	0,71
Suma	29730,8	28413,1	30653,9	29233,9
Cuenta	53164	53164	53164	53164
Nivel de Confianza (95%)	0,00027	0,00015	0,00014	0,00018

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la ilustración 6-4 se muestra el comportamiento de las CCM de la producción de voltaje en la segunda etapa que tuvo un lapso de 10 días. En la cual se descartó la CCM1 por presentar una ruptura en su membrana intercambiadora de protones.

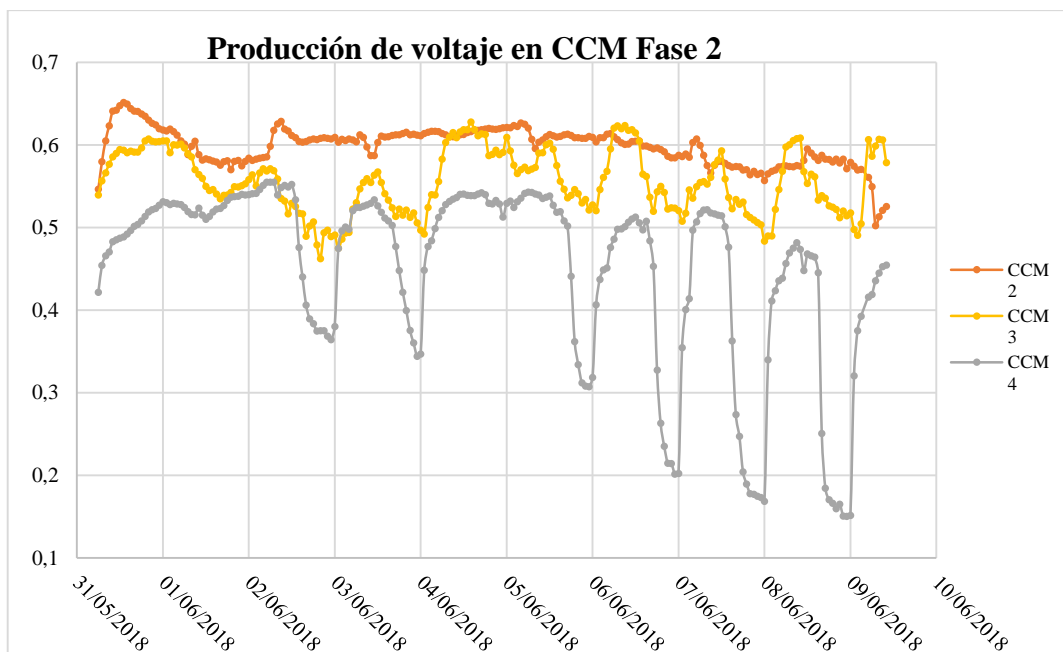


Ilustración 6-4: Producción de Voltaje en CCM durante fase 2

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 6-4, se muestra los promedios por día de cada una de las celdas en relación a la generación de voltaje durante el ciclo 2

Tabla 6-4: Promedio del Voltaje generado en celdas de Combustible Microbiana CCM fase 2

FECHA	CCM2	CCM3	CCM4
1/6/2022	0,63	0,58	0,48
2/6/2022	0,62	0,60	0,52
3/6/2022	0,60	0,55	0,53
4/6/2022	0,61	0,52	0,48
5/6/2022	0,61	0,57	0,49
6/6/2022	0,62	0,58	0,53
7/6/2022	0,61	0,58	0,45
8/6/2022	0,58	0,55	0,41
9/6/2022	0,57	0,55	0,37
10/6/2022	0,56	0,55	0,32

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 7-4 se muestra la estadística descriptiva de la fase dos para las tres celdas de combustible microbiano, en esta se puede observar que la celda CCM2 produce mayor voltaje

con un máximo de 1,08 V con respecto a la celda de control con 0,77 V.

Tabla 7-4: Valores estadísticos de celdas de Combustible Microbiana CCM fase 2

Estadística Descriptiva Fase 2			
	CCM2	CCM3	CCM4
Media	0,61	0,58	0,48
Error típico	0,0002	0,0003	0,0005
Mediana	0,62	0,59	0,51
Moda	0,61	0,59	0,50
Desviación Estándar	0,03	0,05	0,08
Varianza de la muestra	0,001	0,002	0,006
Curtosis	44,16	13,62	7,03
Coefficiente de asimetría	-2,18	-2,28	-2,61
Rango	0,98	0,74	0,67
Mínimo	0,10	0,10	0,10
Máximo	1,08	0,85	0,77
Cuenta	20654	20654	20654
Nivel de Confianza (95%)	0,00052	0,00062	0,0011

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la ilustración 7-4 se muestra el comportamiento de las CCM de la producción de voltaje durante toda la experimentación que tuvo una duración de 21 días

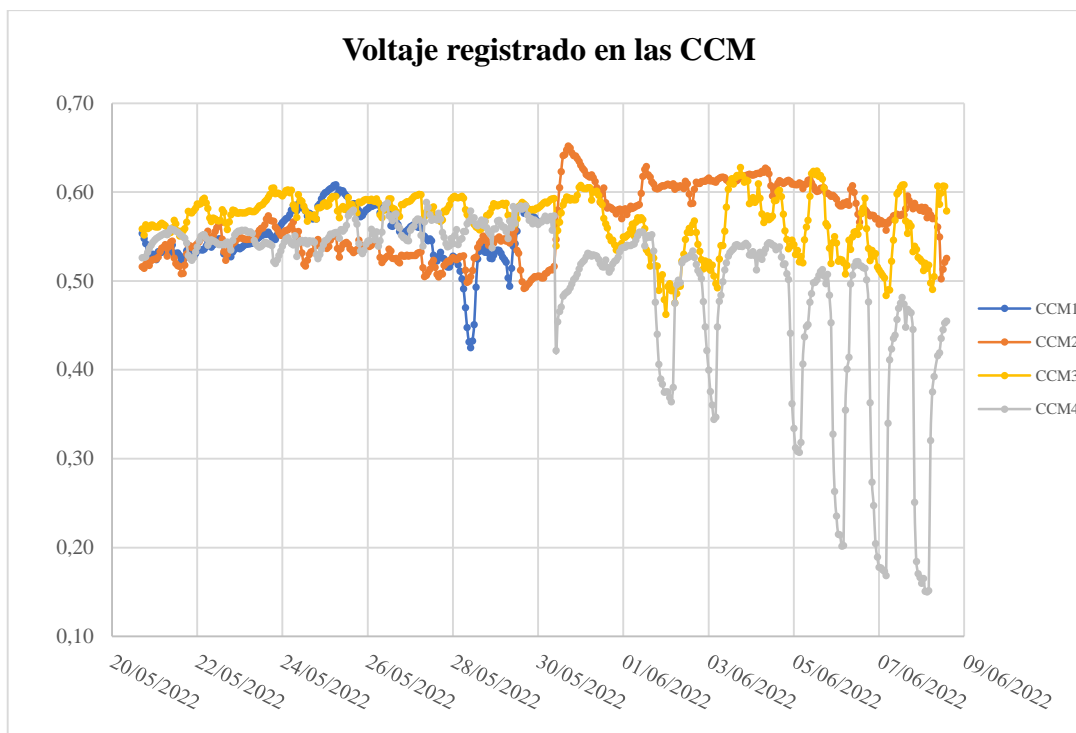


Ilustración 7-4: Producción de Voltaje en CCM durante la experimentación

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.3. Curva de polarización

En la segunda fase se realizó una curva de polarización mediante el uso de resistencias externas de 1 k Ω , 2 k Ω , 5 k Ω , 6.1 k Ω , 10 k Ω y 1 M Ω . Se registró el voltaje generado (mV) con distintas resistencias en cada una de las Celdas de Combustible Microbianas. Se utilizó la Ley de Ohm:

$$V = I \times R$$

Tabla 8-4: Voltaje generado en un circuito cerrado en las CCM

Resistencia (Ω)	CCM1 (mV)	CCM2 (mV)	CCM3 (mV)	CC4 (mV)
1000	143,3	166,7	190	130
2000	260	285	325	230
5000	530	575	615	490
6100	612,5	667,5	705	560
10000	850	920	960	740
1000000	1050	1200	1320	950

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 8-4 se observa el voltaje generado con varias resistencias (Ω), con el voltaje registrado

(mV). Se determinó la intensidad de corriente (mA) y la potencia (mW) con un área superficial de 23 cm², utilizando la ley de Ohm. Se calculo la corriente con la siguiente ecuación.

$$I = \frac{V}{R}$$

Tabla 9-4: Intensidad de la Corriente en un circuito cerrado en las CCM

Resistencias	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
(Ohmios	Corriente 1	Corriente 2	Corriente 3	Corriente 4
)	(mA)	(mA)	(mA)	(mA)
1000	143,33	166,67	190,00	130,00
2000	130,00	142,50	162,50	115,00
5000	106,00	115,00	123,00	98,00
6100	100,41	109,43	115,57	91,80
10000	85,00	92,00	96,00	74,00
1000000	1,05	1,20	1,32	0,95

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 9-4 se observa la intensidad de corriente generada en las Celdas de Combustible Microbianas en miliamperios (mA). Con la cual se determinó la densidad de la corriente en (mA/cm²) siguiendo la siguiente ecuación:

$$Densidad\ corriente \left(\frac{mA}{cm^2} \right) = \frac{Intensidad\ (mA)}{Área\ (cm^2)}$$

Tabla 10-4: Densidad de la Corriente en las CCM

Resistencias	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
(Ohmios	Densidad	Densidad	Densidad	Densidad
)	Corriente 1	Corriente 2	Corriente 3	Corriente 4
)	(mA/cm²)	(mA/cm²)	(mA/cm²)	(mA/cm²)
1000	6,23	7,25	8,26	5,65
2000	5,65	6,20	7,07	5,00
5000	4,61	5,00	5,35	4,26
6100	4,37	4,76	5,02	3,99
10000	3,70	4,00	4,17	3,22
1000000	0,05	0,05	0,06	0,04

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 11-4 se presenta la potencia generada en las Celdas de Combustibles Microbianas en mili Watts (mW) que se determinó por la siguiente ecuación:

$$Potencia (mW) = Intensidad (mA) \times Voltaje(V)$$

Tabla 11-4: Potencia generada en las Celdas de Combustible Microbianas

Resistencias	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
(Ohmios	Potencia 1	Potencia 2	Potencia 3	Potencia 4
	(mW)	(mW)	(mW)	(mW)
1000	20,54	27,78	36,10	16,90
2000	33,80	40,61	52,81	26,45
5000	56,18	66,13	75,65	48,02
6100	61,50	73,04	81,48	51,41
10000	72,25	84,64	92,16	54,76
1000000	1,10	1,44	1,74	0,90

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 11-4 se observa la potencia generada en las Celdas de Combustible Microbianas en mili Watts (mW). Con la cual se determinó la densidad de la potencia en (mW/cm²) siguiendo la siguiente ecuación:

$$Densidad\ potencia \left(\frac{mW}{cm^2} \right) = \frac{Potencia (mW)}{Área (cm^2)}$$

Tabla 12-4: Densidad de Potencia generada en las CCM

Resistencias	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
(Ohmios	Densidad	Densidad	Densidad	Densidad
	Potencia 1	Potencia 2	Potencia 3	Potencia 4
	(mW/cm²)	(mW/cm²)	(mW/cm²)	(mW/cm²)
1000	0,89	1,21	1,57	0,73
2000	1,47	1,77	2,30	1,15
5000	2,44	2,88	3,29	2,09
6100	2,67	3,18	3,54	2,24
10000	3,14	3,68	4,01	2,38
1000000	0,05	0,06	0,08	0,04

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la ilustración 8-4 se representa la curva de polarización de la primera celda de combustible microbiana con una densidad de potencia máxima de 3,1 mW/cm² con una resistencia de 10 kΩ y el voltaje máximo registrado fue de 1050 mV con la resistencia de 1 MΩ.

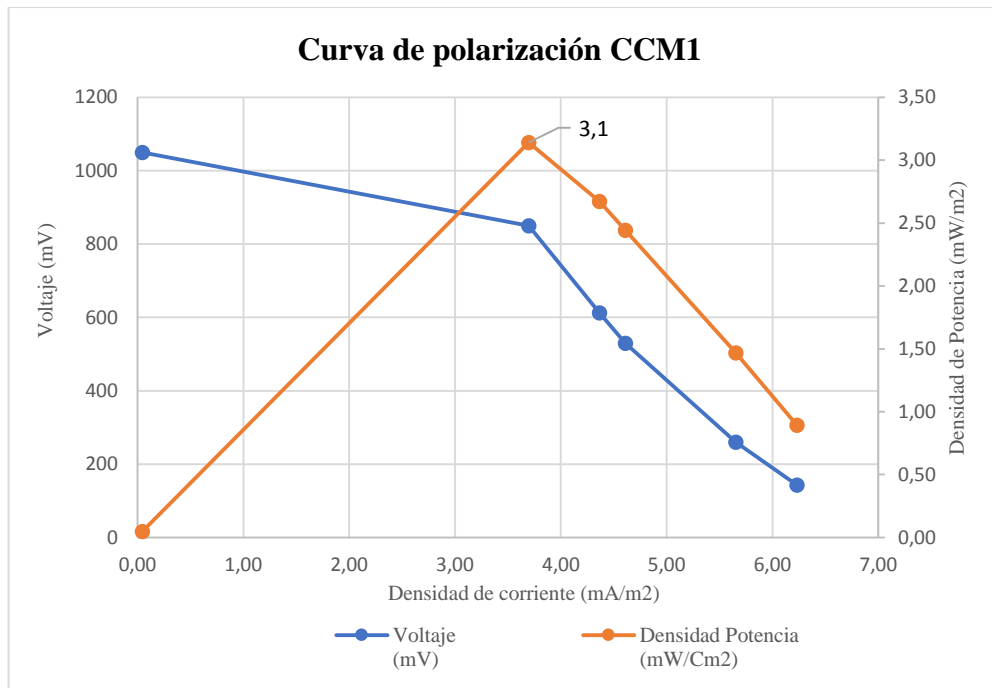


Ilustración 8-4: Grafica de la curva de polarización CCM1

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la ilustración 9-4 se representa la curva de polarización de la segunda celda de combustible microbiana con una densidad de potencia máxima de 3,68 mW/cm² con una resistencia de 10 kΩ y el voltaje máximo registrado fue de 1220 mV con la resistencia de 1 MΩ.

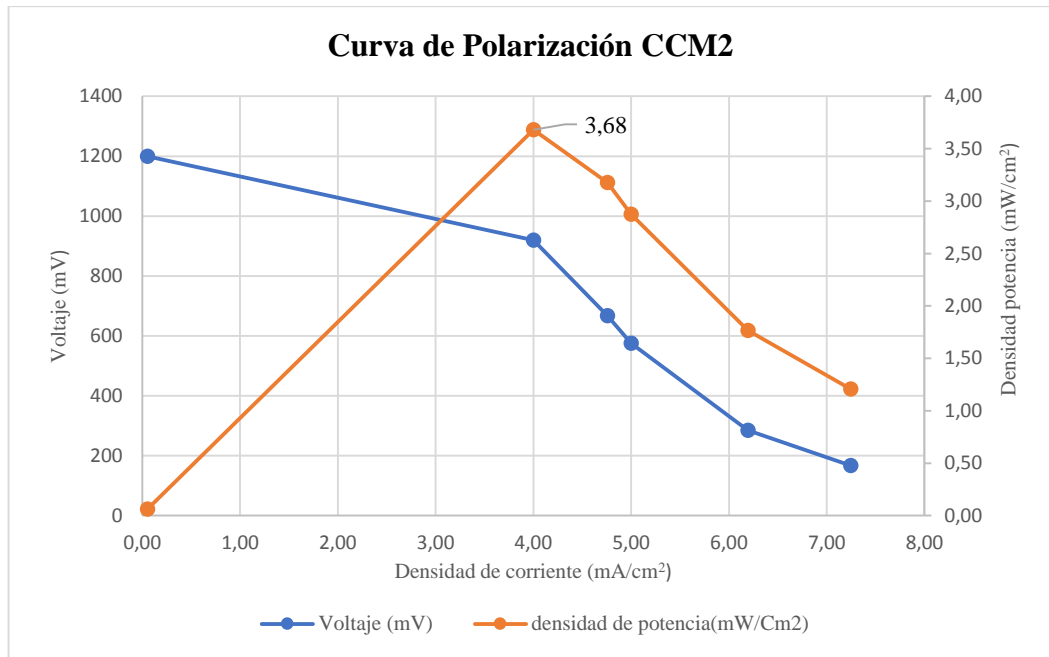


Ilustración 9-4: Grafica de la Curva de Polarización de la CCM2

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la ilustración 10-4 se representa la curva de polarización de la tercera celda de combustible microbiana con una densidad de potencia máxima de 4,01 mW/cm² con una resistencia de 10 kΩ y el voltaje máximo registrado fue de 1320 mV con la resistencia de 1 MΩ.

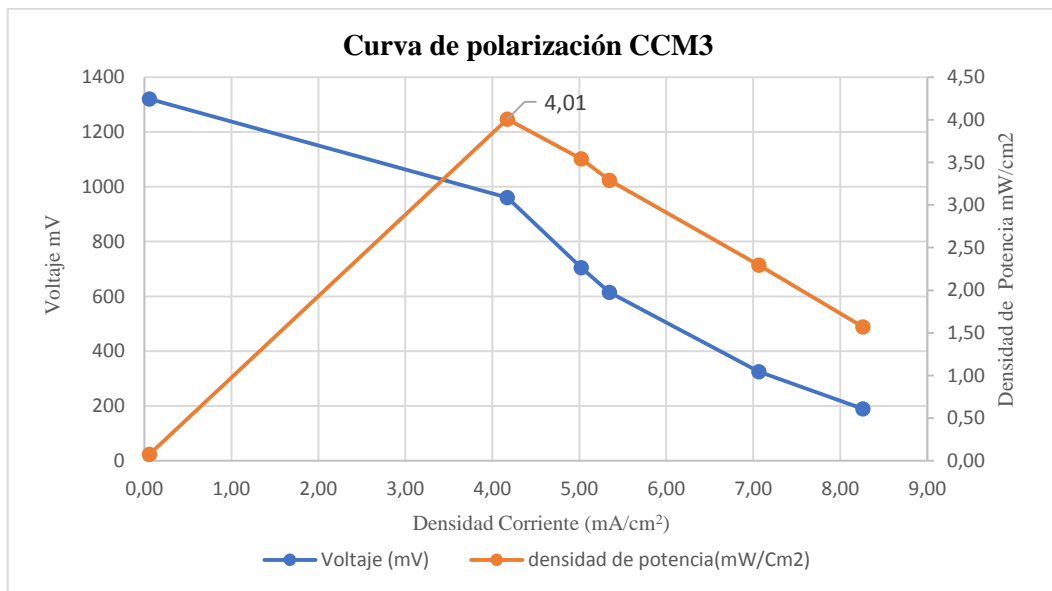


Ilustración 10-4: Grafica de la Curva de Polarización de la CCM3

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la ilustración 11-4 se representa la curva de polarización de la cuarta celda de combustible microbiana con una densidad de potencia máxima de 2,38 mW/cm² con una resistencia de 10 kΩ

y el voltaje máximo registrado fue de 933 mV con la resistencia de 1 MΩ.

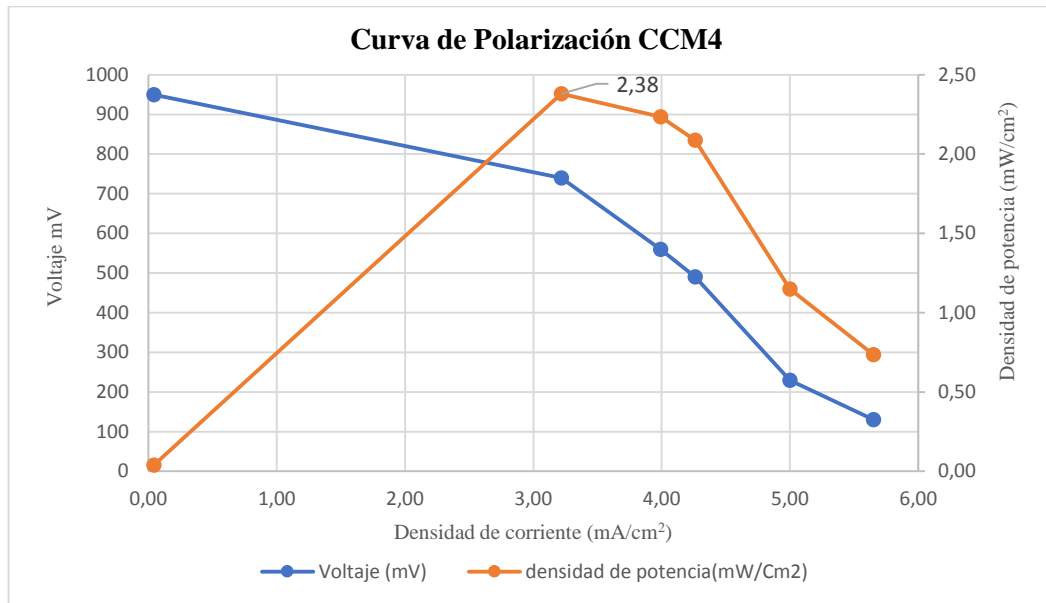


Ilustración 11-4: Gráfica de la Curva de Polarización de la CCM4

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Las Celdas de Combustible Microbianas CCM1, CCM2 y CCM4 alcanzaron la máxima densidad de potencia (mW/cm²) con la resistencia 10 kΩ. La CCM3 alcanzó la máxima densidad de potencia con la resistencia de 6,1 kΩ. Todas las CCM registraron su voltaje máximo con la resistencia de 1 MΩ.

4.4. Pruebas de hipótesis

4.4.1. Análisis de la Varianza ANOVA para la primera etapa

Se realizó el Análisis de la Varianza (ANOVA) para determinar si al menos una CCM es diferente a las otras CCM, el nivel de significancia fue de 0,05 para las hipótesis siguientes:

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

$$H_1 = \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$$

Donde la variable μ representa a las CCM. Para aceptar la Hipótesis nula H_0 el valor de la probabilidad deberá ser mayor al nivel de significancia y en el caso de ser menor al nivel de significancia se acepta la Hipótesis Alternativa H_1 .

En la tabla 25-4 se muestra los factores necesarios para realizar la prueba de ANOVA en la primera fase de la experimentación.

Tabla 13-4: Factores para determinar el Análisis de Varianza

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
CCM1	53164	29730,80	0,56	0,0010
CCM2	53164	28413,11	0,53	0,0003
CCM3	53164	30653,86	0,58	0,0003
CCM4	53164	29233,86	0,55	0,0005

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la Tabla 13-4 se puede observar que al realizar el Análisis de Varianza (ANOVA) para la primera etapa de generación de voltaje en las celdas de combustible microbianas, se concluye que siendo F calculada mayor que el valor crítico para F. Se rechaza la Hipótesis Nula y se acepta la Hipótesis alternativa por lo cual se dice que existe diferencias significativas entre los medios aritméticos de las cuatro Celdas de combustible microbiana que pueden ser atribuidos a la distinta generación de voltaje en cada uno de los tratamientos empleados.

Tabla 14-4: Análisis de Varianza (ANOVA) en la Etapa 1

Fuente de Variación FV	Suma Cuadrados SC	Grados de Libertad GI	Cuadrados Medios CM	Fc	Probabilidad	Valor crítico F
Tratamiento: Generación de Voltaje: CCM1, CCM2, CCM3 y CCM4	49,59	3	16,53	32794,89	0	2,605
Error	107,2	212652	0,0005			
TOTAL	156,79	212655	Fc= 32794,89>Ft=2,60; Rechaza Ho			

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.4.2. Análisis de la Varianza ANOVA para la segunda etapa

Se realizó el Análisis de la Varianza (ANOVA) para determinar si al menos una CCM es diferente

a las otras CCM en la segunda etapa llevada a cabo en la experimentación, el nivel de significancia fue de 0,05 para las hipótesis siguientes:

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

$$H_1 = \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$$

En la tabla 15-4 se muestra los factores necesarios para realizar la prueba de ANOVA

Tabla 15-4: Factores para determinar el Análisis de Varianza

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
CCM2	20654	12648,21	0,61	0,0015
CCM3	20654	11876,14	0,58	0,0020
CCM4	20654	9947,92	0,48	0,0061

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la Tabla 16-4 se puede observar que al realizar el Análisis de Varianza (ANOVA) para la segunda etapa de generación de voltaje en las celdas de combustible microbianas, se concluye que siendo el F calculada mayor que el valor crítico para F.

Tabla 16-4: Análisis de Varianza (ANOVA) en la Etapa 2

Fuente de Variación FV	Suma Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios CM	Fc	Probabilidad	Valor crítico F
Tratamiento: Generación de Voltaje: CCM1, CCM2, CCM3 y CCM4	187,3	2	93,65	29218,9	0	2,995
Error	198,6	61959	0,0032			
TOTAL	385,9	61961		Fc= 29218,9>Ft=2,995; Rechaza Ho		

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.5. Pruebas Post Hoc

Se ha determinado que existe diferencias entre las medias de los tratamientos en las celdas de combustible microbiana CCM mediante el Análisis de Varianza, la prueba post hoc nos permite determinar las medias que difieren en los diferentes tratamientos durante la experimentación.

4.5.1. Prueba de Tukey para la Fase 1

En la tabla se observa los factores para determinar la prueba de Tukey en la fase 1

Tabla 17-4: Factores para el cálculo Prueba de Tukey

HSD	0,000353
Multiplicador	3,63
Mse	0,000504
N	53164

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla se observa los valores promedio de cada una de las Celdas de Combustible Microbiana CCM durante la experimentación en la fase 1.

Tabla 18-4: Valores promedios de las CCM fase 1

CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
0,56	0,53	0,58	0,55

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 18-4 se aprecian las diferencias entre las medias de las celdas de combustible microbiana durante la fase 1 de experimentación.

Tabla 19-4: Diferencias medias entre las CCM en la fase 1

	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
CCM1		0,02	0,017	0,01
CCM2			-0,04	-0,02
CCM3				0,03
CCM4				

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 20-4 se observan los resultados de la prueba de Tukey en la cual se compararon las diferencias de las medias con el HSD. Se demostró que existe diferencia significativa entre las cuatro celdas de combustible microbianas (CCM1, CCM2, CCM3, CCM4) por lo cual se determina que no pertenecen a la misma población.

Tabla 20-4: Resultado de la Prueba de Tukey fase 1

	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
CCM1		Existe	Existe	Existe
CCM2			Existe	Existe
CCM3				Existe
CCM4				

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la ilustración 12-4 se puede observar la representación gráfica entre la diferencia de las medias de las celdas de combustible microbianas durante la fase 1

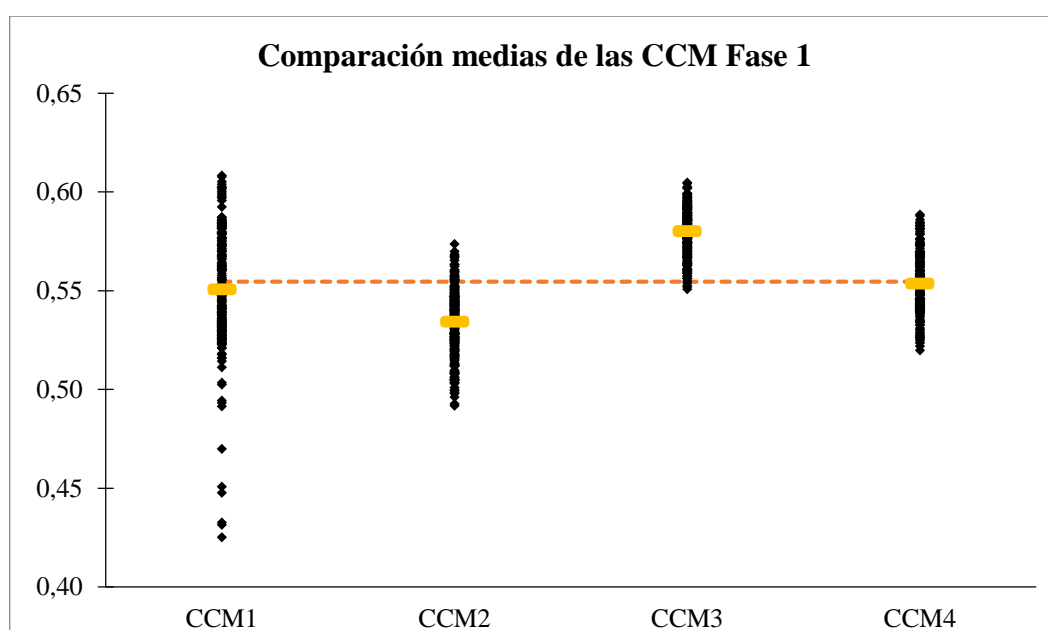


Ilustración 12-4: Comparación de las medias fase 1

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.5.2. Prueba de Tukey para la Fase 2

En la tabla 21-4 se observa los factores para determinar la prueba de Tukey en la segunda fase

Tabla 21- 4: Factores para el cálculo de la Prueba de Tukey fase 2

HSD	0,00212
Multiplicador	3,63
Mse	0,00705
N	20654

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 22-4 se observa los valores promedio de cada una de las Celdas de Combustible Microbiana CCM durante la experimentación en la segunda fase

Tabla 22-4: Valores promedios de las CCM fase 2

CCM2	CCM3	CCM4
0,61	0,58	0,48

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 23-4 se aprecian las diferencias entre las medias de las celdas de combustible microbiana durante la fase 2 de experimentación.

Tabla 23-4: Diferencias medias entre las CCM en la fase 2

	CCM2	CCM3	CCM4
CCM2		0,037	0,131
CCM3			0,093
CCM4			

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 24-4 se observan los resultados de la prueba de Tukey en la cual se compararon las diferencias de las medias con el HSD. Se demostró que existe diferencia significativa entre las cuatro celdas de combustible microbianas (CCM2, CCM3, CCM4) durante la fase 2, por lo cual se determina que no pertenecen a la misma población.

Tabla 24-4: Resultado de la Prueba de Tukey fase 2

	CCM2	CCM3	CCM4
CCM2		Existe	Existe
CCM3			Existe

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la ilustración 13-4 se puede observar la representación gráfica entre la diferencia de las medias de las celdas de combustible microbianas durante la segunda fase

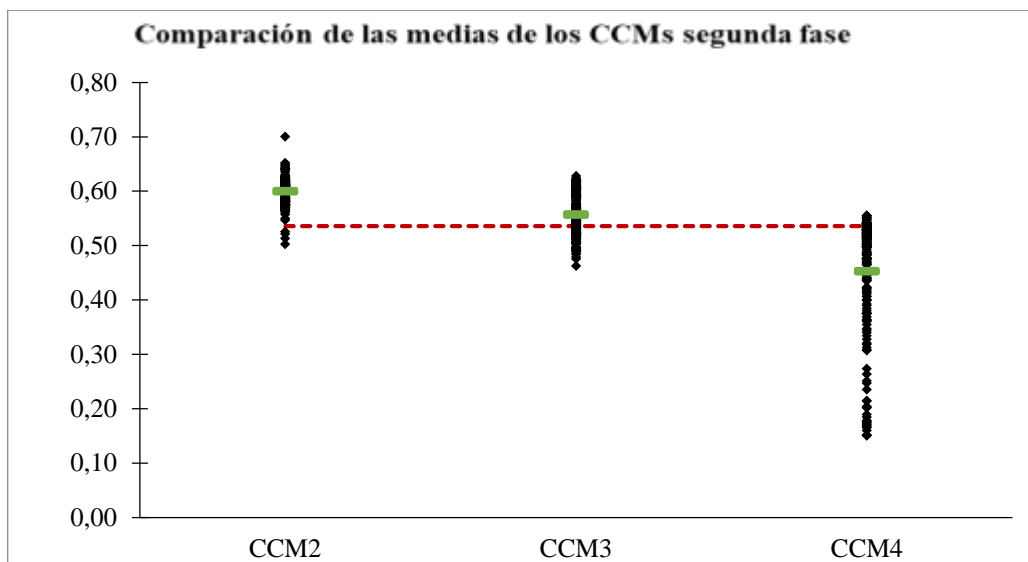


Ilustración 13-4: Comparación de las medias fase 2

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.6. Análisis Físicoquímicos

En la tabla 25-4 se tiene los análisis físicoquímicos de la muestra matriz tomada a la salida de la minera en el sector Flor del Oro en Nambija después del proceso de extracción del oro, muestra con la que se realizó el experimento.

Tabla 25-4: Análisis de agua extraída en Nambija

PARAMETRO	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LIMITE
Mercurio	mg/L	0,042	0,005
Cobre	mg/L	2,79	1
Plomo	mg/L	0,37	0,2
Nitratos	mg/L	3	--
Sulfatos	mg/L	55	--
DBO ₅	mg/L	152	100
DQO	mg/L	329	200
Ph		8,3	6-9

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Los análisis muestran que el efluente generado en la minera sobrepasa los límites establecidos en la Norma de Calidad ambiental y de descarga de efluentes: Recurso Límites de Descarga a un cuerpo de agua dulce, especialmente de los metales pesados como el Hg, Cu y Pb, la Demanda Química de Oxígeno DQO y la DBO₅ sobre pasa los valores límites.

Por lo tanto, el efluente generado no cumple con los valores límites permisibles.

En la tabla 26-4 se muestra los resultados de los análisis fisicoquímicos y su porcentaje de reducción en la CCM1 al finalizar la primera fase

Tabla 26-4: Análisis de la Fase 1 CCM1

PARAMETRO	UNIDAD	VALOR INICIAL	RESULTADO	% DE REMOCIÓN
Mercurio	mg/L	0,042	0,003505	91,65
Cobre	mg/L	2,79	0,1396	95,00
Plomo	mg/L	0,37	0,0820	77,84
Nitratos	mg/L	3	1,72	42,67
Sulfatos	mg/L	55	29	47,27
pH		8,3	7,67	7,29

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 27-4 se muestra los resultados de los análisis fisicoquímicos de la CCM2 en la fase 1 y el porcentaje de remoción con respecto a la muestra matriz.

Tabla 27-4: Análisis de la Fase 1 CCM2

PARAMETRO	UNIDAD	VALOR INICIAL	RESULTADO	% DE REMOCIÓN
Mercurio	mg/L	0,042	0,0059377	85,86
Cobre	mg/L	2,79	0,5508	80,26
Plomo	mg/L	0,37	0,0706	80,92
Nitratos	mg/L	3	5,44	52,00
Sulfatos	mg/L	55	35	36,36
pH		8,3	8,1	2,41

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 28- 4 se muestra los porcentajes de reducción de los parámetros Fisicoquímicos de la CCM3 con respecto a la muestra matriz.

Tabla 28-4: Análisis de la Fase 1 CCM3

PARAMETRO	UNIDAD	VALOR INICIAL	RESULTADO	% DE REMOCIÓN
Mercurio	mg/L	0,042	0,0140412	66,57
Cobre	mg/L	2,79	1,8371	34,15
Plomo	mg/L	0,37	0,0085	97,70
Nitratos	mg/L	3	6,12	62,67
Sulfatos	mg/L	55	26	52,73
pH		8,3	7,61	8,31

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 29-4 se muestra los porcentajes de reducción de los parámetros Físico –Químicos de la CCM4 con respecto a la muestra matriz.

Tabla 29-4: Análisis de la Fase 1 CCM4

PARAMETRO	UNIDAD	VALOR INICIAL	RESULTADO	% DE REMOCIÓN
Mercurio	mg/L	0,042	0,0148247	64,70
Cobre	mg/L	2,79	1,3436	51,84
Plomo	mg/L	0,37	0,0219	94,08
Nitratos	mg/L	3	3,4	20,00
Sulfatos	mg/L	55	22	60,00
pH		8,3	8,21	1,08

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

La CCM1 tuvo una mayor disminución en la concentración de metales pesados 91,65 % para el Mercurio y 95% para el Cobre y 77,84% para el Plomo; la CCM4 siendo la celda control que en su configuración no tiene biocatalizador *Pleurococcus sp*, tuvo mayor disminución en el Plomo con un porcentaje de 94,08%, en relación a la Muestra Matriz y mayor en comparación con las CCM1, CCM2, CCM3.

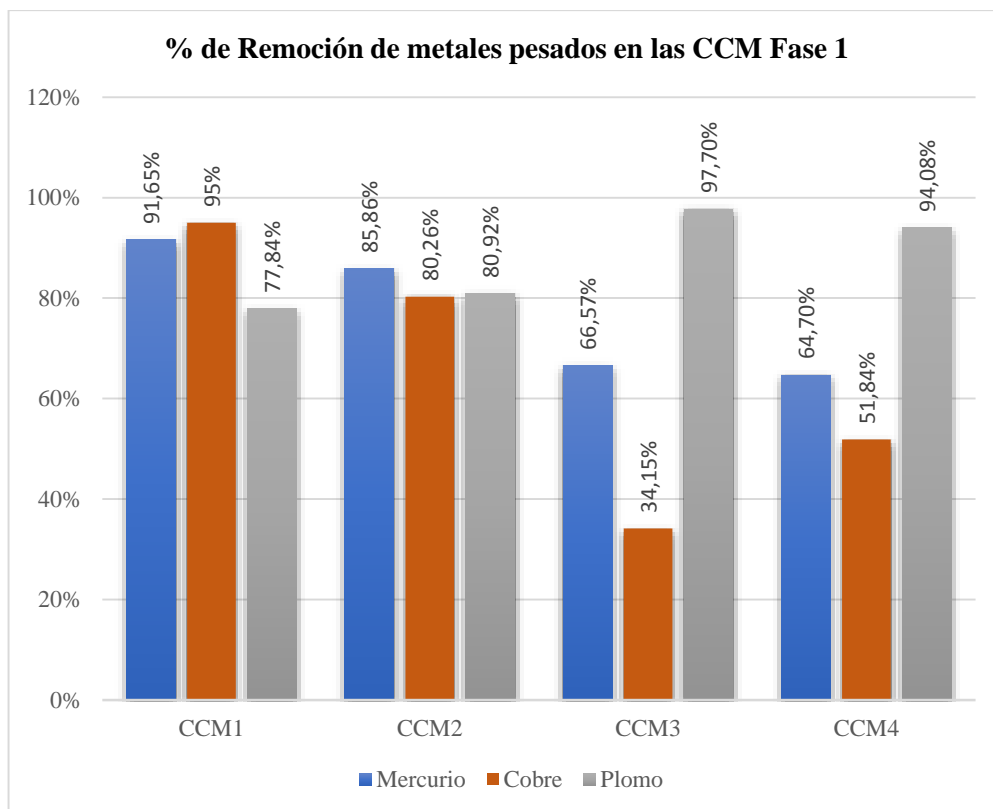


Ilustración 14-4: Gráfico de la remoción de metales pesados en la primera fase

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 30-4 se muestra los resultados de los análisis fisicoquímicos y su porcentaje de reducción en la CCM1 al finalizar la segunda fase

Tabla 30-4: Análisis de la Fase 2 CCM1

PARAMETRO	UNIDAD	VALOR INICIAL	RESULTADO	% DE REMOCIÓN
Mercurio	mg/L	0,042	0,014598	65,24
Cobre	mg/L	2,79	0,9834	64,75
Plomo	mg/L	0,37	0,3039	17,86
Nitratos	mg/L	3	1,82	39,33
Sulfatos	mg/L	55	41	25,45
pH		8,3	7,87	5,18

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 31-4 se muestra los resultados de los análisis fisicoquímicos de la CCM2 en la fase 2 y el porcentaje de remoción con respecto a la muestra matriz.

Tabla 31-4: Análisis de la Fase 1 CCM2

PARAMETRO	UNIDAD	VALOR INICIAL	RESULTADO	% REMOCIÓN
Mercurio	mg/L	0,042	0,007688	81,70
Cobre	mg/L	2,79	0,9488	65,99
Plomo	mg/L	0,37	0,039	86,14
Nitratos	mg/L	3	2,04	32,00
Sulfatos	mg/L	55	38	30,91
pH		8,3	8	3,61

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 32- 4 se muestra los porcentajes de reducción de los parámetros Fisicoquímicos de la CCM3 con respecto a la muestra matriz.

Tabla 32-4: Análisis de la Fase 2 CCM3

PARAMETRO	UNIDAD	VALOR INICIAL	RESULTADO	% REMOCIÓN
Mercurio	mg/L	0,042	0,0045077	89,27
Cobre	mg/L	2,79	0,6046	78,33
Plomo	mg/L	0,37	0,0463	87,49
Nitratos	mg/L	3	1,12	62,67
Sulfatos	mg/L	55	42	23,64
pH		8,3	7,51	9,52

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la tabla 33-4 se muestra los porcentajes de reducción de los parámetros Físico –Químicos de la CCM4 con respecto a la muestra matriz.

Tabla 33-4: Análisis de la Fase 2 CCM4

PARAMETRO	UNIDAD	VALOR INICIAL	RESULTADO	% REMOCIÓN
Mercurio	mg/L	0,042	0,0011569	97,25
Cobre	mg/L	2,79	0,13	95,34
Plomo	mg/L	0,37	0,0185	95,00
Nitratos	mg/L	3	1,84	38,67
Sulfatos	mg/L	55	36	34,55
pH		8,3	7,61	8,31

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

En la ilustración 15-4 se observa que la CCM4 tuvo una mayor disminución en la concentración de metales pesados 97,25 % para el Mercurio y 95,34% para el Cobre y 95% para el Plomo; la CCM1 tuvo menor disminución en el Plomo con un porcentaje de 17,86%, en relación a la Muestra Matriz

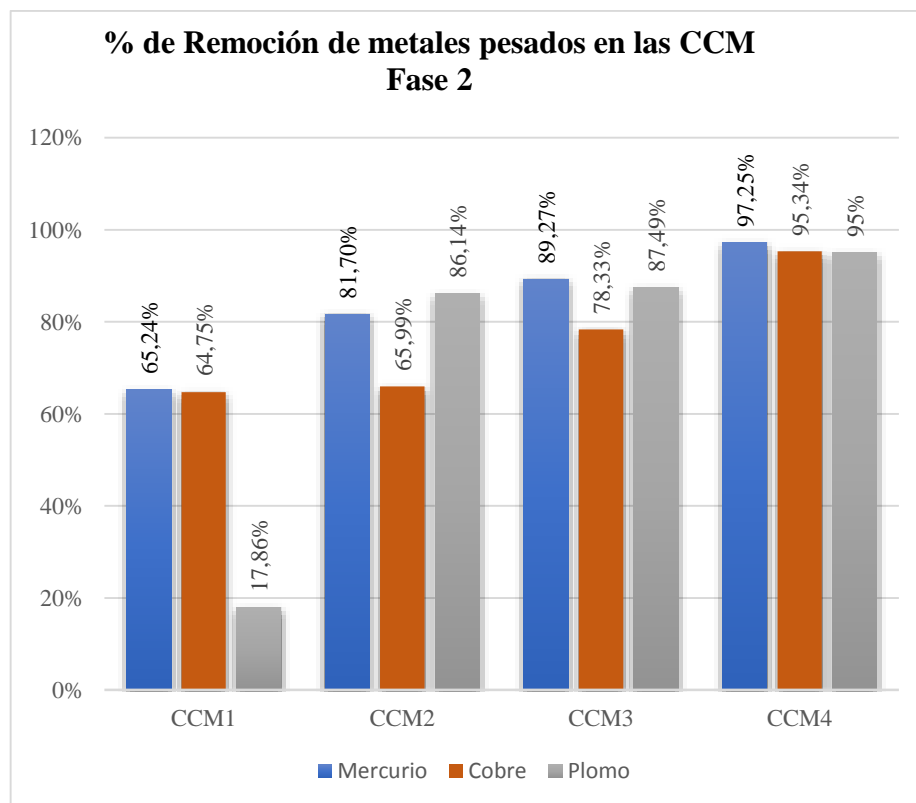


Ilustración 15-4: Porcentaje de Remoción de Metales Pesados en las CCM Fase 2

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.7. Resultados del Análisis microbiológico inicial

4.7.1. Aerobios en agua

La muestra de agua inicial de la minera de oro de Nambija contenía mayor porcentaje de microorganismos aerobios que anaerobios.

Tabla 34-4: Conteo de aerobios en la muestra agua inicial

Dilución	Numero de Colonias	Observación
10^{-2}	186	Colonias blancas
10^{-3}	101	Colonias blancas
10^{-4}	12	Colonias blancas
10^{-5}	1	Colonias blancas
10^{-6}	No existe crecimiento	
10^{-7}	No existe crecimiento	

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.7.2. Anaerobios en agua

La muestra de agua inicial de la minera de oro de Nambija contiene microorganismos anaerobios en menor cantidad.

Tabla 35-4: Conteo de anaerobios en muestra de agua inicial

Dilución	Numero de Colonias	Observación
10^{-2}	96	Colonias blancas
10^{-3}	46	Colonias blancas
10^{-4}	4	Colonias blancas
10^{-5}	3	Colonias blancas
10^{-6}	No existe crecimiento	
10^{-7}	No existe crecimiento	

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.7.3. Aerobios en suelo

La cantidad de microorganismos anaerobios en el suelo es menor que la de aerobios, puede ser por la falta de oxígeno del suelo.

Tabla 36-4: Conteo de Aerobios en la muestra de suelo inicial

Dilución	Numero de Colonias	Observación
10 ⁻²	21	Colonias blancas y unas muy grandes que no se pueden contabilizar
10 ⁻³	20	Colonias blancas pequeñas
10 ⁻⁴	19	Colonias blancas muy pequeñas
10 ⁻⁵	17	Colonias blancas
10 ⁻⁶	1	Colonia blanca grande
10 ⁻⁷	No existe crecimiento	

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.7.4. Anaerobios en suelo

La cantidad de colonias aerobias provenientes de los sedimentos de la minería del oro son mayores que la de aerobios, lo cual es muy útil en la configuración de la cámara anódica de las celdas de combustible microbiana.

Tabla 37-4: Conteo de Anaerobios de la muestra de suelo inicial

Dilución	Numero de Colonias	Observación
10 ⁻²	351	Colonias amarillas, naranjas, blancas filamentosas y una rosada
10 ⁻³	278	Colonias blancas filamentosas, colonias amarillas y naranjas.
10 ⁻⁴	140	Colonias blancas y amarillas
10 ⁻⁵	62	Colonias blancas y amarillas
10 ⁻⁶	10	Colonias blancas
10 ⁻⁷	6	Colonias blancas

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.8. Resultados del análisis microbiológico final

Se realizó un análisis microbiológico al final de la experimentación en tres diluciones 10⁻², 10⁻³ y 10⁻⁴ para el conteo de microorganismos en las celdas de combustible microbianas.

4.8.1. Aerobios y anaerobios en el agua

Tabla 38-4: Conteo de aerobios y anaerobios en agua en la CCM1

Dilución	UFC aerobios	Observación	UFC anaerobios	Observaciones
10 ⁻²	56	Colonias amarillas y blancas filamentosas	40	Colonias blancas y amarillas
10 ⁻³	38	Colonias blancas filamentosas y colonias amarillas	13	Colonias blancas
10 ⁻⁴	12	Colonias blancas	7	Colonias blancas

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Tabla 39-4: Conteo de aerobios y anaerobios en agua en la CCM2

Dilución	UFC aerobios	Observación	UFC anaerobios	Observaciones
10 ⁻²	82	Colonias amarillas y blancas filamentosas	54	Colonias blancas y amarillas
10 ⁻³	56	Colonias blancas filamentosas y colonias amarillas	28	Colonias blancas y amarillas
10 ⁻⁴	21	Colonias blancas	9	Colonias blancas y amarillas

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Tabla 40-4: Conteo de aerobios y anaerobios en agua en la CCM3

Dilución	UFC aerobios	Observación	UFC anaerobios	Observaciones
10 ⁻²	77	Colonias amarillas y blancas filamentosas	61	Colonias blancas y amarillas
10 ⁻³	48	Colonias blancas filamentosas y colonias amarillas	33	Colonias blancas y amarillas
10 ⁻⁴	15	Colonias blancas	11	Colonias blancas y amarillas

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Tabla 41-4: Conteo de aerobios y anaerobios en agua en la CCM4

Dilución	UFC aerobios	Observación	UFC anaerobios	Observaciones
10 ⁻²	69	Colonias amarillas y blancas filamentosas	52	Colonias blancas y amarillas
10 ⁻³	36	Colonias blancas filamentosas y colonias amarillas	29	Colonias blancas y amarillas
10 ⁻⁴	8	Colonias blancas	5	Colonias blancas y amarillas

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.8.2. Aerobios y anaerobios en suelo

Tabla 42-4: Conteo de aerobios y anaerobios en suelo en la CCM1

Dilución	UFC aerobios	Observación	UFC anaerobios	Observaciones
10 ⁻²	2	Colonias blancas	185	Colonias blancas, amarillas, naranjas y rosadas
10 ⁻³	No existe crecimiento	Colonias blancas	79	Colonias blancas y naranjas
10 ⁻⁴	No existe crecimiento	Colonias blancas	31	Colonias blancas y naranjas

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Tabla 43-4: Conteo de aerobios y anaerobios en suelo en la CCM2

Dilución	UFC aerobios	Observación	UFC anaerobios	Observaciones
10 ⁻²	6	Colonias blancas	201	Colonias blancas y naranjas
10 ⁻³	1	Colonias blancas	105	Colonias blancas y naranjas
10 ⁻⁴	No existe crecimiento	Colonias blancas	47	Colonias blancas y naranjas

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Tabla 44-4: Conteo de aerobios y anaerobios en suelo en la CCM3

Dilución	UFC aerobios	Observación	UFC anaerobios	Observaciones
10 ⁻²	4	Colonias blancas	195	Colonias blancas, amarillas, naranjas y rosadas
10 ⁻³	No existe crecimiento	Colonias blancas	79	Colonias blancas y naranjas
10 ⁻⁴	No existe crecimiento	Colonias blancas	26	Colonias blancas y naranjas

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

Tabla 45-4: Conteo de aerobios y anaerobios en suelo en la CCM4

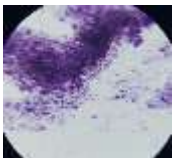

Dilución	UFC aerobios	Observación	UFC anaerobios	Observaciones
10 ⁻²	5	Colonias blancas	243	Colonias blancas, amarillas y naranjas
10 ⁻³	1	Colonias blancas	113	Colonias blancas y naranjas
10 ⁻⁴	No existe crecimiento	Colonias blancas	54	Colonias blancas y naranjas







Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

4.9. Características morfológicas de las colonias aisladas

En la tabla 46-4 se observa las características morfológicas y fenotípicas de las colonias aisladas de las celdas de combustible microbianas

Tabla 46-4: Características morfológicas

Morfología	Consistencia	Color	Tinción de Gram	Foto
Circular	Cremosa	Amarillo	Gram + 	cocos 

Circular	Cremosa	Naranja	Gram + 	cocos 
Irregular	Cremosa	Rosa	Gram + 	cocos 
Rizoide	Membranosa	Blanca	Gram + 	bacilos 

Realizado por: Cuadrado, J.; Rodríguez, G., 2022.

CAPÍTULO V

5. MARCO PROPOSITIVO

5.1. Propuesta

Durante la investigación que se desarrolló por 22 días a escala de laboratorio, se pudo evidenciar que el aumento de la concentración del sustrato generaba una mayor actividad microbiana y esto podía evidenciarse en el voltaje producido por las CCM, puesto que la CCM3, que tenía una mayor concentración del sustrato, generó mayor voltaje en comparación con las CCM1, CCM2 Y CCM4 y también, a través de los cálculos de remoción de metales pesados se pudo evidenciar que fue el sistema más eficiente.

Se debe tener en cuenta que al implementar una escala piloto existiría un aumento del volumen de la celda, el área de la membrana y la distancia entre electrodos al existir una relación proporcional con la generación del voltaje. La minera vierte sus aguas residuales después del proceso de extracción a un punto de descarga cercano a una quebrada, por lo que la propuesta sería implementar tanques de almacenamiento para estas aguas residuales e implementar a escala piloto dentro de este tanque varias CCM que pueda dar abasto para el caudal de agua residual generada por el proceso minero.

Cabe destacar que para poder implementar la escala piloto antes descrita se debería de realizar estudios del caudal de agua residual generada por día para de esta forma se pueda obtener datos reales y poder realizar las dimensiones de los tanques de almacenamiento y posterior las medidas necesarias de las CCM para cada tanque y de esta forma poder tener un mejor resultado y biorremediar el agua residual generada en la minería.

CONCLUSIONES

- Se generó bioelectricidad en celdas de combustible microbiana de cámara única a partir de aguas residuales provenientes de la minería aurífera y con relaves de esta industria. Las CCM asistidas con microalgas *Pleurococcus sp* en su cátodo demostraron tener éxito en la generación de bioelectricidad en comparación a la celda control, la microalga utilizó el dióxido de carbono producido en la cámara anódica para su proceso de fotosíntesis y producción de oxígeno que facilita las reacciones de reducción de los iones.
- Se aisló la microalga *Pleurococcus sp* y se identificó morfológicamente, evidenciándose una mayor tasa de crecimiento celular en el medio de cultivo BG-11.
- Se demostró que, debido a la variación de voltajes generados en las celdas de combustible microbianas, existe una influencia de la microalga *Pleurococcus sp* como biocatalizador, tanto en el ciclo uno y dos las CCM1, CCM2, y CCM3 tienen una producción de voltaje mayor que la CCM4 en un 31,6% y 21,35 %. En la segunda fase alcanzó su mayor estabilización en la cual la curtosis de la CCM2 y CCM3 fue mayor debido a que hubo una mayor concentración de datos de voltaje en torno a la media.
- Se evaluó el comportamiento de los metales pesados Mercurio, Cobre y Plomo en cada una de las CCM demostrándose una disminución significativa en su concentración, durante la primera fase: se obtuvo una remoción en la CCM1 del 92 % en Mercurio y 95% en Cobre; y la CCM4 un 94% en Plomo. Durante la segunda fase la CCM4 tuvo mayor remoción del 97 %, 95,3% y 95% para Mercurio, Cobre y Plomo respectivamente, los metales pesados pasaron a un estado no tóxico en el agua.

RECOMENDACIONES

- Siendo el Ecuador un país megadiverso en especies de microalgas se recomienda realizar más investigación de los cuerpos hídricos y las especies que estos albergan, realizando una identificación morfológica y molecular.
- Se deberían de realizar estudios dónde se utilicen consorcios de microalgas para la producción de bioelectricidad y la remoción de metales pesados.
- Monitorear periódicamente la calidad fisicoquímica de los efluentes de la industria minera ya que estas contienen altas concentraciones de metales pesados que afectan la calidad de vida humana y del ecosistema.

BIBLIOGRAFÍA

ANDERSEN, Robert. “Bioenergía y sus derivados”. *Redalyc* [en línea]. 2005, 2(12) [Consulta: 10 octubre 2022]. ISSN 1252-7878. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjUnLv6dv7AhW3TDABHSidA7sQFn_oECCgQAQ&url=https://www.elsevier.com/books/algal-culturing-techniques/andersen/978-0-12-088426-1&usg=AOvVaw26EwBL8ugARiJOXKQuX063

FERNÁNDEZ, Jorge. *Nutrientes y medios de cultivo de microalgas* [en línea]. 3ª ed. Ecuador: Andes Editorial, 2014. [Consulta: 10 octubre 2022]. Disponible en: <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-3-nutrientes.html>

GAD PROVINCIAL ZAMORA CHINCHIPE. *Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de zamora chinchipe 2019-2023* [en línea]. Ecuador: Amazo Editorial, 2019. [Consulta: 10 octubre 2022]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjxvPj16tv7AhWFsDEKHbSMAi8QFnoECBwQAQ&url=https://zamora-chinchipe.gob.ec/wp-content/uploads/2020/08/PDOT-2019-2023-ZAMORA-CHINCHIPE.pdf&usg=AOvVaw28q6iKlO6YkM8XwPG05u-A>

GUAMÁN, Maria Cristina y Nory Paola GONZÁLEZ. “Catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador. Biodiversidad de los principales géneros de microalgas y cianobacterias encontradas en sistemas lacustres de Áreas protegidas de los Andes y Amazonia del Ecuador”. *Scielo* [en línea]. 2016, 2(3) [Consulta: 10 octubre 2022]. ISSN 1254-7852. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjWv7fX69v7AhWOSDABHcamDWIQFnoECAgQAQ&url=https://www.academia.edu/39724165/CAT%3%8ILOGO_DE_MI_CROALGAS_Y_CIANOBICTERIAS_DE_AGUA_DULCE_DEL_ECUADOR&usg=AOvVaw0bbH1Ai9l3fF1St1WQZcL

GUEVARA, Nancy Et Al. *Diagnóstico socioambiental de la zona minera nambija* [en línea]. 2ª ed. México: Article, 2015. [Consulta: 10 octubre 2022]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiL19C67Nv7AhVaVTABHe03BtwQFn>

oECA8QAQ&url=http://pras.ambiente.gob.ec/documents/228536/737569/DSA+Nambija.pdf/f85bd6be-6767-4bd1-bb2f-d726b80ffa06&usg=AOvVaw1jSd4fn_iQp82egzpmWgSf

HE, Zhen y ANGENENT, Largus T., *Application of bacterial biocathodes in microbial fuel cells*. octubre 2006.

HERNÁNDEZ-PÉREZ, Alexis y LABBÉ, José I., *Microalgas, cultivo y beneficios*. . 2014. p.2.

INEN, 2013. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2169: 2013. *Primera revisión. Agua. Calidad del Agua. Muestreo. Manejo y Conservación de Muestras*.

LOGROÑO, Washington et al. *A Terrestrial Single Chamber Microbial FuelCell-based Biosensor for Biochemical Oxygen Demand of Synthetic Rice Washed Wastewater*. 2016. p1.

LOGROÑO, Washington N. et al. “Bioconversión de residuos sólidos orgánicos con suelos de la región Amazónica y alto andina del Ecuador en celdas de combustible microbiano de cámara simple”. *TecEdit*. Vol. 26, no. 2 (2015), pp.61–68. DOI 10.4067/S0718-07642015000200008.

LOVLEY, Derek R. *Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches*. 2da ed. Ecuador: Editorial Gili, 2006, p.2.

MURRAY, James. *Biology part vii freshwater algae*. 3era ed. Ecuador: Santillana, 2015, p.4.

ÑACATO, Dayanna. *Evaluación de la aplicación del campo magnético en la producción de energía eléctrica a partir de la degradación de aguas residuales domésticas utilizando celdas de combustible microbianas tipo batch*. Argentina: AndesEdit, 2021, p.4.

OVIEDO-ANCHUNDIA, Rodrigo et al. “Contamination by heavy metals in the south of Ecuador associated to the mining activity”. *Bionatura*. Vol. 2, no. 4 (2017), pp. 437–441.

PÁEZ, Adriana, et al. “Electric power production in a microbial fuel cell using *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, synthetic wastewater as substrate, carbon cloth and graphite as electrodes, and methylene blue as mediator. Laboratory scale”. *Tecnología y Ciencias del Agua*. Vol. 10, no. 6 (2019), pp. 261–282.

PANT, Deepak, et al. *A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for*

sustainable energy production. España: EditEuro, 2010, p.1

REVELO, Dolly M. et al. “Celdas de combustible microbianas (CCM): Un reto para la remoción de materia orgánica y la generación de energía eléctrica”. *Informacion Tecnologica*. vol. 24, n. 6 (2013), pp. 17–28.

SILVA, Helmer & PEÑA, Julián. “Diseño y ejecución de un prototipo de celda de combustible microbiana para el tratamiento de aguas residuales y generación de gas metano a partir de residuos en una vivienda rural promedio en el departamento boyaca”. *Scielo*, vol 2, n°3 (2020), (Ecuador) pp.4-9.

SINGH, Jasvinder & SAXENA, Rakesh Chandra. “An Introduction to Microalgae: Diversity and Significance. Diversity and Significance.” *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances*. vol five, n°5 (2020) pp. 11–24.

SNOW, Julia. “The Plankton Algae of Lake Erie, with Special Reference to the Chlorophyceae.” *Scielo*, vol one, n°5 (2000) pp.1-9.

SONG, Xinshan, et al. “Chlorella vulgaris on the cathode promoted the performance of sediment microbial fuel cells for electrogenesis and pollutant removal.” *Science of the Total Environment*. 2020. vol. 728, n°8 (2020) p.69.

TORRES, Hector & ESTRADA, Ruben. “Bioenergía en especies acuáticas”. *Scielo*, vol 1, n°5 (2018) p.1.

UNIVERSITY OF OXFORD, “Pleurococcus sp” *Scielo*. Vol 5, n°12 (2019) pp.5-9.

VANEGAS-HERNÁNDEZ, Diana Marcela, et al. “Evaluation of Activated Carbon Electrodes as Anodes in a Microbial Fuel Cell Using Shewanella Putrefaciens”. *Revista Facultad de Ingenieria*. , vol. 29, no. 54 (2021) p.8.



ANEXOS

ANEXO A: AISLAMIENTO Y CULTIVO DE MICROALGAS *Pleurococcus* sp

Cultivo de Microalga *Pleurococcus* sp



Toma de muestras en la Laguna de Rodeococha



Preparación de medios de cultivos para microalgas

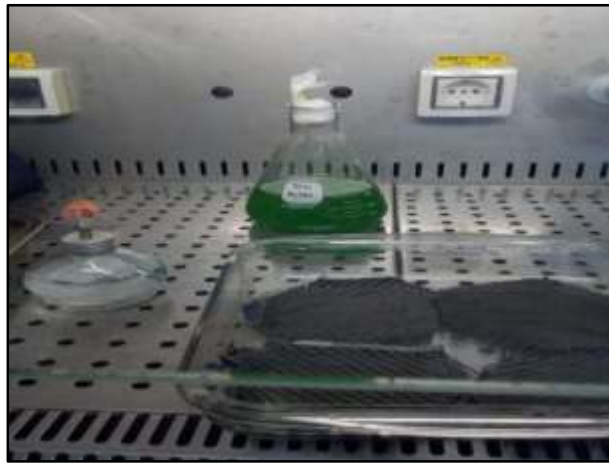


Aislamiento de la especie *Pleurococcus* sp en agar BG11



ANEXO B: PREPARACION DEL ÁNODO Y CÁTODO

Preparación de la biopelícula de microalgas *Pleurococcus* sp.



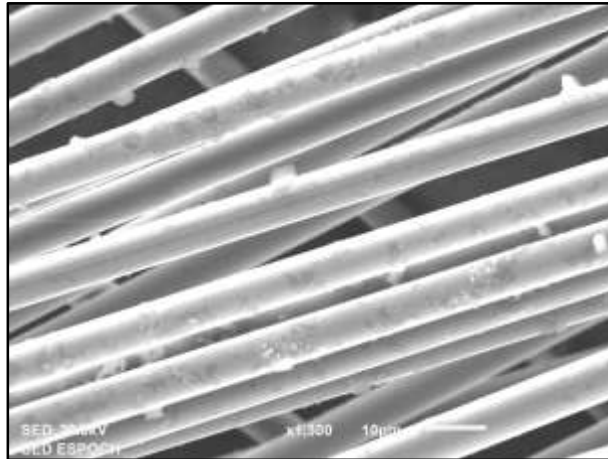
Fibra de carbono en remojo



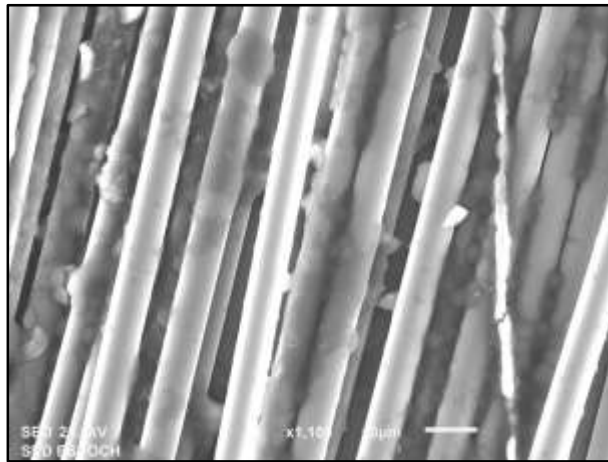
Pretratamiento del ánodo de las CCM



Ánodo de las CCM en microscopia de barrido electrónico 1300x



Cátodo de las CCM en microscopia de barrido electrónico 1100x

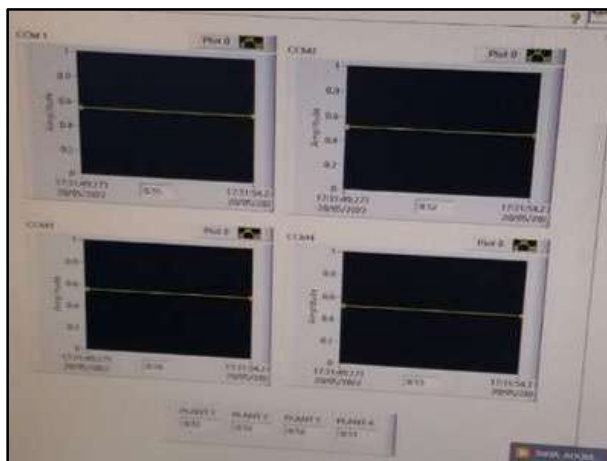


ANEXO C: CONSTRUCCIÓN Y MONITOREO DE LAS CCM

Construcción de las celdas de combustible microbianas



Monitoreo de las CCM



Monitoreo de las CCM en la fase 1



ANEXO D: ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

Digestión acida para análisis físicos químicos de la fase 1



Análisis físico-químico del agua de las CCM en la fase 1



Digestión acida del agua obtenida en la fase dos para su posterior análisis fisicoquímico en la fase dos.



Análisis fisicoquímico del agua de las CCM en la fase 2



ANEXO E: CONTEO DE AEROBIOS Y ANAEROBIOS

Anaerobios en la dilución 10^{-1} de la muestra de suelo



Anaerobios en la dilución 10^{-1} de la muestra de agua



ANEXO F: RESULTADOS DE ANÁLISIS FISCOQUÍMICOS

 LABCESTA <small>ECUADORIA Y SALUD</small>	DEPARTAMENTO: ANALITIC/LAB	 SERVICIO DE ACREDITACIÓN ECUATORIANO <small>Accreditación N° SAE LEN 18-034</small> LABORATORIO DE ENSAYOS			
INFORME DE RESULTADOS No: A-358-22					
INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE					
NOMBRE CLIENTE:	JENNIFER CUADRADO	ATENCIÓN A:	Jennifer Cuadrado		
DIRECCIÓN:	Cds. La Cerecita, Babahoyo	TELÉFONO:	0992792236		
TIPO DE MUESTRA:	Agua (Residual)	PUNTO DE TOMA DE MUESTRA:	1 km del Oro Nambija S. 74816 Y. 9349627		
CÓDIGO CLIENTE:	FLOR DEL ORO NAMBUJA	FECHA Y HORA DE TOMA DE MUESTRA RESPONSABLE:	12/05/2022 08:30 Jennifer Cuadrado		
INFORMACIÓN DEL LABORATORIO					
TOMA DE MUESTRA REALIZADO POR:	CLIENTE:	NÚMERO DE MUESTRAS:	01		
FECHA Y HORA DE TOMA DE MUESTRA:	NA	ANÁLISIS SOLICITADO:	Físico- Químico		
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:	16/05/2022 08:00	FECHA DE ANÁLISIS:	16/05/2022 - 26/05/2022		
FECHA DE EMISIÓN DE INFORME:	26/05/2022	CÓDIGO LABORATORIO:	AL-A-358-22		
RESPONSABLE DE LA TOMA DE MUESTRA:	NA	COORDENADAS:	NA		
CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS:	T. amb.: 25,0 °C. T. amb.: 15,0 °C				
RESULTADOS ANALÍTICOS					
ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	INCERTIDUMBRE (%)	MÉTODO (NORMA)	VALOR LÍMITE PERMISIBLE
Mercurio	mg/l	0,043	±31%	PE/AL/10 EPA 2015 A, Rev.1 2017 EPA 245.1, Rev.3, 1994 EPA 7870A, Rev.1, 1994	-
Nitratos	mg/L	3,00	±14%	PE/AL-40 Standard Methods Ed.23.2017.4500 NCEC A HACTI B039	-
Sulfatos	mg/l	55	±14%	PE/AL/25 Standard Methods Ed.23.2017.4500 E 904	-
Densidad Biológica de Oxígeno (DBO5)	mg/l	172	±14%	PE/AL/28 Standard Methods Ed.23.2017.5210B HACTI, Method-B166	-
Densidad Química de Oxígeno	mg/L	329	±6%	PE/AL/05 Standard Methods Ed.23.2017.5220B	-
Parque Industrial Caltimera B, Local C06, Guayaquil				Página 1 de 2 REV0004 04/01/19	

Cobre	mg/L	2,79	+13%	PEVAL/17 EPA 200.7 ICP-AES Rev.4.4 1994	-
Plomo	mg/L	0,37	+14%	PEVAL/17 EPA 200.7 ICP-AES Rev.4.4 1994	-

OBSERVACIONES:

- Muestra transportada en refrigeración.
- La columna: Valor límite permisible, está fuera del alcance de la acreditación del NAE.

AUTORIZACIÓN Y RESPONSABLE DEL INFORME:



Ing. Verónica Bravo
DIRECTORA TÉCNICA



LABCESTTA
TECNOLOGÍA Y CALIDAD
RUC:0691736210001

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.
- Los 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 usen criterios de conformidad y aplicas, se tendrá en cuenta el instructivo de Regla de decisión para un declaratorio de conformidad DE-AL-36.

Parque Industrial Callesina II, Local C36, Olmedo

Página 3 de 3
Revisión 4

Parámetros Generales

Método: METODO-MERCURIO
Automuestreo: Ningún
Usar SPI: No

Operador: Lab. Investigación

Modo Instrum.: Vapor
Dilución: Ninguna

Registro trazabilidad método

14/9/2021 02:20:54 Lab. Investigación:DESKTOP-055LSK6
Registro creado
14/9/2021 02:21:52 Lab. Investigación:DESKTOP-055LSK6
(Método: Método 17) cambiado a (METODO-MERCURIO)
(Hg Modo Vapor: Calentamiento Llama) cambiado a (Sin Calentamiento)
(Hg Compartimento Muestra: Mano Izq) cambiado a (Mano dcha)
14/9/2021 02:23:08 Lab. Investigación:DESKTOP-055LSK6
Detalles de muestra modificados
Secuencia tarea modificada
(Hg Ajuste Lineal: Curva Segmentada) cambiado a (Linear)
(Hg Número de estándares: 1) cambiado a (5)
(Hg Estándar 1 40.0000) cambiado a (5.0000)
(Hg Estándar 2 0.0000) cambiado a (10.0000)
(Hg Estándar 3 0.0000) cambiado a (20.0000)
(Hg Estándar 4 0.0000) cambiado a (30.0000)
(Hg Estándar 5 0.0000) cambiado a (40.0000)
08/11/2021 10:44:44 Lab. Investigación:DESKTOP-055LSK6
(Hg Re-muestras: 3) cambiado a (1)
13/6/2022 01:29:15 Lab. Investigación:DESKTOP-055LSK6
(Hg Ajuste Aceptable: 0.995) cambiado a (0.990)

Detalles Análisis

Espectróm.:ICE 3000 AA05170304 v1.30

Nombre Análisis: Análisis 1 13/6/2022

Nombre Operador: Lab. Investigación

Resultados Test DQ Actual: No disponible

Resultados Test PQ Actual: No disponible

Información lámp.

Elemento(s)

Hg

n° de Serie

n/a

mA Horas

n/a

Horas Imp.: Deuterio: 180.24

Detalles Muestra

Nº	ID Muestra	Masa Nominal: 1.0000	Relac. Dilución
1	MUESTRA-1	1.0000	1.0000
2	MUESTRA-2	1.0000	1.0000
3	CCM1	1.0000	1.0000
4	CCM2	1.0000	1.0000
5	CCM3	1.0000	1.0000
6	CCM4	1.0000	1.0000
7	ID Muestra 7	1.0000	1.0000
8	ID Muestra 8	1.0000	1.0000
9	ID Muestra 9	1.0000	1.0000
10	ID Muestra 10	1.0000	1.0000

SOLAAR AA ReportNombre Operador: Lab. Investigación
Fichero Result.: C:\SOLAAR\MDATA\AMERCURIOLUIS ANILEMA.SLR

Fecha Informe: 13/6/2022 01:57:25

Registro de trazabilidad Análisis13/6/2022 01:29:15 Lab. Investigación: DESKTOP-OSSLSK6
Registro creado
13/6/2022 01:57:17 Lab. Investigación: DESKTOP-OSSLSK6
Error MD147 - Actividad abortada manualmente por el usuario.**Resumen Resultados Test OQ**

Advertencia: Resultados OQ no disponibles.

Parámetros Espectró. - HgElemento: Hg
Long. onda: 253.7nm
Corrección Fondo: D2
Tipo Señal: Continuo
Tiempo Medida: 4.0sg
Usar Test RSD: NoModo Medida: Absorbancia
Resolva: 0.5nm
Alta Resolución: Apagado
Re-muestras: Rápido
Modo Rechazo Datos: NoCorriente lámp.: 75%
Optimizar Parámetros Espectró.: No
Nº de Re-muestras: 1**Parámetros Vapor - Hg**Modo Vapor: Sin Calentamiento
Compartimento Muestra: Mano ticha
Velocidad Flujo Gas Soporte: 200mL/min

Kit Vapor: VP100

Velocidad bomba: 40

Parámetros muestreo - Hg

Muestreo: Ninguna

Parámetros Calibrac. - HgModo Calibrac.: Normal
Unidades Concentrac.: µg/L
Ajuste Aceptable: 0.990
Estándar 1: 5.0000
Estándar 2: 10.0000
Estándar 3: 20.0000Ajuste Lineal: Lineal
Unidades Escala: µg/L
Re-escalar Límite: 10.0%Usar Calibr. Almacenada: No
Factor Escala: 1.0000
Acción Fallida: Señalizar y continuar
30.0000
40.0000**Registro de trazabilidad Elemento - Hg**

No cambios registr. para este elemento

Result. Disolución - Hg

ID Muestra	Señal	Rad. Abs.	Conc. µg/L	Conc. Corregida µg/L
Hg Blanco	0.000	0.0000	0.0000	
Hg Estándar 1	0.046	0.0000	5.0000	
Hg Estándar 2	0.098	0.0000	10.0000	
Hg Estándar 3	0.189	0.0000	20.0000	
Hg Estándar 4	0.319	0.0000	30.0000	
Hg Estándar 5	0.446	0.0000	40.0000	
Hg MUESTRA-1	0.086	0.0000	8.7429	8.7429
Hg MUESTRA-2	0.090	0.0000	9.1215	9.1215
Hg CCM1	0.029	0.0000	3.2090	3.2090
Hg CCM2	0.055	0.0000	5.9377	5.9377
Hg CCM3	0.145	0.0000	14.0412	14.0412
Hg CCM4	0.153	0.0000	14.8247	14.8247

Nombre Operador: Lab. Investigación
Fichero Result.: C:\SOLAAR\MDATA\ICOBRELUIS ANILEMA.SLR

Fecha Informe: 14/6/2022 11:34:10

Parámetros GeneralesMétodo:
Automuestr.: Ningún
Usar SPI: No

Operador: Lab. Investigación

Modo mstrum.: Líama
Dilución: Ninguna**Registro trazabilidad método**14/6/2022 11:21:45 Lab. Investigación: DESKTOP-OSSLSK6
Registro creado**Detalles Análisis**Nombre Análisis: Análisis 1 14/6/2022
Nombre Operador: Lab. Investigación

Espectró.: ICE 3000 AA05170304 V1.30

Resultados Test OQ Actual: No disponible

Resultados Test PQ Actual: No disponible

Información lámp.Elemento(s)
Cu Fe Mn Znnº de Serie
n/amA Horas
n/a

Horas lámp. Deuterio: 181.49

Detalles Muestra

Nº	ID Muestra	Masa Nominal: 1.0000	Masa Muestra	Relac. Dilución
1	MUESTRA-1	1.0000	1.0000	10.0000
2	MUESTRA-2	1.0000	1.0000	10.0000
3	CCM1	1.0000	1.0000	1.0000
4	CCM2	1.0000	1.0000	1.0000
5	CCM3	1.0000	1.0000	1.0000
6	CCM4	1.0000	1.0000	1.0000
7	ID Muestra 7	1.0000	1.0000	1.0000
8	ID Muestra 8	1.0000	1.0000	1.0000
9	ID Muestra 9	1.0000	1.0000	1.0000
10	ID Muestra 10	1.0000	1.0000	1.0000

Registro de trazabilidad Análisis14/6/2022 11:21:45 Lab. Investigación: DESKTOP-OSSLSK6
Registro creado
14/6/2022 11:34:04 Lab. Investigación: DESKTOP-OSSLSK6
Error MD147 - Actividad abortada manualmente por el usuario.**Resumen Resultados Test OQ**

Advertencia: Resultados OQ no disponibles.

Parámetros Espectró. - CuElemento: Cu
Long. onda: 324.8nm
Corrección Fondo: D2
Tipo Señal: Continuo
Tiempo Medida: 4.0sg
Usar Test RSD: NoModo Medida: Absorbancia
Resolva: 0.5nm
Alta Resolución: Apagado
Re-muestras: Rápido
Modo Rechazo Datos: NoCorriente lámp.: 75%
Optimizar Parámetros Espectró.: No
Nº de Re-muestras: 2**Parámetros Líama - Cu**Tipo Líama: Aire-C2H2
Toma del Nebuliz.: 4sg
Altura Mechero: 7.0mmFlujo Combust.: 1.1L/min
Estabiliz. Mechero: 0mins
Optimiz. Altura Mechero: NoOxidante Auxiliar: Apagado
Optimiz. Flujo Combust.: No

SOLAAR AA Report

Nombre Operador: Lab. Investigación
Archivo Result.: C:\SOLAAR\MIDATA\C0BRE\LUIS ANILEMA.SLR

Fecha Informe: 14/6/2022 11:34:18

Muestreo: Ninguna

Parámetros muestreo - Cu

Modo Calibrac.: Normal
Unidades Concentrac.: mg/L
Ajuste Aceptable: 0.990
Estándar Maestro: 3.5000
Estándar1: 0.1000
Estándar2: 0.2000
Estándar3: 0.4000

Parámetros Calibrac. - Cu

Ajuste Línea: Linear
Unidades Escala: mg/L
Re-escalar Límite: 10.0%

User Calibr.: Almacenada.No
Factor Escala: 1.0000
Acción Fallida: Señalizar y continuar

Estándar4: 1.0000
Estándar5: 2.0000

Registro de trazabilidad Elemento - Cu

No cambios registr. para este elemento

Result. Disolución - Cu

ID Muestra	Señal	Res	Conc.	Conc. Corregida
	Abs <td>%<td>mg/L<td>mg/L</td></td></td>	% <td>mg/L<td>mg/L</td></td>	mg/L <td>mg/L</td>	mg/L
Cu Blanco	0.000	=99	0.0000	
Cu Estándar 1	0.004	3.1	0.1000	
Cu Estándar 2	0.007	4.1	0.2000	
Cu Estándar 3	0.010	4.1	0.4000 U	
Cu Estándar 4	0.023	0.7	1.0000 U	
Cu Estándar 5	0.040	0.5	2.0000	
Cu MUESTRA-1	0.014	3.5	0.6109	6.1098
Cu MUESTRA-2	0.011	0.9	0.4588	4.5885
Cu CCM1	0.004	8.4	0.1396	0.1396
Cu CCM2	0.012	2.5	0.6508	0.6508
Cu CCM3	0.038	0.8	1.8371	1.8371
Cu CCM4	0.028	1.2	1.3436	1.3436



Nombre Operador: Lab. Investigación
Archivo Result.: C:\SOLAAR\MIDATA\PLOMO\LUIS ANILEMA.SLR

Fecha Informe: 14/6/2022 11:18:08

Método: METODO PLOMO
Automuestreo: Ningún
User SP: No

Parámetros Generales

Operador: Lab. Investigación

Modo Instrum.: Llama
Dilución: Ninguna

Registro trazabilidad método

08/6/2021 11:13:27 Lab. Investigación: DESKTOP-055LSK6
Registro creado
13/10/2021 12:41:38 Lab. Investigación: DESKTOP-055LSK6
Detalles de muestra modificados
Secuencia tarea modificada
(Pb Re-muestras: 2) cambiado a (1)
(Pb Estándar1 0.4000) cambiado a (0.3000)
(Pb Estándar2 0.8000) cambiado a (0.8000)
(Pb Estándar3 1.2000) cambiado a (0.9000)
(Pb Estándar4 2.0000) cambiado a (1.5000)
(Pb Estándar5 4.0000) cambiado a (3.0000)
14/6/2022 11:09:08 Lab. Investigación: DESKTOP-055LSK6
(Pb Re-muestras: 1) cambiado a (2)
(Pb Flujo Construc.: 1.1) cambiado a (1.0)
(Pb Estándar3 0.9000) cambiado a (1.2000)
(Pb Estándar4 1.0000) cambiado a (1.8000)
(Pb Ajuste Aceptable: 0.995) cambiado a (0.990)

Detalles Análisis

Espectrom.: ICE 3000 AA05176304 v1.30

Nombre Análisis: Análisis 1 14/6/2022
Nombre Operador: Lab. Investigación

Resultados Test OQ Actual: No disponible

Resultados Test PQ Actual: No disponible

Información lámp.

Elemento(s)	nº de Serie	mA	Horas
Pb	n/a	n/a	n/a

Horas lámp. Deuterio: 181.24

Detalles Muestra

Nº	ID Muestra	Masa Nominal: 1.0000	Relac. Dilución
1	MUESTRA-1	1.0000	1.0000
2	MUESTRA-2	1.0000	1.0000
3	CCM1	1.0000	1.0000
4	CCM2	1.0000	1.0000
5	CCM3	1.0000	1.0000
6	CCM4	1.0000	1.0000
7	ID Muestra 7	1.0000	1.0000
8	ID Muestra 8	1.0000	1.0000
9	ID Muestra 9	1.0000	1.0000
10	ID Muestra 10	1.0000	1.0000
11	ID Muestra 11	1.0000	1.0000
12	ID Muestra 12	1.0000	1.0000
13	ID Muestra 13	1.0000	1.0000
14	ID Muestra 14	1.0000	1.0000
15	ID Muestra 15	1.0000	1.0000
16	ID Muestra 16	1.0000	1.0000
17	ID Muestra 17	1.0000	1.0000
18	ID Muestra 18	1.0000	1.0000

SOLAAR AA Report

Nombre Operador: Lab. Investigación
 Archivo Result.: C:\SOLAAR\MDATA\PL0MOLUIS ANLEMA.SLR

Fecha Informe: 14/06/2022 11:16:08

Registro de trazabilidad Elemento - Pb

No cambias registro, para este elemento

Result. Disolución - Pb

ID Muestra	Señal Atx	Rsd %	Conc. mg/L	Conc. Corregida mg/L
Pb Blanco	-0.000	-0.0	0.0000	
Pb Estándar 1	0.008	1.2	0.3000	
Pb Estándar 2	0.010	0.3	0.6000	
Pb Estándar 3	0.021	0.1	1.2000	
Pb Estándar 4	0.032	2.1	1.8000	
Pb Estándar 5	0.052	1.2	3.0000	
Pb MUESTRA-1	0.002	5.1	0.0610	0.0610
Pb MUESTRA-2	0.001	0.0	0.0130	0.0130
Pb CCM1	-0.001	20.8	-0.0620 C	-0.0620 C
Pb CCM2	-0.000	74.5	-0.0708 C	-0.0708 C
Pb CCM3	0.001	31.4	0.0085	0.0085
Pb CCM4	0.000	68.1	-0.0219	-0.0219



Nombre Operador: Lab. Investigación
 Archivo Result.: C:\SOLAAR\MDATA\COBRE\MAYTE RODRIGUEZ.SLR

Fecha Informe: 12/7/2022 04:25:28

Parámetros Generales

Método:
 Automesh: Ningún
 User SPZ: No

Operador: Lab. Investigación

Modo Instrumento: Llama
 Dilución: Ninguna

Registro trazabilidad método

12/7/2022 03:39:42 Lab. Investigación: DESKTOP-055LSK8
 Registro creado

Detalles Análisis

Nombre Análisis: Análisis 1 12/7/2022
 Nombre Operador: Lab. Investigación

Espectróm.: ICE 3000 AA05170304 v1.30

Resultados Test OQ Actual: No disponible

Resultados Test PQ Actual: No disponible

Información lámp.

Elemento(s)
 Cu Fe Mn Zn

nº de Serie
 n/a

mA Horas
 n/a

Horas lámp. Deuterio: 228.05

Detalles Muestra

Nº	ID Muestra	Masa Nominal: 1.0000 Masa Muestra	Relac. Dilución
1	CCM2	1.0000	1.0000
2	CCM3	1.0000	1.0000
3	CCM4	1.0000	1.0000
4	CCM1	1.0000	5.0000
5	ID Muestra 5	1.0000	1.0000
6	ID Muestra 6	1.0000	1.0000
7	ID Muestra 7	1.0000	1.0000
8	ID Muestra 8	1.0000	1.0000
9	ID Muestra 9	1.0000	1.0000
10	ID Muestra 10	1.0000	1.0000

Registro de trazabilidad Análisis

12/7/2022 03:39:42 Lab. Investigación: DESKTOP-055LSK8
 Registro creado

12/7/2022 04:25:05 Lab. Investigación: DESKTOP-055LSK8
 Error MD147 - Actividad abortada manualmente por el usuario.

Resumen Resultados Test OQ

Advertencia: Resultados OQ no disponibles.

Parámetros Espectróm. - Cu

Elemento: Cu
 Long. onda: 324.8nm
 Corrección: Pando D2
 Tipo Señal: Continuo
 Tiempo Medida: 4.0sg
 User Test RSD: No

Modo Medida: Absorbancia
 Rendija: 0.5nm
 Alta Resolución: Apagado
 Re-muestras Rápidas
 Modo Rechazo Datos: No

Corriente Lámp.: 75%
 Optimiz. Parámetros Espectróm.: No
 Nº de Re-muestras: 3

Parámetros Llama - Cu

Tipo Llama: Aire-C2H2
 Torno del Nebuliz.: 4sg
 Altura Mechero: 7.0mm

Flujo Combust.: 1.0L/min
 Estabiliz. Mechero: On/In
 Optimiz. Altura Mechero: No

Oxidante Auxiliar: Apagado
 Optimiz. Flujo Combust.: No

SOLAAR AA Report

Nombre Operador: Lab. Investigación

Fecha Informe: 12/7/2022 04:25:28

Rchero Result: C:\SOLAAR\MDATA\COBRE\MAYTE RODRIGUEZ.SLR

Parámetros muestreo - Cu

Muestreo: Ninguna

Parámetros Calibrac. - Cu

Modo Calibrac: Normal

Ajuste Lineal: Linear

Usar Calibr. Almacenada: No

Unidades Concentrac: mg/L

Unidades Escala: mg/L

Factor Escala: 1.0000

Ajuste Aceptable: 0.990

Re-escalar Límite: 10.0%

Acción Fallida: Señalizar y continuar

Estándar Maestro: 3.5000

Estándar1	0.1000
Estándar2	0.2000
Estándar3	0.4000

Estándar4	1.0000
Estándar5	2.0000

Registro de trazabilidad Elemento - Cu

No cambios registr. para este elemento

Result. Disolución - Cu

ID Muestra	Señal Abs	Resd %	Conc. mg/L	Conc. Corregida mg/L
Cu Blanco	-0.000	>99	0.0000	
Cu Estándar 1	0.001	19.0	0.1000	
Cu Estándar 2	0.004	11.3	0.2000	
Cu Estándar 3	0.009	6.7	0.4000 U	
Cu Estándar 4	0.014	3.0	1.0000	
Cu Estándar 5	0.027	1.4	2.0000	
Cu CCM2	0.013	1.0	0.9488	0.9488
Cu CCM3	0.008	3.8	0.6046	0.6046
Cu CCM4	0.002	26.4	0.1300	0.1300
Cu CCM1	0.014	2.7	0.9834	4.9172

ANEXO G: PRODUCCIÓN DE VOLTAJE EN LAS CCM DURANTE LAS DOS FASES

GENERACIÓN DE VOLTAJE EN LA FASE I					
FECHA	HORA	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
20/5/2022	17:00:00	0,55	0,52	0,56	0,53
20/5/2022	18:00:00	0,55	0,51	0,55	0,53
20/5/2022	19:00:00	0,54	0,52	0,56	0,53
20/5/2022	20:00:00	0,53	0,52	0,56	0,53
20/5/2022	21:00:00	0,53	0,52	0,56	0,54
20/5/2022	22:00:00	0,53	0,52	0,56	0,54
20/5/2022	23:00:00	0,53	0,52	0,56	0,54
21/5/2022	0:00:00	0,53	0,52	0,56	0,55
21/5/2022	1:00:00	0,52	0,52	0,56	0,55
21/5/2022	2:00:00	0,53	0,53	0,56	0,55
21/5/2022	3:00:00	0,53	0,53	0,56	0,55
21/5/2022	4:00:00	0,53	0,54	0,56	0,55
21/5/2022	5:00:00	0,53	0,54	0,56	0,55
21/5/2022	6:00:00	0,54	0,54	0,56	0,55
21/5/2022	7:00:00	0,54	0,53	0,55	0,55
21/5/2022	8:00:00	0,54	0,54	0,55	0,56
21/5/2022	9:00:00	0,53	0,54	0,55	0,56
21/5/2022	10:00:00	0,54	0,54	0,56	0,56
21/5/2022	11:00:00	0,53	0,53	0,57	0,56
21/5/2022	12:00:00	0,53	0,52	0,56	0,56
21/5/2022	13:00:00	0,53	0,52	0,56	0,55
21/5/2022	14:00:00	0,53	0,52	0,55	0,55
21/5/2022	15:00:00	0,52	0,51	0,56	0,55
21/5/2022	16:00:00	0,52	0,51	0,56	0,55
21/5/2022	17:00:00	0,53	0,52	0,56	0,55
21/5/2022	18:00:00	0,53	0,53	0,57	0,54
21/5/2022	19:00:00	0,54	0,54	0,58	0,53
21/5/2022	20:00:00	0,53	0,54	0,58	0,53
21/5/2022	21:00:00	0,53	0,54	0,58	0,52
21/5/2022	22:00:00	0,53	0,54	0,58	0,53
21/5/2022	23:00:00	0,53	0,54	0,58	0,53
22/5/2022	0:00:00	0,53	0,54	0,59	0,54

22/5/2022	1:00:00	0,54	0,54	0,59	0,55
22/5/2022	2:00:00	0,54	0,55	0,59	0,55
22/5/2022	3:00:00	0,53	0,55	0,59	0,55
22/5/2022	4:00:00	0,54	0,55	0,59	0,55
22/5/2022	5:00:00	0,54	0,55	0,59	0,55
22/5/2022	6:00:00	0,54	0,56	0,58	0,54
22/5/2022	7:00:00	0,54	0,54	0,57	0,54
22/5/2022	8:00:00	0,54	0,55	0,57	0,55
22/5/2022	9:00:00	0,54	0,55	0,57	0,55
22/5/2022	10:00:00	0,54	0,56	0,57	0,54
22/5/2022	11:00:00	0,55	0,56	0,57	0,54
22/5/2022	12:00:00	0,55	0,56	0,57	0,54
22/5/2022	13:00:00	0,55	0,57	0,57	0,54
22/5/2022	14:00:00	0,54	0,55	0,58	0,54
22/5/2022	15:00:00	0,53	0,53	0,58	0,54
22/5/2022	16:00:00	0,53	0,52	0,57	0,54
22/5/2022	17:00:00	0,53	0,53	0,56	0,54
22/5/2022	18:00:00	0,53	0,54	0,57	0,54
22/5/2022	19:00:00	0,53	0,54	0,57	0,53
22/5/2022	20:00:00	0,53	0,54	0,58	0,55
22/5/2022	21:00:00	0,54	0,54	0,58	0,55
22/5/2022	22:00:00	0,54	0,55	0,58	0,55
22/5/2022	23:00:00	0,54	0,55	0,58	0,56
23/5/2022	0:00:00	0,54	0,55	0,58	0,56
23/5/2022	1:00:00	0,54	0,55	0,58	0,56
23/5/2022	2:00:00	0,54	0,55	0,58	0,56
23/5/2022	3:00:00	0,54	0,55	0,58	0,56
23/5/2022	4:00:00	0,54	0,55	0,58	0,56
23/5/2022	5:00:00	0,54	0,55	0,58	0,55
23/5/2022	6:00:00	0,54	0,55	0,58	0,56
23/5/2022	7:00:00	0,54	0,55	0,58	0,55
23/5/2022	8:00:00	0,54	0,55	0,58	0,55
23/5/2022	9:00:00	0,55	0,55	0,58	0,54
23/5/2022	10:00:00	0,55	0,55	0,58	0,54
23/5/2022	11:00:00	0,55	0,56	0,58	0,54

23/5/2022	12:00:00	0,55	0,56	0,59	0,54
23/5/2022	13:00:00	0,55	0,56	0,59	0,54
23/5/2022	14:00:00	0,55	0,56	0,59	0,54
23/5/2022	15:00:00	0,55	0,57	0,59	0,54
23/5/2022	16:00:00	0,56	0,57	0,59	0,54
23/5/2022	17:00:00	0,55	0,57	0,60	0,54
23/5/2022	18:00:00	0,55	0,57	0,60	0,54
23/5/2022	19:00:00	0,55	0,57	0,60	0,52
23/5/2022	20:00:00	0,55	0,56	0,60	0,52
23/5/2022	21:00:00	0,55	0,56	0,60	0,52
23/5/2022	22:00:00	0,56	0,55	0,60	0,53
23/5/2022	23:00:00	0,56	0,55	0,60	0,53
24/5/2022	0:00:00	0,57	0,55	0,60	0,54
24/5/2022	1:00:00	0,57	0,56	0,60	0,54
24/5/2022	2:00:00	0,57	0,56	0,60	0,55
24/5/2022	3:00:00	0,57	0,56	0,60	0,55
24/5/2022	4:00:00	0,57	0,56	0,60	0,55
24/5/2022	5:00:00	0,58	0,56	0,60	0,54
24/5/2022	6:00:00	0,59	0,57	0,59	0,54
24/5/2022	7:00:00	0,58	0,56	0,58	0,55
24/5/2022	8:00:00	0,58	0,55	0,57	0,53
24/5/2022	9:00:00	0,59	0,56	0,60	0,54
24/5/2022	10:00:00	0,58	0,54	0,59	0,55
24/5/2022	11:00:00	0,58	0,53	0,59	0,55
24/5/2022	12:00:00	0,58	0,52	0,58	0,54
24/5/2022	13:00:00	0,58	0,52	0,58	0,55
24/5/2022	14:00:00	0,57	0,52	0,57	0,54
24/5/2022	15:00:00	0,58	0,53	0,57	0,55
24/5/2022	16:00:00	0,58	0,53	0,57	0,54
24/5/2022	17:00:00	0,57	0,53	0,57	0,55
24/5/2022	18:00:00	0,57	0,54	0,57	0,54
24/5/2022	19:00:00	0,57	0,54	0,57	0,53
24/5/2022	20:00:00	0,58	0,55	0,58	0,53
24/5/2022	21:00:00	0,59	0,54	0,58	0,53
24/5/2022	22:00:00	0,59	0,54	0,58	0,54

24/5/2022	23:00:00	0,60	0,54	0,59	0,54
25/5/2022	0:00:00	0,60	0,54	0,59	0,55
25/5/2022	1:00:00	0,60	0,54	0,58	0,55
25/5/2022	2:00:00	0,60	0,54	0,59	0,55
25/5/2022	3:00:00	0,60	0,55	0,59	0,55
25/5/2022	4:00:00	0,61	0,55	0,60	0,55
25/5/2022	5:00:00	0,61	0,55	0,60	0,55
25/5/2022	6:00:00	0,61	0,55	0,60	0,55
25/5/2022	7:00:00	0,60	0,54	0,58	0,55
25/5/2022	8:00:00	0,60	0,53	0,57	0,55
25/5/2022	9:00:00	0,60	0,54	0,58	0,56
25/5/2022	10:00:00	0,60	0,54	0,58	0,56
25/5/2022	11:00:00	0,60	0,54	0,58	0,56
25/5/2022	12:00:00	0,60	0,54	0,58	0,56
25/5/2022	13:00:00	0,58	0,54	0,59	0,57
25/5/2022	14:00:00	0,58	0,54	0,59	0,58
25/5/2022	15:00:00	0,58	0,53	0,59	0,58
25/5/2022	16:00:00	0,59	0,53	0,58	0,58
25/5/2022	17:00:00	0,59	0,53	0,58	0,57
25/5/2022	18:00:00	0,58	0,54	0,58	0,56
25/5/2022	19:00:00	0,58	0,55	0,59	0,54
25/5/2022	20:00:00	0,57	0,54	0,59	0,53
25/5/2022	21:00:00	0,57	0,54	0,59	0,53
25/5/2022	22:00:00	0,58	0,54	0,59	0,53
25/5/2022	23:00:00	0,58	0,54	0,59	0,54
26/5/2022	0:00:00	0,58	0,54	0,59	0,54
26/5/2022	1:00:00	0,58	0,54	0,59	0,55
26/5/2022	2:00:00	0,58	0,54	0,59	0,56
26/5/2022	3:00:00	0,58	0,54	0,59	0,55
26/5/2022	4:00:00	0,59	0,54	0,59	0,55
26/5/2022	5:00:00	0,59	0,54	0,59	0,56
26/5/2022	6:00:00	0,59	0,54	0,59	0,54
26/5/2022	7:00:00	0,58	0,53	0,57	0,55
26/5/2022	8:00:00	0,58	0,52	0,57	0,56
26/5/2022	9:00:00	0,58	0,52	0,58	0,58

26/5/2022	10:00:00	0,58	0,53	0,58	0,59
26/5/2022	11:00:00	0,58	0,53	0,58	0,59
26/5/2022	12:00:00	0,58	0,54	0,59	0,57
26/5/2022	13:00:00	0,56	0,53	0,59	0,57
26/5/2022	14:00:00	0,56	0,53	0,58	0,57
26/5/2022	15:00:00	0,57	0,53	0,58	0,57
26/5/2022	16:00:00	0,57	0,53	0,58	0,58
26/5/2022	17:00:00	0,56	0,52	0,57	0,56
26/5/2022	18:00:00	0,56	0,52	0,57	0,56
26/5/2022	19:00:00	0,56	0,53	0,59	0,55
26/5/2022	20:00:00	0,55	0,53	0,59	0,55
26/5/2022	21:00:00	0,55	0,53	0,59	0,55
26/5/2022	22:00:00	0,56	0,53	0,59	0,55
26/5/2022	23:00:00	0,56	0,53	0,59	0,55
27/5/2022	0:00:00	0,56	0,53	0,59	0,56
27/5/2022	1:00:00	0,56	0,53	0,59	0,56
27/5/2022	2:00:00	0,56	0,53	0,60	0,56
27/5/2022	3:00:00	0,56	0,53	0,60	0,57
27/5/2022	4:00:00	0,56	0,53	0,60	0,57
27/5/2022	5:00:00	0,56	0,53	0,60	0,57
27/5/2022	6:00:00	0,56	0,53	0,60	0,55
27/5/2022	7:00:00	0,55	0,52	0,57	0,54
27/5/2022	8:00:00	0,55	0,50	0,57	0,57
27/5/2022	9:00:00	0,55	0,51	0,58	0,59
27/5/2022	10:00:00	0,55	0,51	0,58	0,58
27/5/2022	11:00:00	0,55	0,51	0,58	0,57
27/5/2022	12:00:00	0,55	0,52	0,58	0,57
27/5/2022	13:00:00	0,53	0,52	0,58	0,57
27/5/2022	14:00:00	0,52	0,52	0,57	0,57
27/5/2022	15:00:00	0,52	0,51	0,57	0,57
27/5/2022	16:00:00	0,53	0,50	0,57	0,58
27/5/2022	17:00:00	0,53	0,51	0,57	0,57
27/5/2022	18:00:00	0,53	0,51	0,57	0,55
27/5/2022	19:00:00	0,53	0,52	0,58	0,55
27/5/2022	20:00:00	0,52	0,52	0,58	0,54

27/5/2022	21:00:00	0,52	0,52	0,58	0,54
27/5/2022	22:00:00	0,52	0,52	0,59	0,54
27/5/2022	23:00:00	0,52	0,52	0,59	0,55
28/5/2022	0:00:00	0,53	0,53	0,59	0,54
28/5/2022	1:00:00	0,53	0,53	0,60	0,55
28/5/2022	2:00:00	0,52	0,52	0,59	0,56
28/5/2022	3:00:00	0,52	0,53	0,59	0,54
28/5/2022	4:00:00	0,51	0,53	0,59	0,55
28/5/2022	5:00:00	0,50	0,53	0,60	0,55
28/5/2022	6:00:00	0,49	0,53	0,59	0,56
28/5/2022	7:00:00	0,47	0,51	0,58	0,56
28/5/2022	8:00:00	0,45	0,50	0,57	0,56
28/5/2022	9:00:00	0,43	0,50	0,57	0,57
28/5/2022	10:00:00	0,43	0,50	0,57	0,58
28/5/2022	11:00:00	0,43	0,51	0,57	0,57
28/5/2022	12:00:00	0,45	0,53	0,56	0,57
28/5/2022	13:00:00	0,49	0,53	0,56	0,56
28/5/2022	14:00:00	0,52	0,54	0,56	0,56
28/5/2022	15:00:00	0,53	0,54	0,56	0,57
28/5/2022	16:00:00	0,54	0,55	0,56	0,57
28/5/2022	17:00:00	0,54	0,55	0,56	0,56
28/5/2022	18:00:00	0,53	0,55	0,57	0,57
28/5/2022	19:00:00	0,53	0,55	0,57	0,56
28/5/2022	20:00:00	0,53	0,54	0,57	0,56
28/5/2022	21:00:00	0,53	0,54	0,58	0,55
28/5/2022	22:00:00	0,53	0,54	0,58	0,54
28/5/2022	23:00:00	0,53	0,54	0,59	0,56
29/5/2022	0:00:00	0,53	0,55	0,59	0,56
29/5/2022	1:00:00	0,54	0,55	0,58	0,57
29/5/2022	2:00:00	0,53	0,55	0,59	0,57
29/5/2022	3:00:00	0,53	0,55	0,59	0,56
29/5/2022	4:00:00	0,53	0,55	0,59	0,56
29/5/2022	5:00:00	0,52	0,55	0,59	0,56
29/5/2022	6:00:00	0,52	0,54	0,59	0,56
29/5/2022	7:00:00	0,50	0,55	0,57	0,55

29/5/2022	8:00:00	0,49	0,54	0,57	0,57
29/5/2022	9:00:00	0,51	0,56	0,57	0,56
29/5/2022	10:00:00	0,54	0,55	0,57	0,58
29/5/2022	11:00:00	0,54	0,56	0,56	0,57
29/5/2022	12:00:00	0,56	0,53	0,57	0,58
29/5/2022	13:00:00	0,58	0,53	0,58	0,58
29/5/2022	14:00:00	0,58	0,51	0,59	0,58
29/5/2022	15:00:00	0,58	0,50	0,59	0,58
29/5/2022	16:00:00	0,58	0,49	0,59	0,58
29/5/2022	17:00:00	0,58	0,49	0,58	0,58
29/5/2022	18:00:00	0,58	0,50	0,58	0,57
29/5/2022	19:00:00	0,58	0,50	0,58	0,57
29/5/2022	20:00:00	0,57	0,50	0,58	0,57
29/5/2022	21:00:00	0,57	0,50	0,58	0,56
29/5/2022	22:00:00	0,57	0,51	0,58	0,57
29/5/2022	23:00:00	0,57	0,50	0,58	0,57
30/5/2022	0:00:00	0,57	0,51	0,58	0,56
30/5/2022	1:00:00	0,56	0,51	0,58	0,57
30/5/2022	2:00:00	0,56	0,50	0,59	0,57
30/5/2022	3:00:00	0,56	0,50	0,59	0,57
30/5/2022	4:00:00	0,56	0,51	0,59	0,57
30/5/2022	5:00:00	0,57	0,51	0,59	0,57
30/5/2022	6:00:00	0,58	0,51	0,59	0,57
30/5/2022	7:00:00	0,57	0,51	0,59	0,57
30/5/2022	8:00:00	0,57	0,51	0,59	0,56
30/5/2022	9:00:00	0,56	0,52	0,59	0,57

GENERACIÓN DE VOLTAJE EN LA FASE II					
FECHA	HORA	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
1/6/2022	12:00	0,32	0,55	0,54	0,42
1/6/2022	13:00	0,41	0,58	0,56	0,45
1/6/2022	14:00	0,45	0,61	0,57	0,47
1/6/2022	15:00	0,45	0,62	0,58	0,47
1/6/2022	16:00	0,44	0,64	0,59	0,48
1/6/2022	17:00	0,46	0,64	0,59	0,49
1/6/2022	18:00	0,47	0,65	0,59	0,49
1/6/2022	19:00	0,48	0,65	0,59	0,49
1/6/2022	20:00	0,49	0,65	0,59	0,49
1/6/2022	21:00	0,49	0,64	0,59	0,50
1/6/2022	22:00	0,50	0,64	0,59	0,50
1/6/2022	23:00	0,50	0,64	0,59	0,50
2/6/2022	0:00	0,51	0,64	0,60	0,51
2/6/2022	1:00	0,51	0,63	0,61	0,51
2/6/2022	2:00	0,51	0,63	0,61	0,52
2/6/2022	3:00	0,52	0,63	0,60	0,52
2/6/2022	4:00	0,51	0,62	0,60	0,52
2/6/2022	5:00	0,52	0,62	0,60	0,53
2/6/2022	6:00	0,52	0,62	0,61	0,53
2/6/2022	7:00	0,51	0,62	0,61	0,53
2/6/2022	8:00	0,52	0,62	0,59	0,53
2/6/2022	9:00	0,52	0,62	0,60	0,53
2/6/2022	10:00	0,51	0,61	0,60	0,53
2/6/2022	11:00	0,51	0,61	0,60	0,53
2/6/2022	12:00	0,50	0,60	0,60	0,52
2/6/2022	13:00	0,50	0,59	0,59	0,52
2/6/2022	14:00	0,50	0,60	0,59	0,52
2/6/2022	15:00	0,50	0,60	0,57	0,52
2/6/2022	16:00	0,50	0,59	0,56	0,52
2/6/2022	17:00	0,51	0,58	0,56	0,52
2/6/2022	18:00	0,52	0,58	0,55	0,51
2/6/2022	19:00	0,53	0,58	0,55	0,51

2/6/2022	20:00	0,53	0,58	0,55	0,52
2/6/2022	21:00	0,53	0,58	0,54	0,52
2/6/2022	22:00	0,54	0,58	0,54	0,52
2/6/2022	23:00	0,56	0,58	0,54	0,53
3/6/2022	0:00	0,55	0,58	0,54	0,53
3/6/2022	1:00	0,55	0,57	0,54	0,54
3/6/2022	2:00	0,57	0,58	0,55	0,54
3/6/2022	3:00	0,58	0,58	0,55	0,54
3/6/2022	4:00	0,59	0,57	0,55	0,54
3/6/2022	5:00	0,57	0,58	0,55	0,54
3/6/2022	6:00	0,59	0,58	0,56	0,54
3/6/2022	7:00	0,58	0,58	0,56	0,54
3/6/2022	8:00	0,54	0,58	0,55	0,54
3/6/2022	9:00	0,56	0,58	0,57	0,55
3/6/2022	10:00	0,56	0,58	0,57	0,55
3/6/2022	11:00	0,55	0,59	0,57	0,55
3/6/2022	12:00	0,55	0,60	0,57	0,56
3/6/2022	13:00	0,55	0,62	0,57	0,56
3/6/2022	14:00	0,53	0,63	0,56	0,54
3/6/2022	15:00	0,51	0,63	0,54	0,55
3/6/2022	16:00	0,51	0,62	0,53	0,55
3/6/2022	17:00	0,50	0,62	0,52	0,55
3/6/2022	18:00	0,49	0,61	0,53	0,55
3/6/2022	19:00	0,49	0,61	0,53	0,53
3/6/2022	20:00	0,50	0,60	0,52	0,48
3/6/2022	21:00	0,49	0,60	0,52	0,44
3/6/2022	22:00	0,48	0,60	0,49	0,41
3/6/2022	23:00	0,49	0,61	0,50	0,39
4/6/2022	0:00	0,48	0,61	0,51	0,38
4/6/2022	1:00	0,47	0,61	0,48	0,37
4/6/2022	2:00	0,46	0,61	0,46	0,38
4/6/2022	3:00	0,47	0,61	0,49	0,38
4/6/2022	4:00	0,47	0,61	0,50	0,37
4/6/2022	5:00	0,47	0,61	0,49	0,36
4/6/2022	6:00	0,49	0,61	0,49	0,38

4/6/2022	7:00	0,50	0,60	0,48	0,48
4/6/2022	8:00	0,50	0,61	0,49	0,50
4/6/2022	9:00	0,51	0,61	0,49	0,50
4/6/2022	10:00	0,51	0,61	0,49	0,50
4/6/2022	11:00	0,52	0,61	0,52	0,52
4/6/2022	12:00	0,52	0,60	0,53	0,52
4/6/2022	13:00	0,48	0,61	0,55	0,52
4/6/2022	14:00	0,48	0,61	0,55	0,53
4/6/2022	15:00	0,46	0,60	0,56	0,53
4/6/2022	16:00	0,46	0,59	0,55	0,53
4/6/2022	17:00	0,47	0,59	0,56	0,53
4/6/2022	18:00	0,47	0,60	0,57	0,53
4/6/2022	19:00	0,49	0,61	0,55	0,52
4/6/2022	20:00	0,50	0,61	0,54	0,51
4/6/2022	21:00	0,50	0,61	0,53	0,51
4/6/2022	22:00	0,51	0,61	0,52	0,50
4/6/2022	23:00	0,51	0,61	0,51	0,48
5/6/2022	0:00	0,52	0,61	0,52	0,45
5/6/2022	1:00	0,51	0,61	0,52	0,42
5/6/2022	2:00	0,51	0,62	0,52	0,40
5/6/2022	3:00	0,50	0,61	0,51	0,38
5/6/2022	4:00	0,50	0,61	0,52	0,36
5/6/2022	5:00	0,48	0,61	0,51	0,34
5/6/2022	6:00	0,49	0,61	0,50	0,35
5/6/2022	7:00	0,51	0,61	0,49	0,45
5/6/2022	8:00	0,52	0,62	0,52	0,48
5/6/2022	9:00	0,52	0,62	0,54	0,48
5/6/2022	10:00	0,52	0,62	0,54	0,50
5/6/2022	11:00	0,51	0,62	0,56	0,51
5/6/2022	12:00	0,51	0,61	0,58	0,52
5/6/2022	13:00	0,50	0,61	0,60	0,53
5/6/2022	14:00	0,46	0,61	0,61	0,53
5/6/2022	15:00	0,42	0,61	0,62	0,53
5/6/2022	16:00	0,39	0,61	0,61	0,54
5/6/2022	17:00	0,37	0,61	0,62	0,54

5/6/2022	18:00	0,35	0,61	0,62	0,54
5/6/2022	19:00	0,33	0,62	0,62	0,54
5/6/2022	20:00	0,31	0,62	0,63	0,54
5/6/2022	21:00	0,31	0,62	0,62	0,54
5/6/2022	22:00	0,30	0,62	0,61	0,54
5/6/2022	23:00	0,28	0,62	0,61	0,54
6/6/2022	0:00	0,27	0,62	0,61	0,54
6/6/2022	1:00	0,28	0,62	0,59	0,53
6/6/2022	2:00	0,27	0,62	0,59	0,53
6/6/2022	3:00	0,27	0,62	0,59	0,53
6/6/2022	4:00	0,27	0,62	0,59	0,53
6/6/2022	5:00	0,28	0,62	0,59	0,51
6/6/2022	6:00	0,26	0,62	0,61	0,53
6/6/2022	7:00	0,26	0,62	0,59	0,53
6/6/2022	8:00	0,28	0,62	0,58	0,52
6/6/2022	9:00	0,25	0,62	0,57	0,53
6/6/2022	10:00	0,22	0,63	0,57	0,54
6/6/2022	11:00	0,22	0,63	0,57	0,54
6/6/2022	12:00	0,23	0,62	0,57	0,54
6/6/2022	13:00	0,23	0,61	0,57	0,54
6/6/2022	14:00	0,25	0,60	0,57	0,54
6/6/2022	15:00	0,27	0,60	0,59	0,54
6/6/2022	16:00	0,24	0,61	0,59	0,54
6/6/2022	17:00	0,23	0,61	0,60	0,54
6/6/2022	18:00	0,23	0,61	0,60	0,54
6/6/2022	19:00	0,23	0,61	0,59	0,53
6/6/2022	20:00	0,25	0,61	0,58	0,52
6/6/2022	21:00	0,25	0,61	0,56	0,52
6/6/2022	22:00	0,25	0,61	0,55	0,51
6/6/2022	23:00	0,26	0,61	0,54	0,50
7/6/2022	0:00	0,26	0,61	0,54	0,44
7/6/2022	1:00	0,29	0,61	0,55	0,36
7/6/2022	2:00	0,29	0,61	0,54	0,33
7/6/2022	3:00	0,31	0,61	0,53	0,31
7/6/2022	4:00	0,30	0,61	0,53	0,31

7/6/2022	5:00	0,32	0,61	0,52	0,31
7/6/2022	6:00	0,29	0,61	0,53	0,32
7/6/2022	7:00	0,25	0,60	0,52	0,41
7/6/2022	8:00	0,25	0,61	0,55	0,44
7/6/2022	9:00	0,24	0,61	0,56	0,45
7/6/2022	10:00	0,25	0,61	0,57	0,45
7/6/2022	11:00	0,25	0,61	0,60	0,48
7/6/2022	12:00	0,25	0,61	0,62	0,49
7/6/2022	13:00	0,26	0,61	0,62	0,50
7/6/2022	14:00	0,25	0,60	0,62	0,50
7/6/2022	15:00	0,27	0,60	0,62	0,50
7/6/2022	16:00	0,26	0,60	0,62	0,51
7/6/2022	17:00	0,25	0,60	0,62	0,51
7/6/2022	18:00	0,24	0,60	0,61	0,51
7/6/2022	19:00	0,24	0,61	0,60	0,51
7/6/2022	20:00	0,24	0,60	0,56	0,50
7/6/2022	21:00	0,24	0,60	0,56	0,51
7/6/2022	22:00	0,26	0,60	0,54	0,48
7/6/2022	23:00	0,26	0,60	0,52	0,45
8/6/2022	0:00	0,28	0,60	0,54	0,33
8/6/2022	1:00	0,29	0,59	0,55	0,26
8/6/2022	2:00	0,27	0,59	0,54	0,24
8/6/2022	3:00	0,33	0,59	0,52	0,21
8/6/2022	4:00	0,28	0,58	0,52	0,21
8/6/2022	5:00	0,27	0,58	0,52	0,20
8/6/2022	6:00	0,29	0,59	0,52	0,20
8/6/2022	7:00	0,24	0,59	0,51	0,35
8/6/2022	8:00	0,23	0,59	0,52	0,40
8/6/2022	9:00	0,24	0,59	0,55	0,41
8/6/2022	10:00	0,20	0,60	0,54	0,50
8/6/2022	11:00	0,18	0,61	0,55	0,51
8/6/2022	12:00	0,15	0,60	0,55	0,52
8/6/2022	13:00	0,15	0,59	0,56	0,52
8/6/2022	14:00	0,16	0,58	0,55	0,52
8/6/2022	15:00	0,17	0,57	0,56	0,52

8/6/2022	16:00	0,16	0,58	0,58	0,52
8/6/2022	17:00	0,16	0,58	0,58	0,52
8/6/2022	18:00	0,16	0,58	0,59	0,51
8/6/2022	19:00	0,16	0,58	0,56	0,50
8/6/2022	20:00	0,17	0,58	0,54	0,48
8/6/2022	21:00	0,20	0,57	0,52	0,36
8/6/2022	22:00	0,20	0,57	0,53	0,27
8/6/2022	23:00	0,20	0,57	0,53	0,25
9/6/2022	0:00	0,20	0,57	0,53	0,20
9/6/2022	1:00	0,19	0,57	0,52	0,19
9/6/2022	2:00	0,20	0,56	0,51	0,18
9/6/2022	3:00	0,18	0,57	0,51	0,18
9/6/2022	4:00	0,18	0,56	0,51	0,18
9/6/2022	5:00	0,18	0,57	0,50	0,17
9/6/2022	6:00	0,19	0,56	0,48	0,17
9/6/2022	7:00	0,20	0,57	0,49	0,34
9/6/2022	8:00	0,18	0,57	0,49	0,41
9/6/2022	9:00	0,18	0,57	0,52	0,42
9/6/2022	10:00	0,17	0,57	0,55	0,44
9/6/2022	11:00	0,18	0,57	0,57	0,44
9/6/2022	12:00	0,18	0,58	0,60	0,46
9/6/2022	13:00	0,18	0,57	0,60	0,47
9/6/2022	14:00	0,19	0,57	0,61	0,48
9/6/2022	15:00	0,20	0,58	0,61	0,48
9/6/2022	16:00	0,19	0,57	0,61	0,47
9/6/2022	17:00	0,16	0,58	0,57	0,45
9/6/2022	18:00	0,12	0,60	0,55	0,47
9/6/2022	19:00	0,10	0,59	0,56	0,47
9/6/2022	20:00	0,10	0,59	0,56	0,46
9/6/2022	21:00	0,11	0,58	0,53	0,45
9/6/2022	22:00	0,11	0,59	0,54	0,25
9/6/2022	23:00	0,12	0,58	0,54	0,18
10/6/2022	0:00	0,13	0,58	0,53	0,17
10/6/2022	1:00	0,13	0,58	0,52	0,17
10/6/2022	2:00	0,14	0,58	0,52	0,16

10/6/2022	3:00	0,14	0,58	0,51	0,17
10/6/2022	4:00	0,15	0,58	0,52	0,15
10/6/2022	5:00	0,15	0,57	0,51	0,15
10/6/2022	6:00	0,15	0,58	0,52	0,15
10/6/2022	7:00	0,15	0,57	0,50	0,32
10/6/2022	8:00	0,14	0,57	0,49	0,38
10/6/2022	9:00	0,14	0,57	0,50	0,39
10/6/2022	10:00	0,13	0,70	0,54	0,40
10/6/2022	11:00	0,14	0,56	0,61	0,42
10/6/2022	12:00	0,13	0,55	0,59	0,42
10/6/2022	13:00	0,12	0,50	0,60	0,44
10/6/2022	14:00	0,12	0,51	0,61	0,45
10/6/2022	15:00	0,14	0,52	0,61	0,45
10/6/2022	16:00	0,13	0,53	0,58	0,45



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL**

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 12 / 01 / 2023

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Jennifer Carolina Cuadrado Castillo Génesis Mayté Rodríguez Pinto
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Ingeniería Ambiental
Título a optar: Ingeniera Ambiental
f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo.

2321-DBRA-UPT-2022