



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD MEDIANTE LA ACCIÓN  
COMBINADA DE *DELFTIA ACIDIVORANS* Y *CITROBACTER  
FREUNDII* AISLADAS DE BIOPELÍCULAS DE CELDAS DE  
COMBUSTIBLE MICROBIANAS PARA TRATAMIENTO DE  
CONTAMINANTES.**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

**INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**AUTORA: JENNY MARÍA BERRONES YAULEMA**

**DIRECTORA: Ing. CRISTINA GABRIELA CALDERÓN TAPIA, MSc.**

Riobamba – Ecuador

2023

**©2023, Jenny María Berrones Yaulema**

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

Yo, JENNY MARÍA BERRONES YAULEMA, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que proviene de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación, el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 06 de marzo de 2023

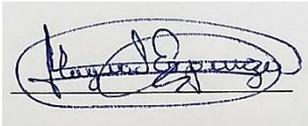
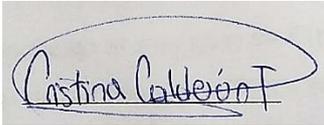


**Jenny María Berrones Yaulema**

**C.I. 060431259-5**

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

El tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; tipo: Proyecto de Investigación, **PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD MEDIANTE LA ACCIÓN COMBINADA DE *DELFTIA ACIDIVORANS* Y *CITROBACTER FREUNDII* AISLADAS DE BIOPELÍCULAS DE CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS PARA TRATAMIENTO DE CONTAMINANTES**, realizado por la señorita: **JENNY MARIA BERRONES YAULEMA**, ha sido minuciosamente revisado por los miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Dra. Mayra Jannet Espinoza Melendres, MSc. <b>PRESIDENTA DEL TRIBUNAL</b>		2023-03-06
Ing. Cristina Gabriela Calderón Tapia, MSc. <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACION</b>		2023-03-06
Ing. Daniel Antonio Chuquin Vasco, MSc. <b>ASESOR DEL TRABAJO DE TITULACION TRIBUNAL</b>		2023-03-06

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo de titulación va dedicado a Dios por guiar mi camino por darme fortaleza y conocimiento para llevar a cabo mis estudios.

Agradezco a mi mamá María Yaulema por ser mi apoyo incondicional, el pilar fundamental en mi vida, por brindarme su amor y guiarme por el camino del bien.

A mi hija Jenny Orna por ser el motor que me impulsa a seguir adelante y ser mi mejor amiga.

A mi familia y amigos por sus buenos deseos y palabras de aliento que me dieron fortaleza.

A mis profesores que gracias a sus conocimientos ayudaron a forjarme como profesional.

Jenny

## **AGRADECIMIENTOS**

El más sincero agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por abrirme sus puertas y formarme como profesional.

Al grupo de investigación, desarrollo para el ambiente y cambio climático (GIDAC) por brindarme su apoyo y asesoría para fortalecer mis conocimientos en especial al Ing. Alex Guambo por su apoyo y paciencia durante la elaboración del trabajo de titulación.

A la Facultad de Biotecnología Ambiental de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por los conocimientos recibidos en el transcurso de mi carrera.

A la ingeniera Diana Campoverde por su asesoramiento estadístico en la interpretación de los resultados de esta investigación.

A mi familia por su apoyo y comprensión.

Jenny

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	2
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Problema general de investigación.....	3
1.3. Problemas específicos de investigación.....	3
1.4. Objetivos.....	3
1.4.1. <i>Objetivo general</i> .....	3
1.4.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	3
1.5. Justificación.....	4
1.5.1. <i>Justificación metodológica</i> .....	4
1.5.2. <i>Justificación práctica</i> .....	4
CAPÍTULO II	
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Antecedentes de investigación.....	5
2.2. Referencias teóricas.....	6
2.2.1. <i>Bioelectricidad</i> .....	6
2.2.2. <i>Bacterias electrogénicas</i> .....	6
2.2.2.1. <i>Delftia acidivorans</i> .....	6
2.2.2.2. <i>Citrobacter freundii</i> .....	7
2.2.3. <i>Celdas de combustible microbianas</i> .....	8
2.2.3.1. <i>Estructura de una CCM</i> .....	8
2.2.3.2. <i>Componentes</i> .....	10
2.2.3.3. <i>Tipos de CCMs</i> .....	11

2.2.3.4.	<i>Principio de funcionamiento de una celda de combustible microbiana</i> .....	13
2.2.4.	<b>Contaminación por residuos sólidos orgánicos</b> .....	13
2.2.5.	<b>Tipo de contaminación</b> .....	13
2.2.5.1.	<i>Lixiviados</i> .....	13
2.2.5.2.	<i>Tipos de lixiviados</i> .....	14
2.2.6.	<b>Tratamientos convencionales para lixiviados</b> .....	15
2.2.6.1.	<i>Tratamiento térmico (evaporación)</i> .....	15
2.2.6.2.	<i>Tratamiento biológico</i> .....	15
2.2.6.3.	<i>Sistemas de membranas SPM de ósmosis inversa</i> .....	15
2.2.6.4.	<i>Tratamiento físico-químico</i> .....	16

### CAPÍTULO III

3.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	17
3.1.	<b>Enfoque de investigación</b> .....	17
3.2.	<b>Nivel de la investigación</b> .....	17
3.3.	<b>Diseño de investigación</b> .....	18
3.3.1.	<i>Tipo experimental</i> .....	18
3.4.	<b>Población, selección y cálculo del tamaño de la muestra</b> .....	18
3.4.1.	<i>Población</i> .....	18
3.4.2.	<i>Selección de la muestra</i> .....	19
3.4.3.	<i>Cálculo del tamaño de la muestra</i> .....	20
3.4.4.	<i>Cálculos para la obtención de lixiviados</i> .....	20
3.5.	<b>Métodos, técnicas e instrumentos de investigación</b> .....	21
3.5.1.	<i>Siembra de bacterias electrogénicas</i> .....	21
3.5.2.	<i>Tratamiento de membranas</i> .....	22
3.5.3.	<i>Diseño de las CCMs</i> .....	23
3.5.4.	<i>Esterilización de las CCMs</i> .....	24
3.5.5.	<i>Ensamblaje de las CCMs</i> .....	24
3.5.6.	<i>Operacionalización de las CCMs</i> .....	25
3.5.7.	<i>Análisis de lixiviados</i> .....	26
3.5.7.1.	<i>Método de análisis 4500-H-B</i> .....	26
3.5.7.2.	<i>Método 5220-D</i> .....	26
3.5.7.3.	<i>Método 5210-B</i> .....	27
3.5.7.4.	<i>4500-NH<sub>4</sub>-C</i> .....	28
3.5.8.	<b>Materiales usados en la experimentación</b> .....	28

3.5.9.	<i>Planteamiento de hipótesis</i>	30
3.5.10.	<i>Variables</i>	30
3.5.10.1.	<i>Variables dependientes</i>	30
3.5.10.2.	<i>Variables independientes</i>	31

## CAPÍTULO IV

4.	<b>MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</b>	32
4.1.	<b>Obtención de bacterias electrogénicas</b>	32
4.2.	<b>Celdas microbianas</b>	33
4.3.	<b>Voltaje generado</b>	33
4.4.	<b>Intensidad de corriente</b>	35
4.5.	<b>Densidad de potencia</b>	37
4.6.	<b>Análisis de parámetros antes y después de la experimentación</b>	40
4.6.1.	<i>Análisis de pH</i>	40
4.6.2.	<i>Análisis de DBO5</i>	41
4.6.3.	<i>Análisis de DQO</i>	42
4.6.4.	<i>Análisis de nitrógeno amoniacal</i>	43
4.7.	<b>Comprobación de hipótesis</b>	43
4.8.	<b>Discusión</b>	48

CONCLUSIONES	50
--------------	----

RECOMENDACIONES	51
-----------------	----

## BIBLIOGRAFÍA

## ANEXOS

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-3:</b>	Diseño experimental .....	18
<b>Tabla 2-3:</b>	Hora y fecha de los muestreos de residuos sólidos (frutas y verduras).....	20
<b>Tabla 3-3:</b>	Materiales utilizados en la investigación .....	28
<b>Tabla 1-4:</b>	Factores que intervienen en el crecimiento de bacterias electrogénicas .....	32
<b>Tabla 2- 4:</b>	Nomenclatura aplicada.....	33
<b>Tabla 3-4:</b>	Promedio de voltaje generado en milivoltios (mV) .....	33
<b>Tabla 4-4:</b>	Intensidad de corriente de CCMs obtenida en microamperios ( $\mu$ A).....	36
<b>Tabla 5-4:</b>	Densidad de potencia de las CCMs medido en mW/m <sup>2</sup> .....	38
<b>Tabla 6-4:</b>	Medición diaria de pH de las CCMs durante la experimentación. ....	40
<b>Tabla 7-4:</b>	Resultados del análisis de DBO5 de lixiviado Inicial y final.....	41
<b>Tabla 8-4:</b>	Resultados del análisis de DQO de lixiviado Inicial y final .....	42
<b>Tabla 9-4:</b>	Resultados del análisis de Nitrógeno amoniacal inicial y final.....	43
<b>Tabla 10-4:</b>	Prueba de Normalidad.....	44
<b>Tabla 11-4:</b>	Estadísticos de prueba.....	44
<b>Tabla 12-4:</b>	Prueba de Normalidad para parámetros de remoción de contaminantes. ....	45
<b>Tabla 13-4:</b>	Análisis Anova.....	46
<b>Tabla 14-4:</b>	Método de Tukey DBO5.....	46
<b>Tabla 15-4:</b>	Método de Tukey DQO. ....	47
<b>Tabla 16-4:</b>	Método de Tukey Nitrógeno amoniacal.....	47

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1-2:</b>	<i>Delftia acidivorans</i> tinción de Gram.....	7
<b>Ilustración 2-2:</b>	<i>Citrobacter freundii</i> tinción de Gram.....	7
<b>Ilustración 3-2:</b>	Prototipo esquemático de CCMs.....	8
<b>Ilustración 4-2:</b>	Sistema de Adquisición de datos.....	11
<b>Ilustración 5-2:</b>	CCMs de dos cámaras.....	12
<b>Ilustración 6-2:</b>	CCMs de cámara simple.....	12
<b>Ilustración 1-3:</b>	EP-EMMPA San Pedro de Riobamba.....	19
<b>Ilustración 2-3:</b>	Siembra de cultivos axénicos.....	22
<b>Ilustración 3-3:</b>	Tratamiento de membranas anódicas: <b>A:</b> Ánodos sumergidos en acetona. <b>B:</b> calentamiento de ánodos en mufla.....	23
<b>Ilustración 4-3:</b>	Diseño de las CCMs.....	23
<b>Ilustración 5-3:</b>	Esterilización de compartimentos en UV.....	24
<b>Ilustración 6-3:</b>	Ensamblaje de las CCMs.....	25
<b>Ilustración 7-3:</b>	Monitoreo de las CCMs.....	25
<b>Ilustración 8-3:</b>	Medición de pH. <b>A:</b> Medición de pH con pH metro de mesa. <b>B:</b> Medición de pH con papel tornasol.....	26
<b>Ilustración 9-3:</b>	Determinación de la DQO. <b>A:</b> Muestras y reactivos para análisis. <b>B:</b> espectrofotómetro.....	27
<b>Ilustración 10-3:</b>	Digestor de DBO 5.....	27
<b>Ilustración 11-3:</b>	Digestor para análisis de nitrógeno amoniacal.....	28
<b>Ilustración 1-4:</b>	Siembra de bacterias electrogénicas <b>A:</b> Agar nutritivo y bacterias. <b>B:</b> incubadora.....	32
<b>Ilustración 2-4:</b>	Voltaje generado por las CCMs.....	34
<b>Ilustración 3-4:</b>	Mayor voltaje generado por la Acción combinada de <i>Delftia acidivorans</i> y <i>Citrobacter freundii</i> .....	35
<b>Ilustración 4-4:</b>	Intensidad de corriente en función del tiempo.....	36
<b>Ilustración 5-4:</b>	Densidad de potencia.....	39
<b>Ilustración 6-4:</b>	pH medido de las CCMs durante la experimentación.....	40

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

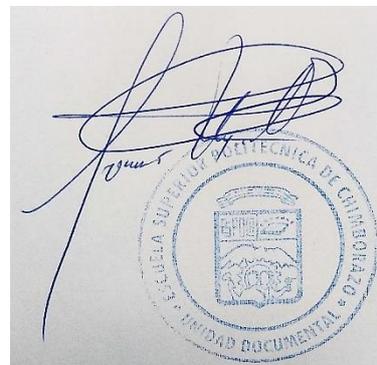
- ANEXO A:** ANÁLISIS INICIAL DE LA MUESTRA DE LIXIVIADOS
- ANEXO B:** ANÁLISIS FINAL DE LAS MUESTRAS DE LIXIVIADOS.
- ANEXO C:** TRATAMIENTO DE MEMBRANAS DE FIBRA DE CARBONO
- ANEXO D:** SIEMBRA DE BACTERIAS ELECTROGÉNICAS
- ANEXO E:** SUSTRATO UTILIZADO EN CCMs
- ANEXO F:** ENSAMBLAJE DE CCMs
- ANEXO G:** MONITOREO DE CCMs

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo producir bioelectricidad mediante la acción combinada de bacterias electrogénicas *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* para tratamiento de contaminantes, se realizó la construcción de 6 celdas de combustible microbianas (CCMs) con un volumen de 125 ml, se utilizó sustrato realizado a partir de frutas y verduras con proporción 50:50 donde las bacterias fueron inoculadas, la distribución de las CCMs fue la siguiente: 2 CCMs con *Delftia Acidivorans*, 2 CCMs con *Citrobacter Freundii* y 2 CCMs en acción combinada de *Delftia Acidivorans* y *Citrobacter freundii*, las mismas que fueron monitoreadas durante 15 días mediante un sistema de adquisición de datos los cuales fueron representados en gráficas y tablas, los promedios más altos de voltaje, intensidad de corriente y densidad de potencia correspondieron a la acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* con valores de 244.02 mV, 244.02  $\mu$ A y 0.189 mW/m<sup>2</sup> respectivamente. En cada una de las CCMs se evaluó parámetros de remoción de contaminantes, obteniendo los porcentajes más altos en la CCM 5 con valores de 80.66% (DBO5), 83.81% (DQO) y 86.09% (nitrógeno amoniacal) y en la CCM 6 se obtuvieron valores de 83.48% (DBO5), 80.95% (DQO) y 83.33% (nitrógeno amoniacal), diariamente se midió el pH en todas las CCMs el cual fue aumentando durante la investigación, concluyendo que en cultivos mixtos bacterianos hay mayor producción de voltaje y alta remoción de materia orgánica, y finalmente se recomienda combinar cultivos puros utilizando diferentes tipos de sustrato.

**Palabras clave:** <BIOELECTRICIDAD>, <BACTERIAS ELECTROGENICAS>, <ACCIÓN COMBINADA>, <CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS>, <VOLTAJE>, <REMOCIÓN DE CONTAMINANTES>.

0546-DBRA-UPT-2023



## SUMMARY

The objective of this study was to produce bioelectricity through the combined action of electrogenic bacteria *Delftia acidovorans* and *Citrobacter freundii* for the treatment of contaminants; the construction of 6 microbial fuel cells (MCCs) with a volume of 125 ml was carried out, a substrate made at from fruits and vegetables with a 50:50 ratio where the bacteria were inoculated, the distribution of the CCMs was as follows: 2 CCMs with *Delftia Acidivorans*, 2 CCMs with *Citrobacter Freundii* and 2 CCMs in the combined action of *Delftia Acidivorans* and *Citrobacter freundii*, the same ones that were monitored for 15 days through a data acquisition system which were represented in graphs and tables, the highest averages of voltage, current intensity and power density corresponded to the Combined action of *Delftia acidovorans* and *Citrobacter freundii* with values of 244.02 mV, 244.02  $\mu$ A and 0.189 mW/m<sup>2</sup> respectively. In each of the CCMs, pollutant removal parameters were evaluated, obtaining the highest percentages in CCM 5 with values of 80.66% (BOD5), 83.81% (COD) and 86.09% (nitrogen ammoniacal) and in CCM 6 values of 83.48% (BOD5), 80.95% (COD) and 83.33% (ammoniacal nitrogen) were obtained, daily the pH was measured in all CCMs which increased during the investigation, It is concluded that in mixed bacterial cultures, there is higher voltage production and high removal of organic matter, and finally, it is recommended to combine pure cultures using different types of substrate.

**Keywords:** <BIOELECTRICITY>, <ELECTROGENIC BACTERIA>, <COMBINED ACTION>, <MICROBIAL FUEL CELLS>, <VOLTAGE>, <CONTAMINANT REMOVAL>.



Ing. Paul Obregón. Mgs  
0601927122

## INTRODUCCIÓN

Los riesgos de suministro y la escasez de combustibles fósiles son grandes desafíos para el desarrollo sostenible de los países. En respuesta a este desafío, los objetivos de desarrollo sostenible enfatizan la importancia de los patrones de consumo y producción para la sostenibilidad de los recursos (incluidos los combustibles fósiles) (Wang et al., 2020: pp.4-9).

Si bien las fuentes de energía fósil aún abundan en el mundo, los grandes avances logrados en algunas tecnologías y el aumento de la demanda de protección ambiental ecológica impulsan la transformación de tecnologías amigables y fuentes alternativas de energía que reduzca esta dependencia (Zou et al., 2016: pp.1-11). Las Celdas de Combustible microbianas CCMs es una alternativa para la generación de energía sostenible para abordar desafíos vinculados al tratamiento de residuos y biorremediación de contaminantes (González, 2018).

Las celdas de combustible microbianas son dispositivos bioelectroquímicos que mediante la adición de sustrato y biopelículas microbianas generan electricidad transformando la energía química en energía eléctrica, además los microorganismos presentes tienen la capacidad de degradar compuestos tóxicos como lixiviados por medio de su metabolismo, las CCMs constan de una cámara donde se encuentra un ánodo y cátodo separados por una membrana de intercambio de protones, los electrones se dirigen hacia el circuito externo que llega al cátodo y los iones de hidrógeno se mueven hacia el cátodo y reaccionan con el oxígeno, teniendo las CCMs un gran potencial de crear electricidad verde (Obileke et al., 2021: pp. 1-12).

Además, la importancia de esta investigación no solo recae en la producción de bioelectricidad sino también en la eliminación de contaminantes como lixiviados de origen orgánico que se utilizan como sustrato para la alimentación bacteriana en CCMs, logrando que los co- cultivos desarrollen un mayor potencial al momento de generar electricidad (Kumar et al., 2017: pp. 4-15). Esta tecnología renovable ha demostrado efectividad y ha generado gran curiosidad en cuanto a la producción de energía limpia y eliminación de contaminantes buscando alternativas de prototipos para la creación de CCMs, además de diversidad de sustratos y microorganismos electrogénicos que puedan contribuir al avance de esta tecnología.

Esta investigación generará un aporte importante en el estudio de producción de voltaje a partir de microorganismos, mediante la construcción de celdas de combustible microbianas, las mismas que brindará un aporte al grupo GIDAC ESPOCH, para el proyecto de investigación IDIPI-273 ESPOCH:” Opportunities and challenges of renewable energies as a territorial development in zones of the province of Chimborazo”, lo que permitirá un paso más en la búsqueda de energías alternativas con aprovechamiento de contaminantes.

# CAPÍTULO I

## 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1. Planteamiento del problema

El consumo a nivel mundial de energía, representado en un 80% por combustibles fósiles, genera grandes cantidades de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O y otros gases de efecto invernadero, debido a la creciente demanda de energía, además del crecimiento de la población y al agotamiento de los recursos no renovables, es por ello que existe la necesidad de desarrollar energías limpias (ONU, 2021). Durante los últimos 10 años, gran parte de la población a nivel mundial ha tenido acceso a la electricidad; pero también la cantidad de personas que no tienen electricidad aumentó esto provoca que se limite el desarrollo y la introducción de nuevas tecnologías, las personas aún no podrán lograr el acceso universal a energía sostenible, asequible y confiable para el 2030 a menos que los países con las menores carencias aumenten significativamente sus esfuerzos (OMS, 2021).

Es importante indicar que en la actualidad el 92% de la generación de energía en el Ecuador es proveniente de centrales hidroeléctricas que producen alrededor de 1500MW de potencia, el 7% de centrales térmicas utilizando carbón y gas natural para su funcionamiento y apenas el 1% de fuentes no convencionales como son: eólica, fotovoltaica, geotérmica, biomasa, hidráulica, mareomotriz, biogás, etc.) (Ministerio de Energía y Recursos Naturales no Renovables, 2020, p.1).

Diariamente en nuestro país se produce 14.000 toneladas de desechos peligrosos de tipo industrial, doméstico, agrario, médico, entre otros, lo que representa más de cinco millones de toneladas anuales, de los cuales el mayor porcentaje corresponde a residuos orgánicos con un total de 56,2% y el 43,8% a inorgánicos, ya que la acumulación y proliferación de algunos de estos o su presencia en grandes cantidades, puede generar problemas de impacto ambiental en zonas urbanas y rurales (Hernández y Sánchez, 2017, pp. 4-10). Así mismo vienen generando cada vez un mayor volumen de residuos orgánicos, provocando problemas de disposición y manejo.

Por otro lado, los contaminantes lixiviados provenientes de residuos orgánicos derivados del consumo de alimentos del mercado de la Empresa Pública Municipal Mercado de Productores Agrícolas San Pedro de Riobamba EP-EMMPA genera contaminación ambiental; según él (Ministerio del Ambiente y Agua, 2020, p.3) los residuos orgánicos desechados en el ambiente sin ningún control o tratamiento previo, produce efectos negativos como malos olores, proliferación de vectores a causa de la degradación microbiana, contaminación de agua y suelo además de causar una mala imagen en su entorno e impacto negativo.

## **1.2. Problema general de investigación**

El consumo mundial de energía, debido al incremento exponencial de la población representado en un 80% consume combustibles fósiles que genera grandes cantidades de dióxido de carbono y otros gases de efecto invernadero, teniendo en cuenta el aumento de la demanda energética y la disminución de las reservas no renovables, es necesario desarrollar fuentes de energías limpias, sostenibles y renovables (ONU, 2021, p.1).

## **1.3. Problemas específicos de investigación**

- La escasez de energía en lugares remotos acarrea déficits de pobreza, el mundo seguirá sin poder garantizar el acceso universal a energía asequible, confiable, sostenible y moderna para 2030 (OMS, 2021, p.2).
- La generación constante de residuos orgánicos, va provocando problemas de disposición y manejo (ONU, 2021, p.6).
- Los lixiviados provenientes de residuos orgánicos derivados del consumo de alimentos generan contaminación ambiental y efectos negativos por la degradación microbiana (Ministerio del Ambiente y Agua, 2020, p.7).

## **1.4. Objetivos**

### ***1.4.1. Objetivo general***

Producir bioelectricidad mediante la acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* aisladas de biopelículas de celdas de combustible microbianas para tratamiento de contaminantes.

### ***1.4.2. Objetivos específicos***

- Preparar celdas de combustible microbianas para la generación de bioelectricidad a partir de un sustrato asimilable y potencialmente contaminante (lixiviado).
- Monitorear la producción de bioelectricidad en los aislados puros como en co-cultivo a través de parámetros como el voltaje, corriente y densidad de potencia.
- Evaluar la eficiencia de conversión de energía en este tipo de cultivos, mediante la determinación de sus características electrogénicas y remoción de parámetros del contaminante.

## **1.5. Justificación**

### ***1.5.1. Justificación metodológica***

La actividad electrogénica se logra mediante microorganismos *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* que actúan como biocatalizadores, los cuales oxidan la materia orgánica generando grandes cantidades de electrones, que al ser recolectados en un electrodo (ánodo) se convierten en electricidad. Como inóculo para las CCMs se pueden utilizar cultivos de una especie microbiana o cultivos mixtos para la producción de energía, diversos estudios comprobaron que en co-cultivos se producía un voltaje comparativamente significativo que, en cultivos puros, aunque las bacterias sean de diferentes géneros, se adaptan muy bien en la cámara anódica y ayudan en la transferencia de electrones, donde existe un mutualismo entre la población bacteriana (Deepika et al., 2013: pp. 424-430). Por medio de bacterias electrogénicas se ceden electrones procedentes de su actividad metabólica a un electrodo en lugar de un aceptor de electrones similar a lo que ocurre en los procesos de purificación naturales (Hernández, 2017, p.1).

### ***1.5.2. Justificación práctica***

Las celdas de combustible microbianas CCMs son dispositivos que pueden utilizar el metabolismo bacteriano para descomponer sustratos orgánicos y producir corriente eléctrica ya que en el ánodo las bacterias se comportan como una fuente de energía renovable que genera transferencia de electrones, convirtiendo energía química en energía eléctrica, las CCMs son dispositivos que funcionan correctamente a temperatura ambiente y presión adecuada (Pandit y Das, 2017: pp. 21-41). Los lixiviados son utilizados como sustrato aprovechable es decir alimento para las bacterias electrogénicas presentes en las CCMs ya que poseen un alto contenido de nutrientes orgánicos e inorgánicos, siendo uno de los elementos fundamentales para generar energía eléctrica y al mismo tiempo la eliminación de los lixiviados ya que los mismos son consumidos diariamente por dichos microorganismos (Sonawane et al., 2017: pp. 23794-23798).

Además, como alternativa favorable para monitoreo ambiental se puede emplear biosensores basados en CCMs logrando medir varios parámetros como: oxígeno disuelto, ácidos grasos volátiles, demanda bioquímica de oxígeno DBO, demanda química de oxígeno DQO y monitoreo de bioprocesos siendo eventualmente un método estándar aprobado (Cui et al., 2019: p. 92).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes de investigación

Diversas investigaciones se han publicado respecto al uso de celdas de combustible microbiano CCMs y cada una de ellas constituye un avance en el conocimiento de esta tecnología de energía limpia y amigable con el ambiente, estudios enfatizan que los co-cultivos de bacterias aisladas de una biopelícula anódica producen un voltaje mayor que los cultivos puros, aunque las bacterias sean de diferentes géneros, se adaptan muy bien en la cámara anódica y ayudan en la transferencia de electrones.

Existe un mutualismo entre la población bacteriana cuando se inoculan 2 bacterias en una CCMs y por lo tanto se produce más cantidad de voltaje cuando están en forma de co-cultivo, esto nos permite comprender los criterios para determinar el potencial de las celdas de combustible microbianas en base a varios parámetros electroquímicos como son el voltaje, densidad de potencia y parámetros de degradación de sustrato, dando a conocer que esta tecnología sostenible es efectiva ( Deepika et al., 2013: pp. 424-430).

Además, se conoce que las CCMs se utilizan como sensores biológicos de DBO evaluando el nivel de contaminación en desechos líquidos como son las aguas residuales de diversas plantas de tratamiento de residuos y lixiviados, este tipo de sensor tiene una excelente sostenibilidad operativa sin causar daño al medio ambiente (Kitafa y Obaid, 2021, pp. 1-8). Lo que demuestra ser una fuente de energía renovable que puede recolectarse y utilizarse conectándolos a través de un circuito para diversos objetivos y propuestas de investigación.

También se realizaron investigaciones en la ESPOCH sobre celdas de combustible microbianas para determinar el beneficio de un microorganismo electroquímicamente activo de suelo alto andino para la producción de energía renovable usando nitratos como compuesto inorgánico, este estudio sugirió que la cepa bacteriana *Pseudomonas aeruginosa* identificada y aislada de suelos alto andinos del Ecuador es capaz de producir bioelectricidad debido a sus propiedades nitrificantes propias de dicha especie, a partir de una fuente nitrogenada; mientras más alta es la concentración del contaminante mayor podría ser la producción de bioelectricidad (Guambo et al ., 2017: pp.5-9).

## **2.2. Referencias teóricas**

### **2.2.1. Bioelectricidad**

Es la producción de electricidad sustentable sin daño al medio ambiente por parte de microorganismos debido a la producción de electrones resultante de su metabolismo, estos electrones producidos pueden capturarse para mantener una fuente estable o continua de producción de energía. Las células bacterianas presentes en una cámara anódica, cuando se les proporciona un sustrato adecuado, pueden metabolizar los componentes es decir la materia orgánica produciendo electrones que se desplazan de manera rápida por acción de la biopelícula los mismos que pueden recolectarse y utilizarse conectándolos a través de un circuito. Estos componentes se pueden empaquetar en un conjunto llamado "celda de combustible microbiana" (CCMs) lo que demuestra ser una fuente de energía limpia (Tharali et al., 2016: pp. 252-266). La generación de protones es proporcional a la de electrones los mismos que se mueven por la acción de la biopelícula hacia la membrana del ánodo mientras que los protones se desplazan fuera de la biopelícula hacia el cátodo generándose un circuito eléctrico en las celdas de combustible microbianas (Franks y Nevin, 2010, p.2).

### **2.2.2. Bacterias electrogénicas**

Son comunidades microbianas anaeróbicas capaces de producir electricidad las mismas que tienen una gran biodiversidad de géneros bacterianos y podemos encontrarlas en sedimentos de lagos o ríos, las bacterias electrogénicas transfieren electrones al ánodo por medio de su membrana celular, hay dos tipos de bacterias electrogénicas las que producen sus mediadores redox que son liberados al medio reaccionando con el electrodo y las que interactúan directamente con el electrodo sin necesidad de un mediador (Núñez, 2008, p. 21); lo cual nos indica que es una alternativa con un gran potencial para generar energía de un modo más eficiente, estas bacterias actúan de manera cooperativa para degradar la materia orgánica, obteniendo electrones como consecuencia de su ruta metabólica (Hernández y Sánchez, 2017, pp. 4-10)

#### **2.2.2.1. *Delftia acidivorans***

Son microorganismos microscópicos del género *Delftia* son bacilos gram negativos aerobios, que no forman endosporas y que habitan en diversos nichos ecológicos en el ambiente; taxonómicamente este género pertenece a la familia Comamonadaceae dentro del orden Burkholderiales de las Betaproteobacterias, están incluidas dentro del género *Delftia*: *Delftia*

*acidivorans*, aislada del suelo, por lo tanto son microorganismos ambientales con una variedad de vías metabólicas que los convierten en los mejores candidatos para la biorremediación y producción de bioelectricidad por la capacidad que tienen de producir electrones gracias a su metabolismo (Khalifa y Almalki, 2019, pp. 1262-1267).

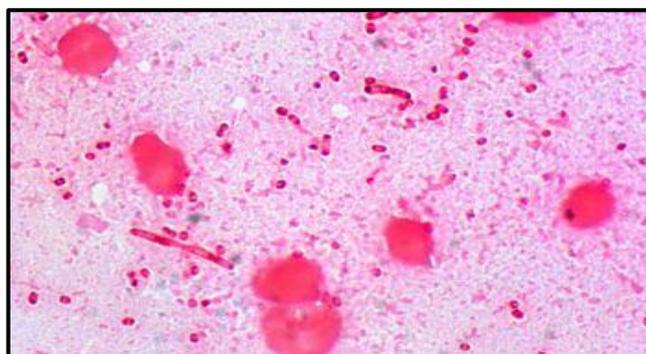


**Ilustración 1-2:** *Delftia acidivorans* tinción de Gram

Fuente: (Dept. Medical Microbiology and infectious diseases, 2022),

#### 2.2.2.2. *Citrobacter freundii*

Es un grupo de bacilos gram negativos aerobios, su hábitat se encuentra en el suelo, agua y con mayor frecuencia en el tracto intestinal de humanos y animales. Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacterales; Enterobacteriaceae; *Citrobacter*; *Citrobacter freundii* complex; *Citrobacter freundii*, es capaz de generar electricidad a partir de una amplia gama de sustratos en CCMs ya que tiene una capacidad electroquímica relativamente alta, además puede transferir electrones indirectamente a través de mediadores secretadas (Huang et al., 2015: pp. 1879-1891).



**Ilustración 2-2:** *Citrobacter freundii* tinción de Gram

Fuente: (Dept. Medical Microbiology and infectious diseases, 2022).

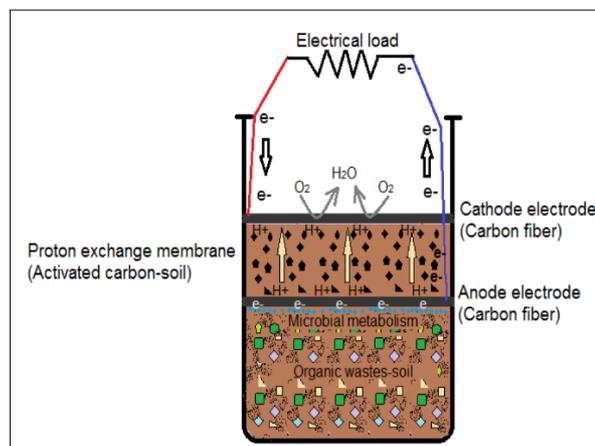
### 2.2.3. Celdas de combustible microbianas

Las celdas de combustible microbianas o pila de combustible microbiana CCMs son dispositivos que producen energía renovable y autosustentable mediante el aprovechamiento de microorganismos electrogénicos específicos adaptados a este proceso con la utilización de una variedad de sustratos orgánicos los mismos que son claves para lograr buenos resultados, las CCMs se pueden configurar como dispositivos de una o dos cámaras para lograr obtener energía en condiciones favorables ( Deepika et al., 2013: pp. 424-430).

Las CCMs constan de una cámara anódica y una catódica las cuales están separadas por fibras de carbono, los microorganismos electroactivos que habitan en la cámara anódica forman una biopelícula microbiana con los sustratos orgánicos que se están oxidando como resultado de su actividad metabólica es ahí donde se produce electrones que son transferidos a un circuito externo (Sun et al., 2016: pp. 242-248).

#### 2.2.3.1. Estructura de una CCM

El diseño representativo de una CCM consiste en dos cámaras: una anaeróbica denominada ánodo y otra aeróbica cátodo, las cuales están unidas por medio de una Membrana de Intercambio Catiónico MIC, donde se produce la transferencia de electrones entre el reductor y oxidante, es comprendida como la energía utilizada por microorganismos electrogénicos y es influenciada por la diferencia de potencial entre ánodo y cátodo que con  $O_2$  del ambiente forma  $H_2O$ ; dando lugar a un circuito externo; las CCM presentan diferentes configuraciones en su estructura física como se observa en la (Ilustración 3-2) que se adapta a las propuestas que se deseen analizar, aprovechar y generar (Guambo et al., 2016: pp. 56-62).



**Ilustración 3-2:** Prototipo esquemático de CCMs

Fuente: (Hernandez, 2017).

- **Ánodo**

En una CCMs está ubicado en el compartimiento anaerobio y es el lugar donde se degrada la biomasa, el ánodo es por definición, el electrodo que pierde electrones en una reacción de oxidación, el mismo que tiene una alta conductividad eléctrica y donde se adhieren y crecen las bacterias; en el ánodo se encuentran los electrones que son generados por los microorganismos sobre los sustratos de las CCMs; el ánodo puede ser elaborado con distintos materiales como por ejemplo carbón, grafito, fibra de carbono, entre otros (Hernández, 2017).

- **Cátodo**

Son electrodos capaces de producir energía eléctrica mediante una reacción química en la que se produce una reacción de reducción, el cátodo es un componente importante en la construcción de CCMs el cual está expuesto al aire es decir forma parte del compartimiento aeróbico el mismo que está constituido de fibra de carbono, así pues en este terminal positivo es en donde los electrones al ser capturados por el ánodo son transferidos hacia el cátodo para luego ser transferidos a un circuito externo (Santoro et al., 2017: pp. 225-244). El cátodo puede ser de distintos materiales tales como fibra de carbono, grafito, papel carbón, tela de carbono, Pt negro, fieltro de grafito, policarbonato y platino siendo este último el que ayuda favorablemente a la reducción de oxígeno y tiene un costo elevado, además el cátodo se lo puede ubicar de manera vertical respecto a la superficie del electrolito o de manera horizontal parcialmente sumergido dando buenos resultados para la producción de voltaje (Feregrino et al., 2022: pp. 80-95).

- **Membrana**

Actúa como un separador en la membrana de intercambio catiónico en la CCMs para la transferencia de electrones de la cámara anódica a la catódica se utilizan de distintos tipos de materiales como son: poliestireno, ultrex, lana de vidrio, membranas bipolares pero el más común para utilizarlo por ser el más asequible es el tejido de fibra de carbono ya que muestra mayor eficiencia y menor costo la misma que es tratada para su utilización con la finalidad de eliminar cualquier tipo de impureza en el caso de ser utilizada para la cámara anódica de la CCMs (Kitafa y Obaid, 2020: pp. 1-8).

### 2.2.3.2. Componentes

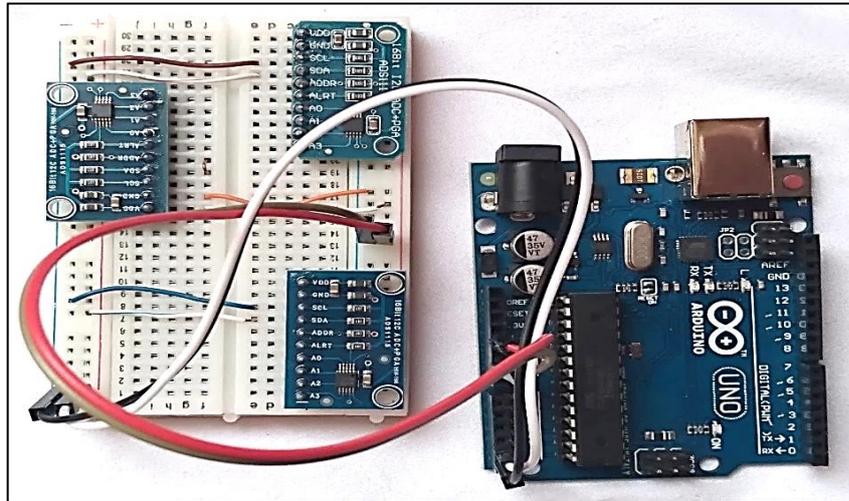
- **Sustrato**

Los sustratos empleados como fuentes de energía en las CCMs pueden ser compuestos puros, aguas residuales, lixiviados, melazas, residuos agrícolas, suero de queso, entre otros, los mismos que sirven de alimento para bacterias, las cuales degradan de manera más simple los residuos orgánicos haciéndolos fácilmente oxidables para producir bioelectricidad, por lo tanto, la tasa de carga del sustrato influye considerablemente en la generación de bioelectricidad; la eficiencia de las CCMs para generar bioelectricidad entre otros factores, depende del tipo de sustrato por tal motivo debe ser de fácil asimilación y tener los suficientes nutrientes para los microorganismos (Logroño et al., 2015: pp. 61-68).

Para cualquier proceso biológico los sustratos son muy importantes porque son utilizados como fuente de energía además de establecer las comunidades microbianas para mejorar la producción eléctrica, la densidad de potencia y la eficiencia coulombica que influyen en el rendimiento de las CCMs, así mismo mediante la utilización de un sustrato complejo como son las aguas residuales ricas en proteínas ayudan a que los microorganismos aumenten su rendimiento metabólico (Pant et al., 2010: pp. 1533-1543).

- **Sistema de adquisición de datos**

Arduino Uno es una placa electrónica para la recolección de datos de una forma rápida, segura y en tiempo real donde, los datos almacenados en un ordenador son finalmente procesados y analizados, se caracteriza por ser una herramienta barata de hardware libre, reprogramable y con muchas capacidades de comunicación gracias a sus sensores y actuadores es posible usarlo en la captura de datos distribuidos y desplegar varios sensores para crear una red amplia conjuntamente con un protoboard y 3 conversores ADS1115 como se observa en la (Ilustración 4-2) forman un circuito electrónico que nos permite monitorear corriente (Azúa et al., 2017).



**Ilustración 4-2:** Sistema de Adquisición de datos.

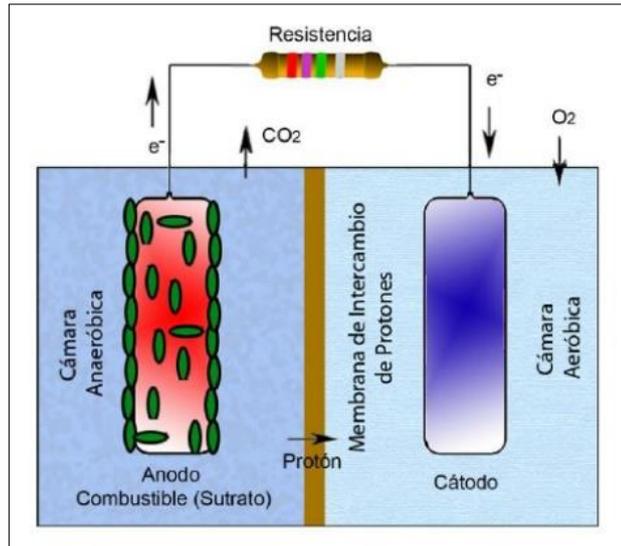
Realizado por: (Berrones, Jenny, 2022.)

### 2.2.3.3. Tipos de CCMs

- **Celdas de combustible microbiana de configuración simple de dos cámaras**

Consta de una cámara anódica para bacterias y otra cámara catódica que parcialmente está expuesta al aire, las mismas que están separadas por una membrana de intercambio catiónico (MIC), que sirve como intercambiador de electrones como se observa en la (Ilustración 5-2), en CCMs ocurre el proceso de reducción de compuestos nitrogenados y materia orgánica mientras se genera bioelectricidad (Guambo et al., 2017: pp. 5-9).

Una CCMs presenta dos cámaras separadas por una membrana semipermeable, en la primera el electrodo (ánodo) está sumergido en una solución química o sustrato donde se lleva a cabo la oxidación de la materia orgánica, en la segunda cámara mediante el electrodo (cátodo) se produce una reducción de electrones (Molina et al., 2017: pp. 54-62).

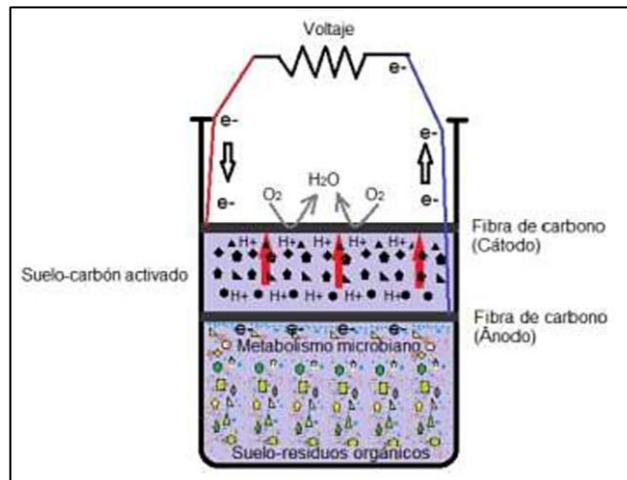


**Ilustración 5-2:** CCMs de dos cámaras

Fuente: (Revelo et al., 2013: pp.17-28).

- **Celdas de combustible microbiana de cámara simple**

Estas celdas de combustible microbiano tienen un solo compartimento donde se encuentra el ánodo y el cátodo que está expuesto al aire como se observa en la (Ilustración 6-2), su fabricación y estructura es sencilla y de costo bajo, en la cual se generan diversas reacciones electroquímicas a partir de biomasa orgánica para obtener energía de manera eficiente (Logroño et al., 2014: pp. 61-68).



**Ilustración 6-2:** CCMs de cámara simple

Fuente: (Logroño et al., 2014: pp. 61-68).

#### *2.2.3.4. Principio de funcionamiento de una celda de combustible microbiana*

El principio se basa en cómo actúan los microorganismos que se encuentran en la cámara del ánodo ya que estos descomponen y oxidan las sustancias orgánicas para generar electrones y bioelectricidad. Los electrones producidos son transferidos a la membrana del ánodo para seguidamente ser transferidos a la membrana del cátodo por medio de un enlace conductor este es un proceso continuo donde interviene reacciones de oxidación además de una reacción química isotérmica y continua, se conoce que en microorganismos electrogénicos los citocromos de tipo c son moléculas protagonistas en la generación de electricidad (Ulusoy & Dimoglob, 2018, p.3).

#### *2.2.4. Contaminación por residuos sólidos orgánicos*

Nuestro país genera todos los días 14.000 toneladas de residuos que son más de cinco millones de toneladas al año de los cuales el 56,2% son residuos orgánicos y el 43,8% son residuos inorgánicos y solo el 20% se dispone de manera adecuada, el Ministro del Ambiente y Agua da a conocer la necesidad de promover un modelo para la gestión integral y sostenible de los residuos sólidos que son generados en los 221 Municipios del país (Ministerio del Ambiente y Agua, 2020).

El incremento de la población el desarrollo social, agroindustrial y empresarial hace que la disposición final de residuos no se lo pueda controlar en su totalidad por lo tanto existen conflictos por la nocividad de los residuos producidos y por la contaminación a cielo abierto que por lo general se da en territorios rurales atrayendo agentes patógenos que afectan a las personas que habitan en lugares cercanos provocando daños en la salud, malos olores y contaminación en el entorno aunque en ocasiones ha servido para que las personas de escasos recursos se dediquen a recolectar materiales reciclables y obtengan ingresos económicos (Solís, 2015).

La eliminación a cielo abierto de residuos sólidos orgánicos es una forma común de desecharlos, lo cual provoca un fuerte impacto ambiental por la descarga de lixiviados y la contaminación de agua y suelo (Gunarathne et al., 2019: pp. 1225-1235).

#### *2.2.5. Tipo de contaminación*

##### *2.2.5.1. Lixiviados*

El lixiviado es un líquido que resulta de un proceso de percolación de un fluido procedente de residuos sólidos, cada lixiviado tiene una composición diferente dependiendo del tipo de residuo; el lixiviado se forma por la mezcla de agua de lluvia infiltrada en un depósito de residuos orgánicos procedentes de los procesos de degradación de los mismos, por lo general, los lixiviados contienen una alta concentración de materia orgánica, tales como: sólidos suspendidos totales,

alto contenido de fósforo, nitrógeno y bajas concentraciones de metales pesados, pesticidas, son muy contaminantes y peligrosos para el medio ambiente por lo tanto deben ser tratados correctamente, sin embargo en la región, no se cuenta con una buena gestión de residuos (EMGIRS - EP, 2020, p. 1).

La generación de lixiviados está relacionada con el aumento de residuos sólidos urbanos desechados por la población que constantemente está en crecimiento por esta razón es importante que sean tratados antes de su descarga a las distintas fuentes hídricas para evitar problemas de contaminación ya que los lixiviados están compuestos por patógenos, metales pesados, materia orgánica, fósforo y nitrógeno (León et al., 2021: pp. 1099-1115).

#### 2.2.5.2. Tipos de lixiviados

Los lixiviados varían principalmente entre sitios y estaciones dependiendo de su composición calidad y cantidad, ya que dependen de factores como el contenido de humedad de los residuos orgánicos, la hidrogeología del lugar de acopio, el diseño, operación y edad del relleno sanitario; así como la biodegradabilidad relativa de los diferentes contaminantes orgánicos presentes en el relleno sanitario, también se pueden clasificar en tres grupos de acuerdo con el tiempo de operación del relleno sanitario y en especial de la celda del relleno de la cual provengan estos son:

- **Lixiviados jóvenes:** los cuales son menores a 5 años, tienen la característica de tener un fuerte olor, son más contaminados por lo que requieren de una adecuada manipulación poseen un pH entre 3 y 6 por lo que son denominados acidogénicos.
- **Lixiviados intermedios:** son los que se encuentran en un rango entre 5 a 10 años poseen un pH de 6.0 a 7.5 estos pueden ser tratados mediante un sistema biológico anaerobio ya que este tratamiento posee ventajas técnico-económicas que hace viable este proceso.
- **Lixiviados maduros:** mayores a 10 años tienen una baja relación de DBO5 y DQO y altas cantidades de sales disueltas como carbonatos, amonio, sodio y cloruros es por ello que se requiere un tratamiento adecuado como es la oxidación Fenton para que la carga orgánica disminuya (Maldonado et al., 2017: pp. 91-104).
- Por tal motivo el grado de biodegradabilidad de los lixiviados es inversamente proporcional a su edad, siendo potencialmente biodegradables los lixiviados jóvenes y en menor rango los maduros (EMGIRS - EP, 2020).

## **2.2.6. Tratamientos convencionales para lixiviados**

### **2.2.6.1. Tratamiento térmico (evaporación)**

En este tipo de tratamiento se utiliza la energía del biogás que se produce en los depósitos de desechos para evaporar los lixiviados elevando la temperatura de este hasta lograr su evaporación, esta técnica normaliza las emisiones de lixiviados, logrando como resultado lodos que se depositan nuevamente en el vertedero. (Portillo, 2020). Este tratamiento es una solución eficiente y técnica mediante la utilización de tecnología para tratar los vertederos regulados, la evaporación se realiza mediante la energía térmica del motor de combustión para generar electricidad por medio del biogás almacenado, este proceso nos da como resultados residuos sólidos es decir 2% del total de lixiviados y vapor de agua (Martínez et al., 2014: pp. 37-47).

### **2.2.6.2. Tratamiento biológico**

Se pueden realizar tratamientos biológicos aerobios o anaerobios, del tipo de lixiviado, el tratamiento biológico aerobio consiste en utilizar microorganismos en presencia de oxígeno y mediante agitación, para realizar de manera eficaz la depuración de los compuestos orgánicos presentes en el lixiviado los cuales han demostrado ser más efectivos cuando se trata de lixiviados jóvenes. (Fátima et al., 2012: pp. 4-11). De la misma manera el proceso anaerobio aplica el mismo procedimiento mediante poblaciones bacterianas que se encuentran en unas condiciones de ausencia de oxígeno (Portillo, 2020). Los tratamientos de procesos biológicos para tratar lixiviados son alternativas que se han utilizado mayormente para remover la materia orgánica en el caso de lixiviados jóvenes ya que contienen concentraciones altas de ácidos grasos volátiles, demanda química de oxígeno (DQO) y demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) por lo tanto mediante el tratamiento biológico se busca alcanzar eficiencias de remoción (Martínez et al., 2014: pp. 37-47).

### **2.2.6.3. Sistemas de membranas SPM de ósmosis inversa**

Este tipo de tecnología se usa para el tratamiento de lixiviados, la cual consta de módulos colocados horizontalmente, este proceso se logra cambiando la dirección de búsqueda del equilibrio entre líquidos de diferentes concentraciones, los mismos que se encuentran separados por una membrana utilizando un separador dinámico en paralelo entre las diferentes capas de membranas, el módulo SPM ofrece una permeabilidad que sobrepasa el 25% que las membranas convencionales también permite realizar limpiezas a temperaturas superiores a los 40°, por lo tanto se tienen resultados excelentes en este tipo de tratamiento (Portillo, 2020).

La osmosis inversa separa sustancias que se encuentran retenidas en un líquido por medio de una

membrana que facilita los procesos de limpieza, este proceso físico tiende a separar aguas residuales como son lixiviados en permeado de aguas residuales purificadas (Ruiz, 2018).

#### *2.2.6.4. Tratamiento físico-químico*

Estos tratamientos son utilizados para evitar la contaminación ya que tienen un alto desempeño, se los puede realizar combinados o individual al momento de eliminar las partículas coagulantes de los lixiviados, es decir, sales metálicas y polielectrolitos, de tal manera que intervienen procesos de coagulación, floculación, sedimentación, precipitación química, ósmosis inversa, nanofiltración, stripping de NH<sub>3</sub> y filtración por membrana, sin embargo, estas técnicas tienen un costo de operación muy elevado por el uso de tecnologías, el consumo de productos químicos y la producción de lodos de difícil disposición, además cada lixiviado debe ser evaluado para saber cuál es el tratamiento adecuado para su manejo (Portillo, 2020, p. 1).

Estos métodos para tratamiento de lixiviados tienen un alto nivel de eliminación de DQO y N<sub>3</sub>-HN logrando un 94 y 98% de remoción respectivamente, tratamientos combinados como físico-químico y biológico son útiles para tratar lixiviados jóvenes ya que se puede alcanzar altos porcentajes de remoción de materia orgánica (Kurniawan et al., 2006: pp. 80-100).

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. Enfoque de investigación

El enfoque de investigación es cuantitativo por que mediante la construcción de celdas de combustible microbianas CCMs y la interacción de los microorganismos *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii*, se recolectó datos numéricos de voltios de corriente directa (mV), corriente ( $\mu\text{A}$ ) y densidad de potencia ( $\frac{\text{mW}}{\text{m}^2}$ ) por medio de un sistema de adquisición de datos donde posteriormente se analizó estadísticamente los resultados para probar la hipótesis planteada.

#### 3.2. Nivel de la investigación

Según el nivel de profundización en el objeto de estudio la investigación es:

- **Descriptivo**

Esta investigación permite observar el comportamiento de las CCMs mediante monitoreo y obtener datos de voltaje e intensidad de corriente de acuerdo a la recopilación de los mismo ya que nos ayuda para la interpretación y análisis de los resultados.

- **Explicativo**

En esta investigación nos ayuda a conocer como los microorganismos *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* producen electricidad bacteriana debido a la producción de electrones provenientes de su metabolismo, además de los resultados que se logró al remover la carga orgánica del lixiviado; las CCMs, dan lugar a un circuito externo que nos proporciona la corriente generada.

- **Correlacional**

La relación entre las CCMs y el voltaje depende del tipo del sustrato que se va a utilizar y la interacción de las comunidades bacterianas que por consecuencia serán capaces de transferir electrones al ánodo manteniendo una fuente estable y continua de producción de energía eléctrica.

### 3.3. Diseño de investigación

#### 3.3.1. Tipo experimental

Teniendo en cuenta que la variable independiente son las CCMs combinadas con bacterias electrogénicas y la variable dependiente son la bioelectricidad y remoción de materia orgánica, permitieron la transformación de energía química a energía eléctrica debido a la actividad metabólica de los microorganismos electrogénicos y al sustrato de tipo orgánico, el diseño experimental de esta investigación consta de un factor con 3 niveles y 2 repeticiones, se trabajó con un total de 6 unidades de CCMs que fueron monitoreadas de acuerdo a lo propuesto anteriormente.

**Tabla 1-3:** Diseño experimental

Factor		Repeticiones	
		1	2
Niveles	Celda de combustible microbiana- <i>Delftia acidivorans</i>	CCM 1	CCM 2
	Celda de combustible microbiana- <i>Citrobacter freundii</i>	CCM 3	CCM 4
	Celda de combustible microbiana-Acción combinada de <i>Delftia acidivorans</i> y <i>Citrobacter freundii</i>	CCM 5	CCM 6

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

### 3.4. Población, selección y cálculo del tamaño de la muestra

#### 3.4.1. Población

Los residuos orgánicos para la obtención de lixiviados (frutas – vegetales) fueron recolectados del principal mercado Mayorista EP-EMMPA que está ubicado en el cantón Riobamba, provincia de Chimborazo siendo sus coordenadas: UTM WGS84 (763371,45 E; 9813509,83 S), es considerado uno de los mercados más importantes debido a su gran afluencia de personas y actividades comerciales, ya que se promocionan productos de lugares aledaños, el mercado cuenta con una adecuada separación de sus residuos orgánicos e inorgánicos, por lo tanto, es ideal su aprovechamiento (EP-EMMPA, 2022).



**Ilustración 1-3:** EP-EMMPA San Pedro de Riobamba

Fuente: (EP-EMMPA, 2022).

### ***3.4.2. Selección de la muestra***

Para la obtención de lixiviados se utilizó el método de muestreo sistemático y estratificado recolectando residuos sólidos de (frutas – verduras) durante 7 días, considerando la capacidad de los contenedores muestreados (Tabla 2-3), almacenando a una proporción 50:50, que sirvieron como sustrato para la CCMs.

Por otro lado, el método de muestreo para la incorporación de bacterias electrogénicas fue no probabilístico debido a que no depende de la probabilidad sino de las causas relacionadas a las características de la investigación, los microorganismos de cultivos puros electrogénicos se obtuvieron del banco de microorganismos del laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales- ESPOCH debido a que presentaron características para metabolizar este tipo de sustrato y generar bioelectricidad, contribuyendo también al desempeño y funcionamiento de las CCMs.

**Tabla 2-3:** Hora y fecha de los muestreos de residuos sólidos (frutas y verduras)

<b>Día de toma de muestras</b>	<b>Lunes</b>	<b>Martes</b>	<b>Miércoles</b>	<b>Jueves</b>	<b>Viernes</b>	<b>Sábado</b>	<b>Domingo</b>
<b>Fecha y Hora</b>	3/10/22 11:30 PM	4/10/22 11:30 PM	5/10/22 12:00 PM	6/10/22 12:00 PM	7/10/22 12:30 PM	8/10/22 12:00 PM	10/10/22 12:00 PM
<b>Frutas</b>	Papaya Babaco Plátano Naranja	Naranja Mandarina Plátano Papaya	Plátano Mandarina Naranja Papaya	Naranja Plátano Papaya Mandarina	Babaco Plátano Papaya Naranja	Papaya Plátano Babaco Naranja	Plátano Naranja Babaco Papaya
<b>Verduras</b>	Tomate Zanahoria Rábano Pimiento	Cebolla Rábano Zanahoria Tomate	Rábano Tomate Cebolla Pimiento	Pimiento Rábano Tomate Cebolla	Zanahoria Tomate Cebolla Pimiento	Tomate Cebolla Zanahoria Pimiento	Rábano Pimiento Cebolla Zanahoria

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

### 3.4.3. Cálculo del tamaño de la muestra

Se obtuvo una muestra de frutas y verduras, que se componía por una proporción 50:50 peso/peso de residuos sólidos (frutas y verduras) por lo tanto, se recolectó 0.5 kg por cada una de los contenedores de frutas y 0.5 kg por cada una de los contenedores de vegetales es decir 1 kg/día durante los 7 días de la semana tomadas del Mercado Mayorista EP-EMMPA antes de las 14:00 pm ya que a esa hora los contenedores son vertidos en el carro recolector.

La cantidad de residuos necesarios determinó el volumen de lixiviado a ocupar por lo que se utilizó 6 CCMs de capacidad de carga 125 ml, por lo tanto, se necesitó 750 ml en total, posteriormente se procedió a analizar parámetros fisicoquímicos de lixiviado como son: DBO, DQO, nitrógeno amoniacal y pH.

### 3.4.4. Cálculos para la obtención de lixiviados

Mediante la obtención de datos mensuales de la estación meteorológica de la ESPOCH en los meses comprendidos entre Enero - Agosto del año 2022 en la ciudad de Riobamba se obtuvo una precipitación media de 3.30 mm y por información bibliográfica se conoce que 1mm de agua lluvia tiene un valor equivalente a 1 L de agua en 1 m<sup>2</sup>.

- Cálculo adición de agua al lixiviado

Área del contenedor: 0.171 m<sup>2</sup>

Capacidad del contenedor: 65 kg

Entonces:

$$\begin{aligned} \text{área} &\rightarrow \text{agua lluvia} \\ \text{por cada } 1\text{m}^2 \text{ hay} &\rightarrow 1\text{L agua lluvia} \rightarrow 1\text{mm} \\ 0.171\text{m}^2 &\rightarrow x = 0.171 \text{ L de agua lluvia} \times 3.30 \text{ mm precipitación media} \\ &x = 0.564 \text{ L de agua lluvia} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Capacidad del contenedor} &\rightarrow \text{agua lluvia} \\ 65\text{kg residuos} &\rightarrow \text{se mezclan con } 0.564 \text{ L de agua lluvia} \\ \text{por cada } 7 \text{ kg de residuos se necesita añadir} &\rightarrow x = 0.060 \text{ L de agua lluvia} \\ 1\text{kg/día} \times 7 \text{ días de la semana} &= 7 \text{ kg} \end{aligned}$$

$$\begin{bmatrix} 0.5 \text{ kg Frutas} \\ 0.5 \text{ kg Verduras} \end{bmatrix}$$

Al final se obtuvo 1.25 L de lixiviado puro + 60 ml de agua comercial (tesalia)

- Cálculo de la adición de inóculo bacteriano

El método de muestreo para la incorporación de bacterias electrogénicas fue no probabilístico debido a que no depende de la probabilidad sino de las causas relacionadas a las características de la investigación, las unidades a seleccionar presentaran un mismo perfil (electrogénicos) por lo tanto el inóculo fue de 2ml por cada 125 ml de volumen de las CCMs.

Entonces:

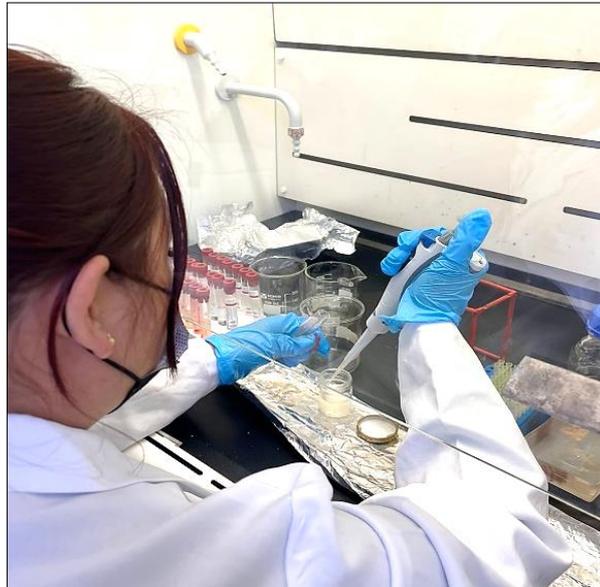
$$\begin{aligned} \text{volumen celda} &\rightarrow \text{volumen inóculo} \\ \text{por cada } 125 \text{ ml} &\rightarrow 2\text{ml de inóculo} \\ 125 \text{ ml} (\text{volumen propuesto para la investigación}) &\rightarrow x = 2\text{ml de inóculo} \end{aligned}$$

### 3.5. Métodos, técnicas e instrumentos de investigación

#### 3.5.1. Siembra de bacterias electrogénicas

A partir de las bacterias electrogénicas *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* obtenidas del banco de microorganismos de la ESPOCH, se preparó 0.19 g de agar nutritivo para 60 ml de agua

destilada lo cual se homogenizo en un matraz Erlenmeyer de 100 ml y se lo llevó al autoclave junto con tubos de ensayo y pipeta por 15 minutos a una temperatura de 121° para esterilizarlos, posteriormente se realizó la siembra de cultivos axénicos en medio líquido mediante la técnica de siembra en agar en tubo inclinado como se observa en la (Ilustración 2-3) y se colocó 7ml de agar nutritivo en 8 tubos de ensayo. Posteriormente las muestras fueron incubadas a una temperatura de 28° durante 7 días para su desarrollo y crecimiento, finalmente fueron colocadas en las CCMs.

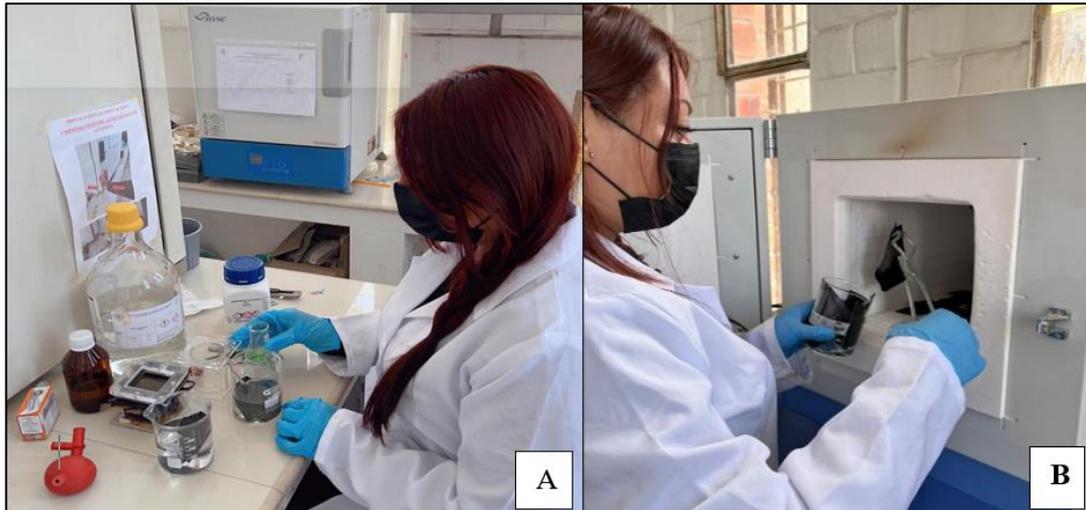


**Ilustración 2-3:** Siembra de cultivos axénicos

**Realizado por:** Berrones, Jenny, 2022.

### ***3.5.2. Tratamiento de membranas***

Las membranas catódicas procedentes de fibra de carbono se cortaron tomando en cuenta el diámetro de las CCMs y se las lavo en repetidas ocasiones con agua destilada para posteriormente guardarlas en fundas ziploc. Para el caso de membranas anódicas en fibra de carbono se realizó el corte tomando en cuenta el diámetro de las CCMs, las membranas se sumergieron en acetona industrial por 12 horas, se lavaron 5 veces con agua tesalia para eliminar la acumulación de disolventes, se preparó una solución de 50 gr de sulfato de amonio en 250 ml de agua tesalia para empapar las membranas durante 15 minutos y posteriormente se sumergieron en 100ml de ácido sulfúrico al 10% durante 10 minutos, transcurrido este tiempo se calentaron los cortes de fibra de carbono a 400° en un horno mufla por 10 minutos, finalmente se lavó con agua tesalia y se guardó en fundas ziploc (Ilustración 3-3).

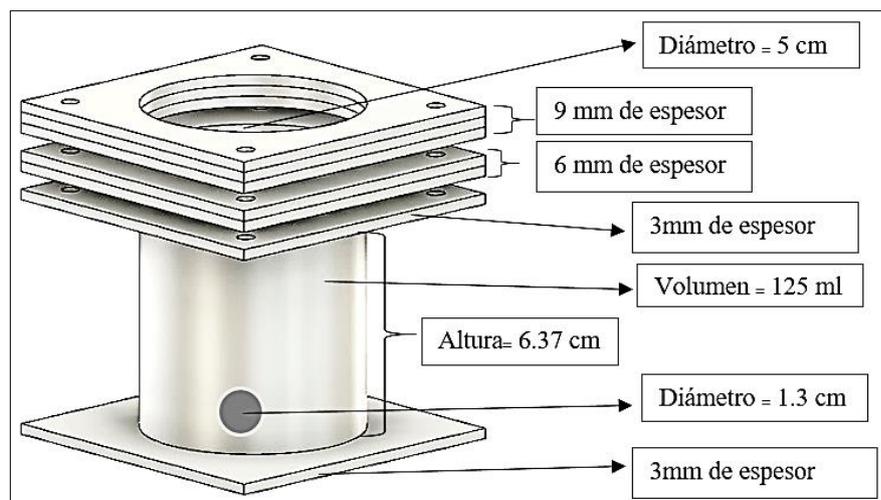


**Ilustración 3-3:** Tratamiento de membranas anódicas: **A:** Ánodos sumergidos en acetona. **B:** calentamiento de ánodos en mufla

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

### 3.5.3. Diseño de las CCMs

Las CCMs de configuración simple fueron compuestas por una cámara anódica, las cuales están ensambladas con un cilindro y láminas de acrílico de 3 mm de espesor, la cámara anódica consta de un cilindro de capacidad de 125ml con un diámetro de 5cm, altura 6.37 cm y un orificio de 1.3cm en la pared donde se colocó un corcho de caucho para entrada y salida de lixiviado. La cámara catódica se la ensambló con 3 láminas de acrílico en la parte superior y en la parte inferior por dos láminas de estas, como se observa en la (Ilustración 4-3), además se utilizó tejido de fibra de carbono como membrana de intercambio la cual tenía un espesor de 0.8 mm.



**Ilustración 4-3:** Diseño de las CCMs

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

### 3.5.4. Esterilización de las CCMs

Se realizó la esterilización en la cámara de flujo laminar todas las partes que conforman las CCMs siendo estos: empaques de caucho, celdas, membrana catódica y anódica, tornillos, cámaras de acrílico, mechero bunsen, jeringuillas, una botella de lixiviado, tubos de ensayo con bacterias *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* lo cual se expuso a luz UV como se observa en la (Ilustración 5-3) durante 5 minutos.

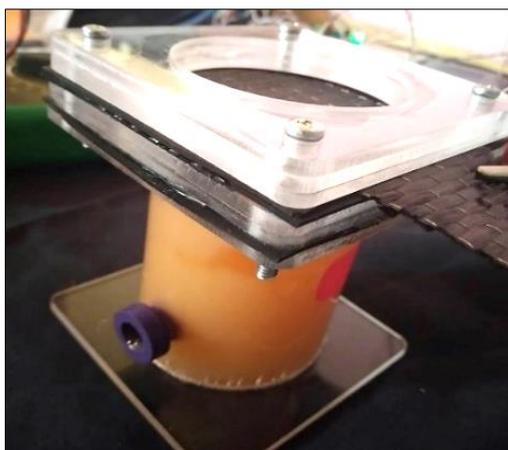


**Ilustración 5-3:** Esterilización de compartimientos en UV

**Realizado por:** Berrones, Jenny, 2022.

### 3.5.5. Ensamblaje de las CCMs

Previamente esterilizados los cortes de fibra de carbono, empaques, cámaras anódicas y catódicas se procedió al ensamblaje de las CCMs reforzándolas con tornillos para que los compartimientos queden compactos, posterior a ello se realizó la inoculación de los microorganismos *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* con 2ml respectivamente y 123 ml de lixiviado para 4 CCMs, mientras que para el caso de acción combinada de microorganismos se ensamblo 2 CCMs y se inoculó 1 ml de *Delftia acidivorans* y 1ml de *Citrobacter freundii* en cada CCMs, añadiéndole también 123 ml de lixiviado como se muestra en la (Ilustración 6-3), este procedimiento se lo realizó en el Laboratorio de Análisis Bioquímicos y bacteriológicos.

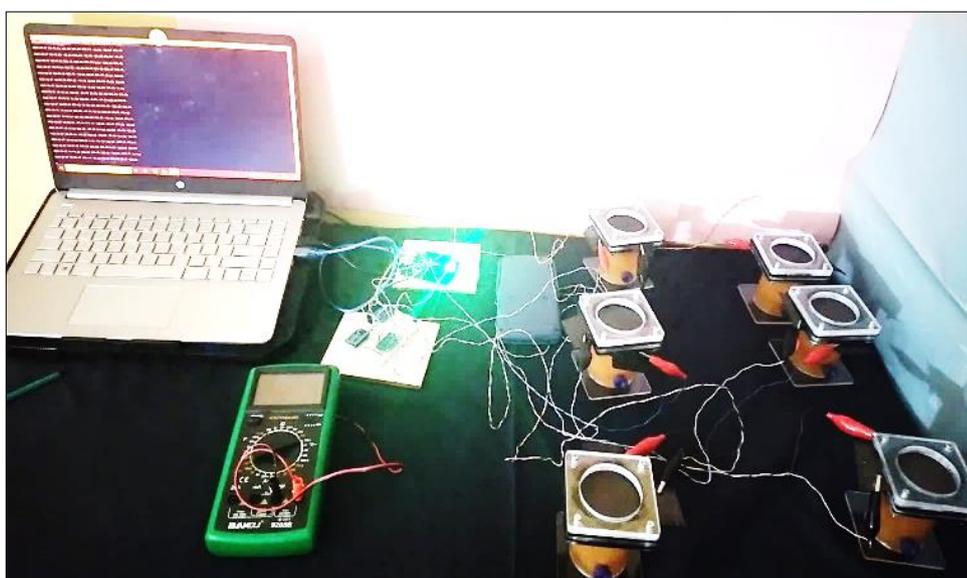


**Ilustración 6-3:** Ensamblaje de las CCMs

**Realizado por:** Berrones, Jenny, 2022.

### **3.5.6. Operacionalización de las CCMs**

Las 6 celdas de combustible microbianas fueron monitoreadas por un sistema de adquisición de datos conformado por 3 conversores análogos y un Arduino 1, los mismos que ayudaron a la recopilación automática de datos de voltaje cada 60 segundos en una computadora durante 15 días. Cada día se midió el pH de las 6 CCMs en el laboratorio de Investigación y desarrollo para el ambiente y Cambio Climático (GIDAC ESPOCH), también las CCMs fueron monitoreadas con un multímetro para determinar la resistencia de cada CCMs para posteriormente conocer la intensidad de corriente utilizando la ley de Ohm.



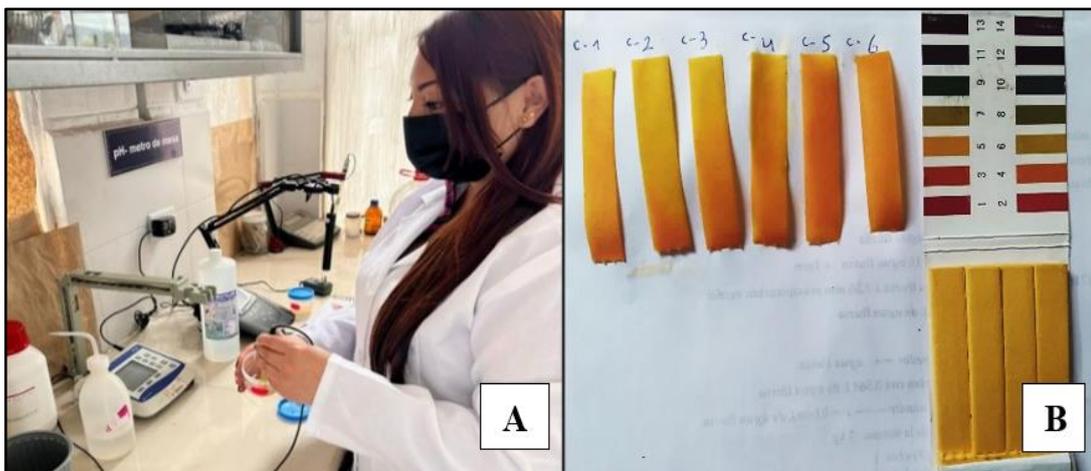
**Ilustración 7-3:** Monitoreo de las CCMs

**Realizado por:** Berrones, Jenny, 2022.

### 3.5.7. Análisis de lixiviados

#### 3.5.7.1. Método de análisis 4500-H-B

Es una técnica potenciométrica que se utilizó para medir el pH de las muestras de lixiviados de las 6 CCMs por un periodo de tiempo de 15 días, utilizando un electrodo de hidrógeno por lo que fue necesario calibrar el equipo mediante buffers de 4.01, 7.01 y 10.01 a continuación se sumergió el electrodo en la solución de muestra y se tomó la lectura diariamente retirando y enjuagando en cada proceso (Baird et al., 2017, p.2).



**Ilustración 8-3:** Medición de pH. **A:** Medición de pH con pH metro de mesa. **B:** Medición de pH con papel tornasol

**Realizado por:** Berrones, Jenny, 2022.

#### 3.5.7.2. Método 5220-D

Este método se empleó para la determinación colorimétrica de la DQO del sustrato, previamente a su incorporación en las 6 CCMs y posterior para cada una de las celdas experimentadas indicando el equivalente del oxígeno contenido en la materia orgánica presente, el proceso se empezó con la preparación de la muestra que se va a analizar y posteriormente con la medición de la reducción de dicromato, procediendo a agitar el contenido del recipiente de reacción para combinar el agua, se separó el material insoluble y luego se dejó sedimentar la materia suspendida para despejar el camino óptico, luego se midió la absorbancia de cada blanco y estándar de las muestras a una longitud de onda de (420 nm o 600 nm) para finalmente calcular la DQO para cada caso (Baird et al., 2017, p.1). Este análisis se lo realizó al inicio de la investigación y al final en las 6 CCMs al finalizar los 15 días de monitoreo.



**Ilustración 9-3:** Determinación de la DQO. **A:** Muestras y reactivos para análisis. **B:** espectrofotómetro

**Realizado por:** Berrones, Jenny, 2022.

### 3.5.7.3. Método 5210-B

Este método se lo realizó regulando el pH de la muestra preparando una solución tampón, la misma que debe medir entre 7.0 y 7.2. Después de la preparación de la muestra se llenó un frasco de 60 ml y se lo lleva a una incubadora a 20°C durante 5 días, el oxígeno disuelto se midió al inicio y después de la incubación, finalmente se calculó la diferencia entre el oxígeno disuelto inicial y el oxígeno disuelto final para calcular el consumo bioquímico de oxígeno (Standar Methods, 2018). Al inicio de la investigación se obtuvo el valor de DBO5 de la muestra previo a ser colocada en las CCMs, además este procedimiento se lo realizó al final, pero con las muestras de las 6 CCMs para conocer el DBO5 de cada una.



**Ilustración 10-3:** Digestor de DBO 5

**Realizado por:** Berrones, Jenny, 2022.

#### 3.5.7.4. 4500-NH4-C

Es un método volumétrico donde el nitrógeno amoniacal se origina mediante la degradación del nitrógeno orgánico y a su vez este por acción bacteriana se oxida a nitritos y finalmente a nitratos (Baird et al., 2017, p.3). Este análisis se lo realizo al inicio de la experimentación utilizando 10 ml de muestra de lixiviado previo a ser colocado en las CCMs, también se lo realizo al final para conocer el porcentaje de remoción en las 6 CCMs.



**Ilustración 11-3:** Digestor para análisis de nitrógeno amoniacal

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

#### 3.5.8. Materiales usados en la experimentación

**Tabla 3-3:** Materiales utilizados en la investigación

Etapas de la investigación	Equipos y materiales	Cantidad	Sustancias y Reactivos
Siembra de bacterias	Balanza analítica	1	Agar Nutritivo
	Erlenmeyer 125 ml	1	Agua destilada
	Micropipeta de 0.1-ml	1	
	Pipeta de 10 ml	1	
	Puntas de 1ml	8	
	Tubos de ensayo con tapa	8	

	Autoclave	1	
Muestreo de residuos y obtención de lixiviados.	Balanza	1	Agua Tesalia
	Guantes	2	
	Fundas ziploc	20	
Construcción de CCMs	Láminas de acrílico 7.5x7.5 cm	42	
		6	
	Cilindros de acrílico	12	
	Cortes de fibra de carbono	18	
	Empaques	24	
	Tomillos galvanizados	12	
	Lagartos	1	
	Tijera		
Inoculación de bacterias electrogénicas en las CCMs	Jeringuillas de 10 ml	3	Alcohol industrial al 80% 6 mL de la cepa <i>Delftia acidovorans</i> 6 ml de la cepa <i>Citrobacter freundii</i>
	Vaso de precipitación de 250ml.	1	
	Guantes		
	Toallas de papel		
	Pretratamiento de CCMs		
			Sulfato de amonio
Matraz balón de 250 ml.		1	Agua comercial
Probeta de 100 ml		1	Ácido sulfúrico al 10%
Pipeta de 10ml		1	Agua destilada
Pera de succión		1	Solución de hipoclorito de sodio al 5%

Operacionalización de las CCMs.	Arduino	1
	Conversores análogos	3
	Computadora	1
	Cable UTP	1

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

### 3.5.9. Planteamiento de hipótesis

- **Hipótesis Textual**

Intrínsecamente la acción combinada entre *Delftia acidovorans* y *Citrobacter freundii* en una CCMs producen una mayor cantidad de bioelectricidad y remoción de parámetros contaminantes de un lixiviado.

- **Hipótesis estadística**

$$H_0: \delta VAC = \delta VCI$$

$$H_a: \delta VAC \neq \delta VCI$$

Donde:

$\delta VAC$  = Cantidad de voltaje producida por la acción combinada de *Delftia acidovorans* y *Citrobacter freundii*.

$\delta VCI$  = Cantidad de voltaje generado por la cepa *Delftia acidovorans* y *Citrobacter freundii* individualmente.

- **Hipótesis estadística causal bivariada**

Relación entre una variable independiente (Celdas de Combustible microbianas CCMs combinadas con bacteria electrogénicas) respecto a una variable dependiente (Bioelectricidad y Remoción de materia orgánica).

### 3.5.10. Variables

#### 3.5.10.1. Variables dependientes

- Generación de Bioelectricidad.
- Remoción de materia orgánica.

#### *3.5.10.2. Variables independientes*

- Celdas de Combustible microbianas CCMs combinadas con bacterias electrogénicas.

## CAPÍTULO IV

### 4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Obtención de bacterias electrogénicas

**Tabla 1-4:** Factores que intervienen en el crecimiento de bacterias electrogénicas

Microorganismos	Medio de cultivo	Temperatura de crecimiento	Periodo de incubación
<i>Delfina acidivorans</i>	A gar Nutritivo 0.19 g	28 °C	7 días
<i>Citrobacter freundii</i>	A gar Nutritivo 0.19 g	28 °C	7 días

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

Las bacterias Electrogénicas *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* se desarrollaron en el medio de cultivo agar nutritivo ya que proporcionó nitrógeno, aminoácidos, vitaminas y carbono para el crecimiento, además se las colocó en la incubadora con agitación orbital a una temperatura de 28°C para garantizar su crecimiento, otro factor importante que se consideró es el periodo de incubación que fue de 7 días, en este intervalo de tiempo los microorganismos crecieron en condiciones óptimas.



**Ilustración 1-4:** Siembra de bacterias electrogénicas **A:** Agar nutritivo y bacterias. **B:** incubadora.

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

## 4.2. Celdas microbianas

A continuación, se muestra la nomenclatura empleada en la investigación.

**Tabla 2- 4:** Nomenclatura aplicada

Nomenclatura		
<i>Cepa Delftia acidovorans</i>	<b>CCM 1</b>	<b>CCM 2</b>
<i>Cepa Citrobacter freundii</i>	<b>CCM 3</b>	<b>CCM 4</b>
Acción combinada de <i>Delftia acidovorans</i> y <i>citrobacter freundii</i>	<b>CCM 5</b>	<b>CCM 6</b>
Unidad de voltaje	milivoltios (mV)	
Unidad de intensidad de corriente	microamperios (uA)	
Unidad de densidad de potencia	mili watt/metro cuadrado (mW/m <sup>2</sup> )	

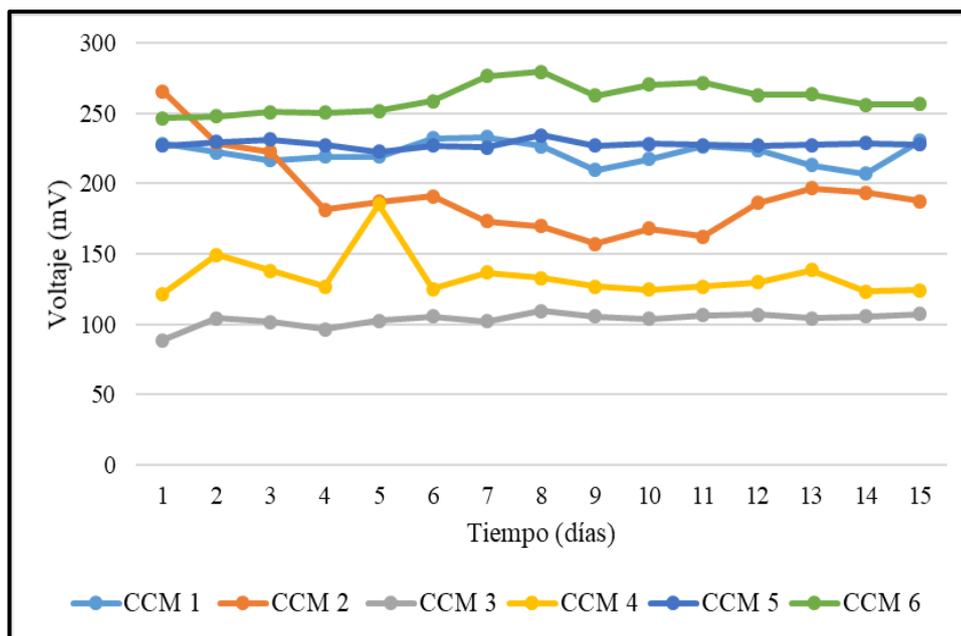
Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

## 4.3. Voltaje generado

**Tabla 3-4:** Promedio de voltaje generado en milivoltios (mV)

Día	<i>Delftia acidivorans</i>		<i>Citrobacter freundii</i>		Acción combinada de <i>Delftia acidovorans</i> y <i>Citrobacter freundii</i>	
	CCM 1	CCM 2	CCM 3	CCM 4	CCM 5	CCM 6
1	228.01	265.46	88.58	121.46	226.74	246.43
2	222.37	228.74	104.19	149.56	229.58	247.56
3	216.60	222.50	101.67	138.01	231.14	250.69
4	218.91	181.30	96.43	126.85	227.31	250.12
5	219.16	186.85	102.71	185.34	222.49	251.59
6	232.28	190.88	105.59	125.10	226.84	258.66
7	233.06	173.37	102.30	136.95	225.43	276.40
8	226.48	169.77	109.66	132.98	234.21	279.47
9	209.76	157.02	105.45	126.68	226.94	262.57
10	217.36	167.91	104.08	124.83	228.41	270.23
11	226.60	162.33	106.61	126.98	227.47	271.47
12	224.09	186.00	106.84	129.93	226.83	262.93
13	212.90	196.43	104.38	138.36	227.25	263.16
14	207.10	193.54	105.40	123.18	228.67	255.92
15	230.30	187.54	107.49	124.37	227.94	256.19
Promedio por celda	221.67	191.31	103.43	134.04	227.82	260.23
Promedio por bacteria	206.49		118.73		244.02	

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.



**Ilustración 2-4:** Voltaje generado por las CCMs

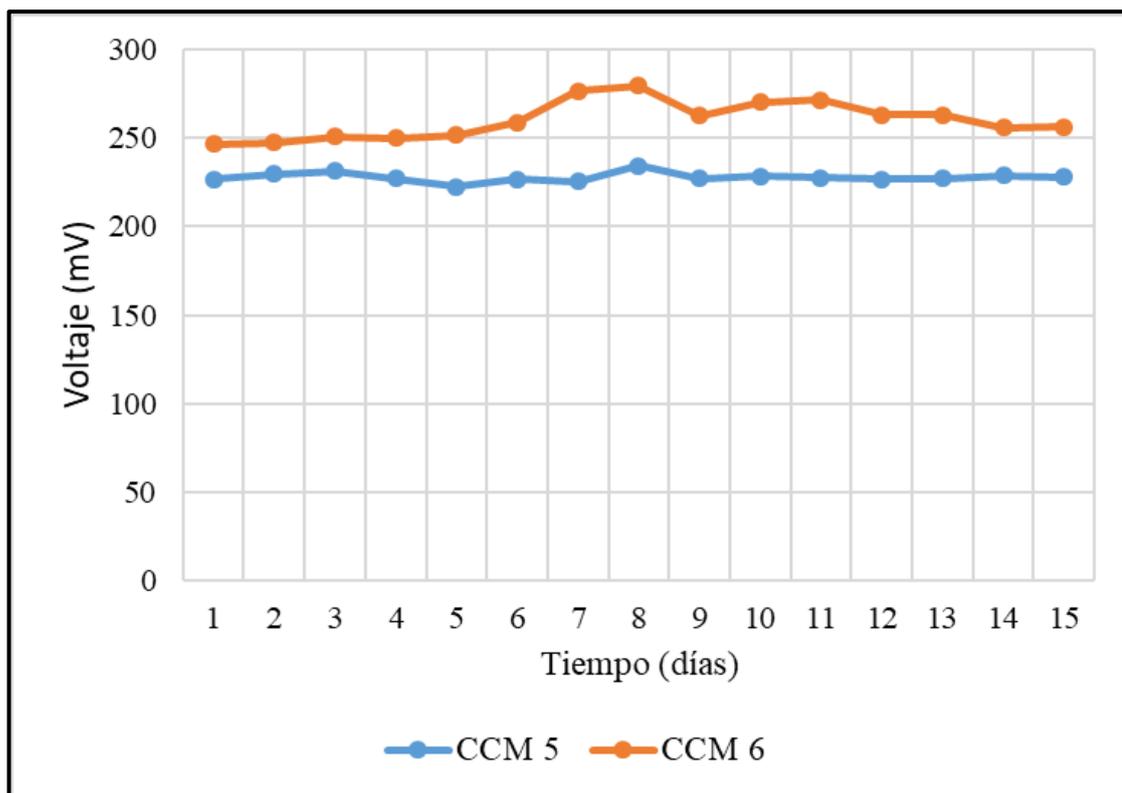
Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

En la tabla 3- 4 y en la ilustración 2-4 se puede observar el voltaje promedio de cada una de las celdas de combustible microbianas durante la recopilación de datos por 15 días donde se mostró que la CCM 1 correspondiente a *Delftia acidovorans* generó un voltaje de inicio de 228.01 mV y en el día 7 alcanzó un voltaje máximo de 233.06 mV hasta finalizar en 230.3 mV. La CCM 2 que corresponde al microorganismo *Delftia acidovorans* inició con un voltaje de 265.46 mV considerado el más alto, en el día 9 decrece hasta 157.02 mV hasta llegar al último día que se observó un pico de 187.54 mV.

La CCM 3 con la bacteria *Citrobacter freundii* muestra un voltaje inicial de 88.58 mV, en el día 8 presentó un voltaje alto de 109.66 mV y decrece levemente hasta finalizar con 107.49 mV.

La CCM 4 que corresponde a *Citrobacter freundii* al inicio de la medición tiene un valor de 121.46 mV alcanzando su pico máximo de voltaje en el día 5 de 185.35 mV, a partir de ello existe una caída de voltaje hasta llegar a 124.37 mV en el último día; en la CCM 3 y CCM4 se registraron los valores más bajos de voltaje.

La CCM 5 en la que se encuentra la acción combinada *Delftia acidovorans* y *Citrobacter freundii* presentó un valor inicial de 226.74 alcanzando un pico máximo de 234.21 mV en el día 8, posterior a ello reduce su voltaje en el día 15 hasta 227.94 mV. La CCM 6 que contiene a *Delftia acidovorans* y *Citrobacter freundii* presentó un voltaje inicial de 246.43 mV y en el día 8 alcanza un voltaje máximo de 279.47 mV, llegando al día final de la medición con un voltaje de 256.19 mV, en la CCM 5 y CCM 6 se registraron los valores más altos de voltaje.



**Ilustración 3-4:** Mayor voltaje generado por la Acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii*.

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

En la ilustración 3-4 se observan los valores más altos de voltaje que se generaron durante el monitoreo de 15 días, dando como resultado que la CCM5 presentó una relativa estabilidad de voltaje con un valor de 227.82 mV y la CCM 6 con un voltaje mayor a las demás celdas monitoreadas alcanzaron un valor de 260.23 mV.

#### 4.4. Intensidad de corriente

Mediante el monitoreo de las CCMs se obtuvo los valores en milivoltios, para aplicar los valores en la ecuación 1 se transformó a voltios, con los cuales se procedió a calcular la intensidad de corriente de cada una de las bioceldas por medio de la ley de Ohm considerando la resistencia interna de 1000 Ω.

##### Ecuación 1-4

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

Donde:

I= Intensidad de Corriente (A)

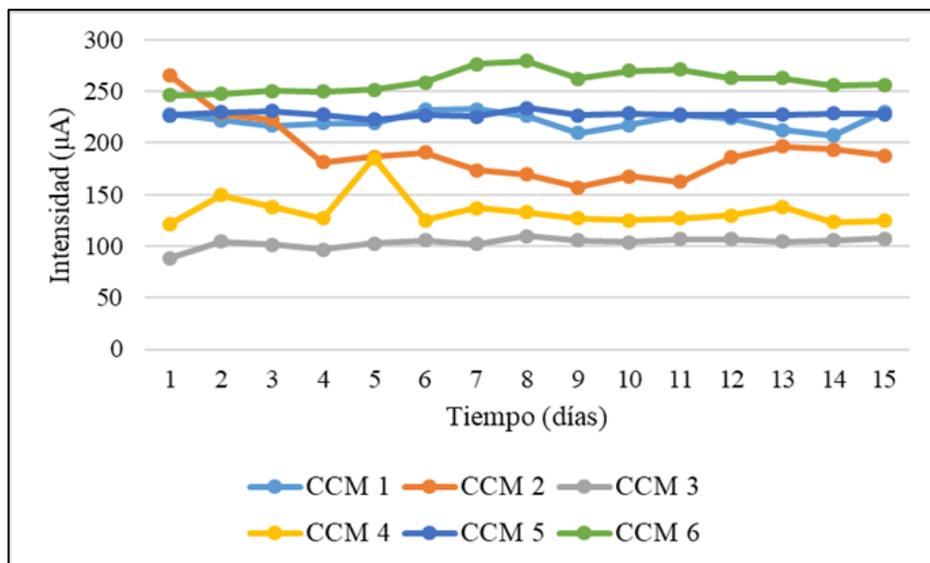
R= Resistencia interna de CCMs (1000Ω)

V= Voltaje de las CCMs (V)

**Tabla 4-4:** Intensidad de corriente de CCMs obtenida en microamperios ( $\mu\text{A}$ )

Día	<i>Delftia acidivorans</i>		<i>Citrobacter freundii</i>		Acción combinada de <i>Delftia acidivorans</i> y <i>Citrobacter freundii</i>	
	CCM 1	CCM 2	CCM 3	CCM 4	CCM 5	CCM 6
1	228.01	265.46	88.58	121.46	226.74	246.43
2	222.37	228.74	104.19	149.56	229.58	247.56
3	21.66	22.25	101.67	138.01	231.14	250.69
4	218.91	18.13	96.43	126.85	227.31	250.12
5	219.16	186.85	102.71	185.34	222.49	251.59
6	232.28	190.88	105.59	125.10	226.84	258.66
7	233.06	173.37	102.3	136.95	225.43	276.4
8	226.48	169.77	109.66	132.98	234.21	279.47
9	209.76	157.02	105.45	126.68	226.94	262.57
10	217.36	167.91	104.08	124.83	228.41	270.23
11	22.66	162.33	106.61	126.98	227.47	271.47
12	224.09	186.00	106.84	129.93	226.83	262.96
13	212.9	196.43	104.38	138.36	227.25	263.16
14	207.01	193.54	105.4	123.18	228.67	255.92
15	23.03	187.54	107.49	124.37	227.94	256.19
<b>Promedio por celda</b>	230.3	191.31	103.43	134.04	227.82	260.23
<b>Promedio por bacteria</b>	206.49		118.73		244.02	

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.



**Ilustración 4-4:** Intensidad de corriente en función del tiempo.

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

En la tabla 4-4 y en la ilustración 4-4 se muestra el valor de intensidad de corriente de las CCMs cuyos valores tienen similitud al mostrado en la generación de voltaje ya que la intensidad de corriente es directamente proporcional al voltaje y fue calculada mediante la ecuación 1-4, los valores más altos de intensidad de corriente se registraron en las CCM 5 y CCM 6 con un valor de 227.82  $\mu\text{A}$  y 260.23  $\mu\text{A}$  respectivamente las mismas que corresponden a las bacterias en acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii*, así mismo se evidenció los valores más bajos de intensidad de corriente en la CCM 3 con 103.43  $\mu\text{A}$  y en la CCM4 con un valor de 134.04  $\mu\text{A}$  las cuales pertenecieron a la bacteria *Citrobacter freundii*.

#### 4.5. Densidad de potencia

- **Área de la membrana de intercambio**

Para la determinación de la densidad de potencia es necesario conocer el área de la membrana tomando en cuenta que se trata de una lámina cuadrada de 7.5 cm se determinó utilizando la fórmula del área de un cuadrado mediante la ecuación 2-4:

$$A = L * L$$

Ecuación 2-4

Donde:

A= Área de la membrana en la cámara anódica

L = Lado de la membrana

$$A = (0.562 \text{ m})^2$$

$$A = (0.316 \text{ m}^2)$$

- **Cálculo de densidad de potencia**

La densidad de potencia se obtuvo mediante la relación entre el voltaje y la intensidad, relacionadas con el área de la cámara anódica, a través de la ecuación 3-4 que se indica a continuación:

$$DP = \frac{V * I}{A}$$

Ecuación 3-4

Donde:

DP= Densidad de Potencia ( $mW/m^2$ )

V= Voltaje (V)

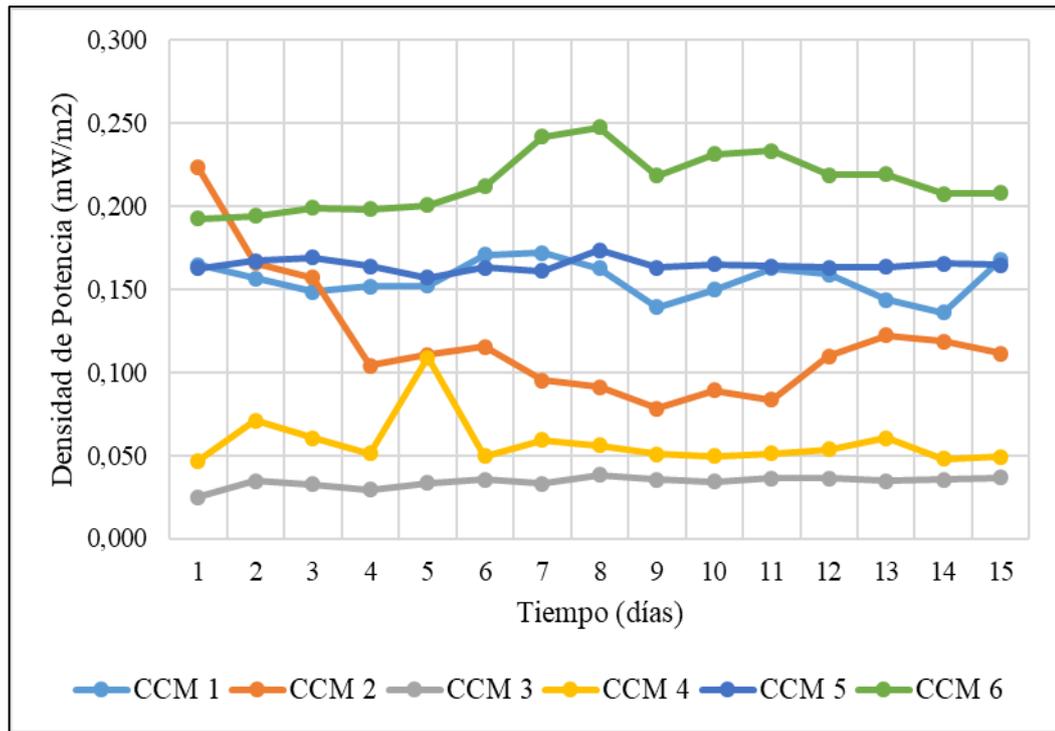
I= Intensidad de corriente (A)

A= Área de la cámara anódica ( $m^2$ )

**Tabla 5-4:** Densidad de potencia de las CCMs calculado en  $mW/m^2$

Día	<i>Delftia acidivorans</i>		<i>Citrobacter freundii</i>		Acción combinada de <i>Delftia acidivorans</i> y <i>Citrobacter freundii</i>	
	CCM 1	CCM 2	CCM 3	CCM 4	CCM 5	CCM 6
1	0.165	0.223	0.025	0.047	0.163	0.192
2	0.156	0.166	0.034	0.071	0.167	0.194
3	0.148	0.157	0.033	0.060	0.169	0.199
4	0.152	0.104	0.029	0.051	0.164	0.198
5	0.152	0.110	0.033	0.109	0.157	0.200
6	0.171	0.115	0.035	0.050	0.163	0.212
7	0.172	0.095	0.033	0.059	0.161	0.242
8	0.162	0.091	0.038	0.056	0.174	0.247
9	0.139	0.078	0.035	0.051	0.163	0.218
10	0.150	0.089	0.034	0.049	0.165	0.231
11	0.162	0.083	0.036	0.051	0.164	0.233
12	0.159	0.109	0.036	0.053	0.163	0.219
13	0.143	0.122	0.034	0.061	0.163	0.219
14	0.136	0.119	0.035	0.048	0.165	0.207
15	0.168	0.111	0.037	0.049	0.164	0.208
Promedio por celda	0.156	0.118	0.034	0.058	0.164	0.215
Promedio por bacteria	0.137		0.046		0.189	

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.



**Ilustración 5-4:** Densidad de potencia

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

En la tabla 5-4 y en la ilustración 5-4 se observan los valores de densidad de potencia de cada CCMs los mismos que fueron calculados a partir de la ecuación 2-4, la CCM1 presentó un valor inicial de  $0.165 \text{ mW/m}^2$  y en el día 7 alcanzó un valor máximo de  $0.172$  hasta finalizar con un valor de  $0.168 \text{ mW/m}^2$ ; la CCM 2 inició con un valor de  $0.223 \text{ mW/m}^2$  siendo este su valor máximo, hasta finalizar en  $0.111 \text{ mW/m}^2$ , la CCM 1 y CCM 2 pertenecen a la bacteria *Delftia acidivorans*.

La CCM 3 obtuvo una densidad de potencia inicial de  $0.025 \text{ mW/m}^2$ , en el día 8 alcanzó un incremento de  $0.038 \text{ mW/m}^2$  hasta llegar finalmente a  $0.037 \text{ mW/m}^2$ ; la CCM 4 inicialmente obtuvo un valor de  $0.047 \text{ mW/m}^2$ , en el día 5 alcanzó un pico máximo de  $0.109 \text{ mW/m}^2$  hasta descender finalmente a  $0.049 \text{ mW/m}^2$ , la CCM 3 y CCM 4 corresponden a la bacteria *Citrobacter freundii*. La CCM 5 presentó un valor inicial de  $0.163 \text{ mW/m}^2$  y en el día 8 se evidenció un valor alto de  $0.174 \text{ mW/m}^2$ , hasta llegar a un valor final de  $0.164 \text{ mW/m}^2$ , de igual manera la CCM 6 al inicio presentó un valor de densidad de potencia de  $0.192 \text{ mW/m}^2$  y en el día 8 se evidenció un incremento de  $0.247 \text{ mW/m}^2$  posteriormente presentó un descenso hasta llegar a un valor final de  $0.208 \text{ mW/m}^2$ , la CCM 5 y CCM6 corresponde a la acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii*.

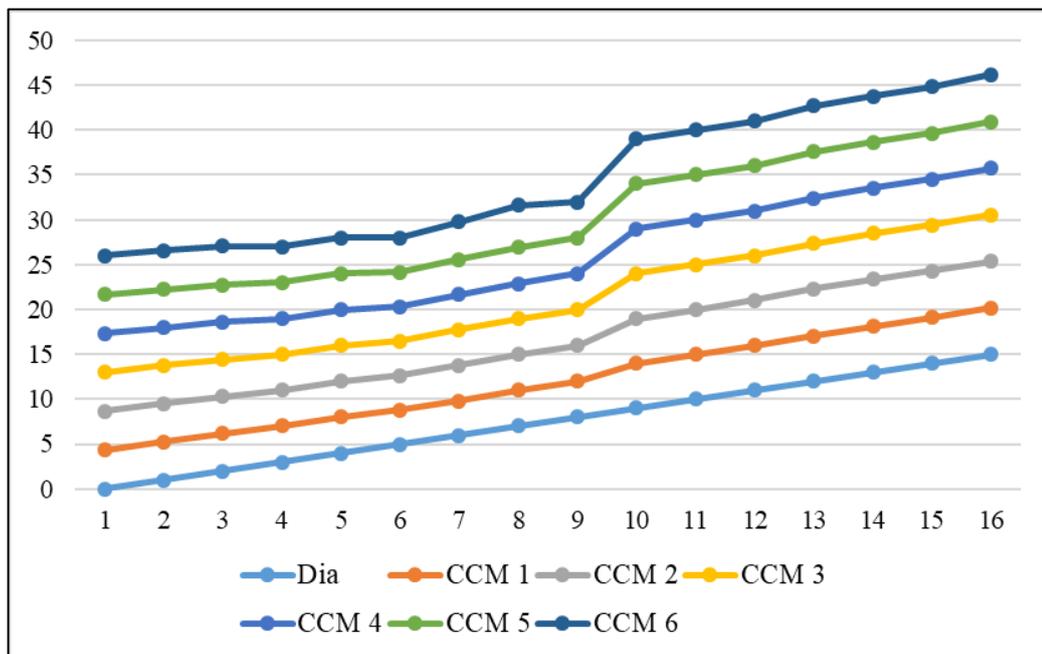
## 4.6. Análisis de parámetros antes y después de la experimentación

### 4.6.1. Análisis de pH

**Tabla 6-4:** Medición diaria de pH de las CCMs durante la experimentación.

Día	pH					
	<i>Delftia acidivorans</i>		<i>Citrobacter freundii</i>		Acción combinada de <i>Delftia acidivorans</i> y <i>Citrobacter freundii</i>	
	CCM 1	CCM 2	CCM 3	CCM 4	CCM 5	CCM 6
0	4.34	4.34	4.34	4.34	4.34	4.34
1	4.28	4.26	4.22	4.24	4.27	4.30
2	4.18	4.10	4.15	4.19	4.14	4.32
3	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
4	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
5	3.81	3.83	3.85	3.85	3.83	3.82
6	3.83	3.95	3.96	3.96	3.90	4.20
7	3.98	4.04	3.94	3.94	4.01	4.69
8	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
9	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
10	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
11	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
12	5.04	5.24	5.05	5.05	5.18	5.13
13	5.09	5.30	5.07	5.07	5.12	5.15
14	5.13	5.14	5.12	5.12	5.17	5.19
15	5.17	5.20	5.16	5.18	5.22	5.25

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.



**Ilustración 6-4:** pH medido de las CCMs durante la experimentación

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

En la tabla 6-4 y en la ilustración 6-4 se muestran los valores de pH del lixiviado que presentó un

valor inicial de 4.34 sin embargo se observó una ligera disminución de pH hasta el día 9 en las 6 CCMs, pero el sistema se estabilizó a partir del día 10 y fue incrementando el valor de pH hasta alcanzar valores finales de 5.17, 5.20, 5.16, 5.18, 5.22, 5.25 para las CCMs 1, 2, 3, 4,5 y 6 respectivamente.

#### 4.6.2. Análisis de DBO5

**Tabla 7-4:** Resultados del análisis de DBO5 de lixiviado Inicial y final

CCMs	Unidades	Método de análisis	Resultados Inicio	Resultados Finales	Porcentaje de remoción
CCM 1 <i>Delftia acidivorans</i>	mg/L	5210-B	56000	15980	71.46%
CCM 2 <i>Delftia acidivorans</i>	mg/L	5210-B	56001	16730	70.13%
CCM 3 <i>Citrobacter freundii</i>	mg/L	5210-B	56002	18340	67.25%
CCM 4 <i>Citrobacter freundii</i>	mg/L	5210-B	56003	20730	62.98%
CCM 5 Acción combinada de <i>Delftia acidivorans</i> y <i>Citrobacter freundii</i>	mg/L	5210-B	56004	10830	80.66%
CCM 6 Acción combinada de <i>Delftia acidivorans</i> y <i>Citrobacter freundii</i>	mg/L	5210-B	56005	9250	83.48%

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

En la tabla 7-4 se encuentra detallado los valores y porcentajes de remoción de materia orgánica correspondiente a cada una de las CCMs respecto al parámetro de DBO5 en las cuales se muestra los siguientes valores, en la CCM 1 y CCM 2 correspondiente a la bacteria *Delftia acidivorans* se redujo significativamente la DBO5 a más de la mitad en los dos casos, presentando valores de 71.46% y 70.13% respectivamente. La CCM 3 y CCM 4 las mismas que fueron tratadas con la bacteria *Citrobacter freundii* muestra un porcentaje de remoción menor que las CCM 1, CCM 2, CCM 5 y CCM 6 presentando valores de 67.25% y 62.98% en cada una. En la CCM 5 y CCM 6 de tratamiento mediante la acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* se obtuvieron resultados relevantes ya que se muestran porcentajes de remoción más altos de materia orgánica con valores de 80.66% y 83.48% respectivamente.

#### 4.6.3. Análisis de DQO

**Tabla 8-4:** Resultados del análisis de DQO de lixiviado Inicial y final

CCMs	Unidades	Método de análisis	Resultados Inicio	Resultados Finales	Porcentaje de remoción
<b>CCM 1</b> <i>Delftia acidivorans</i>	mg/L	5220-D	216500	60450	72.08%
<b>CCM 2</b> <i>Delftia acidivorans</i>	mg/L	5220-D	216501	52450	75.77%
<b>CCM 3</b> <i>Citrobacter freundii</i>	mg/L	5220-D	216502	79050	63.48%
<b>CCM 4</b> <i>Citrobacter freundii</i>	mg/L	5220-D	216503	87040	59.80%
<b>CCM 5</b> Acción combinada de <i>Delftia acidivorans</i> y <i>Citrobacter freundii</i>	mg/L	5220-D	216504	35050	83.81%
<b>CCM 6</b> Acción combinada de <i>Delftia acidivorans</i> y <i>Citrobacter freundii</i>	mg/L	5220-D	216505	41250	80.95%

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

En la tabla 8-4 se evidencia los resultados finales e iniciales de los análisis de DQO de las CCM 1, CCM 2, CCM 3, CCM 4, CCM 5 y CCM 6 dando como resultado lo siguiente, la DQO en la CCM 1 fue removido un 72.08% mientras que en la CCM 2 alcanzó una remoción de 75.77% estas muestras corresponden al tratamiento mediante la bacteria *Delftia acidivorans*.

En la CCM 3 la DQO muestra una remoción de 63.48% y en la CCM 4 se logró una remoción de 59.80% para las muestras tratadas con la cepa *Citrobacter freundii*.

La mayor reducción de concentración de DQO se observó en la CCM 5 con un valor de 83.81%, de la misma manera se observó un porcentaje de remoción alto de DQO en la CCM 6 con un valor de 80.95%, para ambos casos se trató en acción combinada con la cepa *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* las cuales presentaron un porcentaje de remoción más alto que las demás CCMs.

#### 4.6.4. Análisis de nitrógeno amoniacal

**Tabla 9-4:** Resultados del análisis de Nitrógeno amoniacal inicial y final

CCMs	Unidades	Método de análisis	Resultados Inicio	Resultados Finales	Porcentaje de remoción
<i>CCM 1 Delftia acidivorans</i>	mg/L	4500-NH4-C	435	80.5	81.49%
<i>CCM 2 Delftia acidivorans</i>	mg/L	4500-NH4-C	435	72.5	72.29%
<i>CCM 3 Citrobacter freundii</i>	mg/L	4500-NH4-C	435	149.0	65.75%
<i>CCM 4 Citrobacter freundii</i>	mg/L	4500-NH4-C	435	157.0	63.90%
<b>CCM 5 Acción combinada de <i>Delftia acidivorans</i> y <i>Citrobacter freundii</i></b>	mg/L	4500-NH4-C	435	60.5	86.09%
<b>CCM 6 Acción combinada de <i>Delftia acidivorans</i> y <i>Citrobacter freundii</i></b>	mg/L	4500-NH4-C	435	72.5	83.33%

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

En la tabla 9-4 se muestran los valores iniciales y finales correspondientes al análisis de nitrógeno amoniacal en la cual se observó un mayor porcentaje de remoción en la CCMs 5 y 6 con 86.09% y 83.33% respectivamente los mismos que corresponden a la acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii*.

#### 4.7. Comprobación de hipótesis

- Hipótesis estadística

$$H_0: \delta VAC = \delta VCI$$

$$H_a: \delta VAC \neq \delta VCI$$

**H<sub>0</sub>:** Señala que no existen diferencias significativas entre los tres tratamientos, es decir que la acción combinada no influye en la producción de bioelectricidad y la remoción de contaminantes presente en el lixiviado.

**H<sub>a</sub>:** Indica que si existe diferencias significativas entre los tres tratamientos.

- Análisis de Normalidad

Previo a la selección de estadístico paramétrico o no paramétrico se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk para determinar si los datos siguen una

distribución normal. Estas pruebas proponen lo siguiente.

**H<sub>0</sub>:** Los datos siguen una distribución normal

**H<sub>a</sub>:** Los datos no siguen una distribución normal

**Tabla 10-4:** Prueba de Normalidad de variables de Voltaje, intensidad y densidad de potencia

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov	Shapiro-Wilk				
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Voltaje	0.182	90	0 .000	0 .902	90	0 .000
Intensidad de corriente	0.182	90	0 .000	0 .902	90	0 .000
Densidad de potencia	0.143	90	0 .000	0 .917	90	0 .000

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

Según los resultados de la tabla 10-4, se puede determinar que el nivel de significancia es menor que el p- value en el estadístico Kolmogorov-Smirnov, siendo este estadístico el más adecuado cuando hay más de 50 datos, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula ya que estos datos no se ajustan a una distribución normal con 95% de confianza, por tal razón para la comprobación de los 3 tratamientos se utilizó una prueba no paramétrica.

- Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

Al tener 3 variables que se deben comparar se utilizó un estadístico no paramétrico que permitió la comprobación de la hipótesis textual.

**Tabla 11-4:** Estadísticos de prueba

Estadísticos de prueba			
Variables	Voltaje	Intensidad de corriente	Densidad de potencia
H de Kruskal-Wallis	71.071	71.071	71.018
gl	2	2	2
Sig. asintótica	0	0	0

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 11-4 se deduce que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que si existen diferencias significativas en los resultados en los 3 tratamientos respecto a las variables: voltaje, intensidad y densidad de

potencia.

Las bacterias *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* inciden considerablemente en la producción de bioelectricidad, sin embargo, las variables respuestas muestran valores equivalentes al monitorear voltaje, intensidad o densidad de potencia.

- **Comparaciones entre tratamientos (DBO5, DQO y Nitrógeno amoniacal)**

- **Análisis de Normalidad**

Previo a la selección de estadístico paramétrico o no paramétrico se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk para determinar si los datos siguen una distribución normal. Estas pruebas proponen lo siguiente.

**Ho:** Los datos siguen una distribución normal

**Ha:** Los datos no siguen una distribución normal

**Tabla 12-4:** Prueba de Normalidad para parámetros de remoción de contaminantes.

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig	Estadístico	gl	Sig
<b>DBO5</b>	0.227	6	0.200	0.933	6	0.607
<b>DQO</b>	0.166	6	0.200	0.944	6	0.688
<b>Nitrógeno amoniacal</b>	0.237	6	0.200	0.892	6	

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

Se observa en la tabla 12-4, que al ser mayores los niveles de significancia de 0.05 quiere decir que estos datos si se ajustan a la normalidad, por lo tanto, se rechaza la hipótesis alternativa, por lo que se realiza el análisis Anova para hacer comparaciones entre los 3 tratamientos para su comprobación.

**Tabla 13-4:** Análisis Anova.

ANOVA						
	Entre grupos	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	f	Sig
<b>DB05</b>		297.907	2	148.953	31.971	0.009
	Dentro de grupos	13.977	3	4.659		
	Total	311.884	5			
<b>DQO</b>	Entre grupos	435.037	2	217.519	36.932	0.008
	Dentro de grupos	17.669	3	5.890		
	Total	452.706	5			
<b>Nitrógeno amoniacal</b>	Entre grupos	401.420	2	200.710	12.586	0.035
	Dentro de grupos	47.840	3	15.947		
	Total	449.260	5			

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

En la tabla 13-4 se evidencia que en los 3 tratamientos si existe diferencias significativas, por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa.

- Método de Tukey

Mediante el Método de Tukey se realizó una comparación por pares de los 3 tratamientos respecto a los parámetros de remoción de contaminantes, donde se evidenció que existen diferencias significativas en la remoción de parámetros contaminantes tanto en: CCMs 1-2 *Delftia acidivorans*, CCMs 3-4 *Citrobacter freundii* y CCMs 5-6 Acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter Freundii*, mostrándose a continuación.

**Tabla 14-4:** Método de Tukey DBO5.

DBO5			
HSD Tukey <sup>a</sup>			
Cepas	N	Subconjunto para alfa = 0.005	
CCMs 3-4	2	1	2
CCMs 1-2	2	65.1150	
CCMs 5-6	2	70.7950	82.070
Sig		0.151	1.000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos			

Realizado por: Berrones, Jenny, 2022.

En la tabla 14-4 se evidencia que la cepa de las CCMs 1-2 correspondiente a *Delftia acidivorans* y las cepas de *Citrobacter freundii* de las CCMs 3-4 actúan de forma equivalente al momento de remover contaminantes mientras que las cepas de las CCMs 5-6 que corresponden a la acción combinada de *Delftia acidivorans* y *citrobacter freundii* son diferentes a las anteriores, es decir que posee un mejor resultado al momento de remover DBO5.

**Tabla 15-4:** Método de Tukey DQO.

<b>DQO</b>			
<b>HSD Tukey<sup>a</sup></b>			
<b>Cepas</b>	<b>N</b>	<b>Subconjunto para alfa = 0.005</b>	
CCMs 3-4	2	1	2
CCMs 1-2	2	61.6400	73.9250
CCMs 5-6	2		82.3800
Sig		1.0000	0.0790
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos			

**Realizado por:** Berrones, Jenny, 2022.

En la tabla 15-4, se visualiza que la cepa inoculada en las CCMs 1-2 que corresponde a *Delftia acidivorans* y las CCMs 5-6 de la acción combinada de *Delftia acidivorans* y *citrobacter freundii* actúan de manera similar al momento de remover DQO obteniendo buenos resultados y la cepa inoculada en las CCMs 3-4 de *Citrobacter freundii* es diferente a las demás celdas presentando un bajo porcentaje de remoción de DQO.

**Tabla 16-4:** Método de Tukey Nitrógeno amoniacal.

<b>Nitrógeno amoniacal</b>			
<b>HSD Tukey<sup>a</sup></b>			
<b>VAR 00003</b>	<b>N</b>	<b>Subconjunto para alfa = 0.005</b>	
CCMs 3-4	2	1	2
CCMs 1-2	2	64.8250	76.8900
CCMs 5-6	2	76.8900	84.7100
Sig		0.111	0.269
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos			

**Realizado por:** Berrones, Jenny, 2022.

En la Tabla 16-4, se evidencia que las cepas inoculadas en las CCMs 1-2 y CCMs 3-4 presentan iguales porcentajes de remoción de nitrógeno amoniacal como las CCMs 5-6 y CCMs 1-2 es decir que cualquiera de los 3 tratamientos brindará buenos resultados al momento de remover nitrógeno amoniacal.

#### 4.8. Discusión

Esta investigación tuvo como propósito producir bioelectricidad en celdas de combustible microbianas mediante la acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* y el tratamiento de contaminantes, se obtuvieron valores de voltaje, intensidad de corriente, densidad de potencia como también parámetros de pH, DBO5, DQO y nitrógeno amoniacal de las 6 CCMs utilizadas.

Respecto al voltaje generado mediante la cepa *Delftia acidivorans* en la CCM1 se obtuvo un valor máximo de 221.67mV y en la CCM2 el valor fue de 191.31 mV, evidenciándose un promedio total de voltaje de 206.49 mV lo cual nos indica que la producción de voltaje de dicha cepa es relevante en ambas CCMs, según (Chen et al., 2014: pp. 286-293) afirma que una mayor carga orgánica en las CCMs mejora la generación de energía ya que puede ser resultado de una mayor bioactividad en dicha bacteria electrogénica aumentando la conductividad en la cámara anódica. La cepa bacteriana *Citrobacter freundii* en la CCM 3 alcanzó un valor de voltaje de 103.43mV y en la CCM 4 un valor de 134.04 mV lo cual nos da un promedio de producción de voltaje total de 118.73mV lo que nos indica que este valor es menor en comparación con la cepa *Delftia acidivorans*, aunque *Citrobacter freundii* es un microorganismo electrogénico existen factores que pueden inhibir la fluidez de electrones a través de la membrana, según (Ringeisen et al., 2007: pp. 591-597) la disminución de los valores de voltaje se debe a la presencia de oxígeno disuelto en la cámara anódica que captura los electrones ya que se forman moléculas de agua provocando la reducción de la cantidad de electrones que son transportados al ánodo.

En la CCM 5 y la CCM 6 que se trató mediante la acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* los cuales presentaron valores de voltaje de 227.82mV y 260.23 mV respectivamente logrando alcanzar un promedio de 244.02mV entre las 2 CCMs, nos indica que en acción combinada de bacterias se produjo mayor voltaje por la sinergia entre el consorcio microbiano que en las celdas con un solo tipo de microorganismo, según la investigación de (Nivón Pellón y Nivón, 2017: pp. 7-18) enfatizan que los cultivos bacterianos mixtos generan mayor voltaje que los cultivos puros ya que se evidencia mutualismo entre poblaciones bacterianas las mismas que se adaptan en la cámara anódica transfiriendo sus electrones.

En este estudio también se analizaron parámetros de DBO5, DQO y nitrógeno amoniacal al inicio y al final de la investigación, aunque el porcentaje de remoción fue significativo en todas las

CCMs no se llegó a los límites permisibles para descargas a cuerpos de agua dulce según lo estipula la norma TULSMA, indicando que, para DBO5 es de 50.0 mg/l; DQO 100.0 mg/l y nitrógeno amoniacal 30.0 mg/l, por otro lado se obtuvo un alto porcentaje de remoción de materia orgánica específicamente en las CCM 5 y CCM6 que pertenecen al tratamiento mediante la acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* como se observa en las tablas 7-4, 8-4, 9-4, las cepas bacterianas *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* pertenecen al filo Proteobacteria es por ello su sinergia y mutualismo analizados en las CCMs, según el análisis filogenético que realizaron (Chen et al., 2017:pp. 108-115) indican que el filo proteobacteria es dominante durante el proceso de descomposición de la materia orgánica, además que se demuestra la viabilidad de inocular cepas bacterianas en CCMs para purificar aguas residuales y generar voltaje, además (Sharma & Li, 2010, p.1) sugirieron que el crecimiento bacteriano provoca una rápida degradación de sustrato cuando está en condiciones anaerobias.

Además, se realizó la medición de pH cuyo valor inicial fue de 4.34 y al transcurrir los 15 días de monitoreo este valor fue aumentando en cada una de las CCMs, obteniendo el valor más alto en la CCM 6 con 5.25, según (Kusmayadi et al., 2020: pp. 1-12) el aumento de pH es muy importante en las CCMs para generar una alta generación de bioenergía esto se debe a que los microorganismos gracias a su metabolismo descomponen la materia orgánica, el nitrógeno amoniacal es un factor clave ya que cuando se encuentra en el sustrato de las CCMs este se presenta disuelto como ion amonio y mediante la interacción de bacterias este se transforma a gas amoniacal el mismo que se volatiliza, por lo tanto el pH tiende a subir.

Respecto a la variación de voltaje y remoción de materia orgánica en CCMs (Buitrón & Pérez, 2011, p.1) mencionan en su investigación que la generación máxima de voltaje se obtuvo después de que los microorganismos actuaran disminuyendo la materia orgánica sin embargo pasada esta etapa disminuye la velocidad de remoción y producción de electricidad.

## CONCLUSIONES

- Se preparó 6 celdas de combustible microbianas, 2 con la cepa *Delftia acidivorans*, 2 con la cepa *Citrobacter freundii* y 2 con las cepas en acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii*, las CCMs fueron construidas de una sola cámara con un volumen de 125ml, con membrana de fibra de carbono para la cámara del ánodo y para el cátodo que estaba expuesto parcialmente al aire en los cuales se llevaba a cabo el intercambio de electrones, además se empleó un sustrato de frutas y verduras el cual fue utilizado como lixiviado para su posterior tratamiento por medio de microorganismos.
- Se pudo conocer que la cepa con mayor producción de voltaje, intensidad de corriente y densidad de potencia corresponde a la acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter freundii* con un promedio de 244.02 mV, 244.02  $\mu$ A, 0.189 mW/m<sup>2</sup> respectivamente, seguida de la cepa *Delftia acidivorans* que produjo 206.49 mV, 206.49  $\mu$ A y 0.137 mW/m<sup>2</sup>, la cepa bacteriana fue la de *Citrobacter freundii* con valores de 118.73 mV, 118.73  $\mu$ A y 0.046 mW/m<sup>2</sup>, lo que demuestra que las cepas utilizadas en esta investigación son capaces de producir bioelectricidad pero de manera más favorable cuando se encuentran en acción combinada de bacterias electrogénicas.
- La materia orgánica fue degradada durante la producción de bioelectricidad obteniendo como resultados, altos porcentajes de remoción principalmente en las CCMs 5 y 6 las cuales pertenecen al tratamiento mediante la acción combinada de *Delftia acidivorans* y *Citrobacter Freundii*, la producción de voltaje se incrementó a medida que la materia orgánica fue degradándose gracias a la interacción de las bacterias electrogénicas y su metabolismo.

## **RECOMENDACIONES**

- Combinar cultivos puros utilizando diferentes tipos de sustrato.
- Investigar sobre microorganismos electrogénicos que tengan afinidad entre sí, para ingresarlos en una CCM con la finalidad de generar mayor voltaje.
- Proponer un modelo de celda de combustible microbiana más amplia.
- Monitorear los niveles de pH óptimos para evitar condiciones de acidificación.
- Realizar segunda etapa de biorremediación de lixiviado de las CCMs.

## BIBLIOGRAFÍA

**AZÚA, M., et al.** *Sistema de adquisición de datos de bajo costo con la plataforma arduino.* Ecuador: Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.2017, p.4.

**BAIRD, R., et al.** *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater.*Ecuador: Eaton, Editors, 2017, p.12.

**BUITRÓN, G., & PÉREZ, J.** “Producción de electricidad en celdas de combustible microbianas utilizando agua residual: efecto entre la distancia entre electrodos”. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* [en línea], 2011, (Ecuador) 2 (12), pp. 1-5. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1598-7854. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43219047001>

**CHEN, C. et al.** “A comparison of bioelectricity in microbial fuel cells with aerobic and anaerobic anodes”. *Environmental Technology* [en línea], 2014, (Ecuador) 35(3), pp. 286-293. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1542-7852. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.826254>

**CUI, Y. et al.** “Biosensores microbianos basados en celdas de combustible”. *Biosensors* [en línea], 2019, (China) 9(3), pp. 286-293. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1782-2022. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/bios9030092>

**DEEPIKA, J. et al.** “Un estudio sobre la producción de bioelectricidad por la acción sinérgica de *Bacillus tequilensis* DMR-5 y *Pseudomonas aeruginosa* DMR-3 aisladas del fluido ruminal”. *Revista estadounidense de ciencias ambientales* [en línea], 2019, (Ecuador) 5(9), pp. 424-430. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 2013-1242. Disponible en: <https://doi.org/10.3844/ajessp.2013.424.430>

**DEPT. MEDICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES.** “producción de bioelectricidad por la acción sinérgica”. *Microbe-canvas* [en línea], 2022, (Ecuador) 3(7), pp. 4-17. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1452-8544. Disponible en: <https://doi.org/10.3844/ajessp.2034353.4353.45>

**EMGIRS - EP.** *Empresa Pública Metropolitana de Gestión Integral de Residuos Sólidos.* Ecuador-Quito: Ediciones Chimborazo, 2020, p.12.

**EP-EMMPA.** *Empresa Publica Municipal Mercado de Productores Agricolas "San Pedro"* Ecuador-Quito: Ediciones Pichincha, 2020, p. 547.

**ESPOCH.** *Anuario climatológico año 2022.* Ecuador-Quito: Ediciones Pichincha, 2020, p. 547.

**FATIMA, S. et al.** "Effect of depth and age on leachate characteristics of Achan Landfill, Srinagar, Jammu and Kashmir, India". *Ciencia Ambiental* [en línea], 2012, (Ecuador) 2(2), pp. 4-11. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1452-8544. Disponible en: <https://doi.org/https://www.iosrjournals.org/iosr-jestft/papers/vol2-issue2/B0220411.pdf>

**FEREGRINO, M. et al.** "Estudio estadístico de la influencia de la distribución geométrica del cátodo en la producción de energía eléctrica en una celda de combustible microbiana de sedimentos". *Scielol* [en línea], 2012, (Ecuador) 34(23), pp. 80-95. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1452-8544. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.37636/recit.v518095>

**FRANKS, A., & NEVIN, K.** "Microbial Fuel Cells". *Scielol* [en línea], 2010, (USA) 3(5), pp. 899-919. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1322-1232. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/en3050899>

**GONZÁLES, B.** *Ecología Verde* [en línea]. 2da Ed. Ecuador: Editorial Rayos del Sol, 2018. [Consulta: 15 noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.ecologiaverde.com/como-afecta-la-produccion-electrica-al-medio-ambiente-1745.html>

**GUAMBO, A. et al.** "Revisión del desarrollo de la tecnología mfc para la producción de bioelectricidad a partir de residuos orgánicos - esPOCH". *Revista Científica Perfiles Scielo* [en línea], 2010, (Ecuador) 3(5), pp. 8-19. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1322-1232. Disponible en: <http://ceaa.esPOCH.edu.ec:8080/revista.perfiles/Articulos/Perfiles16Art8.pdf>

**GUAMBO, A. et al.** "Beneficio de un Microorganismo de Suelo Alto Andino para la producción de Energía Renovable usando nitratos como compuesto inorgánico". *Congreso Internacional I+D+i en sostenibilidad energética INER* [en línea], 2017, (Ecuador) 1(2), pp. 5-9. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1111-1322. Disponible en: <https://doi.org/https://biblioteca.olade.org/opac-tmpl/Documentos/cg00639.pdf>

**GUNARATHNE, V. et al.** *Biochar from municipal solid waste for resource recovery and*

*pollution remediation*. USA: Edit Green, 2019. p. 45

**HERNANDEZ, A.** *Optimizar la producción eléctrica y producción de hidrógeno en una celda de combustible microbiana*. USA: Book Study, 2017, p.765.

**HERNÁNDEZ, G., & SÁNCHEZ, M.** "La plurifuncionalidad de las bacterias electrogénicas". *Universitarios Potosinos*, [en línea], 2017, (Ecuador) 4(10), pp. 8-20. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 2023-2541. Disponible en: <http://www.uaslp.mx/Comunicacion-Social/Documents/Divulgacion/Revista/Catorce/211/01.pdf>

**HUANG, J. et al.** (2015). "Bacteria exoelectrogénica relacionada filogenéticamente con *Citrobacter freundii*, aislada de una biopelícula anódica de una celda de combustible microbiana". *Appl Biochem Biotechnol*, [en línea], 2015, (Ecuador) 3(5), pp. 1879-1891. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1254-7895. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-014-1418-9>

**KHALIFA, A., & ALMALKI, M.** "Caracterización polifásica de *Delftia acidovorans* ESM-1, una bacteria metilotrófica facultativa aislada de la rizosfera de Eruca sativa". *Saudi Journal of Biological Sciences* [en línea], 2019, (Ecuador) 26(6), pp. 1262-1267. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 0102-0585. Disponible en: <https://doi.org/https://biblioteca.olade.org/opac-tmpl/Documentos/cg00639.pdf>

**KITAFÁ, B., & OBAID, J.** "Una revisión sobre pilas de combustible microbianas". *Revista de Ingeniería y Tecnología* [en línea], 2019, (Ecuador) 39(1), pp. 1-8. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1122-1215. Disponible en: <https://doi.org/10.30684/etj.v39i1A.1518>

**KUMAR, S., et al.** (2017). "Asociación sintrófica y desempeño de Clostridium, desulfovibrio, Aeromonas y tetratiobacter como biocatalizadores anódicos para la generación bioeléctricidad en celdas de combustible microbianas de doble cámara". *Investigación en Ciencias Ambientales* [en línea], 2017, (Ecuador) 24(19), pp. 4-15. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1989-99854. Disponible en: <https://doi.org/0944-1344>

**KURNIAWAN, T., et al.** "Physico-chemical treatments for removal of recalcitrant contaminants from landfill leachate". *Journal of Hazardous Materials* [en línea], 2006, (Ecuador) 129(3), pp. 80-100. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 2200-2145. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.08.010>.

**LEÓN, G., & ANDRADE, B.** "Tratamiento biológico complementario para lixiviados como alternativa para mitigar la contaminación ambiental. Caso: botadero "Curgua". *Polo del Conocimiento* [en línea], 2021, (Ecuador) 6(6), pp. 1099-1115. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 0305-0507. Disponible en: <https://doi.org/10.23857/pc.v6i6.2807>

**LOGROÑO, W., 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". *Información tecnológica* [en línea], 2015, (Ecuador) 26(2), pp. 61-68. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1342-1211. Disponible en: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000200008>

**MALDONADO, J., et al.** "Tratamiento de lixiviados de rellenos sanitarios en filtros anaerobios de flujo ascendente de dos fases (DI – FAFS)". *Ingeniería UC* [en línea], 2017, (Ecuador) 24(1), pp. 91-104. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 0121-1025. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=70750544011>

**MARTINEZ, A., et al.** "Alternativas actuales del manejo de lixiviados". *Avances de Química* [en línea], 2014, (Ecuador) 9(1), pp. 37-47. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1547-7854. Disponible en: <https://doi.org/ISSN:1856-5301>

**MINISTERIO DE ENERGÍA Y RECURSOS NATURALES NO RENOVABLES.** *Ministerio de Energía y Recursos Naturales no Renovables*. Ecuador: MAE, 2020,

**MINISTERIO DEL AMBIENTE Y AGUA.** *Ministerio del Ambiente y Agua*. Ecuador: Editoria LeeXiv, 2020, p. 2-6.

**MOLINA, A., ET AL.** Energía: celdas de combustible microbianas. *Revista Ingeniería* [en línea], 2017, (Ecuador) 21(2), pp. 54-62. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1882-1711. Disponible en: <https://doi.org/https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46752305005>

**NÚÑEZ, A.** "Bacterias Productoras de Electricidad del subsuselo a la pila de combustible". *Scielo*[en línea], 2008, (Ecuador) 21(2), pp. 4-12. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1858-7852. Disponible en: <https://www.sem microbiologia.org/wp-content/uploads/2021/04/Geobacter.pdf>

**OBILEKE, K., et al.** "Pilas de combustible microbianas, una tecnología de energía renovable para la generación de bioelectricidad: una minirevisión". *ELSEVIER* [en línea], 2019, (Ecuador) 2(125), pp. 1-12. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1858-7852. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2021.107003>

OMS. (7 de Junio de 2021). *Organizacion Mundial de la Salud* . Ecuador: Norte Impresa, 2021, p. 87.

ONU. (Julio de 2021). *Naciones Unidas* . Ecuador: Senditos Norte, 2021, p. 5.

**PANDIT, S., & DAS, D.** "Principios de la pila de combustible microbiana para la generacion de energia". *Microbial Fuel Cell* [en línea], 2017, (Ecuador) 21(41), pp. 3-10. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 0008-7100. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-66793-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-66793-5_2)

**PANT, D., et al.** "Una revisión de los sustratos utilizados en las celdas de combustible microbianas (MFC) para la producción de energía sostenible". *Tecnologia Ambiental* [en línea], 2010, (Ecuador) 101(6), pp. 7-10. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1518-7234. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.017>

**PORTILLO, S.** *Ecologia Verde*. Lixiviados. 2da Edición. Ecuador-Quito: Hall Green, 2020, p. 3.

**REVELO, D., et al.** "Celdas de combustible microbianas (mfcs): un reto para la eliminación de materia orgánica y la generación de electricidad". *Información Tecnológica* [en línea], 2013, (Ecuador) 24(6), pp. 1-2. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1858-7852. Disponible en: <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000600004>

**RINGEISEN, B., et al.** "A miniature microbial fuel cell operating with an aerobic anode chamber". *SciELO* [en línea], 2017, (Ecuador) 165(2), pp. 591-597. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1454-3455. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2006.10.026>

**RUIZ, F.** (2018). *Aplicacion de las membranas SPM para el tratamiento de lixiviados*. España: Gustavo Gili, 2018. p.4.

**SANTORO, C. et al.** "Pilas de Combustible microbianas: de los fundamentos a las aplicaciones". *Revista de Fuentes de Energia* [en línea], 2017, (Ecuador) 225(244), pp. 1-4. [Consulta: 15

noviembre 2022]. ISSN 1125-5789. Disponible en: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0378775317304159?token=93DEBAA0051E11DB39CF55311C0554D85F9DA7859DD3E9EC69646A44B470C615CA45960219B10CC67819C425923CA3EE&originRegion=us-east-1&originCreation=20221021005852>

**SHARMA, Y., & LI, B.** "The variation of power generation with organic substrates in single-chamber microbial fuel cells (SCMFCs)". *Bioresour Technol* [en línea], 2010, (Ecuador) 101(6), pp. 1844-1850. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1858-7852. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.040>

**SOLIS, M.** "Ecología política y geografía crítica de la basura en el Ecuador". *Letras Verdes. Revista Latinoamericana de Estudios Socioambientales* [en línea], 2015, (Ecuador) 2(17), pp. 3-10. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1008-7452. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.17141/letrasverdes.17.2015.1259>

**SONAWANE, J., et al.** "Lixiviados de vertederos: un sustrato prometedor para las pilas". *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], 2017, (Francia) 42(37), pp. 3-10. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1778-7800. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.03.137>

**STANDAR METHODS.** *5210 biochemical oxygen demand (BOD)*. España: Ediciones Ostia, 2018. p.4.

**SUN, H., et al.,** "Desempeño y mejora reciente en celdas de combustible microbianas para la eliminación simultánea de carbono y nitrógeno: una revisión". *Revista de Ciencias Ambientales* [en línea], 2016, (Italia) 2(3), pp. 13-30. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 0448-0054. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.12.006>

**THARALI, A., et al.** "Pilas de combustible microbianas en la producción de bioelectricidad". *Fronteras en Ciencias de la Vida* [en línea], 2017, (Ecuador) 2(1), pp. 123-456. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 2020-2121. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/21553769.2016.1230787>

**ULUSOY, I., & DIMOGLIOB, A.** "Electricity generation in microbial fuel cell systems with *Thiobacillus ferrooxidans* as the cathode microorganism". *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], 2017, (USA) 43(2), pp. 1171-1178. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN

1858-7852. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.10.155>

**WANG , H., et al.** "Scarcity-weighted fossil fuel footprint of China at the provincial level". *ScienceDirect* [en línea], 2018, (Francia) 258(2), pp. 2-9. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 9000-1112. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2019.114081>

**ZOU, C., et al.** "Energy revolution: From a fossil energy era to a new energy era". *ScienceDirect* [en línea], 2016, (Francia) 4(7), pp. 6-11. [Consulta: 15 noviembre 2022]. ISSN 1808-7111. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ngib.2016.02.001>



## ANEXOS

### ANEXO A: ANÁLISIS INICIAL DE LA MUESTRA DE LIXIVIADOS



Fecha: 26 de octubre del 2022  
Análisis solicitado por: Srta. Jenny Berrones  
Tipo de muestra: Lixiviado de residuos orgánicos (Frutas y Verduras 1:1).  
Localidad: Mercado Mayorista EP-EMMPA San Pedro de Riobamba

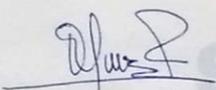
**Análisis Químico**

Determinaciones	Unidades	*Métodos de análisis	Resultados
Nitrógeno Amoniacal	mg/L	4500-NH <sub>4</sub> -C	435.0
Demanda Química de Oxígeno	g/L	5220-D	216.5
Demanda Bioquímica de Oxígeno	g/L	5210-B	56.00

\* Métodos de análisis del Standard Methods APHA AWWA.

Observaciones:

Atentamente,



Dra. Gina Álvarez R.  
RESPONSABLE TECNICO LABORATORIO

Avenida 9 de Octubre # 12 y Madrid  
Contáctanos: ☎0998580374 ☎032 942 322  
Saqmic Laboratorio  
Riobamba - Ecuador



## ANEXO B: ANÁLISIS FINAL DE LAS MUESTRAS DE LIXIVIADOS



Fecha: 11 de noviembre del 2022

Análisis realizado por: Srta. Jenny Berrones

Tipo de muestra: Lixiviado de residuos orgánicos (Frutas y Verduras 1:1)

Muestras de Celdas de combustible microbianas (CCMs)

### ANÁLISIS QUÍMICO

Determinaciones	Unidades	Métodos de Análisis	Resultados					
			CCM 1	CCM 2	CCM 3	CCM 4	CCM 5	CCM 6
Nitrógeno Amoniacal	mg/L	4500-NH4-C	80.5	72.5	149	157	60.5	72.5
Demanda Química de Oxígeno	g/L	5220-D	60.45	52.45	79.05	87.04	35.05	41.25
Demanda Bioquímica de Oxígeno	g/L	5210-B	15.98	16.73	18.34	20.73	10.83	9.25

*\*Métodos de Análisis del Standard Methods APHA AWWA*

Observaciones:

Atentamente

Dra. Gina Álvarez R.  
RESPONSABLE TECNICO LABORATORIO

## ANEXO C: TRATAMIENTO DE MEMBRANAS DE FIBRA DE CARBONO

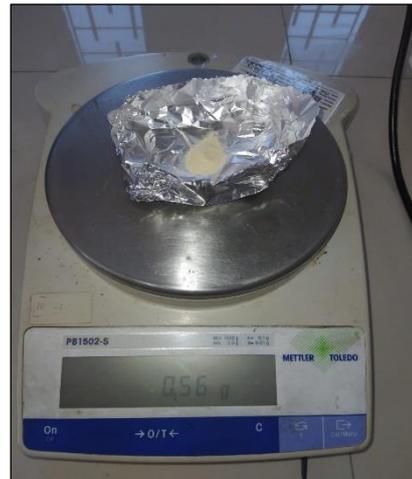


Corte y limpieza de cátodos

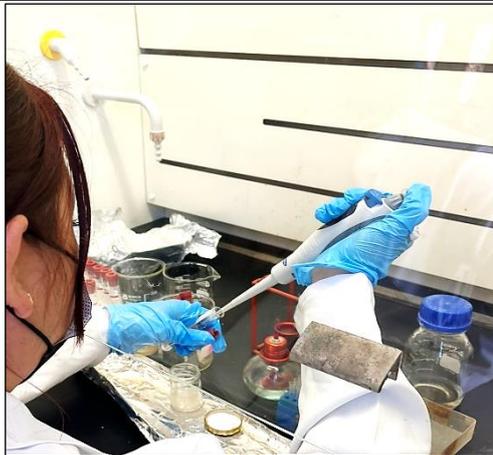


Tratamiento de ánodos y secado en horno mufla.

## ANEXO D: SIEMBRA DE BACTERIAS ELECTROGÉNICAS



Bacterias *Delftia acidivorans*, *Citrobacter freundii* y pesaje de agar nutritivo



Siembra de bacterias en tubos estériles con tapa.



Esterilización de materiales e incubación de bacterias

**ANEXO E: SUSTRATO UTILIZADO EN CCMs**



Recolección de frutas y verduras en EP - EMMPA



Frutas y verduras para realización de sustrato



Sustrato utilizado en las CCMs

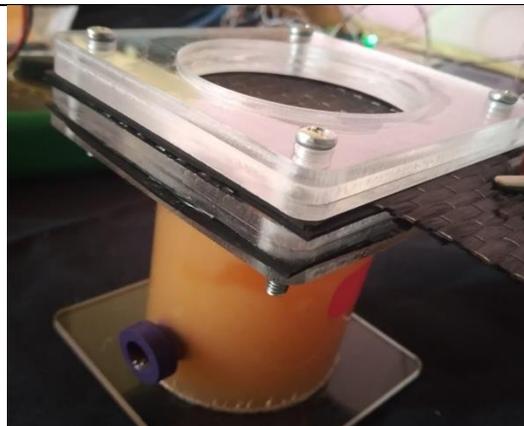
## ANEXO F: ENSAMBLAJE DE CCMs



Esterilización de materiales en cámara de flujo laminar

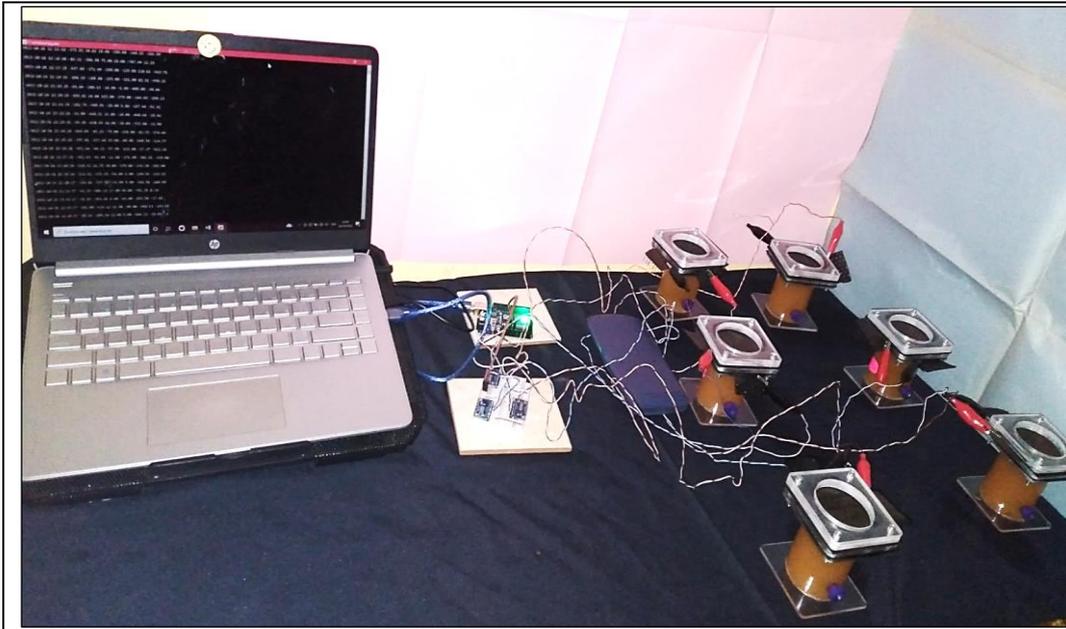


Ensamblaje de CCMs, adición de sustrato y bacterias



CCM lista para ser monitoreada

## ANEXO G: MONITOREO DE CCMs



Recolección de datos de voltaje



Calibración de pH metro y medición de muestras de pH



esPOCH

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: 24/03/2023

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Jenny María Berrones Yaulema
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias
<b>Carrera:</b> Ingeniería en Biotecnología Ambiental
<b>Título a optar:</b> Ingeniera en Biotecnología Ambiental
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo

0546-DBRA-UPT-2023

