



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE INFORMÁTICA Y ELECTRÓNICA**  
**ESCUELA DE INGENIERÍA ELECTRÓNICA EN CONTROL Y REDES**  
**INDUSTRIALES**

**“DESARROLLO DE UN PROTOTIPO ELECTRÓNICO PARA  
ANALIZAR LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN  
AGUAS RESIDUALES CON CARGA ORGÁNICA CONOCIDA”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN: PROYECTO TÉCNICO**

Para optar al Grado Académico de:

**INGENIERA EN ELECTRÓNICA, CONTROL Y REDES  
INDUSTRIALES**

**AUTORAS: ERIKA ELIZABETH TADAY MOROCHO**

**GLADYS YOLANDA TELENCHANO TOALOMBO**

**TUTOR: ING. EDWIN VINICIO ALTAMIRANO SANTILLÁN**

**Riobamba-Ecuador**

**2018**

**©2018, Erika Elizabeth Taday Morocho y Gladys Yolanda Telenchano Toalombo**

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 INFORMÁTICA Y ELECTRÓNICA**  
**ESCUELA DE INGENIERÍA ELECTRÓNICA**  
**EN CONTROL Y REDES INDUSTRIALES**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que el proyecto técnico: “DESARROLLO DE UN PROTOTIPO ELECTRÓNICO PARA ANALIZAR LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGENO EN AGUAS RESIDUALES CON CARGA ORGÁNICA CONOCIDA”, de responsabilidad de Erika Elizabeth Taday Morocho y Glasdys Yolanda Telenchano Tolaombo, ha sido minuciosamente revisado por los miembros del Tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Dr. Julio Santillan C. <b>VICEDECANO DE LA FACULTAD DE INFORMÁTICA Y ELECTRÓNICA.</b>	_____	_____
Ing. Freddy Chávez V. <b>DIRECTOR DE ESCUELA DE INGENIERÍA ELECTRÓNICA EN CONTROL Y REDES INDUSTRIALES</b>	_____	_____
Ing. Edin Altamirano S. <b>DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN</b>	_____	_____
Ing. Patricio Romero <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL TRABAJO DE TITULACIÓN</b>	_____	_____

Nosotras, Erika Elizabeth Taday Morocho y Gladys Yolanda Telenchano Toalombo somos responsables de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación de grado pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Erika Elizabeth Taday Morocho  
Gladys Yolanda Telenchano Toalombo

## **DEDICATORIA**

A mis padres Narcisa y Ángel, por su amor, guía y apoyo, a mis hermanitos Doris, Bélgica, Fernando, y Alexander, por estar de mi lado en todo momento y regalarme las mejores experiencias de mi vida, a mi angelito Ecuador por ser mi luz, y a mis sobrinitos bellos Ikersiur y Darwin, quienes alegran mis días en este maravilloso viaje llamado vida.

Erika.

A mi querido y amado hijo Harold por ser la gran motivación de mi vida a mi madre Juana por estar ahí en las buenas y en las malas a todos mis hermanos en especial a Cristian por los momentos incondicionales que hemos pasado en el transcurso de mi vida a Roman .

Yoly.

## **AGRADECIMIENTO**

Nuestro agradecimiento a Dios, a nuestros padres por su cariño y apoyo desde siempre. Son ustedes nuestra fuente de eterna inspiración.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y a los docentes de la Escuela de Ingeniería Electrónica, en Control y Redes Industriales por formarnos como profesionales. Especialmente al Ingeniero Edwin Altamirano, Director del trabajo de Titulación y al Ingeniero Patricio Romero Miembro del Tribunal, por su tiempo y excelentes ideas para la realización de este proyecto.

Al Dr. Celso Recalde, Lic. Fausto Tapia y al Centro de Investigación de Energía Alternativas y Ambiente, gracias infinitas por poner a disposición sus instalaciones, instrumentos, equipos y materiales necesarios para el desarrollo de este trabajo.

De igual forma nuestra inmensa gratitud al Phd. Washington Logroño, Biof. Mario Pérez, Biof. Estefanía Chávez, Ing. Janeth Urquiza, Ing. Dennys López, Ing. Henry Lema, Ing. Lisbeth Orozco, Ing. Mayra Cayambe e Ing. Alexandra Paucar, por su colaboración y valioso aporte en el desarrollo y culminación del presente trabajo.

Erika & Yoly

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	xiii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	xiv
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	xvi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xvii
RESUMEN.....	xviii
SUMMARY .....	i
INTRODUCCIÓN .....	1
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>1 MARCO TEÓRICO REFERENCIAL .....</b>	<b>6</b>
<b>1.1 Celda de combustible microbiano (MFC).....</b>	<b>6</b>
<i>1.1.1. Principios de Funcionamiento.....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.2. Transferencia extracelular de electrones .....</i>	<i>7</i>
<b>1.2 Tipos de celdas de combustible microbianas .....</b>	<b>8</b>
<i>1.2.1. Celdas de combustible microbiano de doble cámara (MFC).....</i>	<i>8</i>
<i>1.2.2. Celdas de combustible microbiano de cámara simple (SCMFC) .....</i>	<i>8</i>
<b>1.3 Desempeño eléctrico de las MFCs.....</b>	<b>9</b>
<i>1.3.1. Densidad de Potencia .....</i>	<i>9</i>
<i>1.3.2. Resistencia Interna de la MFCs .....</i>	<i>10</i>
<i>1.3.3. Eficiencia Coulómbica .....</i>	<i>10</i>
<b>1.4 Biosensor .....</b>	<b>11</b>
<b>1.5 Principios Operativos MFC como biosensor .....</b>	<b>11</b>
<b>1.6 Potencial de los biosensores basados en celdas de combustible microbiano .....</b>	<b>12</b>
<b>1.7 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) .....</b>	<b>13</b>
<b>1.8 Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>).....</b>	<b>14</b>
<b>1.9 Sistema de adquisición y procesamiento de datos .....</b>	<b>14</b>
<i>1.9.1. Proceso de adquisición de datos .....</i>	<i>14</i>
<i>1.9.2. Acondicionador de la señal .....</i>	<i>17</i>

1.9.3.	<i>Tarjeta de adquisición de datos</i> .....	20
1.9.4.	<i>Procesamiento de la señal</i> .....	22
1.9.5.	<i>Proceso de obtención de la Señal Digital</i> .....	23
<b>CAPÍTULO II</b>		
2	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	26
2.1	<b>Construcción del biosensor basado en celdas de combustible microbiano</b> .....	27
2.1.1.	<i>Población de estudio</i> .....	27
2.1.2.	<i>Selección de la muestra</i> .....	27
2.1.3.	<i>Configuración SCMFCs</i> .....	28
2.1.4.	<i>Condiciones de operación de las SMFCs</i> .....	33
2.1.5.	<i>Enriquecimiento y adaptación de las bacterias electroquímicamente activas sobre el electrodo del ánodo de las SCMFCs</i> .....	33
2.1.6.	<i>Procedimiento para el cultivo bacteriano en las SCMFCs</i> .....	37
2.1.7.	<i>Proceso de Formación del Biofilm</i> .....	39
2.1.8.	<i>Curva de Polarización</i> .....	40
2.1.9.	<i>Curva de Calibración de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) frente a corriente</i> .....	41
2.2	<b>Diseño e Implementación del Prototipo Electrónico</b> .....	44
2.3	<b>Amplificación de la señal bioelectroquímica</b> .....	45
2.3.1.	<i>Filtrado de la señal</i> .....	47
2.4	<b>Selección y programación del microcontrolador</b> .....	54
2.4.1.	<i>Programación del microcontrolador</i> .....	57
2.4.2.	<i>Desarrollo de la interfaz del prototipo</i> .....	63
<b>CAPITULO III</b>		
3	<b>MARCO DE RESULTADOS</b> .....	70
3.1	<b>Caracterización del biosensor de DBO</b> .....	70
3.1.1.	<i>Formación del biofilm en la cámara anódica</i> .....	70
3.1.2.	<i>Curva de polarización SMFC</i> .....	72
3.1.3.	<i>Operación SCMFC con diferentes concentraciones de DBO de AW bajo una carga externa de 1000 <math>\Omega</math></i> .....	75

3.2	Reproducibilidad del biosensor SCMFC .....	76
3.3	Análisis del laboratorio de las diferentes concentraciones .....	77
3.4	Proceso de pruebas del prototipo.....	81
3.5	Validación del prototipo .....	85
3.5.1.	<i>Análisis de reproducibilidad</i> .....	85
3.5.2.	<i>ANOVA</i> .....	86
	CONCLUSIONES .....	89
	RECOMENDACIONES .....	90
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Características de una tarjeta de adquisición.....	21
-------------------	--	----

<b>Tabla 1-2:</b> Análisis de PH en aguas residuales - PTAR Ucuabamba.....	34
<b>Tabla 2-2:</b> Análisis sólidos orgánicos totales en aguas residuales PTAR-Ucubamba .....	36
<b>Tabla 3-2:</b> Características de la tarjeta de adquisición de datos NI DAQ 6009.....	38
<b>Tabla 4-2:</b> Parámetros para determinar la curva de polarización en celdas de .....	40
<b>Tabla 5-2:</b> Concentraciones de DBO para un rango de medida de 60-200 ppm.....	42
<b>Tabla 6-2:</b> Reactivos para la preparación del medio base Anolyto M9 .....	43
<b>Tabla 7-2:</b> Valores para la respuesta del filtro tipo butterworth .....	54
<b>Tabla 8-2:</b> Características tarjeta de adquisición de datos NI DAQ 6009 .....	56
<b>Tabla 9-2:</b> Comparativa módulos lcd para el desarrollo de interfaz de usuario.....	63
<b>Tabla 10-2:</b> Pines de conexión módulo lcd Nokia 5110. ....	64
<b>Tabla 1-3:</b> Estadísticos de la dinámica de una SCMFC durante la fase transitoria.....	71
<b>Tabla 2-3:</b> Estadísticos de la dinámica de la SCMFC durante la fase estable. ....	72
<b>Tabla 3-3:</b> Dinámica del voltaje generado en la SCMFC bajo distintas cargas óhmicas.....	73
<b>Tabla 4-3:</b> Dinámica de la corriente generada en la SCMFC bajo distintas cargas óhmicas.....	73
<b>Tabla 5-3:</b> Dinámica de la potencia generada en la SCMFC bajo distintas cargas óhmicas. ....	74
<b>Tabla 6-3:</b> Análisis de reproducibilidad del biosensor tipo celda de combustible microbiano..	77
<b>Tabla 7-3:</b> Análisis de Físico Químicos de los reactores, concentración 60 ppm (primera repetición) .....	78
<b>Tabla 8-3:</b> Porcentaje de Reducción en los reactores, concentración 60 ppm (primera repetición) .....	78
<b>Tabla 9-3:</b> Análisis de Físico Químicos de los reactores, concentración 60 ppm (segunda repetición) .....	79
<b>Tabla 10-3:</b> Porcentaje de Reducción en los reactores, concentración 60 ppm (segunda repetición) .....	79
<b>Tabla 11-3:</b> Análisis de Físico Químicos de los reactores, concentración 60 ppm (tercera repetición) .....	80
<b>Tabla 12-3:</b> Porcentaje de Reducción en los reactores,concentración 60 ppm (tercera repetición) .....	80
<b>Tabla 13-3:</b> Análisis de reproducibilidad en las medidas generadas por el prototipo.....	85
<b>Tabla 14-3:</b> Análisis de reproducibilidad en las medidas generadas por el método convencional. ....	86
<b>Tabla 15-3:</b> Diseño estadístico experimental para prueba de hipótesis. ....	87
<b>Tabla 16-3:</b> Análisis de varianza para prueba de hipótesis. ....	88
<b>Tabla 17-3:</b> Análisis linealidad del equipo en el rango 80 – 170 ppm.....	88

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b> Principios de funcionamiento de una MFC.....	6
<b>Figura 2-1:</b> Esquema de tres mecanismos de transferencia de electrones de microbios en la superficie del ánodo. a) directa, b) nanocables, y c) mediada.....	7
<b>Figura 3-1:</b> Celda de combustible microbiano de cámara única.....	9
<b>Figura 4-1:</b> Principio básico MFC como biosensor.....	12
<b>Figura 5-1:</b> Esquema de Sistema de Adquisición de Datos.....	15
<b>Figura 6-1:</b> Sensor de campo magnético.....	15
<b>Figura 7-1:</b> Comparación de la respuesta de un filtro pasobajas ideal (área gris) con la respuesta real.....	20
<b>Figura 8-1:</b> Filtro Anti-Aliasing: señal original, señal filtrada.....	24
<b>Figura 9-1:</b> Sample and Hold.....	24
<b>Figura 10-1:</b> Cuantificación.....	24
<b>Figura 11-1:</b> Error de Cuantificación.....	25
<b>Figura 1-2:</b> Ubicación PTAR Ucubamba.....	27
<b>Figura 2-2:</b> Rampa clarificador primario PTAR Ucubamba.....	28
<b>Figura 3-2:</b> Fibra de carbono en tejido plano.....	29
<b>Figura 4-2:</b> Pretratamiento químico de electrodos.....	30
<b>Figura 5-2:</b> Papel celofán.....	32
<b>Figura 6-2:</b> MFC de cámara simple.....	32
<b>Figura 7-2</b> Crecimiento microcolonias.....	36
<b>Figura 8-2:</b> Filtrado muestra WW.....	37
<b>Figura 9-2:</b> NI DAQ 6009.....	38
<b>Figura 10-2:</b> Conexión DAQ 6009 - SMFCs.....	39
<b>Figura 11-2:</b> LABVIEW: Sistema de adquisición de datos.....	39
<b>Figura 12-2:</b> Diagrama del sistema del electrónico.....	45
<b>Figura 13-2:</b> Amplificador de instrumentación AD620.....	46
<b>Figura 14-2:</b> Parámetros para el diseño de un Filtro Butterworth.....	47
<b>Figura 15-2:</b> Compensación del efecto del desequilibrio de voltaje de entrada en el AMP OP 741.....	52
<b>Figura 16-2:</b> Tipos de respuesta en frecuencia de un filtro.....	53
<b>Figura 17-2:</b> Procesamiento de la señal bio-electroquímica.....	54
<b>Figura 18-2:</b> Tarjeta de desarrollo arduino uno.....	55
<b>Figura 19-2:</b> Código para determinar la fase estable de la SCMFC.....	57

<b>Figura 20-2:</b> Función calcular: determina el valor de DBO en base a la corriente generada por el biosensor. ....	62
<b>Figura 21-2:</b> Esquema de conexiones lcd Nokia 5150.....	66
<b>Figura 22-2:</b> Diagrama de flujo para determinar la DBO .....	67
<b>Figura 23-2:</b> Algoritmo implementado en Arduino.....	68
<b>Figura 24-2:</b> Diseño prototipo electrónico en Proteus.....	68
<b>Figura 25-2:</b> Diseño final del prototipo electrónico.....	69
<b>Figura 1-3:</b> Adición del Medio base anolito M9 en la cámara del ánodo.....	81
<b>Figura 2-3:</b> Atestado de la muestra en análisis en la SCMFC. ....	82
<b>Figura 3-3:</b> Análisis de una muestra de AW en el equipo electrónico.....	83

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-2:</b> Respuesta en amplitud del filtro.....	49
<b>Gráfico 2-2:</b> Señal bio-electroquímica en estado estable, $F_s= 1\text{kHz}$ . .....	50
<b>Gráfico 3-2:</b> Espectro de la señal bio-electroquímica en estado estable, $F_s= 1\text{kHz}$ . .....	50
<b>Gráfico 4-2:</b> Señal bio-electroquímica en estado estable - filtrada .....	50
<b>Gráfico 5-2:</b> Espectro de la señal bio-electroquímica en estado estable – filtrada.....	51
<b>Gráfico 6-2:</b> Respuesta en frecuencia del filtro.....	51
<b>Gráfico 7-2:</b> Análisis de estabilidad de la señal de salida de la SCMFC. A) Respuesta biosensor al evento tóxico (DBO 60 ppm), B)Decisión fase estable. ....	58
<b>Gráfico 8-2:</b> Análisis de estabilidad de la señal de salida de la SCMFC. A) Respuesta biosensor al evento tóxico (DBO 100 ppm), B)Decisión fase estable. ....	58
<b>Gráfico 9-2:</b> Análisis de estabilidad de la señal de salida de la SCMFC. A) Respuesta biosensor al evento tóxico (DBO 150 ppm), B)Decisión fase estable. ....	59
<b>Gráfico 10-2:</b> Análisis de estabilidad de la señal de salida de la SCMFC. A) Respuesta biosensor al evento tóxico (DBO 200 ppm), B)Decisión fase estable. ....	59
<b>Gráfico 11-2:</b> Curva de Calibración DBO - Corriente. ....	60
<b>Gráfico 1-3:</b> Generación de voltaje (mV) durante la fase de formación del biofilm. ....	70
<b>Gráfico 2-3:</b> Curva de polarización de la SCMFC.....	74
<b>Gráfico 3-3:</b> Generación de corriente del biosensor de DBO tipo celda de combustible microbiano alimentado con muestras de diferente concentración de DBO.....	75
<b>Gráfico 4-3:</b> Resumen estadístico generación de corriente del biosensor de DBO tipo célula de combustible microbiana. ....	76
<b>Gráfico 5-3:</b> Señal captada por el equipo a una concentración de 60 ppm .....	84
<b>Gráfico 6-3:</b> Señal captada por el equipo a una concentración de 120 ppm .....	84
<b>Gráfico 7-3:</b> Señal captada por el equipo a una concentración de 170 ppm .....	85

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>A</b>	Amperios
<b>ADC</b>	Convertidor Analógico Digital
<b>AW</b>	Agua residual Artificial
<b>CA</b>	Cámara Anódica
<b>CC</b>	Cámara Catódica
<b>cm<sup>2</sup></b>	Centímetro Cuadrado
<b>CEAA</b>	Centro de Energías Alternativas y Ambiente
<b>°C</b>	Grado Centígrado
<b>DBO</b>	Demanda Bioquímica de Oxígeno
<b>DBO<sub>5</sub></b>	Demanda Bioquímica de Oxígeno Cinco Días
<b>Db</b>	Decibelios
<b>DCA</b>	Diseño Experimental al Azar
<b>DP</b>	Densidad de Potencia
<b>DQO</b>	Demanda Química de Oxígeno
<b>U</b>	Voltaje
<b>V</b>	Volumen
<b>EC%</b>	Eficiencia Coulómbica
<b>F</b>	Faraday
<b>f(T)</b>	Función de Temperatura
<b>f(B)</b>	Función de Campo Magnético
<b>GEAA</b>	Grupo de Energías Alternativas y Ambiente
<b>H</b>	Hidrógeno
<b>h</b>	Hora
<b>Hz</b>	Hertzio
<b>I</b>	Corriente
<b>K</b>	Constante de Boltzman
<b>L</b>	Líquido
<b>LabView</b>	Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench
<b>Ltrs</b>	Litro
<b>M</b>	Masa molecular
<b>mm</b>	Milímetro
<b>mA</b>	miliamperio
<b>m<sup>2</sup></b>	Metro Cuadrado

<b>MED</b>	Transferencia Mediada de Electrones
<b>MFC</b>	Celda de Combustible Microbiano
<b>mV</b>	Milivoltio
<b>mW</b>	Miliwatt
<b>Na</b>	Acetato de Sodio
<b>OTS</b>	Total Sólidos Orgánicos Suspendidos
<b>PEM</b>	Membrana de Intercambio de Protones
<b>PTAR</b>	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales
<b>pH</b>	Potencial de Hidrógeno
<b>ppm</b>	Partes por Millón
<b>P</b>	Potencia
<b>R</b>	Resistencia
<b>Ri</b>	Resistencia Interna
<b>s</b>	Segundos
<b>SCMFC</b>	Celda de Combustible Microbiano de Cámara Simple
<b>T</b>	Temperatura
<b>μ</b>	Micro
<b>μA</b>	MicroAmperio
<b>Ws</b>	Frecuencia de Atenuación
<b>Wp</b>	Frecuencia de Corte
<b>WW</b>	Agua residual

## ÍNDICE DE ECUACIONES

<b>Ecuación 1-1:</b> Densidad de potencia según el área del electrodo anódico.....	9
<b>Ecuación 2-1:</b> Densidad de potencia según el volumen del sustrato.....	9
<b>Ecuación 3-1:</b> Eficiencia coulombica de una MFC.....	10
<b>Ecuación 4-1:</b> Sensibilidad de un biosensor basado en una MFC.....	12
<b>Ecuación 5-1:</b> Resistencia al paso de la corriente eléctrica.....	16
<b>Ecuación 6-1:</b> Tensión (Efecto Hall) .....	16
<b>Ecuación 7-1:</b> Densidad espectral del ruido.....	18
<b>Ecuación 8-1:</b> Velocidad de muestro. ....	21
<b>Ecuación 1-2:</b> Resistencia que determina la ganancia en el AD620. ....	46
<b>Ecuación 2-2:</b> Frecuencia crítica de un filtro. ....	52
<b>Ecuación 3-2:</b> Factor de amortiguamiento relativo .....	53
<b>Ecuación 4-2:</b> Número de valores discretos ADC. ....	55
<b>Ecuación 5-2:</b> CORRIENTE – DBO en una SCMFC.....	60
<b>Ecuación 6-2:</b> DBO-CORRIENTE en una SCMFC. ....	60

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

### **PARTE QUÍMICA**

**ANEXO A:** Oficio de aceptación para muestreo en la PTAR “UCUBAMBA”

**ANEXO B:** Planta de Tratamiento de aguas residuales UCUBAMBA

**ANEXO C:** Construcción de las SMFCs

**ANEXO D:** Preparación Agua residual artificial

**ANEXO E:** Medición PH

**ANEXO F:** Análisis microbiológico

**ANEXO G:** Alimentación SCMFCs con distintas muestras de DBO

**ANEXO H:** Voltaje generado SCMFC\_1

**ANEXO I:** Medio base anolito M9

**ANEXO J:** Análisis muestras de agua residual a distintas concentraciones de DBO (80, 120, 170 pm)

**ANEXO K:** Análisis muestras de agua residual(DQO) a distintas concentraciones de DBO (60, 100, 150 y 200 ppm)

### **PARTE ELECTRÓNICA**

**ANEXO A:** Monitoreo de las SMFCs

**ANEXO B:** Caracterización de la señal generada por las SCMFCs

**ANEXO C:** Acondicionamiento de señal bioelectroquímica

**ANEXO D:** Código sistema de adquisición de temperatura

**ANEXO E:** Código diseño filtro butterworth

**ANEXO F:** Código detección fase estable

**ANEXO G:** Código sistema electrónico

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo desarrollar un prototipo electrónico para analizar la demanda bioquímica de oxígeno en aguas residuales con carga orgánica conocida. Dos celdas de combustible microbiano de cámara simple fueron implementadas. Cada celda estaba formada por una cámara anódica y catódica de acrílico en donde se instaló fibra de carbono pre-tratada a modo de electrodos separados por papel celofán como membrana de intercambio de protones. La fase de enriquecimiento y adaptación de las bacterias electroquímicamente activas se llevó a cabo en modo batch bajo una carga externa fija de 1000 (ohmios). Se utilizó agua residual del desbordamiento del clarificador primario de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Ucubamba-Cuenca y lodo activado como inóculo bacteriano. Una vez que se formó el biofilm, las celdas se alimentaron a una concentración de demanda bioquímica de oxígeno (DBO) específica (60, 100, 150 y 200 ppm) hasta que se generó una corriente estable, seguido por inanición hasta una corriente de aproximadamente 0.010 mA. La señal eléctrica generada por la oxidación del combustible en la superficie del ánodo y la reducción del oxidante en el cátodo fue procesada mediante un sistema electrónico basado en la plataforma Arduino que permitió determinar la carga orgánica de una muestra de agua residual artificial (AW). Las medidas registradas con el biosensor mostraron un coeficiente de variación (CV) de 1.05% a 7.63% , muy por debajo de los biosensores de DBO informados que alcanzaron un CV de hasta el 12%. Se determinó con un nivel de confianza del 95% que ambos métodos (dispositivo, convencional) son comparables. Estos resultados son alentadores y abren la posibilidad de crear un sistema simple, rápido y confiable para monitorear la calidad del agua, innovando en las técnicas de análisis de la DBO. Se recomienda emplear técnicas de caracterización sofisticadas como redes neuronales artificiales para mejorar el modelo DBO-Corriente.

**PALABRAS CLAVE:** <TECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA>, <INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA ELECTRÓNICA>, <CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANO (MFC)>, <BIOSENSOR>, <DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGENO (DBO)>, <ACONDICIONAMIENTO DE LA SEÑAL BIOELECTROQUIMICA>,< PROCESAMIENTO DE SEÑALES>, <ALGORITMO DE DETECCIÓN FASE ESTABLE>.

## SUMMARY

The present work had as an objective to develop an electronic prototype to analyze the oxygen biochemical demand in residual water with known organic load. Two single microbial fuel cells of simple camera were implemented. Each cell was formed by an anodic and cathodic camera of acrylic in which pre-treated carbon fiber was installed as electrodes separated by cellophane paper as a proton exchange membrane. The enrichment and adaptation phase of the electrochemically active bacteria was carried out in batch mode under a fixed external load of 1000(ohms). Residual water from the overflow of the primary clarifier of the Ucubamba- Cuenca Residual Water Treatment Plant was used as well as mud activated as a bacterial inoculum. Once the biofilm was formed, the cells were fed at a concentration of specific biochemical demand of oxygen (DBO) (60, 100,150 and 200 ppm) up to generation of a stable current followed by inanition up to a current of approximately 0,010 mA. The electric signal generated the fuel oxidation on the anode surface and the reduction of the oxidant in the cathode was processed through an electronic system based on the arduino platform which permitted to determine the organic charge of a residual artificial water (AW). The measurements recorded by the biosensor showed a variation coefficient (CV) of 1,05% to 7,63% much lower than the biosensor DBO above which reached a CV of up to a 12% , it was determined with a reliability of 95% that both methods (device and conventional ) are comparable. These results are hopeful and open the possibility of creating a simple, rapid and reliable system to monitor the water quality, innovating the analysis techniques of the DBO. It is recommended to use sophisticated characterization techniques such as artificial neuron networks to improve the current DBO model.

**KEYWORDS :** <TECHNOLOGY AND ENGINEERING SCIENCIES> < ENGENEERING AND ELECTRONIC TECHNOLOGY>, <MICROBIAL FUEL CELL (MFC) >, <BIOSENSOR>, <BIOCHEMICAL OXYGEN DEMAND (DBO)>, < CONDITIONING THE BIOELECTROCHEMICAL SIGNAL>,< SIGNAL PROCESSING>, <DETECTION ALGORITHM STABLE BASE >

## **INTRODUCCIÓN**

El mundo en desarrollo se enfrenta al reto de abastecer agua sanitaria y control adecuado de las aguas residuales para el bienestar social, económico y ecológico de su población. En nuestro país para el control de calidad de agua el TULSMA del Ministerio de ambiente exige la medición de varios parámetros entre ellos la demanda bioquímica de oxígeno (DBO). La DBO se ha determinado convencionalmente tomando una muestra de agua, aireándola bien, colocándola en una botella sellada, incubando durante un período de tiempo estándar a  $20\pm 1^{\circ}\text{C}$  en la oscuridad, y determinando el consumo de oxígeno en el agua al final de la incubación. De acuerdo con la norma americana, el tiempo de incubación es de 5 días y los valores de DBO basados en este estándar se denominan DBO<sub>5</sub>. Esta prueba de DBO tiene ciertos beneficios, tales como ser un método universal de medición de las muestras de aguas residuales, además, no se necesita un equipo costoso. Sin embargo, tiene la limitación de ser demorada, por consiguiente, no es adecuada para la monitorización de procesos en línea. Además son múltiples factores los que han llevado a cuestionar la fiabilidad analítica de la DBO<sub>5</sub>. De hecho, los valores de DBO para una misma muestra pueden presentar una dispersión de entre el 10 % y el 30 % (Díez-Caballero et al. 1999).

Por consiguiente, es necesario desarrollar un método alternativo. La Celda de Combustible Microbiano (MFC por sus siglas en inglés) es una tecnología emergente que puede eludir este inconveniente mediante la interacción de una señal bio-electroquímica generada en el ciclo metabólico de las bacterias y un sistema electrónico que pueda amplificarla y procesarla de forma adecuada. Este trabajo de investigación se encamina a caracterizar la señal eléctrica producida en una celda de combustible microbiano al ser sometida a diferentes concentraciones de DBO.

## **ANTECEDENTES**

La Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) es un parámetro esencial en el control de la calidad de las aguas residuales, así como en la vigilancia de espacios naturales húmedos. Este parámetro mide el contenido de materia orgánica biodegradable en el agua problema. Esta materia puede ocasionar una depresión de oxígeno disuelto en la cuenca receptora, capaz de producir episodios de mortandad masiva de la fauna acuática por anoxia (Díez-Caballero et al. 1999).

Un método estándar para determinar la DBO del agua, se denomina DBO<sub>5</sub>. Este método sin embargo, consume cinco días y usualmente requiere experiencia y habilidad. Por tal motivo varios métodos han sido explorados. Varios biosensores de DBO han sido reportados, mayoritariamente basados en el monitoreo de oxígeno (O<sub>2</sub>) disuelto usando diferentes microorganismos como levaduras (Hikuma et al. 1979), bacillus subtilis (Riedel et al. 1988) , y Serratia marcescens (Kim y Kwon 1999).

Una bacteria luminosa, Photobaterium phosphoreum, puede también ser usada para un propósito similar. La intensidad de luminiscencia, la cual es proporcional a la cantidad de compuestos orgánicos asimilables en el agua residual, puede ser medida usando un fotodiodo (Ren, Lee y Chae 2012). En el estudio de Reynolds y Ahmad (Reynolds D.M y Ahmad S.R 1997), la determinación rápida de la DBO se ha realizado utilizando una técnica de fluorescencia que dio una relación lineal entre DBO de aguas residuales y las intensidades de fluorescencia de los organismos que crecen en las aguas residuales a 340 nm. Aunque hay buenas relaciones entre la concentración de DBO y sus respuestas, los biosensores basados en O<sub>2</sub> disuelto tienen problemas de estabilidad a largo plazo debido al ensuciamiento de la membrana. Adicionalmente, sensores de DBO basados en un solo organismo como P.phosphoreum no tiene un amplio rango de sustrato útil. “Ciertos químicos no biodegradables interfieren con la estimación de la DBO mediante técnicas de fluorescencia“ (Reynolds D.M y Ahmad S.R 1997) .

En las investigaciones desarrollados por (Kim et al. 2003; Kim, Chang y Gadd 2007; Wang Xin, Gao Nigshengije y Zhou Qixing 2013). Se demostró que la celda de combustible microbiano (MFC por sus siglas en inglés) puede usarse para medir valores de DBO de agua residual, ya sea leyendo la corriente máxima o calculando el coulomb. Asimismo en (E.Stein Nienke et al. 2011), se menciona que cuando la concentración del componente orgánico es constante las bacterias producirán una corriente eléctrica constante. Sin embargo, cuando su metabolismo se ve afectado por el cambio en la concentración de componentes orgánicos, la tasa de consumo de sustrato cambiará y con esto la corriente eléctrica. De esta manera, a diferentes concentraciones de sustrato, la MFC puede actuar como un biosensor.

Otra alternativa para determinar la DBO es mediante los equipos que oferta el mercado, estos utilizan básicamente dos tipos de estrategia en la realización de las medidas:

- Bioelectrodos, consistentes en una membrana que contiene microorganismos inmovilizados, acoplada a una sonda de oxígeno disuelto. Sin embargo la toxicidad del agua problema podría inactivar las células de la membrana irreversiblemente. Para efectuar nuevas medidas, sería necesario un recambio continuo de la membrana, que haría a estos equipos inoperantes y costosos.
- Biorreactores, consistentes en un reservorio conteniendo un fango activo procedente de una estación depuradora de aguas residuales, y una sonda de oxígeno disuelto sumergida.

La complejidad del fango activo utilizado como elemento sensor y la inmersión directa de las sondas de medida implica un rápido ensuciamiento de estos elementos, afectando la medida obtenida y haciendo necesario un mantenimiento con elevada frecuencia (Díez-Caballero et al. 1999).

En 1998 en México se desarrolló un sistema computarizado para la medición rápida y automatizada de la DBO en plantas de lodos activados. Se usó un sensor polarográfico de oxígeno para la determinación de este parámetro, en combinación con un sistema de análisis por inyección de flujo, lo que permitió el diseño de un sistema de lazo cerrado con el que fue posible la adquisición de datos, despliegue de los mismos y el monitoreo en línea de la DBO.

En la ciudad de Riobamba dentro del Grupo de Energías Alternativas y Ambiente (GEAA), se desarrolló el estudio de un biosensor microbiano los resultados indican que podría ser aplicado como una alternativa para el monitoreo de DBO de aguas residuales. En (Logroño et al. 2016), se muestra una respuesta buena y temprana del biosensor para alcanzar la etapa estable y por lo tanto la reproducibilidad para concentraciones de DBO inferiores a 200 ppm.

## **FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿El prototipo apoyará en el análisis de la demanda bioquímica de oxígeno?

## **SISTEMATIZACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Qué tipo de celda de combustible microbiana se construirá para tener un desempeño eficiente como biosensor?

¿Cómo se realizará el experimento para determinar la DBO teniendo como entrada agua residual con diferentes cargas orgánicas?

¿Qué técnica de ajuste de curvas se empleará, para ajustar los datos generados en el experimento y obtener estimaciones intermedias?

¿Qué circuitos se utilizará para el tratamiento y procesamiento de la señal generada por el biosensor?

¿Cómo será el interfaz para mostrar el resultado del análisis?

¿Es posible evaluar la confianza del funcionamiento del sistema mediante técnicas estadísticas?

## **JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

### **JUSTIFICACIÓN TEÓRICA**

El presente trabajo de titulación provee técnicas y métodos para incursionar en el campo de los biosensores basados en celdas de combustible microbiano. Haciendo énfasis en el acondicionamiento y procesamiento de señales microbiológicas, entregando información valiosa para posteriores investigaciones encaminadas en producir dispositivos ecológicos para mejorar drásticamente el bienestar y los medios de subsistencia de las personas del país. Conforme a lo estipulado en el Plan Nacional del Buen Vivir del Ecuador. Concretamente lo definido dentro del objetivo 10, literal a) del lineamiento 10.2, que expresa: “Articular la investigación científica, tecnológica y la educación superior con el sector productivo, para una mejora constante de la productividad y competitividad sistémica, en el marco de las necesidades actuales y futuras del sector productivo y el desarrollo de nuevos conocimientos” («Plan Nacional del Buen vivir», 2013).

### **JUSTIFICACIÓN APLICATIVA**

Concluido el proyecto planteado se tendrá un prototipo electrónico para analizar la DBO en aguas residuales con diferentes cargas orgánicas, en un tiempo relativamente corto y sin la intervención de personal erudito o experimentado. Así como también el estudio y caracterización de la señal

generada por el metabolismo de diferentes consorcios microbianos de la PTAR UCUBAMBA Cuenca.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar un prototipo electrónico para analizar la demanda bioquímica de oxígeno en aguas residuales con carga orgánica conocida.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Construir un biosensor de DBO tipo celda de combustible microbiano.
- Realizar el experimento para determinar la relación carga orgánica (DBO) – Corriente (mA).
- Ajustar los datos del experimento a una curva para obtener estimaciones intermedias.
- Realizar el análisis, tratamiento y procesamiento de la señal provista por el biosensor.
- Elaborar una interfaz para presentar el resultado del análisis de DBO.
- Realizar un análisis de pruebas y resultados del prototipo.

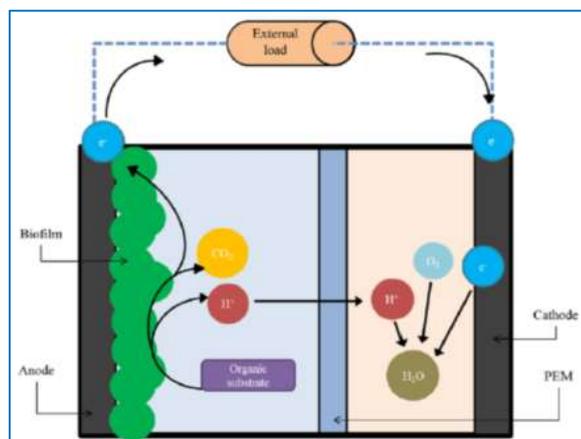
# CAPÍTULO I

## 1 MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

### 1.1 Celda de combustible microbiano (MFC)

#### 1.1.1. Principios de Funcionamiento

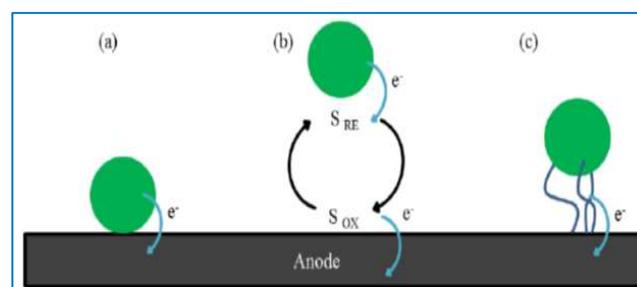
Una celda de combustible microbiano (MFC por sus siglas en inglés) consta de dos electrodos, un ánodo y un cátodo, en presencia de un electrolito. Los dos electrodos están normalmente divididos por una membrana de intercambio de protones (PEM), y están conectados por un circuito externo que incluye una carga externa como se muestra en figura 1-1. Las bacterias electroactivas (anodófilos) residen en el ánodo del dispositivo en forma de un biofilm. Los anodófilos oxidan las moléculas orgánicas biodegradables presentes en la solución de alimentación y generan electrones, protones y dióxido de carbono. En ausencia de oxígeno, los electrones son extracelularmente transferidos al ánodo y fluyen a través del circuito externo hacia el cátodo produciendo así electricidad. Los protones migran a través del PEM al cátodo y reaccionan con electrones y un aceptor de electrones (generalmente oxígeno) para formar agua.



Normalmente, los materiales a base de carbono se implementan como electrodos. Estos son típicamente en forma de tela de carbono, papel de carbono, barras de grafito, placas, gránulos y carbono vítreo reticulado (Logan y Regan, 2006 citados en Chouler y Di Lorenzo, 2015). El material del ánodo debe ser poroso y tener una gran superficie para acomodar el crecimiento del biofilm. El cátodo suele estar dopado con catalizadores, tales como platino, con el fin de aumentar la velocidad de las reacciones de reducción de oxígeno en la superficie del electrodo. Los PEM más típicamente usados están hechos de Nafion o Ultrex .

### 1.1.2. *Transferencia extracelular de electrones*

La transferencia de electrones desde el biofilm a la superficie del ánodo puede ocurrir por contacto directo, nanocables, o por transferencia de electrones mediada (MED) (Bruce E. Logan et al. 2006; Ren, Lee y Chae 2012 citados en Chouler y Di Lorenzo, 2015). Las bacterias, como las especies de *Shewanella*, pueden utilizar cualquiera de estos mecanismos y por lo tanto se definen como "verdaderos anodófilos". Especies *Pseudomonas* en su lugar sólo puede transferir electrones a través de un proceso MED que implican compuestos endógenos como las fenazinas (Yang Yonggang et al. 2012), ejemplos de mediadores químicos exógenos son el rojo neutro o el 2,6-disulfonato de atraquinona. Éstos se agregan al lado anódico para permitir el relai de electrones por las bacterias que serían generalmente incapaces de transferir los electrones al electrodo. Sin embargo, el uso de mediadores exógenos no es adecuado para aplicaciones prácticas de MFC, ya que el costo de operación aumenta y se presentan problemas toxicológicos de liberación o tratamiento del mediador (Abrevaya et al. 2015 citados en Chouler y Di Lorenzo, 2015). En la figura 2-1 se muestra en esquema de los tres mecanismos de transferencia de electrones.



## **1.2 Tipos de celdas de combustible microbianas**

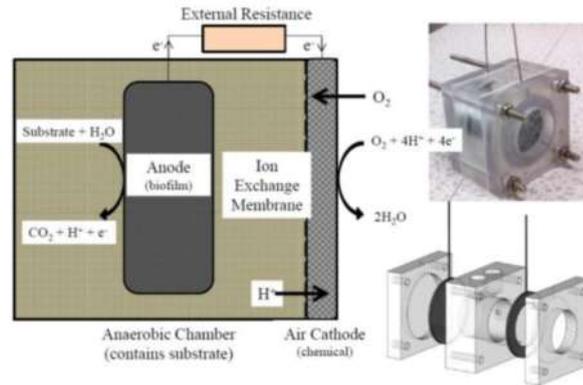
Uno de los factores que influyen en el desempeño eléctrico de las MFCs, es la arquitectura (Rismani-Yazdi et al. 2011 citados en Revelo y Ruiz, 2013). Así tenemos las siguientes configuraciones:

### **1.2.1. Celdas de combustible microbiano de doble cámara (MFC)**

Una MFC de dos compartimentos está compuesta por una cámara anódica y una cámara catódica separadas por una PEM o un puente salino, el cual permiten el paso de los H<sup>+</sup> hacia la cámara catódica. Las concentraciones de DBO que se han podido cuantificar con este tipo de celda alcanzaron hasta 150 ppm.

### **1.2.2. Celdas de combustible microbiano de cámara simple (SCMFC)**

Esta arquitectura de cámara única con el cátodo expuesto directamente al aire como una fuente de oxígeno y una membrana unida al cátodo. Puede conducir a un dispositivo más compacto y más simple. Los costes de funcionamiento también se reducen debido a que el bombeo de catolito y la purga de aire/oxígeno no son necesarios. Además hay un incremento en el rango de un biosensor en aproximadamente 133% comparado con el rango obtenido con una MFC de dos cámaras como consecuencia del contacto directo con el aire (mejora el suministro de oxígeno proporcionado al cátodo) (Revelo, Hurtado y Ruiz, 2013). (Spurr 2015). En la figura 3-1 se muestra la celda de combustible de cámara única.



### 1.3 Desempeño eléctrico de las MFCs

Para determinar el desempeño eléctrico de una MFC los parámetros que se analizan son: la densidad de potencia, la eficiencia coulombica y la resistencia interna. Que se derivan de las mediciones de voltaje generado en la celda bajo una resistencia externa conectada entre el electrodo ánodo y cátodo.

#### 1.3.1. Densidad de Potencia

La densidad de potencia (DP) expresada como la potencia por unidad de área del electrodo anódico o la potencia por unidad de volumen del sustrato, se calcula de la siguiente manera:

$$P_A = \frac{IU}{A}$$

$$P_V = \frac{IU}{V}$$

Donde, I es la corriente en amperios, U es el potencial en voltios, A es el área de la superficie del electrodo anódico en  $\text{m}^2$  y V es el volumen del sustrato de la cámara anódica.

### 1.3.2. Resistencia Interna de la MFCs

La resistencia interna (RI) es un parámetro muy importante para caracterizar un generador de corriente como lo es MFC. Se puede obtener a partir del análisis de las curvas de polarización que se derivan de las mediciones de voltaje en la resistencia externa (Hoyos et al., 2007; Rismani-Yazdy et al., 2011, citados en Revelo, Hurtado y Ruiz, 2013), o por la técnica de espectroscopia de impedancias (Hou et al., 2012; Fuentes-Albarrán et al., 2012, citados en Revelo, Hurtado y Ruiz, 2013), que se fundamenta en la aplicación de una pequeña señal de voltaje a la celda electroquímica y posterior medición de la corriente a través de ella (Ramírez et al., 2009, citados en Revelo, Hurtado y Ruiz, 2013).

### 1.3.3. Eficiencia Coulómbica

La eficiencia coulómbica (EC) es un parámetro que permite obtener la fracción de energía eléctrica que se puede generar en la MFC a partir de un sustrato determinado. Su medición es importante porque posibilita comparar el desempeño de diferentes MFCs. La EC se calcula como la razón entre la carga generada y la carga teórica presente en el sustrato de la cámara anódica (Sharma y Li, 2010 citados en Revelo, Hurtado y Ruiz, 2013), mediante la siguiente expresión matemática (Luo et al., 2010 citados en Revelo, Hurtado y Ruiz, 2013).

$$EC\% = \frac{i_1^n U_i t_i}{RFb\Delta S V} M \times 100$$

Donde,  $U_i$  es el voltaje de la MFC en el tiempo  $t_i$ ,  $R$  es la resistencia externa,  $F$  es la constante de Faraday (96485 C/mol),  $b$  es el número de moles de electrones producidos por una mol de demanda química de oxígeno (DQO),  $\Delta S$  es la concentración removida de DQO (g/L),  $V$  es el volumen del líquido (L) y  $M$  es el peso molecular del oxígeno (32g/mol).

## **1.4 Biosensor**

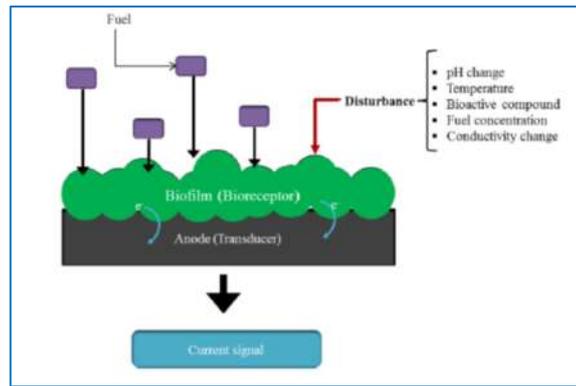
Un biosensor es un dispositivo integrado autónomo que es capaz de proporcionar información analítica cuantitativa o semicuantitativa específica utilizando un elemento de reconocimiento biológico (receptor bioquímico) que se mantiene en contacto espacial directo con un elemento de transducción.

El primer biosensor fue fabricado en 1956 por el profesor Leland C. Clark., que más tarde 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. 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 (Chouler y Di Lorenzo 2015).

## **1.5 Principios Operativos MFC como biosensor**

La corriente generada por un MFC se relaciona directamente con la actividad metabólica del biofilm electroactivo en la superficie del ánodo (Di Lorenzo Mirella et al. 2014 citados en Chouler y Di Lorenzo, 2015). Cualquier alteración de sus vías metabólicas se traduce en un cambio en la producción de electricidad, si se mantienen constantes los parámetros operativos tales como el pH, la temperatura y la conductividad de la solución de alimentación.

Es decir el biofilm anódico de la MFC actúa como el componente de reconocimiento (biorreceptor). Su respuesta a la perturbación específica afecta la tasa de flujo de electrones al ánodo (el transductor) y se transluce en un cambio de corriente medible (principio básico detrás del uso de MFC como biosensores microbianos electroquímicos). Mientras que en otros tipos de biosensores amperométricos para la oxidación de sustrato/analito, un voltaje externo tiene para ser aplicado para una función biosensora apropiada, en MFCs, el potencial de conducción está asegurado por una oxidación acoplada de combustible en la superficie del ánodo y la reducción de un oxidante en la superficie del cátodo (Lovley, 2008, pp. 564-571). En la figura 4.1 se muestra el principio básico de una MFC como biosensor.



Para ser utilizado como un biosensor, la MFC debe mostrar una alta sensibilidad hacia el compuesto a ser detectado con un mínimo riesgo de falsos positivos o negativos. La sensibilidad se define como el cambio de la señal eléctrica por unidad de cambio de la concentración de analito y se refiere generalmente a la superficie del ánodo, de acuerdo con la ecuación (1) (Di Lorenzo Mirella et al., 2014, pp. 182-188).

$$\text{sensibilidad} = \frac{\Delta I}{\Delta c} \frac{1}{A}$$

Donde  $\Delta I$  ( $\mu A$ ) es el cambio de unidad en la salida de corriente;  $\Delta c$  ( $mM$ ) es el cambio de unidad en la concentración del analito; Y  $A$  ( $cm^2$ ) es el área de superficie del electrodo.

Por lo tanto, altas sensibilidades están asociadas con grandes cambios de corriente por unidad de cambio en la concentración del tóxico objetivo.

## 1.6 Potencial de los biosensores basados en celdas de combustible microbiano

El desarrollo de biosensores en los últimos años ha abierto grandes perspectivas para el monitoreo de la calidad del agua. Por ser compactos, relativamente baratos y potencialmente desechables. También pueden permitir el monitoreo en línea, eliminando así los costos asociados con la recolección, aislamiento, embalaje y transporte de la muestra a analizar, así como proporcionar

lecturas oportunas, gran proporción de biosensores son enzimáticos y operan a través de medios electroquímicos. Los biosensores enzimáticos tienen la ventaja de una alta selectividad hacia el analito objetivo. Sufren, sin embargo de los protocolos de purificación e inmovilización enzimática que consumen mucho tiempo y son costosos, el tiempo de vida corto y la mala estabilidad, debido a la desactivación o lixiviación de la enzima.

El uso de bacterias ofrece en cambio la ventaja de una gran sencillez asociada con la preparación del biocatalizador, especialmente cuando se requieren grandes cantidades. Los biosensores microbianos son también más versátiles y sensibles a una gran variedad de analitos, gracias al consorcio de enzimas que contienen en sus células. Los biosensores microbianos se han investigado principalmente como dispositivos de monitoreo de la calidad del agua y actualmente se han comercializado pocos prototipos utilizados como sensores de la toxicidad del agua. El uso de microbios que sobreviven bajo condiciones altamente alcalinas, ácidas, de alta temperatura y salinas abre perspectivas atractivas sobre el monitoreo del agua para el monitoreo de residuos de procesos industriales. Sin embargo, el despliegue completo de biosensores microbianos se enfrenta a varios desafíos. Estos incluyen baja selectividad, bajos límites de detección, y el riesgo de contaminación con otros microorganismos (Chouler y Di Lorenzo, 2015, pp. 453).

### **1.7 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)**

Los valores de DBO indican la cantidad de material orgánico biodegradable (demanda carbonácea) y el oxígeno usado para oxidar el material inorgánico tal como sulfuros y hierro ferroso. También puede medir el oxígeno usado para oxidar formas reducidas de nitrógeno (demanda nitrogenada).

La importancia del análisis de la DBO está relacionada con la medición de la carga de residuos en las plantas de tratamiento y en la evaluación de la eficiencia de eliminación de DBO de dichos sistemas (Liu y Mattiasson 2002).

## **1.8 Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)**

Es una prueba empírica en la que se utilizan procedimientos estandarizados de laboratorio para determinar las necesidades de oxígeno relativas de aguas residuales, efluentes y aguas contaminadas. La DBO se ha determinado convencionalmente tomando una muestra de agua, aireándola bien, colocándola en una botella sellada, incubando durante un período de tiempo estándar a  $20\pm 1^\circ\text{C}$  en la oscuridad, y determinando el consumo de oxígeno en el agua al final de la incubación (Madigan, Martinko y Brock, 2006).

De acuerdo con la norma americana, el tiempo de incubación es de 5 días y los valores de DBO basados en este estándar se denominan DBO<sub>5</sub> (American Public Health Association; American Water Works Association; y Water Environment Federation, 2017), mientras que si el tiempo de incubación es de 7 días según en la norma sueca DBO<sub>7</sub> (Swedish Standards Institute, 1979 citado en Liu y Mattiasson, 2002) .

## **1.9 Sistema de adquisición y procesamiento de datos**

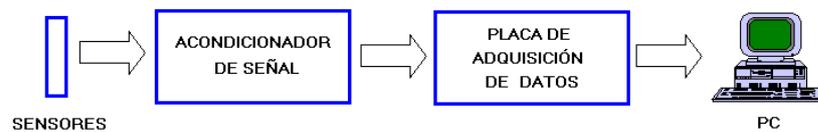
### **1.9.1. *Proceso de adquisición de datos***

Como paso previo, antes de realizar un tratamiento digital de la información está, el proceso de adquisición de los datos en este proceso se realiza una medición, a través de un computador, de una magnitud física. La figura 5.1 muestra el sistema de adquisición de datos.

El proceso a seguir con las señales desde la adquisición de estas, por medio del sensor adecuado, hasta la digitalización consta de tres etapas:

1. Conversión de la magnitud a una señal eléctrica.
2. Adaptación de la señal eléctrica para su lectura digital.
3. Sistema hardware de adquisición de datos, generalmente a través de un computador.

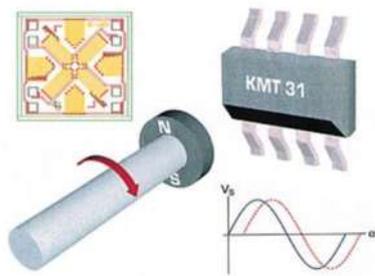
Proceso de adquisición de datos:



### *Sensores*

Los sensores son dispositivos capaces de convertir una magnitud física, como puede ser la temperatura, la presión, el valor de pH, entre otros, en una diferencia de potencial o una variación de intensidad. Es decir, realizan una conversión de energías y suministran información sobre el estado y tamaño de la magnitud.

Los sensores informan de su entorno y además esa información es cuantificable, es decir, medible por algún instrumento. La figura 6-1 muestra el sensor de campo magnético.



La posibilidad de fabricar un sensor que perciba una determinada magnitud depende de:

1) Que exista una propiedad en algún material que cambie en función de esa magnitud. Preferiblemente esa función debe ser lineal para el rango en el que estemos interesados.

Ejemplo: La relación que se da en los conductores entre su resistencia al paso de la corriente eléctrica y la temperatura. A mayor resistencia, mayor temperatura:

$$R = f(T)$$

2) En otras ocasiones existe una relación entre una magnitud y un fenómeno físico.

Si la relación es predecible, suave y estable, el fenómeno se puede usar como base para la determinación de la magnitud

Ejemplo: El efecto Hall se genera una tensión cuando un material es atravesado por una corriente en presencia de un campo magnético. La tensión generada es proporcional a la corriente y al campo, de modo que si mantenemos la corriente constante podemos medir el campo magnético.

$$V = f(B)I = cte$$

En muchas ocasiones la dificultad está en conseguir que la propiedad o fenómeno sea función únicamente de la magnitud que queremos evaluar. Suele ocurrir que la medida es función de varios factores, de tal manera que cualquier variación en alguno de ellos altera el resultado final. En la actualidad, la mayor parte de los sensores:

- Generan una salida en tensión o corriente, o bien,
- Modifican una propiedad que puede ser evaluada de forma eléctrica.

De esta manera, y con el debido acondicionamiento, la señal de salida puede ser tratada por un equipo automático de adquisición de datos.

Las señales del mundo real son, en general, analógicas y varían de manera continua en el tiempo, para que un computador sea capaz de procesarla se debe convertir a datos digitales. Cada uno de estos sensores tiene unas características propias y genera una tensión o intensidad determinada, por lo que estas señales tienen que ser adaptadas para ser tratadas en una tarjeta de adquisición de datos.

### 1.9.2. *Acondicionador de la señal*

El objetivo del acondicionador de señal es generar, a partir de lo obtenido por los sensores, una señal que sea aceptable por las tarjetas de adquisición de datos. Las tarjetas de adquisición de datos suelen admitir niveles de tensión que van entre unos márgenes determinados: -10V a 10V, 0 a 10V, 0 a 5V, etc. Las funciones principales que va a tener que realizar el acondicionador de señal son las siguientes:

*Transformación:* Los sensores pueden proporcionar una diferencia de potencial, o una variable de intensidad. Normalmente las tarjetas de adquisición de datos admiten diferencias de potencial, por lo que si el sensor proporciona una variación de intensidad, esta debe ser convertida en una diferencia de potencial proporcional.

*Amplificación:* La señal proporcionada por los sensores suele ser de un valor muy pequeño, por lo que debe ser amplificada con el fin de que pueda ser detectada correctamente por la tarjeta de adquisición de datos. La amplificación debe ser tal que las variaciones de la señal recorran todo el margen de la tarjeta de adquisición de datos. La amplificación de las señales, en su origen, reduce el ruido que les puede afectar en su transmisión hasta el computador.

Una posible clasificación de las principales fuentes de ruido que actúan sobre el registro de cualquier potencial bioeléctrico puede ser:

- Interferencias externas al equipo de medida

Las interferencias externas son todas aquellas que tienen su origen fuera del equipo amplificador. La principal fuente de interferencia externa es, sin duda, la red de distribución de energía eléctrica, que provoca una señal de interferencia de 60 Hz.

- Interferencias internas al equipo de medida

Se consideran interferencias internas, aquellas que son provocadas por fuentes incluidas en el amplificador. Entre ellas destacan las causadas por la fuente de alimentación y las debidas al ruido interno de los componentes electrónicos en general.

- Interferencias debidas a la fuente de alimentación

Si la fuente de alimentación del amplificador incorpora un transformador, el rizado de 120 Hz, correspondiente a la rectificación de los 60 Hz de la red, provocará interferencias que pueden ser importantes. Cuando se utilizan amplificadores operacionales el problema se reduce a elegir un componente con una relación de rechazo frente a variaciones de la tensión de alimentación (PSRR, power supply rejection ratio) lo suficientemente grande. Este dato lo suministra el fabricante. También influye el valor del rechazo al rizado del regulador de la fuente de alimentación. Una solución aceptable para solucionar estos problemas es usar baterías para alimentar el amplificador.

En cualquier caso, pueden utilizarse redes de filtrado en las alimentaciones que sirven para atenuar la interferencia del rizado de la fuente.

- Ruido generado por los componentes electrónicos

Los componentes electrónicos, bien sean activos o pasivos, generan señales de ruido, en general aleatorias, que contaminan las medidas. En los sistemas que requieren grandes amplificaciones, este problema puede ser crítico y exige una adecuada selección de los componentes de las primeras etapas.

Los componentes pasivos, especialmente las resistencias, que tienen una densidad espectral de ruido como lo muestra la ecuación 7-1:

$$e_n = \sqrt{4KTR}(V/\sqrt{Hz}) \quad .$$

Donde:

K: constante de Boltzman,  $1.38 \cdot 10^{-23}$  (J/K.)

T: temperatura absoluta. (K)

R: resistencia. ( $\Omega$ )

Siempre que sea posible interesará utilizar valores bajos. En cuanto a los componentes activos, la única medida posible es la selección de los que presenten menores niveles de ruido, dentro de las exigencias del diseño, incluidas las económicas. En todo caso, es muy recomendable limitar mediante filtros la banda de funcionamiento todo lo que permita el espectro de la señal de interés.

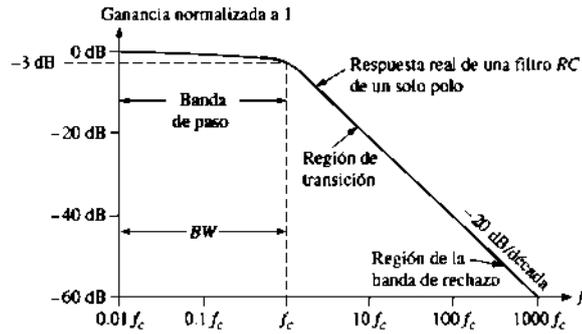
*Conversión por Medio de optoacopladores:* Consiste en la conversión de una señal eléctrica en una señal óptica, de luz. El principal objetivo de esta conversión es aislar los sistemas eléctricos de los sensores de los sistemas eléctricos de la tarjeta de adquisición para que de esta forma, se evite tener que usar masas comunes, que en algunos casos producen problemas de derivación de corrientes. Conviene que los sensores de calidad realicen esta conversión por medio de optoacopladores.

*Filtrado:* Con el filtrado se pretende eliminar ruidos de alta frecuencia que pueden hacer perder exactitud al sistema de adquisición de datos. Lo ideal es transportar la señal del sensor lo más limpia posible a la tarjeta de adquisición. En general existen dos tipos de filtros que rechazan el ruido no deseado dentro de un determinado rango de frecuencias. Los filtros activos y pasivos: Los filtros activos utilizan transistores o amplificadores operacionales combinados con circuitos RC, RL o RLC pasivos. Y presentan las siguientes ventajas sobre los filtros pasivos:

- Los dispositivos activos proporcionan ganancia de voltaje por lo cual la señal no se atenúa.
- Los filtros activos se pueden conectar en cascada para mejorar la respuesta en frecuencia.
- Facilidad de ajustar la frecuencia de corte del filtro.
- El costo es mucho menor que el de los pasivos
- Los efectos parásitos disminuyen debido al menor tamaño.

En función de su respuesta general, las cuatro categorías básicas de filtros activos son los pasobajas, los pasoaltas, los pasobanda y los supresores de banda.

Un filtro pasobajas es uno que deja pasar frecuencias desde  $f_c$  hasta  $f_c$  (frecuencia de corte) y que atenúa significativamente a todas las demás frecuencias. La banda de paso del filtro pasobajas ideal se muestra en el área sombreada de la figura 7-1; la respuesta se reduce a cero a frecuencias más allá de la banda de paso. Esta respuesta ideal en ocasiones se conoce como “pared de ladrillos” porque nada lo atraviesa. El ancho de banda de un filtro pasobajas ideal es igual a la frecuencia de corte (Thomas. 2008, pp. 755-764).



*Excitación:* Hay muchos sensores que necesitan de una excitación, bien en corriente, bien en tensión, para producir la variación proporcional a la magnitud a medir.

*Linealización:* No todos los sensores tienen una variación lineal con respecto a las variaciones de la magnitud que se miden; a veces es necesario realizar unos cálculos para convertir la respuesta del sensor en lineal.

### 1.9.3. Tarjeta de adquisición de datos

El último paso en un sistema de adquisición de datos es la tarjetas de adquisición de datos, estas tarjetas se encargan de:

- Las conversiones de señales desde analógica a digital. ADC.
- La comunicación con el ordenador

Como características más relevantes de una tarjeta de adquisición de datos están:

*Número de canales analógicos:* Nos indica la cantidad de magnitudes distintas que podemos adquirir con la misma tarjeta. Generalmente las tarjetas disponen de un único ADC y los diferentes canales se generan por medio de un multiplexor analógico.

*Velocidad de muestreo:* Cuanto mayor sea la velocidad de muestreo mejor representación obtendremos de la señal analógica, en cualquier caso la velocidad de muestreo debe ser siempre mayor que el doble de la frecuencia de la señal que queremos muestrear.

La velocidad de muestreo depende de los canales que queramos tener activos. Las especificaciones de las tarjetas suelen indicar la velocidad de muestreo del ADC, a medida que aumenta el número de canales que este debe atender disminuirá el número de muestras por segundo que podemos obtener en cada canal.

$$V_{muestreo\ por\ canal} = \frac{V_{muestreo\ ADC}}{n^{\circ}\ canales}$$

*Resolución:* Viene dada por el número de bits del ADC que se utilizan para representar cada muestra, a mayor número de bits del ADC la tarjeta será capaz de detectar variaciones menores en la señal. El número de distintos niveles en que se divide la señal a convertir viene dada por  $2^n$ , siendo n la longitud de palabra del conversor.

*Rango de entrada:* Indica los márgenes entre los que debe estar la señal de entrada para que pueda ser convertida. Las tarjetas de adquisición de datos suelen dar varias posibilidades que se pueden seleccionar por hardware o por software.

Estas 4 características vienen a determinar la **capacidad** y la **precisión** de la tarjeta de adquisición:

**Tabla 1-1:** Características de una tarjeta de adquisición

A mayor número de canales	Mayor capacidad.
A mayor velocidad de muestreo	Mayor capacidad
A mayor resolución	Mayor precisión
A menor rango de entrada	Mayor precisión, ya que se con los mismos bits de resolución se tendrá que representar un menor rango.

**Fuente:** (Universidad Alicante, 2016), pp. 6

*Capacidad de temporización:* La capacidad de temporización interna de la tarjeta de adquisición de datos es una característica interesante en estos sistemas, ya que permite unas funcionalidades adicionales:

- Puede controlar los momentos en los que se debe leer una señal.
- Identificar cuantas veces se ha producido un evento.
- Generar formas de onda de acuerdo al reloj.

Y de esta forma descarga de estas misiones al computador que podrá usar ese tiempo para otras ocupaciones. También proporciona una forma de trabajo en tiempo real en aquellos casos en los que el computador no puede atenderla debido a sobrecargas o a limitaciones en su sistema operativo

*Forma de comunicarse con el computador:* Su funcionamiento, como dispositivo periférico se puede realizar de dos formas:

- Mediante entrada-salida por interrupción, lo normal.
- Mediante acceso directo a memoria (DMA). En aquellos casos en los que el flujo de datos puede ser elevado.

#### **1.9.4. *Procesamiento de la señal***

##### *Muestreo de señales analógicas*

Para obtener datos digitales a partir de señales analógicas, la señal debe ser muestreada. Esto significa tomar el valor instantáneo de la señal en un momento determinado. Para una señal continua, las muestras se toman a intervalos regulares, generalmente con un periodo de muestreo fijo entre medidas.

Para recoger información útil, un factor clave es el ritmo o frecuencia con la que se toman las medidas.

### *Teorema de Nyquist*

El Teorema de Nyquist indica que la frecuencia de muestreo mínima que tenemos que utilizar debe ser mayor que  $2 \cdot f_{max}$ , donde  $f_{max}$  es la frecuencia máxima de la señal. Si utilizamos esa frecuencia de muestreo, podremos reproducir posteriormente la señal a partir de las muestras tomadas.

¿Qué sucede si utilizáramos una frecuencia de muestreo más alta?

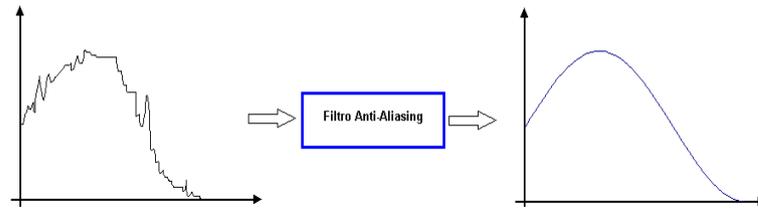
Si utilizáramos una frecuencia más alta que la que nos dice Nyquist obtendríamos una representación más exacta de la señal de entrada. Sin embargo, debemos buscar un compromiso: cuanto más alta es la frecuencia de muestreo más alto es el número de muestras por segundo que se deberán procesar, por lo que los procesadores de señal deberán ser más potentes o realizar menos procesamiento en cada muestra.

¿Qué sucede si utilizamos una frecuencia por debajo de la especificada por el Teorema de Nyquist?

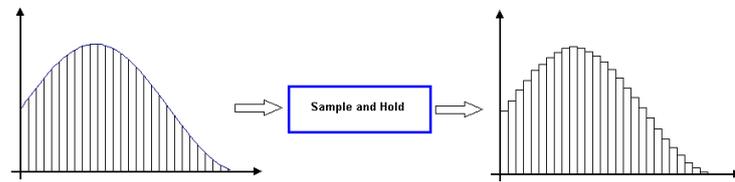
Si utilizamos una frecuencia inferior aparece un fenómeno llamado Aliasing. Esto significa que cuando intentamos reconstruir la señal aparece una onda senoidal de frecuencia más baja. Este fenómeno se presenta por el hecho de que las muestras se pueden unir para crear una forma de onda de frecuencia más baja que es totalmente diferente de la onda original.

#### **1.9.5. *Proceso de obtención de la Señal Digital***

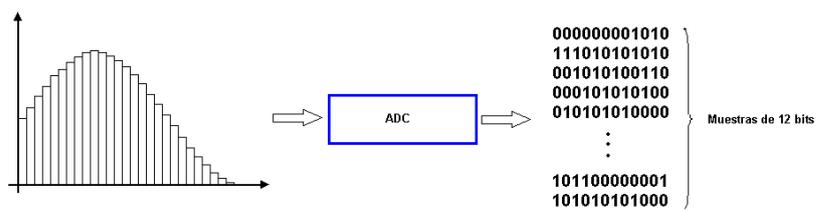
En primer lugar debemos eliminar las componentes de la señal por encima de la frecuencia de Nyquist ya que estas, no deben ser muestreadas. Esto se consigue usando un filtro anti-aliasing. El filtro anti-aliasing no es más que un filtro paso bajo analógico. La figura 8-1 muestra el filtro Aliasing.



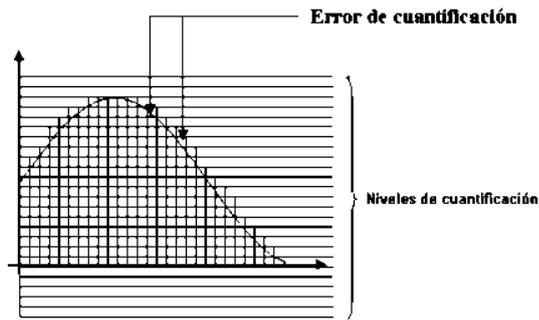
La señal de entrada continua se pasa entonces a un circuito *sample and hold*. Este circuito toma muestras a un ritmo fijo y mantiene el valor hasta que se toma la muestra siguiente, dando como resultado una forma de onda escalonada como se indica en la figura 9-1.



Los valores muestreados se deben convertir ahora en números para ser procesados. Este proceso se denomina cuantificación, y se realiza mediante un conversor analógico/digital (ADC), como se muestra en la figura 10-1.



Para cuantificar la señal, utilizamos un número de niveles que representan escalones de amplitud de entrada; para cada muestra ADC devuelve un valor que representa el nivel más cercano al valor de la muestra. Esto implica inevitablemente una aproximación llamada Error de Cuantificación que se aprecia la figura 11-1.



Cuanto más niveles de cuantificación utilizamos, podremos representar más exactamente la señal analógica. Si en un sistema DSP, el convertidor analógico/digital (ADC) tiene una resolución de 12 dígitos binarios, en total nos encontraríamos con  $2^{12}=4096$  niveles (Universidad Alicante, 2016).

## CAPÍTULO II

### 2 MARCO METODOLÓGICO

Este trabajo de titulación se sustenta bajo el método de experimentación científica. El diseño experimental es completamente al azar (DCA), debido a que se manipula la variable independiente, concentración de materia orgánica (DBO) para observar el efecto que produce en la variable dependiente que es la generación de corriente. El tipo de investigación es aplicada ya que se basa en conocimientos existentes derivados del trabajo con celdas de combustible microbiano y está dirigida al desarrollo de un prototipo electrónico orientado al establecimiento de un nuevo método de análisis de agua residual. La población de estudio es el agua residual de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) UCUBAMBA de la ciudad de Cuenca y la muestra el agua del desbordamiento del clarificador primario. En cuanto a las técnicas empleadas están el muestro probabilístico simple para determinar la muestra, ANOVA para la comprobación de hipótesis. Asimismo se manejó fuentes de información primaria y secundaria, tales como experimentos empleados en el desarrollo del tema propuesto, entrevistas y artículos científicos referentes al tema contemplado.

Este capítulo se ha dividido en dos partes: química y electrónica, en las que se detalla el desarrollo del biosensor basado en celdas de combustible microbiano, y el sistema electrónico para amplificar y procesar de forma adecuada la señal bio-electroquímica generada en el ciclo metabólico de las bacterias.

## PARTE QUÍMICA

### 2.1 Construcción del biosensor basado en celdas de combustible microbiano

#### 2.1.1. Población de estudio

La población de estudio en esta investigación es el agua residual de entrada a la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) UCUBAMBA de la ciudad de Cuenca, ubicada en la panamericana entre Ezequiel Cárdenas y García Moreno. Como se muestra en la figura 1-2.



#### 2.1.2. Selección de la muestra

El tipo de muestro 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, del desbordamiento del clarificador primario y lodo activado. En la figura 2-2 se muestra la etapa del clarificado primario.



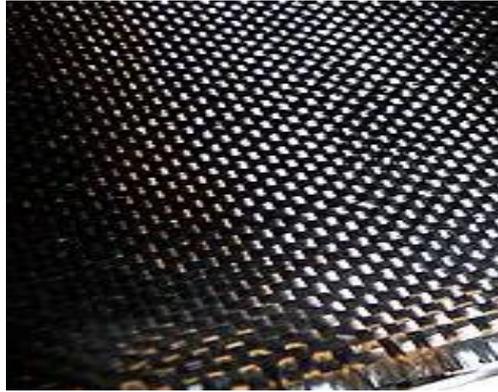
Las muestras fueron recolectadas en envases completamente esterilizados, trasladados en una nevera a 4°C de temperatura y almacenadas en el laboratorio de Química Analítica a cargo del Lic. Fausto Tapia, de manera que no altere su composición al momento de utilizarlas.

### ***2.1.3. Configuración SCMFCs***

En esta investigación se empleó celdas de combustible microbiano en configuración de una sola cámara, por su estructura simple y principalmente por la mejora de suministro de oxígeno en el cátodo que produce un incremento en el rango dinámico del biosensor según los estudios de (Di Lorenzo et al. 2009).

#### ***Selección del material de los electrodos***

Los electrodos son partes críticas de una SCMFC y generalmente son materiales a base de carbono. Según los trabajos con celdas de combustible microbiano desarrollados en el CEAA y la bibliografía revisada la fibra de carbono en tejido plano es el material apto para este tipo de aplicaciones. En la figura 3-2 se muestra la fibra de carbono en tejido plano.



Las propiedades principales de este material son:

- Muy elevada resistencia mecánica, con un módulo de elasticidad elevado.
- Resistencia a agentes externos.
- Gran capacidad de aislamiento térmico.
- Resistencia a las variaciones de temperatura.
- Buena conductividad
- Suministra una gran área superficial para adherir la biopelícula bacteriana.

#### *Pre-tratamiento de la fibra de carbono*

El electrodo del ánodo es donde se forma la colonia de bacterias electrogénicas que degradan la materia orgánica del WW para producir electrones y protones mientras el electrodo cátodo es el receptor de estos electrones. En este sentido y con el fin de mejorar la formación de la comunidad microbiana se realizó los siguientes pre-tratamientos en la fibra de carbono bajo la supervisión del Biof. Mario Pérez.

### *Pre-tratamiento químico*

- Empapar la fibra de carbono en acetona la noche anterior al tratamiento.
- Lavar la fibra con agua destilada o desionizada 5 veces.
- Remojar en peroxidisulfato de amonio 50g (15 minutos ), ácido sulfúrico concentrado 25 mL (15 minutos)
- Lavar con agua destilada 5 veces antes de su uso.

### *Pre-tratamiento térmico*

El tratamiento térmico consiste en someter el electrodo ánodo a una temperatura de 450 °C durante 30 minutos. Y remojar el cátodo en agua destilada para eliminar impurezas. figura 4-2 se muestra el pretratamiento químico de los electrodos.



### *Selección de la membrana de intercambio de protones*

La membrana en una MFC aísla el ánodo y el cátodo mientras que facilita el transporte de protones necesario para la reacción redox que genera el potencial. También ayuda a prevenir la difusión de oxígeno al ánodo. Las especies tóxicas cargadas pueden atravesar o ser absorbidas por la membrana y, por lo tanto, la selección del material de la membrana puede afectar su rendimiento como sensor. El efecto de la membrana implementada en la respuesta del biosensor MFC fue investigado. En particular, se probaron cuatro membranas selectivas de iones: intercambio catiónico, intercambio aniónico, intercambio catiónico monovalente y membranas bipolares. Se demostró que la selección del tipo de membrana parecía no afectar significativamente la sensibilidad del sensor (Stein Nienke E, Hamelers Hubertus V.M y Buisman Cees N.J, 2012; citados en Chouler y Di Lorenzo, 2015).

Sin embargo la membrana más utilizada en MFCs es el Nafion pero su costo es demasiado elevado, por lo cual otros investigadores han utilizado con éxito separadores de arcilla de bajo costo como PEM con un mejor rendimiento (Jana, Behera y Ghangrekar, 2010; citados en Manipal institute of technology y Ghangrekar M.M, 2014). De la misma manera en el trabajo de investigación (Buenaño Abarca y Cruz Garcés 2016) desarrollado en el CEAA se utilizó como PEM papel celofán demostrando gran resistencia.

En ciertos estudios se evidencia que la PEM antes de ser usada en la MFC requiere un pre-tratamiento sin embargo no pueden concluir que el dopado de membranas mejore el desempeño.

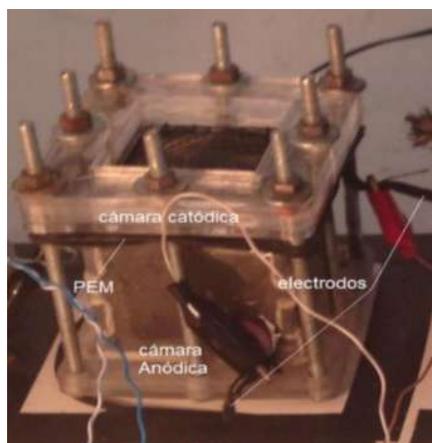
En este trabajo se empleó papel celofán remojado en agua desionizada para remover impurezas orgánicas. figura 5-2 se muestra la membrana de intercambio celofan.



Características del papel celofán:

- Película de celulosa transparente y flexible.
- Gran capacidad de resistencia
- Baja permeabilidad tanto al aire como a la grasa.

El día 19 de julio del 2017 se armaron tres celdas de combustible microbiano representadas con la simbología SCMFC\_1, SCMFC\_2 y SCMFC\_3, en el Centro de Investigación de Energías Alternativas y Ambiente a cargo del Dr. Celso Recalde. La figura 3-2 muestra la estructura final de una MFC de cámara simple.



Como se aprecia en la figura 6-2 la SCMFC consta de una cámara anódica (125 ml) y otra catódica (en las que se instaló electrodos de fibra de carbono en tejido plano (25 cm<sup>2</sup>) tanto para el ánodo como el cátodo) separadas con papel celofán como membrana de intercambio de protones.

La estructura de la celda fue manufacturada a partir de placas de acrílico de 2.2 mm de grosor. Además se situó orificios de flujo (de 1 cm de diámetro) a los lados de la misma para facilitar el modo de alimentación.

#### **2.1.4. *Condiciones de operación de las SMFCs***

Uno de los factores más relevantes en el desempeño de la celda como biosensor de DBO es la temperatura. Los experimentos con biosensores de los últimos años se realizaron en sistemas de temperatura controlada (a 30°C o más) los resultados indican: Un incremento en la producción de corriente (72% y 96% mayor que a 25°C y 20°C respectivamente) y el porcentaje de eliminación de DQO, además de una mejora en el tiempo de respuesta del biosensor (temperaturas altas acelerarían la hidrólisis de compuestos complejos). También se observó un buen desempeño cuando se operaba a temperatura ambiente (20° C), lo que permitía una mayor simplicidad del sistema y menores costos de operación.

Por consiguiente se instaló un sistema de control de temperatura ON-OFF mediante el termostato MH1210W y un calefactor de 800W, que permitió alcanzar una temperatura constante de 28°C en el área de trabajo de las celdas.

#### **2.1.5. *Enriquecimiento y adaptación de las bacterias electroquímicamente activas sobre el electrodo del ánodo de las SCMFCs***

Como punto de partida se exploró las características del WW, así como la presencia de microorganismos previo al enriquecimiento y la adaptación de las bacterias electroquímicamente activas sobre el electrodo del ánodo de las SCMFCs, la metodología fue planificada en colaboración del Phd. Washington Logroño.

a) *PH y Conductividad*

El pH es un indicador de la acidez de una sustancia. El resultado de una medición de pH viene determinado por una consideración entre el número de protones (iones H<sup>+</sup>) y el número de iones hidroxilo (OH<sup>-</sup>). Cuando el número de protones iguala al número de iones hidroxilo, el agua es neutra. Tendrá entonces un pH alrededor de 7. Cuando el pH de una sustancia es mayor de 7, es una sustancia básica. Cuando el pH de una sustancia está por debajo de 7, es una sustancia ácida.

La conductividad eléctrica hace referencia a la capacidad que tiene una solución para conducir la corriente eléctrica.

*Procedimiento*

1. Homogenizar la muestra que se va a analizar.
2. Colocar 50 ml de la muestra en un vaso de precipitado.
3. Limpiar el electrodo del PH-metro con agua desionizada.
4. Introducir el electrodo en la muestra y registrar el valor.

Parámetro	Unidad	Valor
PH	-	7.11
Conductividad	Us	629 u

**Realizado por:** Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

Como se puede observar en la tabla 1-2 el pH es alcalino y existe una buena conductividad del WW es decir los parámetros son adecuados para el desarrollo de consorcios microbianos.

*b) Sólidos orgánicos totales*

Porcentaje de materia orgánica en la muestra.

Procedimiento

1. Tarado de los crisoles.
  - Lavar el crisol con agua desionizada y detergente.
  - Remojar el crisol en ácido clorhídrico y ácido nítrico en relación 3:1.
  - Colocar en la estufa a una temperatura de 110°C durante media hora.
  - Pesar en una balanza analítica de al menos 4 dígitos, y registrar el valor.
  
2. Homogenizar la muestra que se va a analizar y colocar en el crisol hasta dos milímetros menos del volumen total.
3. Pesar en una balanza analítica y registrar el valor.
4. Colocar en la estufa a una temperatura de 110°C durante 24 horas.
5. Pesar en una balanza analítica y registrar el valor (equivalente al total de minerales y materia orgánica de la muestra).
6. Colocar en el horno mufla a una temperatura de 550°C durante 1 hora.
7. Pesar en una balanza analítica y registrar el valor (equivalente al total de minerales de la muestra).

El secado del crisol se realiza por aproximadamente 15 minutos en el desecador que contiene una sílica que permite el enfriado sin absorber la humedad del ambiente.

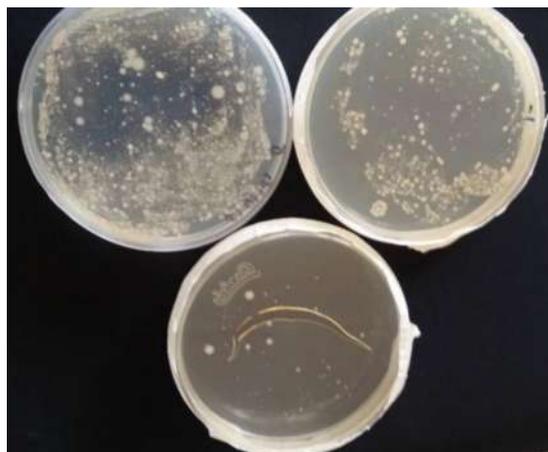
**Tabla 2-2:** Análisis sólidos orgánicos totales en aguas residuales PTAR-Ucubamba

EXPERIMENTACIÓN				
Crisoles	Peso del Crisol tarado	Peso Crisol+Muestra	Peso después 110°C *24h estufa	Peso después 550° C* 1h horno mufla
C1	25.7577	59.224	25.775	25.7686
C2	37.1159	87.176	37.1399	37.1316
C3	38.6171	87.37	38.6425	38.6324
RESULTADOS				
Crisoles	Peso_muestra	Peso_Minerales_Morgánica	Peso_Minerales	Peso_Morgánica
C1	33.4663	0.0173	0.0109	0.0064
C2	50.0601	0.024	0.0157	0.0083
C3	48.7529	0.0254	0.0153	0.0101
Parámetro	Valor			
OTS	0.0083			

Realizado por: Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

c) *Cultivo Directo*

Para comprobar la presencia de microorganismo en la muestra de WW se realizó tres diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  aplicando la técnica de siembra en superficie. En un periodo de 48 horas se logró observar un crecimiento de microcolonias alrededor de todo el agar como se muestra en la Figura 7-2.



### 2.1.6. Procedimiento para el cultivo bacteriano en las SCMFCs

#### 1. Decantar y filtrar el agua residual.

Para eliminar residuos de partículas densas que se encuentre en la muestra. Tiempo de decantado y el filtrado aproximadamente de tres horas, para obtener 113.75ml de agua residual para cada una de las SMFCs. Figura 8-2 muestra el filtrado de una muestra de WW.



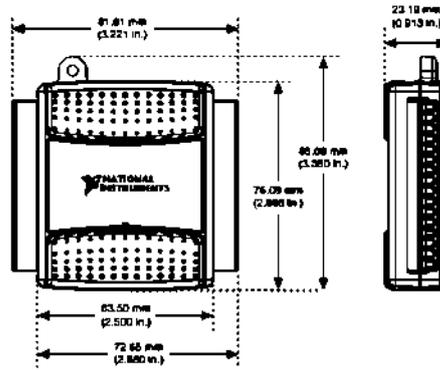
#### 2. Inocular las SCMFCs

Colocar en la cámara anódica 10 ml de lodo anaerobio (solo en la fase inicial), 113.75 ml de agua residual y 1.25 ml de agua residual artificial. El AW se sometió a autoclave (121 °C durante 10 minutos) antes de su uso.

#### 3. Monitorear el voltaje generado en las SMFCs

La tensión de las celdas se registró a través un sistema de adquisición de datos desarrollado en LABVIEW en conexión con la tarjeta NI DAQ 6009. En la figura 9-2 se muestra la NI DAQ 6009.

### 3.1 NI DAQ 6009

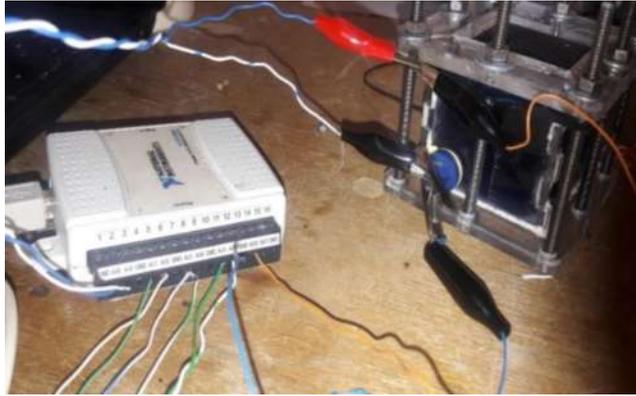


**Tabla 3-2:** Características de la tarjeta de adquisición de datos NI DAQ 6009

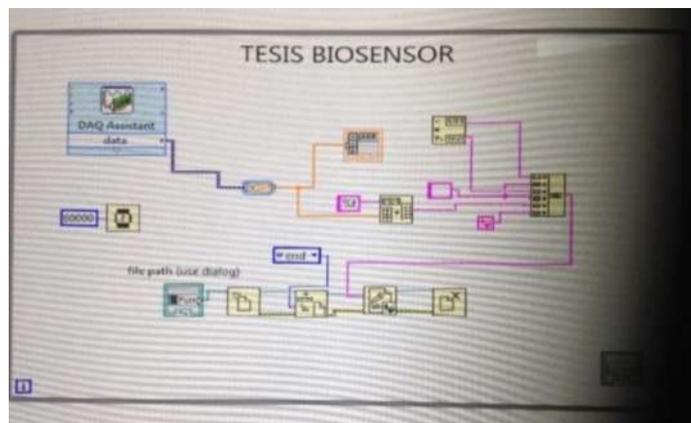
Característica	
Número de canales analógicos	Diferencial (4), simples (8)
Velocidad de muestreo	48 kS/s
Resolución	Diferencial (14 bits), simple (13 bits)
Rango de entrada	Diferencial ( $\pm 20$ V, $\pm 10$ V, $\pm 5$ V, $\pm 4$ V, $\pm 2.5$ V, $\pm 2$ V, $\pm 1.25$ V, $\pm 1$ V). Simple ( $\pm 10$ V)

**Realizado por:** Taday Erika; Telenchano Gladys; 2018.

El ánodo y cátodo de las SCMFCs se conectaron en las entradas diferenciales para que la medición de potencial sea casi independiente de las variaciones de tierra de la fuente de señal a la placa. Además una entrada diferencial es más inmune a las EMI. En la Figura 10-2 se muestra Conexión DAQ 6009 – SMFCs.



Mediante la estructura de repetición WHILE en conjunto con la librería de la MYDAQ 6009, se almacenó en un archivo txt el potencial generado por las celdas cada minuto (Kim et al. 2003) . El tiempo de monitoreo fue de 24 días desde el 3 de mayo del 2017. En la figura 11-2 se muestra el sistema de adquisición de datos desarrollado en LABVIEW.



### **2.1.7. *Proceso de Formación del Biofilm***

Este proceso de ir cambiando el sustrato en las celdas se hace en la fase inicial con el objetivo de la maduración del biofilm. En esta etapa los microorganismos empiezan a metabolizar la materia orgánica y eventualmente a adherirse a la fibra de carbono, después de 24 horas el sustrato

disminuye, entonces la comunidad bacteriana tiende a cambiar, para evitar que ciertos microorganismos (no electroquímicamente activos) se formen en el ánodo, se extrae el volumen de agua de las celdas y se coloca uno nuevo inóculo en las mismas características (WW, sustrato, Medio). En el segundo ciclo ya existe una comunidad bacteriana (aproximadamente 0.01%) que selecciona las bacterias más viables para que se adhieran al ánodo.

### 2.1.8. Curva de Polarización

En condiciones de estabilidad se determinó la resistencia óptima para el sistema SMFC siguiendo la metodología de la curva de polarización como se indica:

1. La SMFC debe estar en estado estable al realizar esta prueba.
2. La noche anterior cambiar la SMFC al potencial de circuito abierto (OCP), desconectando todos los circuitos de corriente externos.
3. En el día de la prueba, se reduce la resistencia externa siguiendo el esquema de tiempo como se indica en la tabla 2-3, (Rosenbaum 2013):

**Tabla 4-2:** Parámetros para determinar la curva de polarización en celdas de combustible microbiano.

R( $\Omega$ )	Tiempo de espera (m)	E(V)	I(mA) I=E/R	P(W) P=E*I	Potencia geométrica por superficie del electrodo (mW/m <sup>2</sup> )
10K	10				
5K	15				
1K	20				
500	30				
100	30				
10	20				

**Realizado por:** Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

4. Registrar todas las lecturas de voltaje durante la prueba para posteriormente calcular todos los demás parámetros.

La resistencia a la que se observa el punto máximo de potencia es la resistencia óptima para la SMFC. Entonces desde este ahora en adelante, una resistencia que sólo sea ligeramente superior a esta debería utilizarse como resistencia externa constante durante el funcionamiento en estado estacionario (La resistencia óptima de la SMFC se indica en el capítulo III).

### **2.1.9. Curva de Calibración de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) frente a corriente**

Para establecer la relación entre la concentración de DBO y corriente en el biosensor, las celdas se alimentaron con diferentes concentraciones de DBO.

#### *Selección del rango de medida del biosensor*

De la literatura revisada según (Di Lorenzo et al. 2009) no se recomienda concentraciones de DBO por debajo de 50 mg/L debido a la sensibilidad de los sistemas de adquisición de datos. Además para concentraciones por encima de 200 mg/L el tiempo de respuesta puede ser demasiado largo (250 horas aproximadamente). De igual manera la mayoría de trabajos con biosensores basados en MFC se realizaron con rangos dinámicos por debajo de 250 mg/L. Por ejemplo en (Manipal institute of technology y Ghangrekar M.M 2014) el máximo valor de DBO fue de 212.27 mg/L y en (Kim et al. 2003) 206.4 mg/L. Por consiguiente se eligió un rango dinámico de 60 – 200 mg/L.

Las concentraciones para el experimento se prepararon en el Medio base anolito m9 debido a que no contiene metales traza lo cual disminuye el tiempo de enriquecimiento, para modificar la carga orgánica del Agua residual artificial (AW por sus siglas en inglés) se agregó acetato de sodio en una cantidad adecuada como se indica en la tabla 5-2.

Componente	Ppm
Na-Acetate- 60 ppm	60
Na-Acetate- 100 ppm	100
Na-Acetate- 150 ppm	150
Na-Acetate- 200 ppm	200

**Realizado por:** Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

### Procedimiento

1. Cuando la señal bioelectroquímica alcanzó un estado estable, el anolito fue completamente reemplazado por la solución DBO a distintas concentraciones.
2. Posteriormente, se registra la producción de voltaje en cada batch. El tiempo de retención hidráulica fue de 48 horas.

Los datos se registraron digitalmente cada minuto en una computadora personal usando una tarjeta DAQ 6009.

3. La misma concentración de DBO debe ser repetida al menos tres veces antes que la siguiente concentración sea testeada, y entre cada repetición se introduce la concentración normal (inicial) con la que la celda ha operado para asegurar que el biofilm este activo (que es equivalente a ponerle a cero a la celda de forma activa)
4. Antes de someter a la celda a una nueva concentración debe operar por los ciclos que sean necesarios hasta que el voltaje sea similar al periodo antes de testar la primera concentración.

Cuando la celda es sometida a una perturbación (tiempo cero) y al finalizar la misma se analiza la DQO de la muestra de AW.

### *Preparación del agua artificial*

El término agua residual artificial viene al hecho de que se lo realizó en un laboratorio bajo criterios tanto de cantidad de agua utilizada como la cantidad de acetato de sodio para obtener una concentración conocida al momento de su administración. Evitando factores no deseados que implicaría si se lo realizara a través de muestrear en una industria o en un hogar. El agua residual artificial (AW) se preparó con los siguientes constituyentes.

**Tabla 6-2:** Reactivos para la preparación del medio base Anolyto M9

<b>Reactivo</b>		<b>g/L</b>	<b>mg/L</b>
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Fosfato de disodio	6.00	6000
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato de potasio monobásico	3.00	3000
NaHCO <sub>3</sub>	Bicarbonato de sodio	1.00	1000
NH <sub>4</sub> Cl	Cloruro de amonio	1.00	1000
NaCl	Cloruro de sodio	0.50	500
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	Sulfato de Magnesio Heptahidratado	0.247	247
CaCl <sub>2</sub>	Cloruro de calcio	0.0147	14.7

Fuente: Logroño Washington, 2018.

La concentración de DQO de la AW fue controlada mediante la adición de una cantidad apropiada de acetato de sodio.

### Procedimiento

1. Esterilizar los materiales a emplear: balones de aforamiento de 1000 ml y 250 ml, vaso de precipitación, y varilla.
2. La balanza analítica debe ser calibrada y equilibrada.

3. Pesar los componentes con espátulas separadas para evitar la contaminación cruzada con el siguiente recipiente de reactivos.
4. Agregue 500 ml de agua destilada o desionizada. (El agua MiliQ -Tipo 1 es altamente recomendada para fines de biodetección). Solo se debe usar un tipo de agua.
5. Revolver hasta que se alcance la disolución homogénea. Agregar el resto de agua hasta que se alcance 1L del tipo de agua seleccionada.
6. Someter la mezcla a autoclave en 121 °C durante 10 minutos antes de su uso. Cubrir la botella con papel de aluminio.

Para uso de la solución deben garantizarse las condiciones asépticas al manipularlas (para evitar tener otras bacterias para colonizar los medios). De esta forma, puede tener todas las soluciones preparadas, estériles y listas para usar. Solo tome el volumen que se supone que debe inocular.

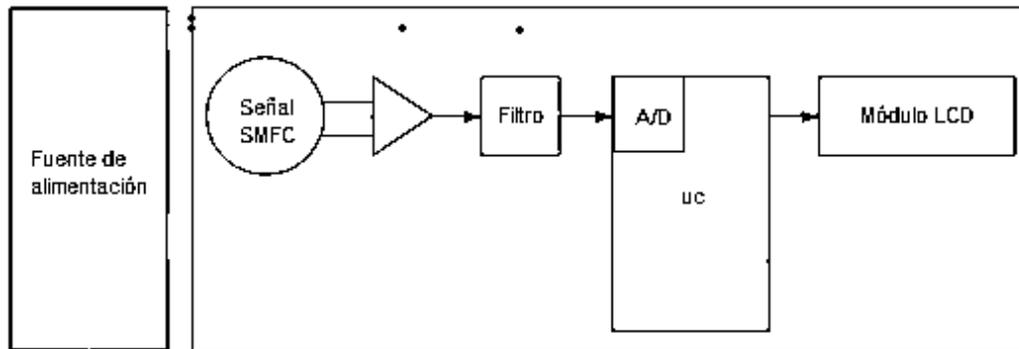
## PARTE ELECTRÓNICA

### **2.2 Diseño e Implementación del Prototipo Electrónico**

En esta sección se describe el diseño y construcción del prototipo electrónico, el filtro desarrollado en MATLAB para atenuar el ruido de la señal generada por diversos consorcios microbianos, la amplificación de la señal, la selección y programación del microcontrolador, el desarrollo de la interfaz del prototipo, y el diagrama de flujo para determinar la DBO.

#### ***Diagrama de bloques del Sistema***

En la figura 12-2 se muestra el diagrama de bloques del sistema electrónico que se diseñó para determinar la demanda bioquímica de oxígeno a partir del procesamiento adecuado de la señal generada por una SCMFC.

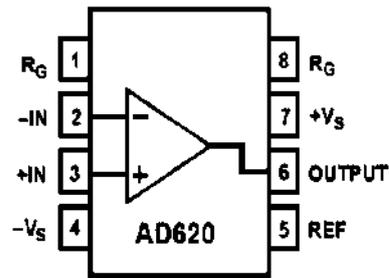


### 2.3 Amplificación de la señal bioelectroquímica

Normalmente las señales que genera una SCMFC se encuentran en el orden de los mV, es decir son de amplitud muy pequeña, por lo que se hace necesario que exista una etapa dentro de la cual esta señal pueda alcanzar un rango de valores con los cuales sea mucho más factible su tratamiento y posterior procesamiento. De igual manera la señal generada por la celda en presencia de señales de ruido provenientes de distintas fuentes (la siempre presente inducción de la frecuencia de línea de alimentación, en nuestro caso 60 Hz) requiere utilizar un amplificador que reúna las siguientes características.

- Utilizar amplificación diferencial para atenuar las señales de modo común.
- Poseer un rechazo al modo común muy elevado. En la práctica, las señales de modo común no serán rechazadas completamente siempre existirá un componente de la señal no deseada en la salida.
- Poseer impedancias de entrada muy elevadas para disminuir la interferencia diferencial debida a la red.

Estas características definen al amplificador de instrumentación AD620 (Figura 13-2).



El integrado se polarizó con valores de  $V_{cc}= 12V$  en el pin 7,  $V_{ee}= -12 V$  en el pin 4 y Gnd en el pin 5.

El valor de la resistencia  $R_G$  de los pines 1 y 8 se determina a partir de la siguiente ecuación:

$$R_G = \frac{49.4 K\Omega}{G - 1}$$

Dado que un pico de la señal generada por una SCMFC puede tener una amplitud de 208 mV (Caso extremo, carga orgánica: 200 ppm) y la máxima excursión que se puede tener a la entrada del microcontrolador es de 5 V, la ganancia total del sistema debe ser como máximo de 24 veces.

Entonces:  $G= 20$ .

Reemplazando en la ecuación (1-2).

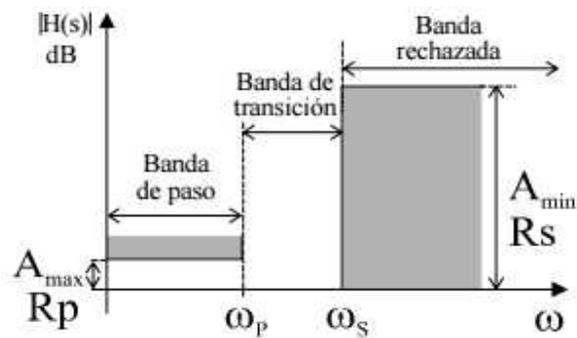
$$R_G = \frac{49.4 K\Omega}{20 - 1}$$

$$R_G = 2.6 \text{ K}\Omega$$

### 2.3.1. Filtrado de la señal

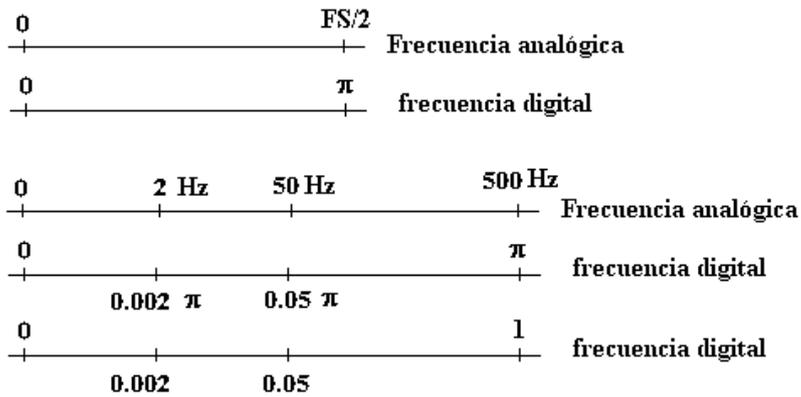
El diseño del filtro se realizó a través del método de aproximación como se indica a continuación:

a) Especificación de las características del filtro



- $\omega_p = 2$  frecuencia límite del pasabanda
- $\omega_s = 50$  frecuencia límite del stopbanda
- $R_p = 3 \text{ dB}$  atenuación máxima en el pasabanda
- $R_s = 40 \text{ dB}$  atenuación mínima en el stopbanda

Para adecuar a la función que permite el cálculo del orden del filtro,  $\omega_p$  y  $\omega_s$  deben llevarse a la forma normalizada de la siguiente manera:



b) Elección del tipo estándar de filtro

Utilizamos un filtro Butterworth debido a que es uno de los más básicos y produce una respuesta plana hasta la frecuencia de corte. Es decir las frecuencias en la banda de paso poseen la misma ganancia. Así mismo este tipo de filtro elimina ruidos externos, evitando la contaminación de la red.

Se calculó primero el orden (N) y la frecuencia de potencia mitad ( $W_s$ ) (valor de la frecuencia para el cual  $|H(z)|^2$  cae a la mitad).

$$[N, W_n] = \text{buttord}(W_p, W_s, R_p, R_s)$$

$$[N, W_n] = \text{buttord}(0.002, 0.05, 3, 40)$$

Resultando:

$$N = 2 \quad W_n = 0.005$$

Con este resultado previo, se procedió al diseño del filtro de Butterworth que cumpla con las características especificadas:

$$[B,A] = \text{BUTTER}(N,W_n)$$

[B,A] = BUTTER(2,0.005)

Resultando:

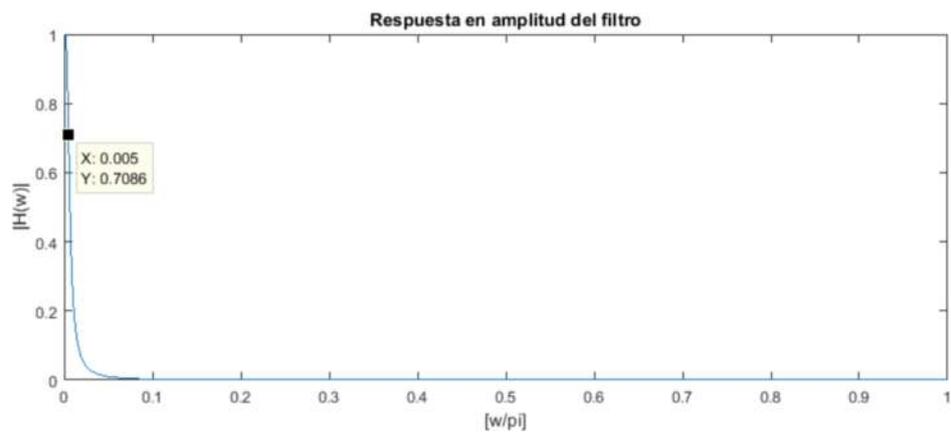
B = [6,12570748110275e-05 0,000122514149622055 6,12570748110275e-05]

A = [1 -1,97774060285454 0,977985631153785]

Luego, la función de transferencia, está dada por:

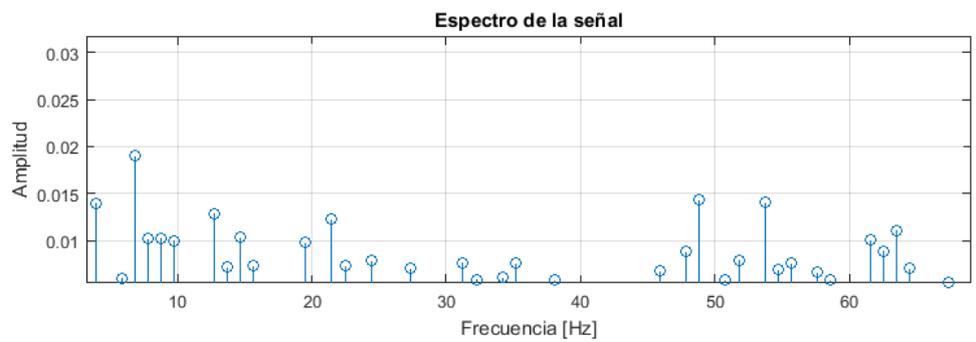
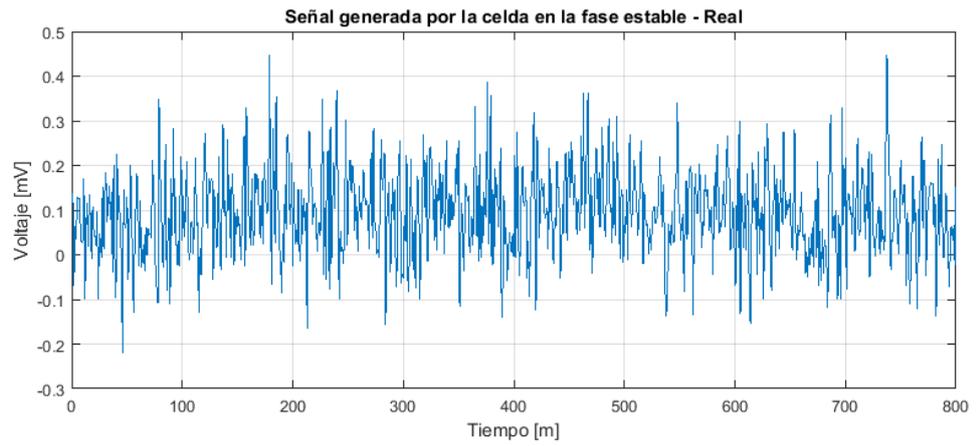
$$H(Z) = \frac{6.1257e - 05 \cdot Z^{-2} + 0,0001 \cdot Z^{-1} + 6.1257e - 6,1257e - 05}{Z^{-2} - 1,9777 \cdot Z^{-2} + 0,9779}$$

Gráficamente:



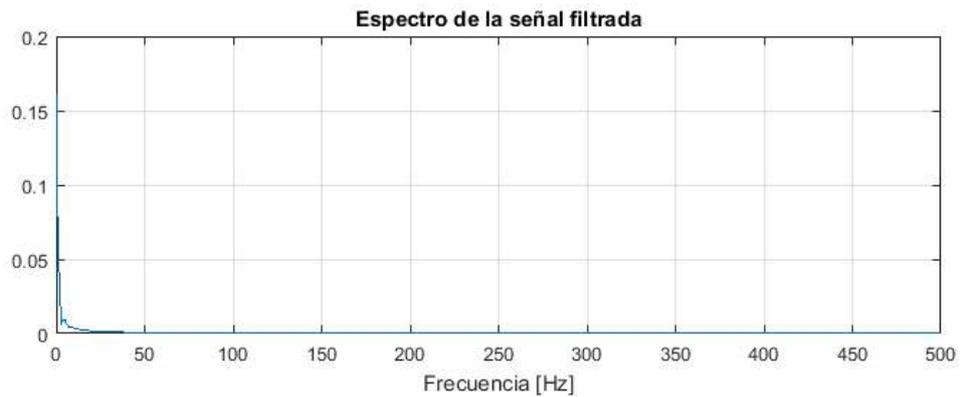
c) Implementación del filtro

Se registró la señal generada por la celda en la fase estable con una  $F_s = 1000$  Hz como se muestra en los gráficos 2-2 y 3-2 :

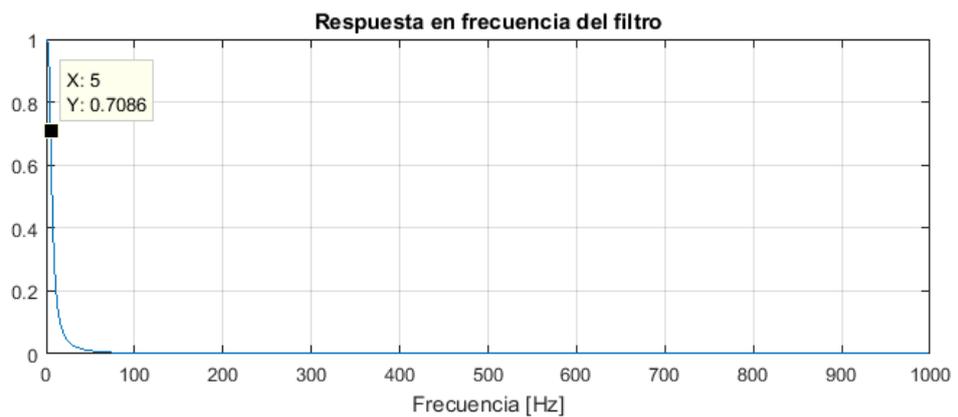


En los gráficos 4-2 y 5-2 , se indica la señal inmediatamente despues de ser filtrada.



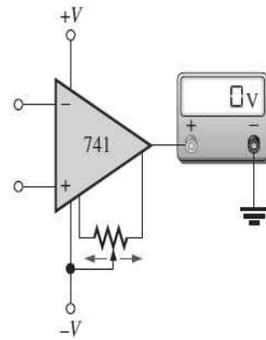
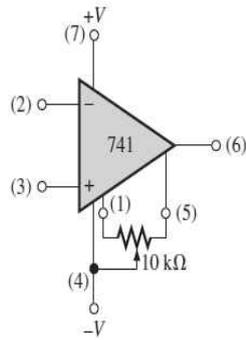
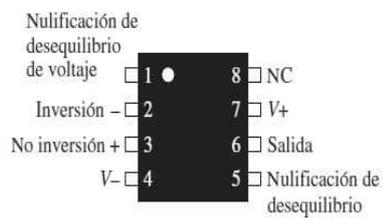


El resultado del algoritmo nos indica que el filtro pasabajos tipo butterworth de segundo orden que satisface las especificaciones del apartado anterior debe tener una  $f_c$  de unos 5 Hz, como se demuestra en el gráfico 6-2.



Este resultado es aceptable dado que la señal de voltaje generado por la celda tiende a ser continua. Por lo tanto el diseño fue implementado mediante filtros activos que son adecuados para baja frecuencia y señales cuasi-continuas, con una  $f_c$  de 5 Hz que eliminará interferencias, incluidos los 60 Hz de la red eléctrica.

El amplificador operacional que se utilizó en el filtro fue el LM741 por su bajo costo y principalmente la facilidad de compensación del efecto del desequilibrio de voltaje de entrada. En la figura 15-2 se muestra la compensación del efecto del desequilibrio de voltaje de entrada en el AMP OP 741 .



Para determinar el valor de los elementos pasivos del filtro se aplicó lo siguientes cálculos matemáticos:

**Primera Etapa:** Selectividad de la frecuencia.

Si  $f_c = 5 \text{ Hz}$  y  $C=100\text{uf}$

$$R = \frac{1}{2\pi * f_c * C}$$

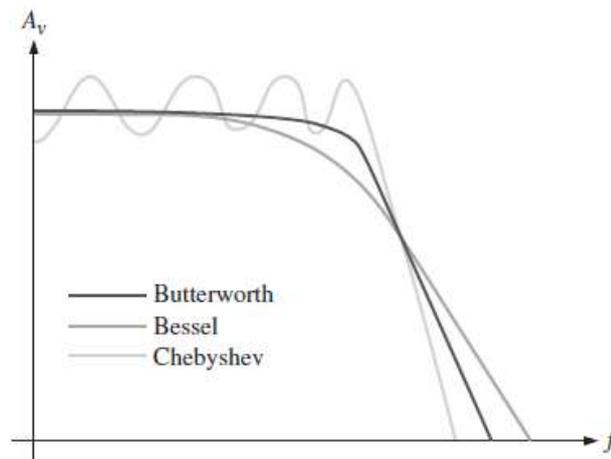
Reemplazando tenemos:

$$R = \frac{1}{2\pi * 5 * 100 * 10^{-6}}$$

$$R = 318.3 \Omega$$

**Segunda Etapa:** Característica de la respuesta del filtro.

Cada tipo de respuesta de un filtro puede ser adaptada mediante valores de los componentes del circuito para que tenga una característica Butterworth, Chebyshev o Bessel. En la figura 16-2 se muestra los tipos de respuesta en frecuencia de un filtro.



El factor de amortiguamiento relativo (DF) de un circuito de un filtro activo determina cuál característica exhibe el filtro y está definido por la siguiente ecuación:

$$DF = 2 - \frac{R_1}{R_2}$$

Si el resistor  $R_2$  del circuito de realimentación del filtro activo de dos polos es de  $10 \text{ k}\Omega$  y de acuerdo a la tabla 7-2 la relación  $\frac{R_1}{R_2}$  para producir una respuesta butterworth con una pendiente de caída de  $-40\text{DB/DÉCADA}$  es 0.586.

**Tabla 7-2:** Valores para la respuesta del filtro tipo butterworth

ORDEN	PENDIENTE DE CAÍDA EN DB/DÉCADA	1A. ETAPA			2A. ETAPA			3A. ETAPA		
		POLOS	DF	$R_1/R_2$	POLOS	DF	$R_1/R_4$	POLOS	DF	$R_1/R_6$
1	-20	1	Opcional							
2	-40	2	1.414	0.586						
3	-60	2	1.00	1	1	1.00	1			
4	-80	2	1.848	0.152	2	0.765	1.235			
5	-100	2	1.00	1	2	1.618	0.382	1	0.618	1.382
6	-120	2	1.932	0.068	2	1.414	0.586	2	0.518	1.482

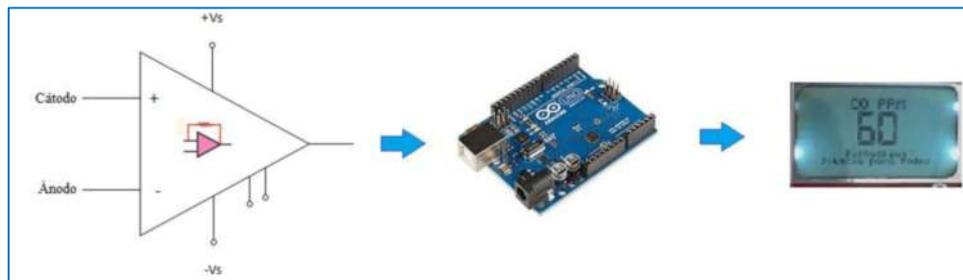
Fuente: (Floyd y Navarro Salas 2008), pp. 765

Reemplazando tenemos que :  $R_1 = 10k\Omega$  y  $R_2 = 5.86k\Omega$

Es decir con el 5% más cercano de  $5.6k\Omega$  se obtendrá una respuesta muy apegada a la respuesta Butterworth ideal.

## 2.4 Selección y programación del microcontrolador

En la figura 17-2 se muestra el procedimiento a seguir para el procesamiento de la señal bio-electroquímica.



Una vez amplificada y filtrada la señal, continúa la etapa de digitalización, esto se logró mediante un microcontrolador. Un microcontrolador es un dispositivo integrado que contiene unidades de procesamiento digital, registros, entradas y salidas. Para su funcionamiento generalmente

requiere un oscilador, un circuito para poder programarlo, un compilador que usando headers y bibliotecas genera un programa, y un dispositivo programador.

Se eligió la plataforma de código abierto Arduino uno, que es una combinación del conjunto antes mencionado y que trae incorporado conversores análogos digitales en el mismo chip. En la figura 18-2 se muestra la tarjeta de desarrollo.



Tres parámetros son relevantes en un conversor analógico digital.

#### 1. Resolución.

Es la cantidad de valores discretos en los que un ADC puede traducir una señal análoga a digital. Usualmente es medida en base al número de bits que el ADC tiene a su salida. El número de bits representa la cantidad máxima de valores discretos o de pasos que un ADC puede tener (Gómez , 2014). Para calcular el número de valores discretos que el ADC es capaz de convertir utilizaremos la ecuación 4-2:

$$\text{Valores discretos} = 2^{\text{resolucionbits}}$$

Como se indica en la tabla 8-2 el arduino tiene una resolución de 10 bits . Esto significa que para cada entrada análoga tenemos disponibles 1024 pasos o valores discretos, para nuestra aplicación esto resulta más que suficiente.

**Tabla 8-2:** Características tarjeta de adquisición de datos NI DAQ 6009

Característica	
Número de canales analógicos	Diferencial (4), simples (8)
Velocidad de muestreo	48 kS/s
Resolución	Diferencial (14 bits), simple (13 bits)
Rango de entrada	Diferencial ( $\pm 20$ V, $\pm 10$ V, $\pm 5$ V, $\pm 4$ V, $\pm 2.5$ V, $\pm 2$ V, $\pm 1.25$ V, $\pm 1$ V. Simple ( $\pm 10$ V)

Realizado por: Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

## 2. Frecuencia de muestreo ( $F_s$ )

Es el número de conversiones que puede realizar un ADC en una unidad de tiempo y depende de que tan rápido cambie el valor análogo que deseamos medir. La  $F_s$  debe basarse en el teorema de Nyquist (mayor que el doble de la frecuencia de la característica variable) (Franklin, Powell y Emami-Naeini, 1991).

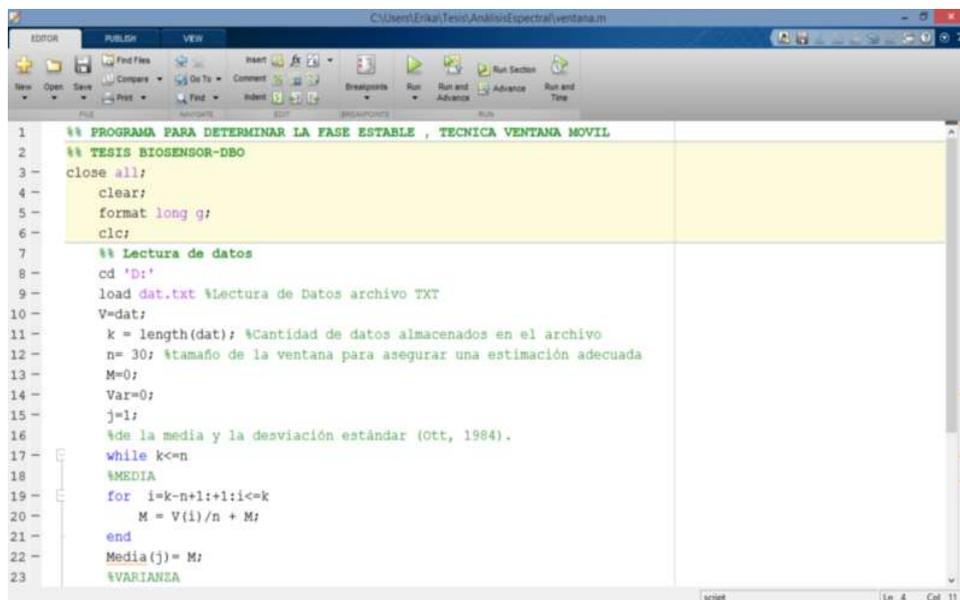
Dado que el potencial generado durante el estado estable del biosensor varía a una frecuencia máxima de 5 Hz aproximadamente. El muestreo a más del doble de esta frecuencia capturaría todas las variaciones de voltaje. La frecuencia de muestreo fija en una muestra cada 100 ms fue suficiente para eliminar o reducir en gran medida la probabilidad de sesgo de medición de la señal.

## 3. Rango de trabajo.

La tensión de comparación contra la que se realiza la conversión de analógico a digital, debería ser el valor máximo posible de la señal de entrada, porque es cuándo tendremos la mejor resolución posible (Crespo, 2015). El rango de voltaje de nuestro sensor es de 0-5V por lo tanto no se realizó ninguna modificación en el voltaje de referencia del arduino.

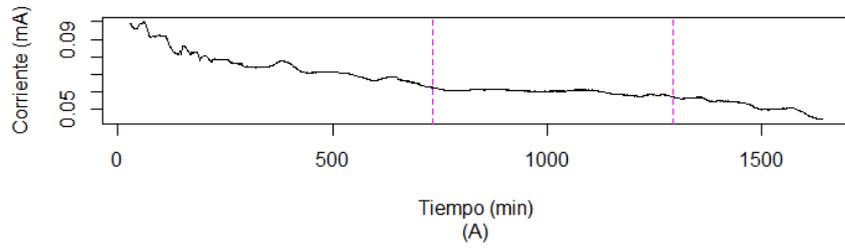
### 2.4.1. Programación del microcontrolador

Para determinar la ecuación que relacione la concentración de materia orgánica (DBO) y corriente (mA) se analizaron los datos registrados en la fase anterior. Y en general se encontró que la dinámica del biosensor ante el evento tóxico o incremento en la concentración de materia orgánica consta de tres fases: transitoria, estable, recuperación (datos no mostrados). Entonces para la respuesta se tomó el valor medio de la fase estable mediante la técnica de ventana móvil y desviación estándar (Kim et al. 2008) implementada en MATLAB como se indica en la figura 19-2 y los gráficos 7-2, 8-2, 9-2, y 10-2.

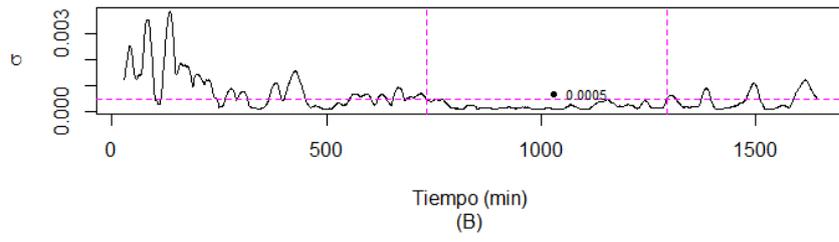


```
1  %% PROGRAMA PARA DETERMINAR LA FASE ESTABLE , TECNICA VENTANA MOVIL
2  %% TESIS BIOSENSOR-DBO
3  close all;
4  clear;
5  format long g;
6  clc;
7  %% Lectura de datos
8  cd 'D:'
9  load dat.txt %Lectura de Datos archivo TXT
10 V=dat;
11 k = length(dat); %Cantidad de datos almacenados en el archivo
12 n= 30; %tamaño de la ventana para asegurar una estimación adecuada
13 M=0;
14 Var=0;
15 j=1;
16 %de la media y la desviación estándar (Ott, 1984).
17 while k<=n
18     %MEDIA
19     for i=k-n+1:i<=k
20         M = V(i)/n + M;
21     end
22     Media(j)= M;
23     %VARIANEA
```

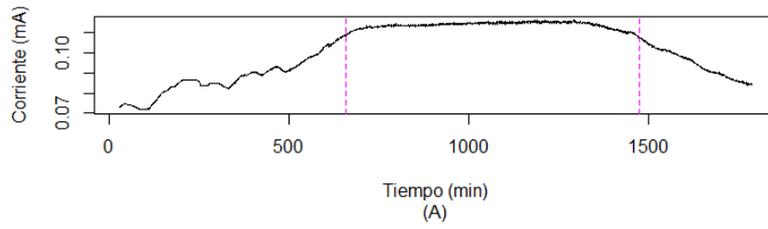
### Curva Calibración a 60ppm



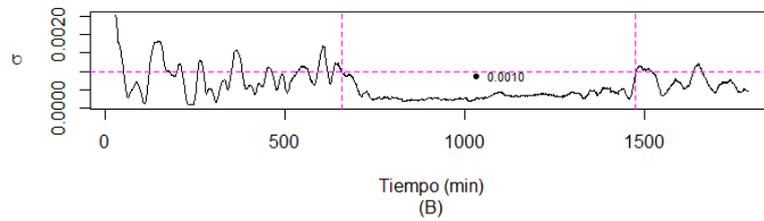
### Fase estable



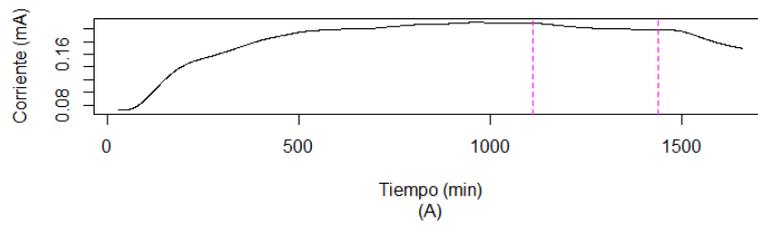
### Curva Calibración a 100ppm



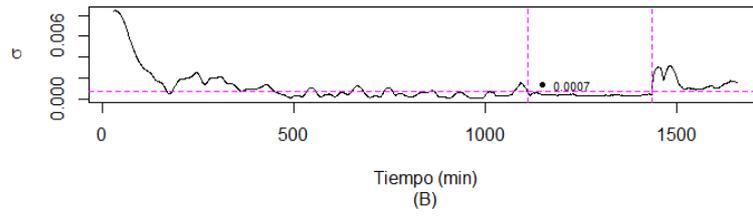
### Fase estable



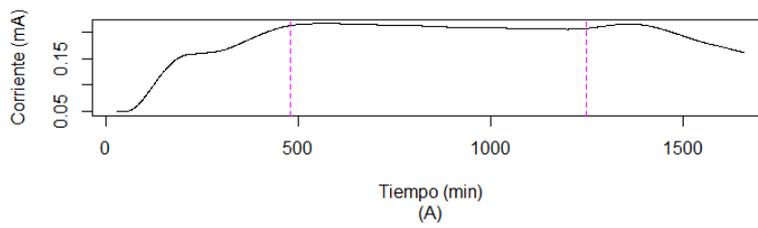
**Curva Calibración a 150 ppm**



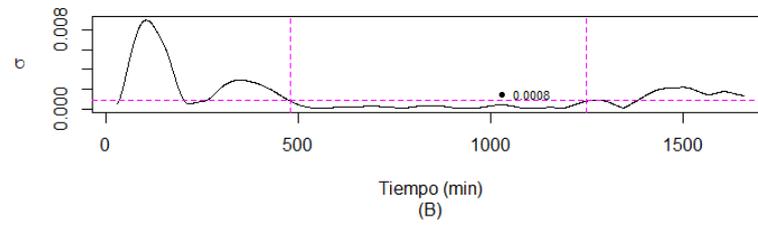
**Fase estable**



**Curva Calibración a 200 ppm**



**Fase estable**



Posteriormente los datos del experimento DBO (ppm) y corriente(mA) en la fase estable se ajustaron al siguiente modelo matemático mediante el software MATLAB.

### **Modelo general**

$$f(x) = a * \log(x) + c$$

De donde:

$$\log(x) = \frac{f(x) - c}{a}$$

$$x = e^{\frac{f(x)-c}{a}}$$

### **Coefficientes (con límites de confianza del 95%):**

Los valores de a y c que mejor ajustan los datos, estadísticamente hablando son:

$$a = 0.1357 (0.04932, 0.2222); c = -0.4986 (-0.9111, -0.0861)$$

### **Bondad de ajuste**

**Suma de cuadrados del error (SSE):** Este estadístico mide la desviación total de los valores de respuesta del ajuste a los valores de respuesta. Un valor más cercano a 0 indica que el modelo tiene un componente de error aleatorio más pequeño, y que el ajuste es más útil para la predicción.

$$SSE = 0.000661$$

**R-cuadrado:** Este estadístico mide qué tan exitoso es el ajuste para explicar la variación de los datos. Dicho de otra manera, R-cuadrado es el cuadrado de la correlación entre los valores de respuesta y los valores de respuesta predichos. R-cuadrado puede tomar cualquier valor entre 0 y 1, con un valor más cercano a 1 que indica que el modelo tiene en cuenta una mayor proporción de varianza. En este caso, un valor de R cuadrado de 0.9581 significa que el ajuste explica el 95.81% de la variación total en los datos sobre el promedio.

**Raíz del error cuadrático Medio (RMSE):** Este estadístico también se conoce como el error estándar de ajuste y el error estándar de la regresión. Es una estimación de la desviación estándar del componente aleatorio en los datos. Al igual que con SSE, un valor más cercano a 0 indica un ajuste que es más útil para la predicción.

$$RMSE = 0.01818$$

Como se observó anteriormente cuando la SCMFC es sometida a un evento tóxico se estabiliza después de un tiempo considerable esto tiene dos implicaciones, la primera está relacionada con el arranque del sistema electrónico y químico, debe ser secuencial. Es decir una vez inoculada la celda esperar un tiempo aproximado de 10 h para el análisis. La segunda se refiere a la detección adecuada de los intervalos de tiempo en los cuales la celda se encuentra en estado estable. Si la celda no está realmente en estado estable la aplicación del modelo DBO-I puede provocar

estimaciones incorrectas. A continuación se indica los pasos para determinar la fase estable de la celda:

1.- Se asumió una distribución Gaussiana de los parámetros medidos del sistema mientras el sistema era estable; por lo tanto, se necesitó una medición de al menos 30 puntos de datos para asegurar una estimación adecuada de la media y la desviación estándar (Ott, 1994; citado en Kim et al. 2008).

2.- Calculamos la media y la desviación estándar.

3.- La región de estado estable se define aquí cuando los valores instantáneos de la señal medida fluctúan dentro de  $\pm 3\theta$  de sus valores Medios de estado estable.

```
void calcular()
{
  ahora= millis(); //Tiempo de ejecucion
  cambio= ahora-pasado;
  if(cambio>=T)
  {
    y = analogRead(sensorMFC);
    V_I_SCMFC= map(y,0,1023,0.0,5.0);
    I_I_SCMFC= V_I_SCMFC/1000;
  }
  pasado=ahora;
  k=1;
  do{
    V1[k]=I_I_SCMFC;
    if ((V1[k]>=Min) && (V1[k]<=Max)) {
      V2[k]=V1[k];
      k=k+1;
    }
    else
      transitoria();
  }
  while(k<=30);
  estacionaria();
  for(k=1;k<=30;k=k+1){
    Vf=V2[k]/30+Vf;
  }
  DBO = pow(EULER, (Vf+0.4986)/0.1357);
  DBOf= floor(DBO*10)/10;
  lcd.setTextSize(1);
}
```

#### 2.4.2. Desarrollo de la interfaz del prototipo

Para mostrar el resultado del análisis en una presentación apropiada, que cumpla con los siguientes parámetros: amigable al usuario, facilidad para manipular los objetos de la interfaz y menor cantidad de valores que ingrese el usuario para reducir el riesgo de error. Investigamos algunas de las pantallas más populares como se indica a continuación:

**Tabla 9-2:** Comparativa módulos lcd para el desarrollo de interfaz de usuario

	<b>Pantalla lcd Nokia 5110</b>	<b>Color OLED SSD1331</b>	<b>Color TFT ST7735</b>
Resolución	84x48 píxeles	96x64 píxele	160x128 píxeles
Colores	Monocromo	65000	65000
Tamaño	1.6 "	0,96 "	1.8 "

Fuente: (educ8s.tv, 2016)

De la tabla 9-2 se eligió la pantalla lcd Nokia 5150, debido a su tamaño (Solo se mostrará el resultado del análisis de DBO), compatibilidad con Arduino, disponibilidad de librerías para gráficos y costo.

**Tabla 10-2:** Pines de conexión módulo lcd Nokia 5110.

<b>Número de Pin</b>	<b>Nombre de Pin</b>	<b>Función de Pin</b>	<b>Entrada/Salida</b>	<b>Notas</b>
1	RST	Reset	Entrada	
2	CE	Chip Selection (Selección de chip)	Entrada	
3	DC	Data/Commands choice	Entrada	
4	DIN	Serial data in	Entrada	
5	CLK	Serial clock	Entrada	
6	VCC	Positive power supply (Alimentación positiva)	Entrada	2.7V a 3.3V
7	LIGHT	LED backlight supply	Entrada	Conectar a GND para max brillo
8	GND	Ground (Tierra)	Entrada	

Fuente: (educ8s.tv, 2016)

### *Líneas de control*

El LCD Nokia 5110 tiene 5 líneas de control; la interfaz es del tipo SPI. Cuando no se utilizan otros dispositivos SPI, el pin 2 (CE), de selección de chip se puede conectar a GND, de modo que se pueden usar solo 4 líneas de control. Para ahorrar más pines de Arduino, hay una opción para usar sólo 3 líneas de control, cuando el pin de reset del LCD está conectado al pin reset de Arduino. Esto sólo funciona cuando se utiliza una terminal serial, no con un Arduino independiente.

Puede usarse un pin adicional de tipo PWM, para controlar el brillo de forma dinámica de la luz de fondo de la pantalla (backlight).

## *Alimentación*

La pantalla utiliza el chip controlador PCD8544 de Philips que fue utilizado en el Nokia 3310 y el 5110. Este chip está diseñado para funcionar sólo a 3.3V y tienen niveles de comunicación de 3 V, siendo la alimentación para la pantalla de 3.3 V.

## *Librerías*

Existen varias librerías compatibles para todas las versiones de Arduino existentes.

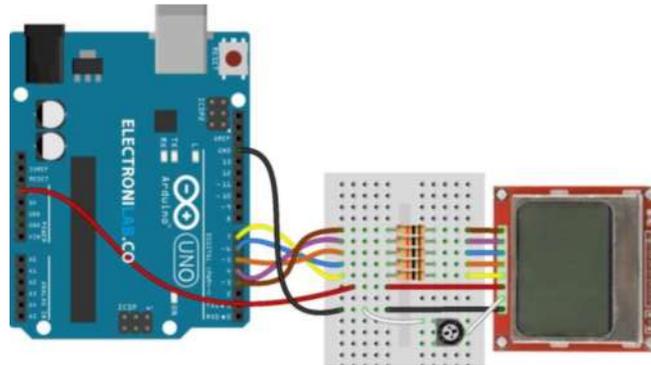
Adafruit PCD8544 Nokia 5110 LCD library: Esta librería posee una gran variedad de gráficos, entre ellos círculos, líneas, cuadros, triángulos, además de varios tipos de fuentes y la posibilidad de imprimir imágenes como logos o figuras. Esta librería requiere de la instalación adicional de la librería gráfica GFX para su utilización.

## *Pasos de instalación y uso*

1. Descargar la librería Adafruit PCD8544 Nokia 5110 LCD del siguiente enlace:  
<https://github.com/adafruit/Adafruit-PCD8544-Nokia-5110-LCDlibrary/archive/master.zip>. Para la librería gráfica GFX refiérase a <https://github.com/adafruit/Adafruit-GFX-Library/archive/master.zip>.
2. Descomprimir y renombrar la carpeta como Adafruit\_PCD8544\_Nokia\_5110\_LCD y Adafruit\_GFX\_Library.
3. Abrir el IDE de Arduino. Click en Sketch - Import Library - Add Library y seleccionar la carpeta anterior.
4. Reiniciar el IDE de Arduino.

### *Esquema de conexión*

La figura 21-2 muestra el diagrama de conexión para el LCD y su uso con Arduino UNO. Se puede observar que se utilizaron resistencias de 10 k $\Omega$ , para limitar la corriente por los pines y no dañar la pantalla (Cruz, 2014).



Finalmente en la figura 22-2 se indica el diagrama de flujo para determinar la carga orgánica de una muestra de AW en función de la corriente generada por el biosensor bajo una carga de 1000  $\Omega$ .

En la figura 23-2 se muestra el algoritmo implementado en arduino.

```

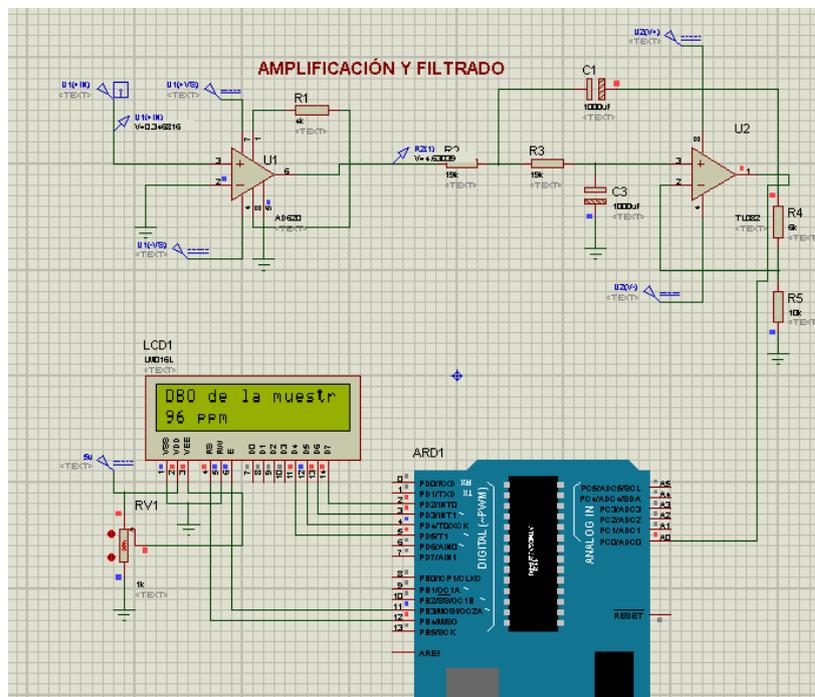
menu_v10 Arduino 1.6.9
Archivo Editar Programa Herramientas Ayuda
menu_v10
void setup() {
  pinMode(2, INPUT_PULLUP);
  pinMode(1, INPUT_PULLUP);
  pinMode(LED_1, OUTPUT);
  pinMode(LED_2, OUTPUT);
  //Serial.begin(9600);
  lcd.begin();
  lcd.setContrast(50);
  lcd.clearDisplay();
  lcd.display();
  //delay(5000);
  for (int i=1;i<=n;i=i+1){
    //Lectura del potencial entre el ánodo y cátodo
    V_SCMFC_D=analogRead(sensorMFC);
    V_SCMFC= map(V_SCMFC_D,0,1023,0.0,5.0);
    I_SCMFC= V_SCMFC/1000;
    V[i]=I_SCMFC;
  }
  //Calcula media

```

Librería inválida encontrada en C:\Program Files (x86)\Arduino\libraries\examples: C:\Program Files (x86)\Arduino\libraries\examples  
 Librería inválida encontrada en C:\Users\Erika\Documents\Arduino\libraries\Downloads: C:\Users\Erika\Documents\Arduino\libraries\Downloads

Arduino/Repetido Uno en COM3

En la figura 24-2 se muestra el diseño de los circuitos de amplificación y filtrado en Proteus.



En la figura 25-2 se muestra la implementación final del dispositivo para analizarla DBO.



1. Entrada de la señal generada por la SCMFC
2. Amplificador Operacional AD620
3. Filtro de primer orden Butteworth
4. Filtro de segundo orden Butteworth
5. Fuente 5 V.
6. Fuente Simetrica  $\pm 12$  V.

## CAPITULO III

### 3 MARCO DE RESULTADOS

En este capítulo se muestra la caracterización, reproducibilidad del biosensor de DBO de tipo celda combustible microbiano que es la base del prototipo electrónico de medida, el proceso realizado en las pruebas del prototipo, y la validación del prototipo electrónico, mediante técnicas de estadísticas.

Los datos mostrados son el promedio de dos reactores, de al menos 3 repeticiones.

#### 3.1 Caracterización del biosensor de DBO

##### 3.1.1. *Formación del biofilm en la cámara anódica*

Esta fase se llevó a cabo desde el 19 de Julio hasta el 09 de agosto del 2017. Compuesta por 10 ciclos de 48 horas cada uno.

Cómo se indica en el gráfico 1-3. La diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo es relativamente baja durante los primeros ciclos, esto es así porque los microorganismo empiezan a adherirse a la superficie de la fibra de carbono y adaptarse a su medio. Otra posible causa es la resistencia de carga (1000 ohmios) con la que se registró el voltaje para que los microorganismos se ajusten a una generación de corriente. Las tablas 1-3 y 2-3 muestran la dinámica del voltaje durante esta fase.

<i>SCMFC_P</i>	
Media	37.631578
Error típico	0.298345
Mediana	10.205473
Moda	Sin valor
Desviación estándar	50.630769
Varianza de la muestra	2563.47473
Curtosis	0.94939693
Coefficiente de asimetría	1.4932028
Rango	207.713226
Mínimo	0.0009009
Máximo	207.714127
Suma	1083789.45
Cuenta	28800
Mayor (1)	207.714127
Menor(1)	0.0009009
Nivel de confianza(95.0%)	0.58476938

**Realizado por:** Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

En promedio el voltaje generado por la SMFC durante la formación del biofilm fue 37 mV las medidas de dispersión de los datos presentaron una varianza de 2563 y una desviación estándar de 51. El valor del coeficiente de asimetría nos indica que la variable voltaje presenta una distribución asimétrica positiva es decir sus valores se concentraban más a la derecha de su media, el coeficiente de curtosis nos indica que presenta una distribución platicúrtica y hay una menor concentración de datos en torno a la media.

La maduración del biofilm se identificó al decimo tercer día de monitoreo cuando la diferencia de potencial se estabilizó en 111 mV (Hsieh, M.C y Chung, 2014; citados en Buenaño Abarca y Cruz Garcés, 2016).

<i>SCMFC_P</i>	
Media	110.805918
Error típico	0.45736596
Mediana	111.576141
Moda	Sin valor
Desviación estándar	40.9617114
Varianza de la muestra	1677.8618
Curtosis	-0.12497425
Coefficiente de asimetría	0.02302332
Rango	202.732859
Mínimo	4.9812681
Máximo	207.714127
Suma	888774.27
Cuenta	8021
Mayor (1)	207.714127
Menor(1)	4.9812681
Nivel de confianza(95.0%)	0.89655611

**Realizado por:** Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

### 3.1.2. *Curva de polarización SMFC*

Con esta técnica, se evaluó el rendimiento (potencia máxima) de la SCMFC y se determinó la resistencia externa a la que opera en condiciones óptimas. En la tabla 3-3 se muestra el voltaje generado por la SCMFC bajo distintas cargas óhmicas.

SCMFC_P	
Resistencia(Ohm)	Voltaje (mV)
10	3.12621226
100	24.0161765
500	98,708158
1000	137,0247031
5000	266,869215
10000	358,0796165

Fuente: Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

En la tabla 4-3 se muestra la corriente generada en la SCMFC.

SCMFC_P	
Resistencia(Ohm)	Corriente (mA)
10	125.04849
100	96.064706
500	58.2026841
1000	43.0596025
5000	15.7387913
10000	11.3073355

Fuente: Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

Finalmente en la tabla 5-3 se calcula la potencia generada en la SCMFC.

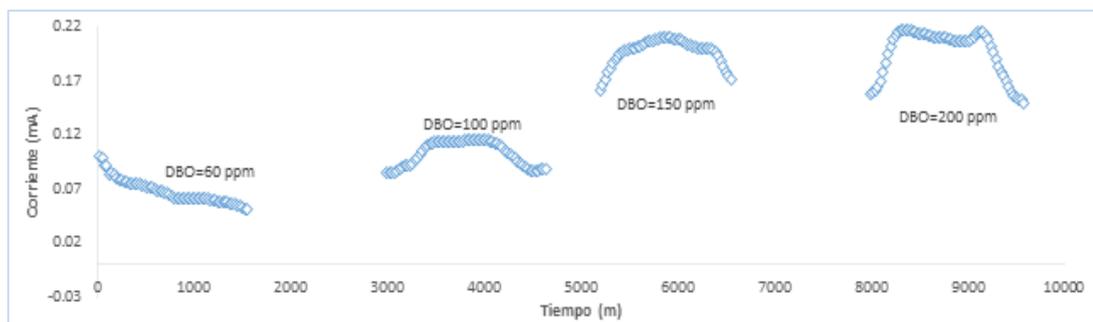
SCMFC_P	
Resistencia(Ohm)	Potencia (mW/m <sup>2</sup> )
10	0.001001194
100	0.006205643
500	0.011357015
1000	0.012433477
5000	0.008474733
10000	0.00832082

**Realizado por:** Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

Con los datos obtenidos se procedió a determinar la resistencia con la cual se trabajó durante la curva de calibración del biosensor. En el grafico 3-3 se muestra que la SCMFC alcanzó una máxima potencia de 0.012433477 mW/m<sup>2</sup>, con la resistencia de 1 kΩ.

### 3.1.3. Operación SCMFC con diferentes concentraciones de DBO de AW bajo una carga externa de 1000 $\Omega$

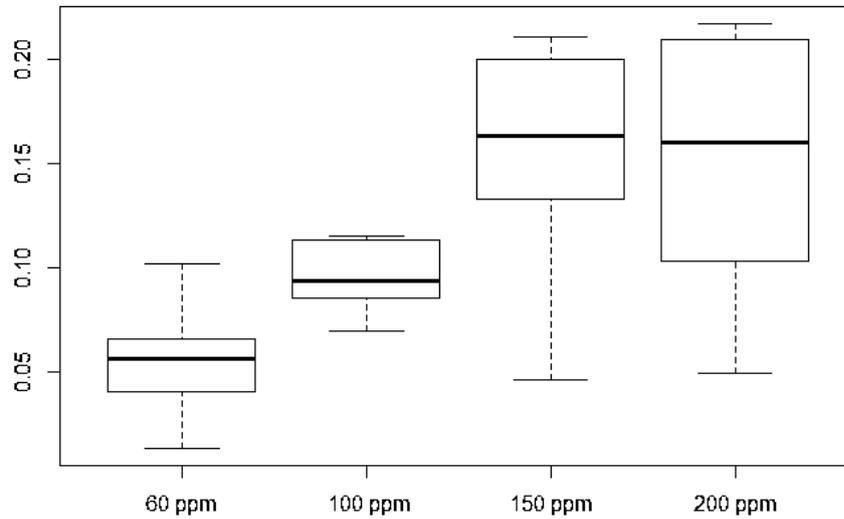
En condiciones de funcionamiento estable (biopelícula en el ánodo madura), se caracterizó las relaciones entre la concentración de DBO y la salida de corriente de la SCMFC. Diferentes concentraciones de DBO (60-200 ppm) se introdujeron en el compartimento anódico del biosensor SCMFC en modo de lotes. Después de que la solución del ánodo fue reemplazada por una nueva, la corriente aumentó progresivamente y alcanzó el valor máximo. El valor máximo se mantuvo durante un tiempo y disminuyó. En el gráfico 3-3 y 4-3 se muestra los resultados del monitoreo de la operación de la corriente.



Los resultados indican que se requieren concentraciones más altas de DBO para lograr períodos más largos de estabilidad por ejemplo para una concentración de 60 ppm se obtuvo un periodo estable de aproximadamente 9 h mientras que a 200 ppm 13 h.

Se requirió un promedio de 6-19 h para la respuesta del biosensor. El tiempo de respuesta fue definido como el tiempo requerido para alcanzar 95% del estado estable de la corriente.

### Generación de Corriente del Biosensor



Del gráfico 4-3 se infiere que en promedio la corriente generada en un ciclo de 48 h a una concentración de 60 ppm, 100 ppm, 150 ppm y 200 ppm, es de  $0.0529 \pm 0.0206$ ,  $0.0965 \pm 0.015$ ,  $0.1560 \pm 0.0507$  y  $0.1536 \pm 0.0539$  mA respectivamente. Las medidas de dispersión fueron relativamente altas esto debido a que la fase inicial es ruido hasta que la SCMFC se adapte al nuevo sustrato.

### 3.2 Reproducibilidad del biosensor SCMFC

La tabla 6-3 ilustra la reproducibilidad del biosensor SCMFC para medir diferentes concentraciones de DBO. Se probaron cuatro concentraciones diferentes y 3 ciclos en modo batch durante 24 días para demostrar la reproducibilidad del biosensor.

**Tabla 6-3:** Análisis de reproducibilidad del biosensor tipo celda de combustible microbiano

<b>Corriente (mA)</b>				
	<b>Nivel bajo</b>	<b>Nivel Medio</b>	<b>Nivel Medio</b>	<b>Nivel alto</b>
<b>N°</b>	<b>(60 ppm)</b>	<b>(100 ppm)</b>	<b>(150 ppm)</b>	<b>(200 ppm)</b>
1	0.0610	0.1156	0.1386	0.2024
2	0.0633	0.1177	0.1517	0.2312
3	0.0589	0.1072	0.1166	0.1907
<b>X</b>	0.0611	0.1135	0.1357	0.2081
<b>S</b>	0.0022	0.0055	0.0177	0.0209
<b>CV(%)</b>	3.6033	4.8663	13.0656	10.0269

Realizado por: Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

La reproducibilidad de los biosensores previamente informados varió de 3% a 12%. Por lo tanto el biosensor SCMFC del presente estudio es factible para la medición rutinaria de DBO debido a que el CV se encuentra dentro de los valores permisibles.

Debe notarse que el anolito se actualizó antes de cada análisis de muestra reemplazando el antiguo anolito en el compartimiento anódico con el anolito nuevo. Es decir antes de que la siguiente concentración sea testeada y entre cada repetición se debe introducir la concentración normal (inicial) con la que la celda ha operado para asegurar que el biofilm está activo (esto es equivalente a ponerle a cero a la celda de forma activa). Además si es que la corriente baja en corto tiempo esa concentración debe ser removida y la concentración normal debe ser introducida para estabilizar la celda y continuar como se mencionó anteriormente.

### **3.3 Análisis del laboratorio de las diferentes concentraciones**

En las tablas 7-3 y 8-3 se indican los resultados de los análisis de las muestras de AW a una concentración de 60 ppm.

*Primera réplica*

Parámetro	Unidades	Método procedimiento	Resultado
SCMFC_1			
DQO-INICIAL	mg/L	Standars methods 5220-D mod	61,32
DQO-FINAL	mg/L	Standars methods 5220-D mod	44
SCMFC2			
DQO-INICIAL	mg/L	Standars methods 5220-D mod	61,62
DQO-FINAL	mg/L	Standars methods 5220-D mod	30

**Realizado por:** Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

Parámetro	Resultado-DQOi	Resultado-DQOf	Porcentaje
SCMFC_1			
DQO	61,32	44	28,6
SCMFC_2			
DQO	61,62	30	51,3

**Realizado por:** Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

En la tabla 8-3 podemos observar un porcentaje de reducción entre la Demanda Bioquímica Inicial(DQOi) y la Demanda Bioquímica Final (DQOf) de 28,6 y 51,3

Segunda réplica

Parámetro	Unidades	Método procedimiento	Resultado
SCMFC_1			
DQO-inicial	mg/L	Standars methods 5220-D mod	61,92
DQO-final	mg/L	Standars methods 5220-D mod	56
SCMFC_2			
DQO-inicial	mg/L	Standars methods 5220-D mod	61,92
DQO-final	mg/L	Standars methods 5220-D mod	24

Realizado por: Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

Parámetro	Resultado-DQOi	Resultado-DQOf	Porcentaje
SCMFC_1			
DQO	61,92	56	9,6
SCMFC_2			
DQO	61,92	24	61,2

Realizado por: Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

En la tabla 9-3 podemos observar un porcentaje de reducción entre la Demanda Bioquímica Inicial(DQOi) y la Demanda Bioquímica Final (DQOf) de 9,6 y 61,2.

*Tercera réplica*

Parámetro	Unidades	Método procedimiento	Resultado
SCMFC_1			
DQO-Inicial	mg/L	Standars methods 5220-D mod	61,62
DQO-Final	mg/L	Standars methods 5220-D mod	56
SCMFC_2			
DQO-Inicial	mg/L	Standars methods 5220-D mod	61,77
DQO-Final	mg/L	Standars methods 5220-D mod	27

**Realizado por:** Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

Parámetro	Resultado-DQOi	Resultado-DQOf	Porcentaje
SCMFC_1			
DQO	61,62	56	9,1
SCMFC_2			
DQO	61,77	27	56,3

**Realizado por:** Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

En la tabla 12-3 podemos observar un porcentaje de reducción entre la Demanda Bioquímica Inicial(DQOi) y la Demanda Bioquímica Final (DQOf) de 9,1 y 56,3

La SCMFC\_1 y la SCMFC\_2 presentaron porcentajes de reducción considerables entre la DQOi y la DQOf en las 3 repeticiones realizadas con 60 ppm verificando con estos resultados la presencia de colonias de microorganismos en la biopelícula.

### 3.4 Proceso de pruebas del prototipo

Para determinar la concentración de materia orgánica de una muestra de agua residual se siguió el siguiente procedimiento:

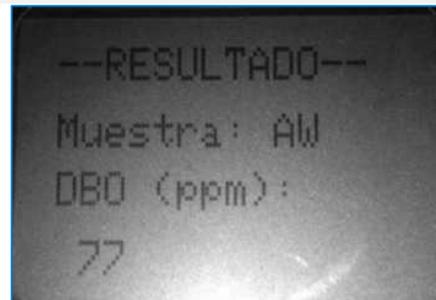
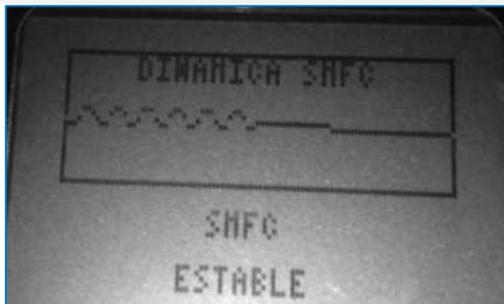
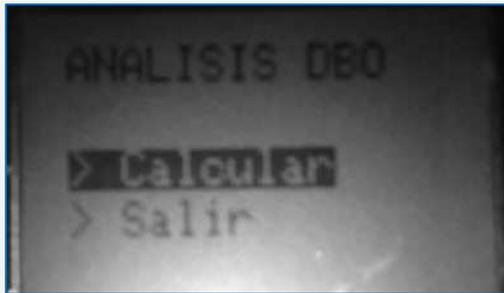
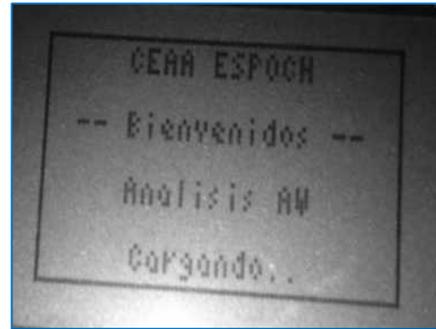
1. Poner la SCMFC a cero de forma activa mediante la adición de 125 ml del medio base inicial (ANEXO I) en la cámara anódica, como se indica en la figura 1-3.



2. Cuando el voltaje generado alcanzó un valor estable de 110 mV aprox. (en un batch de 24 h). Se drenó el medio base inicial y se alimentó la SCMFC con la muestra que se desea analizar (80, 120 y 170 ppm). Es importante que se mantenga un ambiente esterilizado para evitar errores en la medición. En la figura 2-3 se indica el atestado de la muestra a analizar en la SCMFC.



3. Transcurrido el tiempo de retención hidráulica aproximadamente de 19 h , 9 h y 6 h para una concentración baja, media y alta respectivamente, conectar el biosensor al prototipo electrónico para determinar la demanda bioquímica de oxígeno. En la figura 3-3 se muestra el interfaz de usuario implementado para el análisis de una muestra de AW.



Para verificar que la señal de voltaje alcanzó la fase estable, se visualizó su dinámica en MATLAB, previo el arranque del equipo, como se muestra en los gráficos 5-3, 6-3 y 7-3.



### 3.5 Validación del prototipo

Para determinar si el dispositivo es adecuado para cuantificar la carga orgánica de aguas residuales artificiales se prepararon tres concentraciones de DBO baja, media y alta (80, 120, y 170 ppm), se analizaron mediante el método convencional (DBO<sub>5</sub>) y el prototipo electrónico dando los siguientes resultados.

#### 3.5.1. Análisis de reproducibilidad

**Tabla 13-3:** Análisis de reproducibilidad en las medidas generadas por el prototipo.

Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)- PROTOTIPO			
N°	Nivel bajo (80 ppm)	Nivel medio (120 ppm)	Nivel alto (170 ppm)
1	72.00	121.50	153.50
2	72.50	119.50	157.00
3	73.50	111.50	176.50
X	72.67	117.50	162.33
S	0.76	5.29	12.39
CV(%)	1.05	4.50	7.63

Realizado por: Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

**Tabla 14-3:** Análisis de reproducibilidad en las medidas generadas por el método convencional.

<b>Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) - MÉTODO CONVENCIONAL</b>			
<b>N°</b>	<b>Nivel bajo (80 ppm)</b>	<b>Nivel Medio (120 ppm)</b>	<b>Nivel alto (170 ppm)</b>
1	81	118	171
2	78	115	170
3	82	120	173
<b>X</b>	80.33	117.67	171.33
<b>S</b>	2.08	2.52	1.53
<b>CV(%)</b>	2.59	2.14	0.89

**Realizado por:** Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

El prototipo obtuvo un coeficiente de varianza (CV) para el nivel bajo (80 ppm) de 1.05% a diferencia del método estándar que para el mismo nivel bajo se obtuvo 2.59%, lo que demuestra una mayor precisión en los datos de nivel bajo empleando el dispositivo electrónico. En el nivel medio y alto el CV aumento considerablemente, sin embargo estos valores se encuentra por debajo de los informados en estudios de este tipo.

### 3.5.2. ANOVA

Para determinar si el prototipo electrónico es estadísticamente aceptable para cuantificar la DBO se trabajó bajo las siguientes hipótesis.

$H_0 : \mu_A = \mu_B$  (No existe diferencias significativas entre el método convencional y el dispositivo para determinar la DBO)

$H_1 : \mu_A \neq \mu_B$  ( Existe diferencias significativas entre ambos métodos)

En la tabla 15-3. La variable de respuesta es la concentración de materia orgánica (DBO). El factor A representa los métodos de análisis convencional y biosensor , el factor B los niveles de concentraciones probadas (70, 120, 170) con tres replicas respectivamente.

FA	FB	Repetición		
		I	II	III
1	1	72.00	72.50	73.50
1	2	121.50	119.50	111.50
1	3	153.50	157.00	176.50
2	1	81.00	78.00	82.00
2	2	118.00	115.00	120.00
2	3	171.00	170.00	173.00

Realizado por: Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

Se obtuvo el siguiente modelo estadístico.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Representa la concentración de materia orgánica  
 $k$

$\mu$  = Media global en estado estable de la concentración de materia orgánica

$\alpha_i$  = El efecto debido al  $i$ ésimo método de análisis de materia orgánica

$\beta_j$  = El efecto debido al  $j$ ésimo concentración de la materia orgánica

$\varepsilon_{ij}$  = El error aleatorio asociado a la observación  $Y_{ijk}$  y se supone que  $\varepsilon_{ij}$  es independiente e idénticamente distribuido  $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ .

**Tabla 16-3:** Análisis de varianza para prueba de hipótesis.

Fuente de Variación	GI	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Fisher	P. Valor
<b>Total</b>	17	25147.07			
<b>Factor A</b>	1	141.68	141.68	4.36	0.06
<b>Factor B</b>	2	24547.03	12273.51	377.32	0.00
<b>Lineal</b>	1	7326.02	7326.02	225.22	0.00
<b>Cuadrático</b>	1	9.51	9.51	0.29	0.60
<b>Interacción entre A y B</b>	2	68.03	34.01	1.05	0.38
<b>Error</b>	12	390.33	32.53		
<b>CV %</b>			4.74		
<b>Media</b>			120.31		

Realizado por: Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

De acuerdo al análisis de varianza el valor p del efecto A y la interacción entre a y b son mayores a un  $\alpha = 0.05$  por lo tanto no se rechaza  $H_0$  y se concluye que ambos métodos son no significativos, y que la concentración de DBO es significativa con un comportamiento lineal en el intervalo 80-170 ppm con un R 0.9867 como se muestra en la tabla 17-3.

**Tabla 17-3:** Análisis linealidad del equipo en el rango 80 – 170 ppm.

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>ProMedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	24480.3333	24480.3333	587.466806	4.853E-14
Residuos	16	666.736111	41.6710069		
Total	17	25147.0694			

Realizado por: Taday Erika; Telenchano Gladys;2018.

## CONCLUSIONES

- Se desarrolló un prototipo electrónico para analizar la DBO en muestras de agua residual, en un rango dinámico de 60 a 200 ppm.
- Se construyó un biosensor tipo celda de combustible microbiano de cámara simple con el cátodo expuesto al aire, utilizando materiales de bajo costo como acrílico, fibra de carbono y papel celofán.
- Se ajustó los datos del experimento a una función logarítmica con una bondad de ajuste SSE de 0.000661 y R-cuadrado de 0.9581.
- Se desarrolló un sistema de adquisición de señales microbiológicas mediante la interacción de subsistemas de acondicionamiento y procesamiento de señales, fundamentados en amplificadores operacionales y la tarjeta de prototipado Arduino Uno respectivamente.
- Se diseñó una interfaz fácil de manipular y amigable al usuario para presentar el resultado del análisis de DBO.
- Las medidas registradas con el biosensor mostraron un coeficiente de variación de 1.05% a 7.63% , muy por debajo de los biosensores de DBO informados que alcanzaron un C.V de hasta el 12%. Así mismo se determinó con un nivel de confianza del 95% que ambos métodos (dispositivo, convencional) son comparables.

## RECOMENDACIONES

Habiendo incursionado en la tecnología de las celdas de combustible microbiano se recomienda:

- Reducir los tiempos de respuesta y recuperación del biosensor ante un evento tóxico mediante el apoyo de áreas de la ingeniería química y microbiológica.
- Extender el rango de medida del biosensor tipo celda de combustible microbiano para sea factible la detección de altos niveles de materia orgánica.
- Analizar la reproducibilidad, estabilidad del biosensor en un periodo operativo de al menos siete meses y constatar que los resultados de la medición presenten bajos CV.
- Estudiar la característica de eliminación de DQO en el biosensor para que sea utilizado como un dispositivo de detección y biorremediación.
- Hacer uso de técnicas de caracterización sofisticadas como las redes neuronales artificiales para mejorar el modelo DBO-Corriente.
- Verificar el comportamiento del biosensor en entornos realistas, donde el sistema estaría expuesto a un ambiente de sustancias tóxicas, a la vez que proporciona una respuesta de salida simple que puede ser integrada a un sistema automatizado de análisis de DBO en plantas de tratamiento de agua residual.
- Optimizar el algoritmo de detección de la fase estable para asegurar un funcionamiento adecuado en procesos continuos sujetos a ruido.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **ABREVAYA, X.C; et al.** “Analytical applications of microbial fuel cells. Part II: Toxicity, microbial activity and quantification, single analyte detection and other uses”. *Biosensors and Bioelectronics* [en línea], 2015, (Argentina), 63, pp. 591-601. [Consulta: 21 octubre 2017]. ISBN 1873-4235.  
Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566314003200>.
2. **APHA.** *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Section 5210.
3. **ASHLOCK, David; & ARREN Anjelica.** *Guía de Acondicionamiento de señales para ingenieros. National Instruments* [en línea], 2015. [Consulta: 23 octubre 2017].  
Disponible en: [ftp://ftp.ni.com/evaluation/signal\\_conditioning/23807\\_Engineer\\_s\\_guide\\_to\\_signal\\_conditioning\\_Spanish\\_localisation\\_HR.pdf](ftp://ftp.ni.com/evaluation/signal_conditioning/23807_Engineer_s_guide_to_signal_conditioning_Spanish_localisation_HR.pdf).
4. **BRUCE, Logan.** “Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology”. *Environmental Science & Technology* [en línea], 2016, (Pennsylvania), 40 (17), pp 5181–5192. [Consulta: 21 octubre 2017]. DOI 10.1021/ES0605016.  
Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es0605016>.
5. **BUENAÑO ABARCA, Josselyn Carola, & CRUZ GARCÉS, Fernanda Estefanía.** *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* (tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ciencias, Biotecnología Ambiental, Riobamba, Ecuador, 2016, pp. 40-50.
6. **CHOULER, J;& DI LORENZO, M.** “Water Quality Monitoring in Developing Countries; Can Microbial Fuel Cells be the Answer?”. *Biosensors* [en línea], 2015, (United Kingdom) vol. 5, no. 3, pp. 450-470. [Consulta: 21 octubre 2017]. DOI 10.3390/bios5030450. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26193327>.
7. **CISTERNA OSORIO, P y PEÑA, D.** Determinación de la relación DQO/DBO5 en aguas residuales de comunas con población menor a 25.000 habitantes en la VIII región [Consulta: 29 octubre 2017]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/chile13/trab-12.pdf>.

8. **CRESPO, E.** *Conversor Analógico Digital | Aprendiendo Arduino*. [en línea], 2015, [Consulta: 24 enero 2018]. Disponible en: <https://aprendiendoarduino.wordpress.com/tag/conversor-analogico-digital/>.
9. **DI LORENZO, Mirella et al.** “A single-chamber microbial fuel cell as a biosensor for wastewaters”. *Water Research* [en línea], 2009, (United Kingdom) vol. 43, no. 13, pp. 3145-3154. [Consulta: 23 octubre 2017]. DOI 10.1016/j.watres.2009.01.005. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19482326>.
10. **DI LORENZO, Mirella, et al.** “A small-scale air-cathode microbial fuel cell for on-line monitoring of water quality”. *Biosensors and Bioelectronics* [en línea], 2014, vol. 62, pp. 182-188. [Consulta: 21 octubre 2017]. DOI 10.1016/J.BIOS.2014.06.050. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566314004710>.
11. **DÍEZ-CABALLERO, et al.** *La DBO en el control del funcionamiento de las EDARs Medición on. 'ine mediante microbiosensores*. [en línea], 1999.Madrid [Consulta: 23 octubre 2017]. Disponible en: [http://www.biosensores.com/documentos/Ingenieria\\_Quimica1.pdf](http://www.biosensores.com/documentos/Ingenieria_Quimica1.pdf).
12. **E.STEIN Nienke, et al.** “Kinetic models for detection of toxicity in a microbial fuel cell based biosensor”. *Biosensors and Bioelectronics* [en línea], 2012, vol. 26, no. 7, pp. 3115-3120. [Consulta: 23 octubre 2017]. DOI 10.1016/J.BIOS.2010.11.049. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566310008158>.
13. *Best Arduino Display - educ8s.tv - Watch Learn Build*. [en línea], EDUC8S.TV 2016. [Consulta: 23 octubre 2017]. Disponible en: <http://educ8s.tv/tutorials/best-arduino-display/>.
14. **ESPI LÓPEZ, J., CAMPS VALLS, G; & MUÑOZ MARÍ, J.** *Fundamentos de electrónica analógica* [en línea]. Valencia – España. [Consulta: 21 octubre 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=JEcgicCG8n8C&printsec=frontcover>
15. **FRANKLIN, G.F., POWELL, J.D. y NAEINI, E.A.** *Feedback Control of Dynamic Systems*, 2, M.A USA: Addison- Wesley, p 617.

16. **GOBIERNO NACIONAL ECUADOR.** Versiones del Plan Nacional - Plan Nacional 2013 - 2017. [en línea], 2013. [Consulta: 21 octubre 2017]. Disponible en: <http://www.buenvivir.gob.ec/versiones-plan-nacional>.
17. **GÓMEZ, M.** *Código, Tips y Programas Varios: El Convertidor Análogo-Digital en Arduino.* [en línea], 2014. [Consulta: 24 enero 2018]. Disponible en: <http://fuenteabierta.teubi.co/2013/04/el-convertidor-analogo-digital-en.html>.
18. **HIKUMA, M., et al.** Amperometric estimation of BOD by using living immobilized yeasts. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* [en línea], 1979, vol. 8, no. 4, pp. 289-297. [Consulta: 23 octubre 2017]. DOI 10.1007/BF00508793. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/BF00508793>.
19. **JANA, P.S., BEHERA, M. y GHANGREKAR, M.M.** “Performance comparison of up-flow microbial fuel cells fabricated using proton exchange membrane and earthen cylinder”. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], 2010, vol. 35, no. 11, pp. 5681-5686. [Consulta: 14 noviembre 2017]. DOI 10.1016/j.ijhydene.2010.03.048. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S036031991000529X>.
20. **KIM, B.H, et al.** “Novel BOD (biological oxygen demand) sensor using mediator-less microbial fuel cell”. *Biotechnology Letters* [en línea], 2003, vol. 25, no. 7, pp. 541-545. [Consulta: 23 octubre 2017]. DOI 10.1023/A:1022891231369. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1023/A:1022891231369>.
21. **KIM, B.H., CHANG, I.S, & GADD, G.M.** “Challenges in microbial fuel cell development and operation”. *Applied Microbiology and Biotechnology* [en línea], 2007, vol. 76, no. 3, pp. 485-494. [Consulta: 23 octubre 2017]. DOI 10.1007/s00253-007-1027-4. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-007-1027-4>.
22. **KIM, M., YOON, S.H., DOMANSKI, P.A. y VANCE PAYNE, W.** “Design of a steady-state detector for fault detection and diagnosis of a residential air conditioner”. *International Journal of Refrigeration* [en línea], 2008, vol. 31, no. 5, pp. 790-799. [Consulta: 24 enero 2018]. DOI 10.1016/J.IJREFRIG.2007.11.008. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140700707002186>

23. **KIM, M.N; & KWON, H.S.** “Biochemical oxygen demand sensor using *Serratia marcescens* LSY 4” . *Biosensors & bioelectronics* [en línea], 1999, vol. 14, no. 1, pp. 1-7. [Consulta: 23 octubre 2017]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10028644>.
24. **LIU, J, & MATTIASSON, B.** “Microbial BOD sensors for wastewater analysis”. *Water research* [en línea], 2002, vol. 36, no. 15, pp. 3786-802. [Consulta: 22 octubre 2017]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12369525>.
25. **LOGAN, B.E, & REGAN, J.M.** “Microbial Fuel Cells—Challenges and Applications”. *Environmental Science & Technology* [en línea], 2006, vol. 40, no. 17, pp. 5172-5180. [Consulta: 21 octubre 2017]. ISSN 0013-936X. DOI 10.1021/es0627592. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es0627592>.
26. **LOGROÑO, W, et al.** A Terrestrial Single Chamber Microbial Fuel Cell-based Biosensor for Biochemical Oxygen Demand of Synthetic Rice Washed Wastewater. *Sensors* [en línea], 2016, (Ecuador) vol. 16, no. 1, pp. 101. [Consulta: 23 octubre 2017]. DOI 10.3390/s16010101. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1424-8220/16/1/101>.
27. **LOVLEY, D.R.** “The microbe electric: conversion of organic matter to electricity”. *Current Opinion in Biotechnology* [en línea], 2008, vol. 19, no. 6, pp. 564-571. [Consulta: 21 octubre 2017]. DOI 10.1016/j.copbio.2008.10.005. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19000760>.
28. **MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M, & BROCK, T.D.** *Brock biology of microorganisms* [en línea], 2006. 11th ed. Upper Saddle River NJ: Pearson Prentice Hall. [Consulta: 21 octubre 2017]. ISBN 9780131443297. Disponible en: <http://www.worldcat.org/title/brock-biology-of-microorganisms/oclc/57001814>.
29. **MANIPAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY y GHANGREKAR M.M,** “Development of microbial fuel cell as biosensor for detection of organic matter of wastewater”. *Recent Research in Science and Technology* [en línea], 2014, vol. 6, pp. 162-166. [Consulta: 8 noviembre 2017]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/269932778\\_Development\\_of\\_microbial\\_fuel\\_cell\\_as\\_biosensor\\_for\\_detection\\_of\\_organic\\_matter\\_of\\_wastewater](https://www.researchgate.net/publication/269932778_Development_of_microbial_fuel_cell_as_biosensor_for_detection_of_organic_matter_of_wastewater)

30. **REN, H., LEE, H.-S. y CHAE, J.** “Miniaturizing microbial fuel cells for potential portable power sources: promises and challenges”. *Microfluidics and Nanofluidics* [en línea], 2012, vol. 13, no. 3, pp. 353-381. [Consulta: 21 octubre 2017]. DOI 10.1007/s10404-012-0986-7. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10404-012-0986-7>.
31. **REVELO, D.M., HURTADO, N.H. y RUIZ, J.O.** “Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): Un Reto para la Remoción de Materia Orgánica y la Generación de Energía Eléctrica”. *Información tecnológica* [en línea], 2013, (Colombia) vol. 24, no. 6, pp. 7-8. [Consulta: 21 octubre 2017]. DOI 10.4067/S0718-07642013000600004. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-07642013000600004&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642013000600004&lng=en&nrm=iso&tlng=en).
32. **REYNOLDS D.M, & AHMAD S.R.** “Rapid and direct determination of wastewater BOD values using a fluorescence technique”. *Water Research* [en línea], 1997, vol. 31, no. 8, pp. 2012-2018. [Consulta: 23 octubre 2017]. DOI 10.1016/S0043-1354(97)00015-8. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135497000158>.
33. **RIEDEL, K., et al.** “A fast estimation of biochemical oxygen demand using microbial sensors”. *Applied Microbiology and Biotechnology* [en línea], 1988, vol. 28, no. 3, pp. 316-318. [Consulta: 23 octubre 2017]. DOI 10.1007/BF00250463. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/BF00250463>.
34. **RISMANI, Yazdy, et al.** “Effect of external resistance on bacterial diversity and metabolism in cellulose-fed microbial fuel cells”. *Bioresource Technology* [en línea], 2011, vol. 102, no. 1, pp. 278-283. [Consulta: 21 octubre 2017]. DOI 10.1016/j.biortech.2010.05.012. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20627719>.
35. **ROSENBAUM, Miriam.** “Performing an MFC – Polarization test” (Maestria), Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung-UFZ . Alemania. 2017, pp. 1-3.
36. **SPURR, M.** *Microbial Fuel Cell-based Biosensors for Biochemical Oxygen Demand and Toxicity*. [en línea], 2016. Londres: [Consulta: 23 octubre 2017]. Disponible en: <http://www.swig.org.uk/wp-content/uploads/2015/03/Martin-Spurr-2015-v3.pdf>.

37. **STEIN NIENKE E, HAMELERS HUBERTUS V.M y BUISMAN CEES N.J.** “Influence of membrane type, current and potential on the response to chemical toxicants of a microbial fuel cell based biosensor”. *Sensors and Actuators B: Chemical* [en línea], 2012, vol. 163, no. 1, pp. 1-7. [Consulta: 14 noviembre 2017]. DOI 10.1016/J.SNB.2011.10.060. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092540051100952X>.
38. **SWEDISH STANDARDS INSTITUTE.** International Organization Standardization. [en línea]. [Consulta: 23 octubre 2017]. Disponible en: <https://www.iso.org/standards.html>.
39. **TAYLOR, P., HSIEH, M. y CHUNG, Y.** “Measurement of biochemical oxygen demand from different wastewater samples using a mediator-less microbial fuel cell biosensor”. [en línea], 2014, no. June, pp. 37-41. DOI 10.1080/09593330.2014.898700. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/09593330.2014.898700>.
40. **UNIVERSIDAD ALICANTE.** *Sistemas de adquisición y Procesamiento de datos* [en línea], 2016. España: Universidad Alicante. [Consulta: 24 enero 2018]. Disponible en: [https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/19119/1/Sistemas de adquisición y Procesamiento de datos.pdf](https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/19119/1/Sistemas_de_adquisici3n_y_Procesamiento_de_datos.pdf).
41. Arduino uno. [en línea], 2012, [Consulta: 24 enero 2018]. Disponible en: <https://www.farnell.com/datasheets/1682209.pdf>.
42. **THOMAS, F** *Dispositivos Electrónicos*. Octava. México: [Consulta: 24 enero 2018]. Disponible en Pearson Educación. ISBN 9789702611936, pp. 755.786.
43. **WANG Xin, GAO Nigshengije; & ZHOU Qixing.** “Concentration responses of toxicity sensor with *Shewanella oneidensis* MR-1 growing in bioelectrochemical systems”. *Biosensors and Bioelectronics* [en línea], 2013, vol. 43, pp. 264-267. [Consulta: 23 octubre 2017]. DOI 10.1016/J.BIOS.2012.12.029. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566312008858>.
44. **YANG YONGGANG, XU MEIYING, GUO JUN y SUN GUOPING.** Bacterial extracellular electron transfer in bioelectrochemical systems. *Process Biochemistry* [en línea], 2012. vol. 47, no. 12, pp. 1707-1714. [Consulta: 21 octubre 2017]. DOI

10.1016/J.PROCBIO.2012.07.032.

Disponible

en:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511312003169>.

## ANEXOS

### PARTE QUÍMICA

#### ANEXO A: Oficio de aceptación para muestreo en la PTAR "UCUBAMBA"



Oficio Nro. O-0032-2017-SOAS

Cuenca, 10 de Mayo de 2017

Doctor  
Celsa Recalde Moreau  
DIRECCIÓN DEL CENTRO DE INVESTIGACION DE ENERGÍAS  
ALTERNATIVAS Y AMBIENTE  
En su Despacho.

De mi consideración:

En atención al oficio N.º del 28 de abril de 2017, mediante cual solicita autorización para la obtención de muestras de agua residual y lodo de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Ucubamba, con el fin de llevar a cabo el proyecto de investigación denominado "Desarrollo de un prototipo electrónico para analizar la DBO de aguas residuales con carga orgánica asociada", me cumple informarle que se autoriza lo solicitado, para lo cual se deberá coordinar con el Ing. Luis Felipe Díaz Espinoza, Supervisor de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Ucubamba, al correo electrónico [ldiaz@etapa.gub.ec](mailto:ldiaz@etapa.gub.ec).

Cabe señalar que la toma de muestras, el transporte y traslado a la disposición final del agua residual y lodo que se tome de la PTAR - Ucubamba; así como, de los subproductos generados por su manipulación, son de completa responsabilidad de la persona e institución solicitantes.

Atentamente,



Miguel Diego Antonio Carrichuri Cabrera

SUBGERENTE DE OPERACIONES DE AGUA POTABLE Y SANEAMIENTO (E)

Referencias:  
- EXT-0055-2017-SOAS

NLT ETAPAEF-2017-0102

ltlaplr



**Fuente:** Taday Erika, Telenchando Gladys; 2018

### **ANEXO B:** Planta de tratamiento de aguas residuales “UCUBAMBA”



**Fuente:** Taday Erika, Telenchando Gladys; 2018.

### **ANEXO C:** Construcción de las SMFCs



**Fuente:** Taday Erika, Telenchando Gladys; 2018.

## ANEXO D: Preparación Agua residual artificial



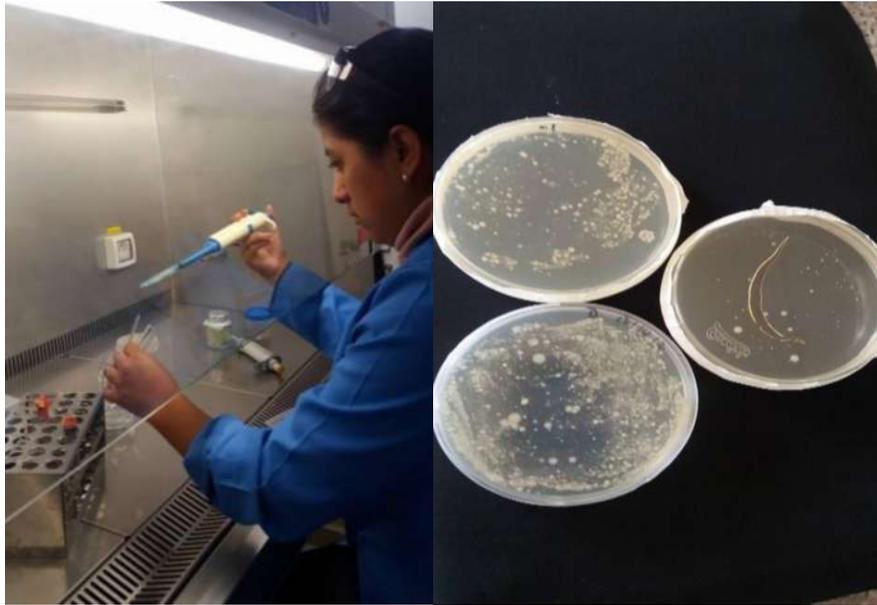
Fuente: Taday Erika, Telenchando Gladys; 2018

## ANEXO E: Medición PH



Fuente: Taday Erika, Telenchando Gladys; 2018

## ANEXO F: Análisis microbiológico



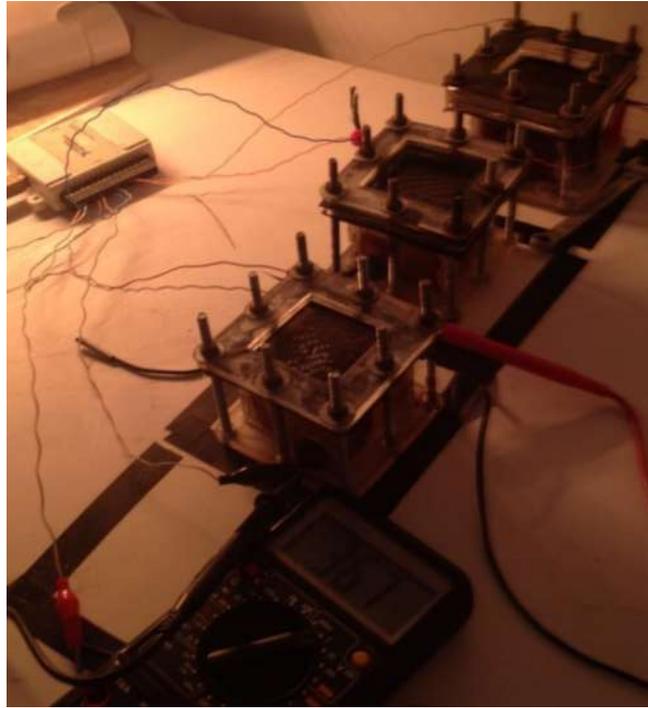
**Fuente:** Taday Erika, Telenchando Gladys; 2018.

## ANEXO G: Alimentación SCMFCs con distintas muestras de DBO.



**Fuente:** Taday Erika, Telenchando Gladys; 2018

**ANEXO H:** Voltaje generado SCMFC\_1 .



**Fuente:** Taday Erika, Telenchando Gladys; 2018

**ANEXO I:** Medio base anolito M9.

Component	g/L	mg/L	mg/ x L	Molecular mass (g/mol)	Concentration (mM)	Concentration for X volume (mM)	X volume (L)
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6.00	6000	6.000	141.96	42.27	42.27	1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3.00	3000	3.000	136.086	22.04	22.04	15
NaHCO <sub>3</sub>	1.00	1000	1.000	84.007	11.90	11.90	5
NH <sub>4</sub> Cl	1.00	1000	1.000	53.491	18.69	18.69	5
NaCl	0.50	500	0.500	58.44	8.56	8.56	2.5
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	0.247	247	0.247	246.5	1.00	1.00	1.235
CaCl <sub>2</sub>	0.0147	14.7	0.015	110.98	0.13	0.13	0.0735
Na-Acetate- 60 ppm	0.06	60	0.06	82.0343	0.73	0.73	
Na-Acetate- 100 ppm	0.1	100	0.1	82.0343	1.22	1.22	
Na-Acetate- 150 ppm	0.15	150	0.15	82.0343	1.83	1.83	
Na-Acetate- 200 ppm	0.2	200	0.2	82.0343	2.44	2.44	
Guideline							
	Cada solución debe contener los componentes de color verde						
	Solo para 60						
	solo para 100						
	solo para 150						
	solo para 200						

**Fuente:** Taday Erika, Telenchando Gladys; 2018

**ANEXO J:** Análisis muestras de agua residual a distintas concentraciones de DBO (80, 120, 170 pm)




**LABORATORIO DE SERVICIOS AMBIENTALES**

N° SE: 255-17

**INFORME DE ANALISIS**

**NOMBRE:** Gladys Telenchano **INFORME N°** 255- 17  
**EMPRESA:** Proyecto de Tesis ESPOCH **N° SE:** 255-17  
**DIRECCIÓN:** Cda. Los Olivos

**TELÉFONO:** 032317595 **FECHA DE RECEPCIÓN:** 10 - 08 -17  
**FECHA DE INFORME:** 23-08-17  
**NÚMERO DE MUESTRAS:** 3, Agua residual preparada **TIPO DE MUESTRA:**

IDENTIFICACIÓN:	MA - 433-17	80 ppm	Agua
	MA - 434-17	120 ppm	Agua
	MA - 435-17	170 ppm	Agua

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

**RESULTADO DE ANÁLISIS**

**MA - 433-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* DBO5	mg O2/l	STANDARD METHODS 5210 - B	97	N/A	10 - 08 -17

**MA - 434-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* DBO5	mg O2/l	STANDARD METHODS 5210 - B	129	N/A	10 - 08 -17

**MA - 435-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
* DBO5	mg O2/l	STANDARD METHODS 5210 - B	185	N/A	10 - 08 -17

**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  
 Benito Mendoza T., Ph.D.


---

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

-Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).  
 -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 1/2 vía a Guano Bloque Administrativo.

**Fuente:** Laboratorio de servicios ambientales de la UNACH; 2018.

**ANEXO K:** Análisis muestras de agua residual(DQO) a distintas concentraciones de DBO (60, 100, 150 y 200 ppm)

Fuente: Laboratorio de servicios ambientales de la UNACH; 2018.



## LABORATORIO DE SERVICIOS AMBIENTALES



N° SE: 274-17

### INFORME DE ANALISIS

**NOMBRE:** Gladys Telenchano **INFORME N°** 274- 17  
**EMPRESA:** Proyecto de Tesis ESPOCH **N° SE:** 274-17  
**DIRECCIÓN:** Cdia. Los Olivos  
**TELÉFONO:** 032317595 **FECHA DE RECEPCIÓN:** 29 - 08 - 17  
**NÚMERO DE MUESTRAS:** 4, Agua residual preparada **FECHA DE INFORME:** 31 - 08 - 17  
**IDENTIFICACIÓN:** **TIPO DE MUESTRA:**

MA - 498-17	SCMFC_1	DQOI	1ra Repetición	Agua
MA - 499-17	SCMFC_1	DQOF	1ra Repetición	Agua
MA - 500-17	SCMFC_2	DQOI	1ra Repetición	Agua
MA - 501-17	SCMFC_2	DQOF	1ra Repetición	Agua

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

### RESULTADO DE ANÁLISIS

MA - 498-17

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	209	N/A	29 - 08 - 17

MA - 499-17

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	94	N/A	29 - 08 - 17

MA -500-17

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	206	N/A	29 - 08 - 17

MA -501-17

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	135	N/A	29 - 08 - 17

**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  
Benito Mendoza T., Ph.D.

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

-Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).  
-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.



INFORME DE ANALISIS

NOMBRE: Gladys Telenchano INFORME N° 270- 17  
EMPRESA: Proyecto de Tesis ESPOCH N° SE: 270-17  
DIRECCIÓN: Cda. Los Olivos  
TELÉFONO: 032317595 FECHA DE RECEPCIÓN: 23-08-17  
NÚMERO DE MUESTRAS: 4, Agua residual preparada FECHA DE INFORME: 25-08-17  
IDENTIFICACIÓN: TIPO DE MUESTRA:

MA - 486-17	SCMFC_1	DQOI	1ra Repetición	Agua
MA - 487-17	SCMFC_1	DQOF	1ra Repetición	Agua
MA - 488-17	SCMFC_2	DQOI	1ra Repetición	Agua
MA - 489-17	SCMFC_2	DQOF	1ra Repetición	Agua

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

RESULTADO DE ANÁLISIS

MA - 486-17

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	156	N/A	23-08-17

MA - 487-17

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	72	N/A	23-08-17

MA -488-17

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	142	N/A	23-08-17

MA -489-17

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	50	N/A	23-08-17

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  
Benito Mendoza T., Ph.D.

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

-Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).  
-Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.



**INFORME DE ANALISIS**

**NOMBRE:** Gladys Telenchano **INFORME N°** 267- 17  
**EMPRESA:** Proyecto de Tesis ESPOCH **N° SE:** 267-17  
**DIRECCIÓN:** Cda. Los Olivos  
**FECHA DE RECEPCIÓN:** 21 - 08 -17  
**TELÉFONO:** 032317595 **FECHA DE INFORME:** 23- 08 -17  
**NÚMERO DE MUESTRAS:** 4, Agua residual preparada **TIPO DE MUESTRA:**  
**IDENTIFICACIÓN:**

MA - 478-17	SCMFC_1	DQO <sub>i</sub>	2da Repetición	Agua
MA - 479-17	SCMFC_1	DQO <sub>f</sub>	2da Repetición	Agua
MA - 480-17	SCMFC_2	DQO <sub>i</sub>	2da Repetición	Agua
MA - 481-17	SCMFC_2	DQO <sub>f</sub>	2da Repetición	Agua

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

**RESULTADO DE ANÁLISIS**

**MA - 478-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	99	N/A	21 - 08 -17

**MA - 479-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	78	N/A	21 - 08 -17

**MA -480-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	98	N/A	21 - 08 -17

**MA -481-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	62	N/A	21 - 08 -17

**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  
Benito Mendoza T., Ph.D.

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

-Los resultados de este informe corresponden unicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).  
 -Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.



**INFORME DE ANALISIS**

**NOMBRE:** Gladys Telenchano **INFORME N°** 263- 17  
**EMPRESA:** Proyecto de Tesis ESPOCH **N° SE:** 263-17  
**DIRECCIÓN:** Cda. Los Olivos  
**FECHA DE RECEPCIÓN:** 18 - 08 -17  
**TELÉFONO:** 032317595 **FECHA DE INFORME:** 21 - 08 -17  
**NÚMERO DE MUESTRAS:** 4, Agua residual preparada **TIPO DE MUESTRA:**

**IDENTIFICACIÓN:**

MA - 473-17	SCMFC_1	DQOi	1ra Repetición	Agua
MA - 474-17	SCMFC_1	DQOf	1ra Repetición	Agua
MA - 475-17	SCMFC_2	DQOi	1ra Repetición	Agua
MA - 476-17	SCMFC_2	DQOf	1ra Repetición	Agua

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

**RESULTADO DE ANÁLISIS**

**MA - 473-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	103	N/A	18 - 08 -17

**MA - 474-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	60	N/A	18 - 08 -17

**MA -475-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	102	N/A	18 - 08 -17

**MA -476-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	80	N/A	18 - 08 -17

**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  
Benito Mendoza T., Ph.D.

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

-Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizad(a)s.  
-Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.



INFORME DE ANALISIS

**NOMBRE:** Gladys Telenchano **INFORME Nº** 262- 17  
**EMPRESA:** Proyecto de Tesis ESPOCH **Nº SE:** 262-17  
**DIRECCIÓN:** Cdl. Los Olivos  
**FECHA DE RECEPCIÓN:** 16 - 08 -17  
**TELÉFONO:** 032317595 **FECHA DE INFORME:** 18 - 08 -17  
**NÚMERO DE MUESTRAS:** 4, Agua residual preparada **TIPO DE MUESTRA:**  
**IDENTIFICACIÓN:**

MA - 466-17	SCMFC_1	DQO	2da Repetición	Agua
MA - 467-17	SCMFC_1	DQO	2da Repetición	Agua
MA - 468-17	SCMFC_2	DQO	2da Repetición	Agua
MA - 469-17	SCMFC_2	DQO	2da Repetición	Agua

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

RESULTADO DE ANÁLISIS

MA - 466-17

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	62	N/A	16 - 08 -17

MA - 467-17

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	56	N/A	16 - 08 -17

MA -468-17

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	62	N/A	16 - 08 -17

MA -469-17

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	24	N/A	16 - 08 -17

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  
 Benito Mendoza T., Ph.D.

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

-Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).  
 -Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.



**INFORME DE ANALISIS**

**NOMBRE:** Gladys Telenchano **INFORME N°** 260- 17  
**EMPRESA:** Proyecto de Tesis ESPOCH **N° SE:** 260-17  
**DIRECCIÓN:** Cdia. Los Olivos **FECHA DE RECEPCIÓN:** 14 - 08 -17  
**TELÉFONO:** 032317595 **FECHA DE INFORME:** 16 - 08 -17  
**NÚMERO DE MUESTRAS:** 4, Agua residual preparada **TIPO DE MUESTRA:**

**IDENTIFICACIÓN:**

MA - 458-17	SCMFC_1	DQO	1ra Repetición	Agua
MA - 459-17	SCMFC_1	DQO	1ra Repetición	Agua
MA - 460-17	SCMFC_2	DQO	1ra Repetición	Agua
MA - 461-17	SCMFC_2	DQO	1ra Repetición	Agua

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

**RESULTADO DE ANÁLISIS**

**MA - 458-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	61	N/A	14 - 08 -17

**MA - 459-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	44	N/A	14 - 08 -17

**MA -460-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	82	N/A	14 - 08 -17

**MA -461-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	30	N/A	14 - 08 -17

**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  
Benito Mendoza T., Ph.D.

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

-Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).  
-Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.

FMC2101-01

Página 1 de 1

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



# LABORATORIO DE SERVICIOS AMBIENTALES



N° SE: 275-17

## INFORME DE ANALISIS

**NOMBRE:** Gladys Telenchano  
**EMPRESA:** Proyecto de Tesis ESPOCH  
**DIRECCIÓN:** Cda. Los Olivos

**INFORME N°** 275- 17  
**N° SE:** 275-17

**TELÉFONO:** 032317595

**FECHA DE RECEPCIÓN:** 31 - 08 - 17  
**FECHA DE INFORME:** 02 - 09 - 17

**NÚMERO DE MUESTRAS:** 4, Agua residual preparada

**TIPO DE MUESTRA:**

**IDENTIFICACIÓN:**

MA - 502-17	SCMFC_1	DQO <sub>i</sub>	2da Repetición	Agua
MA - 503-17	SCMFC_1	DQO <sub>f</sub>	2da Repetición	Agua
MA - 504-17	SCMFC_2	DQO <sub>i</sub>	2da Repetición	Agua
MA - 505-17	SCMFC_2	DQO <sub>f</sub>	2da Repetición	Agua

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

### RESULTADO DE ANÁLISIS

**MA - 502-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	194	N/A	31 - 08 - 17

**MA - 503-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	70	N/A	31 - 08 - 17

**MA -504-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	206	N/A	31 - 08 - 17

**MA -505-17**

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO/PROCEDIMIENTO	RESULTADO	U(K=2)	FECHA DE ANÁLISIS
DQO	mg/l	STANDARD METHODS 5220 - D	100	N/A	31 - 08 - 17

**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  
Benito Mendoza T., Ph.D.

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

-Los resultados de este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) analizada(s).  
-Se prohíbe la reproducción parcial de este informe sin la autorización del laboratorio.

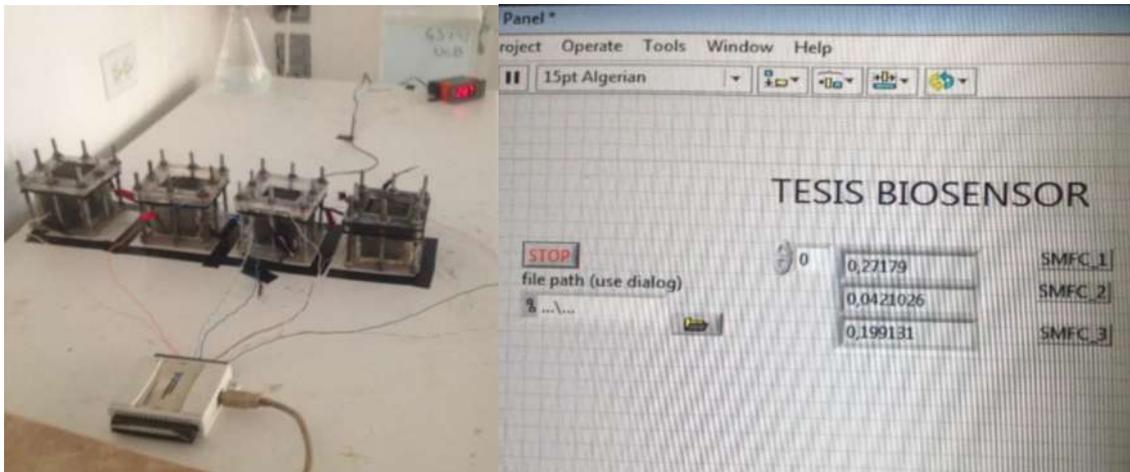
FMC2101-01

Página 1 de 1

L.S.A. Campus Máster Edison Riera Km 1 1/2 vía a Guano Bloque Administrativo.

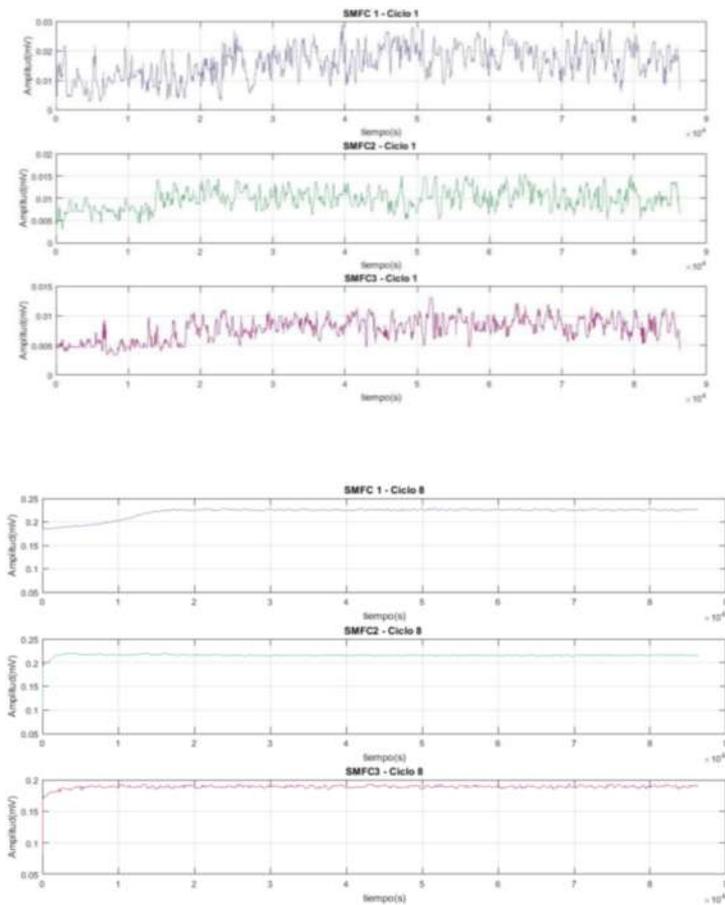
## PARTE ELECTRÓNICA

### ANEXO A: Monitoreo de las SMFCs



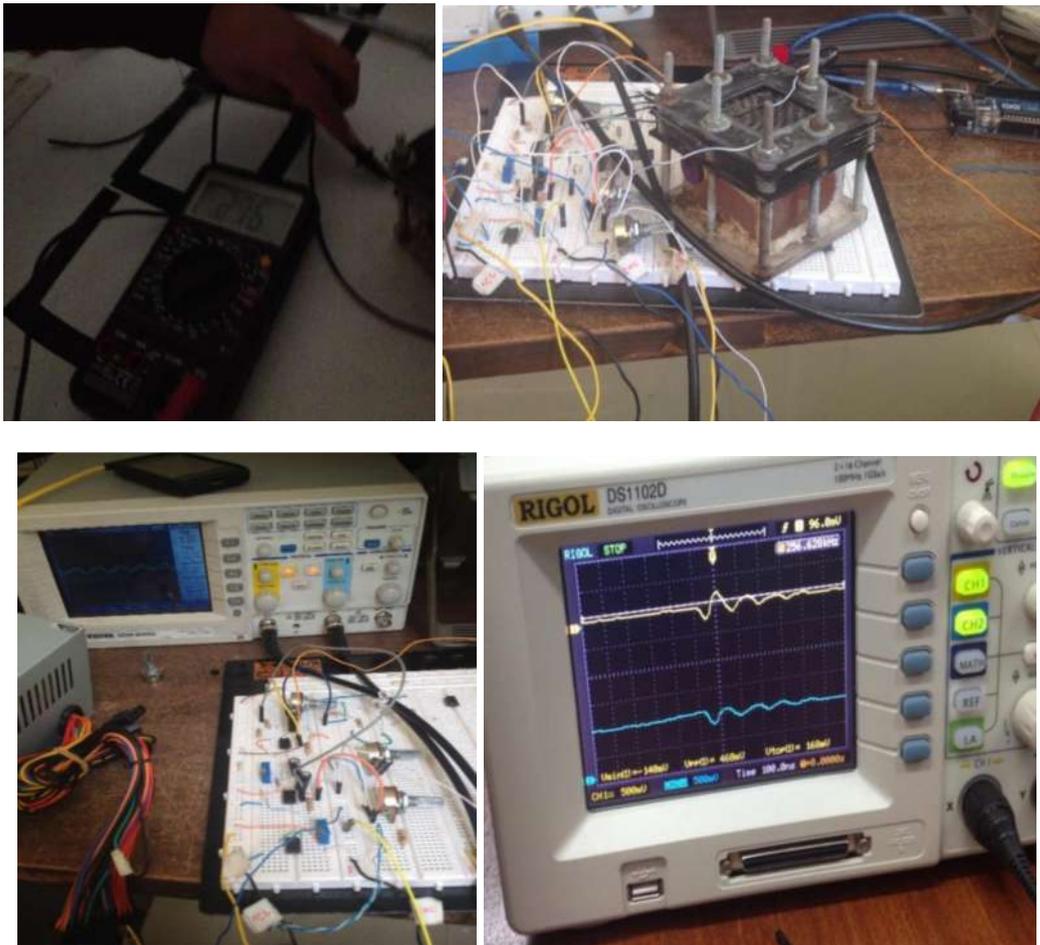
Fuente: Taday Erika, Telenchando Gladys; 2018.

### ANEXO B: Caracterización de la señal generada por las SCMFCs.



Fuente: Taday Erika, Telenchando Gladys; 2018.

## ANEXO C: Acondicionamiento de señal bioelectroquímica



Fuente: Taday Erika, Telenchando Gladys; 2018.

## ANEXO D: Código sistema de adquisición de temperatura.

```
%% PROGRAMA ADQUISICIÓN TEMPERATURA
%% TESIS BIOSENSORDBO
close all;
clear;
format long g;
clc;
%% Lectura

%% Conexion Arduino

a = arduino;

%% Adquisicion online
figure
h = animatedline;%
ax = gca;
ax.YGrid = 'on';
ax.YLim = [65 85];

paro = false;
inicio = datetime('now');
while ~paro

    v = readVoltage(a, 'A0');
    TempC = (v)*100;
    TempF = 9/5*TempC + 32;
    % Obtiene hora actual
    t = datetime('now') - inicio;
    % Agregar puntos a la animación
    addpoints(h, datenum(t), TempF)
    % Actualizar ejes
    ax.XLim = datenum([t-seconds(15) t]);
    datetick('x', 'keeplimits')
    drawnow
    % Comprueba la condición de stop

    paro = readDigitalPin(a, 'D12');
end
%%
[timeLogs,tempLogs] = getpoints(h);
timeSecs = (timeLogs-timeLogs(1))*24*3600;
%% Guardar datos

T =
table(timeSecs',tempLogs', 'VariableNames',{'Time_sec', '
Temp_F'});
filename = 'Temperature_Data.xlsx';
writetable(T,filename)

fprintf('Tabla con %g datos de temperatura guardados en
%s\n', ...
        length(timeSecs),filename)
```

## ANEXO E: Código diseño filtro butterworth.

```
%cd
'C:\Users\Erika\Dropbox\Tesis\P.El
ectrónica'
Fs=(1/0.001)*2;
%load mfc.txt; %y1 senal y2 ruido
y=se;
Wp = 5/Fs; %%Frecuencia de corte
normalizada
Ws = 500/Fs; %%Frecuencia de
atenuación normalizada
[n,Wn] = buttord(Wp,Ws,3,60);
%%orden de butterworth
[b,a] = butter(n,Wn,'low');
%%coeficientes de butterworth
yh = filter(b, a, y); %%Filtro
de la señal
L=length(y)
y =(0.1*randn(length(y),1))+y;
NFFT = 2^nextpow2(L); % Siguiete
potencia de 2 del vector y
f = Fs/2*linspace(0,1,NFFT/2+1);
%figure(1)
yf=fft(y,NFFT)/L;
plot(f,2*abs(yf(1:NFFT/2+1)))
stem(f,2*abs(yf(1:NFFT/2+1)))
title('Espectro de la señal')
xlabel('Frecuencia [Hz]')
grid on
%figure(2)
yf2=fft(yh,NFFT)/L;
plot(f,2*abs(yf2(1:NFFT/2+1)))
title('Espectro de la señal
filtrada')
xlabel('Frecuencia [Hz]')
grid on
```

```
%figure(3)
[H,W] = freqz(b,a,1000);
plot(Fs.*W./pi,abs(H))
title('Respuesta en frecuencia del
filtro')
xlabel('Frecuencia [Hz]')
grid on
```

```
figure(1)
plot(y)
figure(2)
plot(yh)
xlswrite('celda.xls',yh);
```

## ANEXO F: Código detección fase estable

```
clear;
format long g;
clc;
%% Lectura de datos
cd 'D:'
load dat.txt %Lectura de Datos
archivo TXT
V=dat;
k = length(dat); %Cantidad de
datos almacenados en el archivo
n= 30; %tamaño de la ventana
para asegurar una estimación
adecuada
M=0;
Var=0;
j=1;
%de la media y la desviación
estándar (Ott, 1984).
while k<=n
%MEDIA
for i=k-n+1:1:i<=k
```

```
M = V(i)/n + M;
end
Media(j)= M;
%VARIANZA
for i=k-n+1:1:i<=k
Var = 1/n(V(i)-M)^2 +
Var;
end
Varianza(j)= Var;
D=sqrt(Var);
Desv(j)=D;
j=j+1;
k=k-1;
end
x=linspace(n,k,1);
plot(x,Desv,'Color',[1, 1,
0.5])
```

## ANEXO G: Código sistema electrónico

```
// TESIS BIOSENSOR
//INGENIERIA ELECTRÓNICA CONTROL
Y REDES INDUSTRIALES
//
// CONEXIONES:
//   SCK - Pin 8
//   MOSI - Pin 9
//   DC - Pin 10
//   RST - Pin 11
//   CS - Pin 12
//   SCMMFC - Pin A0

//LIBRERIAS
#include <LCD5110_Graph.h>
#include <SPI.h>
#include <Adafruit_GFX.h>
#include <Adafruit_PCD8544.h>
#include <math.h>
#define EULER
2.718281828459045235360287471352

// variables
int pasado=0,tm=60, n=30, objmenu = 1,pagina
= 0;
volatile boolean baja = false;
volatile boolean centro = false;
int btn_baja = 0,btn_sube = 0,btn_sel = 0,
btn_ul_baja = 0,btn_ul_sel = 0;
```

```
extern unsigned char TinyFont[];
int j=0,k,c=0,l=0;
float V[30],V1[30],V2[30];
float mean=0,Var=0, Des,Min, Max, Vf;
float I, DBO, DBOf,ahora, cambio, T=1000;
const int sensorMFC=A0; //Seleccionar la
entrada A0 para el biosensor
int V_SCMFC_D,y; // almacena valor (0 a
1023)
float V_SCMFC, I_SCMFC, V_I_SCMFC,
I_I_SCMFC;
```

```
LCD5110 myGLCD(8,9,10,12,11);
//Definiendo pines de concexion lcd
Adafruit_PCD8544 lcd =
Adafruit_PCD8544(8,9,10,11,12);
int LED_1=12;
int LED_2=13;
```

```
void setup() {
  pinMode(2, INPUT_PULLUP);
  pinMode(1, INPUT_PULLUP);
  pinMode(LED_1, OUTPUT);
  pinMode(LED_2, OUTPUT);
  //Serial.begin(9600);
  lcd.begin();
  lcd.setContrast(50);
  lcd.clearDisplay();
  lcd.display();
```

```
//delay(5000);
for (int i=1;i<=n;i=i+1){
  //Lectura del potencial entre el ánodo y
cátodo
  V_SCMFC_D=analogRead(sensorMFC);
  V_SCMFC=
map(V_SCMFC_D,0,1023,0.0,5.0);
  I_SCMFC= V_SCMFC/1000;
  V[i]=I_SCMFC;
}
//Calcula media
for (int i=1;i<=n;i=i+1){
  mean= V[i]/n + mean;
}
//Calcula varianza
for (int i=1;i<=n;i=i+1){
  Var=1/n*pow((V[i]-mean),2)+Var;
}
//Calcula desviación standar
Des=sqrt(Var);
//Intervalo de estabilidad
Max= mean+3*Des;
Min= mean - 3*Des;
}

void loop() {

  drawMenu();
  btn_baja = digitalRead(2);
  btn_sel = digitalRead(1);
```

```

check_btn_baja();
check_btn_sel();

if (baja &&pagina == 1) {
  baja = false;
  objmenu++;
  if (objmenu==3)
  {
    objmenu=1;
  }
}

if (centro) {
  centro = false;

  if (pagina == 1 && objmenu==1) {
    pagina=2;
  }
  else if (pagina == 1 && objmenu==2) {
    pagina=3;
  }

  else if (pagina == 2) {
    pagina=1;
  }
  else if (pagina == 3) {
    pagina=1;
  }
}

```

```

}

void check_btn_baja()
{
  if (btn_baja!= btn_ul_baja)
  {
    if (btn_baja == 0)
    {
      baja=true;
    }
    delay(50);
  }
  btn_ul_baja = btn_baja;
}

void check_btn_sel()
{
  if (btn_sel!= btn_ul_sel)
  {
    if (btn_sel == 0) {
      centro=true;
    }
    delay(50);
  }
  btn_ul_sel = btn_sel;
}

//La función drawMenu se encarga del
desarrollo de la interfaz del usuario - prototipo
//consta de las opciones: Calcular y Salir

```

```

void drawMenu()
{
  if (pagina==0)
  {
    saludo();
    delay(1000);
    pagina=pagina;
  }

  if (pagina==1)
  {

    lcd.setTextSize(1);
    lcd.clearDisplay();
    lcd.setTextColor(BLACK, WHITE);
    lcd.setCursor(0, 0);
    lcd.print("ANALISIS DBO");

    //display.drawFastHLine(0,10,83,BLACK);
    lcd.setCursor(0, 20);
    if (objmenu==1)
    {
      lcd.setTextColor(WHITE, BLACK);
    }
    else
    {
      lcd.setTextColor(BLACK, WHITE);
    }
    lcd.print("> Calcular");
  }
}

```

```

lcd.setCursor(0, 30);

if (objmenu==2)
{
  lcd.setTextColor(WHITE, BLACK);
}
else
{
  lcd.setTextColor(BLACK, WHITE);
}
lcd.print("> Salir");
lcd.display();
}
else if (pagina==2)
{
  calcular();
  delay(2000);
}
else if (pagina==3)
{
  lcd.setTextSize(1);
  lcd.clearDisplay();
  lcd.setTextColor(BLACK, WHITE);
  lcd.setCursor(0, 14);
  lcd.print("--ANALISIS--");
  lcd.setCursor(0, 26);
  lcd.print("--FINALIZADO--");
  lcd.display();
}
}

```

// La funcion transitoria se encarga de mostrar la animación de la señal en estado transitoria mientras se determina la corriente.

```

void transitoria()
{
  myGLCD.clrScr();
  myGLCD.setFont(TinyFont);
  myGLCD.print(" DINAMICA SMFC ",
CENTER, 1);
  myGLCD.drawRect(0, 0, 83, 25);
  for (int i=0; i<84; i++)
  {
y=i*0.01745329251994329576923690768488
6 ;
    //myGLCD.invPixel(i, y/3 +15);
    myGLCD.invPixel(i, 2*sin(y*55)+13);
    myGLCD.update();
  }
  myGLCD.print("ESTABILIZANDO... ",
CENTER ,30);
  myGLCD.update();
  delay(1000);
}
// La funcion estacionaria se encarga de
mostrar la animación de la señal en estado
estable
void estacionaria()
{

```

```

myGLCD.clrScr();
myGLCD.setFont(TinyFont);
myGLCD.print(" DINAMICA SMFC ",
CENTER, 1);
myGLCD.drawRect(0, 0, 83, 25);
for (int i=0; i<42; i++)
{
y=i*0.01745329251994329576923690768488
6 ;
  //myGLCD.invPixel(i, y/3 +15);
  myGLCD.invPixel(i, 2*sin(y*55)+13);
  myGLCD.update();
  delay(100);
}
for (int i=42; i<84; i++)
{
y=i*0.01745329251994329576923690768488
6 ;
  //myGLCD.invPixel(i, y/3 +15);
  myGLCD.invPixel(i, y+13);
  myGLCD.update();
}
myGLCD.print("SMFC ", CENTER, 30);
myGLCD.print("ESTABLE ", CENTER,
40);
myGLCD.update();
delay(1500);

```

```

}

//Presentación del prototipo
void saludo(){
  myGLCD.drawRect(0, 0, 83, 45);
  myGLCD.setFont(TinyFont);
  myGLCD.print(" CEAA ESPOCH ",
CENTER, 2);
  myGLCD.print(" -- Bienvenidos -- ",
CENTER ,14);
  myGLCD.print(" Analisis AW ", CENTER ,
26);
  myGLCD.print(" Cargando. ", CENTER ,
38);
  delay(1500);
  myGLCD.update();
  myGLCD.print(" Cargando.. ", CENTER ,
38);
  delay(1600);
  myGLCD.update();
  myGLCD.print(" Cargando... ", CENTER ,
38);
  delay(1700);
  myGLCD.update();
}

//determinar el valor de la DBO
void calcular()
{
  ahora= millis(); //Tiempo de ejecucion
  cambio= ahora-pasado;

```

```

if(cambio>=T)
{
  y = analogRead(sensorMFC);
  V_I_SCMFC= map(y,0,1023,0.0,5.0);
  I_I_SCMFC= V_I_SCMFC/1000;
}
pasado=ahora;
k=1;
do{
  V1[k]=I_I_SCMFC;
  if((V1[k]>=Min)&&(V1[k]<=Max)){
    V2[k]=V1[k];
    k=k+1;
  }
  else
    transitoria();
}
while(k<=30);
estacionaria();
for(k=1;k<=30;k=k+1){
  Vf=V2[k]/30+Vf;
}
DBO = pow(EULER,(Vf+0.4986)/0.1357);
DBOf= floor(DBO*10)/10;
lcd.setTextSize(1);
lcd.clearDisplay();
lcd.setTextColor(BLACK, WHITE);
lcd.setCursor(0, 0);
lcd.print("--RESULTADO--");
lcd.setCursor(0, 14);

```

