



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“GENERACIÓN DE BIOELECTRICIDAD MEDIANTE CELDAS
DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS A PARTIR DE AGUAS
RESIDUALES INDUSTRIALES TEXTILES DE FASHION COLOR,
UTILIZANDO *Chorella Vulgaris* COMO BIOCATALIZADOR EN
LA CÁMARA CATÓDICA, PELILEO 2015”**

Trabajo de titulación para optar por el título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORES: JOSSELYN CAROLA BUENAÑO ABARCA

FERNANDA ESTEFANÍA CRUZ GARCÉS

DIRECTOR: DR. ROBERT CAZAR

RIOBAMBA – ECUADOR

Enero-2016

©2016 Josselyn Carola Buenaño Abarca y Fernanda Estefanía Cruz Garcés

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.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: **GENERACIÓN DE BIOELECTRICIDAD MEDIANTE CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS A PARTIR DE AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES TEXTILES DE FASHION COLOR, UTILIZANDO *Chorella Vulgaris* COMO BIOCATALIZADOR EN LA CÁMARA CATÓDICA, PELILEO 2015**”, de responsabilidad de las señoritas Josselyn Carola Buenaño Abarca y Estefanía Fernanda Cruz Garcés, ha sido cuidadosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación:

Dr. Robert Cazar

DIRECTOR DE TRABAJO _____

DE TITULACIÓN

Dr. Celso Recalde

MIEMBRO DEL TRIBUNAL _____

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Josselyn Carola Buenaño Abarca, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 15 de abril de 2016

Josselyn Carola Buenaño Abarca

140076407-0

Yo, Fernanda Estefanía Cruz Garcés, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 15 de abril de 2016

Fernanda Estefanía Cruz Garcés

180373484-5

DEDICATORIA

A Dios por sus bendiciones y guiar mis pasos en todo momento.

A mi madre con mucho amor por haberme dado la vida, por su apoyo y confianza incondicional.

A mis hermanos con cariño en especial a ti Jessy porque siempre has estado ahí apoyándome.

A ti Benja con muchísimo amor por regalarme tantas alegrías y locuras.

A toda mi familia en general por su cariño y compañía.

A mis amigos Karen, Jessy, Cristina, Anabell, Dianita, Fernanda, Carmita, Jessy R, Crhistián C, Cristhian Ch, Andreita por su amistad y apoyo incondicional; y por su compañía en las alegrías y tristezas que se han presentado en mi vida.

A ti Beto por ser mi apoyo, por tu cariño y por brindarme tu compañía en los momentos difíciles de mi vida.

Jossy

A Dios por darme la vida, por su paciencia, amor, bondad para conmigo, por regalarme sabiduría y capacidad para lograr alcanzar mis sueños.

A mis padres por su apoyo incondicional y su esfuerzo que me permiten culminar con mis estudios.

A mi esposo por su amor, comprensión y apoyo en los momentos difíciles de mi vida.

A mis familiares y amigos por sus palabras de ánimo, cariño y apoyo encada etapa de mi vida.

A mi hijo por ser mi inspiración y mi motor por quien día a día me levanto y lucho por darle lo mejor para ti mi pequeño CALEB

Fenanda

AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por abrirnos las puertas y darnos la oportunidad de estudiar y obtener muchos conocimientos dentro de sus aulas, al Grupo de Energías Alternativas y Ambiente (GEAA), al Dr. Robert Cazar, Dr. Celso Recalde, Biof. Mario Pérez, Ing. Nelson Logroño por su contribución, asesoramiento, apoyo incondicional en el desarrollo de nuestro trabajo consolidado con profundos conocimientos de investigación.

Nuestros agradecimientos sinceros a nuestros amigos por su apoyo y amistad incondicional durante el desarrollo de nuestro trabajo y a lo largo de la vida politécnica.

Josselyn

Fernanda

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	xix
ABSTRACT	xx
1. CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1. Identificación del problema	1
1.2. Justificación del proyecto	2
1.3. Objetivos	3
1.3.1. <i>Objetivo General</i>	3
1.3.2. <i>Objetivos Específicos</i>	3
2. CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes de investigación	4
2.1.1. <i>Generalidades</i>	4
2.1.2. <i>Celdas de Combustible Microbiana (CCM)</i>	5
2.1.3. <i>CCMs como biosensor y otras aplicaciones</i>	6
2.1.4. <i>Generación de Bioelectricidad a partir de aguas residuales en CCM</i>	8
2.1.5. <i>Efecto de metales pesados en Celdas de combustible Microbiana.</i>	9
2.1.6. <i>CCM con biofilms anódicos y catódicos</i>	11
2.1.7. <i>CCM con microalgas</i>	12
2.1.8. <i>Estudios sobre CCMs realizados a nivel nacional</i>	14
2.2. Marco conceptual	15
2.2.1. <i>CCM</i>	15
2.2.2. <i>Ánodo</i>	16
2.2.3. <i>Cátodo</i>	17
2.2.4. <i>Membrana de intercambio de protones</i>	17
2.2.5. <i>Electrodo</i>	18
2.2.6. <i>Fibra de carbono</i>	18
2.2.7. <i>Sustratos</i>	19
2.2.8. <i>Microorganismos</i>	20
2.2.9. <i>Microorganismos en la cámara anódica</i>	21
2.2.10. <i>Transferencia de electrones desde el microorganismo al ánodo</i>	22
2.2.11. <i>Microorganismos en la cámara catódica</i>	22
2.2.12. <i>Transferencia de electrones desde el cátodo al microorganismo</i>	23
2.2.13. <i>Microorganismos electrogénicos</i>	24
2.2.14. <i>Biofilm</i>	25

2.2.15.	<i>Biosensor</i>	26
2.2.16.	<i>Agua residual</i>	27
2.2.17.	<i>Agua residual textil</i>	27
2.2.18.	<i>Metales pesados</i>	28
2.2.19.	<i>Microalgas</i>	28
2.2.20.	<i>Chlorella vulgaris</i>	29
2.2.21.	<i>Voltaje</i>	31
2.2.22.	<i>Ley de Ohm</i>	31
3.	CAPITULO 3. METODOLOGÍA	32
3.1.	Hipótesis y especificación de las variables	32
3.2	Tipo y Diseño de Investigación	32
3.3	Unidad de Análisis:	32
3.4	Población de estudio	33
3.4.1	<i>Área de Estudio</i>	33
3.5	Tamaño de Muestra	35
3.6	Selección de la muestra	35
3.7	Lógica de la investigación	36
3.7.1	<i>Análisis e interpretación de la información</i>	36
3.7.2	<i>Primera etapa</i>	36
3.7.3	<i>Segunda etapa</i>	38
3.7.4	<i>Tercera etapa</i>	41
3.7.5	<i>Cuarta etapa</i>	44
3.7.6	<i>Quinta etapa</i>	44
4.	CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1.	Análisis de resultados	46
4.1.1.	<i>Descripción de la Distribución de las CCMs</i>	46
4.1.2.	<i>Análisis Físico Químicos</i>	46
4.1.3.	<i>Análisis Microbiológico</i>	55
4.1.4.	<i>Bioelectricidad producida en sistemas de CCMs.</i>	56
4.2.	Pruebas de hipotesis	67
4.2.1.	<i>Prueba ANOVA para el ciclo 1</i>	67
4.2.2.	<i>Prueba ANOVA para el ciclo 2</i>	68
4.2.3.	<i>Pruebas Post Hoc</i>	69
	CONCLUSIONES	72
	BIBLIOGRAFÍA	73
	ANEXOS	79

ANEXO A. CULTIVO DE MICROALGA <i>Chlorella vulgaris</i>	80
ANEXO B. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	81
ANEXO C. PREPARACIÓN DEL ELECTRODO ÁNODO Y CÁTODO (FIBRA DE CARBONO)	88
ANEXO D. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	91
ANEXO E. ANALISIS FÍSICO-QUÍMICOS	94
ANEXO F. PRODUCCIÓN DE VOLTAJE	101

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.2	Composición química total de diferentes algas y de algunos alimentos humanos.....	34
Tabla 2.2	Requerimientos principales de cultivos de microalgas.....	34
Tabla 1.4	Descripción de la Distribución de las CCMs	46
Tabla 2.4	Análisis F-Q de la MM	46
Tabla 3.4	Análisis F-Q de la F1-CCM1	47
Tabla 4.4	Porcentaje de reducción en CCM1- F1	47
Tabla 5.4	Análisis F-Q de la F1-CCM2	47
Tabla 6.4	Porcentaje de reducción en CCM2- F1	48
Tabla 7.4	Análisis F-Q de la F1-CCM3	48
Tabla 8.4	Porcentaje de reducción en CCM3- F1	49
Tabla 9.4	Análisis F-Q de la F1-CCM4	49
Tabla 10.4	Porcentaje de reducción en CCM4- F1	50
Tabla 11.4	Análisis F-Q de la F2-CCM1	50
Tabla 12.4	Porcentaje de reducción en CCM1- F2	51
Tabla 13.4	Análisis F-Q de la F2-CCM2	51
Tabla 14.4	Porcentaje de reducción en CCM2- F2	52
Tabla 15.4	Análisis F-Q de la F2-CCM3	52
Tabla 16.4	Porcentaje de reducción en CCM3- F2	52
Tabla 17.4	Análisis F-Q de la F2-CCM4	53
Tabla 18.4	Porcentaje de reducción en CCM4- F2	53
Tabla 19.4	Resultados de medición de pH.....	54
Tabla 20.4	Resultados de medición del volumen.....	55
Tabla 21.4	Estadística Descriptiva CCM1	57
Tabla 22.4	Estadística Descriptiva CCM2	57
Tabla 23.4	Estadística Descriptiva CCM3	58
Tabla 24.4	Estadística Descriptiva CCM4	58
Tabla 25.4	Coefficiente de correlación entre las CCMs ciclo 1	59

Tabla 26.4 Estadística Descriptiva CCM1	61
Tabla 27.4 Estadística Descriptiva CCM2	61
Tabla 28.4 Estadística Descriptiva CCM3	62
Tabla 29.4 Estadística Descriptiva CCM4	62
Tabla 30.4 Coeficiente de correlación entre las CCMs ciclo 2	63
Tabla 31.4 Voltaje generado en un circuito cerrado por las CCMs	64
Tabla 32.4 Intensidad de Corriente en un circuito cerrado de las CCMs.....	64
Tabla 33.4 Potencia en un circuito cerrado de las CCMs	65
Tabla 34.4 Resumen para la prueba ANOVA Ciclo 1	67
Tabla 35.4 Análisis de varianza del Ciclo 1	68
Tabla 36.4 Resumen para la prueba ANOVA Ciclo 2	68
Tabla 37.4 Análisis de varianza del Ciclo 2.....	69
Tabla 38.4 Indicadores para el cálculo de la Prueba de Tukey	69
Tabla 39.4 Prueba de Tukey.....	69
Tabla 40.4 Resultado de la prueba de Tukey	70
Tabla 41.4 Indicadores para el cálculo de la Prueba de Tukey	70
Tabla 42.4 Prueba de Tukey.....	70
Tabla 43.4 Resultado de la prueba de Tukey	70

INDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1.2 CCM con cátodo y el ánodo especiales	19
Figura 2.2. Fotografía de microscopía de barrido de un biofilm de <i>Salmonella enteritidis</i>	25
Figura 3.2 Esquema mostrando las etapas en el proceso de formación del biofilm	26
Figura 4.3. Mapa de la Parroquia Benítez.....	33
Figura 5.3. Fábrica y tintorería de Jean's FASHION COLOR	34
Figura 6.3. Cultivo de microalga <i>Chlorella vulgaris</i>	36
Figura 7.3. Medio de cultivo a base de nitrofosca	37
Figura 8.3. Tubos de ensayo con el cultivo puro de microalgas <i>Chlorella vulgaris</i>	37
Figura 9.3 Mantenimiento de cultivos de micoalgas <i>Chlorella vulgaris</i>	38
Figura 10.3 Configuración de la CCM, cámara anódica.....	39
Figura 11.3 Configuración de la CCM, cámara catódica.....	39
Figura 12 .3 Electrodo ánodo sumergido en solución de Persulfato de Amonio.....	40
Figura 13.3. Electrodo cátodo sumergido en <i>Chlorella vulgaris</i> para formación de biofilm	41
Figura 14.3 Armado de las CCMs.	41
Figura 15.3 CCM armada.	42
Figura 16.3 Monitoreo de las CCMs.....	42
Figura 17.3 Preparación del inóculo para el ciclo dos.	43
Figura 18.3 Descarga del agua residual textil del ciclo dos.....	43
Figura 19.3 Medición de pH de las aguas de descarga de cada celda.....	44
Figura 20.3 Muestras en el Microscopio Electrónico de Barrido	45

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1.4 Producción de voltaje en CCMs ciclo 1	57
Gráfico 2.4 Gráfica del crecimiento microbiano en el ciclo 1	59
Gráfico 3.4 Gráfica de la estabilidad de las CCMs ciclo 1	60
Gráfico 4.4 Gráfico de producción de voltaje en CC Ms ciclo 2	60
Gráfico 5.4 Gráfica de la estabilidad de las CCMs ciclo 2	63
Gráfico 6.4 Gráficas de la curva de polarización de las CCMs.....	66

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Cultivo puro de microalgas <i>Chlorella vulgaris</i>	80
Fotografía 2. Inoculación del cultivo de <i>Chlorella vulgaris</i>	80
Fotografía 3. Mantenimiento de las microalgas <i>Chlorella vulgaris</i>	80
Fotografía 4. Fábrica Fashion Color.	81
Fotografía 5. Muestreo de agua residual textil de la fábrica	81
Fotografía 6. Muestreo de lodo activado de la fábrica Fashion Color	81
Fotografía 7. Muestra del agua residual textil	82
Fotografía 8. Muestra de lodo activado	82
Fotografía 9. Configuración de CCM., cámara anódica.	82
Fotografía 10. Configuración de CCM., cámara catódica.	83
Fotografía 11. Formación del biofilm del cátodo	83
Fotografía 12. Ensamblaje de las CCMs	83
Fotografía 13. Monitoreo de las CCMs	84
Fotografía 14. Descarga del inóculo	84
Fotografía 15. Adición de medio de cultivo al biocátodo	84
Fotografía 16. Medición de pH	85
Fotografía 17. Aprovechamiento de la electricidad producida por las CCMs (encendido de un led)	85
Fotografía 18. Microscopio Electrónico de Barrido	85
Fotografía 19. Muestra para análisis en el MBE	86
Fotografía 20. Microscopía de la creación del biofilm del ánodo 2mm-50 μm	86
Fotografía 21. Microscopía de la creación del biofilm del ánodo 20 μm	86
Fotografía 22. Microscopía de la creación del biofilm del cátodo 100 μm	87

Fotografía 23. Microscopía de la creación del biofilm del cátodo 20 μm	87
Fotografía 24. Microscopía de la creación del biofilm del cátodo 10 μm	87
Fotografía 25. Pesaje de Persulfato de Amonio.....	88
Fotografía 26. Solución de Persulfato de Amonio.....	88
Fotografía 27. Electrodo Ánodo sumergido en solución persulfato de amonio.....	89
Fotografía 28. Preparación de la solución de H_2SO_4	89
Fotografía 29. Ánodos sumergidos a la solución de H_2SO_4	89
Fotografía 30. Secado de Ánodos y Cátodos en la Mufla.....	90
Fotografía 31. Medio de cultivo PCA.....	91
Fotografía 32. Diluciones de 10^{-1} a 10^{-7} de la muestra.	91
Fotografía 33. Siembra de aerobios	91
Fotografía 34. . Siembra de anaerobios	92
Fotografía 35. Incubación de anaerobios	92
Fotografía 36. Crecimiento de anaerobios dilución 10^{-5}	92
Fotografía 37. Crecimiento de anaerobios dilución 10^{-3}	93
Fotografía 38. Crecimiento de aerobios dilución 10^{-5}	93
Fotografía 39. Crecimiento de aerobios dilución 10^{-3}	93

INDICE DE ANEXOS

ANEXO A. CULTIVO DE MICROALGA <i>Chlorella vulgaris</i>	80
ANEXO B. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	81
ANEXO C. PREPARACIÓN DEL ELECTRODO ÁNODO Y CÁTODO (FIBRA DE CARBONO)	88
ANEXO D. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	91
ANEXO E. ANALISIS FÍSICO-QUÍMICOS	94
ANEXO F. PRODUCCIÓN DE VOLTAJE	101

INDICE DE ABREVIATURAS

CCM.-	Celdas de combustible microbianas
CCM1.-	Celdas de combustible microbianas 1
CCM2.-	Celdas de combustible microbianas 2
CCM3.-	Celdas de combustible microbianas 3
CCM4.-	Celdas de combustible microbianas 4
Cm.-	Centímetros
Cr.-	Cromo
DCA.-	Diseño completamente aleatorio
ESPOCH.-	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
FC.-	Fashion Color.
Fe.-	Hierro
G.-	Gramos
GEAA.-	Grupo de Energías Alternativas y Ambiente.
Hg.-	Mercurio
M.-	Metros
M.O.-	Microorganismos
M².-	Metros cuadrados
MBE.-	Microscopio de Barrido Electrónico
MFC.-	Microbial Fuel Cell
MIC.-	Membrana de intercambio de cationes.
MIP.-	Membrana de Intercambio de Protones
MM:	Muestra Matriz
Mv.-	Mili voltios
°C.-	Grados Centígrados
P.-	Fosforo
Pb.-	Plomo
pH.-	Potencial de Hidrogeno

Ppm.-	Partes por millón.
PTAR.-	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales.
PUCE–SI.-	Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra.
SMFCs.-	Celdas de combustible microbianas de una sola cámara.
UFC.-	Unidad formadora de colonias
UNACH.-	Universidad Nacional de Chimborazo.
USEPA.-	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos
UTM.-	Universal Transversal de Mercator
Zn.-	Zinc

RESUMEN

En la presente investigación se generó bioelectricidad mediante celdas de combustible microbianas (CCMs) a partir de aguas residuales industriales textiles y lodos activados de la fábrica Fashion Color del cantón Pelileo, utilizando *Chlorella vulgaris* como biocatalizador en la cámara catódica. La investigación se sustenta bajo el método de investigación deductivo. Cuatro CCMs de cámara simple, fueron implementadas donde CCM1, CCM2 y CCM3 (con biocatalizador) y CCM4 (celda control sin biocatalizador) con un volumen total de 125mL, el material utilizado para los electrodos ánodo y cátodo fue fibra de carbono, estos electrodos fueron sometidos a un pretratamiento para mejorar la formación del biofilm y remoción de impurezas, se utilizó papel celofán como membrana de intercambio de protones, la separación entre electrodos fue de 1 cm, la cámara anódica fue alimentada con 120 mL de agua residual textil que contenían 10 mL de lodo activado, se formó el biofilm de microalgas *Chlorella vulgaris* en la cámara catódica actuando como biocatalizador. El voltaje generado se registró en una DAQ NI 6009, durante un periodo de 20 días de monitoreo. El análisis microbiológico determinó la presencia de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de microorganismos anaerobios, anaerobios facultativos y aerobios. Dentro de los resultados obtenidos en la generación de bioelectricidad las CCM1, CCM2, CCM3 fueron el 43%, 26% y 25% mayor que la celda control. Mediante el análisis físico químico se determinó que la concentración de metales pesados Cr y Zn disminuyeron significativamente en las CCMs, la CCM4 reportó una disminución mayor al 98% de Zn y un 87,4% de Cr. En conclusión las CCMs con biocatalizador registraron mayor producción de bioelectricidad, la CCM4 reduce en mayor porcentaje los metales pesados. Se recomienda la configuración de una CCM de cámara doble para controlar los parámetros que influyen sobre el desempeño de *Chlorella vulgaris*.

Palabras claves: <BIOELECTRICIDAD> <CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANO>
<BIOCATALIZADOR> <BIOFILM> <*Chlorella vulgaris*>

ABSTRACT

In the present investigation was generated bioelectricity by microbial fuel cells (CCMs) from textile industrial waste water and activated sludge from Fashion Color Factory of Pelileo canton, using *Chlorella vulgaris* as biocatalyzer in the cathode chamber. The research is supported under the deductive method of research. Four simple camera CCMs, were implemented where CCM1, CCM2 and CCM3 (with biocatalyzer) and CCM4 (free the biocatalyzer control cell) with a total volume of 125 ml, the material used for the electrodes anode and cathode was carbon fiber, these electrodes were undergoing a pre-treatment to enhance the formation of biofilm and removal of impurities, used cellophane as proton exchange membrane the separation between the electrodes was 1 cm, the Anodic Chamber was fed with 120 mL of textile waste water which contained 10 mL of activated sludge, biofilm of microalgae *Chlorella vulgaris* was formed in the cathodic camera acting as biocatalyzer. The generated voltage was recorded in a NI DAQ 6009, for a period of 20 days of monitoring. The microbiological analysis determined the presence of units forming colonies (UFC) anaerobic, facultative anaerobic and aerobic microorganisms. Within the results in the generation of bioelectricity the CCM1, CCM2, CCM3 was 43%, 26% and 25% higher than the control cell. Through the chemical physical analysis determined that the concentration of heavy metals, Cr and Zn decreased significantly in the CCMs, the CCM4 reported one decrease greater than 98% Zn and 87.4% of Cr. In conclusion the CCMs with biocatalyzer recorded higher production of bioelectricity, the CCM4 reduces most heavy metals. The settings on a CCM's dual-camera is recommended to control the parameters that influence the performance of *Chlorella vulgaris*.

KEYWORDS: < BIOELECTRICITY > <MICROBIAL FUEL CELLS> <BIOCATALYZER>
<BIOFILM> <*Chlorella vulgaris*>

1. CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1. Identificación del problema

La Fábrica y tintorería de Jean's FASHION COLOR, está ubicada en la ciudad de Pelileo en la provincia de Tungurahua, Parroquia Benítez, Barrio Samblas. La misma que por su actividad genera considerables cantidades de agua residual, durante algunos años ha sido uno de los factores que a nivel mundial ha provocado grandes desequilibrios ecológicos afectando así al ambiente y a la sociedad.

El agua residual generada por la actividad de la fábrica contiene grandes cantidades de DBO, compuestos orgánicos e inorgánicos como enzimas, sulfuros, tensoactivos, sales, metales pesados, colorantes, entre otros. Estos químicos son utilizados durante el proceso de lavado y tinte de las diversas prendas de jeans. Los parámetros de los componentes del agua residual están fuera de la norma permisible, aun así el agua es descargada a las redes de alcantarillado de la parroquia sin un adecuado tratamiento que logre nivelar o eliminar el exceso de cada uno de los componentes, provocando así contaminación ambiental y social a nivel cantonal ya que las redes de alcantarillado desembocan en diversos ríos del cantón Pelileo, sectores netamente productivos que viven de la agricultura y ganadería, los cuales suministran el agua de los ríos sea esta para regadíos como para dar de beber a los animales, poblaciones que no tienen acceso al agua potable utilizan el agua de los ríos para su consumo, esta situación ha provocado grandes desventajas a nivel social como son enfermedades congénitas, desnutrición en niños, cáncer al estómago, intoxicaciones, irritaciones a la piel.

También es parte de grandes pérdidas económicas por la muerte de animales que se encuentran a las orillas de los ríos, muerte de especies autóctonas en el caso de la flora, y de grandes producciones agrícolas por la demanda de contaminantes que se encuentran en el agua. La fábrica emana olores putrefactos tanto del agua residual como de lodos activos los mismos que provocan mal estar a la población.

Es necesario encontrar una forma de equiparar y mantener un ambiente sano y equilibrado pero existen muy pocos trabajos que buscan alternativas para poder disminuir la contaminación y aprovechar el agua que es desechada por estas fábricas la diversidad microbiana autóctona del país no es aprovechada de la mejor manera debido que no son estudiadas a profundidad, además la información existente y las distintas investigaciones realizadas se han quedado tan solo en escritos debido a que no se da el apoyo necesario para ejecutar estos proyectos.

1.2. Justificación del proyecto

El progresivo aumento en la demanda de energía y el uso descontrolado de combustibles fósiles a nivel mundial inducidos serios problemas de contaminación en el ambiente, uno de los mayores problemas por la combustión de hidrocarburos es la gran cantidad de CO₂ que es liberado hacia la atmósfera, por ello se indaga para encontrar fuentes alternativas de generación de energía, tales fuentes deben mantener un equilibrio con el ambiente. Investigadores hacen énfasis en temas como la electricidad de una manera ecológica y que ésta beneficie a los sectores alejados del sector urbano y que no tienen acceso a este servicio básico. La gran cantidad de aguas residuales industriales que son desechadas a cuerpos de agua sin un previo tratamiento contiene compuestos orgánicos e inorgánicos como enzimas, sulfuros, tensoactivos, sales, almidones, colorantes, un alto DBO, dichos contaminantes contribuyen a la causa de impactos ambientales y sociales ya que favorecen a la propagación de enfermedades en las personas del sector en especial los niños que son los más afectados.

Una de las nuevas tecnologías que se están aplicando para la obtención de energía eléctrica de manera sustentable con el ambiente y con el aprovechamiento de residuos que son desechados sin un uso previo o a la vez un tratamiento, son las celdas de combustible microbiano o MFC sus siglas en inglés. Las CCMs poseen dos cámaras una anódica y otra catódica y se utilizan inóculos como pueden ser agua residual o suelos en los mismos que se encuentran microorganismos electrogénicos que mediante su metabolismo producen bioelectricidad, estos microorganismos tienen la capacidad de transferir los electrones que se producen dentro de la cámara anódica directamente al ánodo a través de proteínas de membrana como los citocromos tipo *c*, los electrones son recolectados en el electrodo (fibra de carbono) tanto de ánodo como de cátodo y los mismos pueden ser medidos como potencial de voltaje mediante un multímetro, estas celdas pueden estar separadas de forma física o a su vez por una membrana semipermeable, además pueden constituir un biosensor para determinar la presencia de contaminantes. La fábrica de jeans FASHION COLOR al realizar un tratamiento adecuado del agua residual que está generando puede obtener una mejor acogida en el mercado debido a que tiene prácticas sustentables con el ambiente y está asegurando la seguridad de sus empleados. En el ámbito económico la generación de bioelectricidad puede provocar un impacto económico positivo debido a que nuevas empresas pueden comercializar tanto las CCMs y la electricidad que generan estos sistemas.

Debido a lo expuesto anteriormente se propone la utilización de las celdas de combustible microbiana (MFC) para la generación de Bioelectricidad (a partir de actividad metabólica de distintos microorganismos presentes en el agua residual) beneficiando a la fábrica FASHION COLOR y a la solución de problemas ambientales, de esta manera se está fomentando la

aplicación de líneas de investigación innovadoras desarrolladas en la actualidad, además se desarrolló la MFC como un biosensor para el control de calidad de las aguas residuales.

Esta investigación contribuirá al cumplimiento de los objetivos del plan nacional del buen vivir específicamente en el objetivo 7: “Garantizar los derechos de la naturaleza y promover la sostenibilidad ambiental territorial y global”; y en el objetivo 10: “Impulsar la transformación de la matriz productiva”. La presente investigación se desarrolló bajo la guía del Grupo de Energías Alternativas y Ambiente (GEAA) situada en la Facultad de Ciencias de la ESPOCH debido a que en el GEAA existe una línea de investigación sobre Bioelectricidad, el grupo nos proporcionó la asistencia técnica con un grupo de profesionales en las áreas de electrónica, informática, biología, microbiología y ambiental.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

- Generar bioelectricidad mediante celdas de combustible microbianas a partir de aguas residuales industriales textiles de “FASHION COLOR”, utilizando un biocatalizador a base de *Chlorella vulgaris*.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Demostrar la influencia que genera el utilizar *Chlorella vulgaris* como biocatalizador en Celdas de Combustible Microbiano para la producción de bioelectricidad.
- Evaluar el comportamiento de los metales pesados cromo (Cr) y zinc (Zn) como estudio preliminar en las aplicaciones degradativas de una CCM.
- Identificar el nivel de remoción de color del agua residual industrial textil.

2. CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de investigación

2.1.1. Generalidades

En las últimas décadas, el consumo de energía en el mundo ha tenido una tendencia próspera. Las fuentes de energía se clasifican en tres tipos: los combustibles fósiles, las fuentes renovables y fuentes nucleares (Rahimnejad, 2011, pp. 526-580). Las fuentes no renovables de energía, que incluyen una enorme porción de consumo de energía, podrían clasificarse en dos grandes grupos: la energía nuclear y fósil. Los combustibles fósiles influyen negativamente en la naturaleza debido a la emisión de CO₂. De ello se desprende lógicamente que el consumo de combustibles fósiles ha puesto en peligro grave la vida humana a través de sus secuelas drásticas, como el calentamiento global y la contaminación atmosférica. (Rahimnejad, 2012, pp. 423 - 430).

Sin embargo, los países de todo el mundo han realizado esfuerzos notables para encontrar una solución convincente para la crisis energética girando los ojos hacia las fuentes de energía renovables como la energía solar, la energía producida por el viento y el agua. Como resultado de estos esfuerzos, una de las fuentes de energía alternativas últimamente propuestos es pila de combustible que genera energía usando catalizadores de metales de alto valor. En realidad, una celda de combustible microbiana presenta ventajas sobre otros tipos de generadores de energía, por ejemplo, no emiten gases contaminantes ambientales como (SO_x, NO_x, CO₂ y CO), mayor eficiencia, sin existencia de partes móviles, como consecuencia, no produce contaminación sónica (Peighamardoust, 2010, pp. 56-69).

La celda de combustible microbiana utiliza un microorganismo activo como un biocatalizador en un compartimiento de ánodo anaeróbica para la producción de bioelectricidad (Rahimnejad y Tardast, 2012, pp.256-270). Aunque la corriente eléctrica producida por bacterias fue observada por Potter en 1911, limitados resultados factibles fueron obtenidos en esta área por los próximos 50 años. Sin embargo, a principios de 1990, se consideró a las MFC tecnología prometedora. Por otra parte, la investigación de dominio de MFC se volvió mucho más vasta en 1999 una vez que se descubrió que el mediador no era un componente obligatorio en CCM. Casi todas las CCM, consisten en cámaras de ánodo y cátodo, separadas físicamente por una membrana de intercambio de protones (MIP) (Miskan y Ben, 2012, pp. 89-100). El biocatalizador activo en el ánodo oxida los sustratos orgánicos o carbono y produce electrones y protones. Los protones son conducidos a la cámara de cátodo a través de la MIP, y los electrones son transportados a través del circuito externo. Los protones y los electrones reaccionan en la cámara catódica junto con la reducción de oxígeno a agua. El oxígeno en la cámara del ánodo inhibe la producción de electricidad, por ello

se debe diseñar un sistema en el cual las bacterias estén separadas del oxígeno. (Najafpour y Rahimnejad, 2011, pp. 685-690).

El rendimiento de CCM está principalmente influenciado por varios factores tales como los siguientes:

- Suministro y consumo de oxígeno en la cámara catódica,
- La degradación o consumo de sustratos en la cámara del ánodo,
- Desprendimiento de electrones desde el compartimiento del ánodo a la superficie del ánodo.
- La permeabilidad de la membrana de intercambio de protones.
- La cantidad de oxidación y la transferencia de electrones a los electrodos por microorganismos.
- Naturaleza de la fuente de carbono utilizada, la naturaleza de la membrana de intercambio de protones,
- Transferencia de protones a través de la membrana a la cámara de cátodo,
- Naturaleza y el tipo de electrodos
- Temperatura de operación, el pH y el tiempo sedentario. (Miskan y Antonopoulou, 2012, pp. 354-359).

La tecnología de la CCM se ha mejorado de manera significativa en las últimas décadas. Sin embargo, se ha encontrado con varios desafíos en la ampliación y la aplicación práctica, como la turbulencia en cada compartimiento, resistencia de la membrana en el proceso de transporte de protones. Dos principales problemas se han presentado en la generación de energía debido a que las concentraciones de sustrato tienen relación directa en la producción de bioelectricidad. (Chen y Choi, 2008, pp. 760-789).

2.1.2. Celdas de Combustible Microbiana (CCM)

Las CCM son una de las alternativas más viables para la transformación de energía química a energía eléctrica, mediante uso de microorganismos que actúan como biocatalizadores sobre materia orgánica biodegradable (Angenent *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2005; Aelterman *et al.*, 2006; Logan y Regan, 2006). Durante largos periodos de investigación han demostrado que los cultivos mixtos generan densidades mayores en comparación al cultivo puro. Las CCM son tecnologías que aportan eficiencia, eficacia y diversas ventajas como convertir directamente la energía del sustrato en electricidad, operar a bajas temperaturas de hasta 5 °C, produciendo 10 veces menos lodos (You *et al.*, 2006, pp. 176-190), en cuanto a tratamientos convencionales aeróbicos de aguas residuales demanda de una alta inversión económica, operacionales y de energía. Importantes

aplicaciones que se han descrito son el robot Eco Bot II permite la realización de funciones de movimiento, sensado, computación y comunicación, este dispositivo tiene incorporado una CCM para obtener un sistema eléctricamente autónomo.

Existen diversas revisiones científicas disponibles sobre CCMs, cada una de estas con diferentes puntos de vista. Para citar algunas: (Logan et al, 2006, pp. 523-536) Presentan el diseño, la caracterización y el desempeño de las CCMs; (Rabaey y Verstraete, 2005, pp. 638-940) revisan la limitada información sobre el metabolismo energético y la naturaleza de las bacterias que usan el ánodo como aceptor de electrones; (Chang et al, 2006, pp. 78-93) enfocan su discusión en el estudio de las bacterias electroquímicamente activas usadas en CCMs sin mediador que afectan el transporte de electrones. En Latinoamérica son escasas las publicaciones relacionadas con este tipo de dispositivos, en esta revisión se puntualizan en forma general los aspectos más relevantes de las CCMs con el propósito de entender las diferentes variables que afectan su operación.

En países desarrollados se promueve la investigación de nuevas tecnologías amigables con el ambiente, procurando mantener un ecosistema ecológicamente equilibrado, además con grandes aportes potencialmente útiles para procesos de remoción de la materia orgánica, biorremediación y generación alternativa de energía. En nuestro entorno existe gran variedad de microorganismos que pueden contribuir en el desarrollo de las CCMs, ya que se emplean diferentes tipos de sustratos como combustible y microorganismos que se encuentran en forma natural y abundante, tales como lodos anaeróbicos provenientes de aguas residuales, material de desecho de rellenos sanitarios, sedimentos de ríos o sedimentos marinos y muchas otras fuentes. Además, se pueden desarrollar CCMs a mayor escala profundizando sobre la arquitectura misma. (Albarrán et al., 2012, pp. 562-592).

2.1.3. CCMs como biosensor y otras aplicaciones

Biosensores

El primer biosensor fue fabricado en 1956 por el profesor Leland C. Clark. El profesor Clark en el año 1962, detalló cómo realizar un biosensor más inteligente mediante el atrapamiento de transductores enzimáticos en su superficie. En 1975, se construyó el primer biosensor comercial para la medición de glucosa por medio de la detección amperométrica del peróxido de hidrógeno. Al utilizar transductores tanto electroquímicos, ópticos, piezoeléctricos o térmicos combinados con la introducción de enzimas, anticuerpos, ácidos nucleicos, receptores celulares o células enteras, ha permitido el desarrollo de varias configuraciones y alternativas para la resolución de diversos problemas en el campo de: salud, industria alimentaria, control ambiental, control de procesos industriales, seguridad y defensa.

Los sistemas que se encuentran en ambientes naturales necesitan energía para operar, las CCM son dispositivos que se podrían utilizar para suministrar dicha energía, principalmente lugares de difícil acceso como son en ríos y aguas profundas marinas donde se debe cambiar las baterías a los sistemas, un ejemplo de ello son las CCM en sedimentos que se han utilizado para el monitoreo de sistemas ambientales (arroyos, ríos y océanos). (Logan y Reagan, 2006, pp. 5172-5180).

Los biosensores dentro del campo ambiental han sido utilizados para el control de contaminantes, dentro de sistemas de seguridad ambiental, como métodos de seguimiento capaces de predecir el posible peligro de efectos tóxicos en el ambiente midiendo en periodos cortos de tiempo grandes cantidades de contaminantes y como métodos de cribado para detectar la posible presencia de compuestos contaminantes. Dentro del monitoreo de compuestos tóxicos, debido a la presencia de los mismos las bacterias presentan una baja actividad metabólica, provocando así una disminución en la transferencia de electrones hacia el electrodo. En nuestro experimento se utilizó las CCMs como biosensor para detectar la presencia de metales pesados en el agua residual textil, los metales pesados analizados fueron Cr y Zn. El biosensor se construye inmovilizando una bacteria en la base del electrodo de una celda de combustible y esta es protegida detrás de una membrana, al difundir a través de la misma un compuesto tóxico su efecto se puede medir por medio del cambio en el voltaje del sensor. Estos biosensores pueden usarse como indicadores de la presencia de sustancias tóxicas tanto en ríos como en la entrada de plantas de tratamiento de aguas.

Una de las aplicaciones de un biosensor es la detección de la DBO, parámetro de gran importancia en el campo del tratamiento de aguas residuales. Con la tecnología convencional, esta prueba requiere alrededor de cinco días, mientras que con el uso de biosensores los resultados se obtienen en 20 minutos. Así mismo se pueden usar biosensores ambientales conectados a sistemas de alarma, que alerten, de manera inmediata, el exceso de contaminantes emitidos por una determinada fábrica, permitiendo la toma rápida de decisiones correctivas. También permiten detectar, en suelos y aguas, la presencia de contaminantes orgánicos, compuestos orgánicos persistentes (plaguicidas, bifenilos policlorados, hidrocarburos policíclicos aromáticos, entre otros), metales pesados, compuestos genotóxicos (Castro; Luna & Villalobos, 2007, pp. 35-45).

Producción de hidrógeno

Las CCM deben ser modificadas para poder producir H_2 , la modificación se realiza mediante un proceso de electrólisis removiendo el oxígeno de la cámara catódica y se agrega un pequeño voltaje. Dentro de condiciones estándar de operación, debido a la reacción anódica se liberan protones que se trasladan al cátodo y se combinan con el O_2 y forman agua. En una CCM la producción de hidrógeno a partir de protones y electrones generado por el metabolismo de m.o es

termodinámicamente negativo, para la superación de esta barrera se aplica un potencial externo para aumentar el potencial del cátodo. Con ello protones y electrones generados por la reacción en el ánodo se combinan en el cátodo y forman hidrógeno, es un proceso en ausencia de O₂. (Falcón, Lozano, Juárez, 2009, pp. 40-52).

Para una electrólisis directa de H₂O a pH neutro se necesita un voltaje externo de 1210mV en cambio el voltaje externo requerido teórico para una CCM es 110mV, debido al proceso de oxidación de biomasa que se da en la cámara anódica se produce un poco de energía. Una diferencia de la cantidad que se genera de H₂ en relación a distintos procesos como lo es en una CCM se produce alrededor de 8-9 mol H₂/mol glucosa en cambio en una fermentación convencional se genera 4 mol H₂/mol glucosa. (Liu et al., 2005, pp. 5488-5493), encontrando ventajas en el proceso con CCM como la mayor eficiencia por la ausencia de O₂ en la cámara catódica y este hidrogeno puede ser almacenado para ser usado posteriormente.

Biorremediación

Como se sabe una CCM produce electricidad pero se puede modificar para procesos de biorremediación tanto de suelos como aguas subterráneas, la modificación que se realiza provoca que ya no produzca electricidad y los m.o además de donar electrones al electrodo también los aceptan del electrodo, la modificación consiste en aplicar una corriente externa al sistema para conseguir la reacción deseada removiendo o degradando U(VI) soluble a U(IV) insoluble, principalmente se aplican en lugares contaminados por metales pesados. En nuestro estudio las CCMs que se armaron presentaron una biorremediación para los distintos contaminantes que estaban presentes en el agua residual industrial textil de la empresa Fashion Color. Para la prevención de contaminaciones con U (VI) se adiciona acetato que es un donador orgánico de electrones el mismo que estimula el crecimiento de Geobacter, estas especies obtienen la mayor parte de su energía por reacciones de oxidación del acetato y la reacciones de reducción de los óxidos de Fe(III), que se encuentran en abundancia en el subsuelo. En aguas subterráneas el U (VI) se adiciona al acetato, las especies de Geobacter transfieren electrones de U (VI) soluble para reducirlo a una forma insoluble alta como el U(IV), ocasionando la inmovilización del uranio que queda atrapado en el suelo, este proceso contribuyen con la solución a la contaminación ambiental. (Gregory y Lovley, 2005, pp. 2204-22)

2.1.4. Generación de Bioelectricidad a partir de aguas residuales en CCM

Utilizando la materia orgánica de las aguas residuales como combustible simultáneamente con la producción de energía, se logra la depuración de aguas contaminadas, es necesario también el estudio de los biocátodos que son capaces de usar todo tipo de contaminantes como aceptores de electrones no solamente limitándose a utilizar el oxígeno, permitiendo también la remoción de

nutrientes y la biorremediación conjuntamente con la generación de electricidad. Cuanto mayor sea la diferencia de potencial entre el donador y el aceptor, mayor será la ganancia energética para la bacteria y, generalmente, mayor será su tasa de reproducción y, por lo tanto, de eliminación de la materia orgánica.(Bullen y Arnot, 2006, pp. 163-178)

Es necesario, entonces, llevar a cabo la degradación de la materia orgánica presente en las aguas residuales y de la mano dar paso a la generación de electricidad. El propósito de poner en marcha nuevos sistemas no es competir con tecnologías existentes para generar electricidad a gran escala, sino tratar el agua residual y obtener durante este proceso un producto de valor agregado. Es decir, ver el tratamiento del agua no sólo como algo necesario para la sustentabilidad, sino también como un proceso que valoriza la materia orgánica presente. Bajo las condiciones adecuadas del desarrollo tecnológico, este nuevo sistema no debería solamente ser utilizado a gran escala para tratar aguas residuales de una ciudad o industria, sino también sería posible instalarlo en pequeñas comunidades habitacionales o incluso en comunidades dispersas o aisladas del país. Nuestra investigación utilizó agua residual textil de una fábrica de lavado de jeans del Cantón Pelileo, la misma contenía una gran cantidad de sólidos suspendidos y una DBO de 4050, con elevadas concentraciones de metales pesados, las CCMs además de la generación de voltaje, también ayudo a la biorremediación del agua residual y convirtiendo a los metales pesados en un estado no tóxico.

La mayoría de estudios de sensores de CCM se centran en la medición de DBO y se ha establecido una buena correlación entre la potencia de salida de CCM y la concentración de DBO (de 0-300 mg/L) de las aguas residuales. Este tipo de sensores tienen una configuración de dos cámaras, las cámaras de ánodo y cátodo están separados por una membrana de intercambio de protones (PEM). En diversos estudios las CCM han sido aplicadas en tratamiento de aguas residuales de diversos orígenes (Cheng y Cord, Ruwisch, 2009, pp. 458-460), obteniendo densidades de potencia entre 240 y 500 mW/m² y voltajes del orden de 200 a 400 mV.

2.1.5.Efecto de metales pesados en Celdas de combustible Microbiana.

Una CCM se desarrolló con éxito como un sistema de vigilancia biológica de toxicidad, dando una rápida respuesta de eventos tóxicos a Cu (II) la presencia de esta sustancia tóxica puede inhibir potencialmente la actividad metabólica de bacterias electroquímicamente activas (BEA) y reducir la transferencia de electrones, así como la salida de corriente, debido a ello se puede utilizar los datos del voltaje como una señal para controlar la aparición y la intensidad de un evento tóxico, por consiguiente, la CCM se puede utilizar como una línea de biosensor para la detección de compuestos tóxicos en agua(Kim et al., 2007, pp. 890-898).

Los metales pesados constituyen a menudo la principal causa de la perturbación de los procesos de tratamiento de aguas residuales (Altas, 2009, pp. 1852-1873). (Kim et al, 2007, pp.690-696)

utilizado con éxito una CCM para detectar Pb (II) y Hg (II) a una concentración de 1 ppm; sin embargo, Patil et al. (2010) mostraron que en la presencia de Pb (II) y Hg (II) en rangos de concentraciones de 0,41- 12,48 y 0,83 a 8,33 ppm, respectivamente, las células planctónicas eran inhibidas, mientras que el biofilm electroquímicamente activo no se vio afectado. La contradicción entre estos dos estudios sugieren que el comportamiento del biofilm electroquímicamente activo y por lo tanto la SENSIBILIDAD de una CCM como un sensor de toxicidad puede ser influenciada por severos factores, entre los que la estructura del biofilm (es decir, su densidad, porosidad y composición) podría ser un parámetro clave. Las velocidades de cizallamiento hidrodinámicas son conocidas por afectar a las condiciones de transferencia de masa, la estructura de la biopelícula y la producción de sustancias poliméricas extracelulares (EPS). Todos los cuales son factores que pueden afectar la difusividad de sustancias tóxicas y su interacción con el biofilm. Las velocidades de cizallamiento juegan un papel importante en la reacción del biofilm y ya se ha demostrado que tienen un impacto en la densidad de biofilm formado dentro de la CCM (Pham et al., 2008, pp. 1796-1800).

La calidad de las aguas residuales municipales e industriales varía con el tiempo y afectan directamente el rendimiento de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs). Las concentraciones de elementos tóxicos (por ejemplo, cromo, Cianuro y níquel) podrían aumentar bruscamente y causar la interrupción severa o daño irreversible de la PTAR y las concentraciones altas de ciertos contaminantes orgánicos/inorgánicos (por ejemplo, nitrato, carbono orgánico sustratos, y detergentes) podrían causar fluctuación en las operaciones de rutina de las PTAR. Actualmente, la mayoría de las pruebas químicas para la calidad de las aguas residuales de vigilancia se llevan a cabo fuera de las instalaciones y causa el retardo de tiempo para la PTAR para recuperarse después de los choques tóxicos. El desarrollo de una línea de sensores de choque se convierte en fundamental para controlar la calidad de aguas residuales y proporcionar sistemas de alerta temprana para la precaución y solución oportuna. Biosensores anaeróbicos granulares fueron desarrollados como un sistema de alerta temprana para el cobre (Cu^{2+}) (Jiang et al., 2004, pp. 584-588). Pero el tiempo de respuesta de 6-20 h hace que este biosensor sea poco realista para detección en línea de respuesta rápido.

En concreto, la presencia repentina de contaminantes tóxicos o un aumento de las concentraciones de sustratos orgánicos/inorgánicos podría generar un cambio distinto en la salida de tensión de la CCM. Las CCMs tienen cuatro características únicas como los sensores de choque. En primer lugar, MFC no necesitan enzimas externas/m.o puros cargados, ya que las bacterias en las aguas residuales crecen gradualmente en la superficie del ánodo y producen las señales electrónicas. En segundo lugar, las bacteria anaeróbicas electrogénicas tienen una respuesta rápida a las crisis, y la señal rápida del cambio puede ser utilizado como una influencia temprana de los choques

tóxicos de las aguas residuales. En tercer lugar, la CCM generan electricidad a partir de las aguas residuales, por lo que no se necesita fuente de energía externa. Esta operación auto sostenible hace que el seguimiento a largo plazo de aguas residuales sea una línea posible. En cuarto lugar, las bacterias electrogénicas pueden tener diferentes tipos de respuestas a diferentes choques. Por ejemplo, cambio agudo de voltaje para los compuestos tóxicos agudos, mientras que la tensión lenta cambia para los contaminantes crónicos.

En el estudio del Efecto de la velocidad de cizallamiento en la respuesta tóxica del sensor de la MFC a Cu (II); se instaló una CCM de una sola cámara modo batch para examinarla como un sensor sensible "choque" con una razonable selectividad para monitoreo de calidad de aguas residuales. Mediante la eliminación la PEM, ánodo y el cátodo en CCMs están expuestos a la misma solución de aguas residuales, de modo que las bacterias electrogénicas que crecen en la superficie del ánodo podrían responder con rapidez a los cambios de calidad de las aguas residuales. Se examinaron cuatro tipos de choques mediante la inyección de las soluciones de choque a CCM, específicamente Cromo (Cr^{6+}) como la toxina aguda, hierro (Fe^{3+}) como metal no tóxico, nitrato como sustancias oxidantes y etilo como sustrato orgánico en las aguas residuales.

Se planificaron cuatro tareas en este estudio. En primer lugar, Cr^{6+} (1 y 8 mg/L) y Fe^{3+} (1, 8, y 48 mg/L) se examinaron como el choque de metal influente de aguas residuales, y los cambios de voltaje de CCM se correlacionaron con los tipos de choque. En segundo lugar, el nitrato (1, 8, y 48 mg/L) y etilo (200 mg /L) fueron examinados como la fluctuación de calidad de aguas residuales y se correlacionaron los cambios de voltaje con los choques de sustancia no tóxica (nitrógeno y de carbono orgánico). En tercer lugar, los ensayos de control se llevaron a cabo mediante la inyección de aire y agua individualmente a las CCMs para comprobar si la tensión de las celdas se podría mantener estable a los cambios en las aguas residuales. (SHEN, Yujia et al.2013, pp. 899-990)

2.1.6.CCM con biofilms anódicos y catódicos

Las SCMFC sin membrana son un sistema simplificado, donde tanto cátodo y el ánodo están directamente expuestos a una consorcio microbiano. Las bacterias colonizan los electrodos y forman biofilms que son buenos conductores iónicos, ya que contienen más del 90% de agua. Además, la biopelícula catódica puede contribuir a preservar las condiciones anaeróbicas en el medio en la ausencia del consumo de oxígeno entrante desde el cátodo poroso de una membrana. Dentro de nuestro estudio se analizaron tanto el biofilm formado con un consorcio bacteriano presente en muestras de aguas residuales industriales textiles de la fábrica Fashion Color y también un biofilm a base de un cultivo de microalgas *Chlorella vulgaris*, la formación del biofilm fue observada a los cinco días en un microscopio de barrido electrónico. El biofilm aeróbico

demonstró que era capaz de catalizar la reducción de oxígeno a agua, este fenómeno fue estudiado en MFC de aguas marinas a escala de laboratorio y aplicados en biosensores de biopelícula para aguas de refrigeración industriales. Pruebas de MFC con agua-sedimentos salados se probó para la capacidad de biocátodos de carbono para catalizar la reacción de reducción del oxígeno (Schampelaire, L,2010, pp. 1675 –1687). CCMs con biofilms catódicos tienen la capacidad de transformar cátodos inorgánicos en cátodos de mayor actividad microbiana catalizada, los "biocátodos" en SCMFCs alimentadas con aguas residuales para evitar el uso de catalizadores de Pt costosos. Con el uso de Pt como catalizador se genera la oxidación de subproductos a partir de la degradación de sustancias orgánicas, reduciendo la eficiencia de Pt, además el Pt tiene alta capacidad de catalizar a bajo pH y en condiciones neutras o alcalinas (típico de las aguas residuales) disminuye su actividad electrocatalítica.

En el estudio biofilms anódicos y catódicos en celdas de combustible microbiano de cámara simple, se probó CCM con Pt- cargado y Pt-libre a base de cátodos de grafito, fueron comparadas antes y después del crecimiento celular anaeróbico del biofilm. Durante los seis meses de la experimentación, se ha demostrado que pueden trabajar mejor con biocátodos que con cátodos inorgánicos de base de platino en aguas residuales adicionando acetato de sodio.

2.1.7.CCM con microalgas

Las microalgas son convertidores muy eficientes de la energía solar, se han utilizado en el cultivo de masas, tanto para la biomasa, así como la producción de productos de alto valor. Sin embargo, el costo del crecimiento y la biomasa de algas están limitadas a la tecnología a gran escala. Ha sido más evidente que las algas de Estanques (HRAP) y biopelículas de microalgas (Craggs et al. 2011, pp. 352-263) están permitiendo la recuperación de nutrientes como nitratos y fosfatos de las aguas residuales municipales, así como la eliminación de desechos tóxicos (R. Muñoz et al.2006, pp.2799–2815). En este proceso, las microalgas utilizan los productos finales del metabolismo bacteriano (por ejemplo CO₂ y amoníaco) y, a su vez, proporcionan bacterias aerobias con el oxígeno necesario para la degradación de compuestos orgánicos.

La alta productividad de biomasa de microalgas de aguas residuales de cosecha sugiere que este método de cultivo ofrece un verdadero potencial como un medio viable para la energía sostenible siendo beneficioso para la cadena alimentaria en el ecosistema local. La idoneidad de esta biomasa es adecuada para las tecnologías de conversión de energía, incluyendo la digestión anaeróbica o CCMs. La celda de combustible microbiana es una atractiva tecnología de energía renovable, en el que los organismos fotosintéticos se pueden incorporar para la generación eléctrica directa (González. A, 2013, pp. 638-645). El rendimiento de las CCM sin embargo, es aún limitada y una

manera de mejorar la longevidad de la tecnología sería facilitar la reacción de reducción de oxígeno (ORR) para la cámara catódica, sin el empleo de catalizadores caros. Incorporación de la fotosíntesis en el sistema de CCM se puede hacer a través de diferentes configuraciones. Su funcionamiento tiene una importante ventaja adicional del uso de ambas cámaras para el tratamiento simultáneo en la eliminación de contaminantes (Mohan y Srikanth. 2011, pp. 10210–10220). Por ejemplo, la incorporación de los organismos fotosintéticos puede proporcionar aceptores de electrones activos para el cátodo, así como de oxígeno disuelto para la RRO.

El uso de fotótrofos como biocatalizadores en la cámara del cátodo tiene como objetivo cumplir con los requisitos de nivel de oxígeno para el TRG (Berk y Canfield.1964, pp. 10–12) y producir biomasa que se puede utilizar posteriormente directamente como combustible para el ánodo de la CCM. Biocátodos han sido reconocidos como la opción más prometedora para la incorporación de la fotosíntesis en los sistemas de CCM y que permite la producción de energía con el valor añadido de la fijación de carbono (Mekawy et al.2014, pp. 617–627). Desde el punto de vista práctico, la mayoría de los estudios de MFC microalgas contienen, medios específicos controlados y condiciones de crecimiento, y, a menudo, además de CO₂ para apoyar el crecimiento de algas. Aquí, se propone que un cultivo de microalgas se pueda mantener en la cámara del cátodo simplemente por la operación de la CCM, además la adición de agua y la exposición a la luz. Durante la operación de la CCM, cationes distintos de protones se transportan desde el ánodo al cátodo a través de un PEM (Rozendal. 2006, pp. 5206–5211), que es un mecanismo que puede soportar los requerimientos de micronutrientes de algas para mantener y reforzar el crecimiento de algas. (Gajda et al. 2013, pp. 11559–11564).

Las ventajas de cátodos de algas incluyen la eliminación de la necesidad de un suministro de aire mecánico en el cátodo, por tanto, la reducción de los costes de funcionamiento y reducir las emisiones globales de CO₂ procedentes de la respiración bacteriana anódica. CCM de doble cámara se evaluaron en el modo por lotes alimentados con lodos de depuradora y acetato de sodio como la fuente de energía de carbono, con bacterias anaerobias mixtas como el biocatalizador ánodo. El compartimiento catódico contenía consorcios fotosintéticos mixtos. La cámara catódica se conectó a fotoreactores, que actuaron como reservorios de oxígeno / estanques fotosintéticos. La biomasa de algas producida en los fotoreactores de la cámara catódica ha sido cosechada y se utilizó directamente como combustible en el ánodo. (Powell y Mapiour et al.200, pp. 269–274)

Una celda de combustible microbiana totalmente biológica anaeróbica con un ánodo y un cátodo fotosintético colonizado por el cultivo mixto de organismos fotosintéticos; se pretende investigar la relación entre el desarrollo de la biopelícula catódica y la generación de energía en la CCM y además utilizar la biomasa cosechada directamente como materia prima para los ánodos de la CCM. La biopelícula anaerobia en la cámara anódica está generando corriente, mientras que el

biofilm de fotótrofos en el cátodo proporciona el oxígeno para la reacción de reducción de oxígeno (RRO) y la biomasa de formación. La CCM produjo electricidad y biomasa simultáneamente en la cámara catódica, que depende del valor de los nutrientes de la materia prima anódica. El crecimiento de la biomasa de algas en el cátodo se controló, evaluó y se comparó con la producción de energía de la CCM, durante este proceso. (Ieropoulos.I y Greenman. J, 2005, pp. 238–245). Se ha estudiado una CCM con un cátodo de algas, es decir, un sistema donde el oxígeno requerido por el cátodo no se proporciona por aireación sino por el proceso de fotosíntesis de las algas (*Chlorella vulgaris*). El cátodo se iluminó durante 12 horas cada día (de 8:00 h a 20:00 h). 25 días fue necesario para lograr condiciones de estado estacionario. Como era de esperar, los valores de oxígeno disuelto no fueron constantes durante todo el día, alcanzando valores máximos entre 14:00 h y 20:00 h cuando se iniciaron las reacciones en fase oscuras y las algas comenzaron a consumir oxígeno. También se estudió el suministro de CO₂ en el cátodo, y media hora fue tiempo suficiente para que el sistema funcione correctamente. Durante la fase de aclimatación, la densidad de potencia aumenta hasta 13,5 mW/m² en condiciones de estado estacionario. Se puede concluir que el sistema estudiado es un método viable para el tratamiento de las aguas residuales de una manera auto-sostenible.

2.1.8. Estudios sobre CCMs realizados a nivel nacional

Diferentes investigaciones se han realizado en la ciudad de Riobamba dentro del Grupo de Energías Alternativas y Ambiente (GEAA) están la investigación de Logroño. W(2014), que analizó la producción de bioelectricidad microbiana utilizando residuos orgánicos como sustrato, comparando la mayor producción de electricidad con suelos del andes y de la amazonia del ecuador, en este estudio se obtuvo resultados que con suelo del ANDES el mejor tratamiento es el de tamaño Intermedio, con una producción de bioelectricidad de 316,56 mV, en cambio con suelos de la AMAZONÍA el mejor tratamiento fue el pequeño, con una producción de 270,09 mV. Según el estudio de Armas P. y Ramírez G.(2014), en la generación de electricidad microbiana con diferentes matrices orgánicas las mismas que estaban compuestas por frutas y verduras con distintos pesos en gramos, la matriz uno (M1) tiene igual peso tanto en frutas como verduras, la matriz dos(M2) tiene mayor cantidad de frutas que de verduras y la matriz tres (M3) tiene mayor cantidad de verduras que frutas, obteniendo resultados de voltaje mayores en las CCM1 y la CCM3 debido al mayor contenido de frutas asociando a la mayor cantidad de carbohidratos y glucosa. Según Allauca. G. y Guambo. A. (2015), en su estudio sobre la influencia de la DBO de aguas residuales en la producción de bioelectricidad de una CCM, como resultados se obtuvo que al utilizar agua residual con demanda bioquímica de oxígeno de 200mg/L se aumenta el rendimiento de una celda de combustible microbiano en un 80% de su capacidad promedio.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. CCM

Una CCM es un dispositivo que utiliza microorganismos para convertir la energía química presente en un sustrato en energía eléctrica, es necesario que bajo condiciones óptimas los microorganismos transfieran electrones producidos en su ruta metabólica aun electrodo (ánodo) en lugar de a un aceptor natural de electrones como oxígeno. Se lleva a cabo este proceso mediante la degradación de materia orgánica denominado también como sustrato se ha estudiado ampliamente en CCMs de cátodo abiótico mediante generación de bioelectricidad a pequeña escala (Du et al., 2007, pp. 460-472).

Una CCM típicamente está compuesta por dos cámaras, una anaeróbica y otra aeróbica en medio de las cuales hay un separador. La cámara anaeróbica contiene sustratos orgánicos que al oxidarse por acción de los microorganismos generan electrones, protones y CO₂. En cada una de las cámaras se coloca un electrodo, el ánodo en la cámara anaeróbica y el cátodo en la cámara aeróbica, una vez los electrones se liberan en la cámara anódica, éstos son captados por el ánodo y posteriormente transferidos hacia el cátodo mediante un circuito externo. Simultáneamente, en la cámara anódica se generan protones que migran hacia la cámara catódica a través del separador, donde se combinan con el oxígeno del aire para reducirse a agua con los electrones que captan directamente del cátodo, debido a que esta reacción no está catalizada por microorganismos el cátodo se refiere como abiótico (Li et al., 2011, pp. 980-983).

La celda se fabrica en acrílico o en vidrio, para los electrodos se pueden utilizar diferentes materiales como cobre, platino, grafito u otros. El separador, que es un importante componente del sistema porque es una membrana que impide el paso de electrones de la cámara anódica a la catódica y deja pasar los protones, puede ser de varios tipos: membrana de intercambio de cationes (MIC), membrana de intercambio de aniones, membrana bipolar, membrana de microfiltración, membrana de ultrafiltración, puente salino, fibra de vidrio, membranas porosas y otros materiales para filtrado. El separador más ampliamente utilizado es la MIC que también se conoce como membrana de intercambio de protones (MIP) y entre ellas es muy común la Nafion, un producto de DuPont Inc., USA, que muestra una alta permeabilidad a los protones (Borole et al., 2009; Alzate-Gaviria et al., 2010; Wang et al., 2010).

Una variante de la CCM de doble cámara se obtiene eliminando la cámara catódica y exponiendo el cátodo directamente al aire, transformándose así en una CCM de una sola cámara; este hecho hace que sea un sistema mucho más sencillo y de menor costo. No obstante, es conocido que las CCMs de una sola cámara pueden tener un separador, como las diseñadas por (Park y Zeikus, 2003, pp. 54-60) y (Liu y Logan, 2004, pp. 1230-1240) que utilizan una MIP o también pueden

prescindir de éste, como las utilizadas por (Yang et al, 2009:pp. 890-897) para estudiar su desempeño eléctrico. En los últimos años se han desarrollado CCMs de biocátodo o de cátodo microbiano, en las que a diferencia de los cátodos abióticos los microorganismos son usados como biocatalizadores para aceptar electrones a partir del cátodo y así remplazar el uso de catalizadores químicos costosos. Los biocátodos son de dos tipos: (1) biocátodos aeróbicos que usan oxígeno como el oxidante y microorganismos que asisten la oxidación de compuestos metálicos de transición, tales como Mn(II) o Fe(II), para la entrega de electrones al oxígeno; (2) biocátodos anaeróbicos que usan diferentes compuestos como aceptores terminales de electrones, tales como: nitrato, sulfato, Mn(IV), Fe(III), selenato, arsenato, fumarato, perclorato, cloroetenos, 2-clorofenol, ClO_4^- , U(VI), Cr(VI), H^+ , CO_2 , entre otros. Estos biocátodos son de gran interés por su bajo costo, capacidad auto-regenerativa y sostenibilidad y además porque pueden contribuir a disminuir los altos potenciales catódicos

2.2.2.Ánodo

Electrodo en el que se produce una reacción de oxidación, mediante la cual un material, al perder electrones, incrementa su estado de oxidación, es el electrodo positivo de una celda electrolítica hacia el que se dirigen los iones negativos dentro de la celda, que por esto reciben el nombre de aniones. La factibilidad de los materiales del ánodo proporcionan eficiencia y rentabilidad en las celdas de combustible microbianas (CCM) emprenden el impulso necesario para utilizar los residuos sólidos apoyando así el crecimiento bacteriano y la proliferación. Las características del ánodo son esenciales para aumentar la adhesión bacteriana a la parte anódica, para una mayor producción de energía, para elevar la tasa de transferencia de electrones y por lo tanto el rendimiento y potencia. Los materiales con los que se debe configurar los ánodos deben ser conductivos, biocompatibles y químicamente estables en la solución del reactor. Los ánodos pueden ser metálicos, el material de electrodo más versátil es el carbón, disponible como placas de grafito compacto, barras o gránulos. Orientar el flujo de agua a través del material anódico nos permite incrementar la potencia. El flujo hacia el ánodo ha sido también usado en reactores utilizando mediadores exógenos (Sell et al., 1989, pp. 654-670).

El efecto del ánodo en la CCM en la cámara anódica los microorganismos juegan un papel importante así como también los electrones generados, los mismos que son utilizados para evitar el exceso de aceptores de electrones en el cátodo, una vez que pasan a través del circuito externo. Del mismo modo, con el fin de completar el circuito produce protones que atraviesan la membrana de intercambio de protones (MIP) desde el ánodo al cátodo. Lógicamente de este proceso que desprende la generación de energía eléctrica y degradación de residuos orgánicos. Es aquí donde se desarrolla las condiciones esenciales para degradar la biomasa. La cámara

anódica está llena de sustrato, mensajeros químicos (que es opcional), microorganismo y como aceptor de electrones el electrodo de ánodo.

2.2.3. Cátodo

El término fue inventado por Faraday, con el significado de camino descendente o de salida, pero referido exclusivamente al electrolito de una celda electroquímica. Su vinculación al polo negativo del correspondiente generador implica la suposición de que la corriente eléctrica que marcha por el circuito exterior desde el polo positivo al negativo, es decir, transportada por cargas positivas, convención que es la usual. Si el conductor externo fuera metálico, está demostrado que el sentido de la corriente realmente es el recorrido por los electrones hacia el positivo (Bettin. C, 2006, pp. 523-540).

De acuerdo con el efecto del cátodo en la CCM, los protones producidos en la cámara del ánodo migran hacia el cátodo a través de la membrana de intercambio de protones que completa el circuito eléctrico, mediante la digestión metabólica y consumo de sustrato los protones generados viajan hacia la cámara catódica y transmiten en oxígeno. Este oxígeno radical produce iones positivos en el ánodo. Se genera una corriente constante durante este proceso con el cable que conecta el ánodo y el cátodo (Zhou. M y Wang. H, 2013, pp. 953-960). La concentración y la especie del oxidante (aceptor de electrones), la disponibilidad de protones, el rendimiento del catalizador, y la estructura de electrodo y su capacidad catalítica afectan al rendimiento de la reacción del cátodo. Se necesita Catálisis en reacciones anódica y catódica (Logan y Min, 2004, pp. 98-100).

2.2.4. Membrana de intercambio de protones

En su mayoría las configuraciones de CCM requieren la separación de las cámaras anódicas y catódicas, por una membrana de intercambio de protones (MIP). Una de las más usadas usualmente es el Nafion, existen también otras opciones como Ultrex CMI-7000 adecuadas para la CCM (Rabaey y col., 2004, pp. 213-220). Es importante que al usar membranas de intercambio de protones se verifique que no sean permeables a químicos, tales como el ferrocianuro, oxígeno, otros iones o materia orgánica que este siendo usada como sustrato. La MIP antes de ser usada en la CCM requiere de un pre- tratamiento, esta debe ser sometida a procesos de activación de los canales sulfónicos, empleando acetona y peróxido de hidrogeno al 3% para eliminar residuos orgánicos, y una solución de H₂SO₄ 1M para activar el nafion a su forma acida antes de ser empleada (Logan 2008, pp. 830-840). Dentro de nuestra investigación se utilizó papel celofán como membrana de intercambio de protones y la misma presento gran resistencia a los 4 ciclos a los que fueron sometidas las celdas obteniendo una MIP final sin ninguna alteración a su

estructura física. En la presente investigación se utiliza como membrana de intercambio de protones el papel celofán demostrando gran resistencia.

2.2.5. Electrodo

El material de electrodo más versátil es el carbón, disponible como placas de grafito compacto, barras o gránulos, así como materiales fibrosos (fieltro, tela, papel, fibras, espuma) y carbón vítreo. Los materiales utilizados más simples son las placas y las barras de grafito ya que son relativamente baratos, fáciles de manejar y tienen un área de contacto definida. Diversos tipos de productos de carbón como son papel, fibra, entre otros han sido utilizados extensivamente como electrodos (Huggins y Jenkins, 2014, pp.85-96). Mayores áreas superficiales pueden ser alcanzadas usando materiales compactos como el carbón vítreo reticulado. Para incrementar el desempeño del ánodo, se han utilizado diferentes estrategias químicas y físicas. Los electrodos son partes críticas de una CCM que son esenciales en la mejora de la eficacia. Además, los materiales de electrodo ideal debería ser de las siguientes características: una buena conductividad eléctrica y baja resistencia; fuerte biocompatibilidad; la estabilidad química y anticorrosión; gran área superficial; y una resistencia mecánica adecuada y la dureza (Logan y Hamelers, 2008, pp.365-370).

2.2.6. Fibra de carbono

La fibra de carbono es una fibra sintética constituida por finos filamentos de 5–10 μm de diámetro y compuesto principalmente por carbono. Cada filamento de carbono es la unión de muchas miles de fibras de carbono. Se trata de una fibra sintética porque se fabrica a partir del poliacrilonitrilo. Estos ánodos de fibra de carbono son, estructuralmente, cepillos, y pueden ser producidos por los fabricantes de éstos, en cualquier tamaño o forma deseada. Son conductores eléctricos muy baratos de confeccionar y suministran una gran área superficial para adherir la biopelícula bacteriana. La fibra de carbono es capaz de resistir a diferentes situaciones extremas como son presiones y temperaturas tanto altas como bajas. Además se presenta alta resistencia a los distintos medios a los cuales esta sea aplicada. Los investigadores demostraron previamente que las celdas de combustible que empleaban un papel de fibra de carbono como ánodo y un papel de fibra de carbono con catalizador de platino como cátodo, podían producir electricidad y agua limpia a partir de las aguas residuales. Sin embargo, a escala comercial ese sistema no era práctico. Utilizando los ánodos en forma de cepillo, que tienen entre 300 y 1.500 veces más área superficial que el ánodo de papel de fibra de carbono empleado con anterioridad, las celdas de combustible producen más del doble de la energía obtenida hace dos años (Qiao.Y y Bao.J, 2007, pp. 78-86).



Figura 1.2 CCM con cátodo y el ánodo especiales

Fuente: Bruce Logan, y Penn State,

Otros ánodos de carbono presentaban problemas porque los poros o espacios se llenaban con la biopelícula y perdían eficiencia, pero como el cepillo contiene fibras muy finas con abundante espacio para la circulación del agua a su alrededor, las bacterias muertas no lo obstruyen. Y por tanto, el ánodo ya no sufre limitaciones de tamaño o de crecimiento bacteriano. Mientras que el ánodo tipo cepillo puede sumergirse en las aguas residuales, el cátodo debe tener un lado expuesto al oxígeno del aire para funcionar. Con nuevos ánodos y cátodos permite una amplia variedad de configuraciones de la celda de combustible, un beneficio adicional de la Celda de combustible microbiana es que, mientras genera electricidad, limpia las aguas residuales, algo que normalmente requiere del consumo de energía.

2.2.7. Sustratos

El sustrato es uno de los aspectos más importantes de la CCM porque constituye el combustible a partir del cual se genera la energía. En la literatura científica se encuentran diversos trabajos en los que se emplea una gran variedad de sustratos, desde compuestos puros hasta mezclas complejas (Liu et al., 2009; Cha et al., 2010, pp. 960-100). En los primeros años, sustratos simples como glucosa y acetato eran de uso general, pero en los últimos años las investigaciones se centran en la utilización de sustratos menos convencionales con el fin de utilizar la biomasa presente en aguas residuales de diverso tipo y adicionalmente depurarlas y generar energía (Shimoyama et al., 2008, pp. 1880-1890). Los compuestos puros se pueden degradar de manera más simple lo que permite obtener mayor generación de energía e hidrógeno, además a nivel experimental es recomendable su uso porque se facilita la evaluación de condiciones operacionales de la CCM tales como, la eficiencia coulombica, la densidad de potencia y la resistencia interna. Algunas investigaciones han empleado por ejemplo, acetato debido a su inactividad hacia los procesos microbianos (fermentación y metanogénesis), glucosa, sacarosa, almidón, lactato, ácido tereftálico, tintes sintéticos, indol, lactosa, maltosa, xilosa, formiato, propionato, ácido succínico, etanol, entre otros (Liu et al., 2010, pp. 560-580).

Sin embargo, el uso de sustratos complejos en una CCM es de gran interés porque, además de ser fuentes de energía, estos se pueden degradar y/o biorremediar antes de su descarga al medio ambiente. A diferencia de los compuestos puros los sustratos complejos requieren para su degradación una comunidad microbiana diversa y electroquímicamente activa (Pant et al., 2010, pp. 453-458), cuyas poblaciones se van seleccionando dependiendo del tipo de sustrato. Como ejemplos de este tipo de sustratos se pueden explorar: aguas residuales provenientes del procesamiento de frutas y vegetales, suero de queso, melazas de destilerías, aguas residuales de biorrefinerías, aguas residuales de industrias farmacéuticas con contaminantes recalcitrantes, residuos agrícolas, entre otros. Además, se ha demostrado que las CCMs pueden utilizar como sustratos no sólo material orgánico degradable, sino también material resistente a la biodegradación (Logan et al., 2006, pp. 45-50).

Un incremento en la concentración del sustrato acelera la velocidad de reacción, lo que normalmente conduce a una mayor generación de energía; sin embargo, algunos autores han encontrado efectos contrarios y altas densidades de potencia a bajas concentraciones. Hay dos posibles razones que explican este comportamiento, primero, un incremento de los productos de fermentación que ocasionan una disminución del pH en el sistema, lo cual inhibe la actividad enzimática; segundo, algunos compuestos del sustrato orgánico son utilizados para el crecimiento bacteriano y no para la generación de electricidad. (Sharma y Li, 2010, pp. 623-630)

2.2.8. Microorganismos

Se ha intentado identificar y aislar las bacterias que tienen la capacidad de transferir los electrones a un electrodo. Varios estudios indican que la actividad metabólica más similar a la transferencia de electrones en una CCM es la reducción de metales. En ausencia de oxígeno, las bacterias reductoras degradadoras de metal (DMRB por sus siglas en inglés) transfieren sus electrones a un metal como el hierro o el manganeso, que actúa como receptor terminal de electrones. En una CCM, el hierro o el manganeso es sustituido por el ánodo, al cual las bacterias entregan electrones generados debido a la oxidación de compuestos orgánicos. Sin embargo, no todas las DMRBs son capaces de transferir electrones hacia el ánodo de una CCM. Entre los tipos de reducción de metales posibles, la reducción de hierro es el proceso más cercano a lo que ocurre en una CCM, por lo tanto la investigación ha tratado de enriquecer los cultivos con actividad reductora degradadoras de hierro.

Los exoelectrógenos (bacterias generadoras de electrones) han sido estudiadas desde Potter (1911) teniendo como resultado una gama completa de variedades entre las de mayor factibilidad de crecimiento y resultados significativos en la generación de electricidad. Se puede mencionar a las siguientes: levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la bacteria *Escherichia coli*. Se demostró

que no es necesario adicionar mensajeros químicos externos para el transporte de electrones, debido a que las bacterias mediante su actividad metabólica tienen la capacidad de producir mensajeros químicos como la piocianina, la cual es conocida por sus propiedades antibióticas excretadas como compuestos inhibitorios de la cadena respiratoria. Entre las especies de microorganismos por primera vez reportados con actividad reductiva del electrodo se encuentran *Clostridium*, *Geobacter*, *Aeromonas*, *Rhodospirillum rubrum*, *Desulfobulbus* y *Shewanella*, todos son capaces de reducción degradadoras de metales (especialmente del hierro).

2.2.9. Microorganismos en la cámara anódica

Recientemente se ha demostrado en cultivos mixtos que los microorganismos fermentativos pueden tener poca o nula capacidad para transferir electrones al ánodo, sin embargo, su metabolismo contribuye a la generación de energía en la CCM (Richter et al., 2008, pp. 125-130) ya que aportan subproductos que pueden ser utilizados como sustratos por otras poblaciones microbianas, permitiendo el establecimiento de interacciones sintróficas. (Kiely et al, 2011, pp. 695-699) discuten diversas publicaciones que caracterizan la comunidad microbiana de los sistemas bioelectroquímicos, al destacar procesos sintróficos específicos que capacitan a una biopelícula para la generación de corriente eléctrica a partir de un sustrato; la sintrofia consiste en que ciertos microorganismos hidrolizan y fermentan compuestos orgánicos complejos y otros utilizan los subproductos para la generación de corriente, estableciéndose una estructura jerárquica con microorganismos dominantes dependiendo del sustrato empleado (Miller y Oremland, 2008, pp. 2263-2275).

Con base en lo anteriormente expuesto la formación de una biopelícula sobre el electrodo mejora la producción de energía, sin embargo, la microbiología de una biopelícula en la CCM y las implicaciones de la ecología microbiana sobre el funcionamiento del sistema han sido poco estudiados, por lo tanto, conocer los procesos de colonización, invasión y sucesión de las poblaciones microbianas que producen electricidad permitirá explorar nuevos métodos para la producción de energía sustentable y renovable (Hernandez et al. 2004, pp. 952-1000).

Como inóculo para las CCMs se pueden emplear cultivos de una especie microbiana o cultivos mixtos (consorcios). En el primer caso, existe la posibilidad de modificar genéticamente la especie microbiana e interpretar más fácilmente los estudios con respecto a genómica y proteómica. Para la especie *G. sulfurreducens* se ha investigado sobre el mecanismo de la transferencia de electrones al ánodo y su capacidad de oxidar completamente un compuesto orgánico para así contribuir más efectivamente a la producción de energía (Bretschger et al, 2007, pp.54-60). A nivel práctico es mejor emplear cultivos mixtos porque estos generan altos potenciales y su

manejo es más económico y menos exigente, por lo que se utilizan lodos anaeróbicos y otras fuentes de comunidades microbianas.

2.2.10. Transferencia de electrones desde el microorganismo al ánodo

En un bioánodo existen bacterias electroquímicamente activas que transfieren los electrones directamente al ánodo a través de proteínas de membrana como los citocromos tipo *c*, o de conductos proteicos denominados pili que sirven como nanoconductores; estudios genéticos han demostrado que la eficiente transferencia de electrones a través de una biopelícula de *Geobacter sulfurreducens* requiere de su presencia (Reguera et al., 2005, 2006; Holmes et al., 2006). Cuando se utiliza una mezcla de microorganismos es común la presencia de mediadores endógenos, estos pueden ser metabolitos secundarios, como en el caso de *Shewanella putrefaciens* y *Pseudomonas aeruginosa*, o metabolitos primarios observados en *Escherichia coli* y en *Sulfurospirillum deleyianum*; los mediadores redox producidos por una bacteria pueden ser usados por otras para transferir los electrones al ánodo (Rabaey y Verstraete, 2005, pp. 283-290).

2.2.11. Microorganismos en la cámara catódica

Entre los microorganismos electrótrofos que pueden aceptar electrones de la superficie *S. putrefaciens*, la mayoría de las bacterias en biocátodos son Gram-negativas, pero algunas Gram-positivas tales como *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus carnosus*, también hacen una transferencia directa de electrones, otras como *Acinetobacter calcoaceticus* excreta compuestos activos redox para transferir electrones al oxígeno catódico y *Dechloro spirillum anomalous* WD acepta electrones del cátodo para reducir perclorato (Huang et al., 2011, pp.95-100). Actualmente se está explorando la eficacia de microorganismos que actúan sobre el cátodo y aunque en algunos casos, estos microorganismos requieren fuentes de energía adicionales para mantener su actividad biocatalítica (Rosenbaum et al., 2011:pp. 163-168), aún son desconocidos los mecanismos por los cuáles las células conservan energía y crecen como electrótrofos. En este sentido (Lovley, 2011, pp. 10-16) discute sobre los aspectos conocidos hasta el momento cuando se emplean bacterias; sin embargo, también se han empleado microalgas y ya se conoce un primer informe sobre la inoculación del hongo *Coriolus versicolor* en la cámara catódica que demostró que la producción de la enzima lacasa por el hongo mejoró la eficiencia de reducción de oxígeno a agua y esta CCM produjo más alta densidad de potencia que la CCM control (Wu et al., 2012, pp. 56-62).

Los microorganismos en las CCMs juegan un papel importante en la transferencia de electrones, un proceso que ocurre en la misma celda, de la celda hacia el electrodo y del electrodo a la celda, por lo tanto, estudiar sus interacciones, identificarlos y establecer su función en este proceso, aporta al conocimiento básico y al futuro mejoramiento del desempeño de estos sistemas.

2.2.12. *Transferencia de electrones desde el cátodo al microorganismo*

Los mecanismos de transferencia de electrones en los biocátodos son similares a los del bioánodo, en este proceso los microorganismos pueden llevar a cabo reacciones de transferencia directa con participación importante de citocromos tipo *c* e hidrogenasas, y reacciones de transferencia indirecta con mediadores redox naturales tales como PQQ (pirroloquinolina quinona) (Rosenbaum et al., 2011, pp. 563-568). Los m.o capaces de aceptar electrones directamente a partir de electrodos se han denominado electrodo oxidante o electrótrofos, los electrones que reciben del cátodo son transferidos selectivamente a aceptores finales con altos potenciales redox (E^0) que captan del medio, tales como protones, CO₂, nitrato, fumarato, Cr(VI), U(VI), solventes clorinados, entre otros (Lovley, 2011, pp. 840-852).

Los catalizadores, en general, aumentan la velocidad de una reacción sin cambiar o recibir energía de la reacción que catalizan. Los microorganismos en una CCM no son verdaderos catalizadores, puesto que obtienen energía de la oxidación del sustrato para apoyar su propio crecimiento y crear una pérdida de energía (Minteer y col., 2007, pp. 97-99), la que posteriormente se aprovecha. Los microorganismos en una CCM pueden obtener toda la energía y el carbono que se necesitan para su crecimiento de la oxidación de la materia orgánica compleja. Siempre que las condiciones se mantengan favorables para la producción corriente en el ánodo con microorganismos asociados, las CCM tienen el potencial para producir electricidad de forma indefinida.

Una biopelícula se define como un conjunto de bacterias asociadas a una superficie. Es probable que no todos los organismos asociados a una biopelícula en el ánodo puedan interactuar directamente con él, pero pueden interactuar indirectamente a través de otros miembros en la comunidad de la biopelícula. Por ejemplo, *Brevibacillus sp.* PTH1 resultó ser un miembro abundante en sistemas de CCM. La producción de energía por *Brevibacillus sp.* PTH1 es baja a menos que se cultive con *Pseudomonas sp.* (Pham y col., 2008, pp. 250-259). Estos organismos interactúan con un ánodo a través de una variedad de procesos directos e indirectos produciendo corriente en diversos grados.

Una medida común de la eficiencia de cualquier CCM es la eficiencia coulombica, es una medida del número de coulombios recuperados como corriente eléctrica en comparación con el número máximo teórico de coulombios recuperables del sustrato orgánico añadido al sistema. La eficiencia coulombica depende, en parte, de los microorganismos que están llevando a cabo la oxidación y del sustrato, del cual los electrones se derivan (Patil y col., 2009, pp.320-325). Esto se debe a las diferentes vías metabólicas utilizadas por los diferentes microorganismos y los mecanismos por los cuales los microorganismos realizan la transferencia de electrones hacia el ánodo. Para ganar la mayor cantidad teórica de energía a partir de un sustrato orgánico, el sustrato

debe ser completamente oxidado a dióxido de carbono con una transferencia eficiente de los electrones hacia el electrodo. Sin la oxidación completa del sustrato, la energía se pierde en el sistema en forma de sustrato sin oxidar (Freguia y col, 2009, pp. 632-659).

2.2.13. Microorganismos electrogénicos

Son microorganismos que a través de su crecimiento debido a la oxidación de compuestos orgánicos a dióxido de carbono pueden generar electrones para la producción de electricidad, dentro de un sistema de CCM estos m.o tienen una transferencia directa de electrones a sus ánodos. Estos microorganismos son muy utilizados en los procesos de generación de energía eléctrica, las bacterias electrogénicas suelen encontrarse en ambientes anaerobios como sedimentos de lagos o ríos. Entre los m.o de esta clase más estudiados se encuentran *Geobacter* y *Rhodospirillum rubrum*; los cuales poseen mecanismos de transporte de electrones internos y no requieren la ayuda de mediadores para liberar los electrones al ánodo.

Las *Geobacter* habitan de forma natural en el subsuelo y esta especie durante millones de años ha utilizado los óxidos de hierro insolubles como aceptores de electrones para la oxidación de la materia orgánica. Tiene una forma bacilar, es una bacteria anaerobia gramnegativa, que presenta pilis y un flagelo para su respiración debido a que le permite moverse de una partícula sólida a otra una cuando el óxido respirable se agota. (Correa et al, 2015, p. 767). *Geobacter* es capaz de reducir materiales insolubles como los óxidos metálicos a través del contacto directo, y con ello obtiene una importante ventaja competitiva en lugares donde los aceptores finales de electrones solubles como el oxígeno o el nitrato son escasos (León et al, 2007, pp. 128-128). Dentro de una CCM para la producción de electricidad utilizando m.o electrogénicos se obtiene la ventaja de sustentabilidad a largo plazo debido a que se ha reportado que las CCM han sido operadas por más de 2 años sin una baja de producción de electricidad.

La reacción de una CCM que se lleva a cabo en el ánodo sin mediadores externos se ha estudiado principalmente en los *Geobacter*, en el mismo que el ánodo (fibra de carbono) actúa como aceptor final de electrones como un remplazo de lo que ocurre en el subsuelo con los óxidos minerales sólidos. Debido a su metabolismo los *Geobacter* son capaces de biorremediar varios metales pesados como U(VI), V(V) Cr(VI), como también la biodegradación de hidrocarburos monoaromáticos. Los *Geobacter* al reducir metales producen energía útil biológica en forma de ATP durante la reducción de óxidos de metales bajo condiciones anaerobias en suelos y sedimentos. Para los estudios de la transferencia de electrones se ha utilizado *Geobacter sulfurreducens*, debido a que su genoma se conoce completamente y se sabe que es un gran generador de potencia, esta bacteria transfiere electrones al electrodo a través de una serie de

citocromos tipo c, asociados a la membrana interna, periplasma y membrana externa (Methe et al., 2003, Lovley, 2008, pp. 1967-1969).

La bacteria *Rhodospirillum rubrum* también se utiliza en la producción de bioelectricidad, esta bacteria fue aislada en sedimentos del subsuelo como un reductor de Fe(III), entre los azúcares que oxida están la glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa y xilosa que estos son oxidados a CO₂ con un 80% de la recuperación de los e⁻ en forma de electricidad, estas bacterias tienen una gran producción de energía la misma que se debe a la cantidad de células que se adhieren a la superficie del electrodo durante periodos de tiempo largos y a su habilidad para mantenerse activa estas bacterias son candidatas importantes para su utilización en CCMs. (Risso et al., 2009, p.447).

2.2.14. Biofilm

Los biofilms se definen como comunidades de microorganismos que crecen impregnados en una matriz de exopolisacáridos y adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo. Dentro de un biofilm las bacterias tienen un crecimiento similar al que se da en la naturaleza. La capacidad de formación de biofilm no parece estar restringida a ningún grupo específico de microorganismos y hoy se considera que bajo condiciones ambientales adecuadas todos los microorganismos son capaces de formar biofilms.

La composición del biofilm es variable en función del sistema en estudio, pero el componente mayoritario es el agua, hasta un 97% del contenido total. Además de agua y de las células bacterianas también está formado por exopolisacáridos, en cantidades menores se están otras macromoléculas como proteínas, DNA y productos diversos procedentes de la lisis de las bacterias.

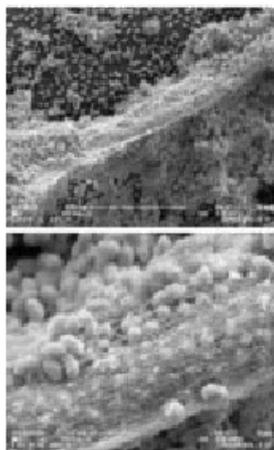


Figura 2.2. Fotografía de microscopía de barrido de un biofilm de *Salmonella enteritidis*

Fuente: Lasa et al, 2005

En los primeros trabajos sobre la estructura del biofilm, una de las cuestiones que surgía con mayor reiteración era cómo las bacterias del interior del biofilm podían tener acceso a los nutrientes o al oxígeno. Estudios realizados utilizando microscopía confocal han mostrado que la arquitectura de la matriz del biofilm no es sólida y presenta canales que permiten el flujo de agua, nutrientes y oxígeno incluso hasta las zonas más profundas del biofilm. La existencia de estos canales no evita sin embargo, que dentro del biofilm podamos encontrarnos con ambientes diferentes en los que la concentración de nutrientes, pH u oxígeno es diferente. Esta circunstancia aumenta la heterogeneidad sobre el estado fisiológico en el que se encuentra la bacteria dentro del biofilm y dificulta su estudio.

La etapa inicial del proceso de formación del biofilm es la adherencia sobre la superficie. Una vez que la bacteria se ha adherido a la superficie, comienza a dividirse y las células hijas se extienden alrededor del sitio de unión, formando una micro colonia similar a como ocurre durante el proceso de formación de colonias en placas de agar. En una etapa posterior la bacteria comienza a secretar un exopolisacárido que constituye la matriz del biofilm y forma unas estructuras similares a setas entre las cuales se observa la presencia de canales. Finalmente, algunas bacterias de la matriz del biofilm se liberan del mismo para poder colonizar nuevas superficies cerrando el proceso de desarrollo de formación del biofilm. (Lasa et al. 2005, pp. 163-175.)

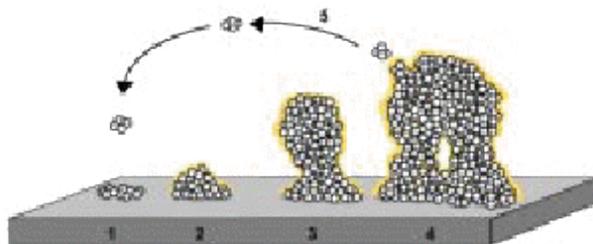


Figura 3.2 Esquema mostrando las etapas en el proceso de formación del biofilm

Fuente: Lasa et al. 2005

2.2.15. Biosensor

Dispositivo compuesto por dos elementos fundamentales: un receptor biológico preparado para detectar específicamente una sustancia aprovechando la exquisita especificidad de las interacciones biomoleculares y un transductor o sensor, capaz de interpretar la reacción de reconocimiento biológico que produce el receptor y "traducirla" en una señal cuantificable.

El biosensor se construye inmovilizando una bacteria en la base del electrodo de una celda de combustible y esta es protegida detrás de una membrana, al difundir a través de la misma un

compuesto tóxico su efecto se puede medir por medio del cambio en el voltaje del sensor. Estos biosensores pueden usarse como indicadores de la presencia de sustancias tóxicas tanto en ríos como en la entrada de plantas de tratamiento de aguas. (Falcón et al. 2009, pp. 40-45)

2.2.16. Agua residual

Líquidos que han sido utilizados en las actividades diarias de una ciudad (domésticas, comerciales, industriales y de servicios). Comúnmente las aguas residuales suelen clasificarse como:

- **Aguas Residuales Municipales:** residuos líquidos transportados por el alcantarillado de una ciudad o población y tratados en una planta de tratamiento municipal.
- **Aguas Residuales Industriales:** Aguas Residuales provenientes de las descargas de Industrias de Manufactura.
- **Aguas negras.-** aguas residuales provenientes de inodoros, es decir, aquellas que transportan excrementos humanos y orina, ricas en sólidos suspendidos, nitrógeno y coliformes fecales.
- **Aguas negras industriales:** mezcla de las aguas negras de una industria en combinación con las aguas residuales de sus descargas. Los contaminantes provenientes de la descarga están en función del proceso industrial, y tienen la mayoría de ellos efectos nocivos a la salud si no existe un control de la descarga. (Cuido el Agua, 2015, <http://www.cuidoelagua.org>)

2.2.17. Agua residual textil

Dentro de la industria textil el uso de agua es muy alto, esta se utiliza en distintos procesos como la limpieza de las materias primas durante todo el proceso de producción además la generación de contaminantes por el manejo de materiales peligrosos, emisiones al aire, residuos sólidos y líquidos, así como el consumo de energía y el agua utilizada genera grandes cantidades de aguas residuales altamente coloreadas y constituidas por compuestos difícilmente biodegradables. (Lenntech, 2012, <http://www.lenntech.es/industria-textil.htm>)

La composición de las aguas residuales de la industria textil es muy variable, típicamente caliente, alcalina y coloreada, conteniendo como principales contaminantes a los sólidos suspendidos, aceites minerales y compuestos orgánicos, considerados compuestos xenobióticos los mismos que no se degradan fácilmente con los procesos biodegradativos. También se encuentran presentes concentraciones significativas de metales pesados, cobre, cromo, níquel, zinc o plomo. El tratamiento de aguas residuales que se generan en la industria textil es un problema ambiental que

en la actualidad se le ha prestado mayor atención, debido a que muchos colorantes y aditivos textiles son tóxicos y no biodegradables y, al ser descargados a canales y ríos, permanecen en el ambiente. Para el tratamiento están procesos físicos, químicos y biológicos, que son aplicados para la remoción de colorantes de las aguas residuales. Estos métodos tienen limitaciones ya sea técnicas o económicas, pero si solo se usa un método no se obtienen resultados eficientes para la degradación del color y la mineralización de compuestos formados. Uno de los procesos que se considera la mejor alternativa para el problema de la coloración de las aguas es el proceso biológico, pero tienen ciertas limitaciones para su aplicación como son la necesidad de aclimatación, tiempos elevados de residencia y el carácter persistente de algunos colorantes. (Agua simple, 2012, <http://www.aguasimple.org>)

2.2.18. Metales pesados

El término metal pesado no tiene una base científica rigurosa o una definición química, los metales pesados tienen una gravedad específica mayor que cinco, desde el punto de vista químico, los metales pesados están constituidos por elementos de transición y post-transición incluyendo algunos metaloides como el arsénico y selenio. Por otro lado, estos elementos se presentan en diferente estado de oxidación en agua, aire y suelo y presentan diversos grados de reactividad, carga iónica y solubilidad en agua.

Los metales pesados también pueden ser nombrados “elementos tóxicos”, los cuales, de acuerdo a la lista de contaminantes prioritarios de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA), incluyen a los siguientes elementos: Arsénico, cromo, cobalto, níquel, cobre, zinc, plata, cadmio, mercurio, titanio, selenio y plomo.

Los metales pesados se encuentran en forma natural en la corteza terrestre. Estos se pueden convertir en contaminantes si su distribución en el ambiente se altera mediante actividades humanas. En general esto puede ocurrir durante la extracción minera, el refinamiento de productos mineros o por la liberación al ambiente de efluentes industriales y emisiones vehiculares. Además, la inadecuada disposición de residuos metálicos también ha ocasionado la contaminación del suelo, agua superficial y subterránea y de ambientes acuáticos. (INECC, 2015, <http://www.inecc.gob>)

2.2.19. Microalgas

Las microalgas son microorganismos unicelulares eucariotas que tienen la capacidad de realizar la fotosíntesis siendo capaces de convertir la energía luminosa en energía química, teniendo una eficiencia superior a la de las plantas. Su importancia radica en su papel como productores primarios de la cadena trófica al generan biomasa orgánica a partir de CO₂ y la luz, con el uso de

agua como donador de electrones, oxidando a O₂. Su tamaño es reducido y variado que va desde 5–50 µm debido a ello son fáciles de capturar y digerir por una multitud de organismos que se alimentan directamente del fitoplancton. La biomasa global está compuesta por el 5% de biomasa microalgal, entre las ventajas de las microalgas están un alta: tasa de crecimiento, eficiencia fotosintética y producción de biomasa, un 70% del oxígeno neto en la tierra puede ser producido por las microalgas. Al biofijar el CO₂ reduce costos en la obtención de biodiesel y también la compensación de las emisiones de carbono. (MALGAS, 2013, <http://www.ast-ingenieria.com/guia-malgas-1>)

Dentro de sus requerimientos nutricionales están especies nitrogenadas como nitrato, amonio o aminoácidos. Existen microalgas que necesitan un fotobiorreactor para crecer pero hay microalgas heterótrofas que no necesitan del mismo para crecer al igual que otros microorganismos un ejemplo es la *Chlorella vulgaris*.

2.2.20. *Chlorella vulgaris*

La microalga *Chlorella* surgió en la Tierra aproximadamente hace 1.5 o 2 mil millones de años, es una alga verde unicelular de agua dulce que se puede encontrar en lagos y pantanos, tiene una forma esférica, con diámetro cerca de 2-10 micras. “El nombre *Chlorella* proviene del griego *Chloros*, que significa verde, y del latín ella, que significa cosa pequeña, y fue descubierta y nombrada por el holandés M.W. Beijerinck en 1890.”

Chlorella vulgaris puede dividirse en cuatro células cada 20 horas (Kanno y Kazie, 2005, p.63). Según investigaciones se ha demostrado que la biomasa microalgal es utilizada como: alimento para animales, biofertilizantes, condicionador del suelo, alimento de los acuarios y en la solución de problemas ambientales por medio de la purificación de aguas residuales con ello asegurando la salud pública, además tiene usos industriales como son la producción de energía y hacer visualmente más atractivos a los alimentos procesados, según estudios se ha documentado que posee beneficios terapéuticos debido a su capacidad de desintoxicar al organismo de metales pesados como Hg, Cd, Pb y otros químicos (Konishi et al., 1996, p.270). Esta microalga contiene luteína en su mayor parte, pigmentos verdes fotosintetizadores clorofila-a y -b en su cloroplasto (Infante et al, 2012, pp. 159-163).

Tabla 1.2 Composición química total de diferentes algas y de algunos alimentos humanos.

Producto	Proteínas	Carbohidratos	Lípidos	Ácidos nucleicos
Leche	26	38	28	-
Huevo de gallina	47	4	41	-
Soya	37	30	20	-
Arroz	8	77	2	-
Pan	39	38	1	-
Carne	43	1	1	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	4-5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2	-
<i>Spirulina máxima</i>	60-71	13-16	6-7	3-4.5
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9	2-5
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	50-56	8-18	16-40	-

Fuente: Becker et al., 1995

Entre los parámetros del cultivo de *Chlorella vulgaris* tiene tres diferentes componentes los mismos que son un medio de cultivo almacenado en un recipiente adecuado, las microalgas creciendo en el medio y aire permitiendo el intercambio de CO₂ entre el medio y la atmósfera, entre los parámetros que contribuyen el crecimiento de las microalgas son la cantidad y calidad de nutrientes, luz, pH, turbulencia, salinidad y temperatura.

Tabla 2.2 Requerimientos principales de cultivos de microalgas

Requerimientos	Compuestos químicos	Valores
C	CO ₂ , CO ₃	g/100 ml
O, H	O ₂ , H ₂ O	g/100 ml
N	N ₂ , NH ₄ , NO ₃	g/100 ml
P	PO ₄	g/100 ml
S	SO ₄	g/100 ml
Na, K, Ca, Mg	Sales	g/100 ml
Fe, Zn, Mn, B, Br, Si	Sales	mg/100 ml
Cu, Co, Cl, I, Sr, Rb, Al, et	Sales	µg/100 ml
Vitaminas	B ₁₂ , Tiamina y Biotina	µg/100 ml

Fuente: (Barsanti et al., 2006)

De acuerdo a la temperatura, toleran temperaturas entre 16 y 27°C, aunque esto puede variar de acuerdo a la composición del medio de cultivo o la especie cultivada, debido a que el crecimiento es retardado si la temperatura está por debajo de los 16°C, y por encima de 35°C puede ser letal. Con respecto a la luz que es la fuente de energía que promueve sus reacciones fotosintéticas, debe ser por fotoperiodos que van de 12- 12 horas, el pH para la microalga va de 7 a 8 siendo 7,5 el pH óptimo. Es necesaria una aeración para prevenir la sedimentación de las algas, y así asegurar que

todas las células estén expuestas a la luz. (Feria de las ciencias UNAM, 2009, <http://www.feriadelasciencias.unam.mx/antiores/feria17/21.pdf>).

2.2.21. Voltaje

Voltaje es el diferencial eléctrico entre dos cuerpos, considerando que si los dos puntos establecen un contacto de flujo de electrones ocurriría una transferencia de energía de un punto al otro, debido a que los electrones son atraídos por los protones. La diferencia de potencial entre dos puntos A y B de un campo eléctrico es un valor escalar que indica el trabajo que se debe realizar para mover una carga q_0 desde A hasta B. La unidad en la que se mide el potencial es el Voltio o Volt. Ecuación 1.

$$V_B - V_A = \frac{W_{AB}}{q_0} \quad (1)$$

Si dos puntos entre los cuales hay una diferencia de potencial están unidos por un conductor, se produce un movimiento de cargas eléctricas generando una corriente eléctrica. (Física práctica, 2015, <http://www.fisicapractica.com/potencial.php>)

2.2.22. Ley de Ohm

La ley de Ohm que establece que "la intensidad de la corriente eléctrica que circula por un conductor eléctrico es directamente proporcional a la diferencia de potencial aplicada e inversamente proporcional a la resistencia del mismo". (Rivera Nicolás, 2015, <http://hipertextual.com>), con la Ecuación 2:

$$I = \frac{V}{R} \quad (2)$$

Donde (I) es la intensidad de corriente (amperios) es la cantidad de electrones que pasan por un tramo en una unidad de tiempo determinada. Voltaje (V) también llamada diferencia de potencial, es la diferencia de "energía potencial" existente entre dos puntos, necesaria para generar la corriente eléctrica, técnicamente, se conoce como la fuerza con la que los átomos ionizados de un punto (con menos electrones de lo ideal) atraen a los electrones de que sí existen en otro punto. Resistencia (R), todos los elementos presentan una resistencia al paso de corrientes eléctricas por su interior, dependiendo del material, la fuerza con la que los átomos atraen a los electrones que orbitan a su alrededor es mayor o menor. (Rivera Nicolás, 2015, <http://hipertextual.com>)

3. CAPITULO 3. METODOLOGÍA

3.1. Hipótesis y especificación de las variables

Hipótesis textual:

La *Chlorella vulgaris* como biocatalizador en celdas de combustible microbiano tienen influencia sobre la generación de bioelectricidad.

Ho: No existe influencia de las celdas de combustible microbiano con biocatalizador *Chlorella vulgaris* sobre la generación de bioelectricidad.

H1: Existe influencia de las celdas de combustible microbiano con biocatalizador *Chlorella vulgaris* sobre la generación de bioelectricidad.

3.2 Tipo y Diseño de Investigación

El tipo de investigación es correlacional debido a que existe una relación entre la variable directa: agua residual industrial textil con biocatalizador *Chlorella vulgaris* y la variable generación de bioelectricidad la misma que va a ser generada durante la investigación.

Además es una investigación explicativa debido a que se va a describir el fenómeno que ocurre dentro de la celda de combustible microbiana por la actividad del biofilm formado con los microorganismos de los lodos activados en la cámara anódica y la microalga *Chlorella vulgaris* en la cámara catódica para la generación de Bioelectricidad.

El diseño experimental es DCA debido a que manipula la variable independiente agua residual industrial textil con biocatalizador de microalga para observar el efecto que produce en la variable dependiente que es la generación de bioelectricidad, teniendo una un testigo durante la investigación, y no se controla otros parámetros.

3.3 Unidad de Análisis:

La unidad de análisis de nuestro experimento es la Celda de Combustible microbiano, la misma que está constituida por un ánodo (biofilm del lodo activado), cátodo (biofilm de microalgas), membrana de intercambio de protones (papel celofán), sustrato (agua residual textil), que se estudia bajo las condiciones óptimas para analizar el comportamiento de cada una de las celdas respecto a cada configuración y sustrato administrado, con el propósito de que cada una de ellas genere un voltaje significativo, demostrando así el beneficio la energía alternativa mediante tecnologías innovadoras y amigables con el ambiente.

3.4 Población de estudio

La población de estudio en la investigación es el agua residual de entrada a la planta de tratamiento de agua residual de la empresa FASHION COLOR, ubicada en la parroquia Benítez del cantón Pelileo de la ciudad de Ambato con coordenadas 17M 0770246/9852162 (coordenadas UTM), como se indica en la figura 2.3.

3.4.1 Área de Estudio

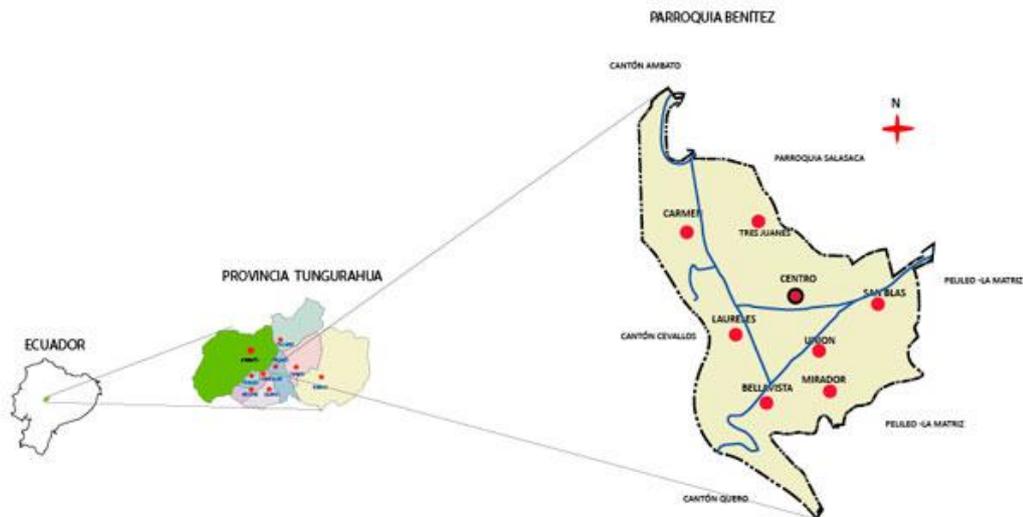


Figura 4.3. Mapa de la Parroquia Benítez

Fuente: Gobierno Autónomo Descentralizado de Benítez, 2011, <http://www.benitez.gob.ec>

Nuestra área de estudio está ubicada en la parroquia Benítez la misma que se encuentra dentro de:

- Continente: América del Sur
- País: Ecuador
- Provincia: Tungurahua
- Cantón: Pelileo
- Parroquia: Benítez

Sus límites son:

- Norte: Parroquia Salasaca
- Sur: Cantón Quero y parte de la Parroquia La Matriz
- Este: Parroquia La Matriz
- Oeste: Riveras del Río Pachanlica con los cantones Cevallos y Ambato



Figura 5.3. Fábrica y tintorería de Jean's FASHION COLOR

Fuente: Google Earth.

Como se indica en la figura 1.3, la parroquia Benítez está ubicada al suroeste del Cantón, Pelileo, provincia del Tungurahua, se originó en la hacienda de los señores Albornoz y Sevilla en sus inicios se llamaba Pachanlica. Su división Política consta de San Blas, Bellavista, Mirador, La Unión, El Centro, Los tres Juanes, Los Laureles, El Carmen. Con una superficie de 8,3 Km² y una población de 2183 habitantes. (Gobierno Autónomo Descentralizado de Benítez; 2011, <http://www.benitez.gob.ec>)

3.1.1.1. Actividad Económica

En el ámbito de la Agricultura según un diagnóstico realizado en la parroquia, la agricultura no es la actividad principal de la población. Las pocas familias de la localidad que se dedican a la agricultura cultivan fresa, maíz, pimiento, papas y pastos, recalcando que el cultivo de fresa es tecnificado. Los pastos y el forraje como la alfalfa entre otros son cultivados en toda la parroquia destinándose un 50% de la producción agrícola, mientras que el 50% del total se destinan al cultivo de otros productos que se desarrollan en el sector. Cabe indicar que la producción en el caso del maíz se la comercializa en tierno (choclo). Algo que hay que recalcar que un 10% de los terrenos están abandonados por consecuencia de la migración.

En el ámbito Artesanal según el diagnóstico realizado en la parroquia, existen pocas familias que se dedican a la producción artesanal en las siguientes ramas: producción de jeans, pantuflas, carpintería y cerrajería. Hay que recalcar que la producción de jeans y pantuflas ocupa un porcentaje alto con respecto a las otras ramas artesanales. Además, la mayoría de familias tienen como actividad económica complementaria la maquila de jeans y pantuflas.

La producción pecuaria que se desarrolla en la zona se identifica en la crianza de especies menores indicando que un 50% de las familias se dedica a esta actividad, la población total vacuna estimada en la zona es de 100 unidades que representa en un 7%. El promedio general de producción por familias es de 3 unidades, se estima también que la producción total de porcinos en el sector es de 800 unidades que representa en un 17%, el promedio general por familia es de 1 unidad, lo que se refiere a la crianza de especies menores tenemos que la producción de cuyes se estima en 3200 animales representando en un 43% siendo el promedio general por familia de 4 unidades, mientras que la crianza de conejos el total es de 800 unidades representando el 22%, siendo el promedio de 1 unidad por familia. Se estima que la producción de aves es de 15000 unidades, representando el 11% del total, siendo el promedio de especies de 5 aves por familia.

No existen lugares para realizar ferias locales en la parroquia. Los productos agrícolas como fresa, zanahoria amarilla, maíz, papas y otros, así como los animales se venden en los mercados de Pelileo, Ambato y ferias de cantones vecinos. Los productos artesanales como jeans, pantuflas entre otros son entregados a almacenes para la venta en Pelileo, Ambato y otros lugares del país. Su ubicación y disponibilidad de medios de transporte, permite tener facilidad para el traslado de los productos a los sitios de comercialización. De esta parroquia algunas familias tienen como actividad económica el comercio de ganado porcino y vacuno principalmente, siendo esta una importante alternativa de ingreso económico. En general los problemas en la comercialización como el resto de productores del cantón se presentan por la inestabilidad de precios en el mercado, y la competencia en el comercio por la fuerte intermediación. (Gobierno Autónomo Descentralizado de Benítez; 2011, <http://www.benitez.gob.ec>)

3.5 Tamaño de Muestra:

El caudal de entrada a la PTAR de la empresa Fashion Color es de 0,6 L/s. Se tomó un volumen de 125 ml por celda como son 4 celdas necesitamos un volumen total de 500 ml, los mismos que serán tomados en la entrada a la PTAR que sería el punto de descarga del tanque de almacenamiento previo al tratamiento de las aguas residuales y 10 ml de lodo activado para cada celda con un total de 40 ml. Además se necesitó un volumen de 1L para el análisis físico- químico y 450 ml para el análisis microbiológico, con un total de 1450ml de agua residual textil. Para análisis microbiológicos de lodos activados es necesario 50 ml.

3.6 Selección de la muestra

El tipo de muestra es probabilístico simple debido a que todos los elementos de la población tienen la probabilidad de ser escogidas en esta investigación será el agua residual que se recolectará de manera aleatoria, de la entrada de la PTAR de la empresa Fashion Color y el lodo activado será recolectado de la lagunas de secado. Los tanques de almacenamiento captan los

residuos de la producción y los almacenan por un tiempo el mismo que varía de acuerdo a la producción que tiene la empresa, pero el método de producción es el mismo en todo el proceso utilizándolos mismos suministros siempre.

3.7 Lógica de la investigación

3.7.1 *Análisis e interpretación de la información*

La investigación fue llevada a cabo en cuatro etapas:

- La primera etapa corresponde al cultivo y mantenimiento de las microalgas *Chlorella vulgaris* las mismas que serán utilizadas como biocatalizadores.
- La segunda etapa corresponde a la configuración y operación de las celdas de combustible microbiano.
- La tercera etapa es el monitoreo de la CCM.
- La cuarta etapa corresponde a los análisis fisicoquímicos y microbiológicos de las muestras de agua residual textil y lodos activados.

3.7.2 *Primera etapa*

Como se observa en la figura 3.3, el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* se obtuvo del banco de microorganismos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCE–SI).



Figura 6.3. Cultivo de microalga *Chlorella vulgaris*

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2015

Para el cultivo de microalga *Chlorella vulgaris* se realizó por el método descrito por la PhD Candida Shinn y basado en SAFI, Carl, et al. (2014). En el que indica que se debe preparar un

medio de cultivo a base de nitrofosca al 3% como se indica en la figura 4.3, este medio de cultivo tiene un pH: 3, para llevarlo a un pH: 7,5 se colocó 100ml de solución de NaOH al 10%, se esteriliza el medio en un auto cable a 121°C por 15 min. Del medio esterilizado se coloca 10ml en cada tubo de ensayo 10 en total y para la siembra se toma 1ml de cultivo aislado de microalgas con la ayuda de una micro pipeta y se coloca encada tubo de ensayo luego se coloca un tapón hecho de algodón y gasa para evitar el ingreso de materias extrañas y que el cultivo se contamine, como se observa en la figura 5.3, las microalgas tienen un crecimiento notable al octavo día. El proceso se llevó a cabo en el laboratorio de desarrollo e investigación, ubicado en la facultad de Ciencias de la ESPOCH a cargo del Ing. Diego Vinueza con todas las medidas de asepsia y materiales estériles.



Figura 7.3. Medio de cultivo a base de nitrofosca

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2015

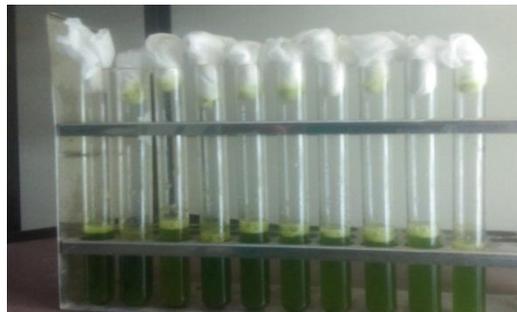


Figura 8.3. Tubos de ensayo con el cultivo puro de microalgas *Chlorella vulgaris*

Realizado por: Buenaño J y Cruz F 2015

La figura 6.3 presenta las condiciones que necesitan las microalgas para subsistir, como temperatura: entre 25-26 °C, dicha temperatura se la consigue a través del uso de lámparas fluorescentes además para conseguir los fotoperiodos de luz, un pH de 7.5, agitación diaria, la agitación se la hace manualmente todos los días, cada dos semanas se coloca el medio de cultivo para brindarle alimento a las microalgas.



Figura 9.3 Mantenimiento de cultivos de microalgas *Chlorella vulgaris*

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2015

3.7.3 Segunda etapa

Inóculo de muestreo y la preparación de materia prima

La metodología fue planificada en colaboración del Ing. Washington Logroño estudiante de la universidad de Szeged de Hungría. Las muestras de lodos y las aguas residuales se tomaron en el punto de entrada a la planta de tratamiento de aguas residuales de la empresa Fashion Color, las muestras se tomaron en recipientes estériles, y su almacenamiento fue a 4 °C, antes de la configuración experimental y análisis. La inmovilización microbiana sobre el electrodo de ánodo o la formación de biopelículas se llevó a cabo de la siguiente manera: 120 ml de aguas residuales textiles que contiene 10 ml de lodos este sustrato se coloca en la cámara anódica de las CCMs, la formación se ve evidenciado al obtener un voltaje estable. (Hsieh, M. C. & Chung, 2014, p.p 2204-2211).

Condiciones de operación de las CCM

En este estudio se utilizó una celda de combustible microbiana de una sola cámara con cátodo al aire con el modo de funcionamiento de alimentación por lotes. Las SMFCs (celdas de combustible microbianas de una sola cámara) son de placas de acrílico de 2mm de grosor, de forma cubica, de tamaño de 5cm x 5cm (figuras 7.3 y 8.3), con volumen de trabajo de 125 ml por cada celda, se instaló un puerto de entrada con el fin de alimentar y purgar los gases. La cámara del ánodo y del cátodo se separa por papel celofán a una distancia de 1cm entre electrodos.

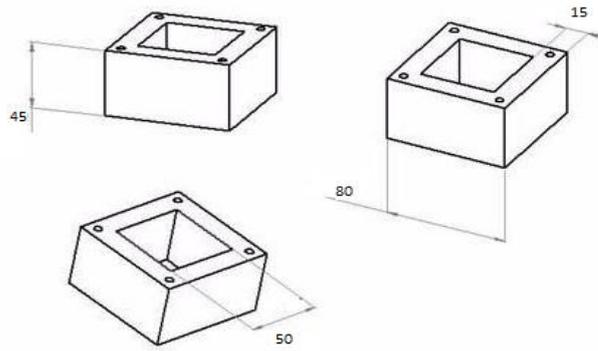


Figura 10.3 Configuración de la CCM, cámara anódica.

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

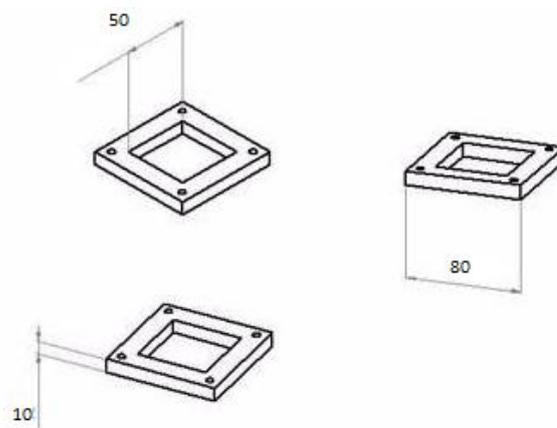


Figura 11.3 Configuración de la CCM, cámara catódica.

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

El electrodo ánodo se pre trató antes de ser utilizado en la CCM con el fin de mejorar la formación del biofilm de la siguiente manera: remojo en acetona (durante la noche) y se lavó 5 veces en agua destilada o desionizada; como se muestra en la figura 9.3 se remojo en peroxidisulfato de amonio (200 g/L) y ácido sulfúrico concentrado (100 ml/L) durante 15 minutos; a continuación, se calentaron los electrodos durante 30 minutos en un horno de mufla a 450 °C (Yujie Feng et al, 2010, pp. 1841-1844) después se lavó 5 veces antes de usarlos con agua destilada. El electrodo de cátodo se empapa en agua destilada durante la noche con el fin de eliminar las impurezas.

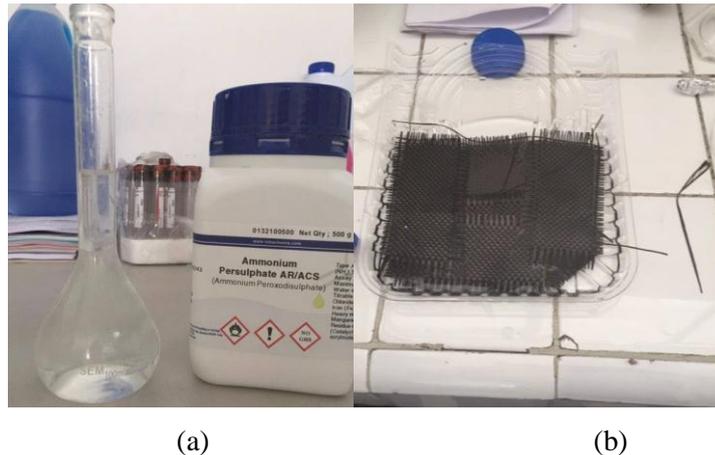


Figura 12 .3 Electrodo ánodo sumergido en solución de Persulfato de Amonio.

(a). Solución de Persulfato de Amonio

(b). Electrodo ánodo sumergido en solución de Persulfato de Amonio.

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

El conjunto experimental se llevó a cabo con CCM para evaluar la producción de electricidad. Se puso a prueba con agua residual industrial textil las CCMs en su configuración tienen cátodos a base de microalgas y cátodos normales con el fin de evaluar la respuesta de la CCM desarrollada. El experimento se llevó a cabo en condiciones de laboratorio a temperatura de 26 ° C. En el proceso de formación del biofilm en la cámara anódica se controló todas las CCM hasta que se puede obtener el voltaje constante.

Interacción microalgas en el cátodo.

Las microalgas *Chlorella vulgaris* se pusieron a prueba como biocatalizador. El electrodo cátodo se integró con la solución de microalgas a fin de evaluar si la diferencia de potencial puede ser mejorado, la cámara catódica será periódicamente alimentada por solución nutritiva específica (medio de cultivo nitrofosca) para el desarrollo y crecimiento de las microalgas con el fin de mantenerlas activas y estables durante el periodo del experimento.

Formación del biofilm en la cámara catódica

Para la formación del biofilm se dio un tratamiento previo a la fibra de carbono, antes de ser sumergida al cultivo puro de microalgas (*Chlorella vulgaris*) durante un periodo de cinco días (figura 10.3), tiempo suficiente para poder observar la formación de pequeñas películas sobre la fibra de carbono, el electrodo cátodo permaneció en las mismas condiciones que se desarrollaron las microalgas con temperatura, fotoperiodos de luz y aireación controlados.



Figura 13.3. Electrodo cátodo sumergido en *Chlorella vulgaris* para formación de biofilm

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

3.7.4 Tercera etapa

El día 13 de diciembre del 2016 se armó una celda prototipo para determinar que la celda no tenga ninguna fuga de agua, que el puerto de entrada y salida cumpla de la mejor manera su objetivo, además tiempo de formación del biofilm y tiempo de acidificación del medio.

Para la puesta en marcha del proyecto se armaron 4 CCMs, 3 celdas representadas con la simbología CCM1, CCM2, CCM3 estas celdas tienen biocatalizador *Chlorella vulgaris* en su cámara catódica y una celda de control CCM4 sin biocatalizador, se armaron el día miércoles 13 de enero del 2016 desde las 16h hasta las 19h en el laboratorio de Análisis Químico y Bacteriológico a cargo de la Dra. Aida Fierro en la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), (figura 11.3).



Figura 14.3 Armado de las CCMs.

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Como se observa en la figura 12.3, las CCM constan de una cámara anódica y otra catódica separada con papel celofán como MIP (membrana de intercambio de protones), en la cámara anódica se colocó la fibra de carbono (electrodo) previamente tratada y 120ml de agua residual textil que contiene 10ml de lodo activado de la empresa Fashion Color, en la cámara catódica de las CCM1, CCM2 y CCM3 se coloca el biofilm de la microalga *Chlorella vulgaris* previamente formado en la fibra de carbono (electrodo), en la cámara catódica de la CCM4 se coloca solo el electrodo.

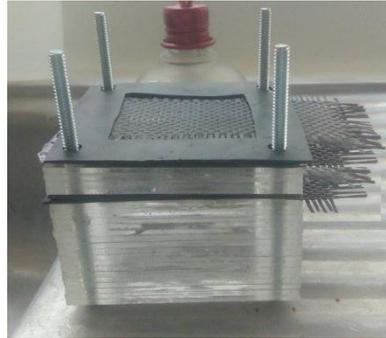


Figura 15.3CCM armada.

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Las 4 celdas en un inicio fueron alimentadas con sustrato de agua residual textil con lodos activados, el pH de las muestras fue relativamente básico por ello no se inyectó solución buffer para evitar que se acidifique el medio, este parámetro fue comprobado con la celda prototipo.

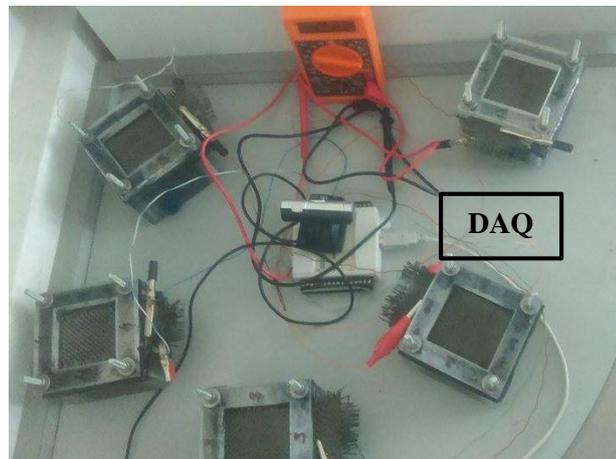


Figura 16.3Monitoreo de las CCMs

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

La tensión de salida se registró cada 1 minuto mediante el uso de un sistema de adquisición de datos y un ordenador personal, el sistema de adquisición de datos DAQ NI 6009 (figura 13.3), el tiempo total de monitoreo fue de 27 días desde el 13 de enero hasta el 9 de febrero compuesto por

tres ciclos cada ciclo son de 6 días aproximadamente, el primer ciclo se llevó a cabo para la formación del biofilm, en las figuras 14.3 y 15.3 se observa que el ciclo dos consta de la extracción del agua de cada celda y la alimentación de 125ml del inóculo (agua residual textil) en cada una de las celdas con el objetivo de la maduración del biofilm además en este ciclo se realizó una curva de polarización mediante el uso de resistencias externas de 5.1, 10, 22, 47, 100, 150, 250, 330, 470, 560 Ω , 1, 5.6, 10 k Ω . El tercer ciclo se realizó para comprobar la eficiencia del biocátodo *Chlorella vulgaris*, el cátodo de la celda uno fue sustituido con un nuevo biocátodo.



Figura 17.3 Preparación del inóculo para el ciclo dos.

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016



Figura 18.3 Descarga del agua residual textil del ciclo dos.

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

3.7.5 Cuarta etapa

Los análisis fisicoquímicos de las muestras de agua residual textil se realizaron en el laboratorio de Servicios Ambientales a cargo del Ph. D. Benito Mendoza ubicado en la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH). Entre los parámetros que se analizaron fueron: Sólidos suspendidos, DBO₅, DQO, Color, Nitratos, Fosfatos, Cr, Zn, Fosforo total, el método que se utilizó fue el standard methods. Las muestras analizadas fueron la muestra matriz y las muestras de salida de la fase 1 y fase dos de cada una de las celdas con un total de 11 muestras analizadas.

El análisis de pH se lo realizó en el laboratorio de Análisis Instrumental y Ambiental de la Facultad de Ciencias a cargo del Ing. Fausto Tapia, el primer análisis con la muestra de agua residual textil con la que se armaron las celdas, el segundo análisis en el día 5 que se descarga el agua de cada celda, el tercer análisis con el agua de descarga de todas las celdas que se realiza el día 12. El análisis de pH se realizó con un microprocesador pHmetro marca HANNA pH 211, como se muestra en la figura 16.3.



Figura 19.3 Medición de pH de las aguas de descarga de cada celda.

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

3.7.6 Quinta etapa

El análisis microbiológico de las muestras de descarga de las celdas en el tercer ciclo, se lo realizó en el laboratorio de Ciencias Biológicas de la facultad de recursos naturales ESPOCH a cargo de la Ing. Ana María Cunachi Pillajo MSc., para microorganismos anaeróbicos y aeróbicos. Para la siembra de m.o anaerobios y aerobios se utilizó medio de cultivo PCA (Agar para conteo en placa), se colocó 11,5 g de PCA en 500 mL de agua destilada y se esterilizó durante 15min en el auto cable a una temperatura de 121°C, para las diluciones se preparó 7 blancos que contenían 9 mL de agua destilada, además se preparó 8 cajas para conteo de aerobios y 8 para anaerobios, para la siembra se eligió las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} cada dilución conto con su repetición.

En el agar tibio se colocó 36 gotas de acronistina para inhibir el crecimiento de hongos, luego se vertió 20 mL en cada caja petri para conteo de aerobios y 40 mL para el conteo de anaerobios. Se realizó las diluciones tomando 1ml de la muestra con una micro pipeta y colocando en el primer blanco siendo este la dilución 10^{-1} , se realizó el mismo proceso hasta llegar a la dilución 10^{-6} . Se tomó 0,1 mL de cada dilución y se sembraron en cada caja petri anteriormente etiquetadas, se extendió la muestra en toda la superficie del medio de cultivo. Para su incubación se colocaron las cajas a una temperatura de 28 °C y las cajas para el conteo de anaerobios fueron sometidas en una condición de una cámara anaerobia a la misma temperatura que los aerobios. Después de 48h se realizó el conteo de aerobios y anerobios.

Una vez formado el biofilm en la fibra de carbono, tanto de lodos activados como de microalgas las muestras se analizaron en el laboratorio de Microscopía Electrónica a cargo del Dr. Jaramillo, ubicado en la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH), las fotografías fueron tomadas en un microscopio de barrido electrónico (figura 17.3) a diferentes tamaños como son 2mm, 200 μ m, 50 μ m, 20 μ m, para el biofilm de los lodos activados y 2mm, 200 μ m, 100 μ m, 20 μ m y 10 μ m para el biofilm de las microalgas, además se colocó datos como son el diámetro de la microalgas y las bacterias de los lodos activados.(Yujia Shen et al, 2013, pp. 707–710).



Figura 20.3 Muestras en el Microscopio Electrónico de Barrido.

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

4. CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis de resultados

En la tabla 1.4 podemos observar la descripción de la distribución de las CCMs

4.1.1. Descripción de la Distribución de las CCMs

Tabla 1.4 Descripción de la Distribución de las CCMs

REPETICIÓN	CCM1	Con Microalgas (<i>Chlorella vulgaris</i>)
	CCM2	
	CCM3	
CONTROL	CCM4	Sin Microalgas (<i>Chlorella vulgaris</i>)

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

4.1.2. Análisis Físico Químicos

A continuación en las tablas 2.4, 3.4, 5.4, 7.4 y 9.4 se presentan análisis físicos químicos realizados de las muestras tomadas de cada CCM para la fase 1 (F1) y en las tablas 11.4, 13.4, 15.4 y 17.4 los análisis físico químicos de la fase 2 (F2), al igual que la muestra matriz (MM) (tomada directamente en la entrada de la PTAR de la empresa Fashion Color).

En la tabla 2.4 tenemos los análisis físico químico de la muestra matriz (muestra inicial) tomada del punto de descarga de la fábrica Fashion Color, muestra con la que se ejecutó el experimento.

Tabla 2.4 Análisis F-Q de la MM

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO
* Color	Upt-co	Standard methods 2120 C	80800
* Sólidos	mg/L	Standard methods 25- D	17900
* DQO	mg/L	Standard methods 5220 – D Mod	45600
* DBO5	mg O2/L	Standard methods 5210 – B	4050
* Nitrato - N	mg/L	Standard methods 4500 –N°3 E	6980
* Fosfatos	mg/L	Standard methods 4500 - P- E	558
* Cromo	mg/L	Standard methods 3500 - Cr 3111B	0,2289
* Zinc	mg/L	Standard methods 3500 - Zn – 3111B	0,0050
* Fósforo Total	mg/L	Standard methods 4500 - P- E mod	186

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 3.4 Análisis F-Q de la F1-CCM1

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO
* Color	Upt-Co	Standard methods 2120 C	40100
* DQO	mg/L	Standard methods 5220 – D	2190
* Sólidos Suspendidos	mg/L	Standard methods 2540 – D mod	8220
* Nitrato - N	mg/L	Standard methods 4500 –N°3 - E mod	6970
* Fosfatos	mg/L	Standard methods 4500 – P-E	136
* Cromo	mg/L	Standard methods 3500 - Cr – 3111B	0,1308
* Zinc	mg/L	Standard methods 3500 - Zn – 3111B	< 0,0001
* Fósforo Total	mg/L	Standard methods 4500 – P-E mod	44

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 4.4 se muestra los porcentajes de reducción de los parámetros Físico –Químicos de la CCM1 con respecto a la muestra matriz 1.

Tabla 4.4 Porcentaje de reducción en CCM1- F1

PARÁMETROS	RESULTADOS MM	RESULTADOS CCM1	PORCENTAJE
Color	80800	40100	50,4
DQO	45600	2190	87,8
Sólidos Suspendidos	17900	8220	82,0
Nitrato – N	6980	6970	0,1
Fosfatos	558	136	75,6
Cromo	0,2289	0,1308	40,9
Zinc	0,0050	< 0,0001	>98,0
Fósforo Total	186	44	76,3

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 5.4 Análisis F-Q de la F1-CCM2

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO
* Color	Upt-Co	Standard methods 2120 C	46400
* DOO	mg/L	Standard methods 5220 - D	7640
* Sólidos Suspendidos	mg/L	Standard methods 2540 – D mod	17060
* Nitrato - N	mg/L	Standard methods 4500 –N°3 - E mod	2990

* Fosfatos	mg/L	Standard methods 4500 – P-E	145
* Cromo	mg/L	Standard methods 3500 - Cr – 3111B	0,1128
* Zinc	mg/L	Standard methods 3500 - Zn – 3111B	< 0,0001
* Fósforo Total	mg/L	Standard methods 4500 – P-E mod	47

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Podemos observar en la tabla 6.4 el porcentaje que disminuye la CCM2 con referencia a la muestra matriz en cada uno de los parámetros analizados.

Tabla 6.4 Porcentaje de reducción en CCM2- F1

PARÁMETROS	RESULTADOS MM	RESULTADOS CCM2	PORCENTAJE
Color	80800	46400	42,6
DQO	45600	7640	83,2
Sólidos Suspendidos	17900	17060	4,7
Nitrato – N	6980	2990	57,2
Fosfatos	558	145	74,0
Cromo	0,2289	0,1128	50,0
Zinc	0,0050	< 0,0001	<98,0
Fósforo Total	186	47	74,7

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 7.4 Análisis F-Q de la F1-CCM3

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO
* Color	Upt-Co	Standard methods 2120 C	13100
* DQO	mg/l	Standard methods 5220 – D	24
* Sólidos Suspendidos	mg/L	Standard methods 2540 – D mod	8480
* Nitrato - N	mg/L	Standard methods 4500 –Nº3 - E mod	1290
* Fosfatos	mg/L	Standard methods 4500 – P-E	93
* Cromo	mg/L	Standard methods 3500 - Cr – 3111B	0,0989
* Zinc	mg/L	Standard methods 3500 - Zn – 3111B	< 0,0001
* Fósforo Total	mg/L	Standard methods 4500 – P-E mod	30

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 8.4 podemos observar el comportamiento de la CCM3 con respecto a la muestra matriz, obteniendo porcentajes significativos en los niveles de reducción de parámetros físico químicos.

Tabla 8.4 Porcentaje de reducción en CCM3- F1

PARÁMETROS	RESULTADOS MM	RESULTADOS CCM3	PORCENTAJE
Color	80800	13100	83,8
DQO	45600	24	99,9
Sólidos Suspendidos	17900	8480	52,6
Nitrato – N	6980	1290	81,5
Fosfatos	558	93	83,3
Cromo	0,2289	0,0989	59,1
Zinc	0,0050	< 0,0001	>98,0
Fósforo Total	186	30	83,9

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 9.4 Análisis F-Q de la F1-CCM4

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO
* Color	Upt-Co	Standard methods 2120 C	16800
* DQO	mg/L	Standard methods 5220 - D	2110
* Sólidos Suspendidos	mg/L	Standard methods 2540 – D mod	6220
* Nitrato - N	mg/L	Standard methods 4500 –N ^o 3 - E mod	960
* Fosfatos	mg/L	Standard methods 4500 – P-E	72
* Cromo	mg/L	Standard methods 3500 - Cr – 3111B	0,0918
* Zinc	mg/L	Standard methods 3500 - Zn – 3111B	< 0,0001
* Fósforo Total	mg/L	Standard methods 4500 – P-E mod	24

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 10.4 se muestra el porcentaje de reducción de parámetros analizados de la CCM4 en relación a la muestra matriz en la fase 1.

Tabla 10.4 Porcentaje de reducción en CCM4- F1

PARÁMETROS	RESULTADOS MM	RESULTADOS CCM4	PORCENTAJE
Color	80800	16800	79,2
DQO	45600	2110	95,4
Sólidos Suspendidos	17900	6220	62,3
Nitrato – N	6980	960	86,2
Fosfatos	558	72	87,1
Cromo	0,2289	0,0918	59,1
Zinc	0,0050	< 0,0001	>98,0
Fósforo Total	186	24	87,1

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

La CCM3 tuvo una mayor disminución de color y DQO de un 83,8 % y 99,9 %; la CCM4 siendo la celda control que en su configuración no tiene biocatalizador *Chlorella vulgaris*, tuvo mayor disminución en los parámetros sólidos suspendidos, Nitratos, Cromo, Fosfatos y Fosforo total de 62,3%, 86,2%, 59,1%, 87,1% y 87,1%, en relación a la MM y mayor en comparación con las CCM1, CCM2, CCM3, en todas las CCMs disminuyeron la concentración de Zinc mayor del 98%. En cada una de las tablas analizadas observamos que las celdas control disminuyen en mayor porcentaje los parámetros físico químicos que las celdas que en su configuración catódica poseen *Chlorella vulgaris*.

Tabla 11.4 Análisis F-Q de la F2-CCM1

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO
* Sólidos Suspendidos	mg/L	Standard methods 2540 – D	1400
* Color	Upt-co	Standard methods 2120 C	35100
* DQO	mg/L	Standard methods 5220 – D Mod	6680
* DBO5	mg O2/L	Standard methods 5210 – B	3984
* Nitrato – N	mg/L	Standard methods 4500 –N ^o 3 - E mod	510
* Fosfatos	mg/L	Standard methods 4500 - P- E	26
* Cromo	mg/L	Standard methods 3500 – Cr 3111B	0,0605
* Zinc	mg/L	Standard methods 3500 - Zn –3111B	< 0,0001
* Fósforo Total	mg/L	Standard methods 4500 - P- E mod	9

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 12.4 podemos observar el comportamiento de la CCM1 con respecto a la muestra matriz, obteniendo porcentajes significativos en los niveles de reducción de parámetros Físico – Químicos.

Tabla 12.4 Porcentaje de reducción en CCM1- F2

PARÁMETROS	RESULTADOS MM	RESULTADOS CCM1	PORCENTAJE
Sólidos Suspendidos	17900	1400	92,2
Color	80800	35100	56,6
DQO	45600	6680	85,4
DBO5	4050	3984	1,6
Nitrato - N	6980	510	92,7
Fosfatos	558	26	95,3
Cromo	0,2289	0,0605	73,6
Zinc	0,005	0,0001	>98,0
Fósforo Total	186	9	95,2

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 13.4 Análisis F-Q de la F2-CCM2

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO
*Sólidos Suspendidos	mg/L	Standard methods 2540 – D	6100
*Color	mg/L	Standard methods 5220 – D Mod	5700
*DQO	Upt-co	Standard methods 2120 C	30
*DBO5	mg O2/L	Standard methods 5210 – B	17
*Nitrato - N	mg/L	Standard methods 4500 –N°3 - E mod	1170
*Fosfatos	mg/L	Standard methods 4500 - P- E	107
*Cromo	mg/L	Standard methods 3500 - Cr – 3111B	0,0506
*Zinc	mg/L	Standard methods 3500 - Zn – 3111B	< 0,0001
*Fósforo Total	mg/L	Standard methods 4500 - P- E mod	35

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 14.4 podemos observar el comportamiento de la CCM2 con respecto a la muestra matriz, obteniendo porcentajes significativos en los niveles de reducción de parámetros Físico - Químicos.

Tabla 14.4 Porcentaje de reducción en CCM2- F2

PARÁMETROS	RESULTADOS MM	RESULTADOS CCM2	PORCENTAJE
Sólidos Suspendidos	17900	6100	65,9
Color	80800	5700	92,9
DQO	45600	30	99,9
DBO5	4050	17	99,6
Nitrato - N	6980	1170	83,2
Fosfatos	558	107	80,8
Cromo	0,2289	0,0506	77,9
Zinc	0,005	< 0,0001	>98,0
Fósforo Total	186	35	81,2

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 15.4 Análisis F-Q de la F2-CCM3

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO
* Sólidos Suspendidos	mg/L	Standard methods 2540 – D	4900
* Color	Upt-co	Standard methods 2120 C	33200
* DQO	mg/L	Standard methods 5220 – D Mod	1860
* DBO5	mg O2/L	Standard methods 5210 – B	997
* Nitrato - N	mg/L	Standard methods 4500 –N°3 – E mod	2050
* Fosfatos	mg/L	Standard methods 4500 - P- E	198
* Cromo	mg/L	Standard methods 3500 - Cr – 3111B	0,0427
* Zinc	mg/L	Standard methods 3500 - Zn – 3111B	< 0,0001
* Fósforo Total	mg/L	Standard methods 4500 - P- E Mod	65

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 16.4 podemos observar el comportamiento de la CCM3 con respecto a la muestra matriz, obteniendo porcentajes significativos en los niveles de reducción de parámetros físico químicos.

Tabla 16.4 Porcentaje de reducción en CCM3- F2

PARÁMETROS	RESULTADOS MM	RESULTADOS CCM3	PORCENTAJE
Sólidos Suspendidos	17900	4900	72,6
Color	80800	33200	58,9

DQO	45600	1860	95,9
DBO5	4050	997	75,4
Nitrato - N	6980	2050	70,6
Fosfatos	558	198	64,5
Cromo	0,2289	0,0427	81,3
Zinc	0,005	< 0,0001	>98,0
Fósforo Total	186	65	65,1

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 17.4 Análisis F-Q de la F2-CCM4

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO
* Sólidos Suspendidos	mg/L	Standard methods 2540 – D	1000
* Color	Upt-co	Standard methods 2120 C	25500
* DQO	mg/L	Standard methods 5220 – D mod	4390
* DBO5	mg O2/L	Standard methods 5210 – B	2452
* Nitrato – N	mg/L	Standard methods 4500 –N°3 – E mod	3330
* Fosfatos	mg/L	Standard methods 4500 - P- E	52
* Cromo	mg/L	Standard methods 3500 - Cr – 3111B	0,0288
* Zinc	mg/L	Standard methods 3500 - Zn – 3111B	< 0,0001
* Fósforo Total	mg/L	Standard methods 4500 - P- E mod	17

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 18.4 podemos observar el comportamiento de la CCM4 con respecto a la muestra matriz, obteniendo porcentajes significativos en los niveles de reducción de parámetros físico químicos

Tabla 18.4 Porcentaje de reducción en CCM4- F2

PARÁMETROS	RESULTADOS MM	RESULTADOS CCM4	PORCENTAJE
* Sólidos Suspendidos	17900	1000	94,4
* Color	80800	25500	68,4
* DQO	45600	4390	90,4
* DBO5	4050	2452	39,5
* Nitrato - N	6980	3330	52,3

* Fosfatos	558	52	90,7
* Cromo	0,2289	0,0288	87,4
* Zinc	0,005	< 0,0001	>98,0
* Fósforo Total	186	17	90,9

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

La CCM4 tuvo una mayor disminución de Cromo en un 87,4% en relación a la MM, en comparación a las CCM1, CCM2 y CM3; la CCM2 tuvo mayor disminución en los parámetros color, DQO y DBO5 en un 92,9%, 99,6% y 99,9% en comparación con las CCM1, CCM3, CCM4; la CCM1 tuvo una mayor disminución de Nitratos, Fosfatos y Fosforo total en comparación a las CCM2, CCM3 y CM4 todas las CCMs disminuyeron la concentración de Zinc mayor al 98%.

Entre la F1 y F2 la CCM4 disminuye mayor cantidad de Cr con respecto a las CCM1, CCM2, CCM3 (tienen biocatalizador *Chlorella vulgaris*) en un 20% y 10% respectivamente. La fase 2 presenta una mayor disminución en las concentraciones de cada uno de los parámetros analizados atribuyendo este resultado a la estabilidad del biofilm formado en cada una de las CCMs.

4.1.2.1. Análisis de pH y volumen de las CCMs

En las tablas 19.4 y 20.4 se presenta los datos de pH y volumen tanto iniciales como finales de las fases 1 y 2.

Tabla 19.4 Resultados de medición de pH

	Inóculo (entrada)	CCM1 (salida)	CCM2 (salida)	CCM3 (salida)	CCM4 (salida)
Fase 1	8,60	7,06	7,20	7,00	7,13
Fase 2	8,95	7,60	7,44	7,26	7,08

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Como se observa en la tabla 19.4, se registraron datos de pH básico inicialmente de 8,6, en la fase 1 las CCMs registraron un pH casi neutro con pH máximo de 7,13 para la CCM4, en la fase 2 se registró un pH básico inicial de 8,95 y un pH neutro de salida, con dato máximo de 7,6 para la CCM1, en la fase 3 las CCMs registraron un alto pH básico inicial de 10,83 y un pH neutro de salida con pH máximo de 7,16 para la CCM2.

El comportamiento del pH de la CCM4 es distinto al pH de las otras celdas notándose que en la fase 2 disminuye. Se observó que las CCMs tienen un pH inicialmente básico y en su descarga registran un pH neutro, recalando que las CCMs tienden a volver ácido el medio en periodos más largos.

Tabla 20.4 Resultados de medición del volumen

	CCM1 (ml)	CCM2 (ml)	CCM3 (ml)	CCM4 (ml)
Día 1	120	120	120	120
Fase 1	90	75	90	90
Fase 2	90	90	90	90

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Como se observa en la tabla 20.4, se registraron los datos del volumen (ml) total de entrada y salida del inóculo en las CCMs, el volumen inicial de cada CCM fue de 120ml, en la fase 1 el volumen de descarga fue de 90ml para las CCM1, CCM3 y CCM4 y para la CCM2 un volumen de 75ml, notamos que esta celda muestra mayor pérdida de agua lo que podemos mencionar que se debe a que no fue descargada completamente la muestra y pequeñas cantidades de agua y lodo quedaron dentro de la celda. En la fase 2 todas las CCMs tuvieron un volumen de descarga de 90ml.

Se observó que las CCMs tenían pérdidas de volumen por evaporación natural que se daba a través de la fibra de carbono (electrodo ánodo). El volumen promedio de evaporación fue de 37,5 ml y un 31,25%.

4.1.3. Análisis Microbiológico

4.1.3.1. Conteo de aerobios.

Dilución	Repetición	UFC	Observación
10 ⁻³	1	303	Se presentan muchas UFC, algunas no se pueden contar.
10 ⁻³	2	388	Se presentan muchas UFC, algunas no se pueden contar.
10 ⁻⁴	1	110	
10 ⁻⁴	2	114	
10 ⁻⁵	1	7	
10 ⁻⁵	2	21	
10 ⁻⁶	1	1	

4.1.3.2. *Conteo de anaerobios.*

Dilución	Repetición	UFC	Observación
10 ⁻³	1	90	Existe una masa de color beige.
10 ⁻³	2	147	Existe una masa de colonias de color beige
10 ⁻⁴	1	27	
10 ⁻⁴	2	49	
10 ⁻⁵	1	23	
10 ⁻⁵	2	17	
10 ⁻⁶	1	0	Presencia de colonias bajo el agar.
10 ⁻⁶	2	48	Algunas colonias recién empiezan a crecer.

En un periodo de 48 horas en los análisis microbiológicos se logró observar colonias desarrolladas tanto aerobias como anaerobias, logrando un crecimiento de micro colonias alrededor de todo el agar, en la siembra de la dilución 10-3 el crecimiento fue mayor que no se podía contar la masa de bacterias que en ella crecía en las dos especies aerobias y anaerobias, las bacterias se mostraban de un color hueso de diferentes estructuras y rasgos es decir que los microorganismos que lograron formar el biofilm y por lo tanto trabajar en las Celdas de combustible microbiano son de las dos especies detallando que la que existe en mayor cantidad son las anaerobias.

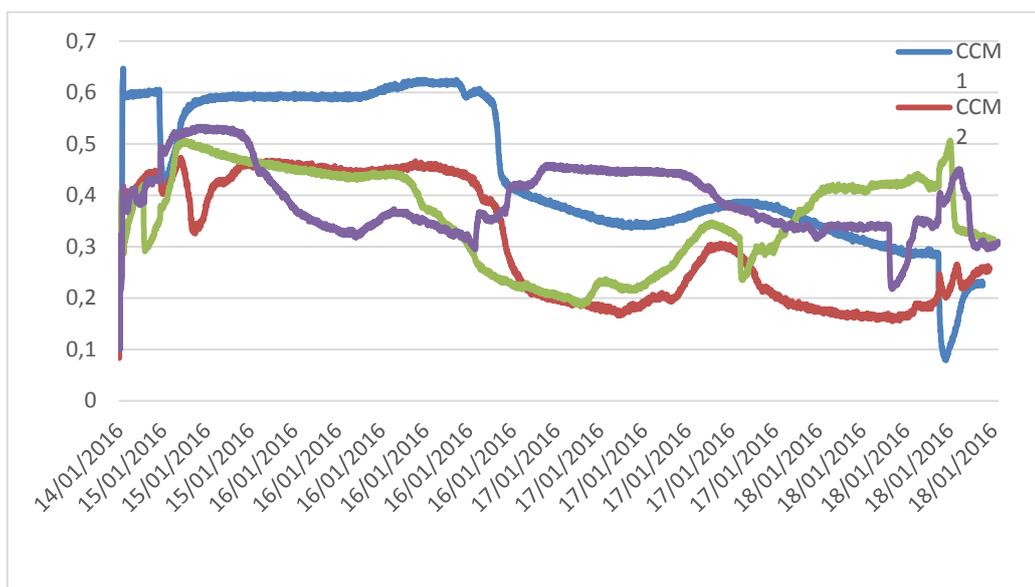
Es decir que el metabolismo de cada una de las bacterias logra asimilar el sustrato y nos proporcionan eficiencia en la producción de la electricidad.

4.1.4. *Bioelectricidad producida en sistemas de CCMs.*

4.1.4.1. Estadística Descriptiva de las CCMs del Ciclo 1

En la figura 1.4 se muestra el comportamiento de las CCMs en la producción de voltaje en la primera fase que tuvo una duración de 5 días.

Gráfico 1.4 Producción de voltaje en CCMs ciclo 1



Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 21.4 Estadística Descriptiva CCM1

Media	0.446
Error típico	0.002
Mediana	0.386
Moda	0.592
Desviación estándar	0.137
Varianza de la muestra	0.0187
Curtosis	-1.085
Coefficiente de asimetría	-0.148
Rango	0.567
Mínimo	0.080
Máximo	0.647
Suma	1984.120
Cuenta	4446
Nivel de confianza (95,0%)	0.004

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 22.4 Estadística Descriptiva CCM2

Media	0.309
Error típico	0.002
Mediana	0.270
Moda	0.453
Desviación estándar	0.119
Varianza de la muestra	0.014

Curtosis	-1.746
Coefficiente de asimetría	0.150
Rango	0.390
Mínimo	0.083
Máximo	0.472
Suma	1381.280
Cuenta	4483
Nivel de confianza (95,0%)	0.003

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 23.4 Estadística Descriptiva CCM3

Media	0.357
Error típico	0.001
Mediana	0.369
Moda	0.438
Desviación estándar	0.091
Varianza de la muestra	0.009
Curtosis	-1.242
Coefficiente de asimetría	-0.280
Rango	0.321
Mínimo	0.186
Máximo	0.508
Suma	1607.110
Cuenta	4504
Nivel de confianza (95,0%)	0.002

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 24.4 Estadística Descriptiva CCM4

Media	0.390
Error típico	0.001
Mediana	0.372
Moda	0.444
Desviación estándar	0.067
Varianza de la muestra	0.004
Curtosis	-0.217
Coefficiente de asimetría	0.272
Rango	0.433
Mínimo	0.1
Máximo	0.533
Suma	1769.642
Cuenta	4528.00
Nivel de confianza (95,0%)	0.002

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En las tablas 21.4; 22.4; 23.4 y 24.4 mostramos la estadística descriptiva de cada una de las celdas en relación a la generación de voltaje, observando que las celdas con *Chlorella vulgaris* generan mayor porcentaje en producción de bioelectricidad que las celda control. En la primera fase de monitoreo se observó variación en la producción de voltaje en las CCMs determinando que el pico de voltaje máximo y el voltaje promedio máximo producido corresponde a la CCM1 obteniendo valores de 0.647V y 0.385V respectivamente, esta celda es 12,42 % mayor en la producción de voltaje que la celda control.

El mínimo valor de voltaje producido fue 0.083V registrado en la CCM2.

Tabla 25.4 Coeficiente de correlación entre las CCMs ciclo 1

Coeficiente de correlación				
	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
CCM1	1			
CCM2	0.902684648	1		
CCM3	0.341019382	0.483414226	1	
CCM4	0.112820908	0.105029428	-0.074431353	1

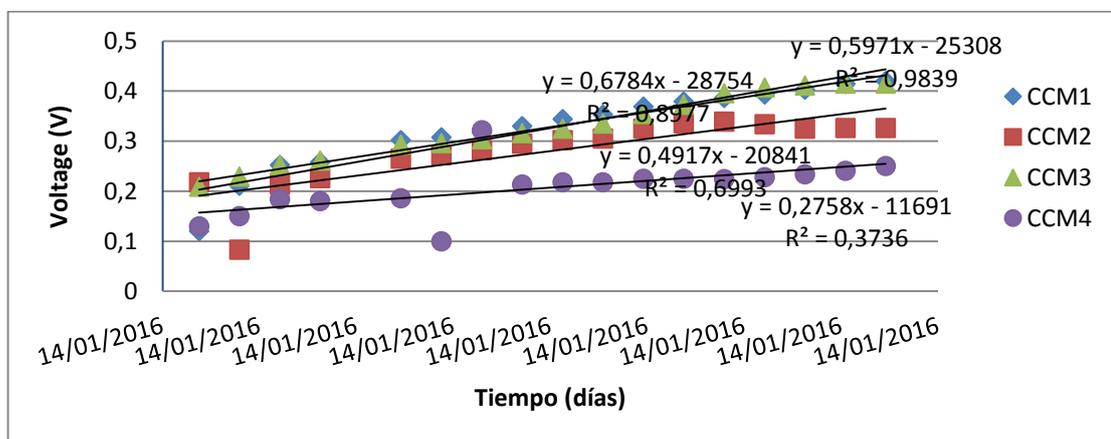
Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 25.4 se analizó la correlación existente entre las CCMs, observando que existe una alta correlación entre las CCM1 y la CCM2 con un coeficiente del 0.9, se observó que la CCM2 tiene correlación media con la CCM3, además no se observa correlación entre la CCM1 y las CCM3 y CCM4. La CCM4 no tiene correlación con ninguna otra CCM. Las CCMs en el primer ciclo no tienen una alta correlación entre sí debido a que en este ciclo el biofilm se estaba formando y los microorganismos no alcanzaban todavía su etapa de estabilidad.

4.1.4.2. Fase de crecimiento y estabilidad de las CCMs del Ciclo 1

En la figura 2.4 se observa la fase de crecimiento microbiano de las CCMs en el ciclo uno.

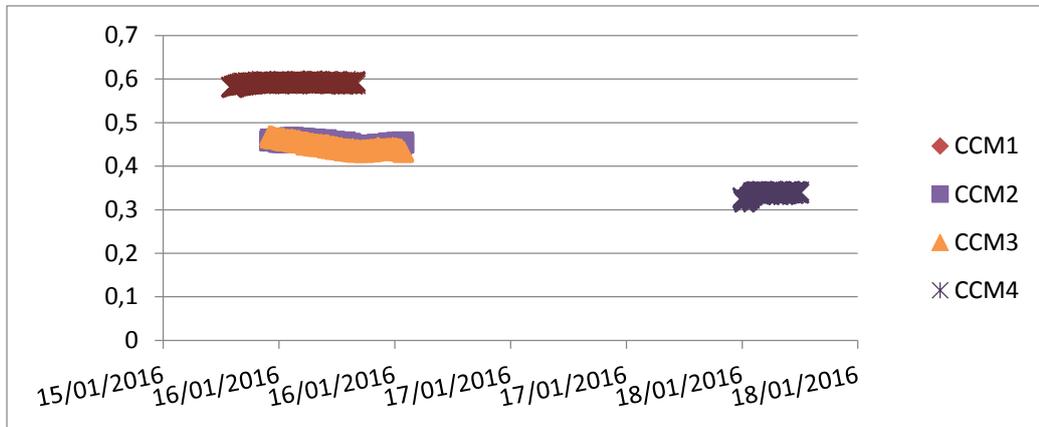
Gráfico 2.4 Gráfica del crecimiento microbiano en el ciclo 1



Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la fase de crecimiento del primer ciclo se observó que las CCM1, CCM2 y CCM3 tuvieron un crecimiento lineal con un valor de R^2 de 0,8977, 0,6993 y 0,9839 respectivamente, en cambio la CCM4 no presentó un crecimiento lineal con un valor de R^2 0,3736.

Gráfico 3.4 Gráfica de la estabilidad de las CCMs ciclo 1



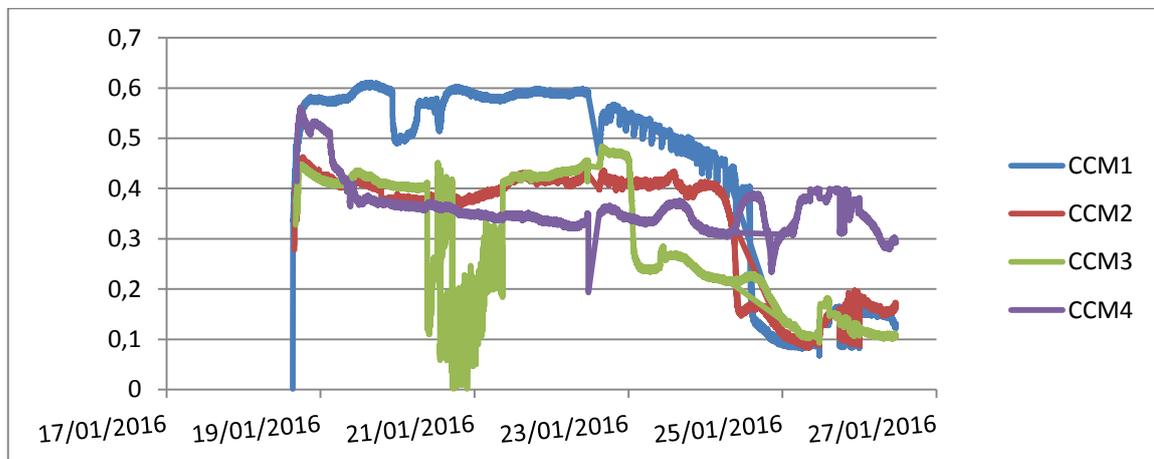
Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Las celdas con biocatalizador *Chlorella vulgaris* (CCM1, CCM2, CCM3) alcanzaron su estabilidad al tercer día, la celda control (CCM4) alcanzó su estabilidad en el quinto día como se observa en la figura 3.4. En la fase estable las CCMs CCM1, CCM2 y CCM3 alcanzaron una mayor producción de voltaje en un 43,025%, 25,657% y 24,553% respectivamente en comparación con la CCM4.

4.1.4.3. Estadística Descriptiva de las CCMs del Ciclo 2

En la figura 4.4 se muestra el comportamiento de las CCMs en la producción de voltaje de la segunda fase que tuvo una duración de 8 días.

Gráfico 4.4 Gráfico de producción de voltaje en CC Ms ciclo 2



Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 26.4 Estadística Descriptiva CCM1

CCM1	
Media	0.449
Error típico	0.002
Mediana	0.537
Moda	0.592
Desviación estándar	0.184
Varianza de la muestra	0.034
Curtosis	-0.520
Coficiente de asimetría	-1.092
Rango	0.609
Mínimo	0.001
Máximo	0.611
Suma	4839.530
Cuenta	10769
Nivel de confianza (95.0%)	0.003

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 27.4 Estadística Descriptiva CCM2

CCM2	
Media	0.336
Error típico	0.0011
Mediana	0.395
Moda	0.412
Desviación estándar	0.117
Varianza de la muestra	0.014
Curtosis	-0.545
Coficiente de asimetría	-1.114
Rango	0.380
Mínimo	0.082
Máximo	0.462
Suma	3613.517
Cuenta	10738
Nivel de confianza (95.0%)	0.002

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 28.4 Estadística Descriptiva CCM3

CCM3	
Media	0.292
Error típico	0.001
Mediana	0.264
Moda	0.410
Desviación estándar	0.128
Varianza de la muestra	0.0165
Curtosis	-1.489
Coefficiente de asimetría	-0.126
Rango	0.482
Mínimo	0.002
Máximo	0.484
Suma	3123.312
Cuenta	10680
Nivel de confianza (95.0%)	0.0024

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 29.4 Estadística Descriptiva CCM4

CCM4	
Media	0.360
Error típico	0.001
Mediana	0.351
Moda	0.363
Desviación estándar	0.051
Varianza de la muestra	0.003
Curtosis	4.449
Coefficiente de asimetría	1.897
Rango	0.368
Mínimo	0.192
Máximo	0.561
Suma	3851.495
Cuenta	10694
Nivel de confianza (95.0%)	0.001

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En las tablas 26.4; 27.4; 28.4 y 29.4 mostramos la estadística descriptiva de cada una de las celdas en relación a la generación de voltaje. En la segunda fase de monitoreo se observó variación en la producción de voltaje en las CCMs determinando que el pico de voltaje máximo y el voltaje promedio máximo producido corresponde a la CCM1 obteniendo valores de 0.611V y 0.449V respectivamente, esta celda es 8,088% mayor que la celda control. El mínimo valor de voltaje producido fue 0.00137V registrado en la CCM1.

Tabla 30.4 Coeficiente de correlación entre las CCMs ciclo 2

Coeficiente de Correlación				
	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
CCM1	1			
CCM2	0,9512649	1		
CCM3	0,70141926	0,7091468	1	
CCM4	0,25348914	0,25422105	0,356272982	1

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

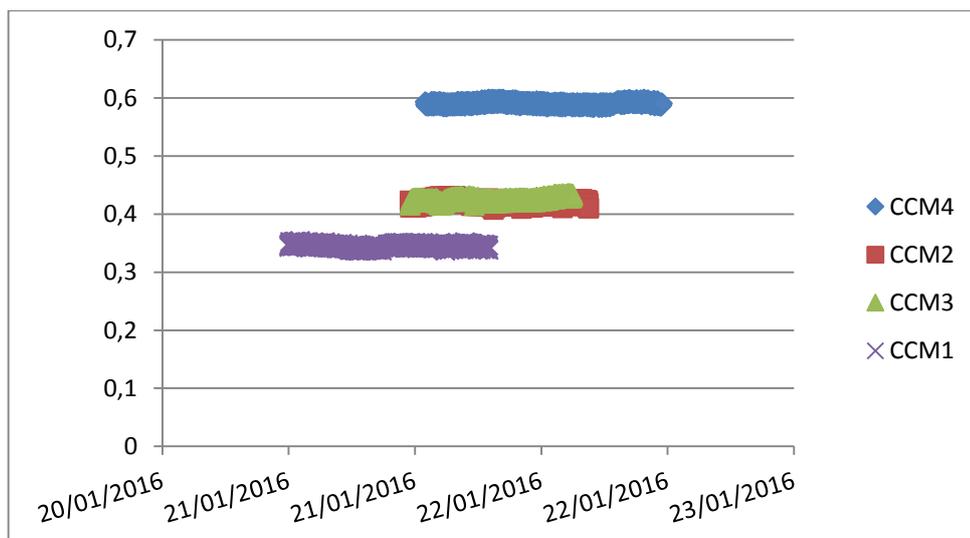
En la tabla 30.4 se analizó la correlación existente entre las CCMs, observando que existe una alta correlación entre CCM1 y con las CCM2 y CCM3 con un coeficiente de correlación de 0.95 y 0.70 respectivamente; además se observa que no existe correlación entre las CCM1, CCM2 y la CCM3 con la CCM4.

En el ciclo dos se observó una alta correlación que se mantienen entre las celdas CCM1, CCM2 y CCM3 (biocatalizador. *Chlorella vulgaris*), debido a que en este ciclo el biofilm ya está formando y los microorganismos han alcanzado su estabilidad.

4.1.4.4. Fase de crecimiento y estabilidad de las CCMs del Ciclo 2

En la fase dos, después del cambio de inoculo se observó un comportamiento en la producción de bioelectricidad casi estable, con un crecimiento microbiano casi instantáneo, debido a la formación del biofilm y a la adaptación de los microorganismos durante la fase 1, alcanzando su fase estable en un lapso entre 3-5 horas, en comparación a la fase 1 que se alcanzó la fase estable en un periodo de 3 días, como se observa en la figura 5.4.

Gráfico 5.4 Gráfica de la estabilidad de las CCMs ciclo 2



Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En el ciclo dos las celdas CCM1, CCM2, CCM3, CCM4 alcanzaron su estabilidad al tercer día. En la fase estable las CCMs CCM1, CCM2 y CCM3 alcanzaron una mayor producción de voltaje en un 41,592%, 17,818%, 18,893% respectivamente en comparación con la CCM4.

4.1.4.5. Curva de polarización

Para la curva de polarización se utilizó la ley de Ohm, se calculó la corriente con la ecuación:

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

Tabla 31.4 Voltaje generado en un circuito cerrado por las CCMs

	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
Resistencias(Ohmios)	Voltaje1(V)	Voltaje2(V)	Voltaje3(V)	Voltaje4(V)
100	9,506	21,996	18,650	24,0653128
560	41,860	88,008	83,753	52,0046781
1000	61,195	127,054	126,653	72,9738607
5600	177,413	266,979	272,772652	194,947452
10000	218,293	308,800	316,540143	240,550745

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 31.4 se observa la curva de polarización que se se realizó con distintas resistencias (ohmios), registrando el voltaje (V), con ello se determinó la intensidad de corriente (mA), potencia (mW), con un área superficial de 1m², la tabla 29.4 se presenta el voltaje generado por las CCMs. El voltaje según la ley de ohm se representa como V= R.I.

Tabla 32.4 Intensidad de Corriente en un circuito cerrado de las CCMs

CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
Corriente 1 (mA)	Corriente 2 (mA)	Corriente 3 (mA)	Corriente 4 (mA)
3,802	8,798	7,460	9,626
2,990	6,286	5,982	3,715
2,448	5,082	5,066	2,919
1,267	1,907	1,948	1,392
0,873	1,235	1,266	0,962

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

La tabla 32.4 presenta la intensidad de corriente en miliamperios (mA) determinada por la ecuación: $I = \frac{V}{R}$

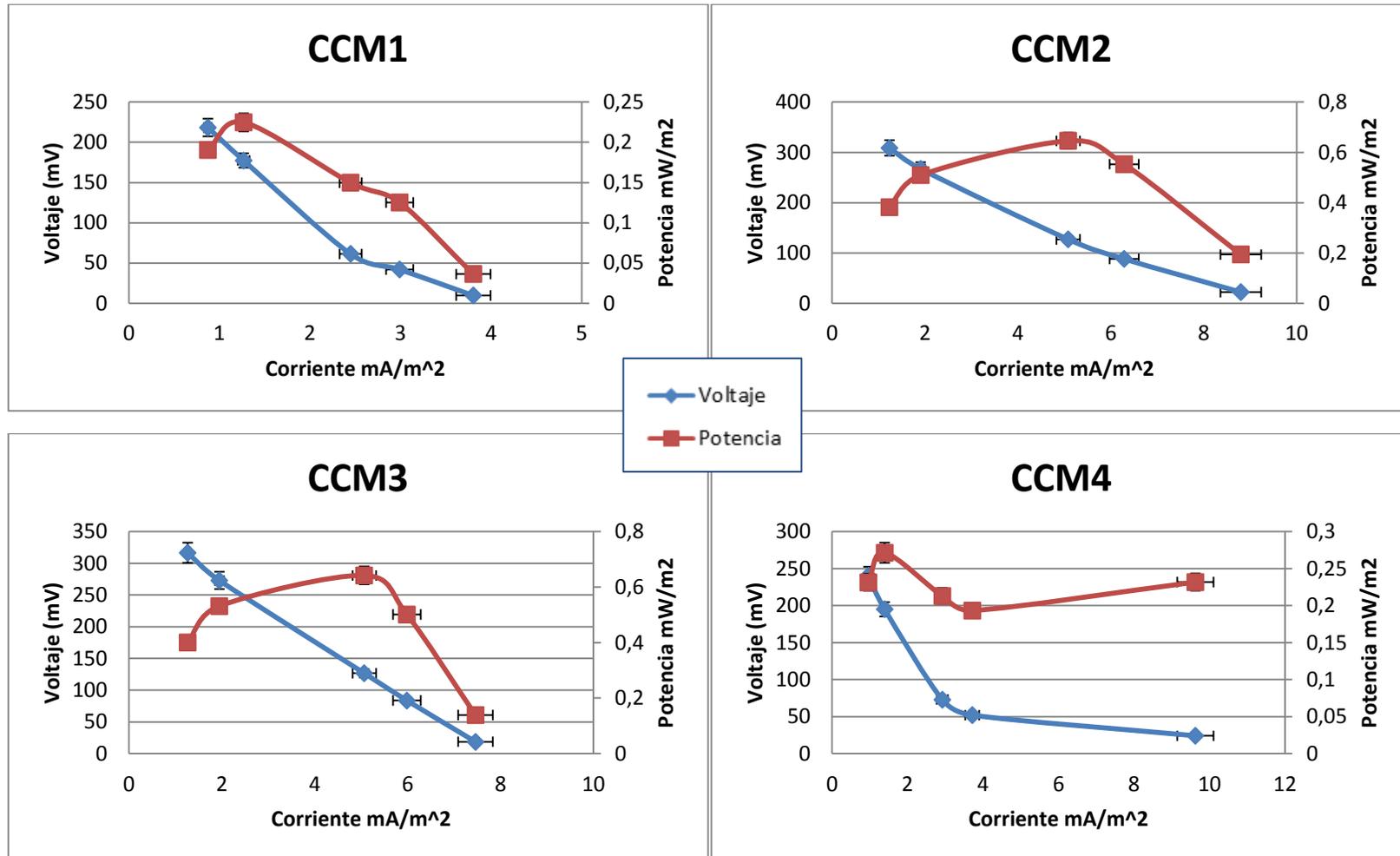
Tabla 33.4 Potencia en un circuito cerrado de las CCMs

CCM1	CCM2	CCM3	CCM4	
Potencia 1 (mW)	Potencia 2 (mW)	Potencia 3 (mW)	Potencia 4 (mW)	Resistencias (Ohmios)
0,036	0,194	0,139	0,232	100
0,125	0,553	0,501	0,193	560
0,150	0,645	0,642	0,213	1000
0,225	0,509	0,531	0,271	5600
0,191	0,381	0,401	0,231	10000

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

La tabla 33.4 presenta la potencia en mili Watts (mW) determinada por la ecuación: $P = \frac{V^2}{R}$

Gráfico 6.4 Gráficas de la curva de polarización de las CCMs



Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la figura 6.4 se presenta las curvas de polarización la misma que se utilizó para encontrar la potencia máxima entregada por el sistema (CCM), la CCM1 alcanzó su potencia máxima de 0,224mW, con la resistencia de 5.6 kΩ y el voltaje máximo producido fue de 218,298V alcanzado con la resistencia de 10 kΩ.

La CCM2 alcanzó la potencia más alta de 0,645mW, con la resistencia de 1kΩ, en cuanto al voltaje máximo de 308,800V con una resistencia de 10 kΩ. La CCM3 alcanzó la potencia más alta de 0,641mW, con la resistencia de 1kΩ, en cuanto al voltaje máximo de 316,540V con una resistencia de 10 kΩ. La CCM4 alcanzó la potencia más alta de 0,271mW, con la resistencia de 5.6kΩ, en cuanto al voltaje máximo de 240,550V con una resistencia de 10 kΩ.

Las CCM1 y CCM4 alcanzaron la máxima potencia con la resistencia de 5.6kΩ y las CCM2 y CCM3 con una resistencia de 1kΩ. Todas las CCMs alcanzan su voltaje máximo con la resistencia de 10 kΩ.

4.2. Pruebas de hipótesis

4.2.1. Prueba ANOVA para el ciclo 1

La prueba ANOVA se realizó para determinar si al menos 1 CCM es diferente a las demás CCMs, el nivel de significancia fue de 0,05 teniendo las siguientes hipótesis:

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

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

Donde μ representa a las CCMs. Para aceptar la H_0 el valor de la probabilidad debe ser mayor al nivel de significancia y caso contrario se rechaza la H_0 y se acepta la H_1 . En la tabla 34.4 se muestra los factores necesarios para realizar la prueba de ANOVA.

Tabla 34.4 Resumen para la prueba ANOVA Ciclo 1

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
CCM1	4446	1984,119	0,446	0,018
CCM2	4446	1371,798	0,308	0,014
CCM3	4446	1588,834	0,357	0,008
CCM4	4446	1744,864	0,392	0,004

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 35.4 Análisis de varianza del Ciclo 1

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	44,931	3	14,977	1312,478	0	2,605
Dentro de los grupos	202,893	17780	0,011			
Total	247,824	17783				

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 35.4 nos indica mediante el análisis de varianza que la prueba ANOVA para el ciclo uno, concluye que dado a que no se existe evidencia sustancial se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa que nos indica: que al menos una CCM es diferente de las demás CCMs.

4.2.2. Prueba ANOVA para el ciclo 2

La prueba ANOVA se realizó para determinar si al menos 1 CCM es diferente a las demás CCMs, el nivel de significancia fue de 0,05 teniendo las siguientes hipótesis:

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

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

Tabla 36.4 Resumen para la prueba ANOVA Ciclo 2

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
CCM1	10769	4839,530701	0,449394624	0,03418449
CCM2	10738	3613,517014	0,336516764	0,01361526
CCM3	10680	3123,312165	0,292444959	0,01653339
CCM4	10694	3851,495491	0,360154806	0,00256803

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 36.4 se muestra los factores necesarios para realizar la prueba de ANOVA. En la tabla 35.4 nos indica mediante el análisis de varianza que la prueba ANOVA para el ciclo dos.

Tabla 37.4 Análisis de varianza del Ciclo 2

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	140,719	3	46,906	2799,933	0	2,605
Dentro de los grupos	718,305	42877	0,016			
Total	859,024	42880				

Con la prueba ANOVA para el ciclo dos, se concluyó que dado a que no se existe evidencia sustancial, teniendo que el valor de probabilidad es menor al nivel de significancia, se rechaza la H_0 y se acepta la H_1 , que nos indica que al menos una CCM es diferente de las demás CCMs.

4.2.3. Pruebas Post Hoc

4.2.3.1. Prueba de Tukey ciclo 1

La prueba de tukey se utiliza para analizar si los grupos (CCMs) pertenecen a la misma población. Si la diferencia entre grupos es mayor que el valor de HSD (Diferencia Honestamente Significativa), se concluye que existe diferencia significativa entre los grupos como se muestra en la tabla 39.4, 42.4 para el ciclo 1 y ciclo 2 respectivamente.

Tabla 38.4 Indicadores para el cálculo de la Prueba de Tukey

HSD	0,006
MULTIPLICADOR	3,630
Mse	0,011
N	4446

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 39.4 Prueba de Tukey

	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
CCM1		0,137	0,089	0,053
CCM2			0,049	0,084
CCM3				0,035
CCM4				

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 40.4 Resultado de la prueba de Tukey

	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
CCM1		existe	existe	existe
CCM2			existe	existe
CCM3				existe
CCM4				

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 40.4 observamos que mediante el análisis de la prueba de tukey se demostró que existe diferencia significativa entre los grupos (CCM1, CMM2, CCM3, CCM4), concluyendo que no pertenecen a la misma población.

4.2.3.2. Prueba de Tukey ciclo 2

En la tabla 41.4 observamos los indicadores para el cálculo de prueba de Tukey.

Tabla 41.4 Indicadores para el cálculo de la Prueba de Tukey

HSD	0,004547753
MULTIPLICADOR	3,63
Mse	0,016784971
n	10694

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 42.4 Prueba de Tukey

	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
CCM1		0,113262332	0,157385124	0,08953114
CCM2			0,044122792	0,02373119
CCM3				0,06785398
CCM4				

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

Tabla 43.4 Resultado de la prueba de Tukey

	CCM1	CCM2	CCM3	CCM4
CCM1		EXISTE	EXISTE	EXISTE
CCM2			EXISTE	EXISTE
CCM3				EXISTE
CCM4				

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

En la tabla 43.4 observamos que mediante el análisis de la prueba de tukey se demostró que existe diferencia significativa entre los grupos (CCM1, CMM2, CCM3, CCM4), determinando que no pertenecen a la misma población.

CONCLUSIONES

- Se generó bioelectricidad mediante CCMs a partir de aguas residuales industriales textiles y con lodos activados de la fábrica “FASHION COLOR. El voltaje más alto generado en las celdas CCM1, CCM2, CCM3, fue en el ciclo uno con datos de 0,647 V, 0,472 V y 0,507V, respectivamente en la CCM4 se registró el voltaje más alto en el ciclo 2 con 0,561V.
- Debido a la generación de voltaje más altos se demostró que existe una influencia de la microalga *Chlorella vulgaris* como biocatalizador en Celdas de Combustible Microbiano, como se pudo demostrar tanto en los ciclos uno y dos que las CCM1, CCM2, y CCM3 tienen una producción de voltaje mayor que la CCM4, el rango de voltaje de las tres primeras celdas fue de 0,609 V, 0,380V, 0,482V y de las celdas control fue de 0,368V notándose que las celdas con biocatalizador tiene una mayor generación de voltaje, con un porcentaje del 39,57 con referencia a la CCM1.
- Se evaluó el comportamiento de los metales pesados cromo y zinc en cada una de las CCMs demostrando que tuvieron una disminución significativa en su concentración de un 50% y mayor al 98%, respectivamente, al disminuir la concentración se puede concluir que los metales pesados pasaron a un estado no tóxico para el agua.
- Se identificó la remoción del color en cada una de las CCMs en relación a la muestra matriz dando como resultado de remoción en la CCM1 50,37%, CCM2 42,57%, CCM3 83,78% y CCM4 79,20% en el ciclo 1. En el ciclo dos la CCM1 56,6%, CCM2 92,9%, CCM3 58,9% y CCM4 68,4%. La remoción de color en el agua de descarga de las celdas fue visiblemente notable.

BIBLIOGRAFÍA

AGUA SIMPLE. Contaminación de ríos [en línea]. México, D.F., 2012. [Consulta: 15-01-2016] Disponible en: http://www.aguasimple.org.mx/revistav3/index.php?option=com_content&view=article&id=220:ique-es-la-contaminacion-de-los-rios&catid=33:notas-de-agua-v3&Itemid=6

ALLAUCA, G & GUAMBO, A. Estudio de la influencia de la demanda Bioquímica de Oxígeno de Aguas Residuales en la producción de Bioelectricidad de una Celda de Combustible Microbiano. ESPOCH, Facultad de Ciencias, Escuela de Ciencias Químicas. Riobamba-Ecuador. 2015, pp. 55-68.

ALTAS, L. “Inhibitory effect of heavy metals on methane-producing anaerobic granular sludge”. *Hazardous Materials*, Vol. 162, No. 2 (2009), (Colombia) pp. 1551–1556.

APHA (1998) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18a ed. APHA, AWWA, WEF. Washington, DC, EEUU. 1170 pp.

ARMAS, P. & RAMÍREZ, G. Generación de Electricidad Microbiana con diferentes matrices orgánicas mediante celdas de combustibles. ESPOCH, Facultad de Ciencias, Escuela de Ciencias Químicas. Riobamba-Ecuador. 2015, pp. 35-42.

B. MIN. CHENG Y LOGAN. “Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells”. *Water Res*, vol. 39 (2005), (Estonia) pp. 1675–1686

BARSANTI, Laura y GUALTIERI, Paolo. *Algae. Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*, Taylor & Francis group, 2006, pp. 201-210.

BUITRÓN, Germán. PÉREZ, Jaime. “Producción de electricidad en celdas de combustible microbianas utilizando agua residual: efecto de la distancia entre electrodos”. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 14, n°1 (2011), (México) pp. 5-11

CASTRO, Lourdes P.; LUNA, Víctor M.; VILLALOBOS, Rafael. “Estado del arte y perspectivas del uso de biosensores ambientales en México”. *Revista internacional de contaminación ambiental*, vol. 23, n° 1(2007), (México) pp. 35-45.

CORREA, Vega et al. “Microorganismos bioelectrogénicos” *Environ. Sci. Technol*, vol 19, n°4 (2015), (México) pp. 765-775.

CUIDO EL AGUA, Aguas Residuales [en línea]. Tijuana, México C, 2015. [Consulta: 12-01-2016] Disponible en:

<http://www.cuidoelagua.org/empapate/aguaresiduales/aguaresiduales.html> Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43219047001>

DU, Z. LI, H. & GU, T. “A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy”. *Biotechnology Advances*, vol.25,nº3 (2007),(Mexico) pp. 464-482

E. W. BECKER, et al. *Microalgae biotechnology and microbiology*. Cambridge, Great Britain 1995, pp. 50-55.

FALCÓN, Axel.; LOZANO, Esteban.; JUÁREZ, Katy. “Bioelectricidad”. *Instituto de Biotecnología*, Vol. 13, No. 3 (2009), (México) pp. 40-52.

FERIA DE LAS CIENCIAS UNAM. Cultivo y elaboración de un producto comestible de *Chlorella vulgaris* [en línea]. México, 2009. [Consulta: 08-01-2016] Disponible en: <http://www.feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria17/21.pdf>

FÍSICA PRÁCTICA. Potencial eléctrico [en línea]. México, 2015. [Consulta: 09-01-2016] Disponible en: <http://www.fisicapractica.com/potencial.php>

G.W. Chen, S.J. Choi, T.H. Lee, G.Y. Lee, J.H. Cha, C.W. Kim.”Application of biocathode in microbial fuel cells: cell performance and microbial community”. *Appl. Microbiol. Biot.*, vol.79,nº30 (2008) pp. 379–388

GARZA, M.T., ALMAGUER, V., RIVERA, J. & LOREDO, J. “Bioingeniería aplicada a una columna empacada con *Chlorella* sp. Inmovilizada para la remoción de metales pesados”. *Ciencia UNAL*, vol. 13, nº2 (2010), (Colombia) pp. 174-177.

GHASEMI, Wan. ISMAIL, M. RAHIMNEJAD, A.F et al. “Effect of pre-treatment and biofouling of proton exchange membrane on microbial fuel cell performance”. *Int. J. Hydrogen Energy*, vol.86, nº38 (2012), (Letonia)pp. 5480–5484

GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO DE BENÍTEZ. Economía y Ubicación [en línea]. Ecuador, 2011. [Consulta: 09-01-2016] Disponible en: <http://www.benitez.gob.ec>

GREGORY K & LOVLEY D. “Remediation and recovery of uranium from contaminated subsurface environments with electrodes”. *Environ. Sci. Technol*, vol 39, nº4(2005), (Colombia) pp. 8943-8947.

HASSAN, S. EL-RAB, M. RAHIMNEJAD et al.”Electricity generation from rice straw using a microbial fuel cell”. *Int. J. Hydro. Eng*, vol.39, nº 7 (2014),(Francia) pp. 9490–9496

HSIEH, M. C. y CHUNG, Y. C. “Measurement of biochemical oxygen demand from different wastewater samples using a mediator-less microbial fuel cell biosensor”. *Environmental technology* vol. 35, n°17 (2014), (Japón) pp. 2204-2211.

HUANG, R.J. ZENG, Angelidaki. “Electricity production from xylose using a mediator-less microbial fuel cell”. *Bioresource. Technol.*, vol.99,n°25 (2008),(Dinamarca) pp. 4178–4184

INECC. Metales Pesados [en línea]. México, D.F, 2009. [Consulta: 14-01-2016] Disponible en: <http://www.inecc.gob.mx/sqre-temas/763-aqre-metales>

INFANTE, Cherlys, et al. “Propagación de la microalga *Chlorella* sp. en cultivo por lote: Cinética del crecimiento celular”. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, vol. 3, n° 2 (2012), (Colombia) pp. 159-164.

JIANG et al. “A review of anode materials development in solid oxide fuel cells”. *Journal of Materials Science*, vol. 39, n° 14(2004), (USA) pp. 4405-4439.

KANNO, Toshihiro y KAZIE, Uyama. “*Chlorella vulgaris*: The powerful Japanese Medical Green algae as a biological response modifier”, *Woodland publishing*, vol. 35, n° 46 (2005), (México) p 63.

KIM et al. “A novel bio monitoring system using microbial fuel cells”. *Environmental Monitoring* vol. 9, n° 12 (2007), (USA) pp. 1323– 1328.

KONISHI et al. “Protective effect of an acidic glycoprotein obtained from culture of *Chlorella vulgaris* sp against myelo-suppression by 5-fluorouracil cancer immunol immunolother” vol. 46, n° 36 (1996), (España) pp.268-274.

LASA, I., et al. “Biofilms bacterianos e infección”. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, vol. 28, n° 2 (2005). (España) pp. 163-175.

LENNTECH. Industria textil [en línea]. Rotterdamseweg, Delft, Países Bajos, 2012. [Consulta: 12-01-2016] Disponible en: <http://www.lenntech.es/industria-textil.htm>

LEÓN, G et al. “Propiedades catalíticas del humus y su potencial aplicación en la degradación de contaminantes prioritarios”. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, vol. 3, n° 2 (2007), (Chile) pp. 118-128.

LIU H, CHENG S y LOGAN BE. “Power generation in fed-batch microbial fuel cell as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration”. *Environmental Science Technology*, n°. 39 (2005), (USA) pp. 5488-5493.

LIU, Bingchuan; LEI, Yu; LI, Baikun. “A batch-mode cube microbial fuel cell based “shock” biosensor for wastewater quality monitoring”. *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 62 (2014), (USA) pp. 308-314.

LIU, H. RAMNARAYANAN, R. y LOGAN, B.E. “Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell”. *Environ. Sci. Technol*, vol.38, n°10 (2004), (España) pp. 2281-2285

LOGAN BE y REAGAN JM. “Microbial fuel cells: Challenges and applications”. *Environmental Science Technology*, n°40, (2006), (España) pp. 5172-5180.

LOGAN, B.E. REGAN, J. “Microbial fuel cells-challenges and applications”. *Environ. Sci. Technol*, vol. 40 (2006), (Mexico) pp. 5172–5180

LOGAN, et al. Microbial fuel cells: methodology and technology”. *Environmental Science and Technology*, vol.72,n°40 (2006), (Bulgaria) pp.5181-5192.

LOGROÑO, Washington. Producción de bioelectricidad microbiana utilizando residuos orgánicos como sustrato para dos casos de estudio: Andes- Amazonía, Ecuador. ESPOCH, Facultad de Ciencias, Escuela de Ciencias Químicas. Riobamba-Ecuador. 2014. pp. 40-55; 70-80.

LOVLEY D. “Extracellular electron transfer: wires, capacitors, iron lungs, and more”. *Geobiol*, vol. 6, n° 43 (2008), (Japón) pp. 225-231.

MALGAS. Aplicaciones de las microalgas: estado de la técnica [en línea]. España, 2013. [Consulta: 16-01-2016] Disponible en: <http://www.ast-ingenieria.com/guia-malgas-1>

METHÉ, B et al. “Genome of *Geobacter sulfurreducens*: metal reduction in subsurface environments”. *Science*, vol. 302, n° 34 (2003), (EE.UU) pp.1967-1969.

MOHAN, S. MANOJ, Muthur. “Electricity generation using microbial fuel cells”. *Energy*, vol.33 (2008), (Italia) pp. 423–426

NAJAFPOUR, G. RAHIMNEJAD, M. GHORESHI, A. “The enhancement of a microbial fuel cell for electrical output using mediators and oxidizing agents”. *Energy Sourc*, vol.33,n°12 (2011), (Canada) pp. 2239–224

OH, S. MIN, B. LOGAN, BE. “Cathode performance as a factor in electricity generation in microbial fuel cells”. *Environ. Sci. Technol*, vol.38 (2004), (Mexico) pp. 4900–4904.

PATIL, S.; HARNISCH, F.; SCHRODER, U. “Toxicity response of electro active microbial biofilms a decisive feature for potential biosensor and power source applications”. *ChemPhysChem*, vol. 11, n°.13 (2010), (Chile) pp. 2834–2837.

PHAM et al. “High shear enrichment improves the performance of the anodo philic microbial consortium in a microbial fuel cell”. *Microbial Biotechnology*, Vol. 1, No. (2008), (México) pp. 487–496.

RABAEY, K. CLAUWAERT, P. AELTERMAN, P.VERSTRAETE, W.” Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation”. *Envairomental Science and Technology*, vol.39,n°5 (2005), (México) pp.8077-8082.

RABAEY,K.VERSTRAETE, W. “Microbial furl cells: novel biotechnology for energy generation”.*Trens Biotechnology*, vol.96 n°23(2005),(Eslovenia)pp.291-298.

RAHIMNEJAD,M. NAJAFPOUR,G. GHOREYSHI,A. ”Effect of mass transfer on performance of microbial fuel cell”.*Mass Trans. Chem. Eng. Proc*, 5 (2011),(Francia) pp. 233–250

REVELO, Dolly M et al.“Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): Un Reto para la Remoción de Materia Orgánica y la Generación de Energía Eléctrica”. *Información tecnológica*, vol. 24, n° 6(2013), (Colombia) pp. 17-28

RISSO, C. “Genome-scale comparison and constraintbased metabolic reconstruction of the facultative anaerobic Fe (III)-reducer *Rhodoferrax ferrireducens*”. *BMC Genomics*, vol. 22: n° 10 (2009), (Great Britain) p. 447.

RIVERA, Nicolás, *Curva de polarización* [en línea]. España, 2015 [Consulta: 10-01-2016] Disponible en:<http://hipertextual.com/curva-de-polarización.htm>

SCHAMPHELAIRE, K y BOECKX, W. Verstraete, “Evaluation of biocathodes in fresh water and brackish sediment microbial fuel cells” *Appl. Microbiol. Biotechnol*, vol. 87, n° 5 (2010), (USA) pp. 1675-1687.

SCHRÖDE,U.”Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency”.*Phys. Chem. Chem. Phys*, vol.9 (2007), (Epaña) pp. 2619–2629

SHEN, Yujia, et al. “Effect of shear rate on the response of microbial fuel cell toxicity sensor to Cu (II)”. *Bioresource technology*, vol. 136, (2013), (Singapor) pp. 707-710.

TULAS, *Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: Recurso Agua, Libro VI, Anexo 1*

VIRDIS, S. FREGUIA, R.A. ROZENDAL, K. “Microbial Fuel Cells” *Elsevier Science publisher*, vol. 52, n° 25(2011),(Amsterdam)pp. 536-587.

YUJIE, Feng, et al. “Treatment of carbon fiber brush anodes for improving power generation in air–cathode microbial fuel cells”. *Journal of Power Sources*, Vol. 195, n° 7 (2010), (Japón) pp. 1841-1844, [09-01-2016]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2009.10.030>.

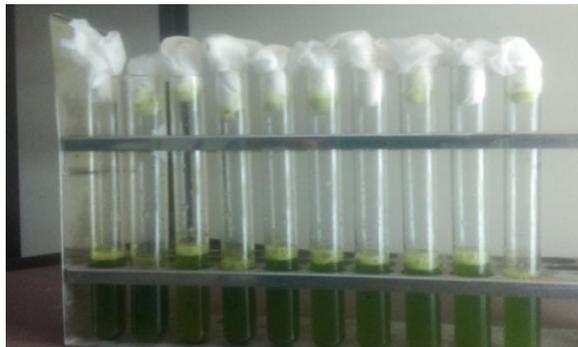
ANEXOS

ANEXO A. CULTIVO DE MICROALGA *Chlorella vulgaris*

Fotografía 1. Cultivo puro de microalgas *Chlorella vulgaris*



Fotografía 2. Inoculación del cultivo de *Chlorella vulgaris*



Fotografía 3. Mantenimiento de las microalgas *Chlorella vulgaris*



ANEXO B. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Fotografía 4.Fábrica Fashion Color.



Fotografía 5.Muestreo de agua residual textil de la fábrica



Fotografía 6.Muestreo de lodo activado de la fábrica Fashion Color



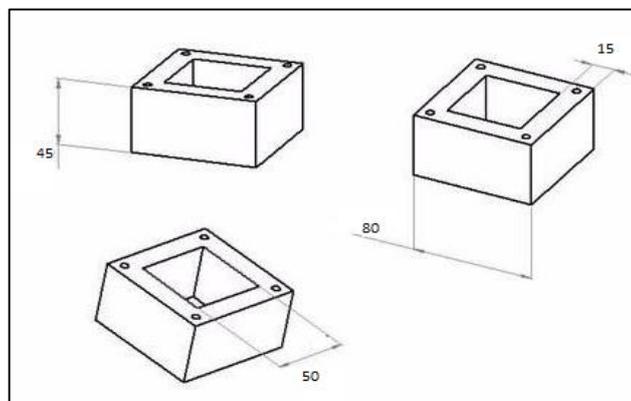
Fotografía 7. Muestra del agua residual textil



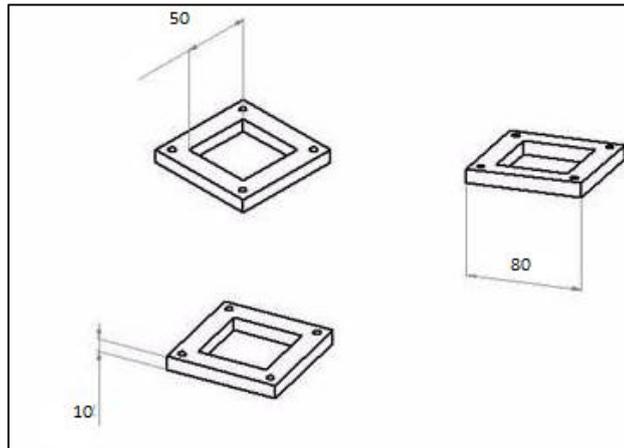
Fotografía 8. Muestra de lodo activado



Fotografía 9. Configuración de CCM., cámara anódica.



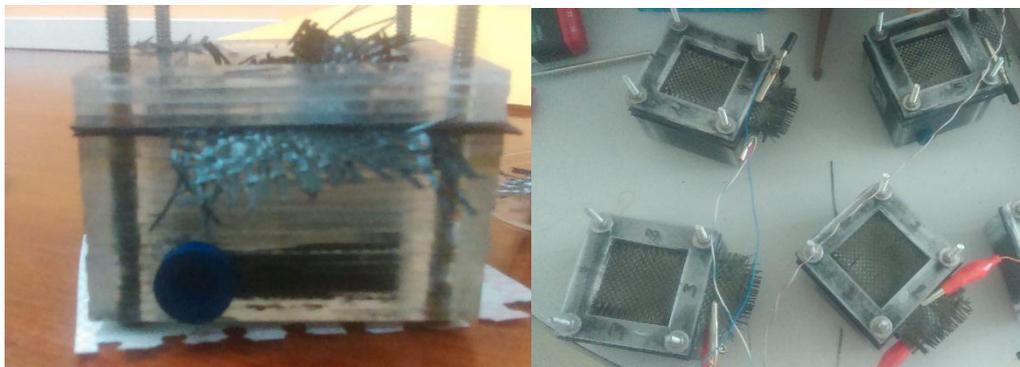
Fotografía 10. Configuración de CCM., cámara catódica.



Fotografía 11. Formación del biofilm del cátodo



Fotografía 12. Ensamblaje de las CCMs



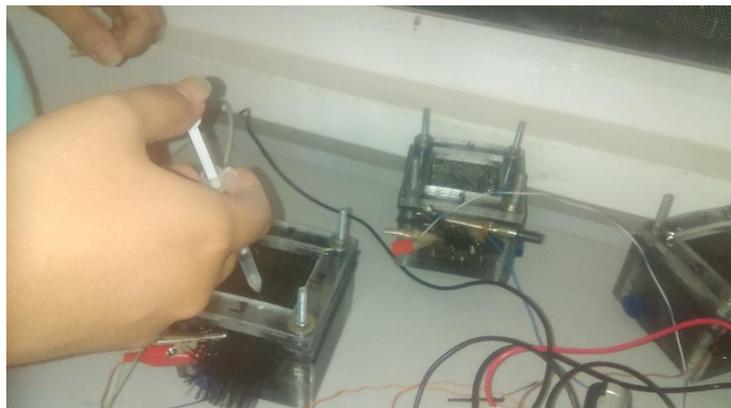
Fotografía 13. Monitoreo de las CCMs



Fotografía 14. Descarga del inóculo



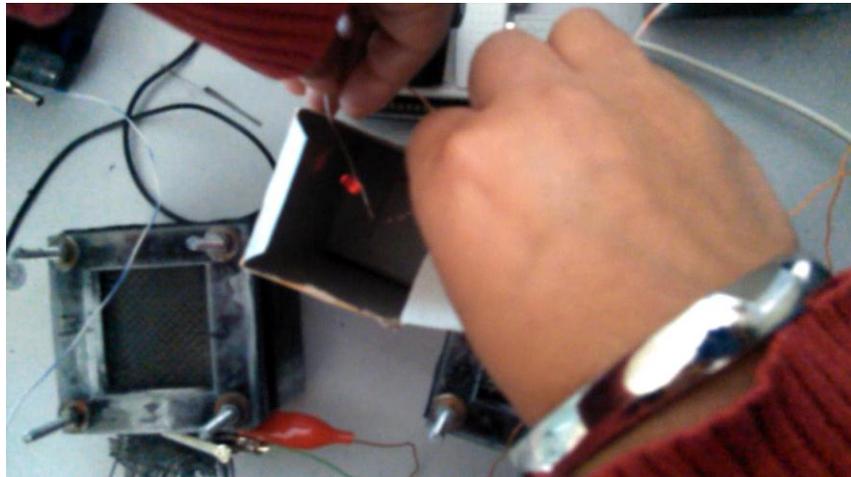
Fotografía 15. Adición de medio de cultivo al biocátodo



Fotografía 16.Medición de pH



Fotografía 17. Aprovechamiento de la electricidad producida por las CCMs (encendido de un led)



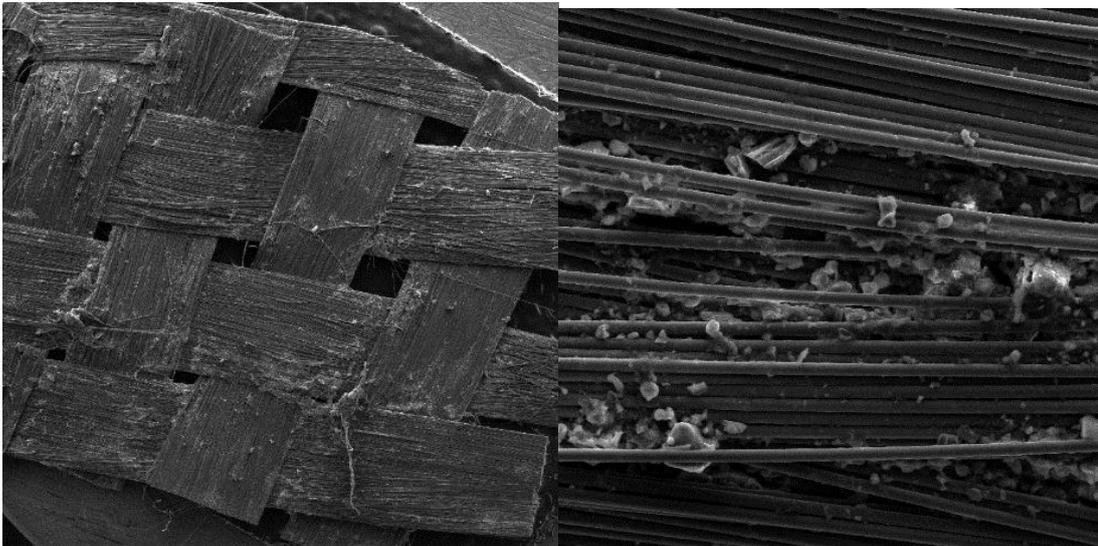
Fotografía 18. Microscopio Electrónico de Barrido



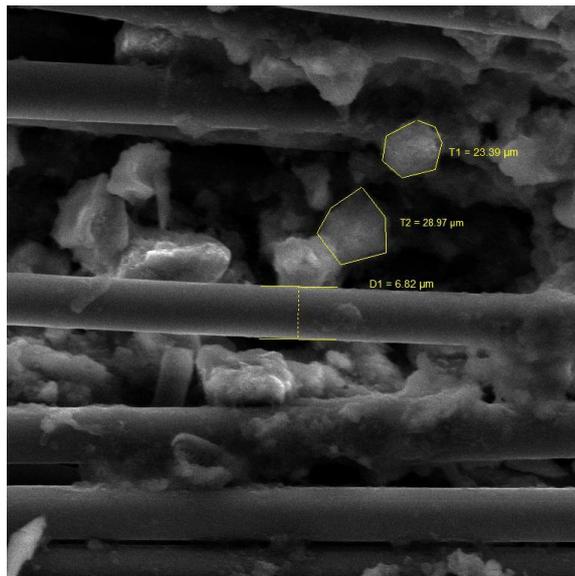
Fotografía 19. Muestra para análisis en el MBE



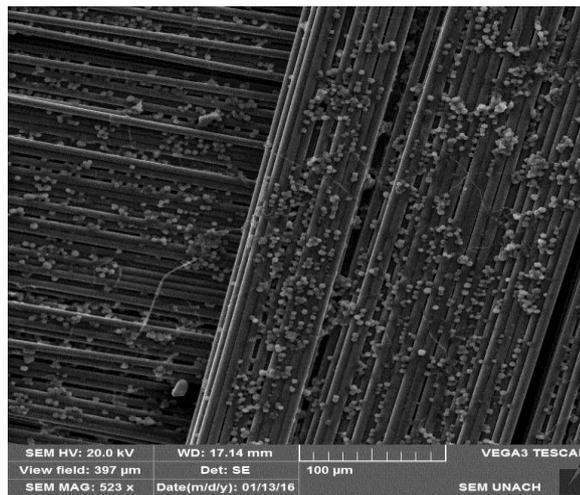
Fotografía 20. Microscopía de la creación del biofilm del ánodo 2mm-50 μm



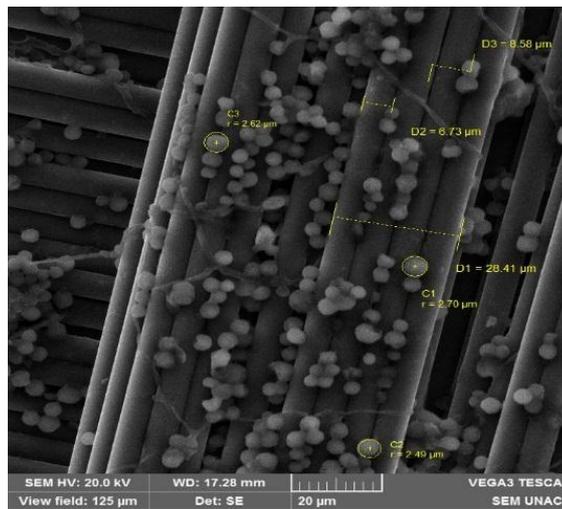
Fotografía 21. Microscopía de la creación del biofilm del ánodo 20 μm



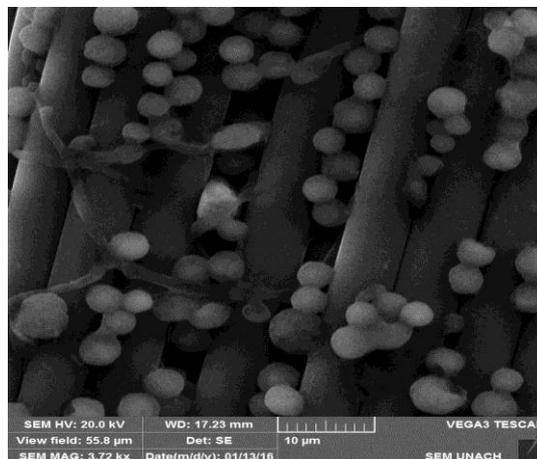
Fotografía 22. Microscopía de la creación del biofilm del cátodo 100 μm



Fotografía 23. Microscopía de la creación del biofilm del cátodo 20 μm



Fotografía 24. Microscopía de la creación del biofilm del cátodo 10 μm



ANEXO C. PREPARACIÓN DEL ELECTRODO ÁNODO Y CÁTODO (FIBRA DE CARBONO)

Fotografía 25. Pesaje de Persulfato de Amonio



Fotografía 26. Solución de Persulfato de Amonio



Fotografía 27. Electrodo Ánodo sumergido en solución persulfato de amonio



Fotografía 28. Preparación de la solución de H_2SO_4



Fotografía 29. Ánodos sumergidos a la solución de H_2SO_4



Fotografía 30.Secado de Ánodos y Cátodos en la Mufla

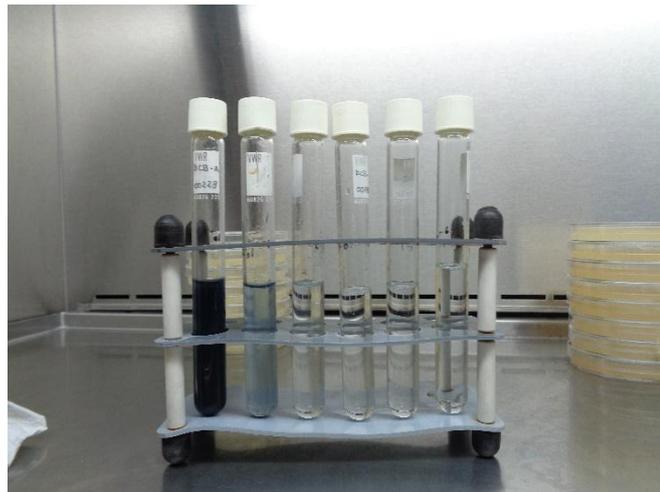


ANEXO D. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Fotografía 31. Medio de cultivo PCA



Fotografía 32. Diluciones de 10^{-1} a 10^{-7} de la muestra.



Fotografía 33. Siembra de aerobios



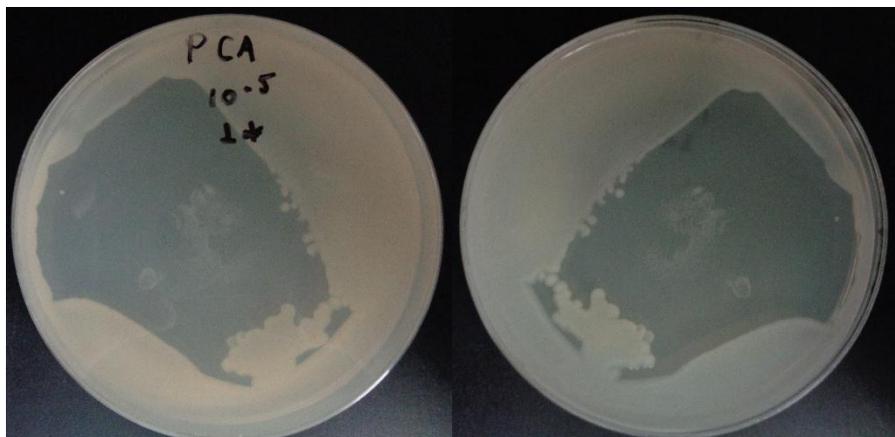
Fotografía 34. . Siembra de anaerobios



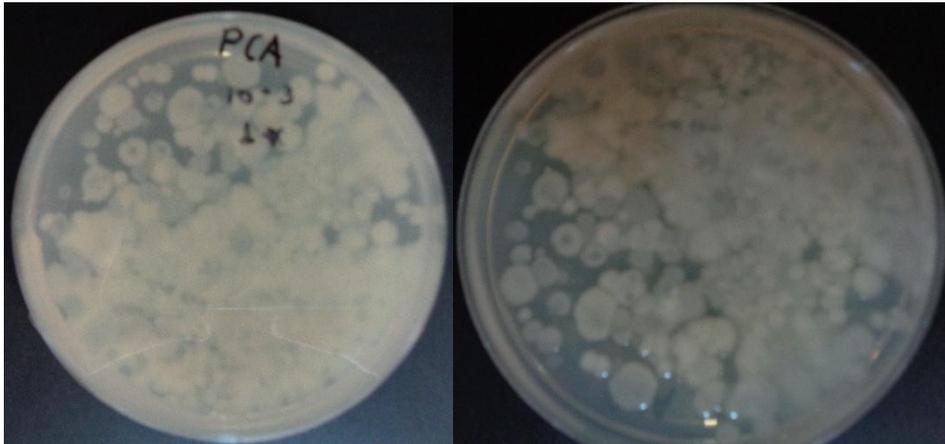
Fotografía 35. Incubación de anaerobios



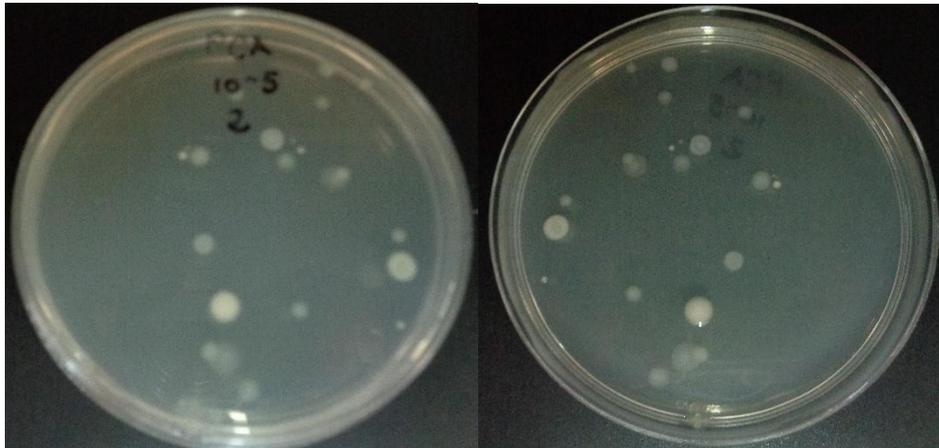
Fotografía 36. Crecimiento de anaerobios dilución 10^{-5}



Fotografía 37. Crecimiento de anaerobios dilución 10^{-3}



Fotografía 38. Crecimiento de aerobios dilución 10^{-5}



Fotografía 39. Crecimiento de aerobios dilución 10^{-3}



ANEXO E. ANALISIS FÍSICO-QUÍMICOS

Análisis Muestra inicial



LABORATORIO DE SERVICIOS AMBIENTALES



Nº SE: 020-16

INFORME DE ANALISIS

NOMBRE: Benito Mendoza T., Ph.D. **INFORME Nº** 020-16
EMPRESA: Proyecto de Investigación **Nº SE:** 020-16
DIRECCIÓN: Av. Antonio José de Sucre Km 1 ½ vía a Guano
FECHA DE RECEPCIÓN: 14 - 02 - 16
TELÉFONO: **FECHA DE INFORME:** 20-02-16
NÚMERO DE MUESTRAS: 1, Agua residual industria textil **TIPO DE MUESTRA:** Agua
IDENTIFICACIÓN: **MA - 044-16** Muestra Inicial

El laboratorio se responsabiliza solo del análisis, no de las muestras.

RESULTADO DE ANÁLISIS

MA - 044-16

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* Color	Upt-co	STANDARD METHODS 2120 C	80800	N/A	14 - 02 - 16
* DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D mod	45600	N/A	14 - 02 - 16
* DBO5	mg O2/l	STANDARD METHODS 5210 - B	4050	N/A	14 - 02 - 16
* Sólidos Suspendidos	mg/l	STANDARD METHODS 2540 - D	17900	N/A	14 - 02 - 16
* Nitrato - N	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - NO3 - E mod	6980	N/A	14 - 02 - 16
* Fosfatos	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E	558	N/A	14 - 02 - 16
* Cromo	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Cr - 3111B	0,2289	N/A	14 - 02 - 16
* Zinc	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Zn - 3111B	0,0050	N/A	14 - 02 - 16
* Fósforo Total	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E mod	186	N/A	14 - 02 - 16

MÉTODOS UTILIZADOS: Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales APHA, AWWA, WPCF, STANDARD METHODS 21ª EDICIÓN y métodos HACH adaptados del STANDARD METHODS 21ª EDICIÓN.

RESPONSABLES DEL ANÁLISIS:

Dr. Juan Lara R


Dr. Juan Carlos Lara R.
TÉCNICO L.S.A.

- Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).
- Los ensayos marcados con (*) no se encuentran dentro del alcance de acreditación del SAE.
- Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.

Página 1 de 1

FMC2101-01

L.S.A. Campus Máster Edison Riera Km 1 ½ vía a Guano Bloque Administrativo.

Análisis Muestras Fase I



LABORATORIO DE SERVICIOS AMBIENTALES



Nº SE: 005-16

INFORME DE ANALISIS

NOMBRE:	Benito Mendoza T., Ph.D.	INFORME Nº 005-16
EMPRESA:	Proyecto de Investigación	Nº SE: 005-16
DIRECCIÓN:	Av. Antonio José de Sucre Km 1 ½ vía a Guano	
		FECHA DE RECEPCIÓN: 28-01-16
TELÉFONO:		FECHA DE INFORME: 03-02-16
NÚMERO DE MUESTRAS:	5, Agua residual industria textil	TIPO DE MUESTRA: Agua
IDENTIFICACIÓN:		
	MA - 011-16	F1-1
	MA - 012-16	F1-2
	MA - 013-16	F1-3
	MA - 014-16	F1-4
	MA - 015-16	F1-5

El laboratorio se responsabiliza solo del análisis, no de las muestras.

RESULTADO DE ANÁLISIS

MA - 011-16

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* Color	Upt-co	STANDARD METHODS 2120 C	40100	N/A	28-01-16
* DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D mod	2190	N/A	28-01-16
* Sólidos Suspendidos	mg/l	STANDARD METHODS 2540 - D	8220	N/A	28-01-16
* Nitrato - N	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - NO3 - E mod	6970	N/A	28-01-16
* Fosfatos	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E	136	N/A	28-01-16
* Cromo	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Cr - 3111B	0,1308	N/A	28-01-16
* Zinc	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Zn - 3111B	< 0,0001	N/A	28-01-16
* Fósforo Total	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E mod	44	N/A	28-01-16

MA - 012-16

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* Color	Upt-co	STANDARD METHODS 2120 C	46400	N/A	28-01-16
* DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D mod	7640	N/A	28-01-16
* Sólidos Suspendidos	mg/l	STANDARD METHODS 2540 - D	17060	N/A	28-01-16
* Nitrato - N	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - NO3 - E mod	2990	N/A	28-01-16
* Fosfatos	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E	145	N/A	28-01-16
* Cromo	mg/l	STANDARD METHODS 3500 -	0,1128	N/A	28-01-16

-Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).
 - Los ensayos marcados con (*) no se encuentran dentro del alcance de acreditación del SAE.
 -Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.



N° SE: 005-16

Cr - 3111B					
* Zinc	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Zn - 3111B	< 0,0001	N/A	28 - 01 - 16
* Fósforo Total	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E mod	47	N/A	28 - 01 - 16

MA - 013-16

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* Color	Upt-co	STANDARD METHODS 2120 C	13100	N/A	28 - 01 - 16
* DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D mod	24	N/A	28 - 01 - 16
* Sólidos Suspendidos	mg/l	STANDARD METHODS 2540 - D	8480	N/A	28 - 01 - 16
* Nitrato - N	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - NO3 - E mod	1290	N/A	28 - 01 - 16
* Fosfatos	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E	93	N/A	28 - 01 - 16
* Cromo	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Cr - 3111B	0,0989	N/A	28 - 01 - 16
* Zinc	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Zn - 3111B	< 0,0001	N/A	28 - 01 - 16
* Fósforo Total	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E mod	30	N/A	28 - 01 - 16

MA - 014-16

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* Color	Upt-co	STANDARD METHODS 2120 C	16800	N/A	28 - 01 - 16
* DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D mod	2110	N/A	28 - 01 - 16
* Sólidos Suspendidos	mg/l	STANDARD METHODS 2540 - D	6220	N/A	28 - 01 - 16
* Nitrato - N	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - NO3 - E mod	960	N/A	28 - 01 - 16
* Fosfatos	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E	72	N/A	28 - 01 - 16
* Cromo	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Cr - 3111B	0,0918	N/A	28 - 01 - 16
* Zinc	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Zn - 3111B	< 0,0001	N/A	28 - 01 - 16
* Fósforo Total	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E mod	24	N/A	28 - 01 - 16

MA - 015-16

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* Color	Upt-co	STANDARD METHODS 2120 C	24300	N/A	28 - 01 - 16
* DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D mod	880	N/A	28 - 01 - 16
* Sólidos Suspendidos	mg/l	STANDARD METHODS 2540 - D	8820	N/A	28 - 01 - 16
* Nitrato - N	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - NO3 - E mod	1940	N/A	28 - 01 - 16
* Fosfatos	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P	84	N/A	28 - 01 - 16

-Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s)
 - Los ensayos marcados con (*) no se encuentran dentro del alcance de acreditación del SAE.
 -Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.

FMC2101-0

Página 2 de 3

L.S.A. Campus Máster Edison Rierra Km 1 ½ vía a Guano Bloque Administrativo.



Nº SE: 005-16

		- E		N/A	
* Cromo	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Cr - 3111B	0,0774	N/A	28 - 01 -16
* Zinc	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Zn - 3111B	< 0,0001	N/A	28 - 01 -16
* Fósforo Total	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E mod	27	N/A	28 - 01 -16

MÉTODOS UTILIZADOS: Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales APHA, AWWA, WPCF, STANDARD METHODS 21ª EDICIÓN y métodos HACH adaptados del STANDARD METHODS 21ª EDICIÓN.

RESPONSABLES DEL ANÁLISIS:

Dr. Juan Lara R.

Dr. Juan Carlos Lara R.
TÉCNICO L.S.A.

- Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).
- Los ensayos marcados con (*) no se encuentran dentro del alcance de acreditación del SAE.
- Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.

Análisis Muestras Fase I



LABORATORIO DE SERVICIOS AMBIENTALES



Nº SE: 004-16

INFORME DE ANALISIS

NOMBRE:	Benito Mendoza T., Ph.D.	INFORME Nº 004- 16										
EMPRESA:	Proyecto de Investigación	Nº SE: 004-16										
DIRECCIÓN:	Av. Antonio José de Sucre Km 1 ½ vía a Guano	FECHA DE RECEPCIÓN: 26 - 01 - 16										
TELÉFONO:		FECHA DE INFORME: 03- 02- 16										
NÚMERO DE MUESTRAS:	5, Agua residual industria textil	TIPO DE MUESTRA: Agua										
IDENTIFICACIÓN:	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr><td style="width: 30%;">MA - 006-16</td><td style="width: 30%;">F2-1</td></tr> <tr><td>MA - 007-16</td><td>F2-2</td></tr> <tr><td>MA - 008-16</td><td>F2-3</td></tr> <tr><td>MA - 009-16</td><td>F2-4</td></tr> <tr><td>MA - 010-16</td><td>F2-5</td></tr> </table>	MA - 006-16	F2-1	MA - 007-16	F2-2	MA - 008-16	F2-3	MA - 009-16	F2-4	MA - 010-16	F2-5	
MA - 006-16	F2-1											
MA - 007-16	F2-2											
MA - 008-16	F2-3											
MA - 009-16	F2-4											
MA - 010-16	F2-5											

El laboratorio se responsabiliza solo del análisis, no de las muestras.

RESULTADO DE ANÁLISIS

MA - 006-16

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* Color	Upt-co	STANDARD METHODS 2120 C	35100	N/A	26 - 01 - 16
* Sólidos Suspendidos	mg/l	STANDARD METHODS 2540 - D	1400	N/A	26 - 01 - 16
* DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D mod	6680	N/A	26 - 01 - 16
* DBO5	mg O2/l	STANDARD METHODS 5210 - B	3984	N/A	26 - 01 - 16
* Nitrato - N	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - NO3 - E mod	510	N/A	26 - 01 - 16
* Fosfatos	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E	26	N/A	26 - 01 - 16
* Cromo	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Cr - 3111B	0,0605	N/A	26 - 01 - 16
* Zinc	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Zn - 3111B	< 0,0001	N/A	26 - 01 - 16
* Fósforo Total	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E mod	9	N/A	26 - 01 - 16

-Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).
 - Los ensayos marcados con (*) no se encuentran dentro del alcance de acreditación del SAE.
 -Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.



Nº SE: 004-16

MA - 007-16

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* Color	Upt-co	STANDARD METHODS 2120 C	5700	N/A	26 - 01 - 16
* Sólidos Suspendidos	mg/l	STANDARD METHODS 2540 - D	6100	N/A	26 - 01 - 16
* DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D mod	30	N/A	26 - 01 - 16
* DBO5	mg O2/l	STANDARD METHODS 5210 - B	17	N/A	26 - 01 - 16
* Nitrato - N	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - NO3 - E mod	1170	N/A	26 - 01 - 16
* Fosfatos	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E	107	N/A	26 - 01 - 16
* Cromo	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Cr - 3111B	0,0506	N/A	26 - 01 - 16
* Zinc	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Zn - 3111B	< 0,0001	N/A	26 - 01 - 16
* Fósforo Total	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E mod	35	N/A	26 - 01 - 16

MA - 008-16

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* Color	Upt-co	STANDARD METHODS 2120 C	33200	N/A	26 - 01 - 16
* Sólidos Suspendidos	mg/l	STANDARD METHODS 2540 - D	4900	N/A	26 - 01 - 16
* DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D mod	1860	N/A	26 - 01 - 16
* DBO5	mg O2/l	STANDARD METHODS 5210 - B	997	N/A	26 - 01 - 16
* Nitrato - N	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - NO3 - E mod	2050	N/A	26 - 01 - 16
* Fosfatos	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E	198	N/A	26 - 01 - 16
* Cromo	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Cr - 3111B	0,0427	N/A	26 - 01 - 16
* Zinc	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Zn - 3111B	< 0,0001	N/A	26 - 01 - 16
* Fósforo Total	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E mod	65	N/A	26 - 01 - 16

MA - 009-16

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* Color	Upt-co	STANDARD METHODS 2120 C	25500	N/A	26 - 01 - 16
* Sólidos Suspendidos	mg/l	STANDARD METHODS	1000	N/A	26 - 01 - 16

-Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).
- Los ensayos marcados con (*) no se encuentran dentro del alcance de acreditación del SAE.
-Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.



N° SE: 004-16

		2540 - D			
* DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D mod	4380	N/A	26 - 01 - 16
* DBO5	mg O2/l	STANDARD METHODS 5210 - B	2452	N/A	26 - 01 - 16
* Nitrato - N	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - NO3 - E mod	3330	N/A	26 - 01 - 16
* Fosfatos	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E	52	N/A	26 - 01 - 16
* Cromo	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Cr - 3111B	0,0288	N/A	26 - 01 - 16
* Zinc	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Zn - 3111B	< 0,0001	N/A	26 - 01 - 16
* Fósforo Total	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E mod	17	N/A	26 - 01 - 16

MA - 010-16

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* Color	Upt-co	STANDARD METHODS 2120 C	32700	N/A	26 - 01 - 16
* Sólidos Suspendedos	mg/l	STANDARD METHODS 2540 - D	5300	N/A	26 - 01 - 16
* DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D mod	46	N/A	26 - 01 - 16
* DBO5	mg O2/l	STANDARD METHODS 5210 - B	28	N/A	26 - 01 - 16
* Nitrato - N	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - NO3 - E mod	2040	N/A	26 - 01 - 16
* Fosfatos	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E	68	N/A	26 - 01 - 16
* Cromo	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Cr - 3111B	0,0088	N/A	26 - 01 - 16
* Zinc	mg/l	STANDARD METHODS 3500 - Zn - 3111B	< 0,0001	N/A	26 - 01 - 16
* Fósforo Total	mg/l	STANDARD METHODS 4500 - P - E mod	22	N/A	26 - 01 - 16

MÉTODOS UTILIZADOS: Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales APHA, AWWA, WPCF, STANDARD METHODS 21ª EDICIÓN y métodos HACH adaptados del STANDARD METHODS 21ª EDICIÓN.

RESPONSABLES DEL ANÁLISIS:

Dr. Juan Carlos Lara.


Dr. Juan Carlos Lara R.
TÉCNICO L.S.A.

-Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).
- Los ensayos marcados con (*) no se encuentran dentro del alcance de acreditación del SAE.
-Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.

ANEXO F. PRODUCCIÓN DE VOLTAJE

PRODUCCIÓN DE VOLTAJE DE LA FASE 1					
FECHA	HORA	CCM1 (V)	CCM2 (V)	CCM3 (V)	CCM4 (V)
14/01/2016	11:00	0,166	0,151	0,219	0,140
14/01/2016	12:00	0,255	0,220	0,257	0,182
14/01/2016	13:00	0,302	0,265	0,293	0,186
14/01/2016	14:00	0,313	0,277	0,300	0,211
14/01/2016	15:00	0,337	0,299	0,321	0,216
14/01/2016	16:00	0,361	0,315	0,345	0,222
14/01/2016	17:00	0,383	0,338	0,385	0,225
14/01/2016	18:00	0,398	0,330	0,409	0,231
14/01/2016	19:00	0,417	0,326	0,415	0,246
15/01/2016	8:00	0,609	0,388	0,312	0,411
15/01/2016	9:00	0,631	0,390	0,315	0,416
15/01/2016	10:00	0,647	0,397	0,326	0,418
15/01/2016	11:00	0,591	0,390	0,351	0,418
15/01/2016	12:00	0,593	0,399	0,308	0,383
15/01/2016	13:00	0,596	0,407	0,366	0,395
15/01/2016	14:00	0,598	0,430	0,359	0,403
15/01/2016	15:00	0,595	0,441	0,330	0,431
15/01/2016	16:00	0,444	0,418	0,396	0,494
15/01/2016	17:00	0,512	0,456	0,486	0,517
15/01/2016	18:00	0,571	0,382	0,500	0,525
15/01/2016	19:00	0,584	0,352	0,493	0,529
15/01/2016	20:00	0,589	0,412	0,485	0,529
15/01/2016	21:00	0,570	0,436	0,486	17,813
15/01/2016	22:00	0,591	0,447	0,471	0,522
15/01/2016	23:00	0,592	0,460	0,466	0,501
16/01/2016	0:00	0,592	0,459	0,462	0,451
16/01/2016	1:00	0,592	0,462	0,459	0,426
16/01/2016	2:00	0,593	0,460	0,454	0,401
16/01/2016	3:00	0,592	0,459	0,450	0,373
16/01/2016	4:00	0,592	0,456	0,447	0,358
16/01/2016	5:00	0,591	0,453	0,444	0,346
16/01/2016	6:00	0,591	0,450	0,440	0,337
16/01/2016	7:00	0,591	0,447	0,436	0,329
16/01/2016	8:00	0,591	0,444	0,435	0,326
16/01/2016	9:00	0,594	0,444	0,437	0,334
16/01/2016	10:00	0,601	0,446	0,439	0,348
16/01/2016	11:00	0,608	0,448	0,440	0,363
16/01/2016	12:00	0,612	0,452	0,437	0,366
16/01/2016	13:00	0,618	0,457	0,420	0,358
16/01/2016	14:00	0,621	0,457	0,382	0,350

16/01/2016	15:00	0,618	0,455	0,366	0,341
16/01/2016	16:00	0,619	0,449	0,343	0,331
16/01/2016	17:00	0,615	0,443	0,326	0,325
16/01/2016	18:00	0,597	0,433	0,298	0,311
16/01/2016	19:00	0,598	0,403	0,260	0,355
16/01/2016	20:00	0,565	0,381	0,244	0,355
16/01/2016	21:00	0,431	0,316	0,233	0,380
16/01/2016	22:00	0,411	0,249	0,224	0,418
16/01/2016	23:00	0,400	0,218	0,222	0,420
17/01/2016	0:00	0,392	0,207	0,214	0,441
17/01/2016	1:00	0,384	0,200	0,208	0,456
17/01/2016	2:00	0,376	0,196	0,202	0,454
17/01/2016	3:00	0,369	0,190	0,194	0,452
17/01/2016	4:00	0,361	0,187	0,195	0,450
17/01/2016	5:00	0,353	0,182	0,225	0,449
17/01/2016	6:00	0,348	0,178	0,230	0,447
17/01/2016	7:00	0,344	0,172	0,220	0,446
17/01/2016	8:00	0,342	0,182	0,218	0,447
17/01/2016	9:00	0,342	0,190	0,227	0,446
17/01/2016	10:00	0,344	0,201	0,243	0,445
17/01/2016	11:00	0,348	0,200	0,257	0,444
17/01/2016	12:00	0,355	0,212	0,281	0,442
17/01/2016	13:00	0,362	0,248	0,309	0,434
17/01/2016	14:00	0,370	0,279	0,335	0,418
17/01/2016	15:00	0,375	0,299	0,342	0,402
17/01/2016	16:00	0,381	0,300	0,333	0,381
17/01/2016	17:00	0,383	0,287	0,299	0,374
17/01/2016	18:00	0,384	0,260	0,263	0,368
17/01/2016	19:00	0,381	0,224	0,293	0,356
17/01/2016	20:00	0,377	0,209	0,298	0,349
17/01/2016	21:00	0,369	0,195	0,330	0,342
17/01/2016	22:00	0,360	0,186	0,357	0,338
17/01/2016	23:00	0,351	0,182	0,377	0,336
18/01/2016	0:00	0,341	0,176	0,403	0,325
18/01/2016	1:00	0,331	0,172	0,412	0,339
18/01/2016	2:00	0,323	0,168	0,413	0,340
18/01/2016	3:00	0,316	0,167	0,413	0,338
18/01/2016	4:00	0,310	0,164	0,412	0,338
18/01/2016	5:00	0,303	0,163	0,420	0,340
18/01/2016	6:00	0,297	0,162	0,422	0,286
18/01/2016	7:00	0,291	0,163	0,423	0,243
18/01/2016	8:00	0,288	0,169	0,430	0,299
18/01/2016	9:00	0,287	0,184	0,435	0,347
18/01/2016	10:00	0,287	0,188	0,420	0,345
18/01/2016	11:00	0,137	0,214	0,459	0,385

18/01/2016	12:00	0,133	0,240	0,397	0,432
18/01/2016	13:00	0,208	0,229	0,329	0,395
18/01/2016	14:00	0,227	0,249	0,322	0,304
18/01/2016	15:00	0,355	0,265	0,315	0,301
18/01/2016	16:00	0,472	0,387	0,387	0,414
18/01/2016	17:00	0,512	0,441	0,436	0,546

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016

GENERACIÓN DE VOLTAJE EN LA FASE II					
FECHA	HORA	CCM1 (V)	CCM2 (V)	CCM3 (V)	CCM4 (V)
18/01/2016	18:00	0,555	0,456	0,442	0,546
18/01/2016	19:00	0,570	0,450	0,438	0,527
18/01/2016	20:00	0,576	0,443	0,432	0,513
18/01/2016	21:00	0,577	0,437	0,429	0,527
18/01/2016	22:00	0,577	0,432	0,423	0,529
18/01/2016	23:00	0,577	0,428	0,420	0,525
19/01/2016	0:00	0,575	0,424	0,417	0,521
19/01/2016	1:00	0,574	0,422	0,414	0,515
19/01/2016	2:00	0,573	0,419	0,413	0,511
19/01/2016	3:00	0,573	0,416	0,411	0,466
19/01/2016	4:00	0,573	0,412	0,410	0,443
19/01/2016	5:00	0,577	0,410	0,410	0,436
19/01/2016	6:00	0,577	0,408	0,411	0,427
19/01/2016	7:00	0,578	0,409	0,410	0,417
19/01/2016	8:00	0,579	0,410	0,413	0,405
19/01/2016	9:00	0,585	0,414	0,420	0,384
19/01/2016	10:00	0,592	0,416	0,427	0,394
19/01/2016	11:00	0,598	0,415	0,431	0,377
19/01/2016	12:00	0,602	0,414	0,430	0,372
19/01/2016	13:00	0,605	0,411	0,426	0,376
19/01/2016	14:00	0,606	0,411	0,424	0,381
19/01/2016	15:00	0,606	0,408	0,424	0,379
19/01/2016	16:00	0,606	0,406	0,419	0,375
19/01/2016	17:00	0,605	0,403	0,415	0,372
19/01/2016	18:00	0,602	0,400	0,411	0,372
19/01/2016	19:00	0,600	0,372	0,410	0,373
19/01/2016	20:00	0,596	0,374	0,410	0,373
19/01/2016	21:00	0,594	0,377	0,407	0,371
19/01/2016	22:00	0,553	0,376	0,405	0,369
19/01/2016	23:00	0,497	0,377	0,405	0,368
20/01/2016	0:00	0,498	0,380	0,403	0,366
20/01/2016	1:00	0,500	0,378	0,404	0,366
20/01/2016	2:00	0,501	0,378	0,403	0,365
20/01/2016	3:00	0,508	0,378	0,403	0,365
20/01/2016	4:00	0,510	0,377	0,403	0,365

20/01/2016	5:00	0,523	0,375	0,402	0,364
20/01/2016	6:00	0,561	0,374	0,401	0,364
20/01/2016	7:00	0,569	0,375	0,402	0,363
20/01/2016	8:00	0,569	0,375	0,404	0,361
20/01/2016	9:00	0,568	0,379	0,249	0,367
20/01/2016	10:00	0,569	0,382	0,191	0,368
20/01/2016	11:00	0,563	0,382	0,233	0,366
20/01/2016	12:00	0,546	0,393	0,358	0,365
20/01/2016	13:00	0,537	0,389	0,238	0,362
20/01/2016	14:00	0,574	0,387	0,301	0,363
20/01/2016	15:00	0,588	0,387	0,178	0,364
20/01/2016	16:00	0,595	0,385	0,135	0,362
20/01/2016	17:00	0,597	0,379	0,071	0,359
20/01/2016	18:00	0,598	0,377	0,080	0,355
20/01/2016	19:00	0,597	0,374	0,105	0,350
20/01/2016	20:00	0,595	0,374	0,117	0,351
20/01/2016	21:00	0,593	0,376	0,093	0,350
20/01/2016	22:00	0,590	0,378	0,160	0,349
20/01/2016	23:00	0,588	0,379	0,140	0,348
21/01/2016	0:00	0,586	0,382	0,151	0,348
21/01/2016	1:00	0,584	0,384	0,175	0,348
21/01/2016	2:00	0,582	0,387	0,196	0,347
21/01/2016	3:00	0,581	0,390	0,258	0,346
21/01/2016	4:00	0,580	0,391	0,251	0,345
21/01/2016	5:00	0,586	0,408	0,350	0,343
21/01/2016	6:00	0,578	0,394	0,256	0,341
21/01/2016	7:00	0,578	0,396	0,252	0,341
21/01/2016	8:00	0,578	0,399	0,271	0,342
21/01/2016	9:00	0,580	0,406	0,414	0,345
21/01/2016	10:00	0,582	0,411	0,415	0,347
21/01/2016	11:00	0,585	0,416	0,419	0,346
21/01/2016	12:00	0,587	0,419	0,425	0,345
21/01/2016	13:00	0,589	0,422	0,423	0,345
21/01/2016	14:00	0,589	0,425	0,421	0,344
21/01/2016	15:00	0,589	0,425	0,425	0,344
21/01/2016	16:00	0,590	0,424	0,426	0,346
21/01/2016	17:00	0,591	0,420	0,426	0,345
21/01/2016	18:00	0,593	0,419	0,423	0,344
21/01/2016	19:00	0,594	0,416	0,422	0,341
21/01/2016	20:00	0,594	0,419	0,423	0,337
21/01/2016	21:00	0,592	0,417	0,424	0,335
21/01/2016	22:00	0,591	0,417	0,424	0,335
21/01/2016	23:00	0,590	0,417	0,425	0,334
22/01/2016	0:00	0,590	0,418	0,428	0,334
22/01/2016	1:00	0,589	0,420	0,430	0,333

22/01/2016	2:00	0,588	0,419	0,432	0,332
22/01/2016	3:00	0,588	0,420	0,433	0,330
22/01/2016	4:00	0,588	0,415	0,434	0,326
22/01/2016	5:00	0,588	0,410	0,434	0,325
22/01/2016	6:00	0,589	0,410	0,436	0,325
22/01/2016	7:00	0,592	0,415	0,436	0,324
22/01/2016	8:00	0,593	0,417	0,439	0,326
22/01/2016	9:00	0,593	0,421	0,444	0,331
22/01/2016	10:00	0,592	0,425	0,449	0,332
22/01/2016	11:00	0,589	0,425	0,450	0,339
22/01/2016	14:00	0,477	0,402	0,445	0,350
22/01/2016	15:00	0,523	0,420	0,468	0,353
22/01/2016	16:00	0,545	0,427	0,476	0,360
22/01/2016	17:00	0,550	0,417	0,473	0,361
22/01/2016	18:00	0,548	0,415	0,471	0,360
22/01/2016	19:00	0,560	0,415	0,471	0,358
22/01/2016	20:00	0,558	0,409	0,471	0,354
22/01/2016	21:00	0,542	0,412	0,470	0,347
22/01/2016	22:00	0,550	0,408	0,467	0,344
22/01/2016	23:00	0,532	0,411	0,463	0,343
23/01/2016	0:00	0,543	0,412	0,423	0,341
23/01/2016	1:00	0,530	0,411	0,306	0,340
23/01/2016	2:00	0,533	0,411	0,255	0,337
23/01/2016	3:00	0,536	0,410	0,244	0,335
23/01/2016	4:00	0,518	0,411	0,240	0,334
23/01/2016	5:00	0,531	0,411	0,238	0,333
23/01/2016	6:00	0,531	0,407	0,239	0,334
23/01/2016	7:00	0,509	0,410	0,239	0,335
23/01/2016	8:00	0,522	0,412	0,240	0,339
23/01/2016	9:00	0,517	0,411	0,247	0,347
23/01/2016	10:00	0,501	0,413	0,276	0,355
23/01/2016	11:00	0,509	0,414	0,262	0,362
23/01/2016	12:00	0,509	0,421	0,266	0,367
23/01/2016	13:00	0,494	0,427	0,267	0,369
23/01/2016	14:00	0,500	0,423	0,267	0,369
23/01/2016	15:00	0,488	0,408	0,265	0,370
23/01/2016	16:00	0,487	0,402	0,263	0,370
23/01/2016	17:00	0,488	0,396	0,261	0,365
23/01/2016	18:00	0,489	0,390	0,255	0,358
23/01/2016	19:00	0,485	0,391	0,250	0,345
23/01/2016	20:00	0,478	0,394	0,243	0,333
23/01/2016	21:00	0,471	0,401	0,238	0,327
23/01/2016	22:00	0,466	0,404	0,232	0,322
23/01/2016	23:00	0,467	0,406	0,228	0,318
24/01/2016	0:00	0,466	0,406	0,225	0,315

24/01/2016	1:00	0,455	0,406	0,223	0,313
24/01/2016	2:00	0,464	0,405	0,222	0,313
24/01/2016	3:00	0,430	0,402	0,221	0,312
24/01/2016	4:00	0,452	0,394	0,220	0,310
24/01/2016	5:00	0,452	0,386	0,218	0,310
24/01/2016	6:00	0,402	0,370	0,216	0,309
24/01/2016	7:00	0,246	0,185	0,206	0,336
24/01/2016	8:00	0,257	0,192	0,206	0,335
24/01/2016	9:00	0,380	0,219	0,216	0,326
24/01/2016	10:00	0,248	0,183	0,206	0,338
24/01/2016	11:00	0,257	0,181	0,207	0,340
24/01/2016	12:00	0,394	0,158	0,223	0,378
24/01/2016	13:00	0,248	0,183	0,206	0,339
24/01/2016	14:00	0,236	0,182	0,207	0,341
24/01/2016	15:00	0,134	0,165	0,223	0,385
24/01/2016	16:00	0,241	0,183	0,206	0,338
24/01/2016	17:00	0,234	0,182	0,206	0,340
24/01/2016	18:00	0,117	0,157	0,204	0,333
24/01/2016	19:00	0,240	0,182	0,205	0,338
24/01/2016	20:00	0,232	0,180	0,203	0,332
24/01/2016	21:00	0,101	0,131	0,169	0,275
24/01/2016	22:00	0,240	0,182	0,204	0,338
24/01/2016	23:00	0,232	0,178	0,200	0,336
25/01/2016	0:00	0,093	0,110	0,137	0,312
25/01/2016	1:00	0,090	0,102	0,128	0,317
25/01/2016	2:00	0,090	0,102	0,128	0,317
25/01/2016	3:00	0,089	0,100	0,126	0,316
25/01/2016	4:00	0,090	0,101	0,126	0,326
25/01/2016	5:00	0,088	0,094	0,112	0,371
25/01/2016	6:00	0,088	0,092	0,108	0,378
25/01/2016	7:00	0,089	0,090	0,106	0,380
25/01/2016	8:00	0,089	0,093	0,106	0,385
25/01/2016	10:00	0,090	0,095	0,109	0,395
25/01/2016	11:00	0,102	0,102	0,128	0,392
25/01/2016	13:00	0,131	0,139	0,176	0,378
25/01/2016	14:00	0,138	0,146	0,170	0,388
25/01/2016	16:00	0,156	0,148	0,147	0,396
25/01/2016	17:00	0,146	0,142	0,143	0,380
25/01/2016	18:00	0,090	0,105	0,132	0,314
25/01/2016	19:00	0,143	0,146	0,136	0,370
25/01/2016	20:00	0,149	0,162	0,133	0,379
25/01/2016	21:00	0,089	0,095	0,115	0,359
25/01/2016	22:00	0,138	0,162	0,123	0,374
25/01/2016	23:00	0,110	0,119	0,128	0,360
26/01/2016	0:00	0,154	0,179	0,118	0,350

26/01/2016	1:00	0,152	0,174	0,116	0,345
26/01/2016	2:00	0,151	0,165	0,112	0,332
26/01/2016	3:00	0,151	0,165	0,112	0,332
26/01/2016	4:00	0,152	0,164	0,109	0,323
26/01/2016	5:00	0,150	0,161	0,109	0,314
26/01/2016	6:00	0,150	0,158	0,107	0,299
26/01/2016	7:00	0,148	0,151	0,106	0,288
26/01/2016	8:00	0,148	0,154	0,107	0,285
26/01/2016	9:00	0,146	0,157	0,107	0,284
26/01/2016	10:00	0,134	0,159	0,106	0,297
26/01/2016	11:00	0,127	0,167	0,107	0,296

Realizado por: Buenaño J y Cruz F, 2016