

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica



AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE CEPAS NATIVAS DE RESIDUOS GENERADOS EN EL PROCESAMIENTO DE LANA DE OVEJA Y FIBRA DE ALPACA PARA PRODUCCION DE BIOGÁS EN UN REACTOR DE DIGESTIÓN ANAERÓBICA SECA (DAS)

Tesis presentada por el Bachiller:

Salamanca Valdivia, María Alejandra

Para optar el Título Profesional de

Ingeniera en Biotecnología

Asesor:

Ing. Barreda del Carpio, Jaime Ernesto

Arequipa- Perú

2019

UNIVERSIDAD CATOLICA SANTA MARIA
y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica

Expediente N°. **2017000003791**
N° Trámite en Fac. **328-2017**
Fecha Recep. Fac. **24-01-2017**

FORMATO UNICO PARA TRAMITACIÓN DE TÍTULO PROFESIONAL

DE: **SALAMANCA VALDIVIA, Maria Alejandra**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE **INGENIERO BIOTECNOLOGO**

“AISLAMIENTO E IDENTIFICACION MOLECULAR DE CEPAS PROVENIENTES DE RESIDUOS INDUSTRIALES PARA PRODUCCION DE GASES DE INTERES ENERGETICO EN REACTOR DE DIGESTION ANAEROBICA SECA (DAS)”

DICTAMINADORES: 1) Mgter. Fredy Molina Rodríguez 2) Ing. Cinthia Córdova Barrios

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, el Jurado Dictaminador del Plan de Tesis informa que, hechas las observaciones y subsanadas las correcciones, sugerimos que el título debe cambiar a: **“AISLAMIENTO, CARACTERIZACION E IDENTIFICACION DE CEPAS NATIVAS DE RESIDUOS GENERADOS EN EL PROCESAMIENTO DE LANA DE ALPACA Y FIBRA DE OVEJA PARA PRODUCCION DE BIOGAS EN REACTOR DE DIGESTION ANAEROBICA SECA (DAS)**, después de lo cual consideramos se encuentra APTO para continuar con el trámite de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

FIRMAS: (Devolver antes de 8 días hábiles) FECHA **03.04.17**

ASESOR: **Mgter. Jaime Barreda del Carpio**

DICTAMEN ASESORÍA: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación como asesor del trabajo de investigación presentado por las recurrentes, tengo a bien informar que luego de verificado el cumplimiento de los objetivos y la redacción del informe con los resultados, discusión y conclusiones correspondientes y debiendo cambiar el título a: **“AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE CEPAS NATIVAS DE RESIDUOS GENERADOS EN EL PROCESAMIENTO DE LANA DE OVEJA Y FIBRA DE ALPACA PARA PRODUCCION DE BIOGAS EN UN REACTOR DE DIGESTION ANAEROBICA SECA (DAS)”**, considero que el presente trabajo está APTO para continuar con el trámite, en conformidad al Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad

FIRMA: FECHA **04-12-18**

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) **Dr. José Villanueva Salas** 3) **Ing. Cinthia Córdova Barrios**
2) **Dr. Fredy Molina Rodríguez**

DICTAMEN FINAL: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, atendiendo a su designación como Dictaminadores del presente Borrador de Tesis y luego de hechas las observaciones y correcciones pertinentes, cumpliendo con las exigencias mínimas establecidas para un trabajo de investigación de Tesis profesional, es que consideramos APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

FIRMA: (Devolver antes de 15 días hábiles) FECHA **13-12-18**

JURADOS: PRESIDENTE **DR. JOSE VILLANUEVA SALAS**
VOCAL **DR. FREDY MOLINA RODRIGUEZ**
SECRETARIO **ING. CINTHIA CORDOVA BARRIOS**

FECHA **19/12/18** HORA **19.00** LOCAL **C-402**

FIRMA DEL DECANO

FECHA **14-12-18**

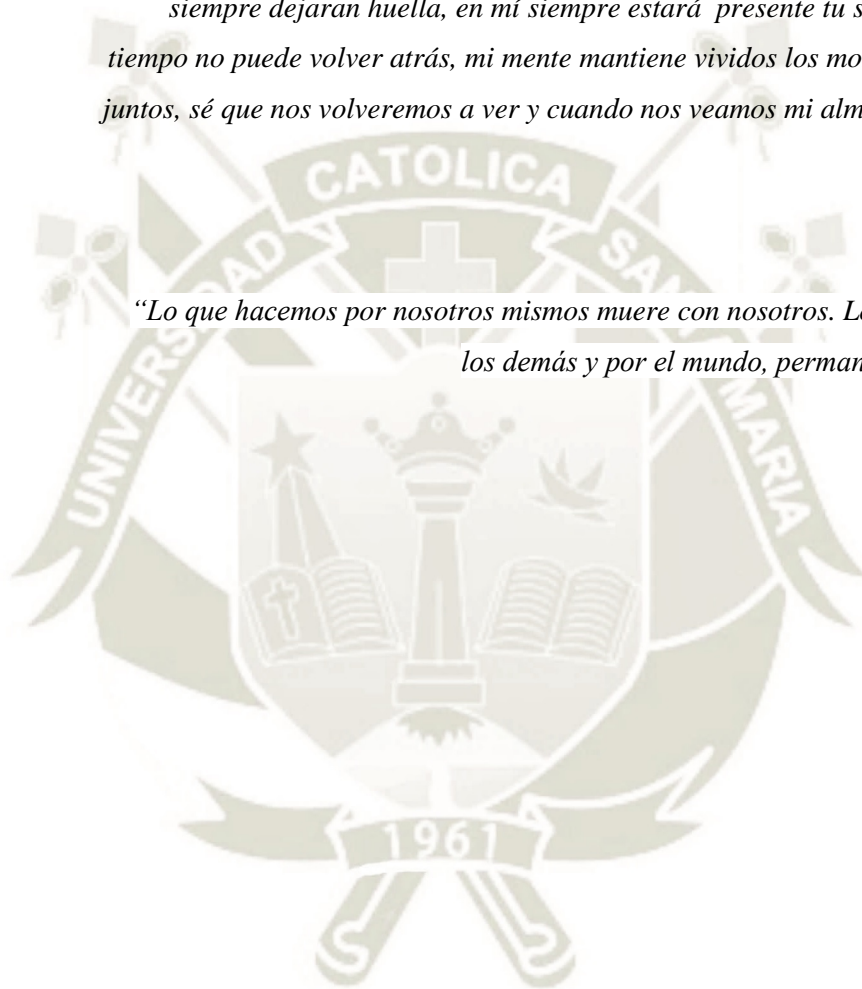
Dedicatorias

A Dios por estar siempre a mi lado y nunca dejarme sola, porque sin él no se llega a nada, no se puede nada y no se vive nada, sin ti a mi lado no sería quien soy y no estaría donde estoy.

A mi hermano, quien me enseñó tanto de tantas cosas, las personas como tú siempre dejarán huella, en mí siempre estará presente tu sonrisa y aunque el tiempo no puede volver atrás, mi mente mantiene vividos los momentos más felices juntos, sé que nos volveremos a ver y cuando nos veamos mi alma estará completa.

“Lo que hacemos por nosotros mismos muere con nosotros. Lo que hacemos por los demás y por el mundo, permanece y es inmortal”

- Albert Pike



Agradecimientos

Agradezco a Dios por ser mi fuerza y guiar mi camino.

A mi mamá, mi ejemplo a seguir y mi más grande orgullo, por apoyarme de manera incondicional, alentarme a ser mejor y alcanzar todo lo que me propongo.

A mi papá, por su amor y preocupación en todo momento.

A mi hermana, quien siempre me anima a embarcarme en nuevos objetivos, por su cariño, alegría y apoyo incondicional.

A mi hermano por todo lo enseñado, espero que desde donde estés me mires con alegría.

A mi enamorado Cesar por su amor y respaldo, incondicional, por impulsarme a alcanzar mis objetivos y hacer de mí una mejor persona.

Al Dr. José Villanueva Salas, por sus consejos y apoyo para culminar este trabajo.

Al Ing. Jaime Barreda del Carpio, por su importante labor como asesor en el presente trabajo, por sus consejos y apoyo incondicional.

A mis amigos, Jimmy y Paulo; por su ayuda para terminar este trabajo y apoyo incondicional.

A mi familia, por siempre estar presente en cada paso.

Al Dr. Fredy Molina y a la Ing. Cinthia por su tiempo y sugerencias, para la culminación de mi tesis.

A Innóvate Perú, por hacerme parte del proyecto de investigación.

ÍNDICE

Dedicatorias.....	iii
Agradecimientos	iv
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN.....	xvii
OBJETIVO	xix
HIPÓTESIS.....	xx
CAPÍTULO I	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Digestión anaerobia	1
Etapas de la digestión anaerobia	1
Hidrólisis	2
Acidogénesis.....	2
Acetogénesis.....	3
Metanogénesis.....	3
1.1.1. Parámetros que influyen en la digestión anaeróbica	4
pH y alcalinidad.....	4
Temperatura	4
Sólidos totales	5
Amonio.	5
1.1.2. Ventajas y desventajas del tratamiento anaerobio	6
Ventajas de tratamiento anaerobio	6
Desventajas del tratamiento anaerobio.....	6
1.2 Microorganismos	6
1.2.1. Bacterias.....	6
1.2.2. Hongos.....	7
1.2.3 Consorcio microbiano.....	7
1.2.4. Microbiología de los procesos anaerobios.....	8
Hidrolíticas.....	9
Acidógenos	9

Metanogénicos	9
1.3 Biogás	9
1.3.1 Principales compuestos de biogás.	9
1.4 Biodegradación.....	10
1.5 Lana de oveja y fibra de alpaca	11
1.5.1. Propiedades químicas	11
Acción del agua en la lana	11
Acción de los álcalis en la lana	11
1.5.2. Propiedades físicas	12
Resistencia.....	12
Extensibilidad	12
1.6 Materias primas potenciales para la producción de biogás.....	13
1.6.1. Materias primas no digeribles.....	13
1.6.2. Desechos ricos en queratina	14
CAPÍTULO II.....	16
MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
2.1 Lugar de Ejecución	16
2.2 Material.....	16
2.2.1. Material Biológico	16
2.2.2. Material de laboratorio.....	17
2.2.3. Material de vidrio.....	17
2.2.4. Reactivos	17
2.2.5. Medios de cultivo.....	18
2.2.6. Equipos.....	18
2.2.7. Otros	18
2.3 Métodos.....	19
2.3.1 Aislamiento de microorganismos nativos de desechos generados en el procesamiento de lana de oveja y fibra de alpaca.	19
Recolección de muestra de los desechos sólidos del procesamiento de fibra de alpaca y lana oveja	19
Preparación de las muestras para la siembra.....	19
Aislamiento y purificación de cepas bacterianas y fúngicas	19

2.3.2. Selección y caracterización macroscópica y microscópica de cepas bacterianas y fúngicas seleccionadas	21
Selección de microorganismos con capacidad de producción de gas	21
Caracterización macroscópica de cepas bacterianas y fúngicas.....	22
Caracterización microscópica de cepas bacterianas y fúngicas.....	22
2.3.3. Caracterización e identificación molecular de especies bacterianas y fúngicas seleccionadas con capacidad de producción de gas	22
Aislamiento de ADN.....	22
Amplificación del gen RNAr 16S para bacterias e ITS para Hongos.	23
Secuenciación de productos de PCR	23
Filogenia molecular	23
Elaboración de curvas de crecimiento de cepas bacterianas.	24
Elaboración de curvas de crecimiento de cepas fúngicas.	24
2.3.4. Análisis de las condiciones iniciales del influente y biomasa procedente del procesamiento de la lana de oveja y fibra de alpaca.....	25
Composición del influente	25
Composición de la biomasa	25
2.3.5. Evaluar la producción y composición de gas con los distintos inóculos utilizando un reactor DAS.....	25
Puesta en marcha de los reactores.....	25
2.3.7. Evaluación de la composición y producción de biogás.	26
CAPÍTULO III	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
3.1 Aislamiento de microorganismos nativos de desechos generados en el procesamiento de lana de oveja y fibra de alpaca.....	27
3.1.1. Aislamiento y purificación de cepas bacterianas y fúngicas	27
3.2 Selección y caracterización macroscópica y microscópica de cepas bacterianas y fúngicas seleccionadas.....	28
3.2.1 Selección de microorganismos con capacidad de producción de gas	28
3.2.2 Caracterización macroscópica de cepas bacterianas y fúngicas.....	29
Caracterización macroscópica de cepas bacterianas	29
Caracterización macroscópica de cepas fúngicas.....	30
3.2.3 Caracterización microscópica de cepas bacterianas.....	31

3.3	Caracterización e identificación molecular de especies bacterianas y fúngicas seleccionadas con capacidad de producción de gas.....	32
3.3.1.	Secuenciación de productos de PCR	32
3.3.2.	Filogenia molecular	32
	Cepa T-1.....	32
	Cepa A-0.....	34
	Cepa A-3.....	35
	Cepa MA-3.....	36
	Cepa MA-4.....	38
	Cepa MC-1.....	39
3.3.3.	Elaboración de curvas de crecimiento de cepas bacterianas.	41
3.3.4.	Elaboración de curvas de crecimiento de cepas fúngicas.	43
3.4	Análisis de las condiciones iniciales del influente y biomasa procedentes del procesamiento de lana de oveja y fibra de alpaca.	45
3.5.1.	Composición del influente	45
3.5.2.	Composición de la biomasa	46
3.5	Evaluar la producción y composición de gas con los distintos inóculos utilizando un reactor DAS	47
3.5.1	Uso de un reactor DAS para el tratamiento biológico de los residuos sólidos textiles y producción de biogás.....	47
3.5.2	Evaluación de la composición de biogás.	48
3.5.3	Evaluación de la producción de biogás.....	52
	CONCLUSIONES	54
	RECOMENDACIONES	55
	BIBLIOGRAFÍA	56
	ANEXOS	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Etapas de la digestión anaerobia	2
Figura 2. Tubos con caldo tioglicolato con crecimiento de cepas.....	20
Figura 3. Placas madre.....	21
Figura 4. Placas con cepas puras.....	21
Figura 5. Bacterias con capacidad de producción de gas	28
Figura 6. Hongos con capacidad de producción de gas	28
Figura 7. Apariencia macroscópica de la cepa T-1.....	29
Figura 8. Apariencia macroscópica de la cepa A-0	29
Figura 9. Apariencia macroscópica de la cepa A-3	29
Figura 10. Apariencia macroscópica de la cepa MA-3.....	30
Figura 11. Apariencia macroscópica de la cepa MA-4.....	30
Figura 12. Apariencia macroscópica de la cepa MC-1.....	30
Figura 13 Apariencia microscópica de la cepa T-1	31
Figura 14 Apariencia macroscópica de la cepa A-0	31
Figura 15 Apariencia macroscópica de la cepa A-3	31
Figura 16. Árbol filogenético de las secuencias parciales del gen del RNAr 16S de la cepa aislada T-1. y las diferentes especies de colección válidamente descritas como similitud.	33
Figura 17. Árbol filogenético de las secuencias parciales del gen del RNAr 16S de la cepa aislada A-0 y las diferentes especies de colección válidamente descritas como similitud	35
Figura 18. Árbol filogenético de las secuencias parciales del gen del RNAr 16S de la cepa aislada A-3 y las diferentes especies de colección válidamente descritas como similitud	35
Figura 19. Árbol filogenético de las secuencias parciales del gen del RNAr 16S de la cepa aislada T-1. y las diferentes especies de colección válidamente descritas como similitud.	38
Figura 20. Árbol filogenético de las secuencias parciales del gen del ITS de la cepa aislada MA-4 y las diferentes especies de colección válidamente descritas como similitud.....	38
Figura 21. Árbol filogenético de las secuencias parciales del gen del ITS de la cepa aislada MC-1 y las diferentes especies de colección válidamente descritas como similitud.....	41
Figura 22. Curva de crecimiento para la cepa T-1.....	41
Figura 23. Curva de crecimiento para la cepa A-0.....	42
Figura 24. Curva de crecimiento para la cepa A-3.....	43
Figura 25. Curva de crecimiento para la cepa MA-3.....	43
Figura 26. Curva de crecimiento para la cepa MA-4.....	44
Figura 27. Curva de crecimiento para la cepa MC-1.....	44
Figura 28. Reactor usado para el tratamiento biológico de residuos sólidos textiles y producción de gas	48
Figura 29. Composición de gas con inóculo de bacterias.....	49
Figura 30. Composición de gas con inóculo de hongos	51
Figura 31. Composición gas consorcio.....	52
Figura 32. Comparación de la producción de gas con diferentes inóculos	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ventajas del tratamiento anaerobio.....	6
Tabla 2. Ventajas del tratamiento anaerobio.....	6
Tabla 3. Descripción macroscópica de cepas bacterianas	29
Tabla 4. Descripción macroscópica de cepas fúngicas	30
Tabla 5. Descripción microscópica de cepas bacterianas	31
Tabla 6. Bacterias con mayor similitud con la cepa aislada. T-1	33
Tabla 7. Bacterias con mayor similitud con la cepa aislada A-0.....	34
Tabla 8. Bacterias con mayor similitud con la cepa aislada A-3.....	36
Tabla 9. Hongos con mayor similitud con la cepa aislada MA-3	37
Tabla 10. Hongos con mayor similitud con la cepa aislada MA-4	39
Tabla 11. Hongos con mayor similitud en la cepa aislada MC-1	40
Tabla 12. Relación de inhibidores de tipo químico y concentración límite inhibitoria para la producción de biogás y metano	45
Tabla 13. Parámetros iniciales del influente (agua residual).....	46
Tabla 14. Análisis de biomasa inicial.....	46
Tabla 15. Promedio de las tres repeticiones de composición de gas con inóculo de bacterias.....	49
Tabla 16. Promedio de las tres repeticiones de composición de gas con inóculo de hongos	50
Tabla 17. Promedio de las tres repeticiones de composición de gas con inóculo de consorcio	51
Tabla 18. Promedio de las tres repeticiones de producción de gas	53

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Plano de ubicación de la planta IV de la empresa de Inca Tops S.A...	66
Anexo 2. Caldo tioglicolato.	67
Anexo 3. Agar sangre	68
Anexo 4. Agar Sabouraud.....	69
Anexo 5. Caldo papa dextrosa	70
Anexo 6. Tabla de producción de gas, evidenciado por ruptura o desplazamiento de medio	71
Anexo 7. Panel fotográfico de identificación de cepas con capacidad de producción de gas.....	73
Anexo 8. Secuencia de cepas con capacidad de producción de gas.....	74
Anexo 9. Tabla de datos para elaborar curva de crecimiento de la cepa: T-1....	78
Anexo 10. Tabla de datos para elaborar curva de crecimiento de la cepa: A-0 .	79
Anexo 11. Tabla de datos para elaborar curva de crecimiento de la cepa: A-3 .	80
Anexo 12. Tabla de datos para elaborar curva de crecimiento de la cepa MA-381	
Anexo 13. Tabla de datos para elaborar curva de crecimiento de la cepa MA-482	
Anexo 14. Tabla de datos para elaborar curva de crecimiento de la cepa MC-183	
Anexo 15. Análisis inicial del influente (agua residual de la empresa inca tops)	84
Anexo 16. Análisis de las condiciones de la biomasa	91
Anexo 17. Producción de gas: Bacterias.....	92
Anexo 18. Producción de gas: Hongos	93
Anexo 19. Producción de gas: Consorcio	94
Anexo 20. Panel fotográfico de producción de gas en reactor (DAS)	95

Lista de abreviaturas

AGV : Acidos grasos volatiles

CH₄ : Metano

CO₂ : Dioxido de carbono

DA: Digestión Anaerobia

H₂S : Ácido sulfhídrico

ST: Sólidos totales





RESUMEN

El uso de reactores anaerobios secos para la producción de biogás es una tecnología cada vez más atractiva al tratar residuos sólidos de diversa procedencia, con bajo requerimiento de agua.

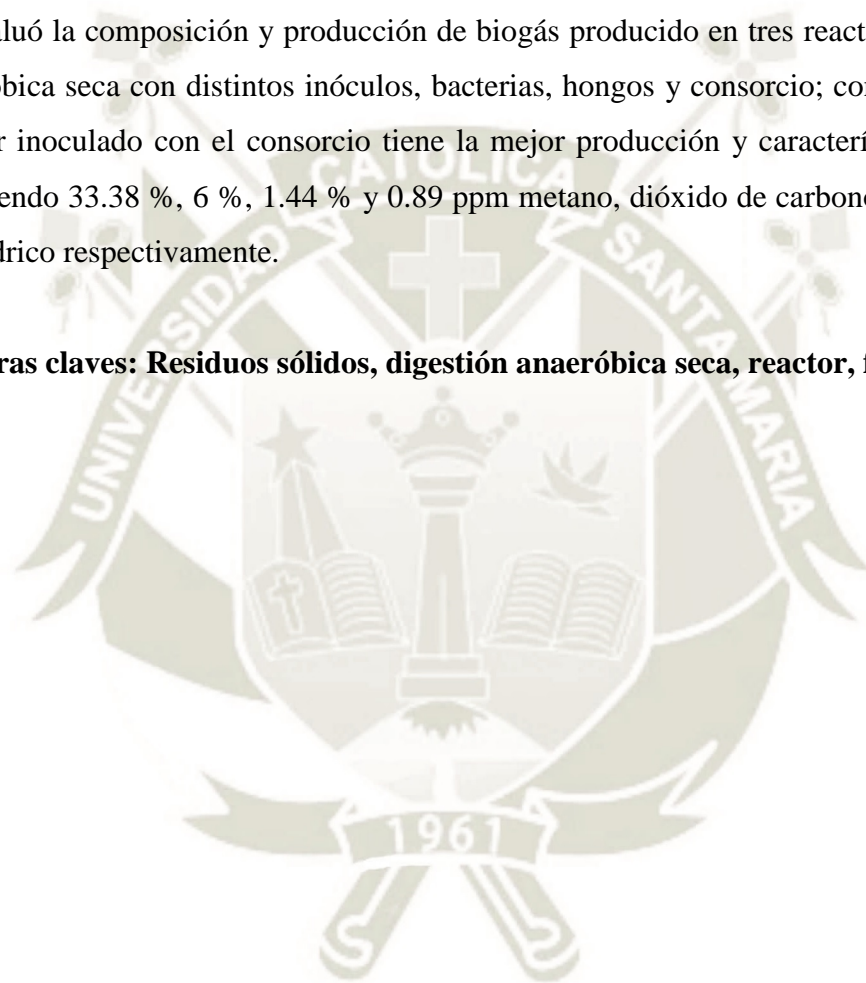
La presente investigación tuvo como objetivo el aislamiento, la caracterización e identificación de cepas nativas, a partir de residuos generados en el procesamiento de lana de oveja y fibra de alpaca para la producción de biogás en un reactor de digestión anaeróbica seca (DAS) para la degradación de residuos sólidos procedentes de la industria textil. La investigación se realizó en las instalaciones de la Universidad Católica de Santa María y la planta IV de la empresa Inca Tops S.A. y fue financiada por Innóvate Perú.

Se aislaron 52 cepas bacterianas y 15 cepas fúngicas en condiciones de anaerobiosis a partir de muestras de los desechos sólidos generados en el procesamiento de fibra de alpaca y lana de oveja de la empresa Inca Tops. Para determinar la capacidad de producción de gas, cada una de las cepas fueron sembradas por punción en agar Sabouraud y caldo tioglicolato

complementado con agar agar; la producción de gas se evidenció por la ruptura y/o desplazamiento del medio dentro del tubo, dando como resultado la selección de 3 cepas bacterianas y 3 cepas fúngicas, estas se caracterizaron e identificaron molecularmente: *T-1 Pseudomona aeruginosa*; *A-0 puede ser una nueva especie de Proteus vulgaris*; *A-3 puede ser una nueva especie de Alcaligenes sp*; *MC-1 Fusarium sp*; *MA-3 Fusarium oxyporum*; *MA-4 Monascus ruber*.

Se evaluó la composición y producción de biogás producido en tres reactores de digestión anaeróbica seca con distintos inóculos, bacterias, hongos y consorcio; concluyendo que el reactor inoculado con el consorcio tiene la mejor producción y características del biogás obteniendo 33.38 %, 6 %, 1.44 % y 0.89 ppm metano, dióxido de carbono, oxígeno, ácido sulfhídrico respectivamente.

Palabras claves: Residuos sólidos, digestión anaeróbica seca, reactor, fungicas, biogás





ABSTRACT

The use of dry anaerobic reactors for the production of biogas is an increasingly attractive technology when treating solid waste from different sources, with low water requirements.

The objective of the present investigation was the isolation, characterization and identification of native strains, from residues generated in the processing of sheep wool and alpaca fiber for the production of biogas in a dry anaerobic digestion reactor (DAS) for the degradation of solid waste from the textile industry. The research was carried out in the facilities of the Catholic University of Santa María and the IV plant of the company Inca Tops S.A. and it was financed by Innovate Peru.

52 bacterial strains and 15 fungal strains were isolated in anaerobic conditions from samples of the solid waste generated in the processing of alpaca fiber and sheep wool from the company Inca Tops. To determine the gas production capacity, each of the strains were seeded by puncture on sabouraud agar and thioglycolate broth supplemented with agar agar; the gas production was evidenced by the rupture and / or displacement of the medium inside the tube, resulting in the selection of 3 bacterial strains and 3 fungal strains, these were

characterized and identified molecularly: *T-1 Pseudomonas aeruginosa*; *A-0* can be a new species of *Proteus vulgaris*; *A-3* can be a new species of *Alcaligenes sp*; *MC-1 Fusarium sp*; *MA-3 Fusarium oxyporum*; *MA-4 Monascus ruber*.

The composition and production of biogas produced in three reactors of dry anaerobic digestion with different inocula, bacteria, fungi and consortium was evaluated; concluding that the reactor inoculated with the consortium has the best biogas production and characteristics obtaining 33.38 %, 6 %, 1.44 % and 0.89 ppm methane, carbon dioxide, oxygen, hydrogen sulfide respectively.

Keywords: Solid waste, dry anaerobic digestion, reactor, fungic, biogas



INTRODUCCIÓN

Actualmente la población está creciendo rápidamente y esto ha provocado un rápido consumo de los recursos petroleros y un tremendo aumento en el volumen de desechos generados, así como un aumento inesperado de la demanda de energía¹. A nivel mundial, alrededor de 17 mil millones de toneladas de desechos sólidos totales se generan por año y se estima que la cantidad alcanzará los 27 mil millones de toneladas en 2050². Las emisiones continuas de dióxido de carbono, metano y otros gases de efecto invernadero provenientes de estos flujos de desechos y la quema de combustibles fósiles han llevado a una crisis ambiental global. Además, aproximadamente el 16 % de la población mundial no tiene acceso a la electricidad y el 38 % de la población utiliza residuos sólidos (residuos forestales, estiércol, residuos de cultivos y otros residuos) para calefacción y cocción de manera deficiente en zonas ventiladas³, lo que deriva en peligros para el medio ambiente y la salud. La preocupación sobre los daños ambientales y la inseguridad energética han aumentado la necesidad de investigación sobre la generación de energía a partir de fuentes renovables. Los desechos sólidos subvaluados y abundantes que se generan tienen un gran potencial como fuentes de biomasa para la producción de energía si se aprovechan adecuadamente y podrían dar lugar a una menor contaminación ambiental y una mayor producción de energía renovable².

El tratamiento de los residuos sólidos mediante la digestión anaeróbica puede resolver los problemas ambientales causados por estos y también suministrar biogás como energía renovable para un desarrollo sostenible¹.

La producción de biogás a través de la digestión anaeróbica es una manera eficaz de administrar el gran volumen de residuos orgánicos generados, este es un proceso bien establecido y sostenible para la generación de energía a partir de desechos orgánicos. Además del biogás producido para la generación de energía y el residuo de la digestión se puede utilizar como biofertilizante. La digestión anaerobia de desechos orgánicos para la producción de biogás generalmente se realiza a través de procesos de digestión húmedos (contenido de sólidos totales <15 %) y secos. (ST > 15 %)¹.

En la industria, el proceso más común es la producción de biogás a partir de desechos con alto contenido de agua; sin embargo, la utilización de desechos sólidos de las actividades

agrícolas, municipales e industriales, también es cada vez más importante. Los residuos sólidos suelen tener un contenido sólido de entre el 15 % y el 50 % y el tratamiento convencional de digestión anaerobia húmeda de este tipo de desechos requiere mucha agua. Por lo tanto, utilizar la tecnología *dry-AD* por sus siglas en inglés o *digestion anaeróbica seca (DAS)* para el procesamiento de desechos y producción de biogás es una mejor opción que permite gestionar los flujos de desechos con bajo contenido de humedad³.

La producción de biogás a través de la tecnología de digestión anaeróbica seca ha avanzado enormemente a lo largo de los años y se enfoca cada vez más en la utilización de materia prima de fácil acceso para una mejor producción de biogás. En este sentido, se encuentra gran potencial en la producción de biogás a partir de diversas materias primas como residuos de cultivos, residuos de ganado, residuos municipales, residuos de desechos de alimentos, biomasa acuática, residuos de queratina y materias primas lignocelulósicas debido a su disponibilidad y abundancia⁴.

Teóricamente, el biogás se puede producir a partir de la fracción orgánica de cualquier material, como madera, residuos de cultivos, lana textil, plumas de pollo, residuos lignocelulósicos, residuos de alimentos industriales, residuos de frutas, etc. Sin embargo, en la actualidad, el biogás se produce normalmente solo a partir de materias primas que son fácilmente utilizables por la comunidad microbiana⁴, teniendo en cuenta esto, es importante el estudio y uso de materias primas que estén fácilmente disponibles aunque no sean fácilmente degradables de manera que permitan el aumento en la producción de biogás al no tener una limitante en la abundancia y ser de bajo costo.

Por tal, la presente investigación para el ejercicio profesional, tiene como objetivo principal producir biogás con potencial energético utilizando biomasa procedente de la industria textil Inca Tops S.A. mediante biorreactor anaerobio seco y con esto aportar al desarrollo tecnológico regional y nacional.



OBJETIVO

General

Aislar, caracterizar e identificar cepas nativas de residuos generados en el procesamiento de lana de oveja y fibra de alpaca para la producción de biogás en reactor de digestión anaeróbica seca (DAS).

Específicos

1. Aislar microorganismos nativos de desechos generados en el procesamiento de fibra de alpaca y lana de oveja.
2. Seleccionar y caracterizar macroscópicamente y microscópicamente cepas con capacidad de producción de gas.
3. Caracterizar e identificar molecular las especies bacterianas y fúngicas seleccionadas con capacidad de producción de biogás.
4. Analizar las condiciones iniciales del influente y biomasa procedente del procesamiento de la lana de oveja y fibra de alpaca.
5. Evaluar la producción y composición de gas con los distintos inóculos utilizando un reactor DAS.

HIPÓTESIS

Si los desechos digestados en reactores anaerobios generan gases de combustión, entonces es probable que a partir del uso de cepas productoras de gas para el procesamiento de fibra de alpaca y lana de oveja dentro de un reactor DAS se pueda obtener gases de combustión y conseguir una degradación parcial de los desechos.



CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO

1.1 Digestión anaerobia

La digestión anaeróbica da como resultado la producción de biogás, proceso natural que conduce la conversión biológica de carbono orgánico en CO_2 y CH_4 , en condiciones anaeróbicas⁵. La digestión anaerobia es un proceso natural, selectivo increíble porque permite reducir una gran variedad de diferentes sustratos orgánicos en una molécula muy útil (es decir, metano)⁶. En la naturaleza, este proceso se ha observado en humedales, campos de arroz, pero también en los intestinos de varios animales⁵

Etapas de la digestión anaerobia

La digestión anaeróbica (DA), es una secuencia de procesos bioquímicos en la que los microorganismos descomponen la materia orgánica sólida o soluble en ausencia de oxígeno a biogás^{7,8}.

La transformación biológica de la materia orgánica en metano se da en 4 etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis como se muestra en la Fig. 1.

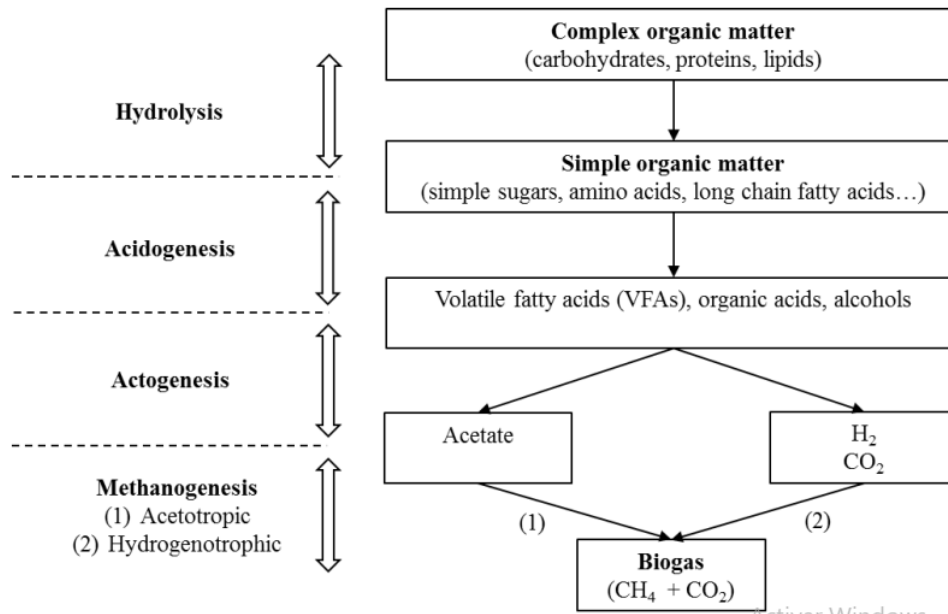


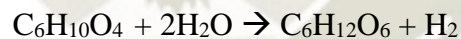
Figura 1. Etapas de la digestión anaerobia⁹

Hidrólisis

La hidrólisis es la etapa en la que la materia orgánica, compuesto por carbohidratos (celulosa, hemicelulosa, almidón, lignina, etc.), proteínas y lípidos se convierten en monómeros solubles y más simples como: azúcares, aminoácidos y ácidos grasos¹⁰.

Una fórmula química aproximada para la mezcla de residuos orgánicos es $C_6H_{10}O_4$.

Y la reacción de hidrólisis se puede escribir como¹¹:



Las bacterias involucradas en esta reacción se llaman hidrolíticas, estas bacterias son un grupo muy heterogéneo de microorganismos que pueden ser tanto anaerobios estrictos como anaerobios facultativos. La hidrólisis normalmente es catalizada por enzimas extracelulares (por ejemplo, proteasa o celulasa)⁵.

Acidogénesis

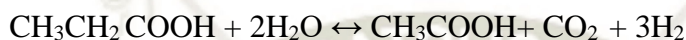
Los compuestos orgánicos hidrolizados (azúcares monoméricos, aminoácidos y ácidos grasos) son utilizados por las bacterias acidogénicas o formadoras de ácido para su crecimiento y acumulan ácidos grasos volátiles como el ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico y ácido valérico junto con dióxido de carbono, agua e hidrógeno, llamado acidogénesis. Una de las propiedades más sorprendentes de las bacterias acidogénicas es su

rápido crecimiento, ya que su tiempo de duplicación se estima en 30 minutos¹². La acumulación de ácidos grasos volátiles se puede escribir como¹¹:



Acetogénesis

Los acetógenos permiten convertir todos los AGV, ácidos orgánicos y alcoholes en acetato y H₂ y CO₂. La tasa de crecimiento es ligeramente más alta que la de los metanógenos, y se estima entre 1.5 y 4 días¹². La reacción de la acetogénesis se puede escribir como:

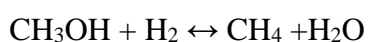
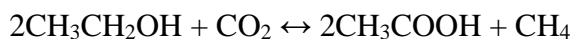


Metanogénesis

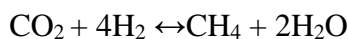
Finalmente, los metanógenos utilizan ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono y forman gas metano, esta etapa es llamada metanogénesis. El metano se produce a partir de una serie de sustancias simples: ácido acético, etanol, metanol o dióxido de carbono e hidrógeno.

Se conocen 2 procesos para la formación de metano, el proceso en que los metanógenos, que utilizan ácido acético, etanol y metanol es conocido como metanogénesis acetoclástica, mientras que el hidrógeno y el dióxido de carbono que utilizan metanógenos, se conocen como metanogénesis hidrogenotrófica¹². Los metanógenos también crecen lentamente con un tiempo de duplicación de 2 a 4 días¹¹. Además descubrieron estequiométricamente que aproximadamente el 70 % del metano se produce a través de la vía del acetato. Las reacciones de metanogénesis pueden escribirse como:

Metanogénesis acetoclástica



Metanogénesis hidrogenotrófica



1.1.1. Parámetros que influyen en la digestión anaeróbica

El proceso anaeróbico es un proceso complejo en el que se desarrollan sustancias químicas, físicas y biológicas, los parámetros tienen una gran influencia dentro de un reactor es por eso que es importante conocer sus efectos y relaciones.

pH y alcalinidad

El pH o la concentración de iones de hidrógeno en la fase líquida, es un parámetro primordial en el proceso de la digestión anaerobia, la sensibilidad a este parámetro se debe principalmente a la coexistencia de cuatro diferentes etapas desarrolladas en un solo contenedor; cada etapa tiene su propio pH óptimo como: la hidrólisis pH 5.5 y la acetogénesis pH 6.5¹² mientras que el pH 7 (neutro) es óptimo para la acetogénesis¹³ y para la metanogénesis¹² se informaron diferentes rangos óptimos de pH que se encuentran comúnmente entre pH 6.5 y 8.5¹⁴. Además un pH adecuado para el funcionamiento del sistema una vez lograda la estabilización del bioproceso fermentativo el pH debe mantenerse entre 7–8.5.

Temperatura

En la naturaleza, el metano se forma en un amplio rango de temperatura de 0 °C (campos de hielo) a 97 °C (aguas termales)¹⁵. Sin embargo, se identificaron tres rangos de temperatura óptima en DA: psicrófilico (10 °C a 20 °C), mesófilico (20 °C a 45 °C) y termófilico (50 °C a 65 °C)¹². Las condiciones psicrófilicas están poco estudiadas hasta ahora y las aplicaciones a menudo se limitan a zonas específicas con clima frío. Debido a su cinética realmente lenta, los reactores psicrófilicos a menudo necesitan ser inoculados masivamente^{16,17}.

En consecuencia los reactores más empleados se ejecutan bajo condiciones mesófilicas¹² ya que permiten tener una buena cinética de degradación y sus requisitos de energía se cubren fácilmente; por otro lado, temperaturas termófilicas en los reactores presenta ventajas interesantes en relación con la cinética y la consiguiente reducción del tiempo de digestión en varios sustratos^{18–20}. Además, esto permite reducir significativamente la cantidad de patógenos en el digestado^{21, 22}, esto es de gran importancia en contextos particulares donde el sustrato está biológicamente contaminado. Sin embargo, algunos inconvenientes están relacionados con los procesos termófilos. La mayor cinética puede causar una rápida hidrólisis y acidogénesis que conduce a una acumulación de AGV en el sistema lo que podría ocasionar fallas, cabe mencionar que los procesos termófilicos son más sensibles a los cambios ambientales debido a las poblaciones restringidas de microorganismos en

comparación a los procesos mesofílicos²³. Por otro lado, se ha registrado sensibilidad a sustratos ricos en lípidos en microorganismos termofílicos ya que estos son inhibidos por la alta concentración de ácidos grasos de cadena larga²⁴.

Sólidos totales

En el proceso de digestión anaerobia la cantidad de agua es un parámetro importante ya que si se trabaja con un alto contenido de sólidos totales, la deficiencia de agua limita mucho la actividad y movilidad de los microorganismos, dilución de coproductos, así como la difusión y transferencia de compuestos solubles²⁵⁻²⁷. Es así que, las producciones de metano más bajas fueron reportadas por Abbassi Guendouz²⁵ y Hyaric²⁸. Aumentar los sólidos totales en los digestores. Se encontró que el 30 % de sólidos totales era un umbral crítico por encima del cual el rendimiento se reduce significativamente²⁵. Se encontró que un alto contenido de sólidos totales en el digestor causa una mayor acumulación de compuestos intermedios, como los AGV²⁹ que causan, indirectamente, una inhibición del proceso.

Finalmente, el bajo contenido de sólidos totales en el proceso de digestión anaerobia seca modifica el modo del crecimiento de los microorganismos; el alto contenido de sólidos totales, a menudo vinculado a la falta de libre agua, lo que dificulta el desarrollo de microorganismos libres y favorece el desarrollo de biopelículas sobre el sustrato³⁰. En sistema seco, el sustrato jugaría el papel de fuente de energía y apoyo a la biomasa, que parece una estrategia ventajosa ya que el uso del material orgánico como material de soporte para el crecimiento bacteriano aumenta significativamente la producción de metano³¹.

Amonio.

Durante el rompimiento de proteínas se acumula el amoníaco (NH_3) y amonio (NH_4^+), este es el principal inhibidor de los procesos de D.A. Concentraciones cerca de 1700-1800 mg/L pueden inhibir inóculos sin aclimatar, en cambio los inóculos aclimatados pueden tolerar niveles de hasta 5000 mg/L³². La estructura de las comunidades microbianas son más estables a los cambios de temperatura ya que como se ha mostrado un cambio de temperatura de mesofílica a termofílica (o viceversa) puede resultar en una disminución marcada en la producción de biogás. Incluso pequeños cambios en temperatura, de 35°C a 30°C y de 30°C a 32°C han mostrado reducir la velocidad de producción de biogás³³.

1.1.2. Ventajas y desventajas del tratamiento anaerobio

Ventajas de tratamiento anaerobio

El uso de este tipo de reactores el aspecto económico se ve beneficiado grandemente así por ejemplo en la construcción al no ser completa los costos son menores, en temas de operación y mantenimiento también presenta costos relativamente bajos. En cuanto a la disposición de lodos provenientes del reactor al no requerir muchos tratamientos el costo es mínimo³⁴. Además de tener estas ventajas por ser un sistema anaerobio cuenta con otras ventajas como se puede observar en la Tabla 1³⁴.

Tabla 1. Ventajas del tratamiento anaerobio³⁴

Ventajas
- Simplicidad, la construcción y operación de estos reactores es simple
- Bajos requerimiento de espacio
- Flexibilidad, el tratamiento anaerobio puede ser fácilmente aplicado a mini escala y a gran escala
- Alta eficiencia en la eliminación de carga orgánica

Desventajas del tratamiento anaerobio

El Instituto Federal Suizo de Ciencias y Tecnología Acuáticas³⁵ hace referencia que se convierte en un tratamiento inestable al tener cargas orgánicas variables durante la operación, además se menciona que no son aptos para regiones con temperaturas extremadamente frías. Además de esta desventaja el sistema anaerobio cuenta con otras desventajas como se observa en la Tabla 2³⁵.

Tabla 2. Ventajas del tratamiento anaerobio³⁵

Desventajas
- Periodo de inicio largo debido a la velocidad de crecimiento de organismos metanogénicos
- Necesidad de un pos tratamiento
- El tiempo de retención de la materia orgánica es muy largo

1.2 Microorganismos

1.2.1. Bacterias

Las bacterias son organismos unicelulares procariontes, esto quiere decir que están formados por una sola célula carente de núcleo. Su ácido desoxirribonucleico (ADN) se encuentra libre en el citoplasma y no tienen organelos, como las mitocondrias, cloroplastos o aparato

de Golgi. A pesar de su sencilla organización celular, cuentan con una pared celular (capa de polisacáridos) que envuelve la célula proporcionándole rigidez y protección.

Son tan pequeñas que es imposible verlas a simple vista, solamente cuando llegan a agruparse formando colonias es cuando las podemos reconocer. Además de contar con una pared celular, cuando las condiciones ambientales se tornan hostiles muchas bacterias forman en su interior estructuras de protección llamadas endosporas, las cuales contienen el material genético y las sustancias necesarias para poder sobrevivir. Algunas son tan resistentes que permiten a la bacteria sobrevivir a altas temperaturas e incluso a largos periodos de tiempo³⁶.

Las bacterias anaerobias cuentan con un metabolismo que genera su energía a partir de sustancias que carecen de oxígeno, lo hacen generalmente a través de procesos de fermentación, aunque en ocasiones, como en el caso de las que se encuentran en grietas hidrotermales marinas a grandes profundidades, que lo hacen mediante reacciones que emplean compuestos químicos inorgánicos³⁷.

1.2.2. Hongos

Los hongos, por su capacidad hidrolítica y por su distribución, son los organismos lignocelulolíticos por excelencia. Secretan enzimas extracelulares que actúan sinérgicamente en la degradación de estos materiales e incorporan moléculas pequeñas que utilizan como fuente de materia y energía para su crecimiento. *P. ostreatus* degrada lignina de manera oxidativa, involucra enzimas como la lignina peroxidasa, manganoso peroxidasa y lacasas³⁸. El uso potencial biotecnológico y en aplicaciones medioambientales de los hongos de podredumbre blanca (*Pleurotus* sp) para la biodegradación de la lignina se ha discutido ampliamente³⁹, evaluó hongos de pudrición blanca (*Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Ceriporiopsis subvermispora*, y *Pleurotus ostreatus*) como pretratamiento de la paja de arroz para mejorar las condiciones de los sustratos en producción de biogás⁴⁰.

1.2.3 Consorcio microbiano

Los consorcios microbianos son de naturaleza ubicua y están implicados en procesos de gran importancia para los humanos, desde la remediación ambiental y el tratamiento de aguas residuales hasta la asistencia en la digestión de alimentos⁴¹; son asociaciones naturales de dos o más especies que actúan como una comunidad, son sistemas naturales en los que

microorganismos de distintas especies, a menudo de distintos géneros, coexisten espacialmente y cooperan, posibilitando así la supervivencia de todos ellos⁴¹.

Las poblaciones mixtas pueden realizar funciones que son difíciles o incluso imposibles para cepas o especies individuales. Equilibrar dos o más tareas para que se completen de manera eficiente dentro de un organismo puede plantear desafíos insuperables en algunas situaciones⁴¹.

La ventaja de los consorcios frente a los aislamientos de cepas individuales se atribuye a las características de comunicación y cooperación que se pueden dar entre los miembros de un consorcio, permitiéndoles soportar fluctuaciones del medio ambiente, así como dividir el trabajo para el aprovechamiento de las diferentes habilidades metabólicas dadas por la biodiversidad que estos presentan⁴².

1.2.4. Microbiología de los procesos anaerobios.

La comprensión de las interacciones complejas de microorganismos involucrados en la DA es de interés para mejorar el control de los procesos⁴³. De acuerdo al sustrato utilizado, los microorganismos se pueden clasificar en autótrofos y heterótrofos. Los heterótrofos utilizan la materia orgánica como fuente de energía y de carbono para la síntesis de nuevos microorganismos, mientras que los autótrofos oxidan compuestos inorgánicos para la obtención de energía utilizando el CO₂ como fuente carbonada⁴⁴.

La conversión anaerobia de complejos orgánicos en dióxido de carbono y metano requiere de la actividad coordinada de diferentes grupos tróficos de poblaciones bacterianas. Tradicionalmente la degradación anaeróbica ha sido considerada como un proceso que acepta la existencia de tres grandes grupos bacterianos: las bacterias formadoras de ácidos (ó acidogénicas), las formadoras de acetatos (o acetogénicas) y finalmente las formadoras de metano (o metanogénicas).

Cuatro grupos principales están involucrados en un proceso de D.A. Estos grupos son bacteria fermentativa-hidrolítica, bacterias acetogénicas reductoras de protón, metanógenos hidrogenotróficos y metanógenos acetoclásicos³².

A continuación se describen los grupos principales que intervienen en los procesos anaerobios:

Hidrolíticas

Los principales géneros que hacen parte de los microorganismos hidrolíticos se encuentran: *Clostridium*, *acetovibrio*, *micrococcus*, *staphylococcus* y *bacillus*⁴⁵.

Acidógenos

La población acidogénica es la más grande, consiste en cerca del 90 % de la población total de un digestor, algunos de los microorganismos presentes dentro de este grupo son: *Acinetobacter*, *Lwoffii*, *Acinetobacter sp*, *Actinomyces sp*, *Alcaligenes*, *Pasteurella sp*, *Staphylococcus hominis*, *Bacillus*, y *Klebsiella oxytoca*, *clostridium spp*, *peptococcus*, *Bifidobacterium*, *Delsulphovibrio spp*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* y *Escherichia coli*⁴⁶.

Metanogénicos

Son taxonómicamente y filogenéticamente grupos de microorganismos que requieren energía para el crecimiento en las reacciones que originan metano. Sin los metanógenos, la degradación efectiva de materia orgánica podría disminuir debido a la acumulación de productos no gaseosos de fermentación, los cuales tienen casi la misma energía contenida en el sustrato original⁴⁷.

Algunos de los metanógenos incluyen miembros del género: *Methanosarcina* y *Methanosaeta*. *Methanobacterium*, *Methanobacillus* y *Methanococcus*⁴⁷, *Methanosarcinales*, *Methanomicrobiales*, *Methanobacteriales*, *Methanococcales* y *Methanopyrales*⁴⁸. Estos microorganismos tienen crecimiento lento, por lo tanto su metabolismo es considerado como paso limitante en el tratamiento anaeróbico⁴⁸.

1.3 Biogás

1.3.1 Principales compuestos de biogás.

El biogás de los digestores de aguas residuales generalmente contiene de 55 a 65 % de metano, de 35 a 45 % de dióxido de carbono y < 1 % de nitrógeno, biogás de digestores de residuos orgánicos por lo general contiene de 60 a 70 % de metano, 30 a 40 % de dióxido de carbono y < 1 % nitrógeno, mientras que en los vertederos el contenido de metano suele ser de 45 a 55 %, el carbono dióxido de 30 a 40 % y nitrógeno de 5 a 15 %⁴⁹.

La producción de biogás forma parte del conjunto de energías limpias que parcialmente pueden ayudar a reemplazar el uso de combustibles fósiles y reducir el impacto ambiental partiendo de recursos renovables⁵⁰. El potencial de producción de biogás podría reemplazar en un 20-30 % el consumo total de gas natural. El contenido de metano del biogás otorga el valor combustible al gas, típicamente la digestión anaerobia de sólidos orgánicos biodegradables, contiene aproximadamente 60-65 % de metano⁵⁰.

Por otra parte, los residuos resultantes de la digestión anaeróbica son ricos en nutrientes (N y P) y pueden ser aplicados como fertilizantes reduciendo el uso de químicos. La biotecnología anaeróbica ha sido reportada como una alternativa sostenible por el volumen de los residuos orgánicos que utiliza, reduce y estabiliza⁴⁸. Se utilizan distintos materiales orgánicos, y residuos de la agroindustria, algunos son resistentes a la digestión anaeróbica como es el caso de los sustratos lignocelulósicos, que están compuestos por una compleja y rígida matriz, muy resistente al ataque enzimático. Celulosa y hemicelulosa pueden ser degradadas en el proceso de digestión anaeróbica, no así la lignina⁴⁹.

La producción de biogás a partir de biomasa lignocelulósica se basa en la despolimerización de estos materiales en azúcares fermentables. Reducir su tamaño, alterarlos química o físicamente para mejorar la susceptibilidad de sus enlaces glucosídicos a la escisión ácida o enzimática, son métodos utilizados como pretratamientos⁵¹. El ensilaje y la preservación alcalina de materiales de cultivos frescos, como el maíz, resultan métodos útiles de pretratamiento para la producción de metano⁵². Actualmente se están investigando tratamientos biológicos con microorganismos o enzimas como mejoradores del proceso de digestión, no solo por la remoción de la lignina sino también por la remoción de componentes específicos como sustancias antimicrobianas. La degradación biológica de polímeros lignocelulósicos es llevada a cabo por diversas enzimas (amilasa, celulasa, proteasa, lipasa) que mejoran su biodigestibilidad en la producción de biogás⁵².

1.4 Biodegradación

La degradación anaerobia de materia orgánica compleja, a sido descrita como un proceso de series de varios pasos y reacciones paralelas en las que varios grupos clave de las bacterias participan⁵³. La hidrólisis es normalmente limitante de la velocidad si el sustrato está en forma de partículas.

La cinética de primer orden de la degradación del sustrato es el tipo más simple y ha sido utilizado con éxito para una descripción de la hidrólisis. La hidrólisis de primer orden. La función es una expresión empírica que refleja los efectos acumulativos de muchos procesos. Partículas grandes con una baja relación superficie-volumen se hidrolizan más lentamente que las pequeñas partículas⁵⁴

1.5 Lana de oveja y fibra de alpaca

La lana es un pelo, en general suave y rizado, que en forma de vellón recubre el cuerpo de los carneros y ovejas. Está formada a base de la proteína llamada queratina, en torno al 20-25 % de proporción total. Cada pelo es segregado en un folículo piloso y consta de una cubierta externa escamosa (lo que provoca el enfiltrado) que repele el agua, una porción cortical y otra medular (que absorbe la humedad). Varía entre 12 y 120 micras de diámetro, según la raza del animal productor y la región de su cuerpo, y entre 20 y 350 mm de longitud.

1.5.1. Propiedades químicas

Acción del agua en la lana

Los enlaces iónicos entre los grupos terminales de aminoácidos ácidos (COO^-) y básicos (NH_3^+) de las cadenas laterales contribuyen, junto con los enlaces de hidrógeno, a estabilizar la estructura de la queratina seca, mientras que ambos tipos de enlace se van rompiendo a medida que la queratina absorbe agua (hasta un 34% de su peso en seco). Los enlaces disulfuro no se ven afectados por la presencia de agua, mientras que los enlaces hidrofóbicos entre cadenas apolares tienen lugar, únicamente en presencia de un elevado contenido en agua⁵⁵.

La fibra se vuelve más susceptible al daño químico en medio acuoso, debido a que las cadenas proteicas pueden ser ionizadas y atraer pequeñas moléculas de ácidos y álcalis. Las condiciones alcalinas son más dañinas que las condiciones ácidas. Dado que las lanas bien lavadas en un medio alcalino débil poseen un pH de extracto acuoso entre 9 y 10, y que la temperatura no suele superior a 50°C, durante esta operación no se puede producir una alteración significativa de la fibra.

Acción de los álcalis en la lana

Los álcalis actúan principalmente sobre la queratina hidrolizando la cadena polipeptídica, atacando algún resto aminoácido y creando nuevos enlaces transversales⁵⁶. Las proteínas

que contienen cistina son especialmente sensibles, debido a la reacción de los enlaces disulfuro con el álcali⁵⁷. Cuando la lana es atacada por los álcalis se produce una pérdida de resistencia, su color tiende a amarillear, el tacto es más áspero, depreciándose su calidad comercial. Por ello, en todos los procesos en medio alcalino, las condiciones deben ser controladas para evitar un ataque de la fibra fuera de los límites aceptados⁵⁸.

1.5.2. Propiedades físicas

Las propiedades físicas de las fibras queratínicas dependen de forma marcada de su contenido de agua absorbida, lo que se cumple tanto para la cutícula como para el resto de la fibra. El agua actúa como plastificante, puesto que reduce las interacciones entre grupos ácidos y básicos por ruptura de puentes de hidrógeno, reblandeciendo por tanto la queratina. De todos modos, los enlaces disulfuro previenen la disolución de la fibra y limitan mucho su reblandecimiento⁵⁹.

Resistencia

Es el esfuerzo de tracción que es capaz de soportar una fibra o un haz de fibras de lana. Está correlaciona positivamente con el espesor y depende del grado de humedad de la lana. La pérdida de resistencia con la humedad se acentúa más en las lanas finas que en las bastas⁵⁹.

Extensibilidad

Es la capacidad que tiene la lana de poder estirarse antes de producirse la ruptura. La humedad puede aumentar la extensibilidad de la fibra hasta un 40-80 %⁵⁹.

Elasticidad

Es la capacidad que tiene la lana de regresar a su longitud inicial después de haber sido estirada. La fibra de lana es elástica debido a su estructura helicoidal. Si estiramos la fibra por encima de su límite de elasticidad, se sigue estirando pero ya no vuelve a su longitud original ya que su estructura ha quedado dañada. Si seguimos estirando y superamos su límite de extensibilidad la fibra se rompe. Las lanas finas son más elásticas que las bastas⁵⁹.

Higroscopicidad

La lana absorbe hasta el 50 % de su propio peso sin que se produzcan escurrimientos. El grado de absorción varía con las condiciones ambientales de almacenamiento y con el

tiempo y superficie de exposición⁴¹. La higroscopicidad es una propiedad considerada en el momento de la comercialización ya que puede aumentar el peso de una "pila" de lana⁵⁹.

La fibra de lana ideal para la industria tendría que ser fina, larga, resistente, elástica y poco higroscópica, aunque estas cualidades, debido a las correlaciones existentes entre ellas, son difíciles de conseguir conjuntamente por selección⁵⁹.

1.6 Materias primas potenciales para la producción de biogás

El proceso de digestión anaeróbica suele utilizar como materia prima la biomasa que se puede procesar fácilmente como: estiércol de ganado, desechos de procesamiento de alimentos y lodos de aguas residuales. Sin embargo la biomasa de difícil procesamiento tiene una gran abundancia y se acumula velozmente, por lo que actualmente se investiga nuevas maneras de aprovechar estos residuos o biomasa, ya que si se trata adecuadamente, puede ser una materia prima valiosa para la producción de biogás, lo que reduciría la contaminación ambiental y mejoraría la recuperación de la energía renovable. Por ejemplo, los residuos lignocelulósicos tienen aproximadamente 40–60 % de celulosa y 20–40 % de hemicelulosa⁶⁰, que es una buena fuente potencial de carbono para la producción de biogás si se hace accesible a los microorganismos.

Además, los desechos ricos en queratina por ejemplo las plumas están compuestos por aproximadamente 91 a 93 % de proteína cruda^{61,62} que es una proteína insoluble y cuando se convierte en oligómeros solubles pueden ser de gran potencial para la producción de biogás. Además, aproximadamente el 91 % de los sólidos volátiles de los desechos de algunas especies de frutas son degradables⁶³ y los desechos de procesamiento de alimentos también tienen buenos potenciales para la producción de biogás. El potencial de producción de biogás de estas materias primas varía dependiendo de su composición y concentración de material biodegradable. Por lo tanto, algunas de estas materias primas que son indigeribles, difíciles de digerir, lentas para digerir o que contienen inhibidores se discuten como materias primas potenciales para la digestión anaeróbica⁵⁹.

1.6.1. Materias primas no digeribles

Una gran parte de los desechos producidos a nivel mundial están compuestos de materiales orgánicos no digeribles, que no son biodegradables biológicamente o que su degradación es extremadamente lenta y no tiene costo alguno⁶⁴.

Los rellenos sanitarios contienen muchos compuestos no digeribles, como el papel procesado y restos de madera. Debido a la naturaleza indigesta y heterogénea de estos desechos, sus volúmenes aumentan exponencialmente y representan una amenaza ambiental. Según el banco mundial, estos materiales representan la mayor proporción de residuos sólidos municipales en los países de altos ingresos, mientras que representan el 27 % de los residuos sólidos globales generados en 2009⁶⁴.

Los desechos no digeribles contienen componentes que pueden ser utilizados por los catalizadores microbianos durante la producción de biogás. Recientemente, se realizaron algunos estudios sobre la degradación biológica de materia prima tradicionalmente no digerible para la producción de biogás. Por ejemplo, se demostró que una nueva bacteria, *Ideonella sakaiensis* 201-F6, degrada el tetraftalato de polietileno (PET)⁶⁵. Además, la digestión de textiles de algodón / poliéster se investigó en otro estudio⁶⁶. Sin embargo, estos procesos son prematuros y se requiere más investigación para ampliar la escala⁶⁶.

1.6.2. Desechos ricos en queratina

Los desperdicios ricos en queratina, como plumas de pollo, lana, pelo, uñas, cuernos, pezuñas y garras son producidos en todo el mundo por las industrias de aves de corral, lana, carne y peces. Por ejemplo, el stock promedio mundial de pollo es de unos 22 mil millones; así, las industrias avícolas producen una tremenda cantidad de plumas al año. Además, la producción mundial de lana asciende a 2.1 millones de toneladas por año. Suponiendo que toda la proteína insoluble (queratina) se convierte en proteína soluble, el potencial de metano de los desechos de queratina es tan alto como 0.496 Nm³/kgSV⁶⁷. Sin embargo, el rendimiento de metano obtenido suele ser bajo debido a la estructura recalcitrante de la queratina.

La queratina es una proteína estructural insoluble en la que la cadena de polipéptidos está fuertemente empaquetada y altamente reticulada con enlaces de disulfuro, enlaces de hidrógeno e interacciones hidrófobas⁶⁸. Esta estructura hace que la proteína sea insoluble y resistente al ataque enzimático, que es un obstáculo importante en el procesamiento biológico de estos desechos.

La queratina en el cabello, la lana y el cuerno se empaquetan de manera muy estable en hélices de hélice y son diferentes de la queratina de las plumas de pollo (hélice b) porque contiene

una mayor cantidad de cisteína, lo que hace que las queratinas sean uniformes, más difícil de hidrolizar que las b-queratinas. Por lo tanto, se requiere un tratamiento previo adecuado antes de la producción de biogás para los desechos ricos en queratina que se utilizarán para la producción de biogás⁶⁸.





CAPÍTULO II MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Lugar de Ejecución

La presente tesis se ejecutó en los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María campus Umacollo y en planta IV de la empresa Inca Tops S.A. Cerro Colorado, Arequipa, Perú (Anexo 1)

- Laboratorio H – 301
- Laboratorio de microbiología H – 405
- Laboratorio F – 405 (Vicerrectorado de Investigación)
- Laboratorio F – 407 (Vicerrectorado de Investigación)

2.2 Material

2.2.1. Material Biológico

- Microorganismos aislados, bacterias y hongos, de muestra de fibra de alpaca y lana de oveja de la planta IV de la empresa Inca Tops S.A.

2.2.2. Material de laboratorio

- Jarra de anaerobiosis de 2.5 L, Merck
- Asa de Kohl, en argolla y en punta
- Cámara de Neubauer, Marienfeld Germany
- Cinta indicadora de pH, Merck
- Espátula. Micropipeta de 10 μ L - 100 μ L, Dragon Lab.
- Micropipeta de 100 μ L - 1000 μ L, Dragon Lab.
- Puntas azules (Para Micropipeta de 100 μ L - 1000 μ L).
- Puntas amarillas (Para Micropipeta de 10 μ L - 100 μ L).
- Racks
- Tubos eppendorf de 1.5 mL.
- Tubos Falcon
- Parafilm.
- Gradilla

2.2.3. Material de vidrio

- Frascos de vidrio de 50 mL, 1000 mL, Boeco Germany.
- Láminas portaobjetos.
- Matraz Erlenmeyer de 100 mL, 500 mL, Kimax.
- Placas Petri de 10 mL 20 mL.
- Probeta de 50 mL, 100 mL.
- Tubos de ensayo de 20 mL.
- Bagueta

2.2.4. Reactivos

- Azul de Lactofenol.
- Cloranfenicol.
- Gentamicina.
- Alcohol acetona
- Lugol
- Safranina
- Cristal violeta

2.2.5. Medios de cultivo.

- Agar agar, Merck.
- Agar Sabouraud, Merck.
- Agar sangre, Merck.
- Caldo tioglicolato, Merck.
- Caldo dextrosa Sabouraud, Merck.
- Caldo papa dextrosa.

2.2.6. Equipos.

- Medidor de gases, Multitec 540.
- Autoclave, Germany Industrial Corp, HL-340.
- Balanza analítica, Ohaus Adventurer AR31.
- Balanza Scout™ Pro.
- Baño María, PSelecta, Precistern.
- Centrífuga de tubos eppendorf, Drucker 613 B.
- Incubadora, PSelecta.
- Microscopio, Labomed.
- Shaker, Lab companion, SK300.
- Vortex, Mixer, VM-300.
- Reactor DAS de 20L.

2.2.7. Otros

- Agua estéril.
- Alcohol de 97°.
- Algodón.
- Bolsas de Polipropileno.
- Bolsas Ziploc 7x9.
- Calentador con termostato de 200 W, SOBO.
- Cocinilla.
- Globos metálicos

2.3 Métodos

2.3.1 Aislamiento de microorganismos nativos de desechos generados en el procesamiento de lana de oveja y fibra de alpaca.

Recolección de muestra de los desechos sólidos del procesamiento de fibra de alpaca y lana oveja

Se realizó la recolección de las muestras de los desechos sólidos producidos en el procesamiento de fibra de alpaca y lana de oveja de la planta IV de la empresa Inca Tops S.A. en bolsas ziploc (7x9) debidamente rotuladas y transportadas al laboratorio en un cooler para la preservación de las muestras.

La toma de muestras se realizó en distintos puntos: zarándela muestra “A”, rejilla al ingreso del sedimentador muestras “B”, tachos de desechos muestra “C”, tierra de lana de alpaca muestra “T”, carga muestra “Ca”, morel muestra “M”, lavado de apertura muestra “L” y sacudidora muestra “S”.

Preparación de las muestras para la siembra

Se preparó una solución de Tritón-100X 0.001 v/v y se colocó 10 mL de la solución en un tubo falcón, se le agregó 1g de muestra y se llevó al vortex durante 1 minuto y 30 segundos; se realizó este procedimiento con cada una de las muestras.

Aislamiento y purificación de cepas bacterianas y fúngicas

Para el aislamiento de bacterias se preparó caldo de tioglicolato, siguiendo la metodología del Anexo 2, en tubos de 20 mL, el medio se esterilizó usando el autoclave por 15 minutos a 120 C° a 1.5 atmosferas, luego se dejó en la incubadora por un periodo de 24 horas para probar inocuidad del caldo.

Finalmente se inocularon las muestras previamente tratadas en el caldo tioglicolato y se lleva a la incubadora por 72 horas para su crecimiento; como se muestra en la Fig. 2. el crecimiento de los microorganismos se evidencia por la turbidez del medio, los microorganismos con capacidad de crecer en condiciones anaeróbicas son los que se encuentran en la parte inferior del tubo.

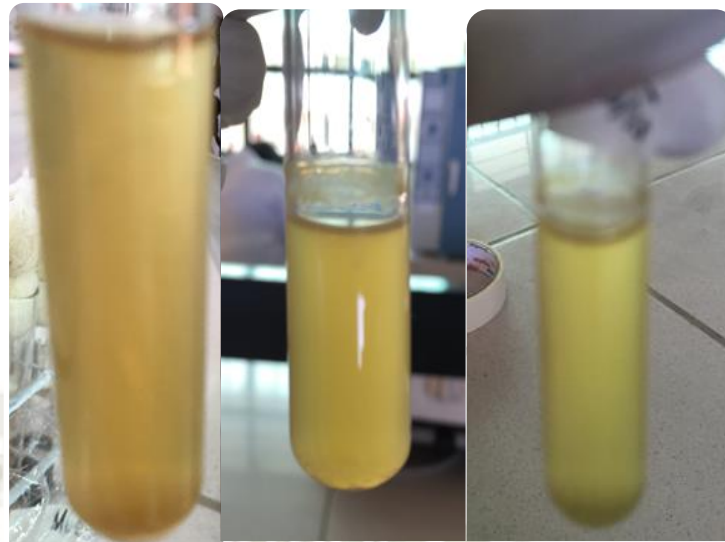


Figura 2. Tubos con caldo tioglicolato con crecimiento de cepas

Se preparó previamente los medios de cultivo agar sangre (bacterias) y agar Sabouraud (hongos) de acuerdo a los Anexos 3 y 4 respectivamente, luego se esterizaron usando el autoclave por 15 minutos a 120 C° a 1.5 atmósferas y enseguida se distribuyeron en placas de 20 mL para finalmente después de haber gelificado y sellado las placas ser llevadas a la incubadora por 24 horas para comprobar la inocuidad del medio.

Se toma con el asa de Kolle una pequeña porción de las muestras previamente tratadas y se siembra por agotamiento en el medio en las placas Petri con agar sangre. Por último se coloca en la jarra de anaerobiosis y se lleva dentro de la cámara de incubación a 37°C .

Para el aislamiento de hongos se preparó agar Sabouraud de acuerdo al Anexo 4, se tomó una pequeña muestra y se sembró, por último se coloca en la jarra de anaerobiosis a temperatura ambiente. La jarra de anaerobiosis da las condiciones idóneas para el desarrollo del microorganismo ya que al colocar una vela prendida dentro de la jarra, esta consume el oxígeno presente y genera CO_2 .

A partir de las placas madre Fig. 3 se realizaron cultivos sucesivos en agar sangre para bacterias y agar Sabouraud en el caso de hongos para la purificación de las cepas hasta conseguir placas con cepas puras como se muestra en la Fig. 4.



Figura 3. Placas madre



Figura 4. Placas con cepas puras

2.3.2. Selección y caracterización macroscópica y microscópica de cepas con capacidad de producción de gas

Selección de microorganismos con capacidad de producción de gas

Para identificar las cepas con capacidad de producción de gas se preparó caldo de tioglicolato (Anexo 3) complementado con 15 g/L de agar agar; el medio se autoclavó por 15 minutos a 120 °C y 1.5 atm, luego se dejó enfriar, se llevó a la incubadora y pasadas 24 horas se comprobó la inocuidad del medio. Finalmente todas las cepas fueron sembradas y puestas en la incubadora por 7 días a 37 °C en el caso de las bacterias y 14 días a temperatura ambiente en el caso de los hongos.

Caracterización macroscópica de cepas bacterianas y fúngicas

La caracterización de cepas bacterianas se realizó en medio de cultivo agar sangre en cultivos puros en donde se tomaron en cuenta las características morfológicas de la colonia como: tamaño, superficie, forma, borde y consistencia. También se toma en cuenta la hemólisis ya que algunas bacterias producen hemolisinas que causan la lisis de los hematíes; la hemólisis puede ser beta (zona clara alrededor de la colonia), alfa (halo de color verdoso por oxidación de la hemoglobina de los glóbulos rojos a metahemoglobina en el medio) o gamma (sin cambio de color en el medio)⁶⁹.

Para la identificación de cepas fúngicas se realizó en cultivos puros y se tomaron en cuenta las siguientes características: color, crecimiento, textura y borde; sin embargo esta caracterización solo nos da una idea de la cepa fúngica y no es concluyente.

Caracterización microscópica de cepas bacterianas y fúngicas

A cada una de las cepas aisladas se le realizó una caracterización microscópica. En el caso de bacterias se hizo una tinción de Gram realizada de la siguiente manera: Primero se hizo un extendido de la muestra en una lámina portaobjetos y se dejó secar a temperatura ambiente. En seguida se agregó azul de violeta y se esperó un minuto. Se enjuagó con agua después se agregó lugol, se esperó un minuto y luego se procedió a agregar alcohol acetona y esperar de 5 a 30 segundos (las Gram negativas se decoloran, las Gram positivas no). Se enjuagó con agua y por último agregar safranina, tinción de contraste, esperando un minuto; tiñendo las bacterias Gram negativas de un color rosado – rojizo. Se lavó levemente con agua, se esperó que seque y se procedió a observar al microscopio.

2.3.3. Caracterización e identificación molecular de especies bacterianas y fúngicas seleccionadas con capacidad de producción de gas

Aislamiento de ADN

El ADN de las cepas nativas fue aislado de la siguiente manera, con una asa se tomó una asada de colonias de la placa Petri, la cual fue resuspendido en 200 μ L de buffer de lisis en un eppendorf, para romper las paredes celulares fueron añadidos perlas de vidrio (Bits), se colocó al vortex por 5 minutos y luego a baño maría por 15 minutos a 65 °C, después de este periodo se agregó 150 μ L de reactivo presipitador de proteínas MPC, se agitó y se llevó a centrifugación por 5 minutos a máxima velocidad. El sobrenadante se recolectó y colocado en un nuevo eppendorf al cual se le añadió 500 μ L de isopropanol, se llevó a centrifugación

por 1 minuto a máxima velocidad, después el sobrenadante fue eliminado y el pellet que contiene el ADN fue resuspendido con 50 μL de agua destilada esteril⁷⁰.

Amplificación del gen RNAr 16S para bacterias e ITS para Hongos.

Posteriormente la amplificación del ADN se realizó mediante la técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Para realizar la PCR a cada tubo de PCR se añadió 2 μL de ADN de cada muestra, 2 μL de la solución de primers para la amplificación del gen del RNAr 16S en el caso de bacterias y primer ITS para el caso de los hongos (cada uno con una concentración final de 200 μM), y 30 μL de *Platinum PCR Supermix High Fidelity*. Los tubos, se colocaron en un termociclador Bio Rad (*MyCycler™ Thermal Cycler System With Gradient Option*) y se programó de la siguiente manera: 95 °C por 5 minutos, 25 ciclos de 94 °C por 70 segundos (desnaturalización), 55 °C por 70 segundos (hibridación) y 72 °C por 70 segundos (extensión). Finalmente 1 ciclo a 72 °C por 7 minutos. Luego de la amplificación las muestras serán mantenidas en el termociclador a 4 °C (post incubación)⁷⁰.

Electroforesis y purificación de productos de PCR

El producto de de la PCR fue separado en un gel de agarosa al 1.5 % y la banda correspondiente al gen RNAr 16S e ITS fue cortado del gel para su purificación utilizando el kit QIAquick PCR Purification Kit. Donde se utilizó columnas de QIAGEN y se siguió las instrucciones de la compañía.

Secuenciación de productos de PCR

Para la secuenciación de los productos de la PCR se procedió a colocar a 20 μL de ADN purificado 1 μL de Primer para secuenciar (el gen ADNr 16S para bacterias y ITS para Hongos) los tubos fueron etiquetados y fueron enviados al *DNA Sequencing | Functional Biosciences, Inc.*

Filogenia molecular

Las secuencias del gen RNAr 16S de las cepas nativas, que fueron obtenidas por secuenciación, fueron analizadas individualmente y comparadas con las secuencias depositadas en la base de datos GenBank utilizando el algoritmo BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST), y luego se construyó arboles filogenéticos para determinar las distancias genéticas, porcentaje de similitud con otras especies. Además se

realizaron pruebas de alineamiento multiple y filogenia con el programa CLUTAL Omega⁷¹⁻⁷³.

Elaboración de curvas de crecimiento de cepas bacterianas.

Para la elaboración de las curvas de crecimiento de las bacterias, primero se preparó el inóculo utilizando caldo tioglicolato (Anexo 2) en tubos de ensayo de 20 mL, se sembraron en el caldo tioglicolato y se conservaron dentro de la incubadora a 37 °C por 3 días. Pasado este tiempo se preparó caldo tioglicolato en 3 frascos de vidrio de 100 mL y se colocó 5 mL del inóculo, se sellaron los frascos y se conservaron en la incubadora. Se tomó muestra cada 2 horas durante 3 días en tubos Eppendorf conservando los mismos en congelación. Este procedimiento se realizó para cada una de las bacterias, Para procesar las muestras fueron llevadas a temperatura ambiente; se pesó el tubo Eppendorf vacío, se tomó 1 mL de muestras, se llevó a la centrífuga por 5 minutos a 5000 rpm, se eliminó el sobrenadante y se pesó el tubo Eppendorf con el pellet formado, por diferencia de pesos se halló la masa de esta manera se determinó la cantidad de bacterias en 1mL.

Elaboración de curvas de crecimiento de cepas fungicas.

Se preparó caldo papa dextrosa como indica en el Anexo 5 y se distribuyó 15 ml del caldo en tubos de ensayo, se comprobó la inocuidad del medio para luego ser inoculada con cada una de las cepas fúngicas, por último se colocó cada tubo inoculado en la jarra de anaerobiosis, esta crea así el ambiente anaerobio necesario para el desarrollo de cada una de las cepas fúngicas. Estas fueron conservadas durante 15 días a temperatura ambiente. Este proceso se realizó con cada uno de los hongos seleccionados.

Se preparó nuevamente caldo papa dextrosa (Anexo 5) en frascos de 100mL a los cuales se les colocó el inóculo y la parafina estéril, se sellaron y se conservaron a temperatura ambiente para la toma de muestras cada 12 horas durante 16 días conservando las mismas en congelación. Este procedimiento se realizó para cada uno de los hongos. Para procesar las muestras fueron llevadas a temperatura ambiente; se pesaron tubos Eppendorf vacíos luego se midió 1 mL, se llevó a la centrífuga por 5 minutos a 5000 rpm, se eliminó el sobrenadante y se pesó el tubo Eppendorf con el pellet formado, por diferencia de pesos se halló la masa. De esta forma se realizó las curvas de crecimiento de cada cepa.

2.3.4. Análisis de las condiciones iniciales del influente y biomasa procedente del procesamiento de la lana de oveja y fibra de alpaca.

Composición del influente

Se mandó analizar el agua residual de la planta Inca Tops- Zamácola en el laboratorio de control de calidad ALS LS Perú con la finalidad de obtener los parámetros iniciales del agua y analizar si los componentes de esta podrían interferir en la producción de gas.

Composición de la biomasa

Se mandó analizar la biomasa (residuos sólidos textiles) de la planta Inca Tops- Zamácola en el laboratorio de ensayo y control de calidad de la Universidad Católica de Santa María Arequipa-Perú con la finalidad de obtener los parámetros y analizar si los componentes de esta podrían interferir en la producción de gas.

2.3.5. Evaluar la producción y composición de gas con los distintos inóculos utilizando un reactor DAS

Se usó un reactor de digestión anaeróbica seca con recirculación para el tratamiento de residuos sólidos industriales de la planta Inca Tops S.A. de 20 L capacidad en total y un volumen efectivo de 11 L.

Teniendo en cuenta esto se construyeron 3 biorreactores para las pruebas, dichos reactores experimentales fueron construidos por la empresa Crefinsa E.I.R.L.

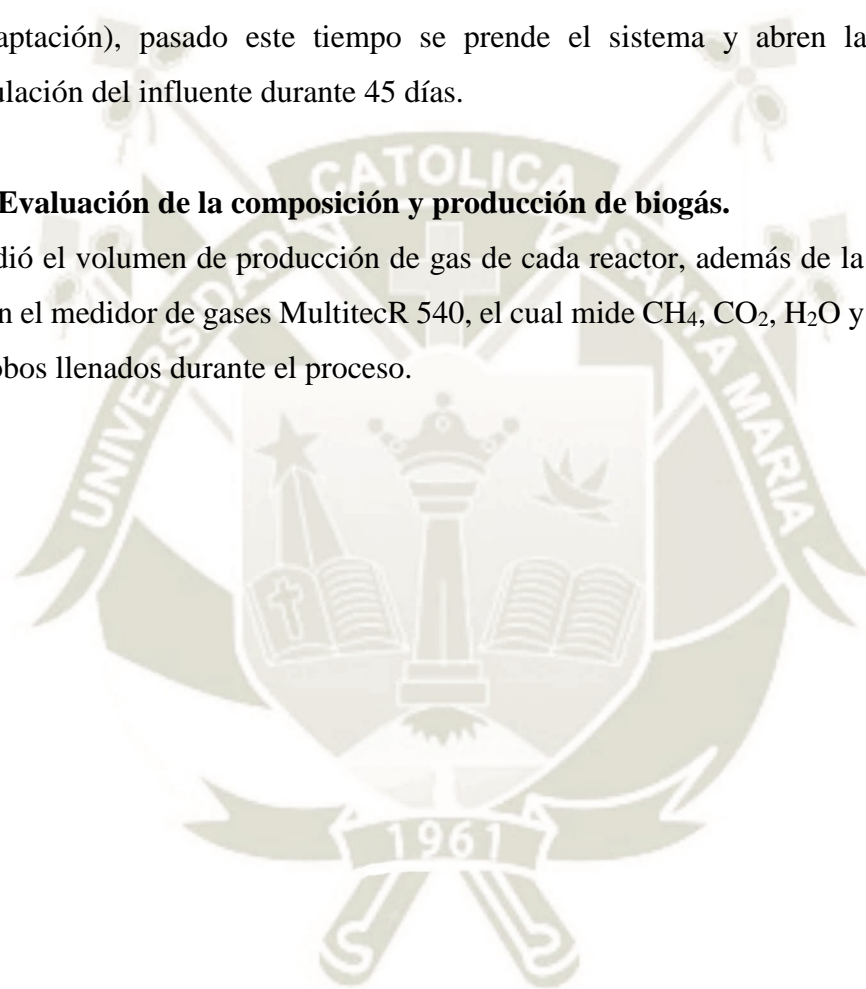
Puesta en marcha de los reactores.

Previa puesta en marcha del reactor se prepararon los inóculos de la siguiente manera: se preparó caldo tioglicolato y caldo dextrosa-Sabouraud para inóculos bacterianos y fúngicos respectivamente, se distribuyeron en frascos de 100 mL cada uno, luego son esterilizados en autoclave durante 15 minutos a 120 °C a 1.5 atmósferas. Se deja enfriar y se coloca en incubadora por espacio de 24 horas para probar la inocuidad del medio. Para el inóculo se toma una pequeña porción de las muestras aisladas y se colocan en el medio, en seguida se les añade vaselina líquida esterilizada hasta que cubra la superficie, luego son llevadas a la cámara de incubación a 37 °C durante 3 días en el caso de bacterias y a temperatura ambiente durante 15 días en el caso de los hongos. Finalmente se realiza el conteo y los cálculos para tener la misma cantidad de microorganismos por inóculo.

Para la puesta en marcha de los reactores primero se colocó 5 Kg de los residuos sólidos textiles (biomasa) previamente hidratados con el agua residual de la empresa para el mejor funcionamiento en cuanto a la recirculación, Luego se inoculó el primer reactor con bacterias, el segundo reactor con hongos y el tercer reactor con el consorcio microbiano. Finalmente se cerraron los reactores herméticamente creando un ambiente anaerobio propicio para el desarrollo del proceso. Los reactores trabajaron por un periodo de 60 días, de los cuales los 15 primeros días se mantiene cerrado sin recirculación del influente (fase de adaptación), pasado este tiempo se prende el sistema y abren las llaves para la recirculación del influente durante 45 días.

2.3.7. Evaluación de la composición y producción de biogás.

Se midió el volumen de producción de gas de cada reactor, además de la composición del gas con el medidor de gases MultitecR 540, el cual mide CH_4 , CO_2 , H_2O y O_2 a cada uno de los globos llenados durante el proceso.





CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Aislamiento de microorganismos nativos de desechos generados en el procesamiento de lana de oveja y fibra de alpaca.

3.1.1. Aislamiento y purificación de cepas bacterianas y fúngicas

El caldo tioglicolato permite determinar el tipo de microorganismo de acuerdo a la ubicación del crecimiento en el tubo, por trabajar con un reactor de naturaleza anaerobia se extrae muestra de la parte inferior del tubo donde se desarrollan las cepas anaerobias estrictas.⁷⁴

El aislamiento de cepas bacterianas se realizó en agar sangre obteniendo un total de 52 cepas, de las cuales 10 proceden de la muestra “A”, 4 de la muestra “B”, 7 de la muestra “C”, 12 de la muestra “T”, 6 de la muestra “Ca”, 1 de la muestra “M”, 6 de la muestra “L” y 6 de la muestra “S”. Todas estas mostraban diferencia macroscópica entre sí.

El aislamiento de cepas fúngicas se realizó en agar Sabouraud obteniendo un total de 15 cepas, de las cuales 6 proceden de la muestra “A”, 6 de la muestra “B”, 3 de la muestra “C”.

3.2 Selección y caracterización macroscópica y microscópica de cepas con capacidad de producción de gas

3.2.1 Selección de microorganismos con capacidad de producción de gas

Las cepas aisladas de los residuos sólidos textiles además de ser anaerobias deben tener la capacidad de producir biogás por esta razón se utiliza agar Sabouraud y caldo tioglicolato complementado con agar agar en tubo que al ser un medio solido permite evidenciar la producción por la ruptura o desplazamiento del medio dentro del tubo de ensayo.

Teniendo en cuenta esto se probó cada una de las cepas asiladas (Anexo 6 y 7), para las bacterias en medio tioglicolato y para los hongos en medio Sabouraud, en donde se evidenció que solo 3 cepas bacterianas y 3 cepas tienen la capacidad de producir biogás. Como se muestra en la Fig. 5 las cepas bacterianas T-1, A-0 y A-3 son capaces de producir gas al mostrar ruptura y desplazamiento del medio.



Figura 5. Bacterias con capacidad de producción de gas

Las cepas fúngicas MA-3, MA-4, MC-1 muestran ruptura y desplazamiento del medio lo que evidencia la capacidad de producción de gas Fig. 6.

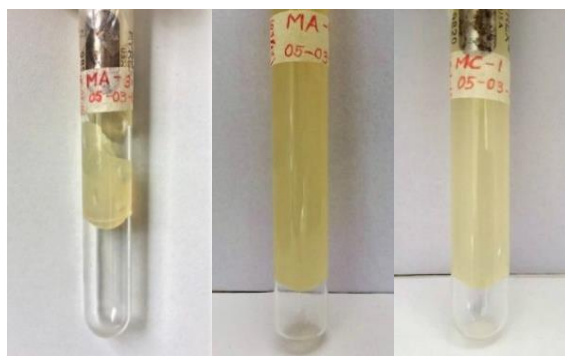


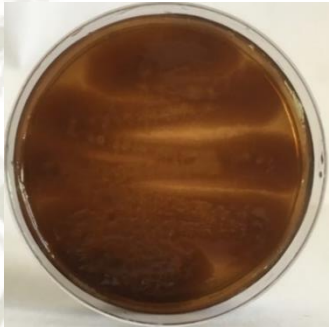
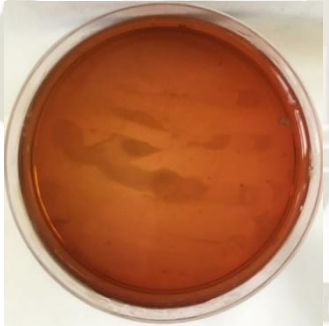
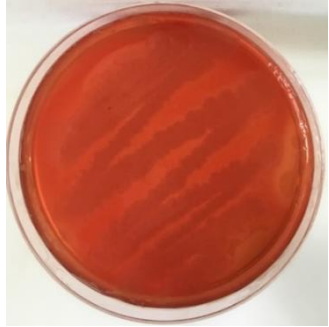
Figura 6. Hongos con capacidad de producción de gas

3.2.2 Caracterización macroscópica de cepas bacterianas y fúngicas

Caracterización macroscópica de cepas bacterianas

Se realizó una descripción macroscópica de las cepas bacterianas tal como se muestra en la Tabla 3, estas figuras fueron tomadas de placas de agar sangre con 72 horas de cultivo a temperatura y presión normal.


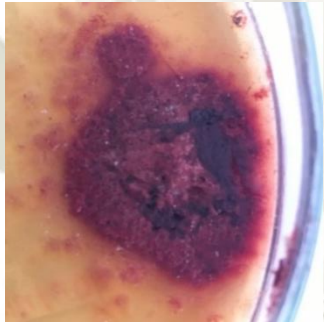

Tabla 3. Descripción macroscópica de cepas bacterianas

Cepa	Figura	Descripción
Cepa T-1	 <p>Figura 7. Apariencia macroscópica de la cepa T-1</p>	Presenta colonias de consistencia cremosa, medianas de superficie lisa con relieve convexo de forma circular con bordes redondeados, además se puede visualizar una alfa hemólisis por presentar halo de color verdoso por oxidación de la hemoglobina de los glóbulos rojos a metahemoglobina en el medio
Cepa A-0	 <p>Figura 8. Apariencia macroscópica de la cepa A-0</p>	Presenta colonias de consistencia membranosa, medianas de superficie lisa y plana de forma fusiforme con bordes redondeados, además se puede visualizar una beta hemólisis.
Cepa A-3	 <p>Figura 9. Apariencia macroscópica de la cepa A-3</p>	Presenta colonias de consistencia cremosa, medianas de superficie lisa con relieve plano convexo de forma circular con bordes redondeados, además se puede visualizar una gamma hemólisis.

Caracterización macroscópica de cepas fúngicas

Tal como se muestra en la Tabla 4 se realizó una descripción macroscópica de las cepas fúngicas, estas figuras fueron tomadas de placas de agar Sabouraud con 1 mes de cultivo a temperatura ambiente y presión normal.

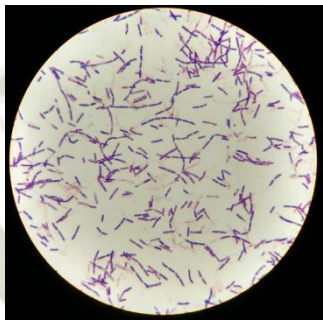
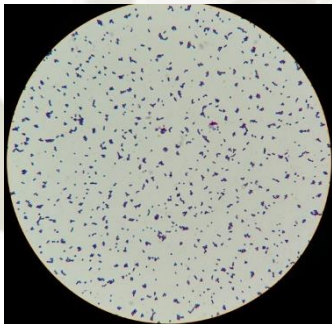
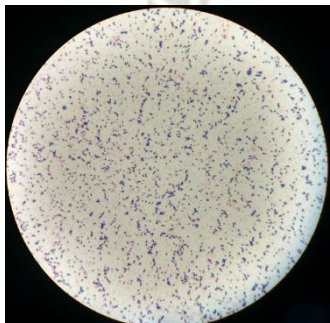
Tabla 4. Descripción macroscópica de cepas fúngicas

Cepa	Figura	Descripción
<p>Cepa MA-3</p>		<p>Esta cepa presento un micelio de crecimiento rugoso e irradiado con borde liso, una textura aterciopelada y de tonalidad marrón en el anverso</p>
<p>Cepa MA-4</p>		<p>Esta cepa presento un micelio de crecimiento rugoso y filiforme con borde liso una textura lanosa y de tonalidad roja en el anverso</p>
<p>Cepa MC-1</p>		<p>Esta cepa presento un micelio de crecimiento filiforme e irradiado con borde filamentoso, una textura algodonosa y de tonalidad blanca con un centro de color crema en el anverso</p>

3.2.3 Caracterización microscópica de cepas bacterianas

Como se observa en la tabla 5 se realizó una tinción Gram a las cepas seleccionadas, estas fueron amplificadas con el objetivo de 100X mostrando que son Gram positivas.

Tabla 5. Descripción microscópica de cepas bacterianas

Cepa	Figura	Descripción
Cepa T-1	 <p>Figura 13 Apariencia microscópica de la cepa T-1</p>	La cepa T-1 es Gram positiva, además también se pudo determinar que la cepa tiene forma de bacilo.
Cepa A-0	 <p>Figura 14 Apariencia macroscópica de la cepa A-0</p>	La cepa A-0 es Gram positiva, además también se pudo determinar que la cepa tiene forma de cocos.
Cepa A-3	 <p>Figura 15 Apariencia macroscópica de la cepa A-3</p>	La cepa A-3 es Gram positiva, además también se pudo determinar que la cepa tiene forma de cocos

De acuerdo a un estudio realizado por Krober et al. a la comunidad microbiana que reside en una muestra de fermentación de una planta de biogás, muestra que las cepas encontradas son Gram positivas⁷⁵, esto se debe a la envoltura celular de las bacterias grampositivas que comprende la membrana citoplasmática y una pared celular compuesta por una gruesa capa de peptidoglucano, que rodea a la anterior, esta capa confiere una gran resistencia a estas bacterias; lo que nos indicaría que las cepas bacterianas encontradas son las mas resistentes y pueden ser usadas en el reactor de digestión anaeróbica.

3.3 Caracterización e identificación molecular de especies bacterianas y fúngicas seleccionadas con capacidad de producción de gas

3.3.1. Secuenciación de productos de PCR

La secuenciación fue realizada usando el gen ADNr 16S para bacterias y ITS (*internal transcribed spacer*) específicamente el primers ITS1-F usado específicamente para hongos,⁷⁶ las secuencias de las cepas aisladas se muestran en el Anexo 8

3.3.2. Filogenia molecular

A cada secuencia obtenida se analizó individualmente utilizando el algoritmo BLAST y el programa CLUSTAL Omega para el alineamiento múltiple y filogenia usando las cepas con mayor porcentaje de identidad.

Cepa T-1

El resultado del análisis realizado a la cepa T-1 con el algoritmo BLAST (Tabla 6) muestra un porcentaje de identidad del 99 %, con la *Pseudomona Aeruginosa* y el estudio filogenético Fig. 16 con el programa CLUSTAL Omega permiten concluir que la cepa T-1 es una *Pseudomona aeruginosa*.

Según Kenneth, J. R., Ryan, C. la bacteria *Pseudomona aeruginosa* es aerobia⁷⁷, sin embargo nuestra cepa T-1 tiene la capacidad de crecer en condiciones anaerobias por lo que podría tratarse de una nueva variedad, por lo que se le deberían realizar mas estudios.

Esta bacteria además tiene la capacidad de formar biofilms⁷⁸, lo que es beneficioso al ser utilizado en reactores secos.

Tabla 6. Bacterias con mayor similitud con la cepa aislada. T-1

N°	Descripción	Max score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident	Accession
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain DSM 50071 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1557	1557	99%	0.0	99%	NR_117678.1
2	<i>Pseudomonas otitidis</i> strain MCC10330 16S ribosomal RNA, partial sequence	1463	1463	99%	0.0	98%	NR_043289.1
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain DSM 50071 16S ribosomal RNA, complete sequence	1459	1459	99%	0.0	98%	NR_026078.1
4	<i>Pseudomonas guezennei</i> strain RA26 16S ribosomal RNA, partial sequence	1454	1454	99%	0.0	98%	NR_114957.1
5	<i>Pseudomonas panipatensis</i> strain Esp-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1441	1441	99%	0.0	97%	NR_044209.1
6	<i>Pseudomonas delhiensis</i> strain RLD-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1435	1435	99%	0.0	97%	NR_043731.1
7	<i>Pseudomonas citronellolis</i> strain DSM 50332 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1435	1435	99%	0.0	97%	NR_026533.1
8	<i>Pseudomonas resinovorans</i> strain ATCC 14235 16S ribosomal RNA, partial sequence	1410	1410	95%	0.0	98%	NR_112062.1
9	<i>Pseudomonas knackmussii</i> strain B13 16S ribosomal RNA, partial sequence	1408	1408	99%	0.0	97%	NR_121733.1
10	<i>Pseudomonas nitroreducens</i> strain NBRC 12694 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1408	1408	99%	0.0	97%	NR_113601.1

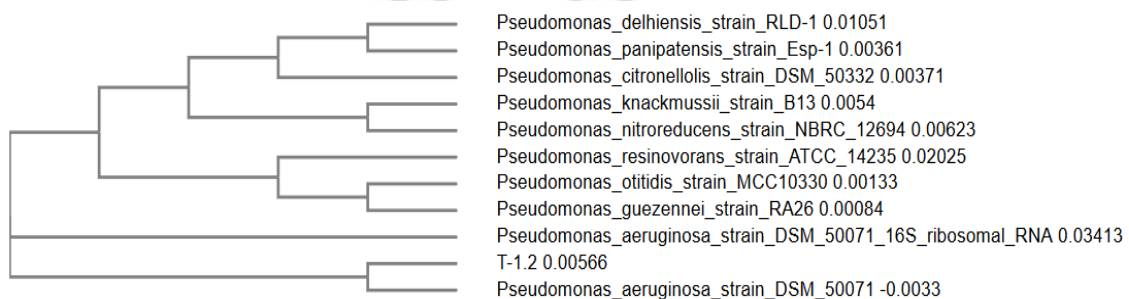


Figura 16. Árbol filogenético de las secuencias parciales del gen del RNAr 16S de la cepa aislada T-1, y las diferentes especies de colección válidamente descritas como similitud.

Cepa A-0

El resultado del análisis realizado a la cepa A-0 con el algoritmo BLAST (Tabla 7) muestra un porcentaje de identidad del 86 %, con la *Proteus Vulgaris* y el estudio filogenético Fig. 17 con el programa CLUSTAL Omega permiten concluir que la cepa A-0 puede ser una nueva especie de *Proteus sp.*

Según R. G. Saratale la especie *Proteus Vulgaris* tienen capacidad de biodegradar colorantes,⁷⁹ por lo que se corroboraría la procedencia de la industria textil, ya que esta tiene presentes en sus desechos algunos colorantes y estas cepas se pueden adaptar a este tipo de ambiente. Se conoce también que las bacterias que tienen capacidad para degradar por la vía anaerobia proteínas, peptonas, polipéptidos y aminoácidos se denominan bacterias putrefactivas ya que frecuentemente generan productos de olor desagradable; dentro de especies putrefactivas se encuentra el género *Proteus*⁸⁰.

Tabla 7. Bacterias con mayor similitud con la cepa aislada A-0

N°	Descripción	Max score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident	Accession
1	<i>Proteus vulgaris</i> strain ATCC 29905 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1147	1147	80%	0.0	86%	NR_115878.1
2	<i>Proteus columbae</i> strain 08MAS2615 16S ribosomal RNA, partial sequence	1116	1116	79%	0.0	86%	NR_159332.1
3	<i>Proteus terrae</i> strain N5/687 16S ribosomal RNA, partial sequence	1116	1116	80%	0.0	85%	NR_146019.1
4	<i>Proteus cibarius</i> strain JS9 16S ribosomal RNA, partial sequence	1110	1110	80%	0.0	85%	NR_149294.1
5	<i>Proteus mirabilis</i> strain JCM 1669 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1101	1101	80%	0.0	85%	NR_113344.1
6	<i>Cosenzaea myxofaciens</i> strain NCIMB 13273 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1099	1099	80%	0.0	85%	NR_043999.1
7	<i>Proteus hauseri</i> strain DSM 14437 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1094	1094	80%	0.0	85%	NR_104767.1
8	<i>Proteus penneri</i> strain NCTC 12737 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1020	1020	75%	0.0	85%	NR_043998.1
9	<i>Providencia heimbachae</i> strain NCTC 12003 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1005	1005	80%	0.0	84%	NR_115882.1
10	<i>Xenorhabdus stockiae</i> strain TH01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1000	1000	80%	0.0	84%	NR_043634.1

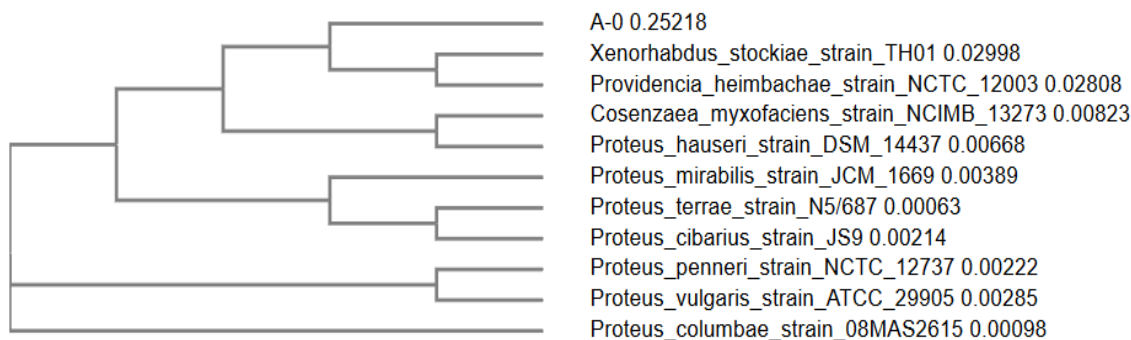


Figura 17. Árbol filogenético de las secuencias parciales del gen del RNAr 16S de la cepa aislada A-0 y las diferentes especies de colección válidamente descritas como similitud

Cepa A-3

El resultado del análisis realizado a la cepa A-3 con el algoritmo BLAST (Tabla 8) muestra un porcentaje de identidad del 89 %, con *Alcaligenes* y el estudio filogenético Fig. 18 con el programa CLUSTAL Omega permiten concluir que la cepa A-3 puede ser una nueva especie de *Alcaligenes sp.*

Se han estudiado algunos plasmidos aislados de la especie de *Alcaligenes sp.* Que poseen capacidad degradativa⁸¹. Además la especie *Alcaligenes* es capaz de desarrollarse en condiciones anaeróbicas⁸²

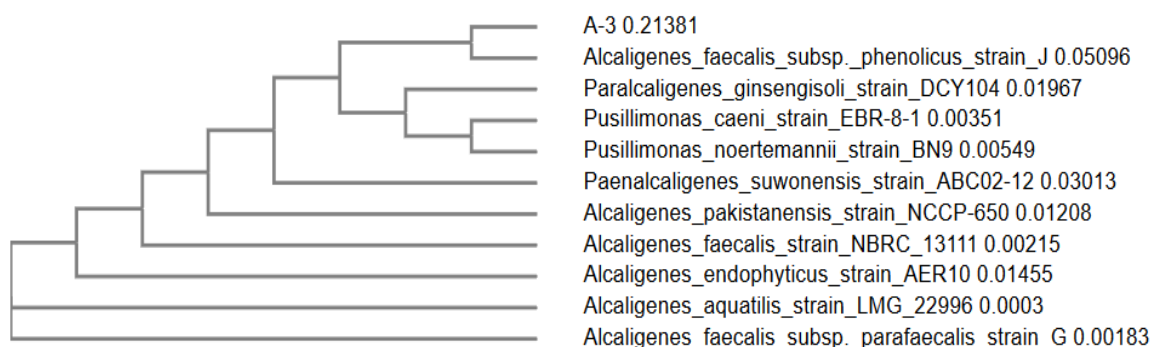


Figura 18. Árbol filogenético de las secuencias parciales del gen del RNAr 16S de la cepa aislada A-3 y las diferentes especies de colección válidamente descritas como similitud

Tabla 8. Bacterias con mayor similitud con la cepa aislada A-3

N°	Descripción	Max score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident	Accession
1	<i>Alcaligenes aquatilis</i> strain LMG 22996 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1199	1199	80%	0.0	89%	NR_104977.1
2	<i>Alcaligenes faecalis</i> strain NBRC 13111 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1184	1184	80%	0.0	89%	NR_113606.1
3	<i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. parafaecalis strain G 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1177	1177	79%	0.0	89%	NR_025357.1
4	<i>Alcaligenes pakistanensis</i> strain NCCP-650 16S ribosomal RNA, partial sequence	1158	1158	79%	0.0	89%	NR_145932.1
5	<i>Alcaligenes endophyticus</i> strain AER10 16S ribosomal RNA, partial sequence	1155	1155	80%	0.0	86%	NR_156855.1
6	<i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. phenolicus strain J 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1083	1083	79%	0.0	85%	NR_042830.1
7	<i>Paenalcaligenes suwonensis</i> strain ABC02-12 16S ribosomal RNA, partial sequence	1070	1070	80%	0.0	85%	NR_133804.1
8	<i>Pusillimonas caeni</i> strain EBR-8-1 16S ribosomal RNA, partial sequence	1062	1062	79%	0.0	85%	NR_146844.1
9	<i>Pusillimonas noertemannii</i> strain BN9 16S ribosomal RNA, partial sequence	1062	1062	80%	0.0	85%	NR_043129.1
10	<i>Paralcaligenes ginsengisoli</i> strain DCY104 16S ribosomal RNA, partial sequence	1062	1062	80%	0.0	85%	NR_148318.1

Cepa MA-3

El resultado del análisis realizado a la cepa MA-3 con el algoritmo BLAST (Tabla 9) muestra un porcentaje de identidad del 99 %, con *Fusarium oxysporum* y el estudio filogenético (Fig. 19) con el programa CLUSTAL Omega permiten concluir que la cepa MA-3 es *Fusarium oxysporum*.

La especie de *Fusarium oxysporum* causa enfermedades al banano produciendo olor desagradable y la descomposición, este estiércol de banano es usado para producción

de gas en condiciones anaerobias,⁸³ al ser esta especie la que inicia este proceso, se infiere que esta ayuda en el proceso de degradación de la materia dentro del reactor así como la producción de biogás.

Tabla 9. Hongos con mayor similitud con la cepa aislada MA-3

N°	Descripción	Max score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident	Accession
1	<i>Fusarium oxysporum</i> strain CRM-FRZ16 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	955	955	100%	0.0	99%	MF980704.1
2	<i>Fusarium oxysporum</i> isolate LIGI internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	955	955	100%	0.0	99%	KY945341.1
3	<i>Fusarium oxysporum</i> strain QLD-3 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	955	955	100%	0.0	99%	KU939047.1
4	<i>Fusarium sp.</i> isolate Mazen-F08 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	955	955	100%	0.0	99%	KY775616.1
5	<i>Fusarium oxysporum</i> isolate FUS-PIPO internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	955	955	100%	0.0	99%	KY114145.1

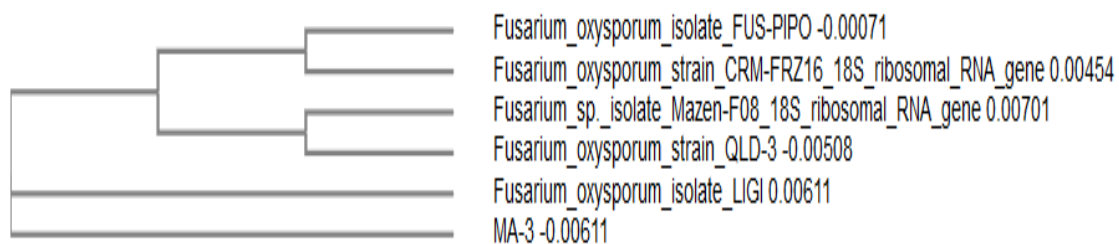


Figura 19. Árbol filogenético de las secuencias parciales del gen del ITS de la cepa aislada MA-3 y las diferentes especies de colección válidamente descritas como similitud.

Cepa MA-4

El resultado del análisis realizado a la cepa MA-4 con el algoritmo BLAST (Tabla 10) muestra un porcentaje de identidad del 99 %, con *Monascus fumeus* y el estudio filogenético Fig. 20 con el programa CLUSTAL Omega permiten concluir que la cepa MA-4 es *Monascus sp.*

Esta variedad se conoce como productora de pigmentos⁸⁴⁻⁸⁶ sin embargo no se tiene registro de producción de gas, por lo que puede ser una nueva variedad al producir gas además de pigmento, sin embargo se tendría que realizar mas estudios para que esto sea concluyente.

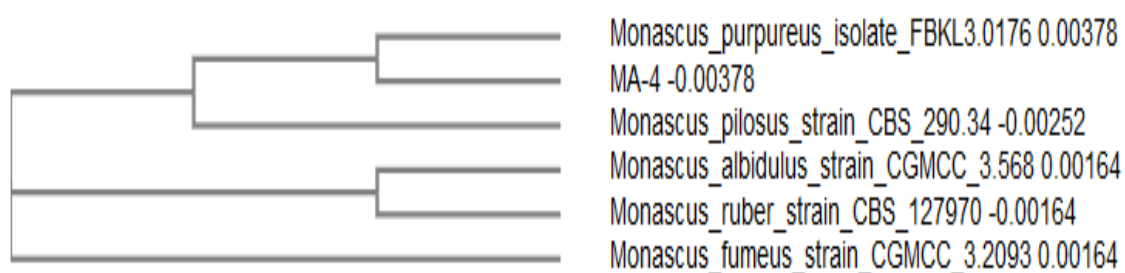


Figura 20. . Árbol filogenético de las secuencias parciales del gen del ITS de la cepa aislada MA-4 y las diferentes especies de colección válidamente descritas como similitud.

Tabla 10. Hongos con mayor similitud con la cepa aislada MA-4

N°	Descripción	Max score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident	Accession
1	<i>Monascus fumeus</i> strain CGMCC 3.2093 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	990	990	100%	0.0	99%	MG654473.1
2	<i>Monascus albidulus</i> strain CGMCC 3.568 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	990	990	100%	0.0	99%	MG654472.1
3	<i>Monascus ruber</i> strain CBS 127970 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	990	990	100%	0.0	99%	MH864780.1
4	<i>Monascus pilosus</i> strain CBS 290.34 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	990	990	100%	0.0	99%	MH855524.1
5	<i>Monascus purpureus</i> isolate FBKL3.0176 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	990	990	100%	0.0	99%	KY828906.1

Cepa MC-1.

El resultado del análisis realizado a la cepa MC-1 con el algoritmo BLAST (Tabla 11) muestra un porcentaje de identidad del 99 %, con *Fusarium oxysporum* y el estudio filogenético Fig. 21 con el programa CLUSTAL Omega permiten concluir que la cepa MC-1 sen *Fusarium sp.*

Estas variedades de especie son hongos asociados a las etapas degradativas de polidimetilsiloxano un polímero orgánico⁸⁷, teniendo en cuenta esto se infiere que al degradar en las etapas degradativas y ser anaerobio produce gas a partir de materias primas poco convencionales.

Tabla 11. Hongos con mayor similitud en la cepa aislada MC-1

N°	Descripción	Max score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident	Accession
1	<i>Fusarium oxysporum</i> small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2.	942	942	100%	0.0	99%	MG736729.1
2	<i>Fusarium oxysporum</i> culture MUT<ITA>:3697 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2.	942	942	100%	0.0	99%	MK036370.1
3	<i>Fusarium oxysporum</i> strain CBS 130321 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2.	942	942	100%	0.0	99%	MH865888.1
4	<i>Fusarium oxysporum</i> strain CBS 130320 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence.	942	942	100%	0.0	99%	MH865887.1
5	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> strain CBS 130306 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	942	942	100%	0.0	99%	MH865886.1

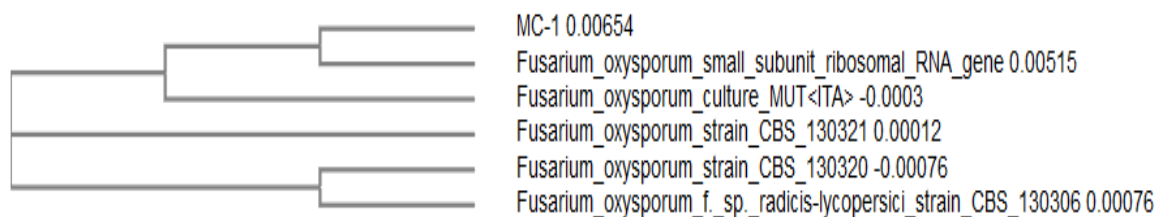


Figura 21. Árbol filogenético de las secuencias parciales del gen del ITS de la cepa aislada MC-1 y las diferentes especies de colección válidamente descritas como similitud.

3.3.3. Elaboración de curvas de crecimiento de cepas bacterianas.

Cepa T-1

Se realizaron las curvas de crecimiento con el los datos del Anexo 9, se relacionaron los datos de N° de bacterias con el tiempo.

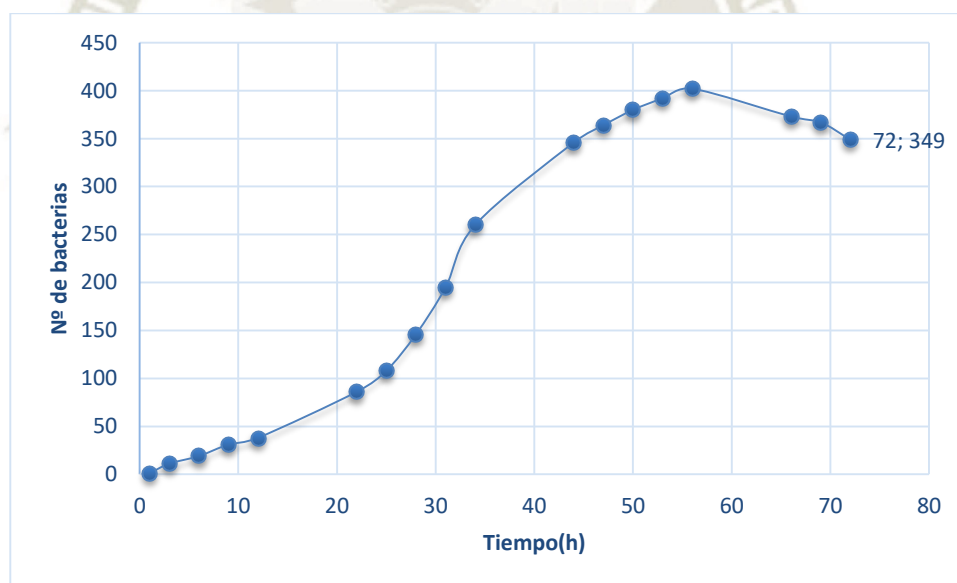


Figura 22. Curva de crecimiento para la cepa T-1

Como se observa en la Fig. 22 la cepa T-1 llega a un crecimiento máximo a las 56 horas (2 días) y a las 60 horas entra en una fase de desaceleración y luego a una fase estacionaria es decir que para su crecimiento y su reproducción. Este hongo fue extraído de los residuos sólidos textiles, como se explicó anteriormente este hongo presenta colonias de consistencia cremosa, medianas de superficie lisa con relieve convexo de forma circular con bordes redondeados, además se puede visualizar una gamma hemólisis.

Cepa A-0

La curva de crecimiento de bacterias se realizó con los datos proporcionados en el Anexo 10. La Fig. 23 muestran que al término del día 1 las bacterias pasan a la fase exponencial hasta el 2do día (34 horas) luego pasan a la fase estacionaria en la cual el crecimiento disminuye como consecuencia del agotamiento de nutrientes y la acumulación de productos tóxicos, esta fase se caracteriza por mantener un valor constante del número de bacterias a medida que la tasa de crecimiento de las bacterias se iguala con la tasa de muerte bacteriana, esto sucede a los 2.75 días (66 horas).

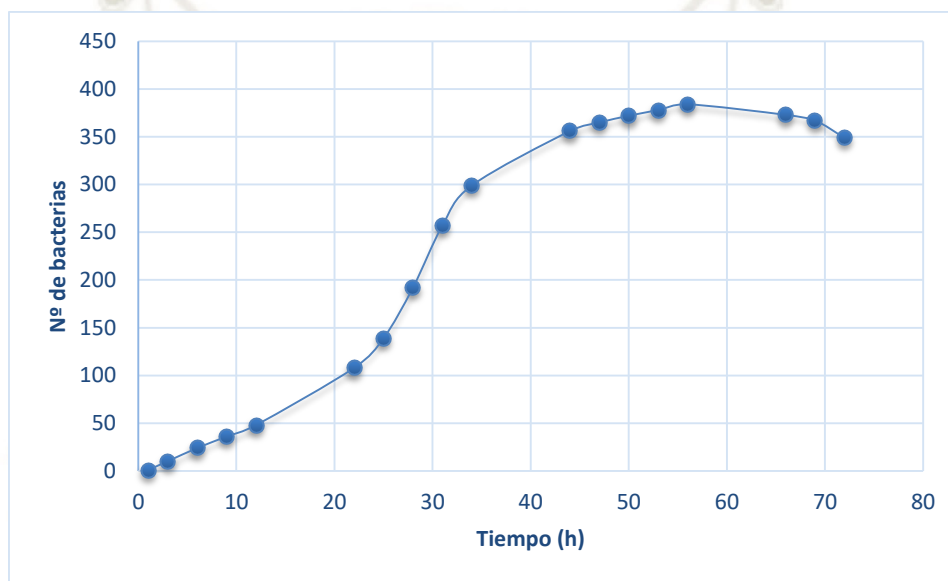


Figura 23. Curva de crecimiento para la cepa A-0

Cepa A-3

Los datos proporcionados en el Anexo 11 permiten realizar la curva de crecimiento de bacterias relacionando el número de bacterias y el tiempo como se muestra en la Fig. 24 se puede distinguir las fases del crecimiento bacteriano; al término del primer día (22 horas) las bacterias llegan al final de la fase de adaptación, durante esta fase las bacterias se adaptan a las condiciones de crecimiento, en este periodo las bacterias individuales van madurando, pero aún no tienen la posibilidad de dividirse.

Luego inicia la fase exponencial hasta los 2.2 días (53 horas) en donde llega a un crecimiento máximo y finalmente llegan a una fase estacionaria que es aproximadamente a los 2.8 días (67 horas). De esta manera veremos como aumenta el crecimiento de las bacterias de acuerdo con los días.

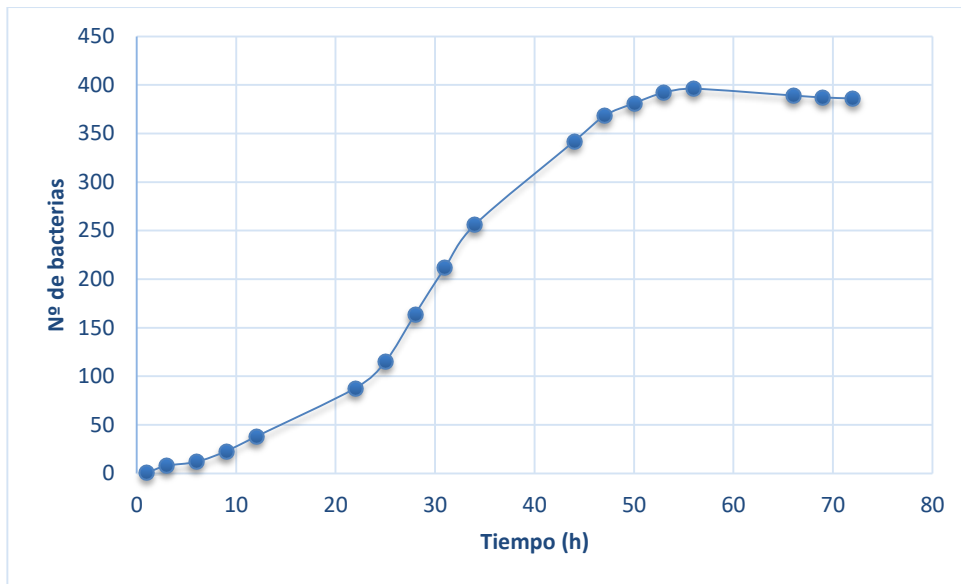


Figura 24. Curva de crecimiento para la cepa A-3

3.3.4. Elaboración de curvas de crecimiento de cepas fungicas.

Estas se realizaron relacionando los datos de Biomasa (g/mL) con el tiempo con los datos del Anexos 12, 13 y 14 para las cepas MA-3, MA-4 y MC-1 respectivamente

Cepa MA-3

La Fig. 25 muestra que la cepa MA-3 empieza la fase exponencial en 7.5 días (180 horas) y llega a un crecimiento máximo a los 15.5 días (372 horas) en los que empieza la fase estacionaria y a los 16 días (384 horas) entra en una fase de desaceleración

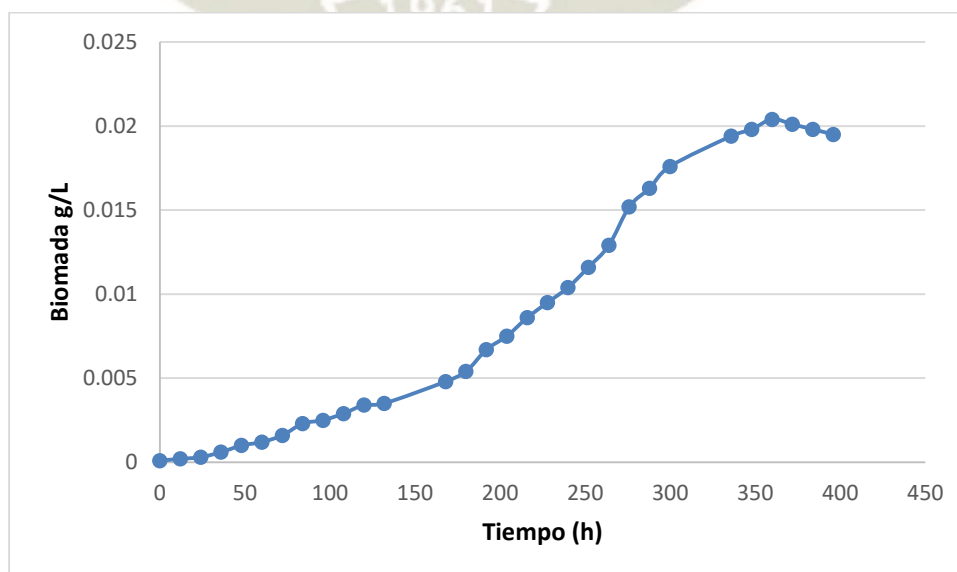


Figura 25. Curva de crecimiento para la cepa MA-3

Cepa MA-4

La curva de crecimiento de esta cepa como se observa en la Fig. 26 muestra una fase estacionaria de 5 días (120 horas) en donde el microorganismo se adecua al medio antes de iniciar su crecimiento, culminando su fase exponencial a los 16 días (384 horas) en donde comienza a fase estacionaria.

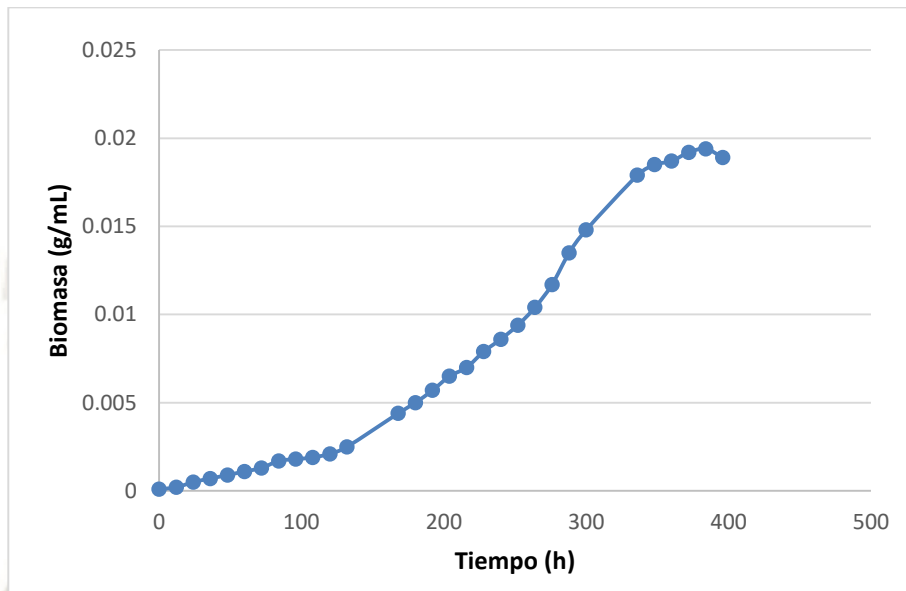


Figura 26. Curva de crecimiento para la cepa MA-4

Cepa MC-1

La Fig. 27 muestra la curva de crecimiento fugica de la cepa MC-1.

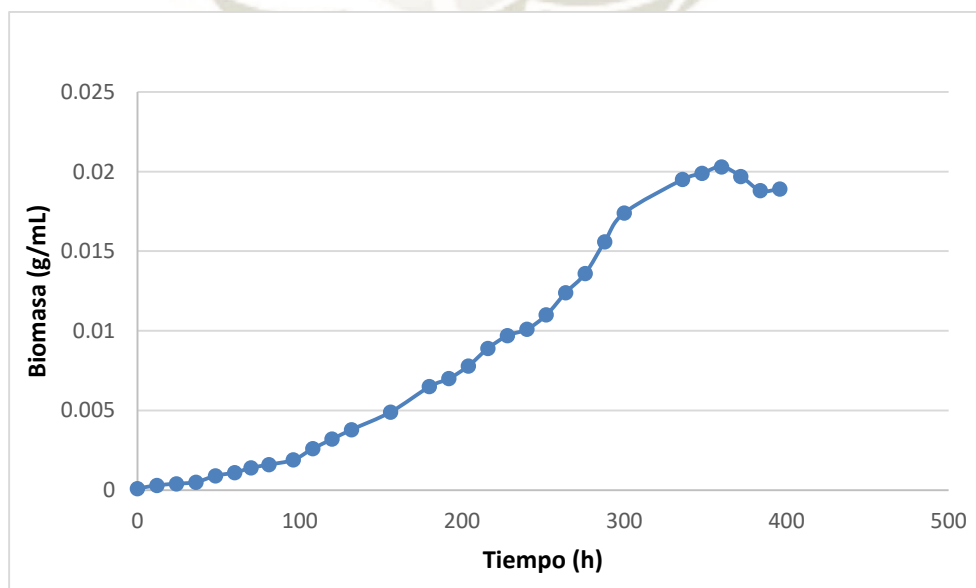


Figura 27. Curva de crecimiento para la cepa MC-1

Esta tiene una fase de latencia de 4 días (96 horas) y empieza la fase estacionaria hasta los 15 días (360 horas) en el que el crecimiento llega a su punto máximo a las 360 horas, finalmente empieza la fase estacionaria a las 372 horas 15.5 días

3.4 Análisis de las condiciones iniciales del influente y biomasa procedentes del procesamiento de lana de oveja y fibra de alpaca.

3.5.1. Composición del influente

Es importante el análisis de la composición inicial del influente para saber si este podría o no tener repercusiones en la producción de gas, para esto se hizo el análisis al agua residual industrial de la empresa Inca Tops S.A. (influente), dicho análisis se realizó en el año 2016, los resultados de los análisis se muestran en el Anexo 15.

Se analizó el análisis de los inhibidores de tipo químico y concentración límite inhibitoria para la producción de biogás y metano la Tabla 12, comparándolos con los del influente Tabla 13.

Tabla 12. Relación de inhibidores de tipo químico y concentración límite inhibitoria para la producción de biogás y metano

Inhibidores	Concentración inhibitorio
Sulfatos	5000 ppm
Cloruro de Sodio	40000 ppm
Nitratos	0,05mg/mL
Cobre	100mg/L
Níquel	200-500 mg/mL
Cromo	200 mg/mL
Cianuros	35 mg/mL
ABS detergente	20-40 mg/L
Sodio	3500-5500 mg/L
Potasio	2500-4500 mg/L
Calcio	2500-4500 mg/L
Magnesio	1000-1500 mg/L

Los resultados del análisis del agua residual industrial de la empresa Inca Tops S.A (influente), se puede observar en la Tabla 13, esta muestra los parámetros iniciales del influente que serán analizados y comparados con los datos de la Tabla 12: Relación de

inhibidores de tipo químico y concentración límite inhibitoria para la producción de biogás y metano

Tabla 13. Parámetros iniciales del influente (agua residual)

Parámetros	Unidad	Resultados
pH	Unidades pH	6.85
Sulfatos	mg/L	58.12
Cloruros	mg/L	88.93
Nitratos	mg/L	0.021
Cobre	mg/L	0.05557
Níquel	mg/L	0.0087
Cromo	mg/L	0.0084
Cianuros	mg/L	0.001
Sodio	mg/L	143.5
Potasio	mg/L	23.52
Calcio	mg/L	13.84
Magnesio	mg/L	4.226

El análisis de los parámetros mostrados en la Tabla 13 permiten concluir que la concentración de Sulfatos, Cloruros, Nitratos, Cobre, Níquel, Cromo, Cianuros, Sodio, Potasio, Calcio y Magnesio se encuentran por debajo de los valores de la concentración límite inhibitoria para la producción de gas, por lo que el agua residual puede ser usada como influente sin inhibir la producción de gas.

3.5.2. Composición de la biomasa

Se mandó analizar la biomasa (residuos sólidos textiles) de la planta Inca Tops- Zamácola en el laboratorio de ensayo y control de calidad de la Universidad Católica de Santa María Arequipa-Perú con la finalidad de obtener los parámetros y analizar si los componentes de esta podrían interferir en la producción de gas. Anexo 16

Tabla 14. Análisis de biomasa inicial

Análisis	Resultados
Determinación de sólidos totales (%)	37.91
Determinación de materia volátil (Sonidos Volátiles%)	19.64
Deteerminación de pH en alimentos (Unidades pH 20 °C).	7.35
Determinación de humedad (%)	62.09

El análisis de la biomasa inicial muestra:

- 37.91 % de sólidos totales los cuales están por encima de las concentraciones recomendadas por lo que si se trabajara a con esta sin ningún tratamiento podría inhibir la cantidad de gas, sin embargo al agregar una cantidad de influente con proporción de 2:1 respecto la biomasa, este porcentaje disminuye hasta aproximadamente 20 %, este es un valor que no inhibe ni interfiere en la producción de gas.
- 19.64 % de sólidos volátiles, tiene valores altos sin embargo al humectar la biomasa inicial estos valores disminuirían estando dentro de los valores no inhibitorios.
- El pH de 7.35 se encuentra dentro de los valores recomendados para la producción de gas y permite el desarrollo de cepas metanogénicas

3.5 Evaluar la producción y composición de gas con los distintos inóculos utilizando un reactor DAS

3.5.1 Uso de un reactor DAS para el tratamiento biológico de los residuos sólidos textiles y producción de biogás.

El interés por los reactores de digestión anaeróbica seca está aumentando por la flexibilidad en la aceptación de desechos sólidos como materias primas de las actividades agrícolas, municipales e industriales, incluidos los bosques y los residuos de cultivos para la generación de energía, además en comparación con otros procesos de digestión anaerobia como la húmeda, la digestión anaerobia seca proporciona una mejor viabilidad económica porque el volumen del reactor se minimiza debido al volumen reducido de agua ^{89,90}

Es por esto que se usó un reactor de digestión anaeróbica seca que trabaja residuos sólidos industriales de la planta Inca Tops S.A., conformados por residuos de lana de oveja y fibra de alpaca, además de rastrojo (restos de tallos, hojas, pajas, tierra, etc.) con sólidos totales (ST) mayores al 15 % para ser considerado seco como lo menciona¹

Los reactores usados cuentan con un sistema de recirculación de influente, un depósito que contiene a la materia orgánica y un chaqueta que permite el control de la temperatura como se muestra en la Fig. 28.



Figura 28. Reactor usado para el tratamiento biológico de residuos sólidos textiles y producción de gas

3.5.2 Evaluación de la composición de biogás.

Se evaluó la composición de biogás producido en tres reactores de digestión anaeróbica seca con distintos inóculos. Como se muestra a continuación:

Reactor 1: inóculo de bacterias

Reactor 2: inóculo de hongos

Reactor 3: inóculo de consorcio (hongos y bacterias)

Cada experimentación se realizó por triplicado como se muestra en el Anexo 17,18 y 19 correspondientes a los datos de bacterias, hongos y consorcio respectivamente

El promedio de las tres repeticiones por experimentación se muestran a continuación.

Reactor 1: Inóculo de bacterias

Este reactor fue inoculado con las siguientes cepas bacterias: T-1, A-0 y A-3; la Tabla 15 mostrada a continuación, describe la composición del gas promedio de tres reactores obtenido tras un periodo de 60 días de funcionamiento, en este periodo de tiempo a cada reactor se realizaron tres lecturas a los 30, 45 y 60 días empleando el analizador de gas

Multitec 540, obteniendo 3.9 %, 2.55 %, 7.53 % y 1.75 ppm metano, dióxido de carbono, oxígeno, ácido sulfhídrico respectivamente.

Tabla 15. Promedio de las tres repeticiones de composición de gas con inóculo de bacterias

Composición de gas: Bacterias		
Componente	Unidad	Cantidad
Metano (CH ₄)	Volumen	3,90%
Dioxido de Carbono (CO ₂)	Volumen	2,55%
Oxígeno (O ₂)	Volumen	7,53%
Ácido sulfhídrico (H ₂ S)	ppm	1,75

El gas obtenido como muestra la Fig. 29 presenta un porcentaje de muy bajo en comparación a estudios que reportan valores promedio de 40 y 70 %⁹¹⁻⁹³ en biogás; los porcentajes bajos de dióxido de carbono se encuentran dentro de los valores obtenidos tras la aplicación de diferentes tratamientos para su remoción del biogás, los cuales alcanzan un rango entre 0-4 %^{94,95}, respecto al O₂ este presenta un promedio de 7.53 % por lo que se presume que la degradación hecha por las bacterias se da de manera muy lenta, sin embargo el porcentaje de ácido sulfhídrico se encuentra muy por debajo en comparación a los valores reportados de 10000 y 20000 ppm en^{77,79}.

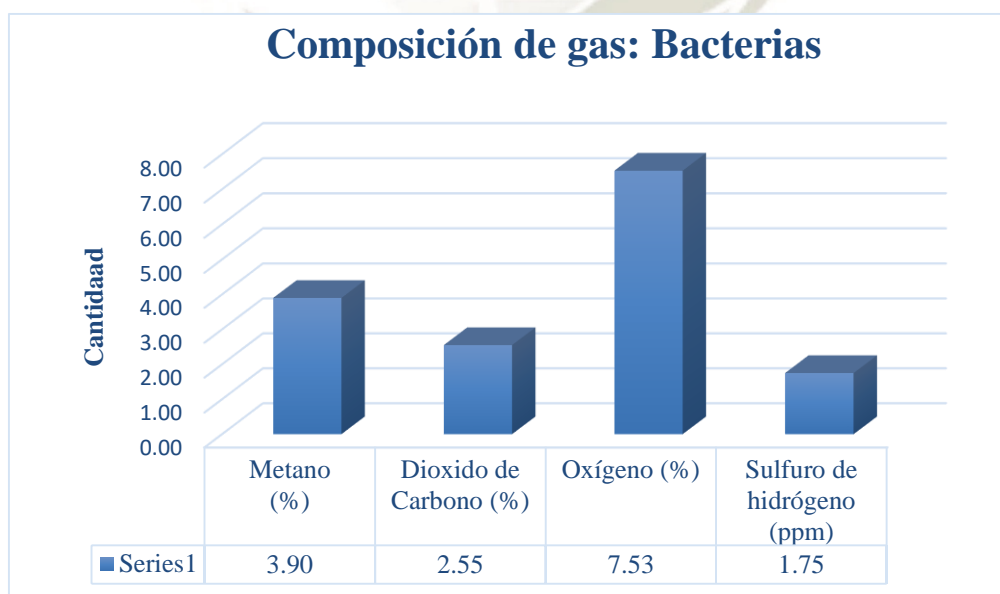


Figura 29. Composición de gas con inóculo de bacterias

Reactor 2: Inóculo de hongos

Esta experimentación se realizó por triplicado, cada una de estas tuvo una duración de 60 días y se realizaron tres lecturas a los 30, 45 y 60 días empleando el analizador de gas Multitec 540.

Estos reactores fueron inoculados con las cepas fúngicas: MA-3, MA-4 y MC-1. Estos se prepararon 15 días antes de la inoculación de los reactores.

El promedio del gas obtenido se muestra en la Tabla 16, obteniendo 5.95 %, 4.47 %, 14.92 % y 2 ppm metano, dióxido de carbono, oxígeno, ácido sulfhídrico respectivamente.

Tabla 16. Promedio de las tres repeticiones de composición de gas con inóculo de hongos

Composición de gas: Hongos		
Componente	Unidad	Cantidad
Metano (CH ₄)	Volumen	5,95%
Dioxido de Carbono (CO ₂)	Volumen	4,47%
Oxígeno (O ₂)	Volumen	14,92%
Ácido sulfhídrico (H ₂ S)	ppm	2

La Fig. 30 evidencia que el análisis del gas obtenido presenta un porcentaje de metano menor en comparación a estudios que reportan valores promedio de 40 y 70 %⁹¹⁻⁹³ en biogás; los porcentajes bajos de dióxido de carbono se encuentra en el rango de los valores obtenidos tras la aplicación de diferentes tratamientos para su remoción del biogás, los cuales estan entre 0-4 %^{94,95}.

En lo que respecta a O₂, se presenta un promedio de 14.92 %, este valor se considera alto, sin embargo el porcentaje de ácido sulfhídrico se encuentra muy por debajo en comparación a los valores reportados de 10000 y 20000 ppm^{77,79}.

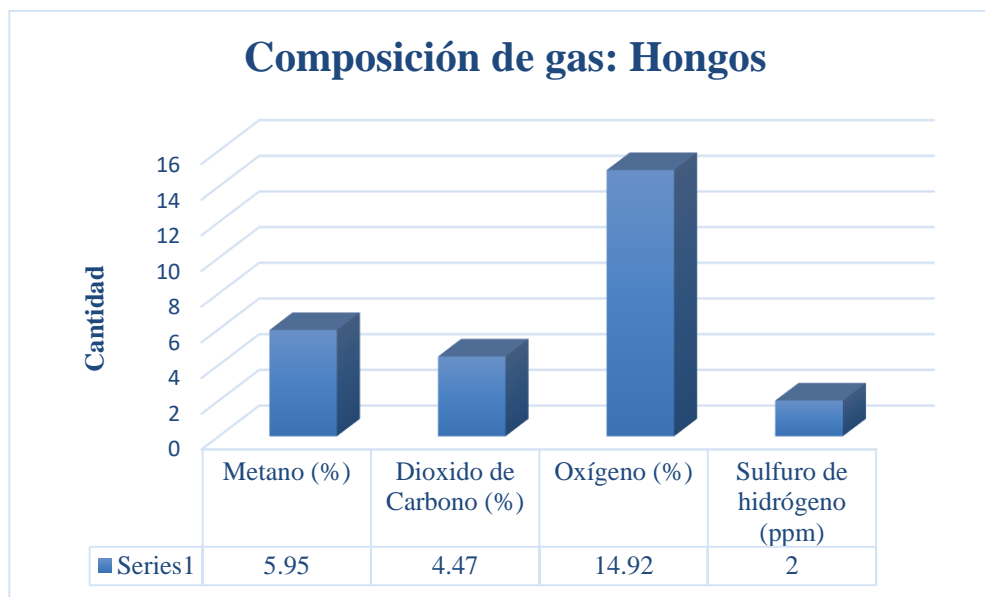


Figura 30. Composición de gas con inóculo de hongos

Reactor 3: Inóculo de consorcio

La Tabla 17, describe la composición del gas promedio de tres reactores obtenido tras un periodo de 60 días en el que se realizaron tres lecturas a los 30, 45 y 60 días a cada reactor empleando el analizador de gas Multitec 540, obteniendo 33.38 %, 6 %, 1.44 % y 0.89 ppm metano, dióxido de carbono, oxígeno, ácido sulfhídrico respectivamente.

Este reactor fue inoculado con las siguientes cepas bacterianas: T-1, A-0 y A-3 y las siguientes cepas fúngicas: MA-3, MA-4 y MC-1.

Tabla 17. Promedio de las tres repeticiones de composición de gas con inóculo de consorcio

Composición de gas: Consorcio		
Componente	Unidad	Cantidad
Metano (CH ₄)	Volumen	33,38%
Dioxido de Carbono (CO ₂)	Volumen	6,00%
Oxígeno (O ₂)	Volumen	1,44%
Ácido sulfhídrico (H ₂ S)	ppm	0,89

La Fig. 31 muestra de manera más clara los porcentajes de los componentes permitiendo analizar el gas obtenido.

Se observa un porcentaje de metano alto sin embargo no se encuentra en el rango de valores reportados de 40 y 70 %⁹¹⁻⁹³ en biogás; los bajos porcentajes de dióxido están casi en el rango de valores obtenidos tras la aplicación de diferentes tratamientos para su remoción del biogás, los cuales alcanzan un rango entre 0-4 %^{94,95}, por lo que no necesitaría un tratamiento para removerlo, respecto a O₂, se presenta un promedio de 1.44 %. Es importante resaltar los niveles bajos de 2 ppm de ácido sulfhídrico ya que los valores reportados se encuentran en rangos de 10000 y 20000 ppm en^{77,79} esta es una característica muy importante ya que este es considerado un contaminante del biogás y requiere tratamientos para su eliminación.

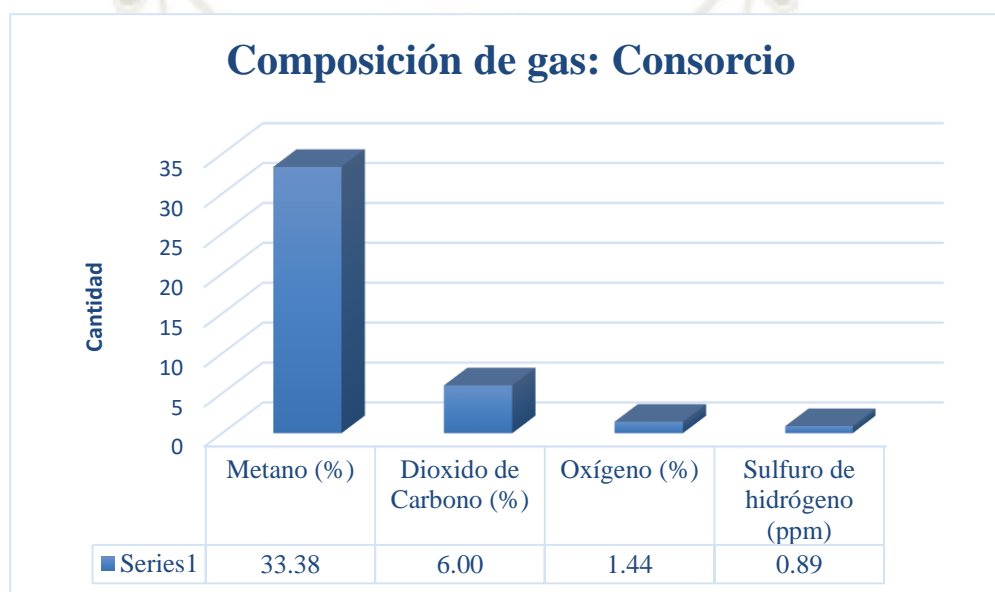


Figura 31. Composición gas consorcio

En general el biogás obtenido muestra muy buenas características mas un tomando en cuenta la naturaleza recalcitrante del sustrato y podría ser considerada para su uso como combustible.

3.5.3 Evaluación de la producción de biogás.

Se evaluó la producción de biogás en tres reactores de digestión anaeróbica seca con distintos inóculos como se muestra en la Tabla 18.

Cada experimentación se realizó por triplicado como se muestra en el Anexo 17,18 y 19.

Tabla 18. Promedio de las tres repeticiones de producción de gas

Reactor	Unidad	Cantidad (L)
Reactor 1	Volumen	0.365
Reactor 2	Volumen	1.67
Reactor 3	Volumen	15.77

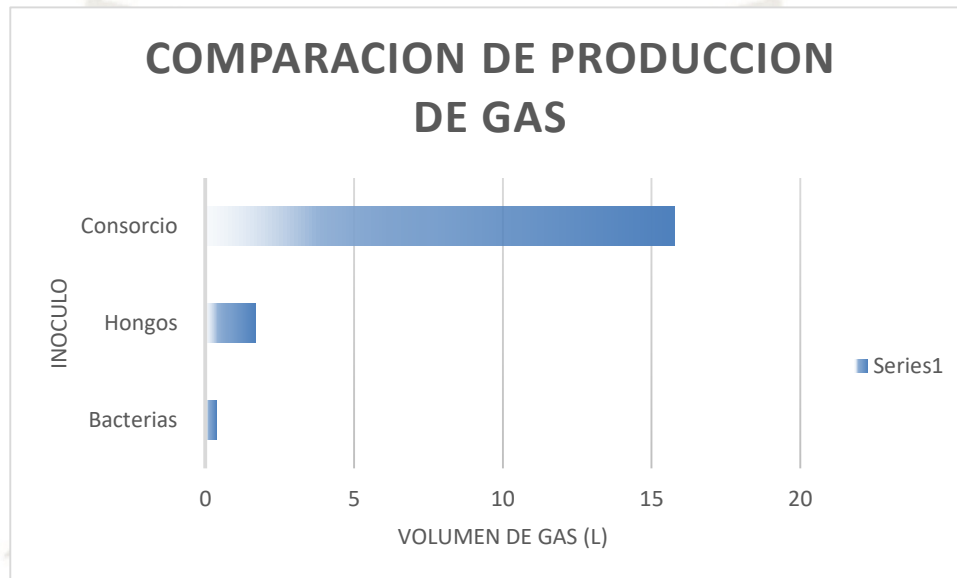


Figura 32. Comparación de la producción de gas con diferentes inóculos

Como se muestra en la Fig. 32 la mejor producción de gas se obtuvo en el reactor que trabajo con el consorcio de hongos y bacterias con 15.77 L como se muestra en la Tabla 18.

CONCLUSIONES

1. Se logró aislar 52 cepas bacterianas y 15 cepas fúngicas de los desechos sólidos textiles de la empresa Inca Tops.
2. Se seleccionaron 3 cepas fúngicas y 3 cepas bacterianas con capacidad de producción de gas.
3. Se caracterizó e identificó molecularmente las cepas seleccionadas con capacidad de producción de gas dando como resultado que la cepas *T-1* es *Pseudomona auruginosa*; la cepas *A-0* puede ser una nueva especie de *Proteus vulgaris*; la cepas *A-3* puede ser una nueva especie de *Alcaligenes sp*; la cepas *MC-1* es *Fusarium sp*; la cepas *MA-3* es *Fusarium oxyporum*; la cepas *MA-4* es *Monascus ruber*.
4. Se analizó el influente y el sustrato antes de comenzar el proceso en el reactor concluyendo que estos no inhiben ni impiden el buen funcionamiento del sistema y producción de gas.
5. Se evaluó la producción y composición de gas comparando tres distintos inóculos, bacterias, hongos y consorcio) llegando a la conclusión que el reactor inoculado con el consorcio tiene una buena producción y composición de gas.

RECOMENDACIONES

- Se debe incluir un manual de operación y mantenimiento del reactor donde se indique las actividades del operador, muestreos y análisis de laboratorio.
- Investigar y probar pre tratamientos al sustrato, además se debe considerar añadir potenciadores y de esta manera mejorar la producción de biogás
- La cepa MA-4 presenta características de producción de colorantes por lo que se recomienda realizar estudios de este.



BIBLIOGRAFÍA

1. Chattopadhyay S, Dutta A, Ray S. Municipal solid waste management in Kolkata, India – A review. *Waste Management*. 1 de abril de 2009;29(4):1449-58.
2. Karak T, Bhagat RM, Bhattacharyya P. Municipal Solid Waste Generation, Composition, and Management: The World Scenario. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 1 de agosto de 2012;42(15):1509-630.
3. Renewables 2017: Global Status Report. [Internet]. 2017 [citado 13 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://apps.uqo.ca/LoginSigparb/LoginPourRessources.aspx?url=http://www.deslibris.ca/ID/10091341>
4. Patinvoh RJ, Osadolor OA, Chandolias K, Sárvári Horváth I, Taherzadeh MJ. Innovative pretreatment strategies for biogas production. *Bioresource Technology*. 1 de enero de 2017;224:13-24.
5. Chynoweth DP. Environmental impact of biomethanogenesis. *Environ Monit Assess*. 1 de septiembre de 1996;42(1):3-18.
6. Muvhiiwa RF, Hildebrandt D, Glasser D, Matambo T, Sheridan C. A thermodynamic approach toward defining the limits of biogas production. *AIChE Journal*. 1 de diciembre de 2015;61(12):4270-6.
7. Stronach SM, Rudd T, Lester JN. *Anaerobic Digestion Processes in Industrial Wastewater Treatment*. Springer Science & Business Media; 2012. 190 p.
8. Ahring BK. *Biomethanation I*. Springer; 2003. 231 p.
9. Demirel B, Scherer P. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. *Rev Environ Sci Biotechnol*. 1 de junio de 2008;7(2):173-90.
10. Riggio S. Optimization of the process parameters controlling dry anaerobic digestion of spent animal bedding in leach-bed reactors [Internet] [phdthesis]. Université Paris-Est;

- 2017 [citado 20 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01632890/document>
11. Michael T Madigan TDB. Brock Biology of Microorganisms. 12° edición. San Francisco; 2009.
 12. Kothari R, Pandey AK, Kumar S, Tyagi VV, Tyagi SK. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 1 de noviembre de 2014;39:174-95.
 13. Bioconversión de H₂ / CO₂ mediante cultivos enriquecidos con acetógeno para la producción de acetato y etanol: el impacto del pH | SpringerLink [Internet]. [citado 21 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-015-1848-8>
 14. Bernet, N., Buffière, P. La Méthanisation (2e ed.). Lavoisier; 2008. 87-113 p.
 15. Zeeman G, Sutter K, Vens T, Koster M, Wellinger A. Psychrophilic digestion of dairy cattle and pig manure: Start-up procedures of batch, fed-batch and CSTR-type digesters. *Biological Wastes*. 1 de enero de 1988;26(1):15-31.
 16. Saady NMC, Massé DI. A start-up of psychrophilic anaerobic sequence batch reactor digesting a 35 % total solids feed of dairy manure and wheat straw. *AMB Express*. 20 de agosto de 2015;5(1):55.
 17. Lettinga G, Rebac S, Zeeman G. Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. *Trends in Biotechnology*. 1 de septiembre de 2001;19(9):363-70.
 18. Hegde G, Pullammanappallil P. Comparison of Thermophilic and Mesophilic One-Stage, Batch, High-Solids Anaerobic Digestion. *Environmental Technology*. 1 de abril de 2007;28(4):361-9.
 19. Labatut RA, Angenent LT, Scott NR. Conventional mesophilic vs. thermophilic anaerobic digestion: A trade-off between performance and stability? *Water Research*. 15 de abril de 2014;53:249-58.

20. Pohl M, Mumme J, Heeg K, Nettmann E. Thermo- and mesophilic anaerobic digestion of wheat straw by the upflow anaerobic solid-state (UASS) process. *Bioresource Technology*. 1 de noviembre de 2012;124:321-7.
21. Kim M, Ahn Y-H, Speece RE. Comparative process stability and efficiency of anaerobic digestion; mesophilic vs. thermophilic. *Water Research*. 1 de octubre de 2002;36(17):4369-85.
22. Gómez X, Blanco D, Lobato A, Calleja A, Martínez-Núñez F, Martín-Villacorta J. Digestion of cattle manure under mesophilic and thermophilic conditions: characterization of organic matter applying thermal analysis and ¹H NMR. *Biodegradation*. 1 de junio de 2011;22(3):623-35.
23. Moset V, Poulsen M, Wahid R, Højberg O, Møller HB. Mesophilic versus thermophilic anaerobic digestion of cattle manure: methane productivity and microbial ecology. *Microbial Biotechnology*. 1 de septiembre de 2015;8(5):787-800.
24. Palatsi J, Laurenzi M, Andrés MV, Flotats X, Nielsen HB, Angelidaki I. Strategies for recovering inhibition caused by long chain fatty acids on anaerobic thermophilic biogas reactors. *Bioresource Technology*. 1 de octubre de 2009;100(20):4588-96.
25. Abbassi-Guendouz A, Brockmann D, Trably E, Dumas C, Delgenès J-P, Steyer J-P, et al. Total solids content drives high solid anaerobic digestion via mass transfer limitation. *Bioresource Technology*. 1 de mayo de 2012;111:55-61.
26. Pommier S, Chenu D, Quintard M, Lefebvre X. A logistic model for the prediction of the influence of water on the solid waste methanization in landfills. *Biotechnology and Bioengineering*. 15 de junio de 2007;97(3):473-82.
27. Yang L, Xu F, Ge X, Li Y. Challenges and strategies for solid-state anaerobic digestion of lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 1 de abril de 2015;44:824-34.
28. Le Hyaric R, Chardin C, Benbelkacem H, Bollon J, Bayard R, Escudie R, et al. Influence of substrate concentration and moisture content on the specific methanogenic activity of dry mesophilic municipal solid waste digestate spiked with propionate. *Bioresource Technology*. 1 de enero de 2011;102(2):822-7.

29. Motte J-C, Escudíé R, Bernet N, Delgenes J-P, Steyer J-P, Dumas C. Dynamic effect of total solid content, low substrate/inoculum ratio and particle size on solid-state anaerobic digestion. *Bioresource Technology*. 1 de septiembre de 2013;144:141-8.
30. Vandevivere P, De Baere L, Verstraete W. Types of anaerobic digester for solid wastes. En: *Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes* [Internet]. IWA Publishing; 2003 [citado 21 de noviembre de 2018]. p. 111-40. Disponible en: <http://hdl.handle.net/1854/LU-210258>
31. Ward AJ, Hobbs PJ, Holliman PJ, Jones DL. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology*. 1 de noviembre de 2008;99(17):7928-40.
32. Yenigün O, Demirel B. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. *Process Biochemistry*. 1 de mayo de 2013;48(5):901-11.
33. Ward AJ, Hobbs PJ, Holliman PJ, Jones DL. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology*. 1 de noviembre de 2008;99(17):7928-40.
34. Seghezze L, Zeeman G, van Lier JB, Hamelers HVM, Lettinga G. A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. *Bioresource Technology*. 1 de septiembre de 1998;65(3):175-90.
35. Hernández Martín S. Biomasa algal como fuente de producción de metano vía co-digestión anaerobia. 2017 [citado 1 de diciembre de 2018]; Disponible en: <http://uvadoc.uva.es:80/handle/10324/22918>
36. López-Hontangas JL. Técnicas de identificación. 1992;3:16.
37. Corrales LC, Antolinez Romero DM, Bohórquez Macías JA, Corredor Vargas AM. Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. *Nova*. 15 de diciembre de 2015;13(24):55.
38. Boyle CD, Kropp BR, Reid ID. Solubilization and Mineralization of Lignin by White Rot Fungi. *Appl Environ Microbiol*. 1 de octubre de 1992;58(10):3217-24.

39. Varnero MT, Quiroz MS, Álvarez CH. Utilización de Residuos Forestales Lignocelulósicos para Producción del Hongo Ostra (*Pleurotus ostreatus*). Información tecnológica. 2010;21(2):13-20.
40. Taherzadeh MJ, Karimi K. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. septiembre de 2008;9(9):1621-51.
41. Brenner K, You L, Arnold FH. Engineering microbial consortia: a new frontier in synthetic biology. *Trends in Biotechnology*. 1 de septiembre de 2008;26(9):483-9.
42. Fay P. Oxygen relations of nitrogen fixation in cyanobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 1 de junio de 1992;56(2):340-73.
43. Maspolim Y, Zhou Y, Guo C, Xiao K, Ng WJ. Comparison of single-stage and two-phase anaerobic sludge digestion systems – Performance and microbial community dynamics. *Chemosphere*. 1 de diciembre de 2015;140:54-62.
44. Del Real Olvera, Jorge. Evaluación y modelado de la cinética de depuración anaerobia de vinazas de la industria alcohólica. [mexico]; 2007.
45. Hernández MS, Delgadillo LRM. Aplicación del modelo Adm1 en la digestión anaerobia de aguas residuales y desechos sólidos. *Tumbaga*. 2011;1(6):29-42.
46. Yadvika, Santosh, Sreekrishnan TR, Kohli S, Rana V. Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques—a review. *Bioresource Technology*. 1 de octubre de 2004;95(1):1-10.
47. Anderson GK. Identification and control of inhibition in the anaerobic treatment of industrial wastewaters. *Process Biochem*. 1982;17:28-32.
48. Ferrer Y, Pérez H. Los microorganismos en la digestión anaerobia y la producción de biogás. Consideraciones en la elección del inóculo para el mejoramiento de la calidad y el rendimiento. *ICIDCA Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar [Internet]*. 2010 [citado 1 de diciembre de 2018];43(1). Disponible en: <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=223120681002>

49. Mao C, Feng Y, Wang X, Ren G. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 1 de mayo de 2015;45:540-55.
50. El-Mashad HM, Zhang R. Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste. *Bioresource Technology*. 1 de junio de 2010;101(11):4021-8.
51. Romano RT, Zhang R, Teter S, McGarvey JA. The effect of enzyme addition on anaerobic digestion of JoseTall Wheat Grass. *Bioresource Technology*. 1 de octubre de 2009;100(20):4564-71.
52. Buendía IM, Fernández FJ, Villaseñor J, Rodríguez L. Feasibility of anaerobic co-digestion as a treatment option of meat industry wastes. *Bioresource Technology*. 1 de marzo de 2009;100(6):1903-9.
53. Pavlostathis SG, Giraldo-Gomez E. Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. *Critical Reviews in Environmental Control*. 1 de enero de 1991;21(5-6):411-90.
54. Eastman JA, Ferguson JF. Solubilization of Particulate Organic Carbon during the Acid Phase of Anaerobic Digestion. *Journal (Water Pollution Control Federation)*. 1981;53(3):352-66.
55. Makinson KR. Surface properties of wool fibers. *Fiber science series* [Internet]. 1975 [citado 1 de diciembre de 2018]; Disponible en: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302999949>
56. Gacén Guillén, J. Lana. *Parámetros Químicos*. 1989;96-8.
57. Vílchez S. Nuevos tratamientos de lana con enzimas [Internet]. Universidad de Barcelona; 2006 [citado 1 de diciembre de 2018]. Disponible en: <https://digital.csic.es/handle/10261/32604>
58. SÁNCHEZ, José Cegarra. *Fundamentos y tecnología del blanqueo de materias textiles*. [Universitat Politècnica de Catalunya]; 1997.
59. Canal Barnils C. Estudio de las propiedades superficiales y del post-suavizado de tejidos de lana y poliamida 6 tratados con plasma [Internet] [Ph.D. Thesis]. Universitat

- Politècnica de Catalunya; 2005 [citado 1 de diciembre de 2018]. Disponible en: <http://www.tdx.cat/handle/10803/6494>
60. Kang Q, Appels L, Tan T, Dewil R. Bioethanol from Lignocellulosic Biomass: Current Findings Determine Research Priorities [Internet]. The Scientific World Journal. 2014 [citado 6 de diciembre de 2018]. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/298153/abs/>
61. Patinvoh RJ, Feuk-Lagerstedt E, Lundin M, Sárvári Horváth I, Taherzadeh MJ. Biological Pretreatment of Chicken Feather and Biogas Production from Total Broth. *Appl Biochem Biotechnol*. 1 de diciembre de 2016;180(7):1401-15.
62. Salminen E, Einola J, Rintala J. The methane production of poultry slaughtering residues and effects of pre-treatments on the methane production of poultry feather. *Environmental Technology*. 1 de septiembre de 2003;24(9):1079-86.
63. Schnürer Anna JA. *Microbiological Handbook for Biogas Plants*. 2010.
64. Hoornweg, D. *What a waste: a global review of solid waste management*. 2012;
65. Yoshida S, Hiraga K, Takehana T, Taniguchi I, Yamaji H, Maeda Y, et al. A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). *Science*. 11 de marzo de 2016;351(6278):1196-9.
66. Jeihanipour A, Aslanzadeh S, Rajendran K, Balasubramanian G, Taherzadeh MJ. High-rate biogas production from waste textiles using a two-stage process. *Renewable Energy*. 1 de abril de 2013;52:128-35.
67. Angelidaki I, Sanders W. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. junio de 2004;3(2):117-29.
68. Daroit DJ, Corrêa APF, Brandelli A. Keratinolytic potential of a novel *Bacillus* sp. P45 isolated from the Amazon basin fish *Piaractus mesopotamicus*. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 1 de abril de 2009;63(3):358-63.

69. Mad E, Oliver AC, Garcia LS, Fuente NFDL, Garcia CS, Bermejo MJG. Técnico especialista en laboratorio de atención primaria del instituto catalán de la salud. Temario volumen ii. MAD-Eduforma; 2006. 563 p.
70. Universidad Mayor, Moncada G, Duperat L del C, Universidad de Chile, Palma P, Universidad de Chile, et al. Técnica de reacción de polimerasa en cadena (qpcr) en tiempo real para la identificación y cuantificación de streptococcus mutans en saliva y biopelícula dentaria de niños. Revista Facultad de Odontología. enero de 2016;28(1):71-94.
71. Sievers F, Wilm A, Dineen D, Gibson TJ, Karplus K, Li W, et al. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. Molecular Systems Biology. 1 de enero de 2011;7(1):539.
72. Goujon M, McWilliam H, Li W, Valentin F, Squizzato S, Paern J, et al. A new bioinformatics analysis tools framework at EMBL–EBI. Nucleic Acids Res. 1 de julio de 2010;38(suppl_2):W695-9.
73. McWilliam H, Li W, Uludag M, Squizzato S, Park YM, Buso N, et al. Analysis Tool Web Services from the EMBL-EBI. Nucleic Acids Res. 1 de julio de 2013;41(W1):W597-600.
74. Britania. Tioglicolato medio fluido sin indicador. Argentina; 2015.
75. Kröber M, Bekel T, Diaz NN, Goesmann A, Jaenicke S, Krause L, et al. Phylogenetic characterization of a biogas plant microbial community integrating clone library 16S-rDNA sequences and metagenome sequence data obtained by 454-pyrosequencing. Journal of Biotechnology. 1 de junio de 2009;142(1):38-49.
76. Gardes M, Bruns TD. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology. abril de 1993;2(2):113-8.
77. Ryan KJ. Sherris medical microbiology [Internet]. Sexta edición. 2014 [citado 30 de noviembre de 2018]. 617-627 p. Disponible en: <http://accessmedicine.mhmedical.com/book.aspx?bookid=2268>

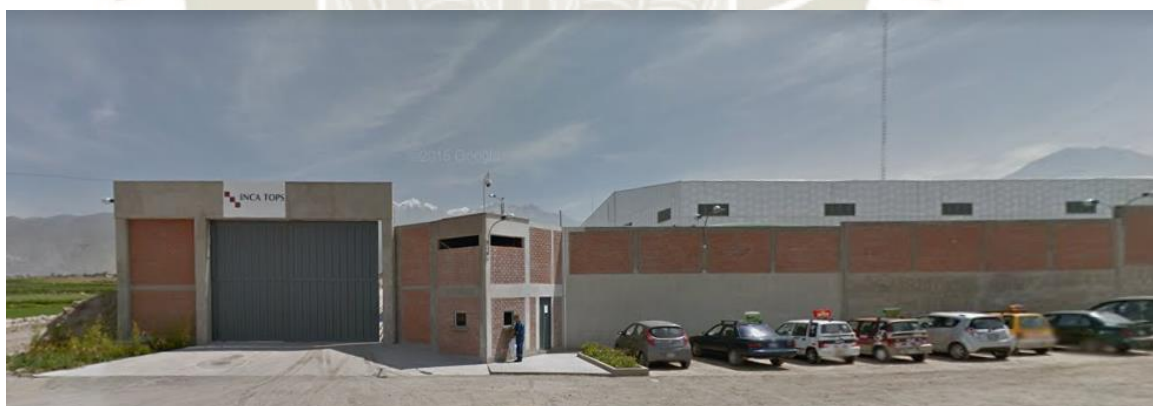
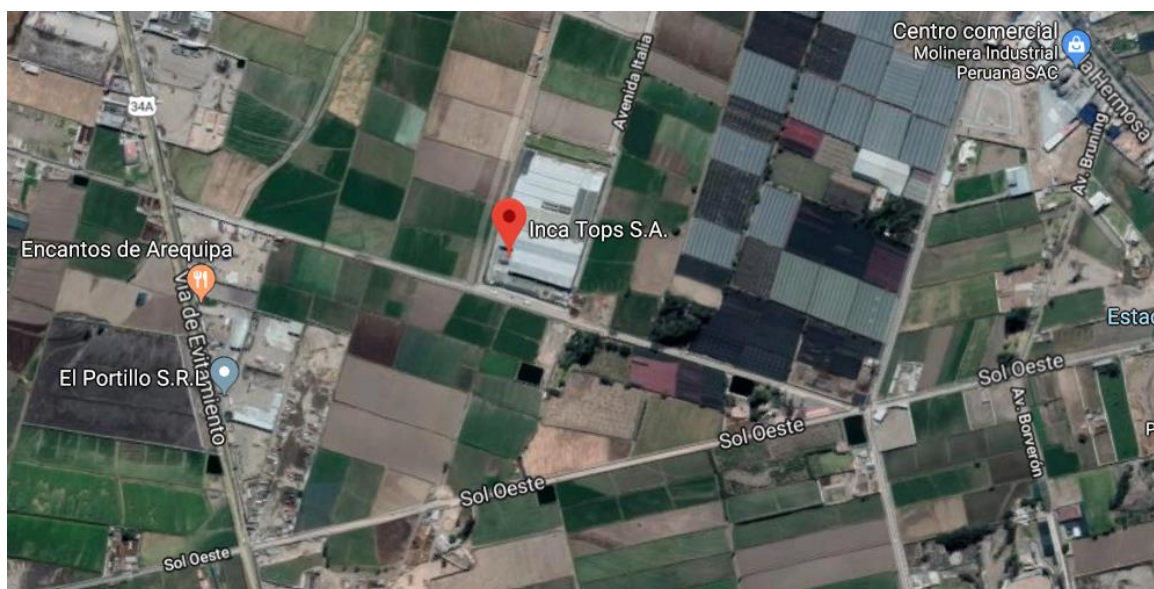
78. Pellizzari EE, Marinich Ig, Flores SA, Giménez cm. Degradación de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* para bioremediación de agua. estudio preliminar. Avances en Ciencias e Ingeniería [Internet]. 2015 [citado 30 de noviembre de 2018];6(1). Disponible en: <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=323635882001>.
79. Saratale RG, Saratale GD, Chang JS, Govindwar SP. Decolorization and biodegradation of reactive dyes and dye wastewater by a developed bacterial consortium. *Biodegradation*. 1 de noviembre de 2010;21(6):999-1015.
80. Lehninger, A. N D. Principios de Bioquímica. 4ª Edición. Omega; 2006.
81. Don RH, Pemberton JM. Properties of six pesticide degradation plasmids isolated from *Alcaligenes paradoxus* and *Alcaligenes eutrophus*. *Journal of Bacteriology*. 1 de febrero de 1981;145(2):681-6.
82. Otte S, Grobden NG, Robertson LA, Jetten MS, Kuenen JG. Nitrous oxide production by *Alcaligenes faecalis* under transient and dynamic aerobic and anaerobic conditions. *Appl Environ Microbiol*. 1 de julio de 1996;62(7):2421-6.
83. Zhang C, Li J, Liu C, Liu X, Wang J, Li S, et al. Alkaline pretreatment for enhancement of biogas production from banana stem and swine manure by anaerobic codigestion. *Bioresource Technology*. 1 de diciembre de 2013;149:353-8.
84. Bühler RMM, Dutra AC, Vendruscolo F, Moritz DE, Ninow JL. *Monascus* pigment production in bioreactor using a co-product of biodiesel as substrate. *Food Science and Technology*. febrero de 2013;33:9-13.
85. Carvalho JC de, Oishi BO, Pandey A, Soccol CR. Biopigments from *Monascus*: strains selection, citrinin production and color stability. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. noviembre de 2005;48(6):885-94.
86. Hamano PS, Orozco SFB, Kilikian BV. Concentration determination of extracellular and intracellular red pigments produced by *Monascus* sp. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. junio de 2005;48(SPE):43-9.
87. Accettola F, Guebitz GM, Schoeftner R. Siloxane removal from biogas by biofiltration: biodegradation studies. *Clean Techn Environ Policy*. 1 de mayo de 2008;10(2):211-8.

88. Hilbert, J.A. Manual para la producción de biogas. Castelar: Instituto de Ingenieria Rural I.N.T.A.; 2011.
89. Karthikeyan OP, Visvanathan C. Bio-energy recovery from high-solid organic substrates by dry anaerobic bio-conversion processes: a review. Rev Environ Sci Biotechnol. 1 de septiembre de 2013;12(3):257-84.
90. Sharholy M, Ahmad K, Mahmood G, Trivedi RC. Municipal solid waste management in Indian cities – A review. Waste Management. 1 de enero de 2008;28(2):459-67.
91. Porpatham E, Ramesh A, Nagalingam B. Investigation on the effect of concentration of methane in biogas when used as a fuel for a spark ignition engine. Fuel. 1 de julio de 2008;87(8):1651-9.
92. Weiland P. Biogas production: current state and perspectives. Appl Microbiol Biotechnol. 1 de enero de 2010;85(4):849-60.
93. Köfalusi GK AG. Los productos y los impactos de la descomposición de residuos sólidos urbanos en los sitios de disposición final. Gaceta ecológica. 2006;N°79:39-51.
94. Souza J, Schaeffer L. Sistema de compresión de biogás y biometano. Información tecnológica. 2013;24(6):03-8.
95. Barik D SS, Murugan S. Biogas production and storage for fueling internal combustion engines. 2013;
96. Köfalusi GK AG. Investigation on the effect of concentration of methane in biogas when used as a fuel for a spark ignition engine. Gaceta ecológica. 2006;N°79:39-51.
97. Britania. Sabouraud Agar. Argentina: Laboratorios Britania S.A; 2015 nov p. 2.

ANEXOS

Anexo 1. Plano de ubicación de la planta IV de la empresa de Inca Tops S.A.

Ubicada en Irrigación Zamácola, Sector G, S/N, Cerro Colorado



Anexo 2. Caldo tioglicolato.

Fundamento:

Favorece al crecimiento de una amplia variedad de microorganismos, incluidos los nutricionalmente exigentes. El medio tiene sus aportes nutritivos en el extracto de levadura, la glucosa da el aporte energético, la salinidad en el medio está dada por el cloruro de sodio, mientras que las sustancias como tioglicolato de sodio, el sulfito de sodio y cisteína disminuyen el potencial de óxido reducción y debido a los grupos -SH- de estos compuestos, se neutralizan los efectos bacteriostáticos de los derivados mercuriales, arsenicales y de otros metales pesados que pudieran estar presentes en la muestra en estudio. El bajo contenido de agar le otorga la propiedad de ser un medio fluido y retarda la dispersión de CO₂ y O₂⁷⁴. Debido a estas características desarrollan microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y estrictos. El crecimiento microbiano se observa por turbidez

Composición:

Tripteína	17.0 g
Peptona de soya	3.0 g
Glucosa	6.0 g
Cloruro de sodio	2.5 g
Tioglicolato de sodio	0.5 g
Agar	0.7 g
L-Cisteína	0.25 g
Sulfito de sodio	0.1 g

Preparación

Suspender 28 g por litro de agua destilada, agitar, calentar hasta ebullición y dejar hervir por al menos 1 minuto. Distribuir en tubos y proceder a esterilizar el medio en el autoclave a 121 °C, 1.5 atm por 15 minutos.

Interpretación de los resultados

- Microorganismos aerobios estrictos: crecen en la parte superior del medio de cultivo.
- Microorganismos anaerobios facultativos: crecen en todo el medio de cultivo.
- Microorganismos anaerobios estrictos: crecen en las profundidades del medio de cultivo.

Anexo 3. Agar sangre

Fundamento

La infusión de músculo de corazón y la peptona, otorga al medio un alto valor nutritivo, que permite el desarrollo de gran variedad de microorganismo, aun de aquellos nutricionalmente exigentes. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar es el agente solidificante. El agregado de sangre al medio de cultivo en 5 – 10 % promueve el desarrollo de bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales y la adecuada observación de las reacciones de hemólisis.

Composición

Infusión de músculo de corazón	375.0 g
Peptona	10.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Agar	15.0 g

Preparación

Suspender 40 g por litro de agua destilada, agitar, calentar hasta ebullición y dejar hervir por al menos 1 minuto. Esterilizar el medio en el autoclave a 121 °C, 1.5 atm por 15 minutos. Dejar enfriar hasta 45 – 50 °C y agregar sangre al 5 %, homogenizar y distribuir en placas estériles.

Interpretación de los resultados

Observar las características de las colonias y las reacciones de hemólisis⁶⁹.

- Hemólisis alfa: lisis parcial de los glóbulos rojos. Se observa un halo de color verdoso alrededor de la colonia en estudio. Es debido a la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina (compuesto de color verdoso) por el peróxido de hidrógeno generado por los microorganismos.
- Hemólisis beta: lisis total de glóbulos rojos. Se observa un halo claro, brillante alrededor de la colonia en estudio.
- Hemólisis gamma: ausencia de lisis de glóbulos rojos. El medio de cultivo no presenta modificaciones de color ni aspecto alrededor de la colonia en estudio.

Anexo 4. Agar Sabouraud

Fundamento

En el medio de cultivo, la peptona, la tripteína y la glucosa son los nutrientes para el desarrollo de microorganismos. El alto contenido de glucosa, la presencia de cloranfenicol y el pH ácido, inhiben el desarrollo bacteriano y favorecen el crecimiento de hongos y levaduras. El agar es el agente solidificante⁹⁷.

Composición

Peptona	5.0 g
Tripteína	5.0 g
Glucosa	40.0 g
Cloranfenicol	0.05 g
Agar	15.0 g

Preparación

Suspender 65 g del polvo en 1 litro de agua destilada, agitar, calentar hasta ebullición y dejar hervir por al menos 1 minuto. Esterilizar el medio en el autoclave a 121 °C, 1.5 atm por 15 minutos. Distribuir en placas estériles.

Anexo 5. Caldo papa dextrosa*Fundamento*

En el medio de cultivo, el almidón de la papa proporciona los nutrientes para el desarrollo de microorganismos. La presencia de cloranfenicol, inhiben el desarrollo bacteriano y favorecen el crecimiento de hongos y levaduras.

Composición

Papa	200.0 g
Sacarosa	20.0 g
Sulfato de amonio	1 g
Cloranfenicol	0.4 g

Preparación

Se pelan y cortan las papara en trozos y se colocan en una olla con agua dejandolos cocinar luego se cuela y se recolecta en un matraz, se le agrega la sacarosa, sulfato de amonio y el cloranfenicol, finalmente se distribuye en frascos y se esteriliza el medio en el autoclave a 121 °C, 1.5 atm por 15 minutos.

Anexo 6. Tabla de producción de gas, evidenciado por ruptura o desplazamiento de medio

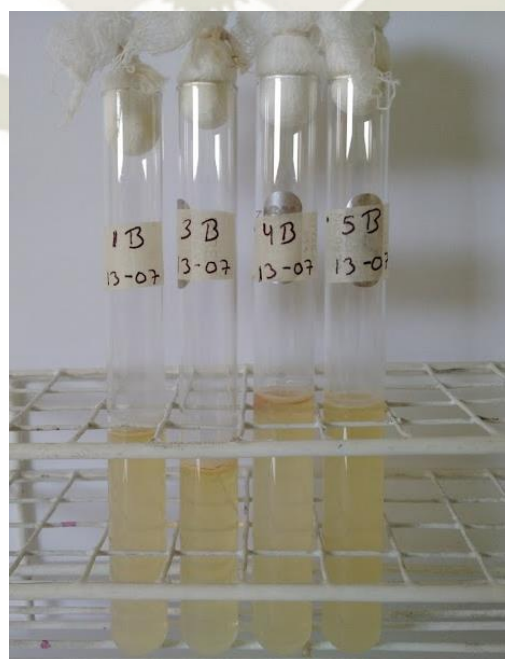
CEPAS BACTERIANAS			
Muestra	Cepa	Producción de gas	
1	A	Negativo	
2	1A	Negativo	
3	2A	Negativo	
4	3A	Negativo	
5	4A	Negativo	
6	Muestra "A"	A-0	Positivo
7		A-1	Negativo
8		A-2	Negativo
9		A-3	Positivo
10		A-4	Negativo
11		1B	Negativo
12	Muestra "B"	3B	Negativo
13		4B	Negativo
14		5B	Negativo
15		1C	Negativo
16		2C	Negativo
17		3C	Negativo
18	Muestra "C"	4C	Negativo
19		5C	Negativo
20		2C-0	Negativo
21		2C-1	Negativo
22		T-1	Positivo
23		T-2	Negativo
24		T-3	Negativo
25	Muestra "T"	T-4	Negativo
26		T-5	Negativo
27		T-6	Negativo
28		T-7	Negativo
29		T-8	Negativo
30		T-9	Negativo
31		T-10	Negativo
32		T-11	Negativo
33	Muestra "T"	T-12	Negativo
34		CA-1	Negativo
35		CA-2	Negativo
36	Muestra "CA"	CA-3	Negativo
37		CA-4	Negativo
38		CA-5	Negativo
39		CA-6	Negativo
40	Muestra "M"	M-1	Negativo
41		L-1	Negativo
42		L-2	Negativo
43	Muestra "L"	L-3	Negativo
44		L-4	Negativo
45		L-5	Negativo

46		L-6	Negativo
47		S-1	Negativo
48		S-2	Negativo
49	Muestra "S"	S-3	Negativo
50		S-4	Negativo
51		S-5	Negativo
52		S-6	Negativo

CEPAS FUNGICAS

	Muestra	Cepa	Producción de gas
1		MA-1	Negativo
2		MA-2	Negativo
3	Muestra "MA"	MA-3	Positivo
4		MA-4	Positivo
5		MA-X	Negativo
6		MA-Y	Negativo
7		MB-1	Negativo
8		MB-2	Negativo
9	Muestra "MB"	MB-3	Negativo
10		MB-4	Positivo
11		MB-X	Negativo
12		MB-Y	Negativo
13		MC-1	Positivo
14	Muestra "MC"	MC-X	Negativo
15		MC-Y	Negativo

Anexo 7. Panel fotográfico de identificación de cepas con capacidad de producción de gas



Anexo 8. Secuencia de cepas con capacidad de producción de gas

Secuencia de la cepa T-1:

GCAGTCGAGCGGATGAAGGGAGCTTGCTCCTGGATTCAGCGGCGGACGGGTG
AGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGATAACGTCCGGAAACGGGC
GCTAATACCGCATAACGTCCTGAGGGAGAAGTGGGGGATCTTCGGACCTCACGC
TATCAGATGAGCCTAGGTTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAA
GGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACCTGAG
ACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGG
CGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAA
AGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCTGTTTTGACG
TTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG
AAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTT
CAGCAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAAAC
TACTGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTTCTGTGTAGCGGTGAAA
TGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCGGACTGATA
CTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCACGCCGTANACGATGTGCGACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCTTAGT
GGCGCAGCTAACGCGATAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTA
AAAC

Secuencia de la cepa A-0:

GGGGAATGCGGGAGCCNTACACATGCAGTCGAGCGGTAACACGAGAGAGCTT
GCTCTCTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTATGGGAATCTGCCCG
ATAGAGGGGGATAACTACTGGAAACAGTGGCTAATACCGCATGCACTCTACG
GAGGAAAGGGGGGATCTTCAGACCTTGCCTATCGGATGAGCCCATATGGG
ATTAGCTAGTTGGTGAAGTAATGGCTCACCTAGGCAACGATCCCTAGCTGGTT
TGAGAGGATGACCAGCCACACTGGGACTGAGAACCCGGCCAAACCCCTACG
GAAGGCACCATGGGGAAATTTTGCACATGGGGGACACCCCGGATGCACCCTTG
CCCCGGGTTTAAGAAAGGCTTTAGGTTTGTAAAGTACTTTTCGGCGAGAAGAAA
AGGGATCCCCTTAATACCTTTGTCTGTTGACGTTACCCGCAGAATAAGCACCG
GCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTAATCGG
AATTACTGGGCGTAAAGCGCGTGCAGGCGGTCCATTAAGTCAGATGTGAAATC
CCCCGGGCTCAACTTGGGAATTGCATCTTAAACTGGTTGGCTAGAGTCTTGCAG

AGGGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATGTGGAGGAA
TACCGATGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAATACTGACGCTCAGACGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTCTAAACGATG
TCAACTATCTATTGGTGCTCTTGAACGTATCTTCTGAACTTAACGCTGTAGTTC
AACGCCCGGGGAATTACGGGCCCAAAGTAACTCTCAAGTGAATTGACGGGA
CGCGCACAAACGCGGTATGATGTGGGATTAATTCATGCACAGCGCAAAAAC
CTTTCTATACTCTTTGACGTCCTGGAAAGCCTATAAGATTTGGACGAGTTCCTT
CCGAGACCCCTAACACAGGTGCTGCATGGCTTGTCTGTCGCTCCTGTTGTGAA
ATGTTTGGTTAAGTTCCCGCAACCGGGCGCAACCCTTTGTCCTTTGTTTGCCCC
CCCCGAAAGGCTCCAAAAAAAAAAGGGGGTCTGCCAAGCGAAAAAAAAAGGG
GGGGGAAAGGGGGGGTAAATCCCTCCAAGGCCCCCTTGGGGCCCTTGGGGTTT
TAGGGCGTTCCCAAACATGGGTTCCGGAGGAAACAAGAGAACCCCAAAAACA
CCCCCGACGGTGGGGGAGAACACAACAATCACGGAAAAAAAAACCCCCAAA
ATAATAATTACTTTTTGCCCCGGGAGATAAATCCCC

Secuencia de la cepa A-3:

TGGGCATGGCGGCAGCCTAACCATGCAAGTCGAGCGGCAGCACGAGAGAGCT
TGCTCTCTTGGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTATGGGAACGTGCCC
GATAGCGGGGGATAACTACTGGAAAGAGTGGCTAATACCGCATGAGCCCTAC
GGGGGAAAGGGGGGGATCTTCAGACCTCGCGCTATCGGAGGGGCCGATATGG
GATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCAACGATCCCTAGCTGGT
TTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCCAAATCCCACC
GGAAGGAACCATGGGGAATTTTGGCACATGGGGGACAACCCCGGACCCACCC
TCGCGCGTGGATTAAGAAAGGCTTCAGGTTTGTAAAGGACTTTTGAGCGAGAAG
AAAAGGGATCCCCTAAATACCGTTTGCTGCTGACGTTATCCGCAGAATAAGCA
CCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTAAT
CGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGTGTAGGCGGTTTCGTAAAGACAGATGTGA
AATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCTTAAACTGCCTGGCTAGAGTCTG
TCAGAGGGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCAGTGAATGCGTAGATATGTGGA
GGAATACCGATGGCGAAGGCGGCCCCCTGGGATAATACTGACGCTCAGACGC
GAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTCTAAA
CGATGTCAACTATCTGGTGGTGCCCTTGAGCCGTGGTATCTGAACTTAACGCTG
TATTC AACGCCTGGGGAATTCGTCACAAGTAACTCTCAAGAATTGTCCGG
GACCGCGCACACGCGGGATGATGTGGATTAATCTATTCCCCGCGCAAAACCC

TTCCCTACTCGTCATGTCCTGAAATCCCAAAGAATTTGCGGAGCTCCTTAGAGA
ACCCGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGGTGTGGAATGTTGG
GGTTAGTTCCGCAACCAGCGCCACCCTTTGTCCTTTGGTGCCACCCCGTAACGG
TCCGATAATAATGCCAGAGACCAATCGAAGGAAGGGGGGGAAGGGGGGGAA
GGTCCTCTAGTCCCCTTTGGGCCTTAGGCCTTTAGCGCTTTTACACAGGGTTTC
GGGGGACAAAAGGTTTACCCCAAACCCCGCGGCGGGGCGGGACGAAAATAC
TTAAAAAACCCCCCAAATTATATTTTTTGCCGCGAAAATTCCCCAAGATT
GTGGGGGAAACC

Secuencia de la cepa MA-3:

CGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACTACT
TGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCTCCCGGTAAAACGGGACGGCCCGCAGAG
GACCCCTAAACTCTGTTTCTATATGTAACCTTCTGAGTAAAACCATAAATAATC
AAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAA
AATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAA
CGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTTC
AACCTCAAGCACAGCTTGGTGTGGGACTCGCGTTAATTCGCGTTCCCCAAA
TTGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAGTAAAACCCTCGTACT
GGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTTAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGG
ATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAT

Secuencia de la cepa MA-4:

ATTACCGAGTGCGGGTCCCCTTCGTGGGACCCAACCTCCCACCCGTGATTATTG
TACCTCCTGTTGCTTCGGCGCGGCCCGGGGCCCGCCGGAGACATCTTCTCG
AACGCTGTCTTTGAAAAGGATTGCTGTCTGAGTAAACATAACCAAATCGGTAA
AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAA
TGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACG
CACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTA
GCCCTCAAGCGCGGCTTGTGTGTTGGGCGCCGTCCCCTGCGCCTCCGGGCA
AGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGTGGCGGCGCCGCGTCCGGTCTCGAGCGT
ATGGGGCTTTGTCACCCGCTCAGTAGGTCGGGCGGGGCCTTTGCCCTCTCCA
ACCTTTTTTTTCTTAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATAACCCGCTGAACTT
AAGCATAT

Secuencia de la cepa MC-1:

CGGAGGGATATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCACTT
GTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCTCCCGGTAAAACGGGACGGCCCGCCAGAG
GACCCCTAAACTCTGTTTCTATATGTAACCTTCTGAGTAAAACCATAAATAAATC
AAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAA
AATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAA
CGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTTC
AACCTCAAGCACAGCTTGGTGTTGGGACTCGCGTTAATTCGCGTTCCCAA
TTGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAGTAAAACCTCGTTACT
GGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTTAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGG
ATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT



Anexo 9. Tabla de datos para elaborar curva de crecimiento de la cepa: T-1

N° de muestra	Día	Hora	Tiempo	Peso vacío	Peso lleno	Masa	Celular	Disolución	N° de bacterias 10⁶
1	5-Mar	08:00 a.m.	1	0.08475	0.0866	0.0018	103	1	1.03
2	5-Mar	11:00 a.m.	3	0.8351	0.8547	0.0196	110	10	11
3	5-Mar	02:00 p.m.	6	0.8337	0.8676	0.0339	190	10	19
4	5-Mar	05:00 p.m.	9	0.8788	0.9342	0.0554	31	100	31
5	5-Mar	08:00 p.m.	12	0.8411	0.9090	0.0679	38	100	38
6	6-Mar	08:00 a.m.	22	0.8136	0.9672	0.1536	86	100	86
7	6-Mar	11:00 a.m.	25	0.8405	1.0334	0.1929	108	100	108
8	6-Mar	02:00 p.m.	28	0.8314	1.0921	0.2607	146	100	146
9	6-Mar	05:00 p.m.	31	0.8042	1.1524	0.3482	19.5	1000	195
19	6-Mar	08:00 p.m.	34	0.8216	1.2859	0.4643	26	1000	260
11	7-Mar	08:00 a.m.	44	0.8042	1.4221	0.6179	34.6	1000	346
12	7-Mar	11:00 a.m.	47	0.8025	1.4525	0.6500	36.4	1000	364
13	7-Mar	02:00 p.m.	50	0.8354	1.5140	0.6786	38	1000	380
14	7-Mar	05:00 p.m.	53	0.7931	1.4931	0.7000	39.2	1000	392
15	7-Mar	08:00 p.m.	56	0.8317	1.5496	0.7179	40.2	1000	402
16	8-Mar	08:00 a.m.	66	0.8135	1.4796	0.6661	39	1000	373
17	8-Mar	11:00 a.m.	69	0.8263	1.4817	0.6554	38.6	1000	367
18	8-Mar	02:00 p.m.	72	0.7931	1.4163	0.6232	38.3	1000	349

Anexo 10. Tabla de datos para elaborar curva de crecimiento de la cepa: A-0

N° de muestra	Día	Hora	Tiempo	Peso vacío	Peso lleno	Masa	Celular	Disolución	N° de bacterias 10⁶
1	5-Mar	08:00 a.m.	1	0.8923	0.8943	0.0020	95	1	0.95
2	5-Mar	11:00 a.m.	3	0.8111	0.8323	0.0212	102	10	10.2
3	5-Mar	02:00 p.m.	6	0.8662	0.9161	0.0499	240	10	24
4	5-Mar	05:00 p.m.	9	0.8216	0.8965	0.0749	36	100	36
5	5-Mar	08:00 p.m.	12	0.8452	0.9450	0.0998	48	100	48
6	6-Mar	08:00 a.m.	22	0.807	1.0316	0.2246	108	100	108
7	6-Mar	11:00 a.m.	25	0.821	1.1101	0.2891	139	100	139
8	6-Mar	02:00 p.m.	28	0.7974	1.1967	0.3993	192	100	192
9	6-Mar	05:00 p.m.	31	0.7818	1.3163	0.5345	25.7	1000	257
19	6-Mar	08:00 p.m.	34	0.8312	1.4530	0.6218	29.9	1000	299
11	7-Mar	08:00 a.m.	44	0.8109	1.5512	0.7403	35.6	1000	356
12	7-Mar	11:00 a.m.	47	0.8096	1.5687	0.7591	36.5	1000	365
13	7-Mar	02:00 p.m.	50	0.8136	1.5872	0.7736	37.2	1000	372
14	7-Mar	05:00 p.m.	53	0.8063	1.5924	0.7861	37.8	1000	378
15	7-Mar	08:00 p.m.	56	0.8314	1.6300	0.7986	38.4	1000	384
16	8-Mar	08:00 a.m.	66	0.8024	1.5781	0.7757	37.3	1000	373
17	8-Mar	11:00 a.m.	69	0.8216	1.5848	0.7632	36.7	1000	367
18	8-Mar	02:00 p.m.	72	0.8206	1.5464	0.7258	34.9	1000	349

Anexo 11. Tabla de datos para elaborar curva de crecimiento de la cepa: A-3

N° de muestra	Día	Hora	Tiempo	Peso vacío	Peso lleno	Masa	Celular	Disolución	N° de bacterias 10⁶
1	5-Mar	08:00 a.m.	1	0.7931	0.7943	0.0012	70	1	0.7
2	5-Mar	11:00 a.m.	3	0.8017	0.8149	0.0132	80	10	8
3	5-Mar	02:00 p.m.	6	0.8042	0.8240	0.0198	120	10	12
4	5-Mar	05:00 p.m.	9	0.8031	0.8410	0.0379	23	100	23
5	5-Mar	08:00 p.m.	12	0.8136	0.8763	0.0627	38	100	38
6	6-Mar	08:00 a.m.	22	0.8234	0.9686	0.1452	88	100	88
7	6-Mar	11:00 a.m.	25	0.8693	1.0590	0.1897	115	100	115
8	6-Mar	02:00 p.m.	28	0.8119	1.0824	0.2705	164	100	164
9	6-Mar	05:00 p.m.	31	0.8069	1.1566	0.3497	21.2	1000	212
19	6-Mar	08:00 p.m.	34	0.8196	1.2419	0.4223	25.6	1000	256
11	7-Mar	08:00 a.m.	44	0.8228	1.3869	0.5641	34.2	1000	342
12	7-Mar	11:00 a.m.	47	0.8196	1.4266	0.6070	36.8	1000	368
13	7-Mar	02:00 p.m.	50	0.8315	1.4599	0.6284	38.1	1000	381
14	7-Mar	05:00 p.m.	53	0.8316	1.4782	0.6466	39.2	1000	392
15	7-Mar	08:00 p.m.	56	0.8219	1.4751	0.6532	39.6	1000	396
16	8-Mar	08:00 a.m.	66	0.8022	1.4438	0.6416	38.9	1000	389
17	8-Mar	11:00 a.m.	69	0.8335	1.4718	0.6383	38.7	1000	387
18	8-Mar	02:00 p.m.	72	0.8126	1.4493	0.6367	38.6	1000	386

Anexo 12 Tabla de datos para elaborar curva de crecimiento de la cepa MA-3

N^a de muestra	Día	Hora	Tiempo(h)	Peso vacío	Peso lleno	Masa m/gL
1	5/03/2018	08:00 a.m.	0	0.8337	0.8338	0.0001
2	5/03/2018	08:00 p.m.	12	0.8231	0.8233	0.0002
3	6/03/2018	08:00 a.m.	24	0.7965	0.7968	0.0003
4	6/03/2018	08:00 p.m.	36	0.7911	0.7917	0.0006
5	7/03/2018	08:00 a.m.	48	0.8065	0.8075	0.001
6	7/03/2018	08:00 p.m.	60	0.8091	0.8103	0.0012
7	8/03/2018	08:00 a.m.	72	0.8177	0.8193	0.0016
8	8/03/2018	08:00 p.m.	84	0.8028	0.8051	0.0023
9	9/03/2018	08:00 a.m.	96	0.8003	0.8028	0.0025
10	9/03/2018	08:00 p.m.	108	0.7933	0.7962	0.0029
11	10/03/2018	08:00 a.m.	120	0.7949	0.7983	0.0034
12	10/03/2018	08:00 p.m.	132	0.8937	0.8972	0.0035
13	12/03/2018	08:00 a.m.	168	0.716	0.7208	0.0048
14	12/03/2018	08:00 p.m.	180	0.902	0.9074	0.0054
15	13/03/2018	08:00 a.m.	192	0.7941	0.8008	0.0067
16	13/03/2018	08:00 p.m.	204	0.8205	0.828	0.0075
17	14/03/2018	08:00 a.m.	216	0.8025	0.8111	0.0086
18	14/03/2018	08:00 p.m.	228	0.8077	0.8172	0.0095
19	15/03/2018	08:00 a.m.	240	0.8045	0.8149	0.0104
20	15/03/2018	08:00 p.m.	252	0.8132	0.8248	0.0116
21	16/03/2018	08:00 a.m.	264	0.8233	0.8362	0.0129
22	16/13/2018	08:00 p.m.	276	0.8005	0.8157	0.0152
23	17/03/2018	08:00 a.m.	288	0.8287	0.845	0.0163
24	17/03/2018	08:00 p.m.	300	0.8037	0.8213	0.0176
25	19/03/2018	08:00 a.m.	336	0.7983	0.8177	0.0194
26	19/03/2018	08:00 p.m.	348	0.8203	0.8401	0.0198
27	20/03/2018	08:00 a.m.	360	0.7936	0.814	0.0204
28	20/03/2018	08:00 p.m.	372	0.7947	0.8148	0.0201
29	21/03/2018	08:00 a.m.	384	0.9028	0.9226	0.0198
30	21/03/2018	08:00 p.m.	396	0.843	0.8625	0.0195

Anexo 13. Tabla de datos para elaborar curva de crecimiento de la cepa MA-4

N ^o de muestra	Día	Hora	Tiempo(h)	Peso vacío	Peso lleno	Masa g/mL
1	5/03/2018	08:00 a.m.	0	0.8445	0.8446	0.0001
2	5/03/2018	08:00 p.m.	12	0.8233	0.8235	0.0002
3	6/03/2018	08:00 a.m.	24	0.8453	0.8458	0.0005
4	6/03/2018	08:00 p.m.	36	0.8543	0.855	0.0007
5	7/03/2018	08:00 a.m.	48	0.8671	0.868	0.0009
6	7/03/2018	08:00 p.m.	60	0.8449	0.846	0.0011
7	8/03/2018	08:00 a.m.	72	0.8386	0.8399	0.0013
8	8/03/2018	08:00 p.m.	84	0.8732	0.8749	0.0017
9	9/03/2018	08:00 a.m.	96	0.8179	0.8197	0.0018
10	9/03/2018	08:00 p.m.	108	0.8305	0.8324	0.0019
11	10/03/2018	08:00 a.m.	120	0.8724	0.8745	0.0021
12	10/03/2018	08:00 p.m.	132	0.8419	0.8444	0.0025
13	12/03/2018	08:00 a.m.	168	0.8642	0.8686	0.0044
14	12/03/2018	08:00 p.m.	180	0.8039	0.8089	0.005
15	13/03/2018	08:00 a.m.	192	0.8694	0.8751	0.0057
16	13/03/2018	08:00 p.m.	204	0.8582	0.8647	0.0065
17	14/03/2018	08:00 a.m.	216	0.8393	0.8463	0.007
18	14/03/2018	08:00 p.m.	228	0.8554	0.8633	0.0079
19	15/03/2018	08:00 a.m.	240	0.8324	0.841	0.0086
20	15/03/2018	08:00 p.m.	252	0.8825	0.8919	0.0094
21	16/03/2018	08:00 a.m.	264	0.8521	0.8625	0.0104
22	16/13/2018	08:00 p.m.	276	0.8393	0.851	0.0117
23	17/03/2018	08:00 a.m.	288	0.8496	0.8631	0.0135
24	17/03/2018	08:00 p.m.	300	0.8637	0.8785	0.0148
25	19/03/2018	08:00 a.m.	336	0.8417	0.8596	0.0179
26	19/03/2018	08:00 p.m.	348	0.8645	0.883	0.0185
27	20/03/2018	08:00 a.m.	360	0.8476	0.8663	0.0187
28	20/03/2018	08:00 p.m.	372	0.8671	0.8863	0.0192
29	21/03/2018	08:00 a.m.	384	0.8366	0.856	0.0194
30	21/03/2018	08:00 p.m.	396	0.8424	0.8613	0.0189

Anexo 14. Tabla de datos para elaborar curva de crecimiento de la cepa MC-1

N° de muestra	Día	Hora	Tiempo(h)	Peso vacío	Peso lleno	Masa g/mL
1	5/03/2018	08:00 a.m.	0	0.8397	0.8398	0.0001
2	5/03/2018	08:00 p.m.	12	0.7931	0.7934	0.0003
3	6/03/2018	08:00 a.m.	24	0.8035	0.8039	0.0004
4	6/03/2018	08:00 p.m.	36	0.8285	0.829	0.0005
5	7/03/2018	08:00 a.m.	48	0.8003	0.8012	0.0009
6	7/03/2018	08:00 p.m.	60	0.8231	0.8242	0.0011
7	8/03/2018	08:00 a.m.	70	0.8132	0.8146	0.0014
8	8/03/2018	08:00 p.m.	81	0.8042	0.8058	0.0016
9	9/03/2018	08:00 a.m.	96	0.8028	0.8047	0.0019
10	9/03/2018	08:00 p.m.	108	0.8175	0.8201	0.0026
11	10/03/2018	08:00 a.m.	120	0.8089	0.8121	0.0032
12	10/03/2018	08:00 p.m.	132	0.8063	0.8101	0.0038
13	12/03/2018	08:00 a.m.	156	0.7909	0.7958	0.0049
14	12/03/2018	08:00 p.m.	180	0.7966	0.8031	0.0065
15	13/03/2018	08:00 a.m.	192	0.8235	0.8305	0.007
16	13/03/2018	08:00 p.m.	204	0.8335	0.8413	0.0078
17	14/03/2018	08:00 a.m.	216	0.8139	0.8228	0.0089
18	14/03/2018	08:00 p.m.	228	0.8334	0.8431	0.0097
19	15/03/2018	08:00 a.m.	240	0.8494	0.8595	0.0101
20	15/03/2018	08:00 p.m.	252	0.8017	0.8127	0.011
21	16/03/2018	08:00 a.m.	264	0.8231	0.8355	0.0124
22	16/13/2018	08:00 p.m.	276	0.8151	0.8287	0.0136
23	17/03/2018	08:00 a.m.	288	0.9033	0.9189	0.0156
24	17/03/2018	08:00 p.m.	300	0.8296	0.847	0.0174
25	19/03/2018	08:00 a.m.	336	0.8852	0.9047	0.0195
26	19/03/2018	08:00 p.m.	348	0.8441	0.864	0.0199
27	20/03/2018	08:00 a.m.	360	0.8096	0.8299	0.0203
28	20/03/2018	08:00 p.m.	372	0.8087	0.8284	0.0197
29	21/03/2018	08:00 a.m.	384	0.8216	0.8404	0.0188
30	21/03/2018	08:00 p.m.	396	0.8123	0.8312	0.0189

Anexo 15. Análisis inicial del influente (agua residual de la empresa inca tops)

INFORME DE ENSAYO: 40882/2017

INFORME DE ENSAYO: 40882/2017

INCA TOPS S.A.

Av. Miguel Forga Nro. 348 Z.I. Parque Industrial Arequipa Arequipa Arequipa

Monitoreo Ambiental Irrigación Zamácola

Emitido por: Doris Quicara Choquepiunta - Griselda Cusi Coaquira
Fecha de Emisión: 09/10/2017


Lic. Quicara Doris Quicara Choquepiunta
CCP: 790
Supervisor de Laboratorio - Sede Arequipa


Lic. Griselda Cusi Coaquira
CCP: 9800
Analista de Laboratorio de Microbiología - Sede Arequipa

Renovación de Acreditación a ALS US Perú S.A.C. mediante registro LE-029
División - Medio Ambiente

Pág. 1 de 7

INFORME DE ENSAYO: 40882/2017

RESULTADOS ANALITICOS

Muestras del ítem: 1

Nº ALS LS

Fecha de Muestreo

Hora de Muestreo

Tipo de Muestra

Identificación

Parámetro	Ref. Mét.	Unidad	ID	
002 ANALISIS EN CAMPO				
Conductividad	1825	uS/cm	---	838,0
pH (Campo)	1840	Unidades pH	---	6,85
Temperatura	1844	°C	---	31,2
003 ANÁLISIS FISCOQUÍMICO				
Cloruro Total	12450	mg/L	0,001	< 0,001
Nitrógeno Amónico	13330	mg NH ₃ -N/L	0,004	10,61
Sulfuros	12194	mg/L	0,001	< 0,001
003 ANÁLISIS FISCOQUÍMICOS				
Aceites y Grasas	12261	mg/L	1,0	44,6
Amonio (mg NH ₄ /L)*	16235	mg NH ₄ /L	---	13,628
Cromo Hexavalente	12235	mg/L	0,002	< 0,002
Demanda Bioquímica de Oxígeno	1828	mg/L	2	920
Demanda Química de Oxígeno	8801	mg O ₂ /L	2	1798
Fosfatos	1830	mg PO ₄ -P/L	0,005	10,51
Fósforo Total	10818	mg P/L	0,007	23,95
Nitrógeno Total	11636	mg N/L	0,024	42,1
Sólido Sedimentable	15098	mL/L	0,2	1,5
Sólidos Totales Suspendidos	12440	mg/L	2	698
Sólidos Volátiles Suspendidos*	14134	mg/L	4	248
005 ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA - ANIONES				
Cloruros, Cl ⁻	16189	mg/L	0,020	88,93
Bromuro, Br ⁻	16189	mg/L	0,001	0,073
Fluoruros, F ⁻	16189	mg/L	0,002	0,451
Fosfatos, PO ₄ -3	16189	mg/L	0,050	63,76
Fosfatos (como P)	16189	mg/L	0,020	20,79
Nitratos, NO ₃ ⁻	16189	mg/L	0,010	0,094
Nitratos, (como N)	16189	mg/L	0,003	0,021
Nitritos, NO ₂ ⁻	16189	mg/L	0,003	< 0,003
Nitritos, (como N)	16189	mg/L	0,001	< 0,001
Sulfatos, SO ₄ -2	16189	mg/L	0,015	58,12
Nitratos, (como N) + Nitritos, (como N)*	15024	mg/L	0,004	0,021
007 ANÁLISIS DE METALES TOTALES ICP MS				
Plata (Ag)	11420	mg/L	0,000003	< 0,000003
Aluminio (Al)	11420	mg/L	0,002	9,965
Arsénico (As)	11420	mg/L	0,00003	0,02699
Boro (B)	11420	mg/L	0,002	0,431
Bario (Ba)	11420	mg/L	0,0001	6,438
Berilio (Be)	11420	mg/L	0,00002	< 0,00002
Bismuto (Bi)	11420	mg/L	0,00002	< 0,00002
Calcio (Ca)	11420	mg/L	0,10	13,84
Cadmio (Cd)	11420	mg/L	0,00001	< 0,00001
Cobalto (Co)	11420	mg/L	0,00001	0,00562
Cromo (Cr)	11420	mg/L	0,0001	0,0084
Cobre (Cu)	11420	mg/L	0,00003	0,05557
Hierro (Fe)	11420	mg/L	0,0004	10,07
Mercurio (Hg)	11420	mg/L	0,00003	0,00275
Potasio (K)	11420	mg/L	0,04	23,52
Litio (Li)	11420	mg/L	0,0001	0,0212
Magnesio (Mg)	11420	mg/L	0,003	4,726
Manganeso (Mn)	11420	mg/L	0,00003	0,8813

INFORME DE ENSAYO: 40882/2017

Nº ALS LS

Fecha de Muestreo

Hora de Muestreo

Tipo de Muestra

Identificación

Parámetro

370403/2017-1.0

13/09/2017

12:15:00

Agua Residual

Industrial

PTAR-IJASB

Parámetro	Ref. Mét.	Unidad	LD	
Molibdeno (Mo)	11420	mg/L	0,00002	0,00295
Sodio (Na)	11420	mg/L	0,006	143,5
Níquel (Ni)	11420	mg/L	0,0002	0,0087
Fósforo (P)	11420	mg/L	0,015	21,08
Plomo (Pb)	11420	mg/L	0,0002	0,0417
Antimonio (Sb)	11420	mg/L	0,00004	0,00220
Selenio (Se)	11420	mg/L	0,0004	< 0,0004
Silicio (Si)	11420	mg/L	0,2	41,6
Estaño (Sn)	11420	mg/L	0,00003	< 0,00003
Estroncio (Sr)	11420	mg/L	0,0002	0,1658
Titanio (Ti)	11420	mg/L	0,0002	0,3115
Talio (Tl)	11420	mg/L	0,00002	< 0,00002
Uranio (U)	11420	mg/L	0,00003	0,001026
Vanadio (V)	11420	mg/L	0,0001	0,0462
Zinc (Zn)	11420	mg/L	0,0100	0,1750
015 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS				
Coliformes Fecales	8825	NMP/100ml	1,8	24000000
Coliformes Totales	8818	NMP/100ml	1,8	24000000
021 ANÁLISIS TERCERIZADO				
Nitrógeno Total Kjeldahl*	2564	mg/L	—	54,98

Observaciones

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL - DA

INFORME DE ENSAYO: 40882/2017

CONTROLES DE CALIDAD

Control Blancos

Parámetro	LD	Unidad	Resultado	Fecha de Reporte
Aceites y grasas	1,0	mg/L	< 1,0	23/09/2017
Aluminio (Al)	0,002	mg/L	< 0,002	23/09/2017
Antimonio (Sb)	0,00004	mg/L	< 0,00004	23/09/2017
Arsénico (As)	0,00003	mg/L	< 0,00003	23/09/2017
Bario (Ba)	0,0001	mg/L	< 0,0001	23/09/2017
Berilio (Be)	0,00002	mg/L	< 0,00002	23/09/2017
Bismuto (Bi)	0,00002	mg/L	< 0,00002	23/09/2017
Boro (B)	0,002	mg/L	< 0,002	23/09/2017
Bromuro, Br-	0,001	mg/L	< 0,001	18/09/2017
Cadmio (Cd)	0,00001	mg/L	< 0,00001	23/09/2017
Calcio (Ca)	0,10	mg/L	< 0,10	23/09/2017
Cianuro Total	0,001	mg/L	< 0,001	20/09/2017
Cianuro Total	0,001	mg/L	< 0,001	20/09/2017
Cloruros, Cl-	0,020	mg/L	< 0,020	18/09/2017
Cobalto (Co)	0,00001	mg/L	< 0,00001	23/09/2017
Cobre (Cu)	0,00003	mg/L	< 0,00003	23/09/2017
Coliformes Totales	1,8	NMP/100 mL	< 1,8	19/09/2017
Cromo (Cr)	0,0001	mg/L	< 0,0001	23/09/2017
Cromo Hexavalente	0,002	mg/L	< 0,002	23/09/2017
Demanda Bioquímica de Oxígeno	2	mg/L	< 2	19/09/2017
Demanda Química de Oxígeno	2	mg O ₂ /L	< 2	15/09/2017
Estaño (Sn)	0,00003	mg/L	< 0,00003	23/09/2017
Estroncio (Sr)	0,0002	mg/L	< 0,0002	23/09/2017
Fluoruros, F-	0,002	mg/L	< 0,002	18/09/2017
Fosfatos	0,005	mg/L P-PO4-3	< 0,005	14/09/2017
Fosfatos (como P)	0,020	mg/L	< 0,020	18/09/2017
Fosfatos, PO4-3	0,060	mg/L	< 0,060	18/09/2017
Fósforo (P)	0,015	mg/L	< 0,015	23/09/2017
Fósforo Total	0,007	mg P/L	< 0,007	01/10/2017
Fósforo Total	0,007	mg P/L	< 0,007	01/10/2017
Hierro (Fe)	0,0004	mg/L	< 0,0004	23/09/2017
Litio (Li)	0,0001	mg/L	< 0,0001	23/09/2017
Magnesio (Mg)	0,003	mg/L	< 0,003	23/09/2017
Manganeso (Mn)	0,00003	mg/L	< 0,00003	23/09/2017
Mercurio (Hg)	0,00003	mg/L	< 0,00003	23/09/2017
Molibdeno (Mo)	0,00002	mg/L	< 0,00002	23/09/2017
Níquel (Ni)	0,0002	mg/L	< 0,0002	23/09/2017
Nitratos, (como N)	0,003	mg/L	< 0,003	18/09/2017
Nitratos, NO3-	0,010	mg/L	< 0,010	18/09/2017
Nitritos, (como N)	0,001	mg/L	< 0,001	18/09/2017
Nitritos, NO2-	0,003	mg/L	< 0,003	18/09/2017
Nitrógeno Amoniacal	0,004	mg NH3-N/L	< 0,004	19/09/2017
Nitrógeno Amoniacal	0,004	mg NH3-N/L	< 0,004	19/09/2017
Nitrógeno Total	0,024	mg N/L	< 0,024	22/09/2017
Plata (Ag)	0,000003	mg/L	< 0,000003	23/09/2017
Plomo (Pb)	0,0002	mg/L	< 0,0002	23/09/2017
Potasio (K)	0,04	mg/L	< 0,04	23/09/2017
Selenio (Se)	0,0004	mg/L	< 0,0004	23/09/2017
Silicio (Si)	0,2	mg/L	< 0,2	23/09/2017
Sodio (Na)	0,006	mg/L	< 0,006	23/09/2017
Sólidos Totales Suspendidos	2	mg/L	< 2	19/09/2017
Sulfatos, SO4-2	0,015	mg/L	< 0,015	18/09/2017
Sulfuros	0,001	mg S-2/L	< 0,001	19/09/2017
Talio (Tl)	0,00002	mg/L	< 0,00002	23/09/2017
Titanio (Ti)	0,0002	mg/L	< 0,0002	23/09/2017
Uranio (U)	0,000003	mg/L	< 0,000003	23/09/2017
Vanadio (V)	0,0001	mg/L	< 0,0001	23/09/2017
Zinc (Zn)	0,01	mg/L	< 0,01	23/09/2017

INFORME DE ENSAYO: 40882/2017

Control Estándar			
Parámetro	% Recuperación	Límites de Recuperación (%)	Fecha de Reporte
Aceites y Grasas	94,3	80-120	22/09/2017
Aceites y Grasas	96,5	80-120	22/09/2017
Aluminio (Al)	99,9	80-120	23/09/2017
Antimonio (Sb)	104,3	80-120	23/09/2017
Arsénico (As)	99,7	80-120	23/09/2017
Bario (Ba)	100,4	80-120	23/09/2017
Berilio (Be)	114,8	80-120	23/09/2017
Bismuto (Bi)	99,7	80-120	23/09/2017
Boro (B)	100,0	80-120	23/09/2017
Bromuro, Br-	100,2	80-120	23/09/2017
Cadmio (Cd)	98,9	90-110	18/09/2017
Calcio (Ca)	98,0	80-120	23/09/2017
Cianuro Total	92,5	80-120	21/09/2017
Cianuro Total	98,0	80-120	20/09/2017
Cloruro, Cl-	99,7	80-120	20/09/2017
Cobalto (Co)	97,4	90-110	18/09/2017
Cobre (Cu)	99,3	80-120	23/09/2017
Coliformes Totales	Positivo	---	23/09/2017
Coliformes Totales	Negativo	---	19/09/2017
Cromo (Cr)	96,8	---	19/09/2017
Cromo Hexavalente	98,4	80-120	23/09/2017
Cromo Hexavalente	100,0	80-120	21/09/2017
Demanda Biológica de Oxígeno	97,6	85-115	21/09/2017
Demanda Biológica de Oxígeno	112,1	85-115	19/09/2017
Demanda Química de Oxígeno	93,1	85-115	19/09/2017
Demanda Química de Oxígeno	99,8	85-115	15/09/2017
Estaño (Sn)	99,0	85-115	15/09/2017
Estroncio (Sr)	102,2	80-120	23/09/2017
Fluoruro, F-	100,8	80-120	23/09/2017
Fosfatos	97,2	90-110	18/09/2017
Fosfatos	103,7	85-115	14/09/2017
Fosfatos (como P)	101,1	90-110	14/09/2017
Fosfatos, PO4-3	101,2	90-110	18/09/2017
Fosforo (P)	108,8	90-110	18/09/2017
Fósforo Total	98,8	80-120	23/09/2017
Fósforo Total	100,1	80-120	01/10/2017
Hierro (Fe)	97,7	80-120	01/10/2017
Litio (Li)	115,4	80-120	23/09/2017
Magnesio (Mg)	94,8	80-120	23/09/2017
Manganeso (Mn)	101,0	80-120	23/09/2017
Mercurio (Hg)	112,0	80-120	23/09/2017
Molibdeno (Mo)	101,1	80-120	23/09/2017
Níquel (Ni)	99,0	80-120	23/09/2017
Nitratos, (como N)	100,2	90-110	23/09/2017
Nitratos, NO3-	100,2	90-110	18/09/2017
Nitritos, (como N)	99,9	90-110	18/09/2017
Nitritos, NO2-	99,7	90-110	18/09/2017
Nitrógeno Amoniacal	89,5	85-115	18/09/2017
Nitrógeno Amoniacal	92,5	85-115	19/09/2017
Nitrógeno Total	97,5	80-120	19/09/2017
Nitrógeno Total	101,9	80-120	22/09/2017
Plata (Ag)	101,2	80-120	22/09/2017
Plomo (Pb)	101,8	80-120	23/09/2017
Potasio (K)	102,8	80-120	23/09/2017
Selenio (Se)	100,0	80-120	23/09/2017
Silicio (Si)	112,0	80-120	23/09/2017
Sodio (Na)	94,8	80-120	23/09/2017
Sólidos Totales Suspendidos	102,0	80-120	23/09/2017
Sólidos Totales Suspendidos	113,0	80-120	19/09/2017
Sulfatos, SO4-2	99,4	90-110	19/09/2017
Sulfuros	93,0	80-120	18/09/2017
			19/09/2017

INFORME DE ENSAYO: 40882/2017

Parámetro	% Recuperación	Límites de Recuperación (%)	Fecha de Reporte
Talio (Tl)	98,7	80-120	23/09/2017
Titanio (Ti)	102,4	80-120	23/09/2017
Uranio (U)	99,9	80-120	23/09/2017
Vanadio (V)	98,2	80-120	23/09/2017
Zinc (Zn)	100,0	80-120	23/09/2017

LD = Límite de detección

DESCRIPCIÓN Y UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESTACIONES DE MONITOREO

Estación de Muestreo	Resp. del Muestreo	Tipo de Muestra	Fecha de Recepción	Fecha de Muestreo	Ubicación Geográfica UTM WGS84	Zona	Condición de la muestra	Descripción de la Estación de Muestreo
PTAR-UASB	ALS	Agua Residual Industrial	13/09/2017	13/09/2017	8189871N 225290E	19K	En buen estado de conservación	Pozo de almacenamiento de agua residual, ubicado al margen derecho, dentro de la Planta Zamacola

REFERENCIA DE LOS METODOS DE ENSAYO

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL - DA

Ref.	Sede	Parámetro	Método de Referencia	Descripción
12261	LME	Aceites y Grasas	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5520 B, 22nd Ed. 2012	Oil and Grease. Liquid-Liquid, Partition-Gravimetric Method
16235	LME	Amonio - Amoniaco no ionizado*	Standard Method 4500 NH3 F, 2012 - EPA 822-R-13-001 - Pag 7, 2013.	Ammonia - Phenate Method / AQUATIC LIFE AMBIENT WATER QUALITY CRITERIA FOR AMMONIA - FRESHWATER
16189	AQP	Aniones por Cromatografía Iónica	EPA METHOD 300.0, Rev 2.1, 1993	Determination of inorganic anions by ion chromatography
15024	AQP	Aniones por Cromatografía Iónica*	EPA METHOD 300.0, Rev 2.1, 1993	Determination of inorganic anions by ion chromatography
12450	LME	Cianuro Total	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-CN - C.E. 22nd Ed. 2012	Cyanate: Colorimetric Method
1825	AQP	Conductividad (Campo)	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 2510 B, 22nd Ed. 2012	Conductivity: Laboratory Method
12235	LME	Cromo Hexavalente	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 3500-Cr B, 22nd Ed. 2012	Chromium: Colorimetric Method
1828	AQP	Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5)	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5210 B, 22nd Ed. 2012	Biochemical Oxygen Demand (BOD): 5 Days BOD Test
8803	AQP	Demanda Química de Oxígeno	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5220 D, 22nd Ed. 2012	Chemical Oxygen Demand (COD): Closed Reflux, Colorimetric Method
1830	AQP	Fosfatos	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-P E, 22nd Ed. 2012	Phosphorus: Ascorbic Acid Method
10818	LME	Fósforo todas las formas (Fósforo Total)	EPA METHOD 365.3, 1983	Phosphorous, all forms (Colorimetric Ascorbic Acid, Two Reagent)
11420	LME	Metales Totales por ICP-MS	EPA 6020A, Rev. 1 February 2007	Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry
13330	LME	Nitrógeno Amoniacal, Amoniaco	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-NH3 F, 22nd Ed. 2012	Nitrogen (Ammonia): Preliminary Distillation Step / Phenate Method.
11636	LME	Nitrógeno Total (Skalar)	ISO 29441 (Validado), 1st. Ed. 2010	Water quality - Determination of total nitrogen after UV digestion - Method using flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection
2564	PER	Nitrógeno Total Kjeldahl - Tercerizado*	EPA 351.3, 1999	Nitrogen, Kjeldahl, Total (Colorimetric; Titrimetric; Potentiometric)
8825	AQP	Numeración de Coliformes Fecales	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 9221 E-1, 22nd Ed. 2012	Multiple-Tube Fermentation Technique for members of the Coliform Group, Fecal Coliform Procedure
8818	AQP	Numeración de Coliformes Totales	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 9221 B, 22nd Ed. 2012	Multiple-Tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group, Standard Total Coliform Fermentation Technique

INFORME DE ENSAYO: 40882/2017

Ref.	Sede	Parámetro	Método de Referencia	Descripción
1840	AQP	pH (Campo)	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-H+ B, 22nd Ed. 2012	pH Value Electrometric Method
15098	AQP	Sólido Sedimentable	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 2540 F, 22nd Ed. 2012	Settleable Solids
12440	LME	Sólidos Totales Suspendidos	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 2540 D, 22nd Ed. 2012	Solids: Total Suspended Solids Dried at 103-105°C
14124	LME	Sólidos Volátiles Suspendidos*	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 2540 E, 22nd Ed 2012	SOLIDS: Fixed and Volatile Solids Ignited at 550°C
12194	LME	Sulfuros	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-S2- D, 22nd Ed. 2012	Sulfide: Methylene Blue Method
1844	AQP	Temperatura (Campo)	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 2550 B, 22nd Ed. 2012	Temperature Laboratory and Field Methods

REFERENCIA DE LOS MÉTODOS DE MUESTREO

Tipo de Muestra	Procedimiento de Muestreo	Descripción	Plan de Muestreo
Agua	POS N° 034	Procedimiento de Muestreo, Conservación y Transporte de Agua	105730

CÓDIGOS DE AUTENTICIDAD DEL INFORME DE ENSAYO

ALS LS Perú S.A.C. asegura a sus clientes una completa autenticidad del Informe de Ensayo 40882/2017, para que este informe pueda ser verificado en su totalidad. Para comprobar la autenticidad de los mismos en la base de datos de ALS LS Perú S.A.C., visitar el sitio Web www.alsglobal.com e introducir los siguientes códigos de autenticidad que se detallan a continuación:

Estación de Muestreo	N° ALS LS	Código único de Autenticidad
PTAR-UASB	370409/2017-L0	nspnpto&3904073

ALS LS Perú S.A.C. asegurando la marca y prestigio de su empresa.

COMENTARIOS

ALS LS Perú S.A.C. cuenta con la acreditación vigente de Corporación Laboratorios Ambientales del Perú S.A.C. mediante registro LE-029, a partir del 01 de Setiembre del 2017.

AQP: Av. Dolores 167 - José Luis Bustamante y Rivero - Arequipa.

LME: Av. Argentina 1859 - Cercado - Lima.

*EPA: U.S. Environmental Protection Agency.

*SM: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.


*ASTM: American Society for Testing and Materials.

El presente documento es redactado íntegramente en ALS LS Perú S.A.C., su alteración o su uso indebido constituye delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones civiles y penales de la materia, queda prohibida la reproducción parcial del presente informe, salvo autorización escrita de ALS LS Perú S.A.C.; sólo es válido para las muestras referidas en el presente informe.

El lote de muestras que incluye el presente informe será descartado a los 30 días calendario de haber ingresado la muestra al laboratorio.


Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Anexo 16. Análisis de las condiciones de la biomasa



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

Urb. San José S/N Umascollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204205 + 51 54 282028 ANEXO 1166
 laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe | http://www.ucsm.edu.pe | Arequipa - PERU



INFORME DE ENSAYO
N° DE INFORME: ANA31G18.003484

Nombre del Cliente

Dirección del Cliente

RUC

Condición del Muestreo

Descripción

Tamaño de muestra

Fecha de Recepción

Fecha de Inicio del Ensayo

Fecha de Emisión de Informe

Página

: Maria Alejandra Salamanca Valdivia

: Urb. La Isla 234 Cercado

: No corresponde

: Por el cliente

: Lana con rastrojo

: 1500 g

: 31/07/2018

: 31/07/2018

: 08/08/2018

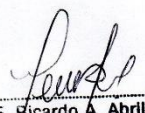
: 1 de 1

I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:


ANÁLISIS	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE SOLIDOS TOTALES (%) Método gravimétrico	37,91
DETERMINACIÓN DE MATERIA VOLÁTIL (SOLIDOS VOLÁTILES %) Método gravimétrico adaptado de COVENIN 1647-80 CARBON DETERMINACIÓN DE MATERIAL VOLÁTIL	19,64
DETERMINACIÓN DE pH EN ALIMENTOS (Unidades pH 20°C) , DETERMINACIÓN OF pH IN FOODS NMX-F-317-S-1978	7,35
DETERMINACION DE HUMEDAD (%) Official Methods of Analysis. 1990. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol. II. Method 925.45D. USA. p. 1010 - 1011.	62,09

OBSERVACIONES:

- Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL –DA.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad



Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez
 CQFDA 00624
 ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC



Anexo 17. Producción de gas: Bacterias

Experimentación N°1

Medición		N°1	N°2	N°3
COMPONENTE	UNIDAD	CANTIDAD		
Metano (CH ₄)	Volumen	5%	4,80%	-----
Dioxido de Carbono (CO ₂)	Volumen	3%	3,00%	-----
Oxígeno (O ₂)	Volumen	8%	1%	-----
Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)	Ppm	2	1,5	-----
Volumen		210ml	112ml	0
Volumen= 0.322 L				

Experimentación N°2

Medición		N°1	N°2	N°3
COMPONENTE	UNIDAD	CANTIDAD		
Metano (CH ₄)	Volumen	3,60%	3,20%	-----
Dioxido de Carbono (CO ₂)	Volumen	1,50%	3%	-----
Oxígeno (O ₂)	Volumen	8%	9%	-----
Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)	Ppm	2	1,5	-----
Volumen		270 ml	100ml	0
Volumen= 0.370 L				

Experimentación N°3

Medición		N°1	N°2	N°3
COMPONENTE	UNIDAD	CANTIDAD		
Metano (CH ₄)	Volumen	3,80%	3%	-----
Dioxido de Carbono (CO ₂)	Volumen	2,40%	2,60%	-----
Oxígeno (O ₂)	Volumen	8,00%	11%	-----
Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)	Ppm	2	1,5	-----
Volumen		215 ml	95ml	0
Volumen= 0.310 L				

Anexo 18. Producción de gas: Hongos

Experimentación N°1

Medición		N°1	N°2	N°3
COMPONENTE	UNIDAD	Cantidad	Cantidad	Cantidad
Metano (CH ₄)	Volumen	10%	5%	-----
Dioxido de Carbono (CO ₂)	Volumen	0%	0%	-----
Oxígeno (O ₂)	Volumen	16%	15,8%	-----
Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)	Ppm	1	1	-----
Volumen		1,1L	700 ml	0
Volumen= 1.8 L				

Experimentación N°2

Medición		N°1	N°2	N°3
COMPONENTE	UNIDAD	CANTIDAD		
Metano (CH ₄)	Volumen	2,30%	0%	-----
Dioxido de Carbono (CO ₂)	Volumen	0,00%	3%	-----
Oxígeno (O ₂)	Volumen	7%	15%	-----
Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)	Ppm	300%	350,00%	-----
Volumen		900 ml	300ml	0
Volumen= 1.2 L				

Experimentación N°3

Medición		N°1	N°2	N°3
COMPONENTE	UNIDAD	CANTIDAD		
Metano (CH ₄)	Volumen	11,10%	7,3%	-----
Dioxido de Carbono (CO ₂)	Volumen	2,50%	2%	-----
Oxígeno (O ₂)	Volumen	18,10%	16,9%	-----
Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)	Ppm	1,5	2	-----
Volumen		1,7 L	300 ml	0
Volumen= 2 L				

Anexo 19. Producción de gas: Consorcio

EXPERIMENTACIÓN N°1

Medición		N°1	N°2	N°3
COMPONENTE	UNIDAD	Cantidad	Cantidad	Cantidad
Metano (CH ₄)	Volumen	35,8%	35,4%	29,6%
Dioxido de Carbono (CO ₂)	Volumen	8,0%	5,0%	2,0%
Oxígeno (O ₂)	Volumen	2,7%	3,0%	0,0%
Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)	Ppm	1	1	0
Volumen		11.2 L	5.1 L	1.3 L
Volumen total= 17.60 L				

EXPERIMENTACIÓN N°2

Medición		N°1	N°2	N°3
COMPONENTE	UNIDAD	CANTIDAD		
Metano (CH ₄)	Volumen	35,5%	33,0%	30,5%
Dioxido de Carbono (CO ₂)	Volumen	7,0%	10%	1,0%
Oxígeno (O ₂)	Volumen	3,1%	0%	0%
Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)	Ppm	1	2	0
Volumen		7.85 L	3.5 L	2.3 L
Volumen total= 13.65 L				

EXPERIMENTACIÓN N°3

Medición		N°1	N°2	N°3
COMPONENTE	UNIDAD	CANTIDAD		
Metano (CH ₄)	Volumen	35,6%	35,4%	29,6%
Dioxido de Carbono (CO ₂)	Volumen	8,0%	7,0%	6,0%
Oxígeno (O ₂)	Volumen	3,1%	1,1%	0,0%
Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)	Ppm	2	1	0
Volumen		10.33 L	4.22 L	1.54 L
Volumen total= 16.07 L				

Anexo 20. Panel fotográfico de producción de gas en reactor (DAS)



Producción de biogás en reactor (DAS)



Composición de gas generado en reactor con consorcio