

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Aislamiento y reconstrucción de consorcios microbianos que permitan la optimización de la
producción de biogás a partir de fangos residuales

Disertación previa a la obtención del título de Microbiólogo

ANDRÉS MAURICIO SANDOVAL TRÁVEZ

QUITO, 2018

CERTIFICACIÓN

Certifico que la disertación en Microbiología del Sr. Andrés Mauricio Sandoval Trávez ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Diana Astorga, Ph. D.

DIRECTORA DE LA DISERTACIÓN

Quito, 20 de julio del 2018

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, Blanca Ximena Trávez, por su incondicional, invaluable e invaluable apoyo desde el inicio de mi vida, en todos los aspectos sentimentales, académicos y económicos que una persona puede recibir en el transcurso de su existencia. A más de ser mi ejemplo de vida, amiga, confidente y entenderme cuando las circunstancias no fueron las mejores.

A Diana Astorga, mi tutora, por su motivación, paciencia, enseñanza, asesoría y guía en todas las fases de esta investigación. Supo también brindarme su amistad y consejos. Agradezco su valioso aporte en mi vida que hizo realmente que me proyecte a nuevos enfoques personales y académicos. Y sobre todo quedo eternamente agradecido a la vida por cruzarnos en esta aventura de conocimientos, iniciativas, saberes y por coincidir en que el bien común se consiga en base a la lucha diaria.

A Anaíd Rivadeneira, mi camarada, compañera de vida, confidente y amiga, que supo caminar conmigo codo a codo de maneras que muy pocos pueden experimentar, desde el día en que esa pulsera inició este pacto inquebrantable entre nosotros.

Al Bloque Proletario, por ser ejemplo personal de lucha y perseverancia, por iniciativas de trabajo popular vinculando a la ciudad, campo y academia para la ejecución de cambios reales en la sociedad.

A Iliana Alcocer y su equipo técnico, Fernanda Yauri y Nathaly Espinel, por haber brindado todo su apoyo logístico, moral y académico en las instalaciones del laboratorio de Microbiología de la Escuela de Ciencias Biológicas.

A Javier Carvajal, por su aporte y colaboración brindada en el campo académico de esta investigación, para dar una orientación significativa en su realización.

Al equipo técnico de la sala de preparaciones, Bolívar Salas, Anaíd Rivadeneira y Gabriela Yépez, por proveer de material, insumos y equipos adicionales necesarios para que este estudio se lleve a cabo.

A Fernando Santacruz, por brindar su valioso apoyo, asesoría y aporte intelectual en la realización de este estudio.

A David Chúquer y la Universidad Central del Ecuador, por su valioso aporte en las fases más cruciales de esta investigación

A Oscar Pérez, por brindarme apoyo logístico y permitirme realizar parte de la experimentación de esta disertación en su laboratorio.

Al Pablo Pozo y Carlos Bautista, por su colaboración profesional e intelectual para concretar interrogantes en la parte metodológica, además de su sustancial aporte proveyéndome de insumos químicos mismos que contribuyeron con el desarrollo de este estudio.

A la parroquia de Pacto, por el compromiso y colaboración de sus habitantes.

A mis amigos y compañeros, Alejandra Oscullo, Josselyn Santamaría, Martín Arellano, David Silva, Sofía Carrillo, Helena López, Shirley Arreaga, Alejandro Castro, Verónica Vallejo, Irina Estrella, Luis Andrade, por el respaldo en el transcurso de la realización de este estudio.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, PUCE, así como a sus autoridades y administrativos, por permitirme desarrollar esta investigación en sus instalaciones.

TABLA DE CONTENIDOS

| | |
|--|------|
| LISTA DE FIGURAS ----- | X |
| LISTA DE TABLAS ----- | XI |
| LISTA DE ANEXOS----- | XVII |
| 1. RESUMEN----- | 18 |
| 2. ABSTRACT ----- | 20 |
| 3. INTRODUCCIÓN ----- | 22 |
| 3.1 OBJETIVOS ----- | 28 |
| 4. MATERIALES Y MÉTODOS ----- | 29 |
| 4.1 Área de estudio ----- | 29 |
| 4.2 Muestreo del colector de desechos de camal ----- | 29 |
| 4.2.1 Diseño del dispositivo de muestreo de fango residual ----- | 29 |
| 4.2.2 Recolección, etiquetado y transporte de muestras----- | 30 |
| 4.3. Aislamiento e identificación macroscópica de cepas microbianas ----- | 31 |
| 4.3.1 Elaboración de medios de cultivo para bacterias metanogénicas ----- | 31 |
| 4.3.2. Inoculación de muestras en medios de cultivo específicos----- | 32 |
| 4.3.3 Obtención de cepas bacterianas aisladas----- | 33 |
| 4.3.4 Caracterización fenotípica de cepas aisladas en los medios específicos para bacterias metanogénicas MC y MB ----- | 33 |
| 4.4. Determinación de cepas aisladas y consorcios intactos productores de biogás para la composición de consorcios potenciadores de la producción de metano----- | 34 |
| 4.4.1. Determinación cualitativa de cepas y consorcios intactos productores de biogás --- | 34 |

| | |
|---|----|
| 4.4.2. Determinación del volumen de biogás producido por cepas aisladas y consorcios intactos ----- | 35 |
| 4.4.3. Determinación de la concentración de metano en el biogás producido por cepas aisladas y consorcios intactos ----- | 35 |
| 4.4.4. Determinación de volumen y porcentaje de metano del biogás producido por inóculos seleccionados a partir de cepas y consorcios intactos más idóneos para potenciar la producción de metano en medio de cultivo específico----- | 36 |
| 4.4.5. Análisis estadístico ----- | 37 |
| 5. RESULTADOS ----- | 38 |
| 5.1. Determinación de cepas aisladas y consorcios intactos productores de biogás para la composición de consorcios potenciadores de la producción de metano----- | 38 |
| 5.1.1. Caracterización fenotípica y determinación cualitativa de la producción de biogás en cepas aisladas en medio MC----- | 38 |
| 5.1.2. Caracterización fenotípica y determinación cualitativa de la producción de biogás en de cepas aisladas en medio específico MB ----- | 39 |
| 5.1.3. Determinación cualitativa de consorcios intactos productores de biogás en medios MC y MB----- | 39 |
| 5.2. Evaluación de la cantidad y calidad de biogás producida por cepas aisladas y consorcios intactos ----- | 40 |
| 5.2.1. Determinación del volumen de biogás producido por cepas aisladas y consorcios intactos en medio de cultivo MC----- | 40 |
| 5.2.1.1. Determinación del volumen de biogás producido por cepas aisladas ----- | 40 |
| 5.2.1.2. Determinación del volumen de biogás producido por consorcios intactos ----- | 41 |

| | |
|---|-----|
| 5.2.2. Determinación de la concentración de metano en el biogás producido por cepas aisladas y consorcios intactos en medio de cultivo MC ----- | 42 |
| 5.2.2.1. Determinación de metano producido por cepas aisladas ----- | 42 |
| 5.2.2.2. Determinación de metano producido por consorcios intactos ----- | 43 |
| 5.3. Comparación de la cantidad y calidad de biogás producida por cepas aisladas y consorcios intactos mejores productores de metano individualmente y en inóculo seleccionado----- | 43 |
| 5.3.1. Comparación del volumen del biogás producido por cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados ----- | 44 |
| 5.3.2. Comparación del porcentaje de metano producido por cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados ----- | 46 |
| 6. DISCUSIÓN----- | 48 |
| 6.1. Optimización de procesos de biodigestión mediante alteración del comportamiento metabólico de consorcios microbianos----- | 48 |
| 6.2. Aplicabilidad energética del biogás producido por la composición de consorcios metanogénicos ----- | 51 |
| 7. CONCLUSIONES ----- | 55 |
| 8. RECOMENDACIONES----- | 56 |
| 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS----- | 57 |
| 10. FIGURAS----- | 63 |
| 11. TABLAS----- | 68 |
| 12. ANEXOS ----- | 100 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Esquema del dispositivo colector de muestras de fango residual de la cisterna colectora de desechos de camal de Pacto. ----- | 63 |
| Figura 2. Morfología de colonias. ----- | 64 |
| Figura 3. Determinación de cepas aisladas y consorcios intactos productores de biogás en tubos de ensayo. ----- | 64 |
| Figura 4. Evolución del volumen de biogás producido a lo largo de 28 días por cepas aisladas de la columna de fango residual de la cisterna colectora de desechos de camal. ----- | 65 |
| Figura 5. Evolución del volumen de biogás producido a lo largo de 28 días por consorcios intactos de la columna de fango residual de la cisterna colectora de desechos de camal. -- | 65 |
| Figura 6. Evolución del porcentaje de metano en el biogás producido a lo largo de 28 días por cepas aisladas de la columna de fango residual de la cisterna colectora de desechos de camal. ----- | 66 |
| Figura 7. Evolución del porcentaje de metano en el biogás producido a lo largo de 28 días por consorcios intactos de la columna de fango residual de la cisterna colectora de desechos de camal. ----- | 66 |
| Figura 8. Evolución del volumen de biogás producido a lo largo de 28 días por cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados. ----- | 67 |
| Figura 9. Evolución del porcentaje de metano en el biogás producido a lo largo de 28 días por cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados. ----- | 67 |

LISTA DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Caracterización fenotípica y procedencia de las cepas bacterianas aisladas en medio específico para <i>Methanococcus</i> , Stadman-Barker. ----- | 68 |
| Tabla 2. Caracterización fenotípica y procedencia de las cepas bacterianas aisladas en medio específico para <i>Methanobacterium</i> , Barker-Taha. ----- | 69 |
| Tabla 3. Determinación cualitativa de consorcios intactos productores de biogás.----- | 70 |
| Tabla 4. Volumen de biogás producido en medio Stadman-Barker por cepas aisladas de diferentes profundidades de la cisterna colectora de desechos de camal durante 28 días. - | 71 |
| Tabla 5. Comparación del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras siete días de incubación mediante ANOVA. ----- | 72 |
| Tabla 6. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras siete días de incubación. ---- | 72 |
| Tabla 7. Comparación del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras 14 días de incubación mediante ANOVA.----- | 73 |
| Tabla 8. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras 14 días de incubación.----- | 73 |
| Tabla 9. Comparación del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras 21 días de incubación mediante ANOVA.----- | 74 |
| Tabla 10. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras 21 días de incubación.----- | 74 |
| Tabla 11. Comparación del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras 28 días de incubación mediante ANOVA.----- | 75 |
| Tabla 12. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras 28 días de incubación.----- | 75 |

| | |
|---|----|
| Tabla 13. Volumen de biogás producido en medio Stadman-Barker por los consorcios intactos de la cisterna colectora de desechos de camal durante 28 días. ----- | 76 |
| Tabla 14. Comparación del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras siete días de incubación mediante ANOVA. ----- | 77 |
| Tabla 15. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras siete días de incubación.----- | 77 |
| Tabla 16. Comparación del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras 14 días de incubación mediante ANOVA. ----- | 78 |
| Tabla 17. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras 14 días de incubación. ----- | 78 |
| Tabla 18. Comparación del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras 21 días de incubación mediante ANOVA. ----- | 79 |
| Tabla 19. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras 21 días.----- | 79 |
| Tabla 20. Comparación del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras 28 días de incubación mediante ANOVA. ----- | 80 |
| Tabla 21. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras 28 días de incubación. ----- | 80 |
| Tabla 22. Porcentaje de metano en el biogás producido por cepas aisladas de diferentes profundidades de la cisterna colectora de desechos de camal durante 28 días en medio Stadman-Barker. ----- | 81 |
| Tabla 23. Comparación de la calidad de biogás, en términos de porcentaje de metano producido, entre las dos cepas aisladas que registraron producción de metano tras siete días de incubación. ----- | 82 |

| | |
|---|----|
| Tabla 24. Comparación de la calidad de biogás, en términos de porcentaje de metano producido, entre las dos cepas aisladas que registraron producción de metano tras 14 días de incubación. ----- | 82 |
| Tabla 25. Comparación de la calidad de biogás, en términos de porcentaje de metano producido, entre las dos cepas aisladas que registraron producción de metano tras 21 días de incubación. ----- | 83 |
| Tabla 26. Comparación de la calidad de biogás, en términos de porcentaje de metano producido, entre las dos cepas aisladas que registraron producción de metano tras 28 días de incubación. ----- | 83 |
| Tabla 27. Porcentaje de metano en el biogás producido en medio Stadman-Barker por consorcios intactos de diferentes profundidades de la cisterna colectora de desechos de camal durante 28 días. ----- | 84 |
| Tabla 28. Comparación del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras siete días de incubación mediante ANOVA. ----- | 85 |
| Tabla 29. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras siete días de incubación.----- | 85 |
| Tabla 30. Comparación del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras 14 días de incubación mediante ANOVA. ----- | 86 |
| Tabla 31. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras 14 días de incubación. ----- | 86 |
| Tabla 32. Comparación del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras 21 días de incubación mediante ANOVA. ----- | 87 |
| Tabla 33. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras 21 días de incubación. ----- | 87 |

| | |
|---|----|
| Tabla 34. Comparación del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras 28 días de incubación mediante ANOVA. ----- | 88 |
| Tabla 35. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras 21 días de incubación. ----- | 88 |
| Tabla 36. Volumen de biogás producido por cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados de diferentes profundidades de la cisterna colectora de desechos de camal en medio Stadman-Barker. ----- | 89 |
| Tabla 37. Comparación del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras siete días de incubación mediante ANOVA de los datos transformados a raíz cuadrada.----- | 90 |
| Tabla 38. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras siete días de incubación transformados a raíz cuadrada.----- | 90 |
| Tabla 39. Comparación del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 14 días de incubación mediante ANOVA.----- | 91 |
| Tabla 40. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 14 días de incubación. ----- | 91 |
| Tabla 41. Comparación del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 21 días de incubación mediante ANOVA.----- | 92 |
| Tabla 42. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 21 días de incubación. ----- | 92 |

Tabla 43. Comparación del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 28 días de incubación mediante ANOVA.----- 93

Tabla 44. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 28 días de incubación.
----- 93

Tabla 45. Concentración de metano producido por cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados mejores productores de metano provenientes de diferentes profundidades de la cisterna colectora de desechos de camal en medio Stadman-Barker. - 94

Tabla 46. Comparación del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras siete días de incubación mediante ANOVA. ----- 95

Tabla 47. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos inóculos seleccionados tras siete días de incubación.
----- 95

Tabla 48. Comparación del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 14 días de incubación mediante ANOVA. ----- 96

Tabla 49. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 14 días de incubación.
----- 96

Tabla 50. Comparación del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 21 días de incubación mediante ANOVA. ----- 97

Tabla 51. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 21 días de incubación.
----- 97

Tabla 52. Comparación del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 28 días de incubación mediante ANOVA. ----- 98

Tabla 53. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 28 días de incubación. ----- 98

Tabla 54. Comparación del volumen de metano producido en 10 cm³ de biogás por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 28 días de incubación mediante ANOVA. ----- 99

Tabla 55. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de metano producido en 10 cm³ por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 28 días de incubación. ----- 99

LISTA DE ANEXOS

| | |
|---|-----|
| Anexo 1. Servicio de alcantarillado en la parroquia de Pacto. ----- | 100 |
| Anexo 2. Resolución DAJ-20134B4-0201.0247 emitida por Agrocalidad. ----- | 101 |
| Anexo 3. Creación del primer Bosque Modelo del Ecuador.----- | 102 |
| Anexo 4. Prueba de funcionamiento del dispositivo colector de fango residual en presencia de miembros de la comunidad.----- | 103 |
| Anexo 5. Registros de mantenimiento preventivo de autoclaves de la Sala de Preparaciones de la Escuela Ciencias Biológicas de la PUCE. ----- | 104 |
| Anexo 6. Recolección y transporte de muestras de cisterna colectora de desechos de camal. ----- | 105 |
| Anexo 7. Control de calidad de medios de cultivo. ----- | 106 |
| Anexo 8. Registros de funcionamiento de incubadoras de la Sala de Preparaciones de la Escuela de Ciencias Biológicas de la PUCE. ----- | 107 |
| Anexo 9. Tubo de vidrio con tapón perforable. ----- | 108 |
| Anexo 10. Equipo VARIAN 660-IR usado para las lecturas de biogás.----- | 108 |
| Anexo 11. Gas estándar para verificación de lecturas de gases en equipo VARIAN 660-IR. ----- | 109 |

1. RESUMEN

La necesidad de un manejo adecuado de desechos en el camal de la parroquia rural de Pacto y su posible utilización como fuente de energía renovable, que además detenga el deterioro ambiental, ha conducido a la búsqueda de tecnologías microbianas. De hecho, residuos como vísceras, sangre y heces son especialmente ricos en sustratos esenciales para la producción de biocombustible. Esta investigación se centró, por tanto, en aislar cepas metanogénicas cultivables, determinar consorcios intactos altamente activos y componer inóculos metanogénicos eficaces, a partir de fango residual acumulado en la gradiente vertical de un colector de desechos de camal. A partir de nueve estratos de fango residual de 15 cm de espesor, se procedió al análisis de la cantidad y calidad de biogás producido tanto por los nueve consorcios intactos como por las cepas bacterianas aisladas a partir de cada uno en medios específicos para microorganismos metanogénicos. Se obtuvieron 36 cepas bacterianas aisladas. No obstante, únicamente siete cepas provenientes de los dos estratos comprendidos entre los 90 y los 105 cm de profundidad y los consorcios intactos de los tres estratos entre 90 y 135 cm de profundidad fueron capaces de producir biogás. Solo dos cepas aisladas, F y G, provenientes de los estratos de 105 a 120 cm y de los 90 a los 105, respectivamente, y el consorcio intacto del estrato más profundo, α (105-120 cm), produjeron metano, pero en concentraciones superiores al 87% tras 28 días de incubación. Inóculos metanogénicos de todas las combinaciones posibles de estas dos cepas bacterianas y el consorcio α se evaluaron en términos de cantidad y calidad de biogás producido. El inóculo microbiano conseguido en base a la combinación F + α , alcanzó un porcentaje máximo de metano del 95,17%, superándose estadísticamente tanto la cantidad como la pureza del biogás generado por las cepas bacterianas y el consorcio intacto individualmente. Por tanto, la generación de inóculos metanogénicos a partir de cepas y consorcios metanogénicos

eficaces puede contribuir a la optimización de los procesos de biodigestión, en un entorno vulnerable como el de las parroquias rurales del Noroccidente del Distrito Metropolitano de Quito.

Palabras clave: Aprovechamiento de desechos, biogás, consorcio microbiano, eficacia metanogénica, inóculos metanogénicos.

2. ABSTRACT

Pacto's need of an appropriate management of slaughterhouse waste and its possible use as a renewable energy source stopping environmental deterioration, has led to microbial technologies. In fact, guts, blood and faeces are especially rich in essential substrates for biogas production. Therefore, this research focuses on optimizing biodigestion by the isolation of culturable methanogenic microorganisms and the confection of a highly active microbial inoculum from residual sludge accumulated in the vertical gradient of a slaughterhouse collector. From nine 15 cm-wide layers of sludge, quality and quantity of produced biogas was analysed in intact consortia and bacteria isolated in specific media for methanogenic microorganisms. Thirty six bacterial isolates were obtained. However, only seven stains from the two layers between depths 90 and 105 cm and intact consortia from the three layers from depths 90 and 135 cm were identified as biogas producers. Only two isolates, F and G, coming from depths 105-120 cm and 90-105 cm, respectively, and the intact consortium from the deepest layer, α (120-135 cm deep), produced methane after 28 days of incubation, but exceeded concentrations of 87%. Methanogenic inocula were confectioned with all the possible combinations between the two strains and α consortium in order to evaluate the quantity and quality of the produced biogas. The microbial inoculum formed by F + α reached a methane production of 95,17%. This statistically exceeded quantity and purity of biogas produced by bacterial strains and the intact consortium individually. Therefore, the generation of methanogenic inocula from isolated strains and efficient methanogenic consortia can contribute to the optimization of biodigestion processes in a vulnerable environment such as rural areas from the Noroccident of the Metropolitan District of Quito.

Keywords: Biogas, efficient methanogenesis, metanogenic inoculum, microbiological consortium, waste harnessing.

3. INTRODUCCIÓN

La necesidad de un manejo adecuado y responsable de desechos agroindustriales, de camal y aguas negras en la parroquia rural de Pacto y su posible utilización como fuente de energía renovable que, a la vez, detenga el deterioro ambiental generado por los mismos, ha conducido a la búsqueda de tecnologías microbianas. En efecto, el último análisis del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, INEC (2010), demuestra que solo la zona centro de la parroquia posee servicio de alcantarillado y únicamente el 27,7% de las viviendas mantiene un manejo, aunque precario, de aguas negras (Anexo 1). De esta manera, se generan problemas ambientales y enfermedades en sus habitantes que obligan a entidades como Agrocalidad a normar y controlar el cumplimiento de la normativa nacional aplicable (Agrocalidad, 2013; GESTNOVA Cía. Ltda., 2015).

Esto resulta ser poco o, en el peor de los casos, nada factible en algunos temas como, por ejemplo, aquellos abordados en la resolución DAJ-20134B4-0201.0247, emitida por el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca (Agrocalidad, 2013). Esta resuelve que, para obtener carne procedente de ganado vacuno, esta debe ser faenada en un camal que tenga los permisos pertinentes de funcionamiento y su debido control de manejo de desechos; caso contrario, el producto no podría ser comercializado (Anexo 2). En Pacto, el ganado procesado es básicamente para el consumo directo de la comunidad (Massa, 2015) y los pequeños ganaderos no tienen capacidad adquisitiva como para hacer una mayor inversión en transporte y demás permisos de comercialización para la producción de carne (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, 2014). Además, de acuerdo a la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (2016), ni el mismo camal de Pacto

posee los requerimientos básicos para cumplir con todos los requisitos para faenar las reses. Gran parte del problema radica en un sistema deficiente de manejo de desechos. En efecto, se considera satisfecha su gestión con acumularlos en una cisterna anaerobia que libera los gases producidos directamente a la atmósfera, además de lixiviados que se filtran al suelo y desembocan en la quebrada aledaña. El problema se magnifica cuando dicho colector se colmata, como sucedió en julio de 2016 tras cerca de seis años de uso, lo que plantea nuevos retos como ¿qué hacer con los desechos acumulados?, y ¿cómo disponer de los nuevos? Por tanto, se requiere de una solución inmediata para mejorar el manejo de desechos del camal de Pacto, que a la vez proporcione a la parroquia una alternativa replicable de gestión de desechos humanos en general. En este contexto, la optimización de procesos de biodigestión para la obtención de biogás a partir de dichos desechos aparece como una iniciativa viable.

En efecto, la solución biotecnológica aportada por la producción de biogás a nivel familiar e industrial, a través de biodigestores alimentados con desechos orgánicos de origen animal o vegetal, ha demostrado su valía como opción sostenible y ecológica alrededor del mundo, cuando tanto el sistema de montaje como la diversidad microbiana involucrados en el proceso de biodigestión son los adecuados (Manzini & Macías, 2004; Stantscheff et al., 2014). No obstante, las características de volatilidad del biogás, su poder calorífico, impurezas gaseosas y/o la dependencia en la cantidad y calidad del sustrato orgánico para su producción condicionan su viabilidad para suplir determinadas demandas energéticas que, por ejemplo, el gas licuado de petróleo sí concreta (Gutiérrez, 2015; Martina, Corace, García, Aeberhard, & Ventin, 2006; Olade, 2010). A pesar de ello, un correcto manejo y estimulación de vías metabólicas microbianas puede conducir a la optimización del biogás producido en

biodigestores para un suministro adecuado de biocombustible (Kallio, Pásztor, Thiel, Akhtar, & Jones, 2014).

Varios estudios han demostrado la factibilidad de rentabilizar la producción de biogás. El estudio de Kallio et al. (2014), por ejemplo, demostró que esto es posible mediante la inserción de genes reguladores de funciones metabólicas específicas para diferentes sustratos provenientes *Anaerococcus tetradius* o *Procholorococcus marinus* en *Escherichia coli* para obtener propano. Una de las características más sobresalientes del propano es que tiene el doble de poder calorífico que el metano. Por esta razón, la producción de propano por vías metabólicas microbianas es considerada una de las formas más eficaces de optimizar procesos de biodigestión para la generación de energías renovables eficientes y autogestionadas que puedan reemplazar el uso de hidrocarburos de origen fósil (Kallio et al., 2014; Khara et al., 2013; Zhang, Liang, Wu, Tan, & Lu, 2016).

Otra forma viable es la composición y bioaumentación de consorcios microbianos generadores de metano. Estudios de Schlüter et al. (2008) revelan características de perfiles metabólicos fermentativos, que permiten entender la relación estrecha que existe entre los microorganismos que participan en los procesos enzimáticos de la metanogénesis para optimizar recursos biológicos y tecnológicos en la producción de biocombustibles. Efectivamente, el metano, uno de los componentes mayoritarios del biogás (55%), es un biocombustible eficiente producido por el metabolismo de consorcios microbianos degradadores de compuestos orgánicos (Agencia Extremeña de la Energía, 2014). Existen géneros bacterianos cultivables en laboratorio claves en la metanogénesis tales como: *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *Metbanococcus* spp., *Methanobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Thermus* spp., *Thermococcus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Propionibacterium* spp.,

Fusobacterium spp. y *Micrococcus* spp. (Domínguez, 2014; Yang, Guo, Xu, Wang, & Dai, 2016). Sin embargo, con la presencia de una mayor variedad de microorganismos distribuidos en las clases: Methanobacteria, Methanococci, Methanomicrobiota, Methanopyri y Methanosarcinales, mayoritariamente cultivables, se asegura la maximización de la producción de biocombustible (Corrales, Antolinez, Bohórquez, & Corredor, 2015; Stantscheff et al., 2014), de manera que se logre satisfacer demandas energéticas a pequeña, mediana o gran escala (Gutiérrez, 2015).

Uno de los estudios más relevantes a nivel nacional sobre optimización de desechos orgánicos para la generación de biogás a partir de biodigestores es la de Garzón, Ochoa y Peñafiel (2015). El suministro de diferentes sustratos para el desarrollo de microorganismos metanogénicos fue el mecanismo utilizado para promover la producción de metano, destacándose especialmente el medio mineral con acetato. No obstante, una descripción de la biodiversidad microbiana o los consorcios implicados puestos a prueba no fue provista.

Un consorcio microbiano resulta de la asociación de varias especies de microorganismos presentes en determinado nicho ecológico, con la finalidad de desempeñar funciones metabólicas interrelacionadas y procesos específicos para su sobrevivencia, que generan productos finales y/o subproductos metabólicos específicos (Yang et al., 2016). De esta manera, un consorcio microbiano puede ser considerado como tal de acuerdo al ecosistema en el que se encuentre (Yang et al., 2016). En el caso de procesos de biodigestión anaerobia, donde uno de los subproductos finales es el metano, resulta fundamental que los consorcios microbianos estén compuestos de especies capaces de metabolizar desechos orgánicos mediante hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Garzón et al., 2015), cuyos sustratos intermedios de mayor interés son la glucosa, el propionato, el formiato

y el acetato (Ito et al., 2012). Por lo tanto, para que un consorcio microbiano pueda generar gas metano eficientemente debe estar compuesto por al menos un tipo de microorganismo que degrade alguno de los sustratos antes mencionados (Domínguez, 2014; Yang et al., 2016).

Por otro lado, la importancia de consolidar consorcios microbianos generadores de metano cultivables en laboratorio radica en las varias ventajas que presentan. Entre estas se encuentran la maximización de la producción de metano sin una generación paralela de dióxido de carbono de igual magnitud (Schlüter et al., 2008), la optimización de recursos en cuanto a infraestructura e insumos (Garzón et al., 2015), la posibilidad de bioaumentar consorcios microbianos con sustratos caseros y de bajo costo (Yang et al., 2016) y una mayor degradación de desechos orgánicos (Schlüter et al., 2008). De hecho, estudios de co-digestión anaerobia a partir de residuos de camal por parte de Pagés, Pereda, Taherzadeh, Sárvári y Lundin (2014) revelan que los microorganismos involucrados en la metanogénesis están estrechamente relacionados entre sí precisamente para maximizar la producción de metano y realzan el potencial de aprovechamiento de este tipo de desechos.

Los residuos de camal tienen altas concentraciones de sustratos ricos en proteínas, lípidos, ácidos grasos, almidones, celulosa, entre otros, y mientras estos estén en reposo por largos periodos de tiempo, la riqueza biológica es más abundante y estable. Los estratos o capas de sedimentación de masa biológicamente activa que se forman presentan una actividad y diversidad microbiana que puede variar con la profundidad a la que se encuentren (Bha, Din, Carne, & Michelle, 2013). De esta manera, gran variedad de microorganismos generadores de metano presentes en residuos de matadero podrían ser cultivables en

laboratorio, en vista de que los sustratos que estos degradan son replicables en medios de cultivo (Bha, Din, Carne, & Michelle, 2013).

En este contexto, la alternativa que propuso esta investigación para solventar los problemas de gestión de desechos humanos de la parroquia de Pacto fue el uso de consorcios microbianos cultivables capaces de optimizar la producción de metano a partir de dichos desechos, de manera que se consiguiera mejorar las características del biogás obtenido como para satisfacer parte de la demanda energética de la comunidad (Pérez, 2010), utilizando como base la microbiota contenida en la cisterna colectora de desechos de camal. Por ello, se propuso aislar la mayor cantidad de especies microbianas cultivables presentes en los fangos residuales, con el fin de combinarlas de acuerdo a sus propiedades metabólicas relacionadas con la metanogénesis y determinar el consorcio más eficiente en la producción de biogás. Esto permitiría aportar nuevos datos sobre las especies y consorcios microbianos asociados a la biodigestión anaerobia. Esto planteó un problema de investigación clave: ¿cómo constituir inóculos microbianos productores de biogás a partir de fangos residuales? De esta interrogante surgieron cuestionamientos secundarios como: ¿cuántas de las especies microbianas idóneas son cultivables?, ¿cuántas especies deben incluirse para generar un inóculo microbiano efectivo?, ¿qué medios de cultivo o sustratos son aptos para el mantenimiento de estos microorganismos? y ¿en qué tiempo un inóculo microbiano es capaz de producir la suficiente cantidad y calidad de biogás para suplir una determinada necesidad energética? A estas y otras interrogantes se planteó dar respuesta con el desarrollo de la presente investigación.

3.1 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Seleccionar inóculos microbianos metanogénicos cultivables que optimicen la producción de biogás a partir de fangos residuales de la cisterna colectora de desechos de camal de la parroquia de Pacto.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Aislar microorganismos cultivables procedentes de los diferentes estratos de fango residual de la cisterna.

Determinar, entre los microorganismos aislados, aquellos potencialmente idóneos para la optimización de la producción de biogás.

Evaluar la capacidad productora de metano por parte de cepas aisladas e inóculos microbianos constituidos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Área de estudio

La parroquia de Pacto se encuentra ubicada en las estribaciones de la cordillera occidental de los Andes, dándole características montañosas con altitudes desde los 440 hasta los 1850 m.s.n.m. Esta zona conserva un 50% de bosques húmedos originales y se encuentra dentro de dos “*hotspots*” o puntos calientes de biodiversidad (Sistema Nacional de Información [SNI], 2015). Los problemas de deforestación han conducido a estrategias mancomunadas de conservación de la biodiversidad y uso sustentable del territorio a nivel regional (Anexo 3). Por tal motivo, se creó la Mancomunidad del Chocó Andino del Noroccidente de Quito y, posteriormente, el Primer Bosque Modelo del Ecuador (Registro Oficial del Ecuador, 2015; RIABM, 2017).

4.2. Muestreo del colector de desechos de camal

4.2.1. Diseño del dispositivo de muestreo de fango residual

Se diseñó un dispositivo basado en las características funcionales de recolección de muestras marinas por estratos de la roseta oceanográfica (Chamarro, 2015), para el muestreo de fango residual de la cisterna colectora de desechos de camal de Pacto. En el muestreo se tomó en cuenta cuatro condicionantes: una profundidad de 137 cm de material acumulado, la consistencia viscosa del material a muestrear, el volumen requerido que se usaría para realizar los análisis en el contexto del proyecto de investigación PUCE en el que se inscribió este proyecto de disertación de grado, y el hecho de que las muestras necesitaban ser tomadas simultáneamente de estratos consecutivos (3L de cada uno de nueve estratos de 15 cm de espesor desde la base de la

cisterna hasta la superficie) y por triplicado, en base a resultados de estudios similares en comunidades metanogénicas estratificadas (Méndez et al., 2014). La eficacia del dispositivo fue comprobada *in situ* previamente en una visita expresa a la cisterna: se realizó la colecta por triplicado de los diferentes estratos, comprobándose la obtención de 3 L completos de cada uno (Anexo 4). El dispositivo diseñado, que operó de acuerdo a lo esperado y sin complicaciones, se esquematiza en la Figura 1. Previo a la salida de muestreo para los análisis del estudio, se esterilizaron los componentes del dispositivo colector de fango residual (recipientes colectores de 3 L de capacidad, mangueras de succión y mangueras de caudal de ingreso). Para esta y las siguientes esterilizaciones requeridas por este estudio, se verificaron previamente los registros de controles preventivos de mantenimiento y esterilización con cinta indicadora de autoclaves del laboratorio de preparaciones de la Escuela Ciencias Biológicas de la PUCE (Anexo 5).

4.2.2. Recolección, etiquetado y transporte de muestras

Para el análisis microbiológico, exclusivamente, se tomaron por triplicado 10 ml de cada estrato de fango residual en tubos cónicos herméticos previamente esterilizados e identificados con las etiquetas respectivas, de acuerdo a una codificación fácil de detectar, en vista de que se requería de 1 ml de muestra para preparar cada uno de seis inóculos que se emplearían para los medios de cultivo líquidos y sólidos y mantener en almacenamiento 4 ml como respaldo por cualquier eventualidad (INECC-CCA, 2010; Moreno y Albarracín 2012; Perfoparts S.A. de C.V, 2010). Los tubos se organizaron en gradillas y se apilaron adecuadamente dentro de una hielera desinfectada a una temperatura entre 4 y 8°C (Anexo 6). El tiempo de transporte de las muestras no superó

las 24 horas tras su colección y se las procesó inmediatamente después de su llegada al laboratorio (INECC-CCA, 2010).

4.3. Aislamiento e identificación macroscópica de cepas microbianas

4.3.1. Elaboración de medios de cultivo para bacterias metanogénicas

Para el aislamiento de microorganismos metanogénicos se utilizaron los medios Barker-Taha (MB) y Stadtman–Barker (MC), cuya eficacia ha sido comprobada (Acuña, Ángel, Montoya, Corrales, & Sánchez, 2008; Domínguez, 2014; Elizarrás, Serafín, & Magaña, 2015). En las tablas 1 y 2 de Acuña et al. (2008) se especifican las sustancias y sus cantidades requeridas, en gramos, para la elaboración de 1000 ml de ambos medios de cultivo, respectivamente (Acuña et al., 2008; Elizarrás et al., 2015). A estos, se añadieron las sustancias formiato de sodio y cloruro de calcio como precursores y dihidroxiestreptomicina como antibiótico, sugeridos por Domínguez (2014). Una vez preparados los medios de cultivo de acuerdo al protocolo de Acuña et al. (2008), se procedió a una pre-reducción de oxígeno en los mismos, mediante choque térmico. Esto involucró llevar los medios de cultivo líquidos a 110°C durante 10 minutos, se los dejó enfriar y se los llevó a una cámara de anaerobiosis durante dos horas.

La composición de los medios de cultivo sólidos fue similar a la de los medios líquidos, con una única diferencia que radica en la adición de 2 g de agar-agar por cada 100 ml de medio de cultivo y la omisión del antibiótico (Acuña et al., 2008; Domínguez, 2014).

Se realizaron controles de calidad de los medios de cultivo previa la inoculación de las muestras de fango residual. Para esto, se utilizaron como control negativo una cepa bacteriana aerobia (*Bacillus subtilis*), como control positivo una cepa anaerobia (*Clostridium* sp.) y un testigo sin inóculo bacteriano para verificar la esterilidad del medio de cultivo en cada medio de cultivo utilizado, tanto líquido como sólido (Anexo 7). Se incubaron a 37°C en una cámara de anaerobiosis conseguida mediante la colocación un sobre de AnaeroGen™ Compact para generar un ambiente gaseoso controlado con concentraciones oxígeno menores al 1% y entre 9 a 13% de dióxido de carbono (CO₂) durante 72 horas, de acuerdo a los protocolos de Acuña et al. (2008) y Moreno y Albarracín (2012). Previo a esto, se verificaron los registros operacionales para evidenciar el buen funcionamiento de las incubadoras de la sala de preparaciones de la Escuela de Ciencias Biológicas de la PUCE (Anexo 8). Esto se realizó en cada inoculación e incubación del estudio para garantizar la calidad de resultados.

4.3.2. Inoculación de muestras en medios de cultivo específicos

Para asegurar la viabilidad de los microorganismos de las muestras obtenidas de la cisterna colectora de desechos de camal, previo a su inoculación en los medios de cultivo específicos para metanogénicos, se realizó un pre-enriquecimiento o activación celular que consistió en poner 1 ml de la muestra en 10 ml de caldo tioglicolato y llevarlos a incubación durante al menos 24 horas a 37°C. Posteriormente, en base al método de inoculación para muestras ambientales señalado por Acuña et al. (2008) y Moreno y Albarracín (2012), se realizaron diluciones de cada pre-enriquecimiento bacteriano y se inocularon 100 µl por triplicado de las diluciones 10⁻³ y 10⁻⁴ en agar sólido

MB y MC y se los incubó a 37°C en campana de anaerobiosis con un sobre de AnaeroGen™ Compact para generar un ambiente gaseoso controlado con concentraciones oxígeno inferiores al 1% y entre 9 a 13% de CO₂. Esto se realizó con la finalidad de obtener la mayor diversidad de colonias aisladas posible.

4.3.3. Obtención de cepas bacterianas aisladas

El desarrollo bacteriano, relativamente lento, requirió una revisión diaria de las cajas inoculadas, con el fin de aislar y evitar la contaminación o pérdida de las mismas. Cada colonia bacteriana fue aislada según las características morfológicas descritas por Acuña et al. (2008), en donde se señala que en el agar MC las colonias de *Methanococcus* son puntiformes, pequeñas y de color amarillo pálido; mientras que en el agar MB se distinguen las colonias de *Methanobacterium* por ser redondas, grandes, brillantes, pegajosas y de color café (Figura 2). En las tablas 3 y 4 de Acuña et al. (2008) se describen las morfologías microscópicas para *Methanococcus* y *Methanobacterium*, respectivamente.

4.3.4. Caracterización fenotípica de cepas aisladas en los medios específicos para bacterias metanogénicas MC y MB

La caracterización fenotípica para las cepas aisladas en los medios de cultivo sólidos MC y MB se ejecutó a partir de las metodologías descritas por Acuña et al. (2008) y Domínguez (2014). Esto permitió evidenciar características microscópicas y macroscópicas como: tipo de Gram (+ ó -), morfología de la colonia sobre el agar, motilidad y producción de biogás. Cada cepa aislada fue comparada con la

caracterización fenotípica descrita por Acuña et al. (2008) para géneros bacterianos metanogénicos como *Methanococcus* y *Methanobacterium*.

4.4. Determinación de cepas aisladas y consorcios intactos productores de biogás para la composición de consorcios potenciadores de la producción de metano

4.4.1 Determinación cualitativa de cepas y consorcios intactos productores de biogás

La determinación cualitativa de cepas productoras de biogás se realizó por triplicado según la metodología de Domínguez (2014), donde se utilizaron 20 ml del medio de cultivo con un inóculo ajustado de 10^7 UFC ml^{-1} en un tubo de ensayo estéril con tapa de caucho en el que se incluyó un tubo Durham invertido. Todo esto se realizó para garantizar la hermeticidad, evitar la contaminación del sistema y evidenciar la producción de biogás por desplazamiento de volumen (Figura 3). Los medios utilizados para este propósito fueron MB y MC.

Se procedió de la misma manera para los consorcios intactos provenientes de los diferentes estratos de la cisterna colectora de desechos de camal, con la única diferencia de que se inoculó 1 ml del consorcio en los respectivos medios específicos para metanogénicos anteriormente mencionados (Domínguez, 2014; Moreno y Albarracín 2012).

Aquellas cepas y consorcios intactos que registraron producción de biogás fueron sometidos a un análisis más exhaustivo de cantidad (en volumen) y calidad (en términos de porcentaje de metano) del mismo.

4.4.2. Determinación del volumen de biogás producido por cepas aisladas y consorcios intactos

Para evaluar cuantitativamente la cantidad de biogás producido, se inocularon por triplicado en los medios MB y MC tanto cepas aisladas como consorcios, respetando volúmenes y concentraciones descritas en el apartado anterior, esta vez dentro de tubos de vidrio con tapa perforable que permitieron conservar la hermeticidad pese a muestreos sistemáticos de biogás mediante punción con jeringuilla (Anexo 9). En el caso de consorcios intactos, se procedió a sembrar una segunda réplica del muestreo original por triplicado.

La medición de volúmenes de biogás producido se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Posada, Noguera y Bolívar (2006): el biogás acumulado en el tubo hermético fue medido mediante punción con jeringuilla a los 7, 14, 21 y 28 días de crecimiento. Para consorcios intactos, se procedió con la medición del volumen a los 7 y 28 días, según la metodología de Domínguez (2014), pero también se realizaron lecturas a los días 14 y 21 por motivo de comparaciones posteriores.

4.4.3. Determinación de la concentración de metano en el biogás producido por cepas aisladas y consorcios intactos

Paralelamente al estudio anterior, el biogás producido por cepas y consorcios intactos inoculados por triplicado en tubos de vidrio con tapa perforable fue utilizado para la determinación de la concentración de metano mediante el uso de un equipo VARIAN 660-IR (Anexo 10), según la metodología descrita por Figueredo (2016) que

describe el cálculo de porcentaje de metano en base a la absorbancia. En el caso de consorcios intactos, se contó con seis medidas provenientes del biogás producido por dos de las tres réplicas muestreadas por estrato que se inocularon por triplicado.

Se tomaron, mediante punción con jeringuilla, 15 cm³ del biogás producido (independientemente del volumen total) y se aforó a 50 cm³ con aire común para inyectar en las celdas de lectura y obtener las absorbancias de metano. Las lecturas del biogás producido por las cepas aisladas se realizaron a los 7, 14, 21 y 28 días de crecimiento; mientras que, según la metodología señalada por Domínguez (2014), las lecturas del biogás producido por consorcios intactos se obtuvieron a los 7 y 28 días. No obstante, con la finalidad de realizar comparaciones posteriores, se realizaron lecturas también a los 14 y 21 días. Previo a los análisis de concentración de metano contenido en el biogás, se calibró el equipo VARIAN 660-IR ubicado en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador con los estándares gaseosos de butano, propano, metano, ácido sulfhídrico y nitrógeno. Paralelamente a cada análisis de gases efectuado durante todo el estudio, se corrieron gases estándar provenientes de un cilindro Airgas UN 1954 y una muestra blanco para comprobar que los datos obtenidos fueran correctos (Anexo 11).

4.4.4. Determinación de volumen y porcentaje de metano del biogás producido por inóculos seleccionados a partir de cepas y consorcios intactos más idóneos para potenciar la producción de metano en medio de cultivo específico

Un análisis estadístico de los resultados obtenidos en cuanto a cantidad y calidad del biogás producido tanto por cepas aisladas como por consorcios intactos permitió determinar cepas y consorcios más idóneos para la composición de inóculos microbianos potenciadores de la producción de metano, así como el medio más adecuado para cultivarlos.

Inóculos microbianos combinados pueden formarse a partir de dos cepas diferentes que cumplan determinada función de carácter simbiótico (Mnif et al., 2015; Corrales et al., 2015; Hays, Patrick, Ziesack, Oxman, & Silver, 2015). Por tanto, se procedió a preparar los medios de cultivo adecuados para las cepas identificadas como mejores productoras, se inocularon por triplicado todas las combinaciones posibles entre éstas y el o los consorcios intactos más eficaces, y se procedió al análisis de la cantidad y la calidad del biogás producido por los nuevos inóculos seleccionados.

4.4.5. Análisis estadístico

Para la comparación del volumen de biogás producido y su concentración de metano entre cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados a intervalos de siete días durante 28 días, se utilizó el programa IBM SPSS Statistics versión 22.0. Previo al análisis de varianza, se procedió a comprobar el cumplimiento de los supuestos del ANOVA. Todos los valores respetaron la normalidad, igualdad de varianzas y/u homogeneidad. La prueba de Levene permitió evaluar la homogeneidad de varianzas, mediante el cálculo de las distancias entre grupos de datos, con la finalidad de determinar si la probabilidad asociada era superior al 0.05 (varianzas iguales) o inferior al 0.05

(varianzas distintas) (García, González, & Jornet, 2010). Al registrarse diferencias significativas con el ANOVA realizado, se procedió al análisis Post Hoc mediante la prueba de Tukey para diferenciar entre mejores y peores productores de metano entre cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados.

5. RESULTADOS

5.1. Determinación de cepas aisladas y consorcios intactos productores de biogás para la composición de consorcios potenciadores de la producción de metano

Un total de 36 cepas bacterianas provenientes de los nueve estratos de fango residual analizados fueron aisladas en los medios de cultivo específicos para microorganismos metanogénicos (Tablas 1 y 2). Sin embargo, se registró producción de biogás exclusivamente en medio MC y solo en algunas de las cepas aisladas en éste. No obstante, los consorcios intactos que generaron biogás lo hicieron tanto en medio MC como en medio MB, salvo en un caso (Tabla 3).

5.1.1. Caracterización fenotípica y determinación cualitativa de la producción de biogás en cepas aisladas en medio MC

Dieciocho cepas bacterianas cocoides (cocos y cocobacilos), en su mayoría Gram +, fueron aisladas en medio MC. Sus descripciones fenotípicas constan en la Tabla 1. Siete cepas produjeron biogás. Sin embargo, las características propias del género

Methanococcus, como se describen en Acuña et al. (2008), se limitaron a las cepas identificadas como F y G, procedentes de los estratos de 105 a 120 y 90 a 105 cm de profundidad de la cisterna colectora de desechos de camal, respectivamente. No obstante, se evaluaron tanto la cantidad de biogás como la concentración de metano producida por éstas y las cepas identificadas como H, N, O, P y Q porque también éstas últimas lograron desarrollarse en el medio específico para *Methanococcus* y registraron producción de biogás.

5.1.2. Caracterización fenotípica y determinación cualitativa de la producción de biogás en de cepas aisladas en medio específico MB

Se aislaron 18 cepas bacterianas bacilares, en su mayoría Gram +, en medio MB (Tabla 2). Al menos una cepa fue aislada de cada uno de estratos de la cisterna. Sus descripciones fenotípicas constan en la Tabla 2. Ninguna de ellas registró producción de biogás. Las cepas R, S, T, U, AA, BB y EE presentaron características fenotípicas muy similares a las descritas por Acuña et al. (2008) para *Methanobacterium*.

5.1.3. Determinación cualitativa de consorcios intactos productores de biogás en medios MC y MB

No todos los consorcios intactos, provenientes de cada uno de los nueve estratos muestreados de la cisterna colectora de desechos de camal, produjeron biogás en medio de cultivo MC y/o MB. Este metabolismo se limitó a los tres estratos más profundos,

entre los 90 y los 135 cm. La caracterización cualitativa de los consorcios generadores de biogás consta en la Tabla 3. En general, se registraron aparentes variaciones en la cantidad de biogás producida entre réplicas y entre medios de cultivo. Todos, menos el consorcio proveniente del estrato localizado entre los 105 y los 120 cm de profundidad, registraron producción de biogás en las tres réplicas. El mayor desplazamiento de volumen se obtuvo por el consorcio proveniente del estrato más profundo en medio MC.

5.2. Evaluación de la cantidad y calidad de biogás producida por cepas aisladas y consorcios intactos

5.2.1. Determinación del volumen de biogás producido por cepas aisladas y consorcios intactos en medio de cultivo MC

5.2.1.1. Determinación del volumen de biogás producido por cepas aisladas

Únicamente las cepas aisladas provenientes de profundidades entre 90 a 120 cm registraron producción de biogás (Tabla 4). En cuanto a la evolución de la generación de biogás (Figura 5), se observó que tras siete días de incubación se obtuvieron volúmenes desde 2,67 hasta 17,03 cm³ (ANOVA: n = 21; gl = 7; F = 464,105; p < 0,01 [Tabla 5]), en donde la cepa F registró la menor producción, mientras que P y Q obtuvieron los valores más altos (Tabla 6).

Transcurridos 14 días, se produjeron entre 8,00 y 19,00 cm³ (ANOVA: n = 21; gl = 7; F = 676,267; p < 0,01 [Tablas 4 y 7]) con la menor producción generada por las cepas G y H, y la mayor por P, Q y N (Tabla 8). A los 21 días, se produjeron entre 9,33

y 19,67 cm³ (ANOVA: n = 21; gl = 7; F = 3848,230; p < 0,01 [Tablas 4 y 9]) y destacaron G y H, y N y Q como las menos y más efectivas, respectivamente (Tabla 10).

Finalmente, para el día 28, entre 9,43 y 20,00 cm³ de biogás fueron producidos (ANOVA: n = 21; gl = 7; F = 5945,693; p < 0,01 [Tablas 4 y 11]), con G y H como las menos eficientes, y Q y N como mejor productoras (Tabla 12).

5.2.1.2. Determinación del volumen de biogás producido por consorcios intactos

Los consorcios intactos provenientes de profundidades entre 90 a 135 cm fueron los únicos en registrar producción de biogás en medio MC (Tabla 13). En cuanto a la evolución de la generación de biogás (Figura 6), se observó que tras siete días de incubación se obtuvieron volúmenes desde 1,33 hasta 3,15 cm³ (ANOVA: n = 9; gl = 3; F = 1475,453; p < 0,01 [Tablas 13 y 14]), donde el consorcio intacto con mayor producción fue α , proveniente del estrato más profundo, localizado entre los 105 y los 135 cm. La menor producción fue registrada por γ , proveniente del estrato más superficial capaz de producir biogás (Tablas 13 y 15).

Transcurridos 14 días, se produjeron entre 7,13 y 9,10 cm³ (ANOVA: n = 9; gl = 5; F = 15725,304; p < 0,01 [Tablas 13 y 16]) con la menor producción generada por el consorcio β y la mayor por γ (Tabla 17). A los 21 días, se produjeron entre 12,60 y 18,30 cm³ (ANOVA: n = 9; gl = 3; F = 22954,00 p < 0,01 [Tablas 13 y 18]) y destacaron β y γ como los consorcios menos y más efectivos, respectivamente (Tabla 19).

Finalmente, para el día 28, entre 14,06 y 20,10 cm³ de biogás fueron producidos (ANOVA: n = 9; gl = 3; F = 8857,416; p < 0,01 [Tablas 13 y 20]), con γ como el consorcio menos eficiente, β y α como los mejores productores (Tabla 21).

5.2.2. Determinación de la concentración de metano en el biogás producido por cepas aisladas y consorcios intactos en medio de cultivo MC

5.2.2.1. Determinación de metano producido por cepas aisladas

De las siete cepas aisladas en medio MC que registraron producción de biogás, únicamente dos cepas fueron productoras de metano. Éstas provinieron de profundidades entre 90 y 120 cm (Tabla 22). En cuanto a la evolución de la generación de metano (Figura 7), se observó que, tras siete días de incubación, la cepa G superó a F con 6,33% frente a 4,49% (Prueba de t: n = 6; gl = 4; t = 13,571; F = 3,010 p < 0,01 [Tablas 22 y 23]).

Transcurridos 14 días, la mayor producción de metano fue generada por la cepa F con 65,11% frente a los 30,49% de G (Prueba de t: n = 6; gl = 4; t = 116,031; F = 3,237, p < 0,01 [Tablas 22 y 24]). A los 21 días, F continúa superando a G en producción de metano con 87,57% frente a 49,08% (Prueba de t: n = 6; gl = 4; F = 0,373 t = 144,355; p < 0,01 [Tablas 22 y 25]).

Finalmente, para el día 28 el porcentaje de metano producido por ambas cepas se iguala y supera al 87% (Prueba de t: n = 6; gl = 4; F = 2,811; t = 2,115; p > 0,05 [Tablas 22 y 26]).

5.2.2.2. Determinación de metano producido por consorcios intactos

Todos los consorcios que registraron producción de biogás, provenientes de profundidades entre 90 a 135 cm, generaron también metano (Tabla 27). En cuanto a la evolución de la generación de metano (Figura 8), se observó que tras siete días de incubación se obtuvieron porcentajes desde 0,23% hasta 6,09% (ANOVA: $n = 9$; $gl = 3$; $F = 29298,891$; $p < 0,01$ [Tablas 27 y 28]), en donde los consorcios intactos β y γ registraron la menor producción, mientras que α obtuvo los valores más altos (Tabla 29).

Transcurridos 14 días, se produjeron entre 0,89 % y 63,33 % de metano (ANOVA: $n = 9$; $gl = 3$; $F = 103950,640$; $p < 0,01$ [Tablas 27 y 30]) con la menor producción generada por los consorcios intactos γ y β y la mayor generada por α (Tabla 31). A los 21 días, se produjo entre 2,60 % y 74,07 % (ANOVA: $n = 9$; $gl = 3$; $F = 21643,984$; $p < 0,01$ [Tablas 27 y 32]) y destacaron γ y α como la menos y más efectiva, respectivamente (Tabla 33).

Finalmente, para el día 28, entre 4,92 % y 90,17 % de metano fue producido (ANOVA: $n = 9$; $gl = 3$; $F = 150944,487$; $p < 0,01$ [Tablas 27 y 34]), con γ como el menos eficiente y α como mejor productor (Tabla 35).

5.3. Comparación de la cantidad y calidad de biogás producida por cepas aisladas y consorcios intactos mejores productores de metano individualmente y en inóculo seleccionado

Las únicas cepas aisladas productoras de metano fueron F y G (Tabla 22) y, si bien su producción se distinguió a los 7, 14 y 21 días (Tablas 23 a 25), fue similar a los 28 días (Tabla 26). Por tanto, ambas fueron elegidas para la composición de consorcios potenciadores de la producción de metano. En cuanto a consorcios intactos, se escogió al consorcio α por ser el más idóneo. El medio de cultivo utilizado para el crecimiento de los inóculos seleccionados fue el MC, en vista de que fue el único medio en que las cepas aisladas de la columna de fango residual de la cisterna fueron capaces de producir biogás (Tablas 1 y 2). Para el análisis estadístico, se incluyó al azar una de las réplicas de biogás analizadas por triplicado para el consorcio α .

5.3.1. Comparación del volumen del biogás producido por cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados

En la Figura 9 y la Tabla 36 se evidencia la producción progresiva de biogás a lo largo del tiempo tanto de cepas aisladas F y G como del consorcio intacto α y los diferentes inóculos seleccionados en base a las diferentes combinaciones posibles entre los tres primeros.

Tras siete días de incubación, se obtuvieron volúmenes desde 1,00 hasta 5,50 cm³ (ANOVA: $n = 21$; $gl = 7$; $F = 720,281$; $p < 0,01$ [Tablas 36 y 37]). La mejor producción de biogás la registró una cepa, la cepa G, mientras que la más baja correspondió al consorcio más complejo (F + G + α) (Tabla 38). La producción de biogás de los inóculos seleccionados conformados por una cepa bacteriana y el consorcio α tuvieron la misma productividad que el consorcio α individualmente. Por otro lado, la eficacia registrada por

la cepa G individualmente se vio reducida cuando se encontró en consorcio ($G + \alpha$, $F + G$ y/o $F + G + \alpha$) (Tabla 38).

Sin embargo, transcurridos 14 días, se produjeron entre 8,00 y 19,33 cm³ (ANOVA: $n = 21$; $gl = 7$; $F = 554,339$; $p < 0,01$ [Tablas 36 y 39]), los inóculos seleccionados a partir de dos elementos, sean estos cepa y consorcio o dos cepas, sobrepasaron la producción de biogás de las cepas y el consorcio intacto individualmente (Tabla 40). El tratamiento más efectivo resultó el consorcio $F + \alpha$, seguido del consorcio $F + G$ y éste por el consorcio $G + \alpha$. Los tres elementos al origen de todas las combinaciones por separado y en consorcio complejo ($F + G + \alpha$) obtuvieron la menor producción (Tabla 40).

A los 21 días, se produjeron entre 9,33 y 20,33 cm³ (ANOVA: $n = 21$; $gl = 7$; $F = 1442,613$; $p < 0,01$ [Tablas 36 y 41]). El mejor productor de biogás siguió siendo $F + \alpha$, seguido de $F + G$ y éste por $G + \alpha$, y tanto las cepas independientes F y G como el consorcio más complejo ($F + G + \alpha$) fueron los menos efectivos (Tabla 42). No obstante, la producción de $F + G$ fue equivalente a la de α y la de $G + \alpha$ a la de F (Tabla 42).

Finalmente, para el día 28, entre 9,43 y 20,67 cm³ de biogás fueron producidos (ANOVA: $n = 21$; $gl = 7$; $F = 1792,888$; $p < 0,01$ [Tablas 36 y 43]). El mayor volumen de biogás producido correspondió nuevamente al consorcio $F + \alpha$, seguido de $F + G$ y éste por $G + \alpha$ (Tabla 44). Sin embargo, la producción de $F + \alpha$ ya no registró diferencias a la producción de α y, como a los 21 días, la producción de $G + \alpha$ no se diferenció de la de F (Tabla 44). Las cepas individuales y el consorcio más complejo permanecieron como los menos efectivos (Tabla 44).

En resumen, pese a registrarse variaciones a lo largo del periodo de 28 días de incubación, ni las diferentes combinaciones efectuadas ni las cepas individualmente llegaron a sobrepasar la producción del consorcio intacto α . Las combinaciones de dos elementos resultaron efectivas solo puntualmente. El consorcio más complejo registró siempre la menor cantidad de biogás, la combinación G + α obtuvo siempre valores intermedios, la combinación F + G osciló entre valores bajos y altos para terminar en valores intermedios, la cepa F mantuvo una producción intermedia baja y la cepa G pasó de la mejor a la menor producción en 28 días.

5.3.2. Comparación del porcentaje de metano producido por cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados

En la Figura 9 y la Tabla 45 se evidencia la evolución de la concentración de metano en el tiempo tanto de cepas aisladas F y G como del consorcio intacto α y los diferentes inóculos seleccionados en base a las diferentes combinaciones posibles entre los tres primeros.

A los siete días de incubación, se observaron porcentajes de metano desde 0,78% hasta 6,33% (ANOVA: $n = 21$; $gl = 7$; $F = 4442,581$; $p < 0,01$ [Tablas 45 y 46]). La cepa G y el consorcio intacto α resultaron ser los más efectivos, seguidos por la cepa F. Por otro lado, todos los inóculos seleccionados registraron la menor producción (Tabla 47).

Transcurridos 14 días, se produjeron entre 28,57% y 65,11% (ANOVA: $n = 21$; $gl = 7$; $F = 158754,593$; $p < 0,01$ [Tablas 45 y 48]). Todos los tratamientos analizados

obtuvieron porcentaje de metano distintos en el biogás que produjeron (Tabla 49). La mejor calidad de biogás fue registrada por la cepa F, seguida por el consorcio α y éste por el consorcio F + α . El consorcio más complejo registró una productividad intermedia, mientras las tres combinaciones de dos o menos elementos que incluían a la cepa G resultaron las menos efectivas, con la acotación de que la cepa G fue mejor que la combinación G + α , pero peor que la combinación G + F (Tabla 49).

A los 21 días de incubación, se produjeron entre 43,33 % y 92,03 % (ANOVA: n = 21; gl = 7; F = 16426,062; p < 0,01 [Tablas 45 y 50]). Nuevamente, todos los tratamientos salvo F + α y G + α resultaron diferentes en términos de porcentaje de metano en el biogás producido y el consorcio complejo obtuvo una productividad intermedia (Tabla 51). Destacó F + α como la composición más efectiva, seguida por la producción de metano de la cepa aislada F y ésta por el consorcio intacto α (Tabla 51). Por su parte, F + G tuvo la menor producción de metano (Tabla 51).

Finalmente, para el día 28, entre 61,03% y 95,17% de metano fueron producidos (ANOVA: n = 21; gl = 7; F = 122539,795; p < 0,01 [Tablas 45 y 52]). Volvieron a registrarse diferencias altamente significativas entre los porcentajes de metano generados por todas las combinaciones evaluadas, salvo para las cepas individuales F y G que registraron una productividad intermedia (Tabla 53). El inóculo seleccionado F + α resultó ser el mejor, seguido por α y las cepas aisladas (Tabla 53). Las demás combinaciones no resultaron óptimas: el consorcio más complejo pasó a un cuarto lugar, mientras que las combinaciones G + α y F + α obtuvieron el quinto y sexto lugar, respectivamente, sin superar la producción individual de cepas y consorcio intacto involucrados (Tabla 53).

En resumen, F + α demostró ser el inóculo seleccionado más efectivo desde el catorceavo día de incubación. Hasta los 14 días, su calidad de metano se vio superada por cepas aisladas y el consorcio α . Sin embargo, para el día 21 superó en cerca del 5% la calidad de la cepa más eficiente y en 18% al consorcio intacto más efectivo. El consorcio F + G resultó el menos efectivo, salvo a los 14 días. El consorcio G + α no destacó particularmente y el consorcio más complejo no superó valores intermedios.

6. DISCUSIÓN

6.1. Optimización de procesos de biodigestión mediante alteración del comportamiento metabólico de consorcios microbianos

La utilización del metano ha despertado el interés de gran cantidad de investigadores, incitando a la realización de varios estudios porque la posibilidad de su aprovechamiento surge como alternativa de tratamiento para residuos sólidos acumulados (Camargo & Vélez, 2009). El enfoque principal abordado es su uso como un recurso energético renovable (Barragán, Arias, & Terrados, 2016), más todavía si se considera que la materia prima constituyen los desechos.

En la parroquia de Pacto, incluida dentro de uno de los *hotspots* del territorio ecuatoriano (SNI, 2015), los desechos idóneos para el aprovechamiento energético del metano abundan, por lo que su tratamiento resulta fundamental para minimizar el impacto antropogénico y obtener energía renovable para los procesos productivos de su población.

El aprovechamiento de los desechos permite evitar su acumulación y, por tanto, la contaminación ambiental y la potencial afectación a la salud humana derivadas.

Para poder optar por esta alternativa de manejo de desechos en el camal de Pacto, se aislaron y caracterizaron cepas bacterianas metanogénicas y consorcios intactos productores de biogás y se analizó su calidad en términos de volumen de biogás y concentración de metano (Domínguez, 2014). Se dedujo que, al combinar los mejores generadores de metano, la mejora en la cantidad y calidad del biogás obtenido permiten considerar el potencial del fango de camal de la cisterna para la generación de energía.

El incremento en el volumen de biogás y la proporción de metano en el mismo es notable cuando se confeccionan inóculos en base a la combinación de cepas aisladas con los consorcios intactos mejores productores. Esto podría explicarse por el reforzamiento de relaciones de mutualismo simbiótico existentes entre especies metanogénicas y no metanogénicas. Es decir, que mientras más estrecha es la sintrofia entre bacterias metanogénicas hidrogenotróficas, acetoclásticas, metilotróficas y otras bacterias con potencial sulfato-reductor, por ejemplo, mayor resulta la producción de biogás con concentraciones de metano altas (Ferrer & Pérez, 2010; Salazar, 2008). Las primeras se desarrollan con hidrógeno molecular como donador de electrones y CO₂ como aceptor de electrones, aunque algunas usan formiato como fuente de CO₂ y H₂. Las especies acetoclásticas degradan acetato en grupos metilo y carbonilo hasta CO₂, permitiendo que el grupo metilo pase a metano (Ferrer & Pérez, 2010; Salazar, 2008).

Precisamente, este tipo de relaciones pudieron haberse reforzado en el inóculo seleccionado que superó la concentración de metano del 90%, F + α . La particularidad de este inóculo es que la cepa aislada y el consorcio intacto utilizados provenían de estratos

de fango residual de la cisterna diferentes. Por tanto, la sinergia obtenida podría deberse a que estaba disponible el nicho ecológico de la cepa aislada en el microhábitat ocupado por el consorcio intacto (Icaza, 2013; Otero, 2017). En efecto, combinar un conjunto de bacterias genera una mayor cantidad de productos en los procesos biológicos, siempre y cuando sean compatibles (Quintero & Cardona, 2010; García, 2014). Esto implica la ausencia de competencia por sustrato que se traduce en mayor producción de metano (Yang et al., 2016).

Esto no ocurre en la combinación $G + \alpha$, pues la cepa G proviene también de un estrato diferente al de α . La combinación se traduce, sin embargo, en pérdida de efectividad del consorcio originalmente establecido y cambio de su comportamiento metabólico por posible competencia por sustrato (Ferrer & Pérez, 2010). Por otra parte, la combinación $F + G$ resultó ser la menos efectiva, seguramente debido a los complejos requerimientos metabólicos y las particularidades fisiológicas que caracterizan a las cepas aisladas involucradas como mencionan Ferrer y Pérez (2010), lo que se traduce en antagonismo marcado. Es decir, la producción de metano de la combinación de las dos cepas resulta mucho menor que la de cada cepa individualmente. No obstante, obtiene valores de metano que siguen haciendo aprovechable como biocombustible al biogás producido.

García (2014) detalla que cada estrato donde exista actividad metanogénica propia de un ambiente anaerobio en común, permite que las poblaciones microbianas coexistan. Además, se esperaría que mientras más microorganismos metanogénicos confluyan, el volumen de biogás y su concentración de metano aumenten considerablemente (Domínguez, 2014; Gallegos et al., 2010). Sin embargo, el inóculo $F + G + \alpha$ dista mucho

de ser el más eficiente en términos de volumen de metano producido (Tablas 54 y 55). Al comparar dicha combinación con el resto de inóculos seleccionados, se observó que el inóculo G + α obtuvo valores incluso inferiores al inóculo más complejo aunque superiores al inóculo F + G, resultando que los elementos de los tres inóculos seleccionados implicados competirían entre sí por sustrato (Gallegos et al., 2010). No obstante, el inóculo F + G + α consigue mayor eficiencia que G + α , porque se ha complejizado el consorcio original al incluirse una cepa de nicho diferente (Domínguez, 2014; Gallegos et al., 2010).

6.2. Aplicabilidad energética del biogás producido por la composición de consorcios metanogénicos

Cepas aisladas o consorcios que generen biogás con un 70% de metano pueden ser considerados potenciales catalizadores de la optimización en procesos de biodigestión, puesto que, en el mejor de los casos, este valor es el máximo obtenido en la naturaleza (Rodríguez, 2014). La mayoría de valores de pureza de biogás de este estudio superaron este umbral, incluyendo cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados. En este sentido, el biogás producido por estos tres tipos de catalizadores posibilitarían evadir el proceso de purificación de CO₂, especialmente, haciéndolo inmediatamente aprovechable para cualquier fin bioenergético (Molina, Cantet, Montoya, Correa, & Barahona, 2013).

Factores que podrían influenciar la producción de metano incluyen la relación H₂/CO₂, el formiato, el acetato, el metanol y las metil-aminas (López, 1999), conocidos

como los mejores precursores en la metanogénesis. Estos mismos compuestos son reducidos en la naturaleza, de manera que no resultan sustentables en la industria energética que requiere de un mínimo de 45% de metano para ser considerado inflamable (Deublein & Angelika, 2008).

En este estudio, el medio de cultivo MC que contiene en su formulación el 82,8% de formiato de sodio, es considerado el más idóneo para la obtención de bacterias metanogénicas y, a su vez, resulta poseer un efectivo suministro de elementos que benefician al desarrollo bacteriano en forma líquida o sólida (Acuña et al., 2008; Ferrer & Pérez, 2010). Esto lo convierte en un oportuno catalizador directo de la metanogénesis, la razón de obtener producción de metano de parte de cepas aisladas y consorcios intactos únicamente en este medio. Sin embargo, sintetizar formiato de sodio o sus precursores en laboratorio o a escala industrial para procesos de biodigestión no resulta sustentable a no ser de que éste sea sintetizado biológicamente a partir de desechos orgánicos (Ferrer & Pérez, 2010; Pescador, 2015). Por esta razón, Ferrer y Pérez (2010) proponen la elección de inoculantes metanogénicos para el mejoramiento de la calidad y el rendimiento del biogás. Precisamente, es lo que ha conseguido esta investigación.

Un volumen de biogás con concentraciones superiores o iguales al 45% de metano es inflamable y, por ende, aprovechable. Por otro lado, altos porcentajes de metano en el biogás (70% o más) incrementan su poder calorífico (Lopez, 1999; Magaña & Rubio, 2011). Esto justifica el planteamiento de potenciar la producción de metano a partir de la formulación de inoculantes microbianos metanogénicos eficaces (Deublein & Angelika, 2008). En efecto, los resultados obtenidos demuestran la potencialidad de la optimización del proceso de biodigestión para proveer de energía renovable. Se ha conseguido elevar

la concentración de metano del 90 al 95%. Es decir, que en la cisterna colectora de desechos de camal de 12 x 2 x 1,35 m solo el último estrato, perteneciente al consorcio α , y tomando en cuenta que cada estrato era de 15 cm de espesor, al tomar 1 cm³ de éste se producirían 48,7 m³ de metano en 28 días, tomando como base una producción mínima de 15 cm³ de biogás y 13,5 cm³ de metano por cada cm³ de biomasa (Tabla 44). Si a esto se sumaran los 6,3 m³ producidos por el segundo estrato, correspondiente al consorcio β (producción mínima de 10 cm³ de biogás y 1,2 cm³ de metano por cada cm³ de biomasa), y 0,9 m³ del tercer estrato (producción mínima de 5 cm³ de biogás y 0,25 cm³ de metano por cada cm³ de biomasa), se obtendría un volumen total de metano de 56 m³ dentro de la cisterna. Sin embargo, si se combinara el consorcio intacto α del último estrato con la cepa F proveniente del segundo estrato, el valor resultante de dicha combinación sería 68 m³ y se obtendría una producción total de 124 m³ de metano (producción mínima de 20 cm³ de biogás y 19 cm³ de metano por cada cm³ de biomasa). En base a estas estimaciones conservadoras, y según los estudios de Quesada, Salas, Arguedas y Botero (2007) donde demuestran que a partir de 31,9 m³ de biogás al 77,9 % de metano se obtienen 274 kWh, en este estudio se calcula que mediante la composición de inóculos metanogénicos eficaces se estarían obteniendo 1364,8 kWh de energía eléctrica para consumo en 28 días.

Un estudio realizado por Baquero y Quezada (2016) en la ciudad de Cuenca-Ecuador evidenció que mensualmente, por domicilio, se consumen en promedio 201,40 kWh. De tal manera que, en base a este consumo eléctrico, la producción de metano de la cisterna podría abastecer una casa durante seis meses, aproximadamente, siempre y cuando las condiciones se asemejen al medio MC, lo que resulta poco probable por lo antes expuesto. Adicionalmente, se deberá tomar en cuenta el comportamiento bacteriano

a gran escala para determinar si en realidad los volúmenes de metano estimados en este estudio lograrán ser obtenidos en la práctica ya que, como menciona la Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT] (2010), para que generen biogás de calidad energética sustentable, los volúmenes grandes de desechos orgánicos deben ser estables y bien seleccionados.

Aun así, el Plan Maestro de Electrificación elaborado por el Consejo Nacional de Electricidad (2013) determinó que para el año 2017, el promedio de consumo residencial en la ciudad de Quito sería de 152 kWh mes⁻¹ sin uso de cocina a inducción y, con uso de ésta, habría un consumo adicional de 100 kWh mes⁻¹. Es decir, mensualmente se estarían consumiendo 252 kWh, aproximadamente.

En este sentido, si una casa usa cocina a inducción podría ser abastecida de energía eléctrica generada por biogás durante cinco meses, siempre y cuando la casa, el edificio, la tienda o cualquiera que desee adoptar un sistema de generación de energía renovable que funcione de forma eficiente a base de biogás, debería contar con inoculantes metanogénicos y desechos orgánicos idóneos (Ferrer & Pérez, 2010). Adicionalmente, es indispensable un biodigestor diseñado técnicamente que cuente con todas las seguridades para evitar posibles accidentes, esté en buen estado y posea la maquinaria necesaria para transformar el biogás en energía (Quesada et al., 2007; SEMARNAT, 2010). El manejo riguroso y el empleo de las mejores alternativas económicas en cuanto a la adquisición de insumos como el formiato de sodio como principal precursor de metanogénesis identificado en este estudio, por ejemplo, harán que el biogás pueda ser usado de forma exitosa y se convierta en la alternativa de gestión de desechos orgánicos propuesta en esta investigación.

7. CONCLUSIONES

- Combinar un conjunto de bacterias posibilita un aumento significativo en la cantidad y la calidad de los productos de los procesos biológicos, siempre que sean compatibles.
- La manipulación de la dominancia de una determinada especie de un consorcio, no se traduce necesariamente en el aumento de la productividad metabólica del mismo.
- La combinación de dos cepas aisladas puede resultar en antagonismo marcado.
- El sustrato que permitió evidenciar la optimización de los procesos de biodigestión fue el medio de cultivo MC que constituyó un catalizador directo de la metanogénesis.
- La optimización en la producción de metano se debe a la formación de inóculos seleccionados de microorganismos metanogénicos eficaces.
- Esta investigación ha conseguido generar un inoculante microbiano capaz de catalizar la metanogénesis, de manera que se potencien los volúmenes de biogás aprovechable como biocombustible.

8. RECOMENDACIONES

A partir de los resultados de esta investigación, se recomienda:

- Realizar estudios de costos de producción de metano optimizado a partir de la composición de consorcios metanogénicos.
- Llevar a escala mayor la composición de consorcios metanogénicos para verificar que la optimización de la biodigestión sea escalable.
- Cuantificar la capacidad energética real del metano generado por los inóculos seleccionados en ensayos directos.
- Realizar estudios de microorganismos productores de precursores de metanogénesis como por ejemplo, el formiato de sodio o acetato, entre otros.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña, P., Ángel, L., Montoya, E., Corrales, L., & Sanchez, L. (2008). Aislamiento e identificación de microorganismos del género *Methanococcus* y *Methanobacterium* de cuatro fuentes de Bogotá D.C. NOVA-Publicación Científica en Ciencias Biomédicas, 6 (10), 156-161. Recuperado de: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA10_ARTORIG5_METHAN
- Agencia Extremeña de la Energía. (2014). Aprovechamiento Energético de Residuo ganadero [versión DX Reader]. Recuperado de: http://www.agenex.net/guias-altercexa/4_APROVECHAMIENTO_DEL_RESIDUO_GANADERO.pdf
- Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria. (2016). ARCSA. Recuperado de <http://www.controlsanitario.gob.ec/base-de-datos/>
- Agrocalidad. (04 de diciembre de 2013). Resolución DAJ-20134B4-0201 .0247 - Agrocalidad. Recuperado de: <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2015/07/Manual-procedimiento-inspeccion-y-habilitacion-Mataderos-DAJ-20134B4-0201.0247.pdf>
- Albarracín, J., Henao, F., & Estrada, J. (2013). Impacto de tres dietas basadas en forrajes, sobre la producción de metano y ácidos grasos volátiles en *bos taurus* (BOVIDAE). Boletín Científico Museo de Historia Natural, 17 (1), 73-80. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/bccm/v17n1/v17n1a07.pdf>

- Behar, D. (2008). Metodología de la Investigación [versión DX Reader]. Recuperado de:
<http://www.rdigital.unicv.edu.cv/bitstream/123456789/106/3/Libro%20metodologia%20investigacion%20este.pdf>
- Bha, C., Din, A., Carne, A., & Michelle, M. (2013). Slaughterhouse Blood: An Emerging Source of Bioactive Compounds. *Comprehensive Reviews*, *12*(3), 314–331. doi:10.1111/1541-4337.12013
- Baquero Larriva, M. T., & Quezada Molina, F. (2016). Eficiencia Energética En El Sector Residencial De La Ciudad De Cuenca, Ecuador, *7*(2), 147–165.
- Barragan, E. a., Arias, P. D., & Terrados, J. (2016). Fomento del metabolismo energético circular mediante generación eléctrica proveniente de rellenos sanitarios : Estudio de caso , Cuenca , Ecuador Promoting Circular Energy Metabolisms through Electricity Generation from Landfills : Case study. *Ingenius*, *2*, 36–42. doi:<https://doi.org/10.17163/ings.n16.2016.05>
- Camargo, Y., & Vélez, a. (2009). Emisiones de biogás producidas en rellenos sanitarios. II Simposio Iberoamericano de Ingeniería de Residuos, (September 2015), 1–12. doi:10.1128/JCM.39.2.560-563.2001
- Consejo Nacional de Electricidad. (2013). Estudio Y Gestión De La Demanda Eléctrica. Plan Maestro De Electrificación 2013 - 2022, *2*, 29.
- Deublein, D., & Angelika, S. (2008). *Biogas from Waste and Renewable Resources*. Wiley-VCH.

Domínguez, M. (2014). Caracterización fermentativa de biodigestores de cerdaza y aislamiento de una arqueobacteria metanogénica. Colegio de Postgraduados Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10521/2307>

Ferrer, Y., & Pérez, H. (2010). 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, 43, 9 – 10.

Figueredo, E. (2016). *Hidroxiapatitas Ca-Zn: Un Nuevo Soporte en la Reacción de Hidrodesulfuración de Tiofeno*. Universidad de Carabobo.

Gallegos, M., Celis, L., & Razo, E. (2010). Competencia por sustrato durante el desarrollo de biomasa sulfatorreductora a partir de un lodo metanogénico en un reactor UASB. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 26(2), 109–117. Recuperado de: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v26n2/v26n2a2.pdf>

García, J. (2014). Producción de Metano en Ambientes Hipersalinos: Diversidad Microbiana, Estructura y Función de la Comunidad de Arqueas Metanogénicas. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S. C.

García, R., González, J., & Jornet, J. (2010). *Introducción al SPSS: Prueba t - UV*. Recuperado de https://www.uv.es/innomide/spss/SPSS/SPSS_0701b.pdf

GESTNOVA Cía. Ltda. (2015). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de la Parroquia de Pacto*. Recuperado de <http://app.sni.gob.ec/sni->

link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdocumentofinal/1768128260001_GESTNOVA_PDyOT_PACTOFINAL_30-10-2015_20-27-52.pdf

Icaza-Chávez, M. E. (2013). Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. *Revista de Gastroenterología de Mexico*, 78(4), 240–248. doi:10.1016/j.rgmx.2013.04.004

Lopez, G. (1999). Metodo no convencional de medición de gases en la digestión anaerobia, 16.

Magaña, J., & Rubio, R. (2011). Tratamiento anaerobio de desechos lácticos y estiércol de cabra Anaerobic treatment of lactic waste and goat manure. *Revista Ingeniería E Investigación*, 31, 93–98.

Méndez, C., Mesa, V., Sprenger, R., Richter, M., Suárez, M., Solano, J., . . . Ferrer, M. (2014). Microbial stratification in low pH oxic and suboxic macroscopic growths along an acid mine drainage. *ISME*, 8, 1259-1274. Obtenido de <https://www.nature.com/articles/ismej2013242.pdf>

Molina, I., Cantet, J. M., Montoya, S., Correa, G., & Barahona, R. (2013). In vitro methane production from two tropical grasses alone or in combination with *Leucaena leucocephala* or *Gliricidia sepium*. *CES Medicina Veterinaria Y Zootecnia*, 8, 15–31.

Moreno, J., & Albarracín, V. (2012). Aislamiento, cultivo e identificación de microorganismos ambientales a partir de muestras naturales. *Reduca*, 5(5), 79-93. Obtenido de <http://hdl.handle.net/11336/17156>

Otero, P. A. (2017). Carl Woese y los dominios de la vida. *Revista Boletín Biológica*, 37, 27–33.

Pescador, M. (2015). Universidad de salamanca. Salamanca_DiegoPescadorMT_ProyectoAcidoFormico.pdf

Pérez, A. (2010). *Actividad Metanogénica Específica: Una herramienta de control y optimización de sistemas de tratamiento anaerobio de aguas residuales*. Obtenido de *Actividad Metanogénica Específica: Una herramienta de control y optimización de sistemas de tratamiento anaerobio de aguas residuales*: <http://uniciencia.ambientalex.info/revistas/Eidenar.uvalle.12010.pdf>

Posada, S., Noguera, R., & Bolívar, D. (2006). Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica in vitro de producción de gases en Medellín, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 19(4), 407-414. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/2950/295023004006.pdf>

Quesada, R., Salas, N., Arguedas, M., & Botero, R. (2007). Generación de energía eléctrica a partir de biogás. *Tierra Tropical*, 3, 227–235.

Quintero, L. U. Z., & Cardona, S. (2010). Índigo Carmín technologies for the decolorization of dyes : indigo and indigo carmine. *Dyna*, 77, 371–386.

Registro Oficial del Ecuador. (2015). Convenios. Nanegalito, Pacto, Nanegal, Gualea, Nono y Calacalí: Convenio de Mancomunidad. Recuperado de <https://www.registroficial.gob.ec/index.php/registro-oficial-web/publicaciones/registro-oficial/item/7417-registro-oficial-no-659.html>

RIABM. (2017). Bosques Modelo: territorios de desarrollo sostenible. Recuperado de:
<http://www.bosquesmodelo.net/wp-content/uploads/2017/06/Informe-Directorio-2017.pdf>

Rodríguez, L. (2014). Viabilidad Técnica para Producción de Biogás a partir de la Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos - FORSU. Universidad EAN.

Salazar, K. (2008). Estructura poblacional de bacterias sulfato reductoras y arqueas metanógenas en perfiles sedimentarios de lagunas de aguas blancas y aguas negras de la cuenca amazónica del río Beni, 147.

Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2010). Especificaciones Técnicas para el Diseño y Construcción de Biodigestores en México (p. 103). Recuperado de:
<http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/libros2009/CD001057.pdf>

Sistema Nacional de Información, S. (2015). Diagnóstico de la parroquia de Pacto. Recuperado de:
http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdiagnostico/1768128260001_diagnostico_SP_30-10-2015_17-20-24.pdf

Yang, Z., Guo, R., Xu, X., Wang, L., & Dai, M. (2016). Enhanced methane production via repeated batch bioaugmentation pattern of enriched microbial consortia. *ELSEVIER*, 2016, 471-477. Recuperado: de <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.062>

10. FIGURAS

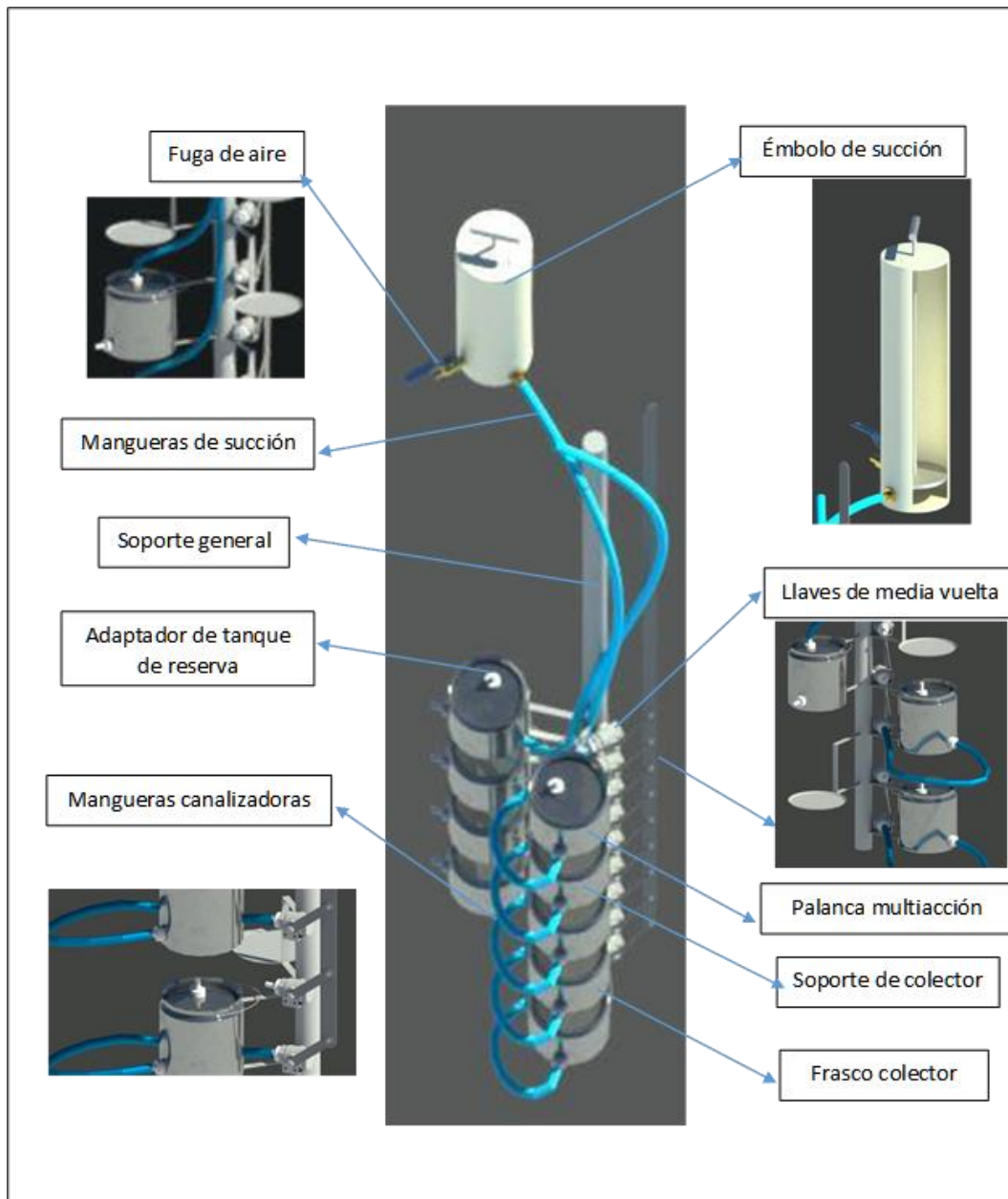


Figura 1. Esquema del dispositivo colector de muestras de fango residual de la cisterna colectora de desechos de camal de Pacto. Recoge simultáneamente nueve estratos de 3 L cada uno, gracias a la palanca multiacción que abre a la vez todas las llaves de media vuelta para que el material ingrese a los frascos colectores.

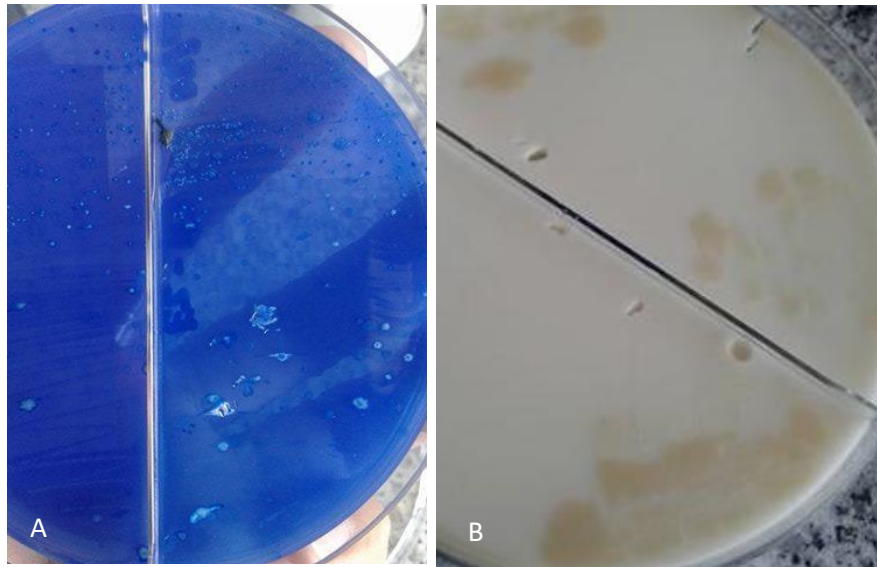


Figura 2. Morfología de colonias. A) Colonias pequeñas puntiformes amarillentas: agar Stadman-Barker (MC) específico para *Methanococcus*. B) Colonias redondas grandes, brillantes y pegajosas de color café: agar Barker-Taha (MB) específico para *Methanobacterium*.



Figura 3. Determinación de cepas aisladas y consorcios intactos productores de biogás en tubos de ensayo. A) Producción de biogás por cepas aisladas, B) Producción de biogás por consorcios intactos. El biogás producido se colecta en el tubo Durham invertido en forma de burbujas de gas.

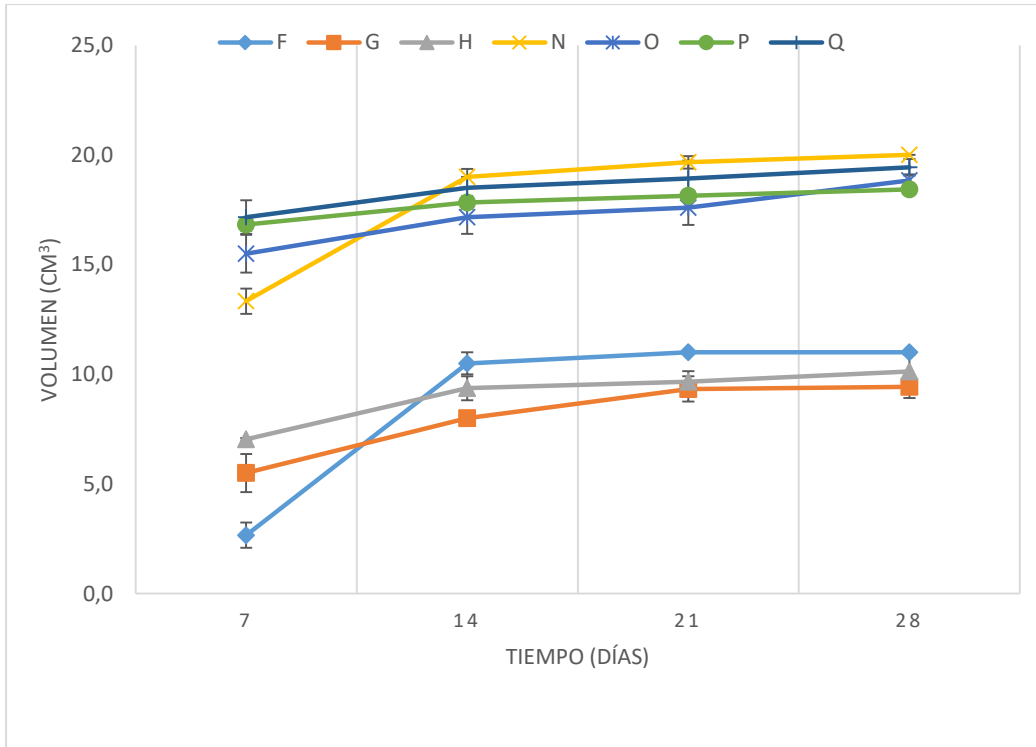


Figura 4. Evolución del volumen de biogás producido a lo largo de 28 días por cepas aisladas de la columna de fango residual de la cisterna colectora de desechos de camal. Volumen de biogás producido por las cepas F, G, H, N, O, P y Q. Los puntos representan los valores promedio mientras que las barras, la desviación estándar.

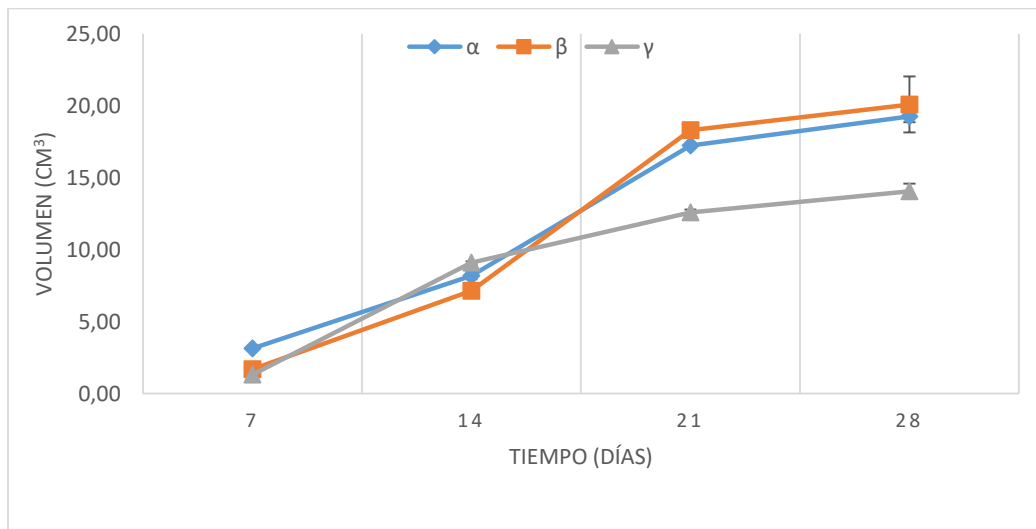


Figura 5. Evolución del volumen de biogás producido a lo largo de 28 días por consorcios intactos de la columna de fango residual de la cisterna colectora de desechos de camal. Volumen de biogás producido por los consorcios intactos α , β , y γ . Los puntos representan los valores promedio mientras que las barras, la desviación estándar.

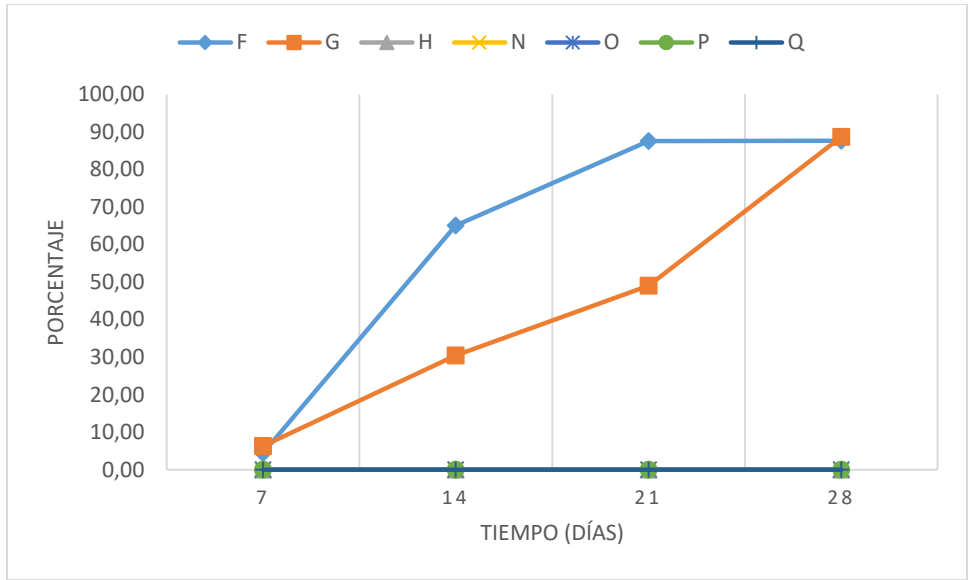


Figura 6. Evolución del porcentaje de metano en el biogás producido a lo largo de 28 días por cepas aisladas de la columna de fango residual de la cisterna colectora de desechos de camal. Porcentaje de metano contenido en el biogás producido por cepas aisladas. Los puntos representan los valores promedio mientras que las barras, la desviación estándar.

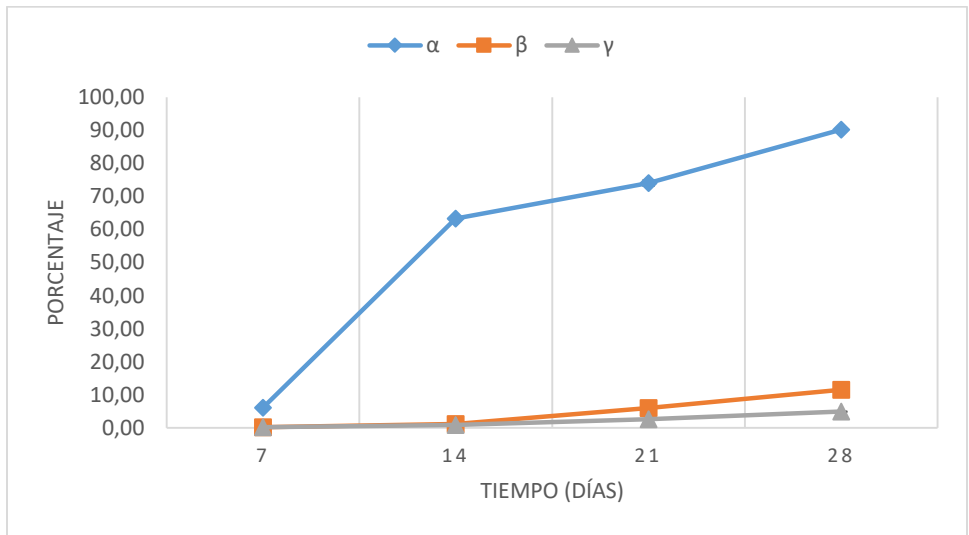


Figura 7. Evolución del porcentaje de metano en el biogás producido a lo largo de 28 días por consorcios intactos de la columna de fango residual de la cisterna colectora de desechos de camal. El volumen de biogás de todos los consorcios analizados es diferente a los 28 días. El porcentaje de metano contenido en el biogás producido por los consorcios provenientes de los tres estratos más profundos. Los puntos representan los valores promedio mientras que las barras, la desviación estándar.

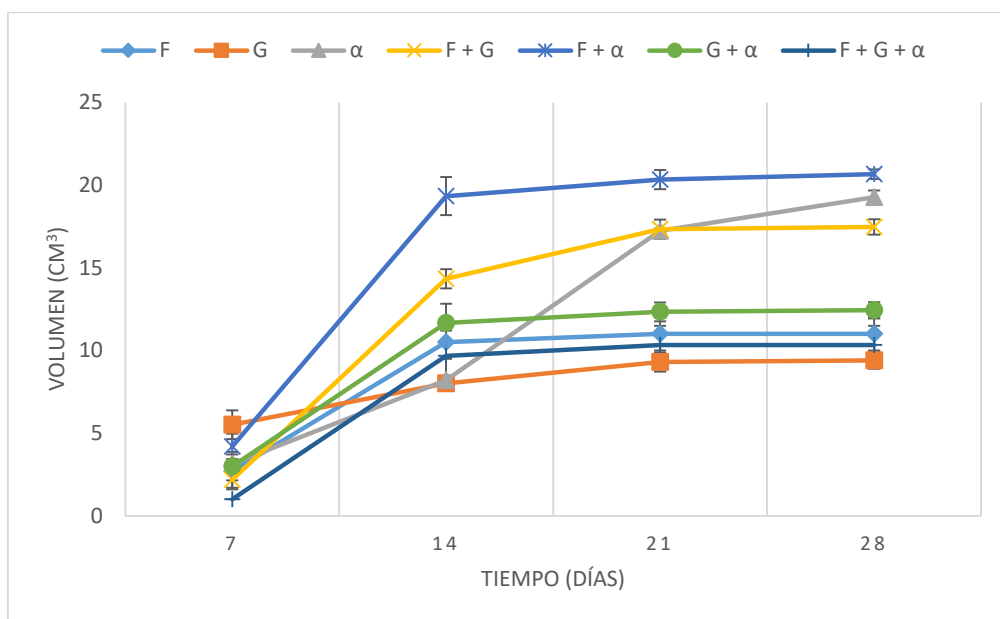


Figura 8. Evolución del volumen de biogás producido a lo largo de 28 días por cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados. Los puntos representan los valores promedio mientras que las barras, la desviación estándar.

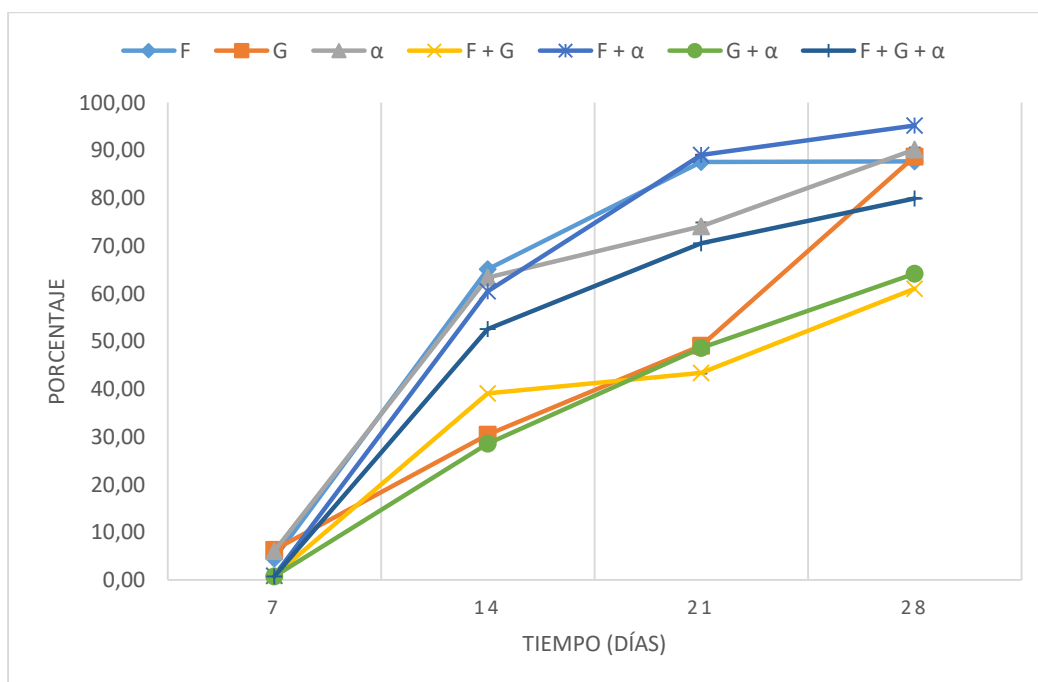


Figura 9. Evolución del porcentaje de metano en el biogás producido a lo largo de 28 días por cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados. Los puntos representan los valores promedio mientras que las barras, la desviación estándar.

11. TABLAS

Tabla 1. Caracterización fenotípica y procedencia de las cepas bacterianas aisladas en medio específico para *Methanococcus*, Stadman-Barker.

| Cepas provenientes de los diferentes estratos de la cisterna colectora de desechos de camal aisladas en medio Stadman-Barker | | | | | | | | | |
|--|---------|------------------|----------------|---|--|---------------------|----------------------|-----------------------------|-----------|
| Estrato | Réplica | Profundidad (cm) | Identificación | Descripción | Acidificación del medio (de azul verde a rojo) | Productor de biogás | Gram | Diámetro de la colonia (mm) | Motilidad |
| 1 | 3 | 120-135 | I | Colonia pequeña transparente irregular | ✓ | ----- | Cocos Gram (+) | 1 | ✓ |
| | | | J | Colonia blanca mediana regular | ✓ | ----- | Cocos Gram (+) | 2 | ✓ |
| 2 | 1 | 105-120 | A | Colonia transparente pequeña irregular amarilla | ✓ | ----- | Cocos Gram (+) | 1 | ----- |
| | | | E | Colonia pequeña azul regular | ----- | ----- | Cocos Gram (+) | 2 | ✓ |
| | 2 | 105-120 | F | Colonia pequeña amarilla pálida puntiforme | ✓ | ✓ | Cocos Gram (+) | 1 | ✓ |
| | | | K | Colonia pequeña pálida plana irregular | ----- | ----- | Cocobacilos Gram (-) | 1 | ----- |
| 3 | 2 | 90-105 | L | Colonia grande blanca regular | ----- | ----- | Cocos Gram (+) | 3 | ✓ |
| | | | G | Colonia pequeña transparente irregular | ✓ | ✓ | Cocos Gram (+) | 2 | ✓ |
| 3 | 3 | 90-105 | H | Colonia mediana celeste irregular | ✓ | ✓ | Cocobacilos Gram (-) | 2,5 | ✓ |
| | | | M | Colonia celeste irregular pequeña | ✓ | ----- | Cocobacilos Gram (-) | 1 | ✓ |
| | 3 | 90-105 | N | Colonia azul intenso mediana | ✓ | ✓ | Cocos Gram (+) | 1 | ✓ |
| | | | Ñ | Colonia plana cremosa mediana | ✓ | ----- | Cocos Gram (+) | 2 | ----- |
| | | | O | Colonia azul pegajosa pequeña | ✓ | ✓ | Cocos Gram (+) | 1 | ✓ |
| | | | P | Colonia plana amarillenta | ✓ | ✓ | Cocos Gram (+) | 1 | ✓ |
| | | | Q | Colonia celeste regular pequeña | ✓ | ✓ | Cocos Gram (+) | 1 | ✓ |
| 4 | 1 | 75-90 | B | Colonia azul pequeña irregular | ----- | ----- | Cocobacilos Gram (+) | 2 | ✓ |
| 5 | 1 | 60-75 | C | Colonia celeste pequeña regular | ----- | ----- | Cocos Gram (+) | 1 | ----- |
| | | | D | Colonia celeste pequeña regular | ----- | ----- | Cocos Gram (+) | 1 | ✓ |

Tabla 2. Caracterización fenotípica y procedencia de las cepas bacterianas aisladas en medio específico para *Methanobacterium*, Barker-Taha.

| Cepas provenientes de los diferentes estratos de la cisterna colectora de desechos de camal aisladas en medio Barker-Taha | | | | | | | | |
|---|---------|------------------|----------------|---|-----------------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------|
| Estrato | Réplica | Profundidad (cm) | Identificación | Descripción | Colonias sulfurosas (café-marrón) | Productores de biogás | Gram | Motilidad |
| 1 | 2 | 120-135 | Z | Colonias blancas grandes | ----- | ----- | Bacilos Gram (-) | ✓ |
| 2 | 1 | 105-120 | R | Colonia marrón, grande irregular | ✓ | ----- | Bacilos cortos Gram (+) | ----- |
| | 2 | | AA | Colonias marrón, grande irregular | ✓ | ----- | Bacilos Gram (+) | ----- |
| 3 | 1 | 90-105 | S | Colonia marrón, grande irregular | ✓ | ----- | Bacilos Gram (+) | ----- |
| | 3 | | GG | Colonia blancas medianas irregular | ----- | ----- | Bacilos Gram (+) | ----- |
| 4 | 2 | 75-90 | BB | Colonias marrón, grande irregular | ✓ | ----- | Bacilos Gram (+) | ----- |
| 5 | 1 | 60-75 | T | Colonia marrón, grande irregular | ✓ | ----- | Bacilos Gram (+) | ----- |
| | 2 | | CC | Colonias secas pequeñas irregulares blancas | ----- | ----- | Bacilos cortos Gram (-) | ----- |
| 6 | 1 | 45-60 | U | Colonia marrón, grande irregular | ✓ | ----- | Bacilos Gram (+) | ----- |
| | 2 | | DD | Colonias secas pequeñas irregulares blancas | ----- | ----- | Bacilos cortos Gram (-) | ----- |
| | | | EE | Colonias marrón, grande irregular | ✓ | ----- | Bacilos Gram (+) | ----- |
| | 3 | | HH | Colonias secas pequeñas irregulares blancas | ----- | ----- | Bacilos cortos Gram (-) | ✓ |
| 7 | 1 | 30-45 | V | Colonias tomates grandes irregulares | ----- | ----- | Bacilos Gram (+) | ----- |
| | 3 | | II | Colonias secas pequeñas irregulares blancas | ----- | ----- | Bacilos cortos Gram (-) | ✓ |
| | | | X | Colonias secas pequeñas irregulares blancas | ----- | ----- | Bacilos cortos Gram (+) | ----- |
| 8 | 1 | 15-30 | Y | Colonias secas pequeñas irregulares blancas | ----- | ----- | Bacilos cortos Gram (+) | ----- |
| | 2 | | FF | Colonia amarilla mediana regular | ----- | ----- | Bacilos Gram (-) | ----- |
| | 3 | | JJ | Colonias amarillas secas irregulares | ----- | ----- | Bacilos Gram (+) | ----- |

Tabla 3. Determinación cualitativa de consorcios intactos productores de biogás.
 Se incluyen únicamente aquellos estratos cuyos consorcios intactos registraron producción de biogás evidenciada por desplazamiento de volumen dentro del tubo Durham.

| Conorcios intactos productores de biogás provenientes de los diferentes estratos de la cisterna colectora de desechos de camal | | | | | |
|--|---------|---------|----------------|---|---|
| Profundidad (cm) | Estrato | Réplica | Identificación | Cantidad de biogás en medio Stadman-Baker | Cantidad de biogás en medio Barker-Taha |
| 120-135 | 1 | 1 | α | ++ | ++ |
| | | 2 | α | +++ | + |
| | | 3 | α | ++++ | + |
| 105-120 | 2 | 1 | β | + | + |
| | | 2 | β | + | ++ |
| | | 3 | β | + | - |
| 90-105 | 3 | 1 | γ | + | + |
| | | 2 | γ | ++ | + |
| | | 3 | γ | ++ | ++++ |

Caracterización cualitativa: +++++, tubo lleno de gas; +++, $\frac{3}{4}$ tubo lleno; ++, mitad del tubo; +, $\frac{1}{4}$ de tubo; -, no produce biogás.

Tabla 4. Volumen de biogás producido en medio Stadman-Barker por cepas aisladas de diferentes profundidades de la cisterna colectora de desechos de camal durante 28 días. Se muestran únicamente el promedio y la desviación estándar de las tres réplicas analizadas a intervalos de siete días para volumen de biogás de las cepas que registraron producción.

| Cepas productoras de biogás provenientes de los diferentes estratos cultivadas en medio Stadman-Barker | | | | | |
|---|----------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------------|---|
| Día | Estrato | Profundidad (cm) | Identificación | Promedio (cm³) | Desviación estándar (cm³) |
| 7 | 2 | 105-120 | F | 2,67 | 0,58 |
| | | | 3 | 90-105 | G |
| | H | 7,03 | | | 0,06 |
| | N | 13,33 | | | 0,58 |
| | O | 15,50 | | | 0,87 |
| | P | 16,83 | | | 0,29 |
| | Q | 17,03 | 0,76 | | |
| 14 | 2 | 105-120 | F | 10,50 | 0,50 |
| | | | 3 | 90-105 | G |
| | H | 9,37 | | | 0,55 |
| | N | 19,00 | | | 0,00 |
| | O | 17,17 | | | 0,76 |
| | P | 17,83 | | | 0,29 |
| | Q | 18,50 | 0,87 | | |
| 21 | 2 | 105-120 | F | 11,00 | 0,00 |
| | | | 3 | 90-105 | G |
| | H | 9,67 | | | 0,47 |
| | N | 19,67 | | | 0,29 |
| | O | 17,60 | | | 0,79 |
| | P | 18,13 | | | 0,23 |
| | Q | 18,93 | 0,81 | | |
| 28 | 2 | 105-120 | F | 11,00 | 0,00 |
| | | | 3 | 90-105 | G |
| | H | 10,13 | | | 0,75 |
| | N | 20,00 | | | 0,00 |
| | O | 18,83 | | | 0,29 |
| | P | 18,43 | | | 0,12 |
| | Q | 19,43 | 0,38 | | |

Tabla 5. Comparación del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras siete días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre cepas.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------------|----|---------------------|----------|--------|
| Variable dependiente: Volumen de biogás (cm ³) | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 3250,795 ^a | 9 | 361,199 | 1198,923 | ,000 |
| Cepas_7Días | 3248,737 | 7 | 464,105 | 1540,497 | ,000** |
| Réplica | 2,058 | 2 | 1,029 | 3,416 | ,067 |
| Error | 3,615 | 12 | ,301 | | |
| Total | 3254,410 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = ,999 (R al cuadrado ajustada = ,998)

Tabla 6. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras siete días de incubación. Destacan como más eficientes en términos de producción de biogás las cepas P y Q con un rango promedio de 16,83 a 17,17 cm³ de biogás producidos. La cepa F resulta la menos efectiva con 2,67 cm³.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para volumen de biogás | | | | | | |
|--|---|-------------|--------|---------|---------|---------|
| Cepas_7Días | N | Subconjunto | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| F | 3 | 2,6667 | | | | |
| G | 3 | | 5,5000 | | | |
| H | 3 | | 7,0333 | | | |
| N | 3 | | | 13,3333 | | |
| O | 3 | | | | 15,5000 | |
| P | 3 | | | | 16,8333 | 16,8333 |
| Q | 3 | | | | | 17,1667 |
| Sig. | | 1,000 | ,057 | 1,000 | ,117 | ,986 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,301.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 7. Comparación del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras 14 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre cepas.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------------|----|---------------------|----------|--------|
| Variable dependiente: Volumen de biogás (cm ³) | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 4735,028 ^a | 9 | 526,114 | 2269,442 | ,000 |
| Cepas_14Días | 4733,870 | 7 | 676,267 | 2917,140 | ,000** |
| Réplicas | 1,158 | 2 | ,579 | 2,498 | ,124 |
| Error | 2,782 | 12 | ,232 | | |
| Total | 4737,810 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = ,999 (R al cuadrado ajustada = ,999)

Tabla 8. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras 14 días de incubación. Destacan como más eficientes en términos de producción de biogás las cepas N, P y Q con un rango promedio 17,83 a 19,00 cm³ de biogás producidos. Las cepas G y H resultan las menos efectivas con 8,00 y 9,37 cm³, respectivamente.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para volumen de biogás | | | | | |
|--|-------------|--------|---------|---------|---------|
| Cepas_14Días | Subconjunto | | | | |
| | N | 1 | 2 | 3 | 4 |
| G | 3 | 8,0000 | | | |
| H | 3 | 9,3667 | 9,3667 | | |
| F | 3 | | 10,5000 | | |
| O | 3 | | | 17,1667 | |
| P | 3 | | | 17,8333 | 17,8333 |
| Q | 3 | | | 18,5000 | 18,5000 |
| N | 3 | | | | 19,0000 |
| Sig. | | ,052 | ,135 | ,060 | ,119 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,232.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 9. Comparación del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras 21 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre cepas.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------|----|------------|----------|--------|
| Variable dependiente: Volumen de biogás (cm ³) | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma | | Cuadrático | | |
| | de cuadrados | gl | promedio | F | Sig. |
| Modelo | 5057,868 ^a | 9 | 561,985 | 2994,087 | ,000 |
| Cepas_21Días | 5056,147 | 7 | 722,307 | 3848,230 | ,000** |
| Réplicas | 1,721 | 2 | ,860 | 4,584 | ,033 |
| Error | 2,252 | 12 | ,188 | | |
| Total | 5060,120 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = ,999)

Tabla 10. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras 21 días de incubación. Destacan como más eficientes en términos de producción de biogás las cepas N y Q con un rango promedio de 18,93 a 19,67 cm³ de biogás producidos. Las cepas G y H resultan las menos efectivas con 9,33 y 9,67 cm³, respectivamente.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para volumen de biogás | | | | | | |
|--|---|-------------|---------|---------|---------|---------|
| Cepas_21Días | N | Subconjunto | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| G | 3 | 9,3333 | | | | |
| H | 3 | 9,6667 | | | | |
| F | 3 | | 11,0000 | | | |
| O | 3 | | | 17,6000 | | |
| P | 3 | | | 18,1333 | 18,1333 | |
| Q | 3 | | | | 18,9333 | 18,9333 |
| N | 3 | | | | | 19,6667 |
| Sig. | | ,958 | 1,000 | ,736 | ,334 | ,423 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,188.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 11. Comparación del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras 28 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre cepas.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------------|----|---------------------|----------|--------|
| Variable dependiente: Volumen de biogás (cm ³) | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 5355,016 ^a | 9 | 595,002 | 4624,937 | ,000 |
| Cepas_28Días | 5354,427 | 7 | 764,918 | 5945,693 | ,000** |
| Réplica | ,590 | 2 | ,295 | 2,291 | ,144 |
| Error | 1,544 | 12 | ,129 | | |
| Total | 5356,560 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = ,999)

Tabla 12. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas aisladas en medio Stadman-Barker tras 28 días de incubación. Destacan como más eficientes en términos de producción de biogás las cepas N y Q con un rango promedio de 19,43 a 20,00 cm³ de biogás producidos. Las cepas G y H resultan las menos efectivas con 9,43-10,13 cm³.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para volumen de biogás | | | | | |
|--|---|-------------|---------|---------|---------|
| Cepas_28Días | N | Subconjunto | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| G | 3 | 9,4333 | | | |
| H | 3 | 10,1333 | 10,1333 | | |
| F | 3 | | 11,0000 | | |
| P | 3 | | | 18,4333 | |
| O | 3 | | | 18,8333 | |
| Q | 3 | | | 19,4333 | 19,4333 |
| N | 3 | | | | 20,0000 |
| Sig. | | ,281 | ,120 | ,058 | ,496 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,129.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 13. Volumen de biogás producido en medio Stadman-Barker por los consorcios intactos de la cisterna colectora de desechos de camal durante 28 días. Se muestran únicamente el promedio y la desviación estándar de las dos réplicas analizadas por triplicado a intervalos de siete días para volumen de biogás de los consorcios intactos que registraron producción.

| Día | Estrato | Profundidad (cm) | Identificación | Promedio (cm³) | Desviación estándar (cm³) |
|------------|----------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------------|---|
| 7 | 1 | 120-135 | α | 3,15 | 0,05 |
| | 2 | 105-120 | β | 1,68 | 0,18 |
| | 3 | 90-105 | γ | 1,33 | 0,03 |
| 14 | 1 | 120-135 | α | 8,200 | 0,26 |
| | 2 | 105-120 | β | 7,133 | 0,06 |
| | 3 | 90-105 | γ | 9,10 | 0,10 |
| 21 | 1 | 120-135 | α | 17,23 | 0,15 |
| | 2 | 105-120 | β | 18,30 | 0,20 |
| | 3 | 90-105 | γ | 12,60 | 0,20 |
| 28 | 1 | 120-135 | α | 19,27 | 0,41 |
| | 2 | 105-120 | β | 20,10 | 1,95 |
| | 3 | 90-105 | γ | 14,07 | 0,53 |

Tabla 14. Comparación del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras siete días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios intactos

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------------|----|---------------------|----------|--------|
| Variable dependiente: Volumen de biogás (cm ³) | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 43,604 ^a | 5 | 8,721 | 885,854 | ,000 |
| Cons_7Días | 43,575 | 3 | 14,525 | 1475,453 | ,000** |
| Réplica | ,029 | 2 | ,014 | 1,457 | ,335 |
| Error | ,039 | 4 | ,010 | | |
| Total | 43,643 | 9 | | | |

a. R al cuadrado = ,999 (R al cuadrado ajustada = ,998)

Cons: consorcios

Tabla 15. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras siete días de incubación. Destaca como más eficiente en términos de producción de biogás el consorcio intacto α con un promedio de 3,15 cm³ de biogás producidos. El consorcio γ resulta el menos efectivo con 1,33 cm³.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para volumen de biogás | | | | |
|--|---|-------------|--------|--------|
| Consortios_7Días | N | Subconjunto | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| γ | 3 | 1,3300 | | |
| β | 3 | | 1,6833 | |
| α | 3 | | | 3,1500 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,010.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 16. Comparación del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras 14 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios intactos.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------------|----|---------------------|-----------|--------|
| Variable dependiente: Volumen de biogás (cm ³) | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 602,919 ^a | 5 | 120,584 | 9436,991 | ,000 |
| Cons_14Días | 602,803 | 3 | 200,934 | 15725,304 | ,000** |
| Réplica | ,116 | 2 | ,058 | 4,522 | ,094 |
| Error | ,051 | 4 | ,013 | | |
| Total | 602,970 | 9 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Cons: consorcios

Tabla 17. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras 14 días de incubación. Destaca como más eficiente en términos de producción de biogás el consorcio intacto γ con 9,10 cm³ de biogás producidos. El consorcio β resulta el menos efectivo con 7,13 cm³.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para volumen de biogás | | | | |
|--|---|-------------|--------|--------|
| Consorcios_14Días | N | Subconjunto | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| β | 3 | 7,1333 | | |
| α | 3 | | 8,2000 | |
| γ | 3 | | | 9,1000 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,013.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 18. Comparación del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras 21 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios intactos.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------------|----|---------------------|-----------|--------|
| Variable dependiente: Volumen de biogás (cm ³) | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 2371,982 ^a | 5 | 474,396 | 13772,800 | ,000 |
| Cons_21Días | 2371,913 | 3 | 790,638 | 22954,000 | ,000** |
| Réplica | ,069 | 2 | ,034 | 1,000 | ,444 |
| Error | ,138 | 4 | ,034 | | |
| Total | 2372,120 | 9 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Cons: consorcios

Tabla 19. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras 21 días. Destaca como más eficiente en términos de producción de biogás el consorcio β con 18,30 cm³ de biogás producidos. El consorcio γ resulta el menos efectivo con 12,60 cm³.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para volumen de biogás | | | | |
|--|---|-------------|---------|---------|
| Consortios_21Días | N | Subconjunto | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| γ | 3 | 12,6000 | | |
| α | 3 | | 17,2333 | |
| β | 3 | | | 18,3000 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,034.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 20. Comparación del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras 28 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios intactos.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|---|-----------------------------|----|---------------------|----------|--------|
| Variable dependiente: Volumen de biogás (cm ³) | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 2919,741 ^a | 5 | 583,948 | 5315,330 | ,000 |
| Cons_28Días | 2919,257 | 3 | 973,086 | 8857,416 | ,000** |
| Réplica | ,484 | 2 | ,242 | 2,202 | ,227 |
| Error | ,439 | 4 | ,110 | | |
| Total | 2920,180 | 9 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Cons: consorcios

Tabla 21. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por consorcios intactos tras 28 días de incubación. Destacan como más eficientes en términos de producción de biogás los consorcios intactos α y β con un rango promedio de 19,26 a 20,10 cm³ de biogás. El consorcio γ resulta el menos efectivo con 14,06 cm³.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para volumen de biogás | | | |
|---|---|-------------|---------|
| Consortios_28Días | N | Subconjunto | |
| | | 1 | 2 |
| γ | 3 | 14,0667 | |
| α | 3 | | 19,2667 |
| β | 3 | | 20,1000 |
| Sig. | | 1,000 | ,077 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,110.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 22. Porcentaje de metano en el biogás producido por cepas aisladas de diferentes profundidades de la cisterna colectora de desechos de camal durante 28 días en medio Stadman-Barker. Se muestran únicamente el promedio y la desviación estándar de las tres réplicas analizadas a intervalos de siete días para concentración de metano en el biogás de las cepas que registraron producción. Las cepas H, N, O, P y Q no produjeron metano a pesar de generar biogás.

| Días | Estrato | Profundidad (cm) | Identificación | Promedio (%) | Desviación estándar (%) |
|-------------|----------------|-------------------------|-----------------------|---------------------|--------------------------------|
| 7 | 2 | 105-120 | F | 4,49 | 0,22 |
| | 3 | 90-105 | G | 6,33 | 0,09 |
| 14 | 2 | 105-120 | F | 65,11 | 0,50 |
| | 3 | 90-105 | G | 30,49 | 0,14 |
| 21 | 2 | 105-120 | F | 87,57 | 0,36 |
| | 3 | 90-105 | G | 49,08 | 0,29 |
| 28 | 2 | 105-120 | F | 87,69 | 0,36 |
| | 3 | 90-105 | G | 88,69 | 0,73 |

Tabla 23. Comparación de la calidad de biogás, en términos de porcentaje de metano producido, entre las dos cepas aisladas que registraron producción de metano tras siete días de incubación. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre cepas aisladas.

| Prueba de muestras independientes para porcentaje de metano | | | | | | | | | |
|---|--|------|---------|-------|-------------------------------------|----------------------|------------------------------|--|----------|
| | Prueba de Levene de calidad de varianzas | | | | Prueba t para la igualdad de medias | | | | |
| | F | Sig. | t | gl | Sig. (bilateral) | Diferencia de medias | Diferencia de error estándar | 95% de intervalo de confianza de la diferencia | |
| | | | | | | | | Inferior | Superior |
| Se asumen varianzas iguales | 3,010 | ,158 | -13,571 | 4 | ,000** | -1,83200 | ,13499 | -2,20680 | -1,45720 |
| No se asumen varianzas iguales | | | -13,571 | 2,67. | ,002** | -1,83200 | ,13499 | -2,29298 | -1,37102 |

Tabla 24. Comparación de la calidad de biogás, en términos de porcentaje de metano producido, entre las dos cepas aisladas que registraron producción de metano tras 14 días de incubación. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre cepas aisladas.

| Prueba de muestras independientes para porcentaje de metano | | | | | | | | | |
|---|--|------|---------|-------|-------------------------------------|----------------------|------------------------------|--|----------|
| | Prueba de Levene de calidad de varianzas | | | | Prueba t para la igualdad de medias | | | | |
| | F | Sig. | t | gl | Sig. (bilateral) | Diferencia de medias | Diferencia de error estándar | 95% de intervalo de confianza de la diferencia | |
| | | | | | | | | Inferior | Superior |
| Se asumen varianzas iguales | 3,237 | ,146 | 116,031 | 4 | ,000** | 34,61788 | ,29835 | 33,78953 | 35,44624 |
| No se asumen varianzas iguales | | | 116,031 | 2,302 | ,002** | 34,61788 | ,29835 | 33,48261 | 35,75316 |

Tabla 25. Comparación de la calidad de biogás, en términos de porcentaje de metano producido, entre las dos cepas aisladas que registraron producción de metano tras 21 días de incubación. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre cepas aisladas.

| Prueba de muestras independientes para porcentaje de metano | | | | | | | | | |
|---|--|------|-------------------------------------|-------|------------------|----------------------|------------------------------|--|----------|
| | Prueba de Levene de calidad de varianzas | | Prueba t para la igualdad de medias | | | | | | |
| | F | Sig. | t | gl | Sig. (bilateral) | Diferencia de medias | Diferencia de error estándar | 95% de intervalo de confianza de la diferencia | |
| | | | | | | | | Inferior | Superior |
| Se asumen varianzas iguales: | ,373 | ,574 | 144,355 | 4 | ,000** | 38,48928 | ,26663 | 37,74900 | 39,22956 |
| No se asumen varianzas iguales: | | | 144,355 | 3,790 | ,002** | 38,48928 | ,26663 | 37,73255 | 39,24601 |

Tabla 26. Comparación de la calidad de biogás, en términos de porcentaje de metano producido, entre las dos cepas aisladas que registraron producción de metano tras 28 días de incubación. No existen diferencias altamente significativas ($p > 0,05$) entre cepas.

| Prueba de muestras independientes para porcentaje de metano | | | | | | | | | |
|---|--|------|-------------------------------------|-------|------------------|----------------------|------------------------------|--|----------|
| | Prueba de Levene de calidad de varianzas | | Prueba t para la igualdad de medias | | | | | | |
| | F | Sig. | t | gl | Sig. (bilateral) | Diferencia de medias | Diferencia de error estándar | 95% de intervalo de confianza de la diferencia | |
| | | | | | | | | Inferior | Superior |
| Se asumen varianzas iguales: | 2,811 | ,169 | -2,115 | 4 | ,102 | 1,00034 | ,47304 | -2,31372 | ,31303 |
| No se asumen varianzas iguales: | | | -2,115 | 2,929 | ,127 | 1,00034 | ,47304 | -2,52677 | ,52609 |

Tabla 27. Porcentaje de metano en el biogás producido en medio Stadman-Barker por consorcios intactos de diferentes profundidades de la cisterna colectora de desechos de camal durante 28 días. Se muestran únicamente el promedio y la desviación estándar de las dos réplicas analizadas por triplicado, a intervalos de siete días para volumen de biogás de los consorcios intactos que registraron producción.

| Día | Estrato | Profundidad (cm) | Identificación | Promedio (%) | Desviación estándar (%) |
|------------|----------------|-------------------------|-----------------------|---------------------|--------------------------------|
| 7 | 1 | 120-135 | α | 6,09 | 0,03 |
| | 2 | 105-120 | β | 0,23 | 0,03 |
| | 3 | 90-105 | γ | 0,25 | 0,04 |
| 14 | 1 | 120-135 | α | 63,33 | 0,26 |
| | 2 | 105-120 | β | 1,15 | 0,14 |
| | 3 | 90-105 | γ | 0,89 | 0,01 |
| 21 | 1 | 120-135 | α | 74,07 | 0,86 |
| | 2 | 105-120 | β | 6,08 | 0,25 |
| | 3 | 90-105 | γ | 2,60 | 0,13 |
| 28 | 1 | 120-135 | α | 90,17 | 0,39 |
| | 2 | 105-120 | β | 11,59 | 0,08 |
| | 3 | 90-105 | γ | 4,92 | 0,04 |

Tabla 28. Comparación del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras siete días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios intactos.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|----------------------|----|------------|-----------|--------|
| Variable dependiente: Porcentaje de metano | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma | gl | Cuadrático | F | Sig. |
| | de cuadrados | | promedio | | |
| Modelo | 111,499 ^a | 5 | 22,300 | 29298,891 | ,000 |
| Cons_7Días | 111,498 | 3 | 37,166 | 48831,416 | ,000** |
| Réplicas | ,000 | 2 | 7,778E-5 | ,102 | ,905 |
| Error | ,003 | 4 | ,001 | | |
| Total | 111,502 | 9 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Cons: consorcios

Tabla 29. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras siete días de incubación. Destaca como más eficiente en términos de concentración de metano el consorcio intacto α con 6,09 % de metano producido. El consorcio β y γ resultan los menos efectivos con 0,23-0,25%.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para porcentaje de metano | | | |
|---|---|-------------|--------|
| Consortios_7Días | N | Subconjunto | |
| | | 1 | 2 |
| β | 3 | ,2333 | |
| γ | 3 | ,2533 | |
| α | 3 | | 6,0867 |
| Sig. | | ,675 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,001.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 30. Comparación del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras 14 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios intactos.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------------|----|---------------------|------------|------|
| Variable dependiente: Porcentaje de metano | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 12040,964 ^a | 5 | 2408,193 | 62370,461 | ,000 |
| Metano_14Días | 12040,949 | 3 | 4013,650 | 103950,640 | ,000 |
| Réplicas | ,015 | 2 | ,007 | ,194 | ,831 |
| Error | ,154 | 4 | ,039 | | |
| Total | 12041,119 | 9 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Tabla 31. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras 14 días de incubación. Destaca como más eficiente en términos de concentración de metano el consorcio intacto α con un promedio de 63,34% de metano producido. El consorcio β y γ resultan los menos efectivos con 0,89% y 1,15%.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para porcentaje de metano | | | |
|---|---|-------------|---------|
| Consortios_14Días | N | Subconjunto | |
| | | 1 | 2 |
| γ | 3 | ,8867 | |
| β | 3 | 1,1533 | |
| α | 3 | | 63,3367 |
| Sig. | | ,324 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,039.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 32. Comparación del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras 21 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios intactos.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|------------------------|----|------------|-----------|--------|
| Variable dependiente: Porcentaje de metano | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma | | Cuadrático | | |
| | de cuadrados | gl | promedio | F | Sig. |
| Modelo | 16589,267 ^a | 5 | 3317,853 | 12986,857 | ,000 |
| Cons_21Días | 16588,671 | 3 | 5529,557 | 21643,984 | ,000** |
| Réplicas | ,596 | 2 | ,298 | 1,166 | ,399 |
| Error | 1,022 | 4 | ,255 | | |
| Total | 16590,289 | 9 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Cons: consorcios

Tabla 33. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras 21 días de incubación. Destaca como más eficiente en términos de concentración de metano el consorcio intacto α con un promedio de 74,07% de metano producido. El consorcio γ resulta el menos efectivo con 2,60%.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para porcentaje de metano | | | | |
|---|---|-------------|--------|---------|
| Consortios_21Días | N | Subconjunto | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| γ | 3 | 2,6000 | | |
| β | 3 | | 6,0767 | |
| α | 3 | | | 74,0667 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,255.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 34. Comparación del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras 28 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios intactos.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------------|----|---------------------|------------|--------|
| Variable dependiente: Porcentaje de metano | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 24865,701 ^a | 5 | 4973,140 | 90567,100 | ,000 |
| Cons_28Días | 24865,588 | 3 | 8288,529 | 150944,487 | ,000** |
| Réplicas | ,112 | 2 | ,056 | 1,021 | ,438 |
| Error | ,220 | 4 | ,055 | | |
| Total | 24865,920 | 9 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Cons: consorcios

Tabla 35. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por consorcios intactos tras 28 días de incubación. Destaca como más eficiente en términos de concentración de metano el consorcio intacto α con un promedio de 90,17% de metano producido. El consorcio γ resulta el menos efectivo con 4,92%.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para porcentaje de metano | | | | |
|---|---|-------------|---------|---------|
| Consortios_28Días | N | Subconjunto | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| γ | 3 | 4,9167 | | |
| β | 3 | | 11,5900 | |
| α | 3 | | | 90,1667 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,055.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 36. Volumen de biogás producido por cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados de diferentes profundidades de la cisterna colectora de desechos de camal en medio Stadman-Barker. Se muestran datos numéricos del promedio de volumen de biogás producido, además de la desviación estándar respectiva para las tres réplicas de cepas e inóculos seleccionados, y las dos réplicas analizadas por triplicado de los consorcios intactos.

| Cepas, consorcios e inóculos seleccionados | | | |
|--|------------------|--------------------------------|--|
| Día | Identificación | Promedio (cm ³) | Desviación estándar (cm ³) |
| 7 | F | 2,67 | 0,58 |
| | G | 5,50 | 0,87 |
| | α | 3,15 | 0,05 |
| | F + G | 2,17 | 0,58 |
| | F + α | 4,20 | 0,76 |
| | G + α | 3,00 | 0,87 |
| | F + G + α | 1,00 | 0 |
| 14 | F | 10,50 | 0,50 |
| | G | 8,00 | 0,00 |
| | α | 8,20 | 0,26 |
| | F + G | 14,33 | 0,58 |
| | F + α | 19,33 | 1,15 |
| | G + α | 11,67 | 1,15 |
| | F + G + α | 9,67 | 1,53 |
| 21 | F | 11,00 | 0,00 |
| | G | 9,33 | 0,58 |
| | α | 17,23 | 0,15 |
| | F + G | 17,33 | 0,58 |
| | F + α | 20,33 | 0,58 |
| | G + α | 12,33 | 0,58 |
| | F + G + α | 10,33 | 1,15 |
| 28 | F | 11,00 | 0,00 |
| | G | 9,43 | 0,51 |
| | α | 19,27 | 0,41 |
| | F + G | 17,47 | 0,47 |
| | F + α | 20,67 | 0,29 |
| | G + α | 12,43 | 0,49 |
| | F + G + α | 10,33 | 1,15 |

Tabla 37. Comparación del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras siete días de incubación mediante ANOVA de los datos transformados a raíz cuadrada. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios y cepas.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|---|-----------------------------|----|---------------------|---------|--------|
| Variable dependiente: Raíz cuadrada de volumen de biogás (cm ³) | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 64,896 ^a | 9 | 7,211 | 560,336 | ,000 |
| Tratamiento_7Días | 64,882 | 7 | 9,269 | 720,281 | ,000** |
| Réplica | ,014 | 2 | ,007 | ,528 | ,603 |
| Error | ,154 | 12 | ,013 | | |
| Total | 65,050 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = ,998 (R al cuadrado ajustada = ,996)

Tabla 38. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras siete días de incubación transformados a raíz cuadrada. Destacan como más eficientes en términos de producción de biogás la cepa G y el inóculo seleccionado F + α con un rango promedio de 4,20 a 5,50 (inversos de raíz cuadrada de los valores respectivos) cm³ de biogás producidos. El consorcio constituido por F + G + α resulta el menos efectivo con 1,00 cm³.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para raíz cuadrada de volumen de biogás | | | | | |
|---|---|-------------|--------|--------|--------|
| Tratamiento_7Días | N | Subconjunto | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| F + G + α | 3 | 1,0000 | | | |
| F + G | 3 | | 1,4699 | | |
| F | 3 | | 1,6261 | | |
| G + α | 3 | | 1,7319 | 1,7319 | |
| α | 3 | | 1,7748 | 1,7748 | |
| F + α | 3 | | | 2,0487 | 2,0487 |
| G | 3 | | | | 2,3401 |
| Sig. | | 1,000 | ,070 | ,057 | ,089 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,013.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 39. Comparación del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 14 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios y cepas.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------|----|------------|---------|--------|
| Variable dependiente: Volumen de biogás (cm ³) | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma | | Cuadrático | | |
| | de cuadrados | gl | promedio | F | Sig. |
| Modelo | 3152,366 ^a | 9 | 350,263 | 431,367 | ,000 |
| Tratamiento_14Días | 3150,803 | 7 | 450,115 | 554,339 | ,000** |
| Réplica | 1,563 | 2 | ,781 | ,962 | ,410 |
| Error | 9,744 | 12 | ,812 | | |
| Total | 3162,110 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = ,997 (R al cuadrado ajustada = ,995)

Tabla 40. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 14 días de incubación. Destaca como más eficiente en términos de producción de biogás el inóculo seleccionado F + α con un promedio de 19,33 cm³ de biogás producidos. Las cepas F y G, el consorcio intacto α y los inóculos seleccionados G + α y F + G + α resultan los menos efectivos con 8,00 – 10,50 cm³.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para volumen de biogás | | | | | |
|--|---|-------------|---------|---------|---------|
| Tratamiento_14Días | N | Subconjunto | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| G | 3 | 8,0000 | | | |
| α | 3 | 8,2000 | | | |
| F + G + α | 3 | 9,6667 | 9,6667 | | |
| F | 3 | 10,5000 | 10,5000 | | |
| G + α | 3 | | 11,6667 | | |
| F + G | 3 | | | 14,3333 | |
| F + α | 3 | | | | 19,3333 |
| Sig. | | ,059 | ,174 | 1,000 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,812.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 41. Comparación del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 21 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios y cepas.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------|----|------------|----------|--------|
| Variable dependiente: Volumen de biogás (cm ³) | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma | | Cuadrático | | |
| | de cuadrados | gl | promedio | F | Sig. |
| Modelo | 4433,741 ^a | 9 | 492,638 | 1122,060 | ,000 |
| Tratamiento_21Días | 4433,630 | 7 | 633,376 | 1442,613 | ,000** |
| Réplica | ,111 | 2 | ,056 | ,127 | ,882 |
| Error | 5,269 | 12 | ,439 | | |
| Total | 4439,010 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = ,999 (R al cuadrado ajustada = ,998)

Tabla 42. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 21 días de incubación. Destaca como más eficiente en términos de producción de biogás el inóculo seleccionado F + α con un promedio de 20,33 cm³ de biogás producidos. Las cepas F, G y el inóculo seleccionado F + G + α resultan los menos efectivos con 9,33 – 11,00 cm³.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para volumen de biogás | | | | | |
|--|---|-------------|---------|---------|---------|
| Tratamiento_21Días | N | Subconjunto | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| G | 3 | 9,3333 | | | |
| F + G + α | 3 | 10,3333 | | | |
| F | 3 | 11,0000 | 11,0000 | | |
| G + α | 3 | | 12,3333 | | |
| α | 3 | | | 17,2333 | |
| F + G | 3 | | | 17,3333 | |
| F + α | 3 | | | | 20,3333 |
| Sig. | | ,099 | ,253 | 1,000 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,439.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 43. Comparación del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 28 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios y cepas.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------------|----|---------------------|----------|--------|
| Variable dependiente: Volumen de biogás (cm ³) | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 4724,368 ^a | 9 | 524,930 | 1394,500 | ,000 |
| Tratamiento_28Días | 4724,260 | 7 | 674,894 | 1792,888 | ,000** |
| Réplicas | ,108 | 2 | ,054 | ,143 | ,868 |
| Error | 4,517 | 12 | ,376 | | |
| Total | 4728,885 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = ,999 (R al cuadrado ajustada = ,998)

Tabla 44. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de biogás producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 28 días de incubación. Destacan como más eficientes en términos de producción de biogás el inóculo seleccionado F + α y el consorcio intacto α con un rango promedio de 19,27 a 20,67 cm³ de biogás producidos. Las cepas F, G y el consorcio F + G + α resultan los menos efectivos con 9,43 - 11,00 cm³.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para volumen de biogás | | | | | |
|--|---|-------------|---------|---------|---------|
| Tratamiento_28Días | N | Subconjunto | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| G | 3 | 9,4333 | | | |
| F + G + α | 3 | 10,3333 | | | |
| F | 3 | 11,0000 | 11,0000 | | |
| G + α | 3 | | 12,4333 | | |
| F + G | 3 | | | 17,4667 | |
| α | 3 | | | | 19,2667 |
| F + α | 3 | | | | 20,6667 |
| Sig. | | ,092 | ,140 | 1,000 | ,155 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,376.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 45. Concentración de metano producido por cepas aisladas, consorcios intactos e inóculos seleccionados mejores productores de metano provenientes de diferentes profundidades de la cisterna colectora de desechos de camal en medio Stadman-Barker. Se muestran datos numéricos de la concentración de metano y la desviación estándar respectiva de las tres réplicas de cepas aisladas e inóculos seleccionados, así como también las dos réplicas analizadas por triplicado de los consorcios intactos.

| Cepas, consorcios e inóculos seleccionados | | | |
|--|------------------|--------------|-------------------------|
| Día | Identificación | Promedio (%) | Desviación estándar (%) |
| 7 | F | 4,49 | 0,22 |
| | G | 6,33 | 0,09 |
| | α | 6,08 | 0,03 |
| | F + G | 0,93 | 0,1 |
| | F + α | 0,90 | 0,0 |
| | G + α | 0,78 | 0,1 |
| | F + G + α | 0,78 | 0,1 |
| | 14 | F | 65,11 |
| G | | 30,49 | 0,14 |
| α | | 63,34 | 0,26 |
| F + G | | 39,06 | 0,1 |
| F + α | | 60,50 | 0,1 |
| G + α | | 28,57 | 0,1 |
| F + G + α | | 52,57 | 0,1 |
| 21 | | F | 87,57 |
| | G | 49,08 | 0,29 |
| | α | 74,07 | 0,86 |
| | F + G | 43,33 | 0,1 |
| | F + α | 92,03 | 7,5 |
| | G + α | 48,60 | 0,1 |
| | F + G + α | 70,57 | 0,1 |
| | 28 | F | 87,69 |
| G | | 88,69 | 0,73 |
| α | | 90,17 | 0,39 |
| F + G | | 61,03 | 0,2 |
| F + α | | 95,17 | 0,4 |
| G + α | | 64,16 | 0,1 |
| F + G + α | | 79,97 | 0,1 |

Tabla 46. Comparación del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras siete días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios y cepas.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|----------------------|----|------------|----------|--------|
| Variable dependiente: Porcentaje de metano | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma | gl | Cuadrático | F | Sig. |
| | de cuadrados | | promedio | | |
| Modelo | 300,342 ^a | 9 | 33,371 | 3455,514 | ,000 |
| Tratamiento_7Días | 300,327 | 7 | 42,904 | 4442,581 | ,000** |
| Réplica | ,015 | 2 | ,008 | ,783 | ,479 |
| Error | ,116 | 12 | ,010 | | |
| Total | 300,458 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = ,999)

Tabla 47. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras siete días de incubación. Destacan como más eficientes en términos de concentración de metano la cepa G y el consorcio intacto α con un rango promedio de 6,08% a 6,33% de metano producido. Mientras que todos los inóculos seleccionados resultan los menos efectivos con 0,78% - 0,93%.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para porcentaje de metano | | | | |
|---|---|-------------|--------|--------|
| Tratamiento_7Días | N | Subconjunto | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| G + α | 3 | ,7767 | | |
| F + G + α | 3 | ,7767 | | |
| F + α | 3 | ,9000 | | |
| F + G | 3 | ,9333 | | |
| F | 3 | | 4,4936 | |
| α | 3 | | | 6,0867 |
| G | 3 | | | 6,3256 |
| Sig. | | ,421 | 1,000 | ,117 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,010.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 48. Comparación del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 14 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios y cepas.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------------|----|---------------------|------------|--------|
| Variable dependiente: Porcentaje de metano | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 53836,499 ^a | 9 | 5981,833 | 123476,165 | ,000 |
| Tratamiento_14Días | 53836,337 | 7 | 7690,905 | 158754,593 | ,000** |
| Réplica | ,162 | 2 | ,081 | 1,668 | ,230 |
| Error | ,581 | 12 | ,048 | | |
| Total | 53837,080 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Tabla 49. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 14 días de incubación. Destaca como más eficiente en términos de concentración de metano la cepa F con un promedio de 65,11%. El inóculo seleccionado G + α resulta el menos efectivo con 28,57%.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para porcentaje de metano | | | | | | | | |
|---|---|-------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Tratamiento_14Días | N | Subconjunto | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| G + α | 3 | 28,5667 | | | | | | |
| G | 3 | | 30,4872 | | | | | |
| F + G | 3 | | | 39,0667 | | | | |
| F + G + α | 3 | | | | 52,5667 | | | |
| F + α | 3 | | | | | 60,5000 | | |
| α | 3 | | | | | | 63,3367 | |
| F | 3 | | | | | | | 65,1051 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,048.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 50. Comparación del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 21 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios y cepas.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|------------------------|----|------------|-----------|--------|
| Variable dependiente: Porcentaje de metano | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma | gl | Cuadrático | F | Sig. |
| | de cuadrados | | promedio | | |
| Modelo | 99762,873 ^a | 9 | 11084,764 | 12776,071 | ,000 |
| Tratamiento_21Días | 99760,956 | 7 | 14251,565 | 16426,062 | ,000** |
| Réplica | 1,917 | 2 | ,958 | 1,105 | ,363 |
| Error | 10,411 | 12 | ,868 | | |
| Total | 99773,285 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Tabla 51. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 21 días de incubación. Destaca como más eficiente en términos de concentración de metano el inóculo seleccionado F + α con un promedio de 92,03%. El inóculo seleccionado F + G resulta el menos efectivo con 43,33%.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para porcentaje de metano | | | | | | | |
|---|---|-------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Tratamiento_21Días | N | Subconjunto | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| F + G | 3 | 43,3333 | | | | | |
| F + α | 3 | | 48,6000 | | | | |
| G + α | 3 | | 49,0838 | | | | |
| F + G + α | 3 | | | 70,5667 | | | |
| α | 3 | | | | 74,0667 | | |
| F | 3 | | | | | 87,5730 | |
| F + α | 3 | | | | | | 92,0333 |
| Sig. | | 1,000 | ,994 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,868.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 52. Comparación del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 28 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios y cepas.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|--|-----------------------------|----|---------------------|------------|--------|
| Variable dependiente: Porcentaje de metano | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 140942,368 ^a | 9 | 15660,263 | 95308,806 | ,000 |
| Tratamiento_28Días | 140942,255 | 7 | 20134,608 | 122539,795 | ,000** |
| Réplica | ,113 | 2 | ,057 | ,344 | ,716 |
| Error | 1,972 | 12 | ,164 | | |
| Total | 140944,340 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Tabla 53. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del porcentaje de metano producido por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 28 días de incubación. Destaca como más eficiente en términos de concentración de metano el inóculo seleccionado F + α con un promedio de 95,17%. El inóculo seleccionado F + G resulta el menos efectivo con 61,03%.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para porcentaje de metano | | | | | | | |
|---|---|-------------|---------|---------|---------|---------|-------|
| Tratamiento_28Días | N | Subconjunto | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| F + G | 3 | 61,0333 | | | | | |
| G + α | 3 | | 64,1667 | | | | |
| F + G + α | 3 | | | 79,9667 | | | |
| F | 3 | | | | 87,6940 | | |
| G | 3 | | | | 88,6944 | | |
| α | 3 | | | | | 90,1667 | |
| F + α | 3 | | | | | 95,1667 | |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | ,109 | 1,000 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,164.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

Tabla 54. Comparación del volumen de metano producido en 10 cm³ de biogás por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 28 días de incubación mediante ANOVA. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre consorcios.

| Pruebas de efectos inter-sujetos | | | | | |
|---|-----------------------------|----|---------------------|------------|--------|
| Variable dependiente: Volumen de metano | | | | | |
| Origen | Tipo I de suma de cuadrados | gl | Cuadrático promedio | F | Sig. |
| Modelo | 1409,424 ^a | 9 | 156,603 | 95308,806 | ,000** |
| Tratamiento_28Días | 1409,423 | 7 | 201,346 | 122539,795 | ,000** |
| Réplica | ,001 | 2 | ,001 | ,344 | ,716 |
| Error | ,020 | 12 | ,002 | | |
| Total | 1409,443 | 21 | | | |

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Tabla 55. Subconjuntos homogéneos tras la comparación múltiple del volumen de metano producido en 10 cm³ por cepas, consorcios intactos e inóculos seleccionados tras 28 días de incubación. Destaca como más eficiente en términos de volumen de metano el inóculo seleccionado F + α con un promedio de 9,5 cm³. El inóculo seleccionado F + G resulta el menos efectivo con 6,1 cm³.

| Prueba HSD Tukey ^{a,b} para volumen de metano | | | | | | | |
|--|---|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Tratamiento_28Días | N | Subconjunto | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| F + G | 3 | 6,1033 | | | | | |
| G + α | 3 | | 6,4167 | | | | |
| F + G + α | 3 | | | 7,9967 | | | |
| F | 3 | | | | 8,7694 | | |
| G | 3 | | | | 8,8694 | | |
| α | 3 | | | | | 9,0167 | |
| F + α | 3 | | | | | | 9,5167 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | ,109 | 1,000 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,002.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = ,05.

12. ANEXOS

Anexo 1. Servicio de alcantarillado en la parroquia de Pacto. Solo la zona centro de la parroquia posee servicio de alcantarillado.

Tabla 2-AH Cobertura de servicios básicos

| Porcentaje de viviendas con | 2001 | 2010 |
|---|--------|--------|
| Abastecimiento de agua por red pública en su interior | 22,9 % | 24,1 % |
| Abastecimiento de agua por tubería en su interior | 31,1 % | 39,9 % |
| Eliminación de aguas servidas por red pública de alcantarillado | 19,6 % | 27,7 % |
| Adecuado sistema de eliminación de excretas | 46,8 % | 68,6 % |
| Eliminan la basura por carro recolector | 14,9 % | 34,1 % |
| Servicio de energía eléctrica | 79,6 % | 92,2 % |

Fuente: CENSO DE POBLACIÓN Y VIVIENDA 010

Elaboración: ET DGPLA-GADPP 2015/2019

Primordialmente se detecta que, el abastecimiento de agua y la eliminación de excretas son los problemas latentes de la parroquia donde se evidencia una exclusividad de estos servicios se presentan en Pacto Centro. Un papel importante en el caso de abastecimiento de agua juegan las Juntas Administradoras de Agua que cobran una tasa de 2 a 5 dólares por proveer los servicios a la población.

Estos resultados de carencia de servicios influyen en el pensamiento de la población y lo relacionan directamente a que viven en condiciones de pobreza lo cual influye en el pensamiento y los anhelos de la población. No vislumbran un desarrollo adecuado del territorio y expresan que esta iniciativa solo se evidencia en los Planes de Desarrollo de la parroquia, instrumento al cual no se le ha dado seguimiento principalmente en relación a la oferta de servicios básicos.

Anexo 2. Resolución DAJ-20134B4-0201.0247 emitida por Agrocalidad. Resuelve que, para obtener carne procedente de ganado vacuno, esta debe ser faenada en un camal que tenga los permisos pertinentes de funcionamiento y su debido control de manejo de desechos.



Av. Eloy Alfaro N30-350 y Amazonas
Edif. MAGAP, Piso 9
Telf: (593) 2 2567 232
www.agrocalidad.gob.ec
direccion@agrocalidad.gob.ec

HABILITACIÓN DE MATADEROS: Procedimiento oficial de control sobre la actividad que realiza el propio matadero desde la recepción de los animales hasta la expedición de carnes, el cual luego de la Identificación e Inspección oficial, pasa a formar parte de los Mataderos Bajo Inspección Oficial (MABIO).

INOCUO PARA EL CONSUMO HUMANO: un producto se considera Inocuo para el consumo humano de acuerdo a los siguientes criterios:

- a) Cuando ha sido producido aplicando todos los requisitos de inocuidad alimentaria apropiados para su pretendido uso final;
- b) Si cumple los criterios de rendimiento y de proceso basados en riesgo para peligros específicos; y
- c) Si no contiene contaminantes químicos o microbiológicos en niveles dañinos a la salud humana.

INOCUIDAD ALIMENTARIA: Garantía de que el alimento no causará daño al consumidor cuando sea preparado y/o consumido de acuerdo a su uso previsto y/o establecido.

INSPECCIÓN ANTE-MORTEM: procedimiento efectuado por el Médico Veterinario del Matadero, mediante el cual verifica el estado sanitario y de reposo de los animales vivos en los corrales del establecimiento y se dictamina el destino del animal y las condiciones de su faenamiento.

INSPECCIÓN OFICIAL DE MATADEROS: Proceso sistemático y constante de Responsabilidad de la Autoridad Sanitaria para la protección de la salud animal y humana que consiste en la vigilancia y control del cumplimiento de normas y procesos para la obtención de productos seguros para el consumidor.

INSPECCIÓN POST-MORTEM: procedimiento efectuado por el Médico Veterinario del Matadero mediante el cual se verifica el estado sanitario de las canales y de los subproductos comestibles y se emite un dictamen final de aptitud para el consumo humano.

INSPECTOR OFICIAL: Funcionario designado para el Control Oficial, autorizado por AGROCALIDAD, para desempeñar actividades oficiales relacionadas con la higiene de la carne, con destrezas, habilidades y conocimientos suficientes para emitir criterios apegados a la técnica.

IO: Inspector Oficial para la Inspección y Habilitación de Mataderos

MATADEROS BAJO INSPECCIÓN OFICIAL (MABIO): Sitio o lugar donde personas naturales o jurídicas desarrollan actividades: de faena, desposte y/o despiece de animales para abasto, que ha cumplido los requisitos y condiciones sanitarias descritas en la

Anexo 3. Creación del primer Bosque Modelo del Ecuador. Pacto es una de las seis parroquias incluidas.

Ecuador

Informe Ejecutivo
Ante la Red Iberoamericana de Bosques Modelo
Periodo: Marzo 2016– Abril 2017



Preparado por: Inty Arcos

1. ACTIVIDADES DURANTE EL PERIODO CORRESPONDIENTE

1. Planes de Desarrollo y Ordenamiento Territorial parroquiales articulados y con visión regional en el territorio del Bosque Modelo.

Se elaboró el Plan de Gestión Territorial Sustentable de todo el territorio del Bosque Modelo Choco Andino (BMCA), como un primer instrumento de planificación que guíe y organice el accionar del BMCA en los próximos cinco años.

2. Ordenanza Metropolitana N° 137 que establece como un Área de Importancia Ecológica, Cultural y de Desarrollo Productivo Sostenible a los territorios de las parroquias de Nono, Calacalí, Nanegal, Nanegalito, Gualea y Pacto.

El BMCA y la Mancomunidad del Chocó Andino, a través del aporte de numerosos actores y personas, elaboró el proyecto de Ordenanza Metropolitana para establecer el territorio del Bosque Modelo que incluye las seis parroquias noroccidentales como Área de Importancia Ecológica, Cultural y Desarrollo Productivo Sostenible. Este logro requirió de un gran esfuerzo técnico, de cabildeo y socialización durante aproximadamente seis meses, en el que se tuvo el apoyo de varios actores, como la Secretaría de Ambiente del Municipio del DMQ, CONDESAN, Fundación Imaymana, y los representantes de los seis GADs parroquiales.

La aprobación de la Ordenanza por parte del Consejo Metropolitano se dio el 11 de agosto de 2016. Este instrumento jurídico abre las puertas para un tratamiento especial del territorio, visibilizando sus potencialidades y sus verdaderas necesidades. Dispone la conformación de mesas de trabajo con diferentes agencias municipales con el fin de lograr intervenciones municipales participativas en el territorio.

Se logró que dentro de la ordenanza de actualización del Plan de Uso y Ocupación del Suelo (PUOS) se disponga la elaboración de un Plan Especial para el territorio del Bosque Modelo en un plazo de 18 meses.

Anexo 4. Prueba de funcionamiento del dispositivo colector de fango residual en presencia de miembros de la comunidad. Se obtuvieron 3 L de fango residual de cada estrato simultáneamente, cuyo sustrato registró obvias diferencias en términos de cantidad de sólidos.



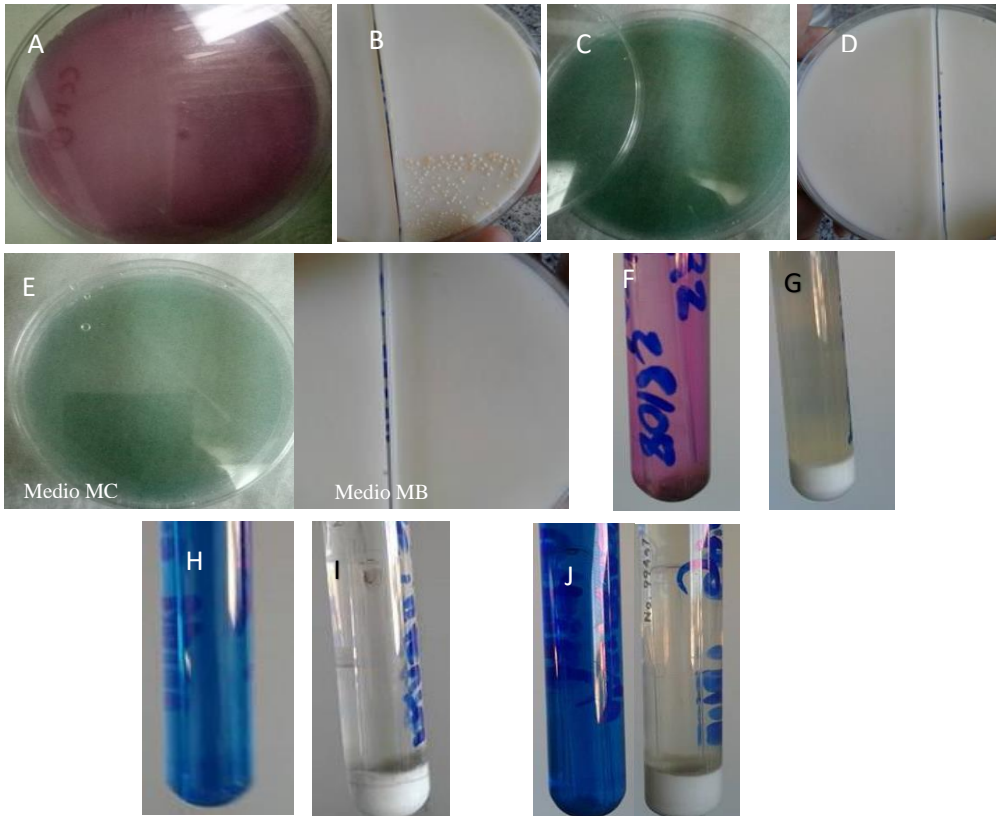
Anexo 5. Registros de mantenimiento preventivo de autoclaves de la Sala de Preparaciones de la Escuela Ciencias Biológicas de la PUCE. Mantenimientos preventivos de autoclaves utilizadas en este estudio. El cuadro remarcado indica el período en que se hizo el estudio.

| Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sala de Preparaciones de la Escuela de Ciencias Biológicas Laboratorio 409 | | REGISTRO USO DE AUTOCLAVE MARKET FORGE # 03 | | CÓDIGO: 02122218 VERSIÓN DOC: 01 |
|--|---------------------------------|--|-------------------|-------------------------------------|
| Fecha | Persona responsable / Unidad | Hora inicio | Hora finalización | Observaciones / Novedades |
| 04/07/2017 | Bolívar Sulas | 7:30 | 8:00 | |
| 06/07/2017 | Bolívar Sulas | 9:00 | 10:00 | |
| 06/10/2017 | Bolívar Sulas | 11:00 | 12:00 | |
| 06/10/2017 | Bolívar Sulas | 14:00 | 15:00 | |
| 07/10/2017 | Bolívar Sulas | 9:00 | 10:00 | |
| 04/10/2017 | Anaid Rueda | 12:00 | 13:00 | lab. Molecular |
| 04/10/2017 | Anaid Rueda | 14:00 | 15:00 | " Bot. Desarrollo |
| 30/10/2017 | Bolívar Sulas | 9:30 | 9:30 | Trabajo final |
| 16/11/2017 | Anaid Rueda | 16:00 | 19:00 | lab. Molecular |
| 20/11/2017 | Gaby Yape | 11:00 | 12:00 | |
| 27/11/2017 | Anaid Rueda | | | |
| 11/12/2017 | Gaby Yape | 9:00 | 12:00 | |
| 05/01/2018 | B. Sulas / G. Yape | 8:00 | 9:00 | Mantenimiento preventivo |
| 07/01/2018 | Anaid Rueda | 9:30 | 10:30 | lab. Molecular |
| 27/02/2018 | Anaid Rueda | 12:30 | 13:30 | Trabajo |
| 08/03/2018 | B. Sulas / G. Yape / A. Rueda | 8:30 | 9:30 | Mantenimiento preventivo |
| 06/04/2018 | Anaid Rueda | 9:45 | 9:45 | Clases (Pract. Micro) |
| 09/04/2018 | B. Sulas / A. Rueda | 9:45 | 10:45 | Clases (Pract. Micro) |
| 12/04/2018 | Gaby Yape | 8:30 | 9:00 | Mantenimiento preventivo |
| 23/04/2018 | Gaby Yape | 10:30 | | |
| 04/05/18 | A. Rueda / B. Sulas | 10:00 | 11:00 | Clases Micro |
| 07/05/2018 | Anaid Rueda / B. Sulas | 11:00 | 11:00 | Clases Micro |

Anexo 6. Recolección y transporte de muestras de cisterna colectora de desechos de camal. Muestras obtenidas y transportadas en cadena de frío (4 - 8°C).



Anexo 7. Control de calidad de medios de cultivo. A). Control positivo: cepa anaerobia de *Clostridium* sp. en medio MC sólido; B). Control positivo: cepa anaerobia de *Clostridium* sp. en medio MB sólido; C). Control negativo: cepa aerobia de *Bacillus subtilis* en medio MC sólido; D). Control negativo: cepa aerobia de *Bacillus subtilis* en medio MB sólido; E). Testigo sin inóculo bacteriano en medio MB y MC sólidos. F). Control positivo: cepa anaerobia de *Clostridium* sp en medio MC líquido G). Control positivo: cepa anaerobia de *Clostridium* sp en medio MB líquido; H). Control negativo: cepa aerobia de *Bacillus subtilis* en medio MC líquido; I). Control negativo: cepa aerobia de *Bacillus subtilis* en medio MB líquido; J) Testigo sin inóculo bacteriano en medio MB y MC líquidos.



MC: Stadman-Barker

MB: Barker-Taha

Anexo 8. Registros de funcionamiento de incubadoras de la Sala de Preparaciones de la Escuela de Ciencias Biológicas de la PUCE. El cuadro remarcado indica el período en que se hizo el estudio.

| Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sala de Preparaciones de la Escuela de Ciencias Biológicas Laboratorio 469 | | | PUCE | |
|--|------------------------------|--|-------------------|-------------------------------------|
| FECHA EDICIÓN ARCHIVO DE REGISTRO: 16/06/2017 | | REGISTRO USO INCUBADOR PRECISION # 02 | | CÓDIGO: 02131419 VERSIÓN DOC: 01 |
| Fecha | Persona responsable / Unidad | Hora inicio | Hora finalización | Observaciones / Novedades |
| 06/06/2017 | Sala de Preparaciones | 12:00 pm | 08:00 am | Clases Micro Da Micro 37°C |
| 07/06/2017 | Dia Micro | 12:00 pm | 08:00 am | Cultivos Micro 37°C |
| 03/06/2017 | A. Rivadavia | 12:00 pm | 09:00 am | Cultivos Doxencia 37°C |
| 21/06/2017 | B. Salas | 12:00 pm | 09:00 am | Cultivos Doxencia 37°C |
| 22/06/2017 | Gabriela Yepa | 12:00 pm | 09:00 am | Cultivos 37°C |
| 27/06/2017 | Gabriela Yepa | 12:00 pm | 08:30 am | Cultivos 37°C |
| 28/06/2017 | Sala de Preparaciones | 09:00 am | 09:00 am | Clases Micro 37°C |
| 10/07/2017 | Sala de Preparaciones | 09:00 am | 11:00 am | Mantenimiento y limpieza |
| 12/07/2017 | A. Rivadavia | 11:00 am | 08:30 am | Cultivos Doxencia 37°C |
| 13/07/2017 | B. Salas | 12:00 pm | 09:30 am | Cultivos Doxencia 37°C |
| 19/07/2017 | Sala de Preparaciones | 04:00 am | 09:00 am | Doxencia 80°C |
| 24/07/2017 | Sala de Preparaciones | 12:00 pm | 08:30 am | Cultivos Doxencia 37°C |
| 26/07/2017 | Gabriela Yepa | 12:00 pm | 08:00 am | Clases Micro 37°C |
| 27/07/2017 | Sala de Preparaciones | 09:00 am | 09:00 am | Doxencia 80°C |
| 27/08/2017 | Gabriela Yepa | 11:00 am | 08:00 am | Cultivos 37°C |
| 28/08/2017 | Gabriela Yepa | 10:00 am | 08:00 am | Cultivos 37°C |
| 29/08/2017 | Gabriela Yepa | 12:00 pm | 09:00 am | Cultivos 37°C |
| 15/09/2017 | Gabriela Yepa | 9:00 am | 11:00 am | Mantenimiento |
| 18/09/2017 | Sala de Preparaciones | 12:00 pm | 08:00 am | Doxencia 37°C |
| 20/09/2017 | Sala de Preparaciones | 12:00 pm | 09:00 am | Clases Micro 37°C |
| 22/09/2017 | Gabriela Yepa | 12:00 pm | 08:00 am | Doxencia 37°C |
| 03/10/17 | A. Rivadavia | 09:00 am | 08:00 am | Cultivos Doxencia 37°C |
| 10/10/2017 | Sala de Preparaciones | 12:00 pm | 08:00 am | Cultivos Doxencia 37°C |
| 16/10/2017 | B. Salas | 10:00 am | 09:00 am | Cultivos Doxencia 37°C |
| 18/10/17 | A. Rivadavia | 11:00 am | 08:00 am | Doxencia 37°C |
| 20/10/17 | Sala de Preparaciones | 12:00 pm | 08:00 am | Cultivos 37°C |
| 23/10/17 | Sala de Preparaciones | 12:00 pm | 09:00 am | Cultivos 37°C |
| 26/10/17 | A. Rivadavia | 11:00 am | 08:00 am | Doxencia 37°C |
| 27/10/17 | Sala de Preparaciones | 12:00 pm | 08:00 am | Cultivos Doxencia 37°C |
| 07/11/17 | Sala de Preparaciones | 09:00 am | 09:00 am | Cultivos 37°C |
| 14/11/17 | Gabriela Yepa | 11:00 am | 08:30 am | Doxencia 37°C |
| 15/11/17 | Gabriela Yepa | 12:00 pm | 09:00 am | Cultivos 37°C |
| 20/11/2017 | A. Rivadavia | 11:00 am | 08:00 am | Cultivos 37°C |
| 21/11/2017 | Sala de Preparaciones | 12:00 am | 08:30 am | Cultivos Doxencia 37°C |
| 27/11/17 | Sala de Preparaciones | 12:00 am | 08:30 am | Cultivos Doxencia 37°C |
| 29/11/2017 | Sala de Preparaciones | 11:30 am | 09:00 am | Cultivos 37°C |
| 29/11/17 | A. Rivadavia | 12:00 am | 08:30 am | Cultivos 37°C |
| 06/12/17 | Sala de Prepa | 12:00 am | 09:00 am | Cultivos 37°C |

Anexo 9. Tubo de vidrio con tapón perforable. Conserva la hermeticidad pese a muestreos sistemáticos de biogás mediante punción con jeringuilla.

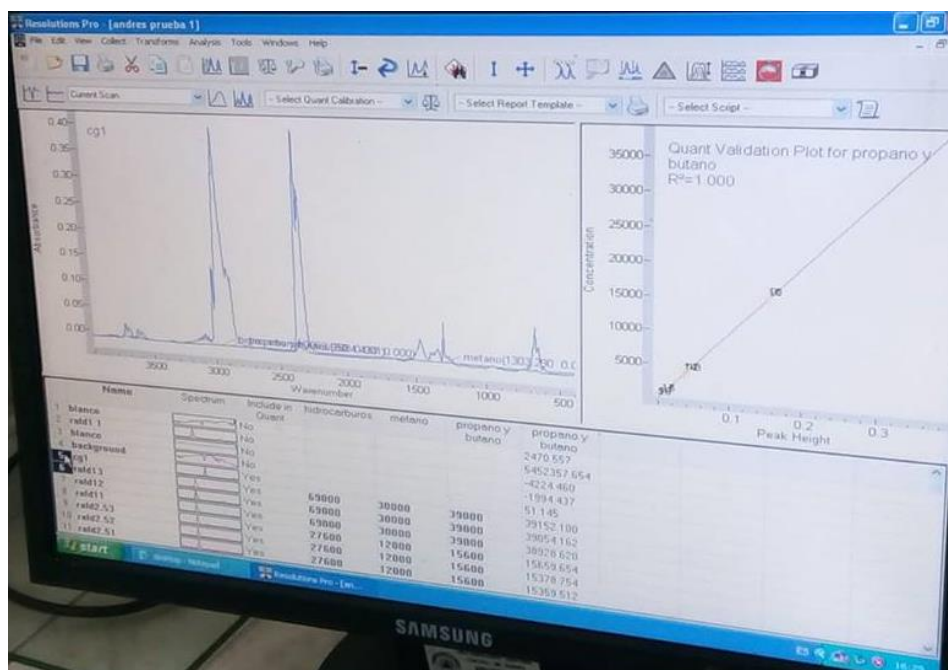


Anexo 10. Equipo VARIAN 660-IR usado para las lecturas de biogás.

A) Equipo VARIAN 660-IR, B) Celda Pike de carga de biogás para la lectura de absorbancias.



Anexo 11. Gas estándar para verificación de lecturas de gases en equipo VARIAN 660-IR.



A. Lecturas de muestra blanco y gas estándar.



B. Bombona con gas estándar para la comprobación de lecturas.