

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“CINÉTICA DE LA INACTIVACIÓN DE ENTEROBACTERIAS
EN BIOL POR EFECTO DE LA RADIACIÓN SOLAR
Y OXÍGENO ATMOSFÉRICO”**

Presentada por:

ISRAEL SEBASTIANE BELLATIN FORONDA

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO

Lima – Perú

2021

La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“CINÉTICA DE LA INACTIVACIÓN DE ENTEROBACTERIAS
EN BIOL POR EFECTO DE LA RADIACIÓN SOLAR
Y OXÍGENO ATMOSFÉRICO”**

Presentada por:

ISRAEL SEBASTIANE BELLATIN FORONDA

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Mg. Sc. Patricia Angélica Moreno Díaz de Saco
PRESIDENTE

Blgo. Roberto Raúl Ramos Chaupín
MIEMBRO

Mg. Sc. Yvette Ludeña Hinojosa
MIEMBRO

Mg. Fermín Humberto Arévalo Ortiz
ASESOR

DEDICATORIA

Dedico este esfuerzo a mi esposa Andrea y a mi hija Micaela que es la adoración de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer principalmente a Dios por darme la bendición de despertar día a día, a mis padres por darme todas las herramientas que necesité para poder llegar hasta donde estoy ahora, a mi hermano por su apoyo académico, a mis amigos de la universidad por su sincera amistad y a mi asesor Humberto Arévalo por sus enseñanzas. Un agradecimiento especial al profesor Víctor Meza y a la señora Maura QEPD por su apoyo y sus consejos.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	3
2.1. Residuos orgánicos	3
2.1.1. Residuos sólidos.	3
2.1.2. Residuos agropecuarios.	4
2.1.3. Peligros de los residuos agropecuarios orgánicos.	4
2.2. Residuos orgánicos de la porcicultura en Perú	5
2.2.1. Tratamientos para el purín de cerdo.	6
2.3. Digestión anaeróbica	7
2.3.1. Definición.	7
2.3.2. Fases de la digestión anaeróbica.	7
2.3.3. Parámetros determinantes en el proceso de digestión anaeróbica.	10
2.3.4. Tipos de biodigestores anaeróbicos.	12
2.3.5. Biogás.	13
2.3.6. Biol.	13
2.3.7. Tratamientos para el biol.	15
2.3.8. Separación de las fases del biol.	17
2.4. Calidad microbiológica en el biol	18
2.4.1. Microorganismos indicadores y patógenos en biofertilizantes.	18
2.4.2. Microbiota del biol.	21
2.4.3. Incidencias de brotes de ETAS por abonos.	22
2.4.4. Criterios microbiológicos de calidad sanitaria en viales.	23
2.5. Radiación solar	24
2.5.1. Efecto biocida del oxígeno y la radiación solar.	25
2.6. Métodos de desinfección solar.	26

2.6.1. Solarización del suelo.	26
2.6.2. SODIS.....	28
2.7. Modelamiento cinético matemático	28
2.7.1. Ecuación cinética de una reacción.....	30
2.7.2. Crecimiento y muerte microbiana.	31
2.7.3. Cinética de inactivación microbiana.....	33
2.8. Microbiología predictiva	34
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
2.9. Extracción del biol	35
2.10. Caracterización del biol.....	35
2.10.1. Caracterización fisicoquímica.	35
2.10.2. Caracterización microbiológica (Enterobacterias).	35
2.11. Obtención y caracterización de la fase líquida del biol.....	35
2.11.1. Caracterización fisicoquímica.	35
2.11.2. Caracterización microbiológica.....	36
2.12. Disminución y cuantificación de la turbidez	36
2.13. Prueba preliminar del efecto sinérgico de la radiación solar y el oxígeno atmosférico en la inactivación de las enterobacterias presentes en la fase líquida del biol.....	36
2.14. Exposición de la fase líquida del biol diluido 1:3 a la radiación solar y al oxígeno atmosférico.....	37
2.14.1. Construcción del captador solar.	37
2.14.2. Tiempo de exposición y medición de la radiación solar incidente y temperatura.....	37
2.14.3. Toma de muestras.....	37
2.15. Construcción de la cinética de la muerte de enterobacterias	38
2.15.1. Análisis microbiológico cuantitativo de enterobacterias.	38
2.15.2. Determinación fisicoquímica de las condiciones climáticas.....	39

2.15.3. Caracterización fisicoquímica y microbiológica de la fase líquida del biol diluido 1:3 a la exposición de la radiación solar y oxígeno.	39
2.16. Análisis estadístico.....	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	40
2.17. Caracterización fisicoquímica y microbiológica del biol, la fase líquida del biol (FLB) y la fase líquida del biol diluida 1:3 (FLB 1:3)	40
2.18. Diminución de la turbidez de la fase líquida del biol	43
2.19. Prueba preliminar del efecto sinérgico de la radiación solar y el oxígeno atmosférico en la desinfección de la FLD 1:3	44
2.20. Caracterización de las condiciones climatológicas.....	45
2.21. Determinación fisicoquímica de la FLB 1:3	45
2.22. Cinética de la desinfección de enterobacterias respecto del tiempo de exposición, y cinética de desinfección de enterobacterias respecto al calor acumulado.....	47
2.23. Modelamiento cinético de la desinfección solar de enterobacterias, determinación de los parámetros y formación de la ecuación de la curva	49
V. CONCLUSIONES	52
VI. RECOMENDACIONES	54
VII. BIBLIOGRAFÍA	55
VIII. ANEXOS.....	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Producción de excretas por cerdo	6
Tabla 2: Procesos aplicados al purín de cerdo.....	6
Tabla 3: Temperatura ambiental y tiempo de retención de un biodigestor según l a región donde se encuentre	11
Tabla 4: Tratamientos postproducción para el biol	16
Tabla 5: Codificación de los tratamientos preliminares del diseño factorial.	36
Tabla 6: Horarios de toma de muestras.....	38
Tabla 7: Relación entre hora del día y radiación solar acumulada por litro de biol.	48
Tabla 8: Parámetros de la cinética de fotoinactivación de enterobacterias en biol.	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de las fases de la digestión anaeróbica. Recuperado de MINENERGIA et al., 2011.....	8
Figura 2. Diseño de un biodigestor anaerobio tubular. Recuperado de Castillos (2011).....	13
Figura 3. Curva del crecimiento microbiano. Recuperado de Willey, Sherwood y Woolverton (2011).....	32
Figura 4. Concentración del fósforo y nitrógeno en el biol, en la fase líquida del biol y FLB 1:3.....	41
Figura 5. Niveles de pH en el biol, FLB y la FLB 1:3.....	42
Figura 6. Concentración inicial de enterobacterias en el biol, en FLB y FLB 1:3.	43
Figura 7. Disminución de la turbidez del biol.	44
Figura 8. Concentración de Enterobacterias luego del tratamiento preliminar.	44
Figura 9. Temperatura atmosférica y radiación solar.	45
Figura 10. Caracterización fisicoquímica del biol durante el proceso de desinfección solar.....	46
Figura 11. Número de UFC de enterobacterias por ml de biol vs. horas de tratamiento.	48
Figura 12. Logaritmo del número de UFC de enterobacterias por ml de biol respecto de la radiación solar acumulada por litro de biol.	49
Figura 13. Cinética microbiana de desinfección solar.	51

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Diseño del biorreactor y del captador solar.....	66
Anexo 2. Diagrama del flujo del proceso.....	67
Anexo 3. Diagrama del flujo de actividades	67
Anexo 4. Flujo de trabajo para el análisis microbiológico de las muestras	68
Anexo 5. Recuento de Enterobacterias con halo amarillo y/o burbujas asociadas a las colonias.....	69
Anexo 6. Resultados de análisis fisicoquímico del biol filtrado	69
Anexo 7. Análisis fisicoquímico del biol extraído	70
Anexo 8. Temperaturas y radiación solar del día 12/12/2017 – 15/12/17 y gráfica de la irradiancia.....	71
Anexo 9. Irradiación solar acumulada en el fotoreceptor	74
Anexo 10. Estadística de la prueba preliminar	74
Anexo 11. Comparaciones en parejas de Tukey - agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%	75
Anexo 12. Fundamento de la generación de ambiente anaerobio del Anaerocult P ® y reacción de las tiras indicadoras de ausencia de oxígeno Anaerotest.....	76

RESUMEN

En la actualidad, el biogás se ha convertido en una de las mejores alternativas para la producción de energía renovable, ya que se usan los desechos de la agroindustria como principal sustrato para su formación, contribuyendo con una gestión adecuada de los residuos sólidos. Sin embargo, al producir cantidades significativas de biogás se generan grandes cantidades de biol. Si bien se suele usar como abono, este tiene dos problemas: por un lado, puede albergar una cantidad de microorganismos patógenos, representando un riesgo tanto para los que lo manipulan como para los que consumen los vegetales que fueron cultivados con este; por otro lado, la excesiva cantidad de nutrientes que posee limita su aplicación en los suelos, ya que podría generar problemas ambientales contaminando aguas subterráneas y al mismo suelo.

Por otro lado, el aprovechamiento de la radiación solar y el oxígeno ambiental para la desinfección del biol, es de gran utilidad para las regiones de escasos recursos donde hay una alta incidencia de radiación solar. Para garantizar la desinfección deseada, es necesario conocer la cinética de la muerte de enterobacterias por radiación solar y oxígeno atmosférico.

El presente estudio de investigación tuvo como objetivo modelar la cinética de desinfección del biol, calculando la incidencia de radiación acumulada por m^3 de biol, obtenido como subproducto de la formación de biogás, a partir de purín de cerdo y agua 1:10. El proceso se realizó el 12 de diciembre del 2017, en las instalaciones de la Universidad Nacional Agraria La Molina, midiendo el tiempo y la correlación con la tasa de inactivación de enterobacterias.

Se realizaron estudios donde se determinó, por un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación múltiple de los tratamientos mediante la prueba de Tukey, el efecto sinérgico de la radiación solar y el oxígeno atmosférico para la inactivación solar de enterobacterias. Se comprobó que para alcanzar una óptima desinfección solar en el biol se debe disminuir su turbidez, separando la fase líquida y diluyéndolo con agua 1:3.

La separación de las fases realizada en el presente estudio alcanzó un volumen del 56 % respecto del volumen total, reteniendo el 36 y 49 % de nitrógeno y fósforo, respectivamente, del volumen total.

Con la fase líquida del biol se obtuvo un nivel de turbidez (NTU) de 365. A partir de esto, se concluyó que las condiciones atmosféricas eran apropiadas para disminuir la carga de enterobacterias, alcanzando el límite de detección luego de 10 horas, con una radiación acumulada de 209.8 *watts* por m^3 de biol. El efecto biocida empezó desde los 40 *watts* por m^3 de biol de radiación acumulada.

Palabras clave: desinfección del biol, modelamiento, fotoinactivación, calor acumulado, cinética de desinfección.

ABSTRACT

Today, biogas has become one of the best alternatives for renewable energy production, as agro-industry waste is used as the main substrate for its formation, contributing to adequate management of solid waste. However, producing significant amounts of biogas generates large amounts of biol. Although it is often used as fertilizer, it has two problems: on the one hand, it can harbor several pathogenic microorganisms, representing a risk for both those who manipulate it and for those who consume the vegetables that were grown with it; on the other hand, the excessive amount of nutrients it possesses limits its application in soils, as it could generate environmental problems polluting groundwater and the same soil.

On the other hand, the use of solar radiation and environmental oxygen for biol disinfection is very useful for resource-poor regions where there is a high incidence of solar radiation. To ensure the desired disinfection, it is necessary to know the kinetics of the death of enterobacteria by solar radiation and atmospheric oxygen.

This research study aimed to model the biol disinfection kinetics, calculating the incidence of m^3 radiation accumulated by biol, obtained as a by-product of biogas formation, from pork slurry and 1:10 water. The process was carried out on December 12, 2017 at the facilities of the Universidad Nacional Agraria La Molina, measuring time and correlation with the rate of inactivation of enterobacteria.

Studies were conducted where it was determined, by a variance analysis (ANOVA) and a multiple comparison test of treatments using the Tukey test, the synergistic effect of solar radiation and atmospheric oxygen for solar inactivation of enterobacteria. It was found that to achieve optimal solar disinfection in the biol its turbidity should be reduced, separating the liquid phase, and diluting it with 1:3 water.

Phase separation in this study reached a volume of 56% from the total volume, retaining 36 and 49% nitrogen and phosphorus, respectively, of the total volume.

With the liquid phase of the biol a turbidity level (LTU) of 365 was obtained. From this, it was concluded that atmospheric conditions were appropriate to reduce the load of enterobacteria, reaching the detection limit after 10 hours, with a cumulative radiation of 209.8 watts per biol. The m^3 biocida effect began from the 40 watts of m^3 accumulated radiation biol.

Keywords: disinfection of the biol, modelation, fotoinactivation, accumulated calor, unethical disinfection.

I. INTRODUCCIÓN

El biol es el lodo generado como subproducto de la producción de biogás a partir de desechos de la industria agrícola y, se utiliza principalmente como fertilizante para plantas debido a su alto contenido de fósforo, nitrógeno y potasio; sin embargo, debido a su propia naturaleza, este suele albergar una cantidad apreciable de bacterias indicadoras de higiene, representando así un riesgo a la salud, tanto para los que lo manipulan como los que consumen las verduras cultivadas con dicho fertilizante.

En Europa y EE. UU. se están realizando diversos estudios sobre biol, con el fin de sanitizarlo a bajo costo, reducir su volumen y generar nuevos productos a partir de este, de modo que se pueda aprovechar al máximo.

Cada día, más países integran a su normativa la adecuada gestión de los subproductos de la digestión anaeróbica, para prevenir que estos provoquen problemas sanitarios y/o ambientales. Ya que Perú aún no cuenta con una norma que rija los estándares de calidad necesarios para el uso del biol como abono, ni pautas que garanticen una adecuada disposición sin generar algún impacto ambiental nocivo, es de suma importancia promulgar las buenas prácticas de uso del biol y brindar la información necesaria para su adecuada gestión frente a cualquier contexto.

Algunos estudios han demostrado la desinfección de aguas de riego aprovechando la energía solar y el oxígeno ambiental. De igual modo, se podría aprovechar la radiación solar para la desinfección del biol en regiones de Perú, donde no es posible acceder a fuentes de energía convencional, a causa de su geografía accidentada y la incidencia de radiación solar alta.

Con la finalidad de garantizar una óptima desinfección solar del biol, es necesario conocer el tiempo de exposición y la cantidad de calor incidente necesarios para disminuir la concentración de enterobacterias a cantidades inofensivas.

El objetivo principal de este estudio es modelar la cinética de desinfección del biol, usando la radiación solar y el oxígeno atmosférico como agentes letales para las enterobacterias nativas,

de tal modo que se pueda conocer el tipo de relación que llevan las variables y sentar las bases para futuros estudios a mayor escala.

Para alcanzar dicho objetivo se evaluó las características fisicoquímicas y microbiológicas del biol a tratar. Posteriormente, se ajustó las características físicas a las requeridas para un óptimo proceso de desinfección solar, por medio de la separación de sus fases (líquida y sólida) y la dilución de su fase líquida con el fin de disminuir su turbidez. Se evaluó el rendimiento de la separación de las fases y se caracterizará el valor nutricional de la fase líquida del biol obtenida (concentración de nitrógeno y fósforo). Se realizó estudios previos que determinaron el efecto sinérgico de la radiación solar y el oxígeno atmosférico para la desinfección del biol. Se construyó un captador solar que permita al biol contenido, interactuar con los rayos solares de manera eficiente. Se evaluó las condiciones atmosféricas en las cuales se llevó a cabo el experimento y monitoreó en intervalos de tiempo establecidos, la concentración de enterobacterias en el biol tratado. Finalmente, los datos de fotoinactivación microbiana fueron graficados y modelados con una curva de desinfección de Watson-Chick modificada y se ajustó la curva a los datos obtenidos en el experimento. El valor óptimo de los parámetros lineales de la curva modelo se obtuvo por medio de programa *Solver* de *Excel*.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Residuos orgánicos

2.1.1. Residuos sólidos.

La Ley General de Residuos Sólidos (Ley N°27314, 2000), define a los residuos sólidos como

aquellas sustancias, productos o subproductos en estado sólido o semisólido de los que su generador dispone, o está obligado a disponer, en virtud de lo establecido en la normatividad nacional o de los riesgos que causan a la salud y el ambiente, para ser manejados a través de un sistema que incluya, según corresponda, las siguientes operaciones o procesos: 1. Minimización de residuos, 2. Segregación en la fuente, 3. Reaprovechamiento, 4. Almacenamiento, 5. Recolección, 6. Comercialización, 7. Transporte, 8. Tratamiento, 9. Transferencia, 10. Disposición final. Esta definición incluye a los residuos generados por eventos naturales.

Los residuos sólidos siempre han existido en el mundo, sin embargo, desde hace varios años, se han venido generando grandes cantidades, ya sea por la forma en que se fabrican o la naturaleza química que adquieren, evitando de este modo que estos se integren a los ciclos naturales de degradación (Fernández y Sánchez-Osun, 2007).

La Ley General de Residuos Sólidos (Ley N°27314), los clasifica en:

1. Residuo domiciliario.
2. Residuo comercial.
3. Residuo de limpieza de espacios públicos.
4. Residuo de establecimientos de atención de salud.
5. Residuo industrial.
6. Residuo de las actividades de construcción.
7. Residuo agropecuario.
8. Residuo de instalaciones o actividades especiales.

En el 2011, la disposición de los residuos sólidos en el Perú es en nueve rellenos sanitarios en operación: Carhuaz (Áncash), Tarma y Huancayo (Junín), Casren, Zapallal, Huaycoloro y Portillo Grande (Lima), Urubamba y Calca (Cusco), con una cobertura de recojo de residuos sólidos en el área urbana de 73,10 %. También en ese año, el 23 % de los residuos municipales generados tuvo una adecuada disposición. En Lima Metropolitana, se dispuso el 34,2 % del total de los residuos sólidos municipales generados. El 47 % del total de residuos sólidos es arrojado diariamente al ambiente, y tan solo el 14,7 % de los residuos es reaprovechado. En el año 2011, Lima fue el departamento con más generación de residuos sólidos, con un total de 5,108 t/día, superando con creces a los demás departamentos (Muñoz, 2016).

2.1.2. Residuos agropecuarios.

Son residuos provenientes de cualquier actividad agrícola. Estos se pueden clasificar en orgánicos (de origen animal o vegetal) e inorgánicos (sea el caso de algún fertilizante inorgánico u otro material de la misma naturaleza química) (Ministerio de Trabajo y Promoción del Empleo, 2010).

Los residuos agropecuarios inorgánicos son unos de los principales contaminantes del agua en la actualidad, dada su alta cantidad de fertilizantes (N, P, K). Al llegar las lluvias, o la misma agua de riego, arrastra consigo una gran cantidad de nutrientes, vertiéndose en ríos o lagos. De este modo se origina la eutrofización, problema ambiental que lleva consigo la pérdida de la fauna marina y al agua (Romero, 2010). Del mismo modo, los desechos agropecuarios orgánicos, como las heces de los animales de granja, por contener gran cantidad de N, P, K, ocasionan problemas ambientales similares a los ya mencionados. A esto se suma la emisión de gases de efecto invernadero al ambiente, por la gran cantidad de metano que es producido por su degradación al aire libre (Herrero y Gil, 2008).

2.1.3. Peligros de los residuos agropecuarios orgánicos.

La mala gestión de residuos orgánicos del sector agropecuario genera grandes problemas de impacto ambiental viéndose afectados la calidad del aire, el agua y el suelo, representando, de este modo, un riesgo a la salud pública (Matthews, 2006).

La contaminación hídrica se da principalmente en aguas superficiales y del subsuelo, y puede ser un vector de transmisión de bacterias enteropatógenas hacia diversos cultivos. Solomon, Yaron y Matthews (2002) reportaron la colonización de *E. Coli* en hojas de lechuga, a causa de un riego con aguas contaminadas con estiércol de vaca. El agua puede llegar a

contaminarse por el vertimiento de desperdicios orgánicos en ríos, canales o arroyos. Otro factor de contaminación está dado por la lixiviación de abono a aguas subterráneas. Adicionalmente se generan problemas como la disminución del oxígeno disuelto, el aumento de los nutrientes, que propicia el desarrollo de algas y da lugar a la eutrofización, causando la muerte de peces, generando malos olores y la pérdida de la belleza natural de este recurso y de su entorno (López, 2009).

La contaminación del suelo es causada por un abonado irresponsable que genera un desbalance en sus características biológicas, ya que el uso excesivo de purines puede contaminar las raíces de cultivos, propiciando el crecimiento de *Salmonella* dentro de los frutos como el tomate (Ganyu *et al.*, 2011). También se generan problemas en las características fisicoquímicas del suelo al disminuir sus propiedades, provocando una pérdida en los rendimientos de los productos y la posibilidad de que bacterias enteropatógenas lleguen hasta los frutos (López, 2009).

La contaminación del aire se genera por los botaderos a cielo abierto y por las heces de los animales, las cuales son uno de los principales productores de gases de efecto invernadero tales como metano y óxido nitroso (Matthews, 2006).

2.2. Residuos orgánicos de la porcicultura en Perú

En Perú, la porcicultura ha venido creciendo en los últimos años, siendo la casera el tipo de crianza en mayor proporción. Este tipo de crianza no cuenta con una mano de obra calificada ni la asesoría profesional que cubra todas las necesidades para el óptimo desarrollo de esta actividad. Motivo por el cual las condiciones de higiene y salubridad no suelen ser las recomendadas. La principal limitación es la falta de agua y de un tratamiento térmico a la comida que se les da a los animales. En segundo lugar, está la carencia de una buena gestión de los residuos, lo que ocasiona la acumulación de plagas, como insectos, ratas etcétera, los cuales se convierten en vectores de enfermedades tanto para otros cerdos como para las personas que trabajan en dichos lugares o que viven en los alrededores (Morales, Rebatta, Lucas, Mateo y Ramos, 2014).

La mayoría de los porcicultores prefieren enterrar parte del purín o secarlo. Sin embargo, estos dos malos manejos no solo ponen en riesgo la salud de las personas, sino que también causan daños químicos a la tierra, incrementando los niveles de nitrógeno y fósforo

(Mariscal, 2007). La cantidad de excretas que produce un cerdo varía de acuerdo con cada especie, como podemos ver en la tabla 1 (Hummel, 2014).

Tabla 1: Producción de excretas por cerdo

Especificación	Al día (kg)	Al año (kg)
Cerda gestante	5	1825
Cerda lactante	12	4380
Cerda destetada	5	1825
Primerizas	5	1825
Verracos	5	1825
Lechón	2	730
Gorrino	7.5	2737

Nota: Composición de 1/3 en estado sólido y 2/3 en líquido.
Adaptado de Hummel (2014).

2.2.1. Tratamientos para el purín de cerdo.

Tabla 2: Procesos aplicados al purín de cerdo

Proceso	Aplicado a fracción	Objetivo
Balsas de homogenización, estercoleros	T, S, L	Regular la producción continua al consumo estacional de cultivos
Separación de fases	T	Separar las fases, facilitar transporte y aplicación
Aplicación de enzimas y bacterias a balsas	T	Aumentar la concentración de los sólidos (nitrógeno)
Nitrificación	L	Transformar N amoniacal a nítrico
Desnitrificación	L	Transformar nitrógeno nítrico a N ₂
Descomposición aeróbica heterótrofa	L, T	Eliminar la materia orgánica
Digestión anaeróbica	T, S, L	Producir CH ₄ e higienizar
Compostaje	S	Estabilizar la materia orgánica y obtener abono
Reducción biológica de fósforo	L	Transferir P soluble a la fase biológicamente sedimentable
Precipitación química	L	Separar mejor las fases
Secado/peletizado	S	Separar agua, reducir volumen
Evaporación/concentración	L	Separar agua, reducir volumen
<i>Stripping</i> /absorción	L	Recuperar N amoniacal
Higienización térmica	T	Eliminar patógenos
Dosificación de aditivos	T, S, L	Modificar composición para adecuarla a cultivos
Ozonización	L	Oxidación de compuestos orgánicos
Filtración por membrana	L	Separar sales, reducir conductividad

Nota: Cañote (2012). T: residuo íntegro; S: fracción sólida; L: fracción líquida.

Para preservar la higiene y sanidad de un criadero de cerdos y sus alrededores, es importante tener un tratamiento de los residuos orgánicos generados (Hummel, 2014). En el caso del purín, se recomiendan los tratamientos mostrados en la tabla 2.

2.3. Digestión anaeróbica

2.3.1. Definición.

La degradación de los sustratos en completa ausencia de oxígeno está dada por respiraciones anaeróbicas y fermentaciones de la biota presente en él. Es importante destacar que dos tercios del metano producido en este proceso provienen de la fermentación y el tercio restante, de la respiración anaeróbica. En una fermentación, la materia orgánica es catalizada en ausencia de un aceptor de electrones externo, mediante microorganismos anaeróbicos facultativos o estrictos. El producto generado a través del proceso aceptará los electrones liberados. A diferencia de este proceso, en la respiración anaerobia, el aceptor final es una molécula inorgánica diferente. Una manera de poder aumentar la producción de biogás es utilizar mezclas de residuos de distintas actividades económicas, tales como ganadería, agricultura, industria alimentaria, etcétera. A dichas mezclas se les conoce como codigestión anaerobia. La ventaja de usar este método radica en la sinergia que se obtiene por parte de los sustratos, ya que cada uno de ellos suple las carencias del otro. De esta manera el sistema alcanzará un equilibrio (PSE PROBIOGAS, 2009).

2.3.2. Fases de la digestión anaeróbica.

La fermentación metanogénica consta de cuatro fases: hidrólisis, acidogénica, acetogénica, metanogénica. La primera fase es la hidrólisis de partículas y moléculas complejas (proteínas, carbohidratos y lípidos), las cuales son degradadas por enzimas extracelulares fermentativas. Como resultado, se producen compuestos solubles más sencillos (aminoácidos, azúcares y ácidos grasos de cadena larga) que serán metabolizados por las bacterias acidogénicas, dando lugar principalmente a ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, hidrógeno, dióxido de carbono y otros productos intermedios. Los ácidos grasos de cadena corta son transformados en ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono mediante la acción de los microorganismos acetogénicos. Por último, los microorganismos metanogénicos producen metano a partir de ácido acético, H_2 y CO_2 (Ministerio de Energía [MINENERGIA], Programa de Desarrollo de las Naciones Unidas [PNUD], Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO] y Fondo Mundial para el Medio Ambiente [GEF], 2011).

En la figura 1, los números indican la población bacteriana responsable, donde: el 1 representa a las bacterias fermentativas; el 2 representa a las bacterias acetanogénicas; el 3 a las bacterias homoacetanogénicas; el 4 a las bacterias metanogénicas hidrogenotróficas y el 5, a las bacterias metanogénicas acetoclásticas (MINENERGIA *et al.*, 2011).

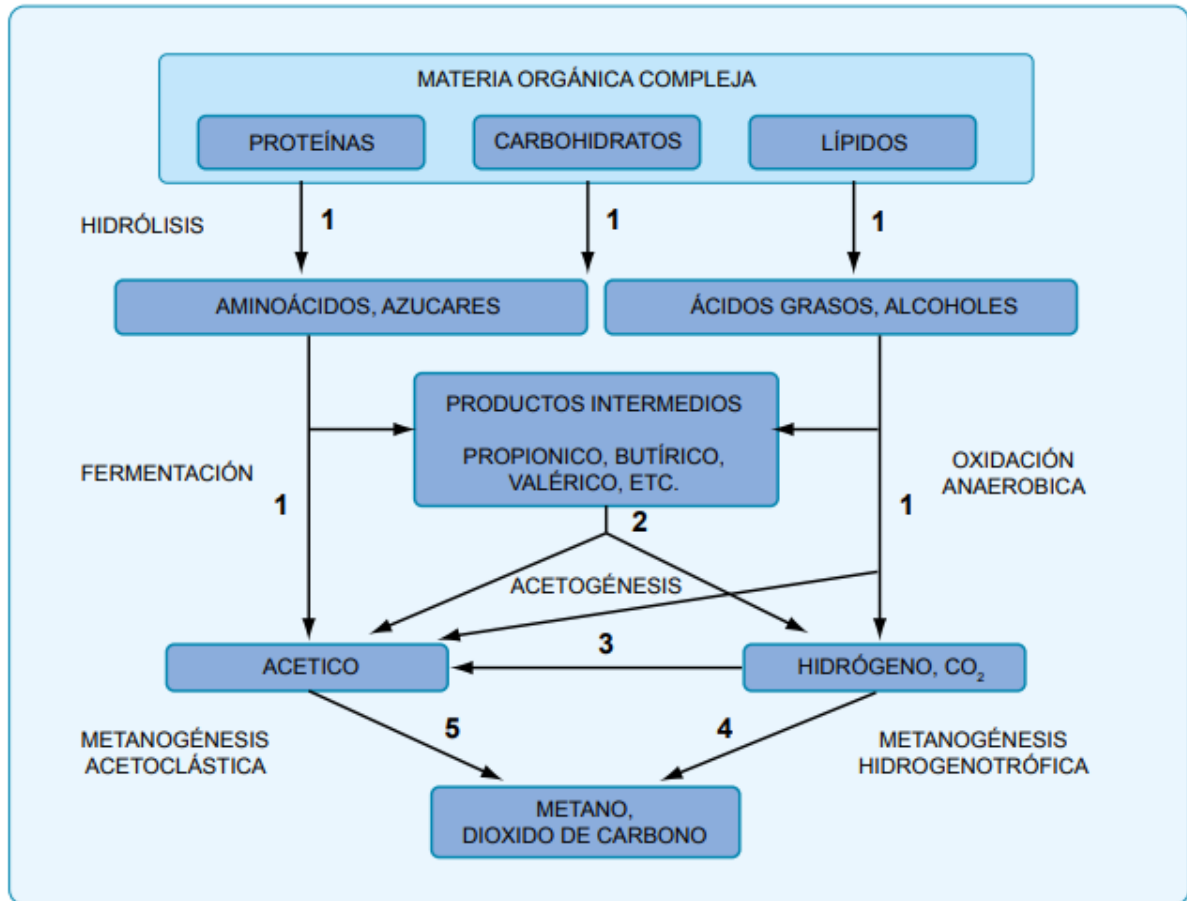


Figura 1. Esquema de las fases de la digestión anaeróbica. Recuperado de MINENERGIA *et al.*, 2011.

2.3.2.1. Hidrólisis.

Las bacterias no son capaces de utilizar la materia orgánica polimérica. Sin embargo, por medio de enzimas extracelulares la hidrolizan a compuestos monoméricos solubles y de esta manera, los sustratos pueden llegar a atravesar la pared celular y ser degradados (MINENERGIA *et al.*, 2011).

Esta es la fase más lenta del proceso. Dependiendo de la complejidad del sustrato o la temperatura la velocidad puede variar. Se ha demostrado que las grasas no se hidrolizan a temperaturas menores a 15 °C a causa de la formación de nata. El pH también es otro parámetro importante cuyo valor óptimo es de 6 (MINENERGIA *et al.*, 2011). Los géneros de los microorganismos más representativos de esta fase son: *Clostridium*, *Bacillus*,

Bacteroidetes, Actinobacteria, Crenarchaeota (arqueobacteria) (MINENERGIA *et al.*, 2011).

2.3.2.2. Acidogénesis.

Los compuestos solubles se difunden por dentro de la célula y son fermentados, convirtiéndose en ácidos grasos volátiles (acético, propiónico, butírico), acetato, alcoholes hidrógeno y CO₂. Es un periodo de producción intensiva de ácidos, donde hay una alta producción de dióxido de carbono (CO₂), ácido sulfhídrico (H₂S), ácidos orgánicos y bicarbonatos; su pH se encuentra en la zona ácida, con valores entre 5.1 y 6.8 (Olaya y González, 2009).

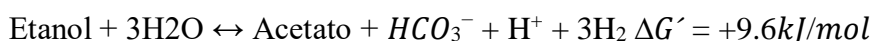
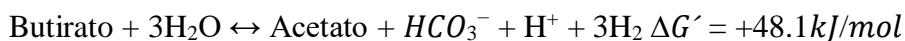
Una sobrealimentación podría inhibir la producción de metano. Por un lado, el exceso de aminoácidos produce una cantidad perjudicial de amonio. Por otro, el exceso de lípidos y carbohidratos generan hidrógenos, los cuales ocasionarían una disminución del pH, sobrepasando la capacidad de formar metano, disminuyendo el efecto buffer e intoxicando a las bacterias metanogénicas (MINENERGIA *et al.*, 2011).

2.3.2.3. Acetogénesis.

El ácido propiónico y el butírico son oxidados hasta acético e hidrógeno. Hay una producción de dióxido de carbono (CO₂), nitrógeno e hidrógeno, bicarbonatos y de compuestos amoniacales. Esta fase se caracteriza por presentar mal olor debido a la presencia de ácido sulfhídrico (H₂S), flotación de gran parte de sus sólidos. Su pH óptimo se encuentra en el rango de 6.5-6.8 (Olaya y González, 2009).

Un grupo de bacterias homoacetanogénicas solo produce acetato, a diferencia de las acetogénicas. Esta, en vez de producir H₂, más bien lo utiliza de sustrato, lo que ayuda a mantener un pH no tan bajo. Los principales microorganismos homoacetogénicos que han sido aislados son *Acetobacterium woodii* o *Clostridium acetium* (MINENERGIA *et al.*, 2011).

Esta fase es la más complicada, porque sus reacciones poseen una energía libre de Gibbs positiva. Esto hace que la reacción no se realice de manera espontánea.



Sin embargo, las bacterias metanogénicas pueden intervenir para que la producción de biogás pueda continuar.

A partir de la fórmula de energía libre de Gibbs, si quitamos los $3H_2$, los $\Delta G'$ se tornan negativos y las reacciones se producen espontáneamente. La naturaleza se ha encargado de esto y son las metanogénicas las que utilizan el $3H_2$. Si las metanogénicas no lo utilizan, las reacciones no proceden y los ácidos grasos volátiles se acumulan (Olaya y González, 2009).

2.3.2.4. Metanogénica.

Esta es la última y más importante parte del proceso. Los organismos (en su mayoría arqueobacterias) utilizan como sustratos moléculas monocarbonadas o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente: acetato, H_2/CO_2 , formato, metanol y algunas metilaminas. El 70 % del metano producido en la fermentación anaeróbica se forma a partir de la descarboxilación de ácido acético, pese a que solo dos géneros puedan utilizarlo (*Methanosarcina* y *Methanothrix*), el resto de la producción es elaborada por todos los organismos metanogénicos restantes que son capaces de utilizar el H_2 como aceptor de electrones. El metano restante proviene de los sustratos ácido carbónico, ácido fórmico y metanol (MINENERGIA *et al.*, 2011).

2.3.3. Parámetros determinantes en el proceso de digestión anaeróbica.

2.3.3.1. Materia prima.

Se pueden usar los residuos orgánicos de origen vegetal, animal, agroindustrial, forestal, doméstico u otros. Las características bioquímicas que presenten estos residuos deben permitir el desarrollo y la actividad microbiana y poseer un equilibrio de sales minerales (azufre, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, cobalto, selenio, tungsteno, níquel y otros menores). La materia prima deberá ser tal que los microorganismos la puedan asimilar y no les genere toxicidad (Universidad de Chile, 1990).

2.3.3.2. Relación C/N.

El carbono y el nitrógeno son las principales fuentes de alimentación de las bacterias. El carbono brinda la energía y el nitrógeno es utilizado para la formación de nuevas células. Estas bacterias consumen 30 veces más carbono que nitrógeno, por lo que la relación óptima de estos dos elementos en la materia prima se considera en un rango de 30:1 hasta 20:1. Cuando la relación es muy estrecha (40:1) disminuye la velocidad de las reacciones, por no poder producir la cantidad necesaria de células. Si la relación es muy amplia (10:1) se inhibe

la actividad bacteriana por causa de la formación de amonio de manera excesiva (Guevara, 1996).

2.3.3.3. Niveles de sólidos totales y sólidos volátiles.

Tanto en la alimentación como en la carga, la materia orgánica debe poseer un total de 10 % de materia seca. Niveles altos acumularían de lodo el biodigestor, tapando la salida de la materia digerida (Drosg, 2013).

2.3.3.4. Temperatura.

Las velocidades de reacción con las que se lleva a cabo cualquier proceso biológico están determinadas por este parámetro, influyendo en la solubilidad de los gases presentes, altas o bajas temperaturas también pueden afectar la fermentación, al causar daño a las células.

Se han definido dos rangos de trabajo:

- a) Mesófilo, entre 20 y 45 °C.
- b) Termófilo, entre 45 y 60 °C.

La temperatura óptima en cada uno de estos rangos es de 35 y 55 °C, respectivamente (Obaya, 1991).

2.3.3.5. Tiempo de retención hidráulica.

Se define como el tiempo (días u horas) en que los residuos son retenidos en el biodigestor (Soria *et al.*, 2001). Este dependerá de las condiciones climatológicas a las que esté expuesto el biodigestor, como podemos ver en la tabla 3.

Tabla 3: Temperatura ambiental y tiempo de retención de un biodigestor según la región donde se encuentre

Región característica	Temperatura °C	Tiempo de retención (días)
Trópico	30	20
Valle	20	30
Altiplano	10	60

Nota: elaborado en base a Ré y Morales (2011).

2.3.3.6. Rangos de pH.

La formación de metano ocurre dentro del intervalo de pH de 6.8 a 7.5. Menor o mayor a este rango indica inestabilidades en el proceso que deben corregirse.

2.3.4. Tipos de biodigestores anaeróbicos.

MINENERGIA *et al.* (2011), clasifica los biodigestores anaerobios de la siguiente manera:

- a) Sistemas *batch* o discontinuos: solo es cargado una vez, hasta el momento en que deja de producir biogás, indicando que el sustrato ya se degradó todo lo que podía. Luego, se retira todo el material y se vuelve a alimentar.
- b) Sistemas semicontinuos: se cargan por gravedad una vez al día, con un volumen de mezcla que depende del tiempo de fermentación o retención. El lodo es retirado por la presión ejercida por el ingreso de la carga y produce una cantidad diaria más o menos constante de biogás si se mantienen las condiciones de operación.
- c) Sistemas continuos: este tipo de digestores se desarrollan, principalmente, para tratamiento de aguas residuales. En general, son plantas muy grandes, en las cuales se emplean equipos comerciales para alimentarlos, proporcionarles calefacción y agitación, así como para su control.

Los principales modelos de biodigestores artesanales semicontinuos son:

- a) Digestor del domo flotante (hindú): se compone de una campana flotante en la parte superior y de un tambor en forma de bóveda cilíndrica vertical. Conforme se vaya generando biogás, el techo va subiendo, hasta que se extraiga el gas del biodigestor, a presión constante. Luego, vuelve a su nivel original (Calderón, 2015).
- b) Digestor de domo fijo (chino): este reactor consiste en una cámara de gas firme, construida de ladrillos, piedra u hormigón. No es un modelo muy útil, debido a su fragilidad y a la dificultad de su limpieza. Primero se ingresa la materia orgánica, luego de su degradación, esta producirá un gas, generando presión, debido a que el conducto de salida es de menor tamaño que el de entrada. Al volver a alimentar el biodigestor, la biomasa degradada saldrá por el tubo de desfogue y no por el tubo de alimentación (Olaya y González, 2009). La cima y el fondo son hemisféricos y están unidos por lados rectos. La superficie interior está sellada por muchas capas delgadas de mortero, para hacerlo firme.
- c) Biodigestor de estructura flexible, como veremos en la figura 2: se compone de una estructura tubular de material plástico (polietileno, PVC, entre otros, y/o una combinación de estos) completamente sellado. La entrada y la salida están sujetas directamente a las paredes. La parte inferior del biodigestor debe estar lleno de en un 80 %, aproximadamente, con la masa de fermentación. En la parte superior, el 20 % restante,

se almacena el biogás. Este tipo de biodigestor es adecuado para zonas en donde hay temperaturas altas y constantes (Vargas, 1992).

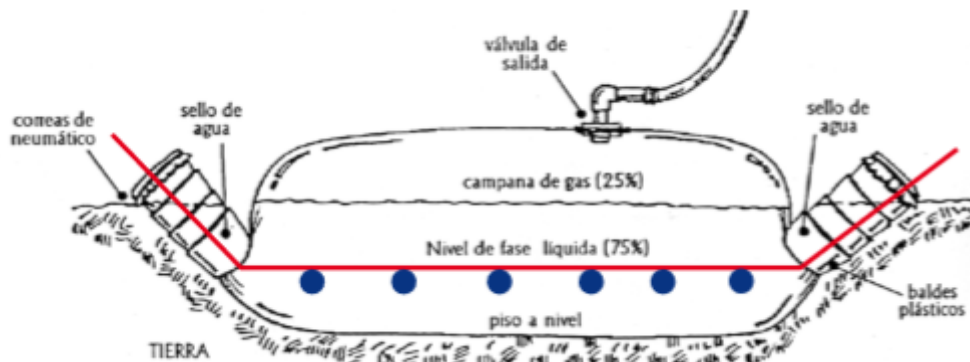


Figura 2. Diseño de un biodigestor anaerobio tubular. Recuperado de Castillos (2011).

2.3.5. Biogás.

El biogás es un gas combustible que se forma artificialmente gracias a la acción de diversos microorganismos que degradan la materia orgánica utilizada como sustrato, dentro de reactor cerrado herméticamente de manera anaerobia.

Actualmente, el biogás que se utiliza es formado en todas partes del mundo, principalmente en lugares donde es difícil proveer energía de manera convencional (Orrego, 2011).

El conocimiento de este compuesto se remonta a 1770, cuando Alejandro Volta colecta gas de los pantanos y estudia sus propiedades. Tres décadas después, Avogadro identifica al metano. Y en 1875, Propoff determina que para que se forme el metano, debe haber un ambiente anaerobio. Con mayor comprensión del gas, Pasteur propone utilizarlo como fuente de energía para el alumbrado público, aunque dicha idea no se llegó a realizar. A partir de la década de 1990 en Europa, principalmente, se empezó a desarrollar tecnologías para generar biogás de manera industrial y artesanal (Corona, 2007).

Su composición es variable, pero en líneas generales es 45-70 % metano, 20-00 % dióxido de carbono, 2-3 % nitrógeno molecular, ácido sulfhídrico 1,5-2 % (Hernández, 2015).

2.3.6. Biol.

El biol, también llamado digestato o digerido anaeróbico (PSE PROBIOGAS, 2011) es el subproducto del proceso de digestión anaerobia y se puede usar en los principales cultivos agrícolas. El valor de fertilizante que posee depende de los nutrientes presentes en la materia prima. Sin embargo, el biol es el resultado de un proceso y, por lo tanto, tiene características

que son específicas para cada tanque digestor. La digestión anaerobia determina una reducción en las sustancias orgánicas menos estables, pero no disminuye la cantidad de nitrógeno, fósforo y potasio de la biomasa inicial. Es un material que, en comparación con la composición inicial, es homogéneo, con un alto contenido de humedad, debido a la degradación biológica de la mayor parte de la sustancia seca, gracias a la acción de numerosos grupos bacterianos que compiten por la producción de biogás. La sustancia orgánica producida es, por lo tanto, más estable y rica en elementos de fertilidad, tales como nitrógeno, fósforo y potasio que, a través de la distribución de campo, pueden devolverse al suelo como nutrientes para los cultivos (Lukehurst, Frost y Seadi, 2010).

En el campo legal, se habla de “digestato” como el material derivado de la digestión anaerobia de efluentes de estiércol y diferentes biomásas, también mezcladas; mientras que, el término biomasa significa “materiales naturales, vegetales y no peligrosos de origen agrícola y forestal” utilizados en la agricultura o para la producción de residuos energéticos y agroindustriales clasificados como subproductos (Gatti, 2015).

2.3.6.1. Problemática actual del biol.

En Europa, la producción de energía renovable, que actualmente cubre el 23 % de la demanda de la energía global, es la opción más sostenible para contrarrestar el calentamiento global (Hussain, Arif y Aslam, 2017). El aumento en la demanda de energía por medio de la digestión anaeróbica ha generado dos problemas a las grandes productoras (*British Standards Institution*, 2010).

El primero es el aumento en el costo de la materia prima. El desarrollo de la producción de biogás en los últimos años tuvo un impacto negativo en la evolución de los mercados agrícolas. El aumento de la demanda de productos agrícolas para la producción de biogás ha aumentado los costos de adquisición de biomasa significativamente. También aumentó el costo de las rentas de superficie de maíz de ensilaje y, por lo tanto, hubo un incremento en los costos de adquisición. Con una alta proporción de materias primas renovables, los costos de adquisición subieron hasta el 50 % de los costos anuales totales (Schüsseler, 2009).

Los cultivos energéticos para la producción de biogás son masivos desde principios de 2008. Sin embargo, las experiencias de los últimos años muestran la gran dependencia de la producción de biogás a partir de los precios del sustrato y, por lo tanto, la alta importancia de la utilización eficiente de este. Del mismo modo, se debe buscar una optimización en la

producción de biogás y en la utilización de sus subproductos, generando un mayor valor a partir de estos (Schüsseler, 2009).

El segundo problema es la excesiva cantidad de biol que se genera en los grandes centros de producción de biogás, por su alta demanda. La cantidad de biol producida es mayor a la que los productores pueden llegar a necesitar como fertilizante, y tanto su almacenamiento como su transporte representan un alto costo. Por otro lado, el exceso de biol en los campos de cultivo pueden ocasionar escorrentías en el subsuelo, produciendo lixiviación y contaminación del agua subterránea. Así, su disposición sin algún tratamiento previo que reduzca su volumen, tanto para su uso, almacenamiento o transporte, representa un riesgo ambiental y/o financiero.

En la actualidad, la mejor opción para afrontar dichos problemas es generarles un mayor valor a los subproductos, desarrollar productos para nuevos mercados y aumentar la calidad de sus subproductos de manera rentable (Blanco, 2016). Para conseguirlo, se han desarrollado diversos tratamientos en la producción del biol.

2.3.7. Tratamientos para el biol.

Los tratamientos aplicados al biol son tecnología que buscan mejorar su calidad o desarrollar nuevos productos a base partir de este. En algunos casos se busca la reducción del volumen y disminuir costos de transporte. Otros procesos se centran en generar nuevos productos y utilizarlos en mercados distintos a los convencionales, ya sea como sustrato para el cultivo de algas, cultivo de hongos, obtención de energía, etcétera. En otras ocasiones, se busca mejorar la calidad del biol, reduciendo su carga patógena, aumentando su tiempo de vida, estabilizándolo, solidificándolo para evitar escorrentías, etcétera. Los tratamientos pueden ser aplicados en tres puntos clave del proceso:

2.3.7.1. Predigestión.

Los tratamientos, en este punto, se centran en tratar a la materia prima, con el fin de mejorar la disponibilidad de materia orgánica y mantener la calidad sanitaria del biol.

Entre los tratamientos en la etapa predigestión tenemos: la hidrólisis térmica, licuefacción enzimática, sistema de autoclave, etcétera.

2.3.7.2. Posdigestión.

La asociación WRAP realizó un estudio, encontrando los principales métodos postratamiento del biol, dividiéndolos por el tipo de proceso empleado (biológico, físico,

químico). Como vemos en la tabla 4, cada tratamiento es específico para ciertas condiciones o ciertos problemas que se busquen resolver (Pell-Frischmann, 2012).

Tabla 4: Tratamientos postproducción para el biol

Physical	Thermal	Biological	Chemical
Thickening (Belt)	Drying (Rotary Drying)	Composting	Struvite precipitation
Thickening (Centrifuge)	Drying (Belt drier)	Reed Beds	Ammonia recovery
Dewatering (Belt press)	Drying (J-Vap)	Biological Oxidation	(Stripping + Scrubbing)
Dewatering (Centrifuge)	Drying (Solar)	Biofuel Production (Algae)	Ammonia recovery (Membrane Contactor)
Dewatering (Hydrocell)	Evaporation (scraped surface heat exchangers)	Biofuel Production (liquor as process water)	Ammonia recovery (Ion Exchange)
Dewatering (Bucher press)	Conversion (Incineration)	Biofuel Production (hydrolysis of fibre to water)	Acidification
Dewatering (Electrokinetics)	Conversion (Wet air oxidation)	Biofuel Production (hydrolysis of fibre to water)	Alkaline Stabilisation
Purification (Ultrafiltration and Reverse Osmosis)	Conversion (Pyrolysis)	Bioethanol	
		Microbial Fuel Cell	

Nota: Recuperado de Pell-Frischmann (2012).

En la actualidad, países que tienen un gran desarrollo en la digestión anaeróbica y la utilizan como fuente importante de energía aprovechan el biol para generar el máximo beneficio económico. En Inglaterra se usa con mayor frecuencia la extracción del nitrógeno (*nitrogen stripping*), en Holanda y Bélgica se forman nuevos productos agrícolas en forma de pellets, en Alemania se busca tratar la parte líquida del biol para cultivar microalgas productoras de combustible y aprovechar al máximo la generación de energía. Otros países con menor producción de biogás compostan la fracción sólida del biol para poder estabilizarlo (Pell-Frischmann, 2012).

Los tratamientos pueden darse de manera individual o combinada, de tal forma que cada uno se vuelve una actividad de un proceso y así se puede llegar a obtener los resultados deseados. Cada proceso a causa del ambiente donde se desarrolla, las materias primas o lo que se busque obtener, es diferente. Sin embargo, algo que tienen en común la mayoría de los procesos es la necesidad de separar la fase sólida de la líquida en el biol (Trémier, Déchaux, Mikkelsen, Seghetta y Maiken Thomsen, 2013).

2.3.8. Separación de las fases del biol.

La separación de las fases del subproducto biol es una práctica que se populariza cada vez más en distintos países de Europa. El efluente por la digestión anaeróbica se somete a la separación de sus fases por medio de la centrifugación, obteniendo un 25 % de fase sólida y un 75 % de fase líquida. Esta separación no genera cambios químicos en el digerido. Lo que se consigue es una redistribución de los componentes y, por lo tanto, permite una mejora en la capacidad en la gestión de las fases obtenidas (Pérez, 2017). La fase sólida, que contiene diversos compuestos húmicos, calcio, hierro y puede ser aprovechada como composta o reestructurados de suelo. Cabe mencionar que la separación de la fase sólida implica una reducción de los volúmenes a almacenar, reduciendo el costo de almacenaje y el aumento del valor del producto. Por otro lado, la fase líquida, rica en nitrógeno, potasio y magnesio, puede ser aprovechada como agua de riego, en cultivo de hongos o microalgas, obtención de estruvita o procesarla por *stripping*, generando, del mismo modo que con la fase sólida, un aumento en su valor económico, nuevas utilidades en diversos campos, y todo, minimizando los efectos perjudiciales para el medio ambiente (Monlau *et al.*, 2015).

La separación de las fases según Drog, Werner, Seadi, Madsen y Linke (2015):

-Filtro tipo prensa: este método se recomienda para bioles que tengan una gran cantidad de fibra y no se desee separar en partículas tan pequeñas. Requiere de un costo bajo de inversión.

-Centrifugación: se utiliza cuando se busca separar partículas de menor tamaño o extraer el fósforo de la fase líquida. Tiene un mayor poder de separación, pero tiene un costo energético muy alto.

-Precipitación/floculación: los agentes precipitantes o floculantes se pueden agregar al biol para mejorar la separación de sus fases. Estos métodos se usan más como un paso previo para optimizar un proceso de separación que como un proceso de separación en si. Los agentes más comunes son sales, como sulfato de aluminio o sulfato férrico, aunque también se pueden usar diversos tipos de polímeros. Sin embargo, a causa del principio de incertidumbre, Suecia y Alemania no aceptan bioles como fertilizantes cuando estos han sido tratados con polímeros.

-Flotación: este proceso se aplica rara vez en bioles, debido a sus costos adicionales. Se fundamenta en la fuerza de elevación de las partículas, incrementada por su unión con

pequeñas burbujas de gas. La principal ventaja de este método es que necesita poco espacio en comparación con otros métodos de separación de fases, como la centrifugación o la precipitación. Para cualquier método de flotación se requiere del uso de agentes floclulantes.

2.4. Calidad microbiológica en el biol

La calidad del biol está relacionada al uso que se le dará. Sin embargo, hay aspectos básicos e importantes como el de eliminar, en la medida de lo posible, la probabilidad de que pueda ocasionar daños a la salud humana. Los principales riesgos provienen de la presencia de microorganismos patógenos (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, etcétera) y el contenido de metales pesados (Soto y Meléndez, 2004).

2.4.1. Microorganismos indicadores y patógenos en biofertilizantes.

Un examen general para identificar todos los microorganismos patógenos en un alimento o biofertilizante es muy costoso, como para realizarse de manera rutinaria. Sin embargo, es necesario realizarlos siempre que haya la sospecha de alguno específico. Por ello, se han determinado grupos amplios de microorganismos, que con su enumeración se pueda indicar si es que un alimento o materia prima estuvo en condiciones que pudieran haberlo expuesto a algún microorganismo causante de alguna enfermedad. En otras palabras, las bacterias indicadoras son utilizadas para revelar si es que no hubo buenas prácticas en los tratamientos de producción o materias primas destinadas a los alimentos (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods* [ICMSF], 1972).

Por otro lado, la gran incidencia de casos en los que se hayan encontrado microorganismos productores de enfermedades transmitidas por los alimentos y que representen un riesgo mortal a los consumidores, obligan a la industria a realizar los análisis respectivos para identificar la presencia o ausencia de ciertos microorganismos patógenos específicos.

Los grupos microbiológicos utilizados como indicadores de higiene del agua de riego o fertilizantes orgánicos son coliformes totales, coliformes fecales, *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli*.

2.4.1.1. *Escherichia coli*.

Según la segunda edición del manual Bergey (Garrity, Bell y Lilburn, 2004), el género *Escherichia* está dentro del Filo Proteobacteria, en la clase Gammaproteobacteria, Orden Enterobacteriales, incluido en la Familia *Enterobacteriaceae*. Son bacilos gram negativos,

catalasa positivos y oxidasa negativos, no formadores de esporas, anaerobios facultativos, inmóviles o móviles mediante flagelos peritricos y con necesidades nutricionales sencillas, siendo más fácil su detección por medio de pruebas microbiológicas que las de otros microorganismos entéricos (Gibert, 2010).

Habita principalmente en el tracto intestinal de los animales de sangre caliente, motivo por el cual se le considera un indicador de contaminación fecal. No siempre guarda una correlación estrecha con la presencia de otros microorganismos patógenos como la *Salmonella*.

2.4.1.2. Coliformes totales.

La definición de coliformes totales no está basada en criterios taxonómicos estrictos sino en reacciones bioquímicas específicas o en la apariencia de colonias características en medios selectivos o diferenciales. El término habitual “coliformes” comprende 4 géneros de la familia de las *Enterobacteriaceas*: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* y *Klebsiella* (Intendencia Montevideo, 2014). Las principales características de este grupo son: fermentadores de la lactosa (poseen la enzima β -galactosidasa) con producción de gas a 31-37 °C, en 48 horas, aerobias o anaerobias facultativas, son oxidasa negativa y no forman esporas (Carrillo y Lozano, 2008).

Este grupo siempre está presente en las heces de los animales de sangre caliente, por lo tanto, su presencia puede ser de procedencia fecal. Sin embargo, a los coliformes también se le puede encontrar en el agua, el suelo y los vegetales (Intendencia Montevideo, 2014). Si bien su existencia no indica necesariamente la presencia de un patógeno, cantidades significativas de estos dan indicios para pensar que ha habido una mala manipulación o no se ha seguido un buen proceso de saneamiento (Méndez, 2008). Por ello, se analizan solo como señalizadores de la eficacia del tratamiento y la integridad del sistema de distribución, no como indicadores de la presencia de patógenos (*Pan American Health Organization [PAHO]*, 1995).

2.4.1.3. Coliformes fecales.

Son aquellos coliformes totales que son capaces de fermentar lactosa a 44-45 °C, también son conocidos como coliformes termotolerantes (debido a que la presencia de estos no necesariamente es de origen fecal). El género predominante es *Escherichia*, pero algunos tipos de bacterias de los géneros *Klebsiella* también pueden ser termotolerantes (Ashbolt, Grabow y Snozzy, 2001).

El grupo de coliformes fecales ha surgido como un intento de encontrar un método rápido y fiable para establecer la presencia de *E. coli* y variantes estrechamente relacionadas, sin necesidad de purificar los cultivos obtenidos de coliformes o aplicar costosos métodos de confirmación (ICMSF, 1972). Se aíslan con frecuencia de la materia fecal, pero no son exclusivos de ella. Cierta cantidad significativa de coliformes termotolerantes tienden a habitar en el suelo y las plantas (Olvera, 2007). Por ello, es que se utiliza preferentemente para análisis de aguas y no para análisis de vegetales frescos.

2.4.1.4. Enterobacteriaceae.

Es una familia de bacterias gram negativa del orden de las enterobacteriales de la clase de las gammaproteobacterias del Filo Proteobacteria, conformada por 58 géneros y alrededor de 170 especies (Parte, 2018). Los miembros de esta familia son bacilos, anaerobios facultativos, no esporógenos. Algunos géneros son móviles principalmente por flagelos peritricos, a excepción de *Tatumella*, *Shigella* y *Klebsiella*, los cuales son especies no móviles (GOV.UK, 2014a). La temperatura de crecimiento óptima de la mayoría de los géneros es a 37 °C; sin embargo, hay algunas especies que se desarrollan mejor a 25-30 °C. Algunas cepas usan D-glucosa como única fuente de carbono. Sin embargo, otras requieren de ciertas vitaminas y aminoácidos, como oxidasa negativos y las reacciones de catalasa varían entre sí, reducen nitratos a nitritos, excepto por algunas cepas de *Erwinia* (Garrity, Brenner, Krieg y Staley, 2005). Las enterobacterias se dividen, de acuerdo con su capacidad para fermentar lactosa, en tres grupos: las bacterias que fermentan lactosa de manera rápida (coliformes), las que fermentan lactosa de manera lenta (*Citrobacter*, *Serratia*, *Hafnia*, *Yersinia*, etcétera) y las que no fermentan lactosa (*Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Morganella*, entre otras) (Granados y Villaverde, 1997).

En diversos laboratorios se ha optado por usar a la Familia de *Enterobacteriaceae* como indicador de inocuidad y de un buen proceso de sanidad en los análisis microbiológicos a alimentos y biofertilizantes. Este indicador es utilizado principalmente en Europa y no tanto en América Latina. Las razones por las cuales algunos laboratorios prefieren este indicador son las siguientes: una prueba solo para las bacterias lactosa positivas, como en el caso del grupo de los coliformes, puede llevar a resultados falsos, como en el caso en que las muestras están cargadas con bacterias lactosa negativa (*Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* enterinvasiva, etcétera) (ICMSF, 1972).

Para su detección se utiliza, generalmente, el método de placa vertida, utilizando el medio de cultivo agar rojo violeta bilis más glucosa, y una prueba de confirmación en agar OF-glucosa, aunque en la actualidad también se opta por usar 3M™ Petrifilm™ *Enterobacteriaceae*. Es un sistema de siembra todo-en-uno. Sus ingredientes varían, dependiendo del microorganismo de interés. En lugar de una placa petri, Petrifilm™ *Enterobacteriaceae* posee una película de plástico delgada como soporte del medio de cultivo, comprende un agente gelificante soluble en agua fría, los nutrientes e indicadores para la actividad y la enumeración (Ortega, 2014).

2.4.2. Microbiota del biol.

El biol es considerado un material vivo, a causa de la gran cantidad de microorganismos que alberga, provenientes de los sustratos con los que se elaboró. Una parte de ellos son los encargados de llevar a cabo las diversas transformaciones por las que pasa la materia prima hasta llegar a ser completamente digerido. Otros microorganismos presentes brindan propiedades beneficiosas al ecosistema del suelo-planta, sin embargo, el biol también pudiera contener microorganismos potencialmente patógenos, que suponen un riesgo no solo para los humanos que lo manejan sino también al sistema de suelo y planta, a los animales que pastan y a las personas que consuman las plantas fertilizadas con este abono (MINENERGIA *et al.*, 2011).

2.4.2.1. Comunidad microbiana involucrada en el proceso de la digestión anaeróbica.

Estudios moleculares han revelado que la mayor cantidad de microorganismos presentes en el biol son *archaea*. El Filo dominante fue *Euryarchaeota*. Por otro lado, en menor cantidad se encontraron bacterias *Firmicutes* y *Bacteroidetes*. Cada uno de los grupos presentes en el biol forma parte importante de cada fase.

En la primera y segunda fase de la degradación participan bacterias de al menos 128 órdenes de 58 especies y 18 géneros. Las especies que se presentan principalmente son *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Eubacterium* y *Bacteroides*. En la tercera y cuarta fase de la degradación se encuentran, principalmente, bacterias metanogénicas. En la actualidad, se han identificado 81 especies, de 23 géneros, 10 familias y 4 órdenes (Sun, Pope, Eijsink y Schnürer, 2015).

2.4.2.2. Microorganismos patógenos e indicadores presentes en el biol a causa de un tratamiento de sanitización deficiente.

Por su misma naturaleza, los sustratos utilizados para producir biogás (subproductos animales) suelen poseer una alta carga de microorganismos patógenos tales como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium*, *Clostridium*, *Campylobacter* y *Yersinia*. A pesar de realizarse la digestión anaeróbica con éxito, muchas veces quedan presentes estos microorganismos, lo cual representa un riesgo si es que se le dan las condiciones necesarias para desarrollarse. Para minimizar los riesgos biológicos, la unión europea exige que el biol sea pasteurizado a 70 °C, con el fin de eliminar, principalmente, las enterobacterias (*Salmonella*, cepas patógenas de *E. coli*, entre otras) (Bonetta, Ferretti, Bonetta, Fezia y Carraro, 2015).

2.4.3. Incidencias de brotes de ETAS por abonos.

Las enfermedades ocasionadas por la ingesta de alimentos contaminados han sido reconocidas como un problema de salud pública por la cantidad de personas afectadas y las graves repercusiones en la economía. Los alimentos pueden contaminarse por acción de agentes biológicos y ser el origen de las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA). Según la Organización Panamericana de la Salud, en el periodo comprendido entre 1960 y 1990 ocurrieron casi cinco millones de defunciones en niños menores de cinco años, causadas por diarrea, en América. Esto significa que hasta tres millones y medio de niños murieron por diarrea debido al consumo de alimentos contaminados (Vásquez, 2003) y en Latinoamérica, la red de Sistema de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (SIRVETA) registró entre 1993 y 2002, 181 brotes de ETA causados por el consumo de frutas y hortalizas contaminadas, afectando a más de 5000 niños. El principal motivo de dichos brotes se debe a que los alimentos de origen vegetal pueden albergar bacterias patógenas provenientes del tracto digestivo de mamíferos, transportadas por aguas contaminadas utilizadas para el riego o el uso de abonos orgánicos como estiércol, compost, digestato, etcétera. Esto incrementa el riesgo de contraer una ETA, teniendo en cuenta que muchos de los vegetales se consumen crudos o se emplean como ingredientes de platos o postres, cuya composición facilita la multiplicación de patógenos (Barrantes, Achí, Bolaños, Cerdas y Cortés, 2012).

2.4.4. Criterios microbiológicos de calidad sanitaria en viales.

Debido a los posibles efectos que pueden acarrear sobre la salud humana y animal, y al ambiente, la presencia de patógenos en los bioles, se desarrollan criterios microbiológicos, con la finalidad de establecer parámetros de gestión de riesgos que indiquen su aceptabilidad.

2.4.4.1. Normativa Europea.

El Reglamento (CE) N°1774/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, contempla un conjunto de normas destinadas a preservar la seguridad de la cadena alimentaria humana y animal, que es complementario a la legislación comunitaria sobre alimentos y piensos. El uso de subproductos animales no destinados al consumo humano (SANDACH) están clasificados en tres categorías, siendo la categoría uno el nivel de los materiales más riesgosos, el nivel dos un riesgo intermedio y el nivel tres, un riesgo leve. Dentro de la categoría dos se encuentra el estiércol y contenido del aparato digestivo. Según el Reglamento (CE) N°1069/2009, publicado por el Diario Oficial de la Unión Europea, ningún material de la categoría uno y dos deberá ser usado para generar compost o biogás, excepto el estiércol, el calostro o huevos, siempre y cuando pasen por un tratamiento que asegure su inocuidad (GOV.UK, 2014b).

Con el fin de asegurar la inocuidad de los alimentos, la Unión Europea ha establecido parámetros microbiológicos para los abonos generados a partir de SANDACH. Las muestras no deben presentar *Salmonella*, y en el caso de *Enterobacteriaceae*, menos de 300 colonias (GOV.UK, 2014b).

Los SANDACH como cuerpos enteros (o partes) de animales o productos de origen animal, incluidos óvulos, embriones y espermatozoides pueden generar un gran riesgo para la población a nivel mundial. Las enfermedades como encefalopatías espongiiformes, fiebres, entre otros, ponen en evidencia las consecuencias nefastas de su uso indebido y de la necesidad de la norma mencionada.

2.4.4.2. Normativa estadounidense.

La regla federal de biosólidos está contenida en 40 CFR, Parte 503. Los biosólidos que se aplicarán a la tierra deben cumplir con estas estrictas normas y estándares de calidad. La regla de la Parte 503 que rige el uso y eliminación de biosólidos contiene límites numéricos para metales en biosólidos, estándares de reducción de patógenos, restricción de sitios, restricciones y monitoreo de cosecha, mantenimiento de registros y requisitos de informes

para biosólidos aplicados a la tierra, así como requisitos similares para biosólidos que se eliminan o se incineran en la superficie. La normativa distingue entre dos tipos de lodos tratados: lodos clase A y clase B (*United States Environmental Protection Agency [EPA], 2018*).

Los lodos de clase A deben cumplir las siguientes limitaciones bacterianas:

- Coliformes fecales menor a 1000 NMP por gramo de sólidos totales.
- Bacteria *Salmonella sp* menor a 3 NMP por cada cuatro gramos de sólido totales.

Los lodos de clase B:

- Test de coliformes fecales en los biosólidos. Se usa la media geométrica de la densidad de coliformes fecales. Deben tomarse siete muestras aleatorias al día.
- Utilizar uno de los procesos para la reducción significativa de patógenos.

2.4.4.3. Normativa peruana (para agua de riego).

En Perú, no existe norma que defina los parámetros que debe tener el biol para asegurar su calidad. Sin embargo, se puede tomar como base los Estándares de Calidad Ambiental para el Agua (Decreto Supremo N°002-2008-MINAM, 2008): Coliformes totales: < 50 NMP/ml, *Escherichia coli*: < 1 NMP/ml, *Salmonella*: Ausente.

2.5. Radiación solar

La radiación solar es el flujo de energía en forma de ondas electromagnéticas que provienen del sol (EPA, 2015). La radiación que llega del sol a la tierra es la principal fuente de energía para los fenómenos atmosféricos y la vida. Se ha estimado que la energía total que llega a la tierra por radiación solar es 1370 W/m^2 , de esta cantidad de energía recibida, aproximadamente el 30 % es reflejada al exterior, 20 % es absorbida por la atmósfera, y el 50 % restante es absorbido por la tierra (del cual un 20 % será absorbido por la tierra misma y un 30 % será convertido en calor latente y sensible). La energía proveniente del sol consta, en un 9 %, de radiación ultravioleta (UV, se puede dividir en UV-A, UV-B Y UV-C $0.001\text{-}0.39 \mu\text{m}$) que aporta 113 W/m^2 , 42 % de luz visible ($0.39\text{-}0.77\mu\text{m}$), que aportan 639W/m^2 y 49 % de luz infrarroja ($0.77\text{-}1000 \mu\text{m}$), que aportan 618 W/m^2 . Estas relaciones van cambiando conforme van llegando a la superficie terrestre (Zaratti y Forno, 2003; Reyes, 2001).

Radiación UV: gran parte de la radiación UV no llega a la superficie terrestre. La radiación UV-C (0.001-0.2 μm) —que es la radiación energéticamente más fuerte del espectro de la radiación solar— es absorbida por la atmósfera y no ingresa a la superficie terrestre. Esta radiación suele ser fabricada artificialmente para su uso como germicidas. La radiación UV-B (0.2-0.3 μm) es atenuada, en gran medida, por la capa de ozono. Sin embargo, una pequeña parte de esta radiación es filtrada y llega hasta la tierra. Esta radiación tiene capacidad no ionizante, pero puede generar cambios a nivel del ácido desoxirribonucleico (ADN) en los organismos. La radiación UV-A (0.3-0.39 μm) llega completa a la superficie terrestre y es menos nociva que las demás radiaciones.

2.5.1. Efecto biocida del oxígeno y la radiación solar.

Las bacterias son destruidas por el efecto sinérgico de los componentes de la radiación solar. La radiación infrarroja conduce al aumento de la temperatura y la desnaturalización de la acción enzimática. Por otro lado, parte de la radiación UV (radiación UV-B) actúa directamente sobre el ADN y enzimas, modificando su estructura, produciendo la muerte celular. Y, por último, el UV-A también reacciona con el oxígeno disuelto en el agua, produciendo especies altamente reactivas de oxígeno. Estas moléculas también interfieren con las estructuras celulares, eliminando así a los organismos patógenos (Gagliano y Litter, 2003).

Por un lado, los rayos UV-A no tienen actividad ionizante, pero provocan cambios químicos en las moléculas de algunas enzimas que los absorben, de modo que aparecen moléculas alteradas denominadas genéricamente fotoproductos. Estos originan la inactivación celular. Por otro lado, los rayos UV-B producen cambios a nivel de los nucleótidos, ya que estos absorben radiación de 260 nm, alterando su conformación y produciendo otros fotoproductos, como dímeros de pirimidina en una de las hebras del ADN bacteriano. El hecho de tener solo un cromosoma y carecer de intrones acentúa más los efectos de la radiación UV-B en las bacterias. Con una menor, pero considerable, consecuencia, la luz visible también tiene un efecto letal sobre ciertos microorganismos; ya que, en condiciones de mucha intensidad, esta radiación afecta a ciertas moléculas como riovflavinas y citocromos, que absorben la energía de cuántos para excitarse y luego trasladar esta energía a otras moléculas, causando así, fotooxidaciones en residuos de His y Tyr de las proteínas. También puede llegar a producir oxígeno singlete, el cual es muy oxidante, produciendo daños irreparables a la célula (Iáñez, 1998).

2.6. Métodos de desinfección solar

En 1877, Downes y Blunt demostraron el efecto bactericida de la radiación solar, por medio de tubos con una carga microbiana similar, pero con diferente turbidez. El estudio, dio a conocer sin saber los motivos exactos, que la luz solar afecta el desarrollo microbiano, siendo las bacterias más susceptibles que los hongos.

Estudios posteriores determinaron que el efecto biocida de la luz solar en microorganismos puede estar asociado a su radiación infrarroja, o a su radiación ultravioleta o una combinación de ambas. Se han desarrollado métodos de desinfección de agua y abono aprovechando la energía proveniente del sol. Los métodos que aprovechan la radiación infrarroja del espectro son llamados “fototérmicos” (solarización del suelo, pasteurización solar del agua, destilación solar del agua) y las que aprovechan la radiación ultravioleta o ambas son conocidas como “fotoquímicas” (oxidación fotocatalítica, desinfección solar de aguas (SODIS), reducción fotocatalítica, purificación de agua por medio de paneles solares) (Márquez-Bravo, 1998).

2.6.1. Solarización del suelo.

La solarización del suelo es un proceso hidrotérmico que tiene lugar en la tierra húmeda, el que es cubierto por una película plástica y expuesto a la luz solar durante los meses más cálidos. El proceso del calentamiento solar del suelo es conocido como solarización del suelo y abarca un complejo de cambios físicos, químicos y biológicos asociados con el calentamiento solar.

La radiación solar penetra a través de la película plástica y es absorbida por el suelo. La mayor parte de la radiación absorbida es convertida en calor. Dado que todos los objetos por encima del cero absoluto emiten calor, tanto la cantidad como la calidad de la energía radiante emitida por el suelo dependen de la temperatura del mismo.

De acuerdo a la ley de Stephan, la cantidad de radiación emitida es función de la cuarta potencia de la temperatura absoluta:

$$Q = e \times d \times T^4 \quad (1)$$

Donde:

Q = Cantidad de energía radiada en calorías.

d = Constante de Stefan-Boltzman ($8,132 \times 10^{-11}$ cal/cm²/min.g K⁴).

T = Temperatura absoluta en grados Kelvin.

e = relación entre la radiación emitida por una superficie real y la emitida por el cuerpo negro a la misma temperatura.

La longitud de onda de la radiación emitida por cualquier objeto también está influenciada por la temperatura. De acuerdo a la ley de Wein, la longitud de onda de la radiación emitida es inversamente proporcional a la temperatura del objeto. Por lo tanto, la radiación solar es emitida a longitudes de onda más cortas, comparadas con las emitidas por la tierra. 99 % de la radiación solar está comprendida entre 150-4 000 nm, mientras que la radiación terrestre es emitida a cerca de 10 000 nm y 99 % de la radiación del suelo es emitida entre 400-100 000 nm (IR larga). Por lo tanto, la radiación solar puede fácilmente penetrar la cobertura de plástico, pero la radiación emitida por el suelo (normalmente a una longitud de onda más larga) no puede pasar a través de esa cobertura. La mayor parte de esa radiación será retenida debajo de la cobertura plástica. Por este medio la temperatura del suelo podría alcanzar niveles letales para los microorganismos del suelo, incluyendo patógenos de las plantas y malezas. Los microorganismos del suelo son destruidos de forma directa o indirecta por las temperaturas a las que se llega durante el calentamiento solar del suelo húmedo bajo películas de polietileno que limitan el escape de vapores de agua del mismo. La sensibilidad de algunos microorganismos a elevadas temperaturas está relacionada con pequeñas diferencias en macromoléculas, que llevan a un incremento de los enlaces intramoleculares con pequeños cambios en los enlaces con moléculas de hidrógeno, los enlaces iónicos y los enlaces de disulfuros. Los lípidos insaturados (que tienen un punto de fusión más bajo) en las membranas de los microorganismos mesófilos producen una mayor sensibilidad a elevadas temperaturas, durante la solarización del suelo, que otras especies termotolerantes. La sensibilidad de los organismos al calor está relacionada con un límite superior de la fluidez de las membranas, más allá del cual su función se reduce. Los microorganismos termotolerantes y termófilos del suelo suelen sobrevivir a la solarización del suelo (Brock, 1978).

2.6.2. SODIS.

La desinfección solar de aguas (SODIS) es un método eficiente para la eliminación de microorganismos patógenos presentes en aguas de consumo humano. El método tiene la ventaja de ser económico y fácilmente aplicable, solo requiere de la energía solar, apartándose de los métodos convencionales de purificación de agua tales como la cloración, el hervido del agua, y otros, cuyo costo es, tal vez, inaccesible para poblaciones que viven en condiciones precarias. Los microorganismos patógenos son eliminados por la radiación ultravioleta (UV-A), en sinergia con la radiación infrarroja (IR) a partir de determinada temperatura. Aunque el método no esteriliza el agua, elimina microorganismos causantes de serias enfermedades como diarreas, infecciones intestinales, cólera, etcétera. La difusión eficiente del método lograría evitar muchas muertes causadas por el consumo de aguas contaminadas no tratadas. Los requerimientos para la aplicación de este método son solamente la disponibilidad de luz solar y de botellas de PET (polietiléntereftalato), y que el agua tenga una turbidez menor a 30 NTU (Márquez-Bravo, 1998).

La luz del sol utilizada durante la desinfección solar se compone principalmente por los rayos UV-A (solo un 4,5 % de la radiación solar utilizada para la desinfección solar es UV-B) y el mecanismo de inactivación principal es un proceso fotooxidativo, debido a la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) tales como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. Las ROS pueden provocar la peroxidación de lípidos e incluso lesiones del ADN mediante la formación de dímeros de pirimidina. Cuando las ROS reaccionan con el ADN, este se rompe en una sola cadena, modificándose las bases nitrogenadas, lo que puede ser letal y mutagénico. Además, se pueden oxidar proteínas y provocar daños en la membrana, que conducen a la muerte celular. Las diferencias en la inactivación de bacterias a temperaturas de entre 12 y 30 °C parecen ser insignificantes. Sin embargo, cuando la temperatura sube a 50 °C la acción bactericida se duplica, debido a la fuerte sinergia entre la radiación UV y el aumento de temperatura (McGuigan *et al.*, 2012).

2.7. Modelamiento cinético matemático

Un modelo matemático es la descripción de las propiedades y características de los sistemas o procesos de manera similar a la realidad física, relacionando sus variables por medio de operaciones matemáticas (Calderón, 2017; Cabeza, 2011). Estos modelos poseen un amplio uso en distintos rubros.

Según un estudio de Yuste y Capellas (2009), los modelos matemáticos pueden ser divididos de tres maneras:

- a) Modelos descriptivos: buscan describir un proceso o sistema.
- b) Modelos predictivos: buscan no solo describir, sino también predecir los resultados de un proceso o sistema.
- c) Modelos explicativos: buscan entender cómo trabajan los componentes del sistema.

En el campo de la microbiología, los modelos predictivos pueden ser divididos de acuerdo con el comportamiento que desean describir:

- a) Modelos de crecimiento: estudia el aumento de una población microbiana.
- b) Modelos de inactivación: estudia la muerte o inactivación de los microorganismos.

También pueden dividirse de acuerdo con la expresión matemática o aproximación estadística que los defina:

- a) Modelos probabilísticos: estudian la probabilidad de que suceda un evento relacionado con la población microbiana, ya sea muerte, crecimiento, inactivación de sus toxinas o muerte de esporas, etcétera.
- b) Modelos cinéticos: evalúan la velocidad con la que se dan ciertos cambios en la población microbiana, impulsados por factores ambientales.

Otra manera de clasificarlos es por el diseño experimental o metodología que se haya llevado a cabo para su formulación.

- a) Modelos empíricos: son modelos que se forman a base de datos que surgen de experimentaciones a base de “prueba y error”.
- b) Modelos mecanicistas: surgen con una base teórica y buscan comparar la respuesta de los microorganismos a través de experimentos.

Pero la forma más usada y aceptada para clasificar a los modelos microbiológicos es por la cantidad y tipo de variable que buscan estudiar, como:

- a) Modelos primarios: estudian la respuesta de los microorganismos frente al tiempo.
- b) Modelos secundarios: usando los modelos primarios fijan algún factor más al modelo, sea temperatura, actividad de agua, pH, etcétera.
- c) Modelos terciarios: es la combinación de los modelos primarios y secundarios obtenidos, dando como resultado una gráfica 3D.

En el campo de la microbiología, los modelos cinéticos son tomados de los modelos de la cinético-química. En general, los modelos cinéticos dan parámetros definiendo con que rapidez se producirá una reacción en un proceso, sea químico, físico, bioquímico (enzimáticos) o microbiológico. Son formados por ecuaciones llamadas “ecuaciones

cinéticas”, que relacionan la concentración de los componentes con el tiempo en el que se van consumiendo o produciendo en cierto proceso. Tienen como fin correlacionar datos experimentales y comprender de mejor manera el proceso en cuestión, hacer una predicción cuantitativa del proceso, reducir costos en el diseño experimental y en el proceso, considerar o no variables que puedan (o no) afectar el desarrollo experimental y utilizar el modelamiento matemático para escalar procesos realizados a nivel de banco o laboratorio (Calderón, 2017).

Con el fin de comprender mejor los modelos cinéticos microbiológicos, se explicarán primero los conceptos de las reacciones cinético-químicas ya que los primeros fueron formados a base de los conceptos de los segundos.

2.7.1. Ecuación cinética de una reacción.

Es una ecuación empírica que relaciona la rapidez con que se da una reacción (sea la formación de un producto o el consumo de el o los sustratos) con la concentración de los compuestos que participan en dicha reacción (Scott, 2001).

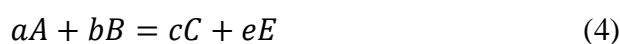
La velocidad de reacción se puede medir, ya sea observando la desaparición de un reactante con el tiempo.

$$V = -d(R)/d(t) \quad (2)$$

O la aparición de un producto con el tiempo

$$V = d(P)/d(t) \quad (3)$$

Siendo la siguiente reacción química



Su velocidad de reacción podría estar representada en cualquiera de las siguientes ecuaciones

$\Delta t \rightarrow 0$

$$V = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{d[B]}{dt} = \frac{1}{c} \frac{d[C]}{dt} = \frac{1}{e} \frac{d[E]}{dt} \quad (5)$$

Una vez obtenida la velocidad, al relacionarla con su concentración se obtiene la ecuación de la velocidad o la ley de velocidad. Resultados experimentales determinaron que las velocidades de una reacción están regidas por la siguiente fórmula:

$$V = K [A]^{\alpha} [B]^{\beta} \quad (6)$$

En esta ecuación, las potencias son los órdenes de reacción respecto de cada uno de los reactivos. Así, n es el orden de reacción respecto a la especie A, y m es el orden de reacción respecto a la especie B. La suma de todos los órdenes de reacción, n + m, se denomina

orden global de la reacción. K es una constante cinética e indica si la reacción es rápida o lenta. Se obtiene de manera experimental, al igual que los índices parciales de la reacción, de tal manera que una reacción de orden cero será:

$$V = K [A]^0 \quad (7)$$

Una ecuación de primer orden será:

$$V = K [A]^1 \quad (8)$$

Una ecuación de tercer orden será:

$$V = K [A]^2 \quad (9)$$

2.7.1.1. Ecuaciones de concentración versus tiempo.

También llamadas ecuaciones de velocidad integradas. Integrando la ecuación de velocidad es posible apreciar cómo cambian con el tiempo las concentraciones de los reactivos. Esta ecuación dependerá del orden de la reacción.

Para una ecuación de velocidad de reacción de orden 0, su ecuación de concentración-tiempo será:

$$V = K [A]^0 \rightarrow \frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = K \rightarrow \int_{[A]_0}^{[A]_t} d[A] = -K \int_{t=0}^{t=t} dt \rightarrow [A] = [A_0] - Kt \quad (11)$$

Para una ecuación de velocidad de reacción de orden 1, su ecuación de concentración-tiempo será:

$$V = K [A]^1 \rightarrow \ln[A] = \ln[A]_0 - Kt \quad (12)$$

Para una ecuación de velocidad de reacción de orden 2, su ecuación de concentración-tiempo será:

$$V = K [A]^2 \rightarrow \frac{1}{[A]} = \frac{1}{[A]_0} + Kt \quad (13)$$

2.7.2. Crecimiento y muerte microbiana.

El crecimiento puede definirse como un incremento o decrecimiento en la población microbiana (no hace referencia a la masa celular individual). Este crecimiento se estudia analizando la curva de crecimiento de un cultivo microbiano (normalmente en un cultivo discontinuo). La curva está compuesta por cuatro fases: fase de latencia, fase exponencial, fase estacionaria y fase de muerte o declinación, tal como se muestra en la figura 3 (Willey, Sherwood y Woolverton, 2011).

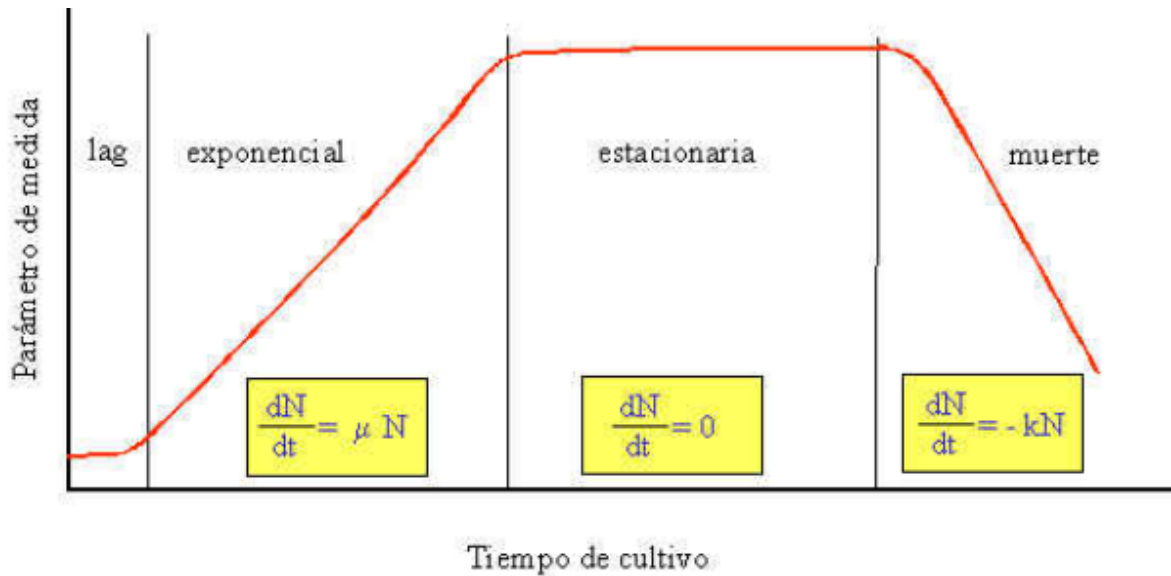


Figura 3. Curva del crecimiento microbiano. Recuperado de Willey, Sherwood y Woolverton (2011).

Una manera práctica de desarrollar una curva de crecimiento y muerte celular es por medio de *softwares* que puedan graficar los datos, cuantificando experimentalmente la concentración microbiana en intervalos de tiempo determinados, al hacer el ajuste a alguna ecuación (sea lineal como en el caso de la ecuación de Watso-Chick, o sea no lineal, como Weibull, Gomperz, Cerf con hombro). Se podrán apreciar ecuaciones de la curva que relacionan a las variables por medio de constantes cinéticas como K (que indica la velocidad de inactivación microbiana) o μ (que indica la rapidez con la que crecen los microorganismos) entre otras, que buscan describir o comprender el sistema.

Se considera a un microorganismo muerto cuando pierde de forma irreversible la capacidad de dividirse. Esta definición se da debido a que si un microorganismo ha perdido la capacidad de dividirse no podrá formar una colonia y no se podrá detectar su presencia por los métodos microbiológicos tradicionales. Sin embargo, un microorganismo puede estar muerto desde el punto de vista microbiológico y continuar desarrollando una actividad metabólica que se traduzca, por ejemplo, en liberación de toxinas. La fase de muerte celular es ocasionada por factores internos como el agotamiento de nutrientes, acumulación de desechos tóxicos, etcétera, o factores externos como agentes bactericidas tanto físicos como químicos, variación de PH y actividad de agua o radiación.

La importancia del conocimiento de la cinética de la muerte celular radica en el diseño de los procesos de esterilización o desinfección, dependiendo del caso. La muerte de las células no ocurre instantáneamente, sino que sigue una conducta logarítmica (con ciertas excepciones).

2.7.3. Cinética de inactivación microbiana.

Si bien es informativo comprender el metabolismo, crecimiento o muerte de los microorganismos y todas sus facetas, es necesario también conocer cómo poder modelarlo, siendo el interés principal la rapidez con la que se desarrolla o inactiva un determinado proceso biológico, como la generación de un metabolito, el crecimiento microbiano o la muerte celular.

Para poder modelizar la inactivación microbiana por un tratamiento, es necesario entender la relación entre las variables dependientes e independientes, siendo los parámetros más adecuados el tiempo, como tratamiento variable dependiente y el número final de microorganismos como variable independiente.

Entre las ecuaciones de cinética de inactivación microbiana, la más usada (por su precisión y su simplicidad) es la propuesta por Watson-Chick:

$$\frac{N}{N_0} = e^{-k \times C^n \times t} \rightarrow \ln \frac{N}{N_0} = -K \times C^n \times t \quad (14)$$

Donde:

N_0 : es el número inicial de microorganismos presentes.

N : es el número de microorganismos posterior al tratamiento.

K : constante de velocidad de la reacción, que depende del desinfectante utilizado y de la mortalidad del microorganismo afectado en las condiciones operatorias aplicadas (pH, fuerza iónica, temperatura, etcétera).

C : concentración de desinfectante (o dosis de tratamiento en el caso de una irradiación UV, por ejemplo), supuesta constante durante toda la duración de la inactivación.

n : orden de la reacción (generalmente se puede considerar el valor de n como 1, volviéndose una ecuación de orden 1).

t : tiempo de contacto entre el microorganismo y el desinfectante.

En el proceso fotocatalítico, la expresión general de la ecuación de Chick-Watson se puede modificar para nuestras condiciones experimentales, donde el tiempo es sustituido por la cantidad de energía solar recibida durante el experimento por unidad de volumen (Q_{sol}) para hacer posible la comparación con resultados obtenidos en otros reactores solares:

$$\ln \frac{N}{N_0} = -K \times Q_{sol} \quad (15)$$

El parámetro Q_{sol} permite evaluar y comparar resultados de experimentos llevados a cabo en diferentes días u horas con diferentes condiciones meteorológicas. Se calcula según la ecuación, donde t_n es el tiempo experimental para la muestra n, $\overline{Q_{sol}}$ es la media de la irradiancia solar medida durante el periodo $(t_n - t_n - 1)$, A_r es la superficie iluminada del captador solar y V_T es el volumen total del reactor.

2.8. Microbiología predictiva

La microbiología predictiva es un área de la microbiología de los alimentos que se ha desarrollado de gran manera en las últimas décadas, ya que permite anticipar el efecto del cambio en determinados factores medioambientales sobre el crecimiento o inactivación de los microorganismos (Yarce, 2013).

Busca modelar matemáticamente el desarrollo microbiano a condiciones específicas para su predicción en posteriores momentos, en determinadas condiciones ambientales. De esta manera, con el uso de estos modelos se puede estimar la vida útil de los alimentos, la seguridad microbiológica de los mismos, el aislamiento de puntos críticos y la optimización de las cadenas de producción y distribución. También pueden dar una idea de cómo las variables ambientales afectan la supervivencia de bacterias patógenas y alteraciones (Cabeza, 2011).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

2.9. Extracción del biol

El biol con el que se trabajó fue brindado por el Centro Modelo de Tratamiento de Residuos (CEMTRAR) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), extraído del tanque colector de biol de un biorreactor del tipo tubular de geomembrana de PVC productor de biogás a base de purín de cerdo y agua, en relación de 1-10 respectivamente.

2.10. Caracterización del biol

2.10.1. Caracterización fisicoquímica.

Se extrajeron cinco litros de biol, se midió su pH con un potenciómetro Hanna modelo pH 211, se mandó a analizar el biol obtenido en cuanto a cantidad de nitrógeno y fósforo al Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Agua y Fertilizantes (LASPAF).

2.10.2. Caracterización microbiológica (Enterobacterias).

Se determinó la carga de enterobacterias diluyendo 10 g de biol en 90 g de agua peptona al 1 %, colocando 1 ml de la dilución en una placa petrifilm-enterobacterias e incubando en una estufa a 37 °C durante 24 horas.

2.11. Obtención y caracterización de la fase líquida del biol

Para separar las fases del biol, primero se dejó decantando cinco litros de biol dentro de una refrigeradora a 4 °C durante tres días. Posterior a eso, se colectó la parte líquida y pasó por un filtro Watman de 4 mm con la ayuda de un embudo Büchner, un matraz Kitasato y una bomba de succión.

2.11.1. Caracterización fisicoquímica.

Se midió el pH, la cantidad de nitrógeno y fósforo presentes en la fase líquida del biol.

2.11.2. Caracterización microbiológica.

Se determinó la carga de enterobacterias diluyendo 10 g de la fase líquida del biol en 90 g de agua peptona al 1 %, colocando 1 ml de la dilución en una placa petrifilm-enterobacterias e incubando en una estufa a 37 °C durante 24 horas.

2.12. Disminución y cuantificación de la turbidez

La turbidez de la fase líquida del biol se cuantificó por un turbidímetro Hanna modelo HI 98703.

Posteriormente, con el fin de obtener una menor turbidez y aumentar la penetrabilidad de la radiación, se diluyó la fase líquida del biol colectado con agua estéril destilada, en relación 1:2 y 1:3 respectivamente, hasta alcanzar un valor cercano a 300 NTU.

2.13. Prueba preliminar del efecto sinérgico de la radiación solar y el oxígeno atmosférico en la inactivación de las enterobacterias presentes en la fase líquida del biol

Para el experimento se usó un diseño factorial a dos niveles, 2^2 , donde los factores a estudiar fueron la radiación solar y el oxígeno a nivel atmosférico. Cada factor contó con dos niveles, un nivel + (que indica presencia del factor) y un nivel – (que indica la ausencia del factor), tal como se muestra en la tabla 5.

Tabla 5: Codificación de los tratamientos preliminares del diseño factorial.

Radiación solar (luz)	Oxígeno	
	con	sin
con	++	+-
sin	-+	--

Para realizar el experimento, se expuso 30 ml de FLB 1:3 en placas Petri de 90 ml y fueron tapados con plástico de baja densidad de polietileno y polipropileno, desde las 12 pm hasta las 4 pm (durante 4 horas). Para realizar el experimento ++ se expuso cada placa a la radiación solar y al oxígeno atmosférico. En el experimento +- se cubrieron las placas con una bolsa de polietileno negro (evitando que pasen los rayos solares). Para el caso del experimento -+ se cubrió a las placas con una bolsa transparente de polietileno con un *Anaerocult*® por dentro debidamente hidratado, para poder, así, generar un ambiente anaerobio. A modo de garantizar que exista un ambiente anaerobio se usó una banda de

Anaerotest®. Por último, para el experimento – se usó una bolsa negra y un *Anaerocult*® de la misma manera que en los experimentos anteriores.

Pasada las cuatro horas de exposición, se extrajo 1 ml de cada placa y se procedió al análisis microbiológico correspondiente (el análisis microbiológico se explica en detalle más adelante).

2.14. Exposición de la fase líquida del biol diluido 1:3 a la radiación solar y al oxígeno atmosférico

2.14.1. Construcción del captador solar.

Para exponer el biol a la radiación solar, se construyeron dos contenedores rectangulares de plástico transparente con 3.5 cm de profundidad, 20.6 cm de largo y 12.5 cm de ancho, con una tapa de polietileno y una válvula de extracción de muestra, en el cual se vertió 1l del biol filtrado en cada uno. Para el control se utilizó contenedores de la misma medida, pero con tapa de polietileno negro (para evitar el ingreso de radiación solar UV).

2.14.2. Tiempo de exposición y medición de la radiación solar incidente y temperatura.

Los datos de la radiación global incidente y temperatura atmosférica fueron estimados y brindados por el centro meteorológico Alexander Von Humbolt de la UNALM. Se registró cada parámetro cada hora, como se detalla en la tabla 6, durante tres días, utilizando el equipo de la estación meteorológica Davis.

2.14.3. Toma de muestras.

La toma de muestra se realizó por medio de la válvula de extracción, previamente desinfectada con alcohol de 70° y enjuagado con agua destilada. Se extrajo 10 g de muestra de cada contenedor en los intervalos que muestra la tabla.

Tabla 6: Horarios de toma de muestras.

Tiempo hh.mm.	Muestra
7:00	M0
8:00	M1
9:00	M2
10:00	M3
11:00	M4
12:00	M5
13:00	M6
14:00	M7
15:00	M8
16:00	M9
17:00	M10

2.15. Construcción de la cinética de la muerte de enterobacterias

2.15.1. Análisis microbiológico cuantitativo de enterobacterias.

Almacenamiento de la muestra

Las muestras fueron transportadas en un contenedor a 10 °C desde el Centro Meteorológico de la UNALM hasta el lugar de análisis, el laboratorio Q5 del Departamento de Química de la UNALM.

Preparación de la muestra

La muestra se homogenizó y se preparó con una dilución de 1:10 con *buffer* de agua peptonada (método ISO 6579). Se pipeteó 10 ml de la muestra en un recipiente estéril y se mezcló con 90 ml del *buffer* de agua peptonada. Por último, se homogenizó la dilución y se verificó que llevara un pH de entre 6.2 y 7.7.

Inoculación de la muestra

Junto a un mechero Bunsen, se colocó la placa Petrifilm™ *Enterobacteriaceae* en una superficie plana y nivelada. Se levantó la película superior. Con una pipeta perpendicular a la placa Petrifilm™ *Enterobacteriaceae*, se inoculó 1 ml de la muestra preparada en el centro de la película inferior y se bajó, cuidadosamente, la película superior para evitar atrapar burbujas de aire.

Incubación de las placas

Se incubaron las placas boca arriba, utilizando el método AFNOR, método validado 3M 01/0609/97 se incubó a 37 °C ± 1 °C durante 24 horas. Para incubar las muestras se usó una estufa Memmert ule 500.

Interpretación de los datos

Se realizó la lectura de las placas, contabilizando únicamente las colonias que presentaron un halo amarillo y/o burbujas de gases asociadas. Se consideró el factor de dilución y se obtuvo el N° de UFC (unidades formadoras de colonias)/ml con la siguiente fórmula:

$$UFC/ml = \frac{N^{\circ} \text{ de colonias por placas} \times \text{el factor de dilución}}{ml \text{ de la muestra sembrada}}$$

2.15.2. Determinación fisicoquímica de las condiciones climáticas.

La temperatura atmosférica y la radiación solar fueron cuantificadas por la estación automática Davis del centro meteorológico Alexander Von Humboldt de la UNALM, en cada hora del día.

Se integró la radiación solar respecto al tiempo y se obtuvo la irradiación. Posteriormente, con esos datos se calculó la energía acumulada de radiación solar W/m^3 de biol.

2.15.3. Caracterización fisicoquímica y microbiológica de la fase líquida del biol diluido 1:3 a la exposición de la radiación solar y oxígeno.

Se extrajo una porción de la muestra para el análisis microbiológico y se midió inmediatamente la temperatura con un termómetro de alcohol. Posteriormente, en el laboratorio Q5 del Departamento de Química, se midió el pH con un potenciómetro Hanna modelo pH 211.

Con todos los datos obtenidos, se construyó una curva de la concentración de enterobacterias en cada muestra tomada versus el tiempo, y la concentración de enterobacterias de cada muestra tomada versus la energía acumulada de la radiación global incidente J/m^2 y se calcularon los parámetros cinéticos.

2.16. Análisis estadístico

Se realizó el ajuste de los datos, usando el cuadrado de la diferencia de sus puntos con la ecuación cinética de desinfección de Watson-Chick modificada.

Con el fin de calcular el valor óptimo de los parámetros cinéticos se usó el programa *Excel-Solver* y se calculó el coeficiente R de correlación para determinar el grado de ajuste de los datos con la ecuación cinética.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

2.17. Caracterización fisicoquímica y microbiológica del biol, la fase líquida del biol (FLB) y la fase líquida del biol diluida 1:3 (FLB 1:3)

La separación de las fases sólida y líquida del biol tiene como finalidad, disminuir el volumen y concentrar la mayor cantidad de nutrientes en la fase sólida. Tanto la eficiencia como el costo del proceso pueden variar, dependiendo de cómo se efectúen. Los principales nutrientes que se toman en cuenta en el biol son: el nitrógeno, el fósforo y el potasio; ya que se encuentran en mayor abundancia y relevancia en los aspectos agrícolas y ambientales (Martínez y Francesena, 2018).

Los resultados de la división de las fases en este estudio mostraron un rendimiento bajo en comparación a otros trabajos con diferentes métodos de separación de fases. Lukehurst *et al.* (2010), reportan un volumen final de la fase líquida entre 80-90 % con respecto al volumen total del biol. Sin embargo; el presente estudio solo alcanzó un porcentaje del 56 % en la separación. Esto se debió a que, la decantación efectuada como primer paso para facilitar la separación por filtración al vacío, no fue potenciada con ningún agente coagulante o clarificante que pudiera decantar de mejor manera las partículas en suspensión que quedaron en la zona media del recipiente.

La distribución de las concentraciones del nitrógeno y fósforo entre las fases del biol no son congruentes con estudios previos como podemos observar en la figura 4. Esto se debe a la baja eficiencia de separación de las fases.

Se determinó que la fase líquida del biol solo contuvo un 36 % del nitrógeno total. Sin embargo, otros estudios muestran que, bajo un proceso óptimo, la fase líquida suele contener 70-80 % del nitrógeno total. La baja cantidad de nitrógeno del experimento probablemente se debió a la baja eficiencia del proceso de separación, ya que la fase sólida, contenía gran cantidad de líquido que, a su vez albergaba gran cantidad de nitrógeno. De igual manera, el fósforo también tuvo variaciones en los resultados, comparado con otros estudios. Los análisis de fósforo dieron

como resultado que, la fase líquida contenía el 49 % del fósforo total. Una concentración ligeramente más baja que lo que muestran los resultados de otros estudios (50-55 %). La ligera baja de concentración del fósforo en comparación con el nitrógeno se debió a la poca solubilidad en la fase líquida. Por tal motivo, la fase sólida, la misma que retuvo humedad, no impactó de manera relevante en la concentración de dicho nutriente (García, 2016).

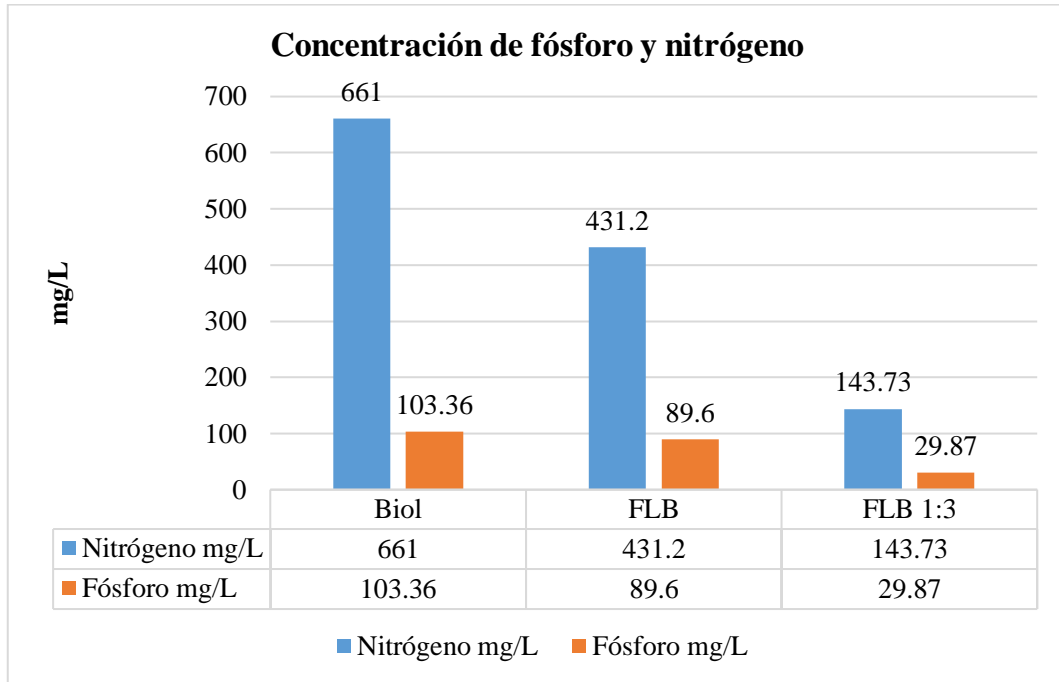


Figura 4. Concentración del fósforo y nitrógeno en el biol, en la fase líquida del biol y FLB 1:3.

Respecto al pH, como observamos en la figura 5, se mantuvo estable en el tiempo, conservando su valor ligeramente básico (valor característico de los bioles). Este valor de pH en el biol es consecuencia tanto de la transformación del CO_2 disuelto en $(NH_4)_2CO_3$, como del consumo de los ácidos grasos volátiles. Si se dan las condiciones necesarias, el pH del biol se mantendrá en ese rango, alcanzando su estabilidad; si el pH decrece, podría ser un indicador de que el amonio se está volatilizand (Drosg *et al.*, 2015).

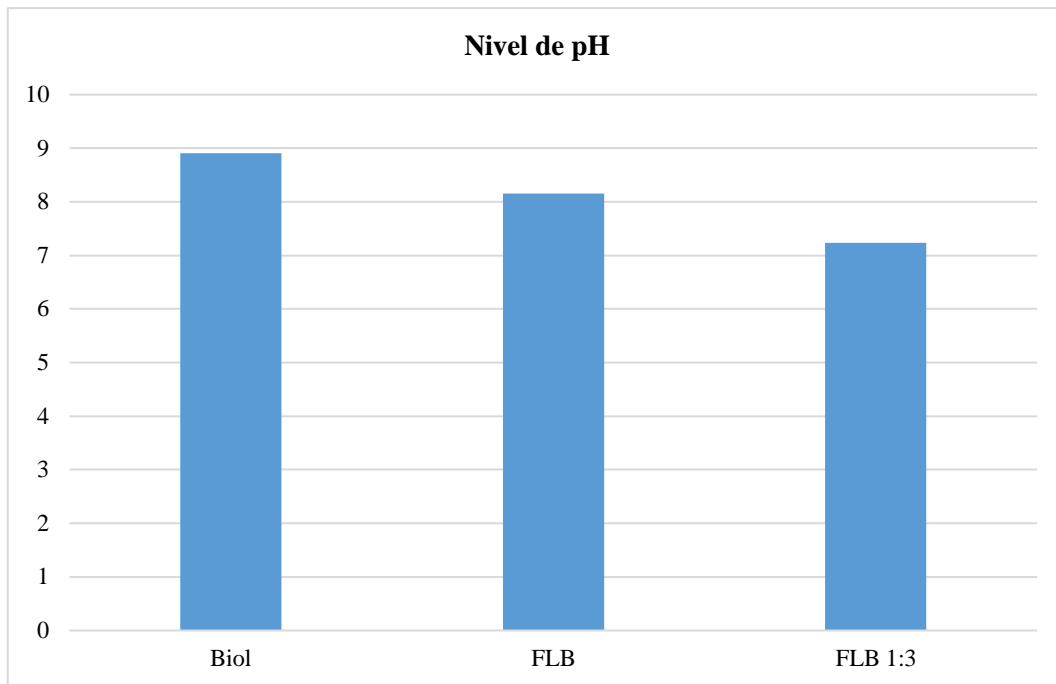


Figura 5. Niveles de pH en el biol, FLB y la FLB 1:3.

La carga microbiológica del biol fue mayor a 1500 colonias (límite superior de colonias en una placa petrifilm-enterobacterias). Los parámetros clave que influyen en la inactivación de un agente patógeno son la temperatura, el tiempo de retención hidráulica y de lodos, interacciones microbiológicas competitivas, composición de la materia prima, pH y la presencia o acumulación de material tóxico (Avery, Yongabi, Tumsweige, Strachan y Goude, 2014). Si bien, la digestión anaeróbica tiene la capacidad de disminuir la carga enteropatógena del sustrato con el que es alimentado, no siempre se llega a un proceso óptimo. Diversos estudios muestran un nivel de supervivencia significativamente alto de enterobacterias, e incluso de coliformes. Esto se debe, principalmente, a que la familia de enterobacterias son anaerobias facultativas, esto quiere decir que, la falta de oxígeno no representa un inconveniente para su supervivencia. Por otro lado, los metabolitos liberados por diversas bacterias en la fermentación anaeróbica, antagónicos para las enterobacterias y las temperaturas a las que llega la digestión anaeróbica, suelen no afectarlos, ya que las partículas sólidas del biol suelen albergar gran cantidad de bacterias, sirviéndoles así, como barrera protectora (Sahlström, 2003).

La fase líquida del digestato obtenido en este estudio tuvo una concentración de 1130 UFC/ml como se muestra en la figura 6. El proceso de separación de fases del biol disminuye la concentración de enterobacterias en la fase líquida, sin embargo, esta reducción no siempre llega a estar en los límites permitidos para su uso agrícola, representando aún un

riesgo a la salud. Los resultados también muestran que, al diluir la fase líquida del biol en una proporción de 2 litros de agua por 1 de biol, se reduce aproximadamente 1/3 de la concentración inicial.

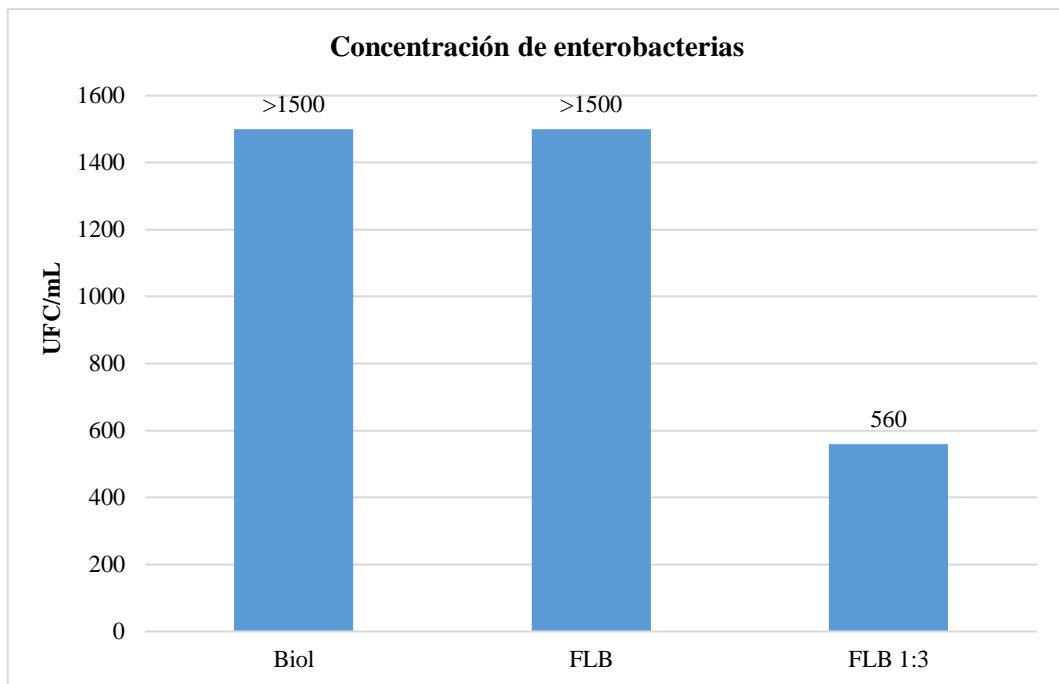


Figura 6. Concentración inicial de enterobacterias en el biol, en FLB y FLB 1:3.

2.18. Diminución de la turbidez de la fase líquida del biol

El biol dio una turbidez incontable para el rango del turbidímetro empleado como vemos en la figura 7, la fase líquida obtuvo 935 NTU, un valor de turbidez excesivo para que la irradiación solar pueda hacer efecto en la inactivación de las enterobacterias. La fase líquida del biol diluida 3:1 tuvo una turbidez de 365 NTU. Estudios anteriores informan de una reducción microbiana por medio de radiación solar hasta 300 NTU. A menor NTU, mayor penetrabilidad de la irradiación solar y mayor efectividad de la inactivación microbiana. La turbidez del digestato es producida por las partículas sólidas que se encuentran suspendidas en él (García, 2010).

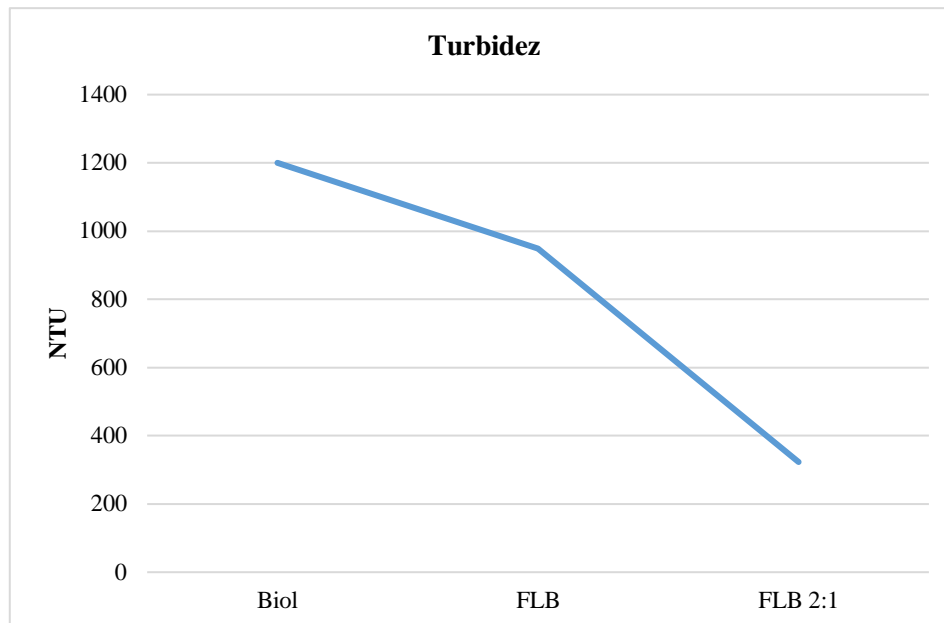


Figura 7. Disminución de la turbidez del biol.

2.19. Prueba preliminar del efecto sinérgico de la radiación solar y el oxígeno atmosférico en la desinfección de la FLD 1:3

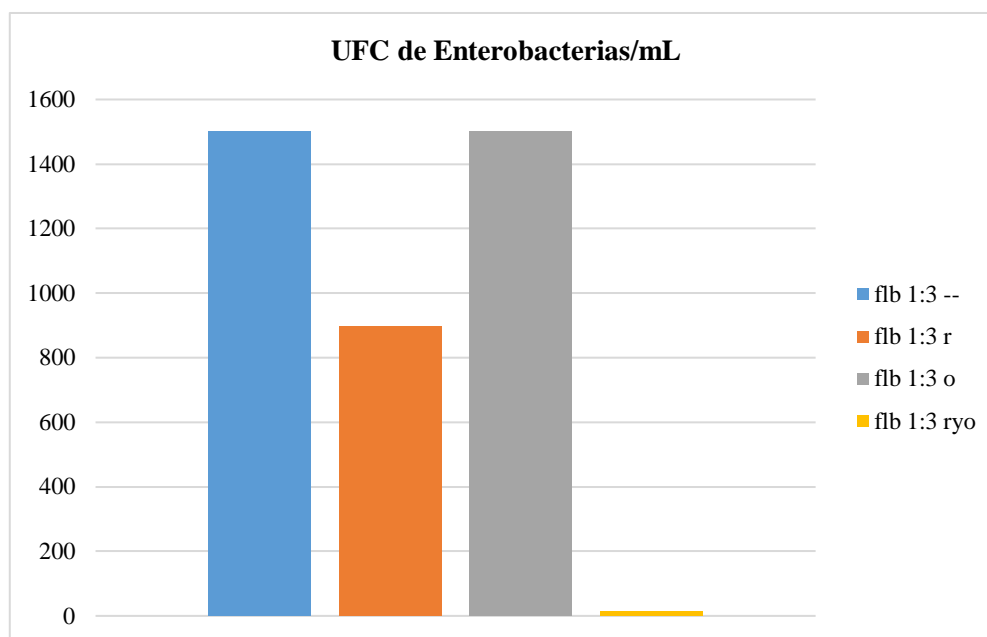


Figura 8. Concentración de Enterobacterias luego del tratamiento preliminar.

Las pruebas preliminares demostraron el efecto sinérgico que poseen la radiación solar y el oxígeno atmosférico para la desinfección de las FLD 1:3 luego de que cada tratamiento sea expuesto durante 24 horas a las condiciones dadas como se aprecia en la figura 8.

Se confirmó que, hay suficiente evidencia estadística para determinar con un 0.05 de significancia que, cada tratamiento tuvo un resultado distinto al otro, siendo el tratamiento combinado de la radiación solar con oxígeno atmosférico el más nocivo.

2.20. Caracterización de las condiciones climatológicas

Los muestreos se realizaron el 12 de diciembre de 2017, pero se tomaron datos meteorológicos hasta el 14 de diciembre de 2017, en el centro meteorológico de la UNALM. El día de experimentación presentó un tiempo soleado con baja nubosidad. El análisis microbiológico y la incubación fueron realizados en la misma universidad, en el laboratorio de fisicoquímica Q5. Las muestras fueron analizadas antes y después de su exposición al sol.

La radiación solar alcanzó su pico a las 13:00 horas con un valor de 884 W/m² mientras que la mayor temperatura se produjo a las 15:00 horas, con 24.6 °C como se muestra en la figura 9. Según Claire (2006), para llegar a una inactivación de coliformes al 100 % en aguas residuales es necesario exponerlos a radiaciones de 5.6 KW/m² con temperaturas entre 24-27 °C.

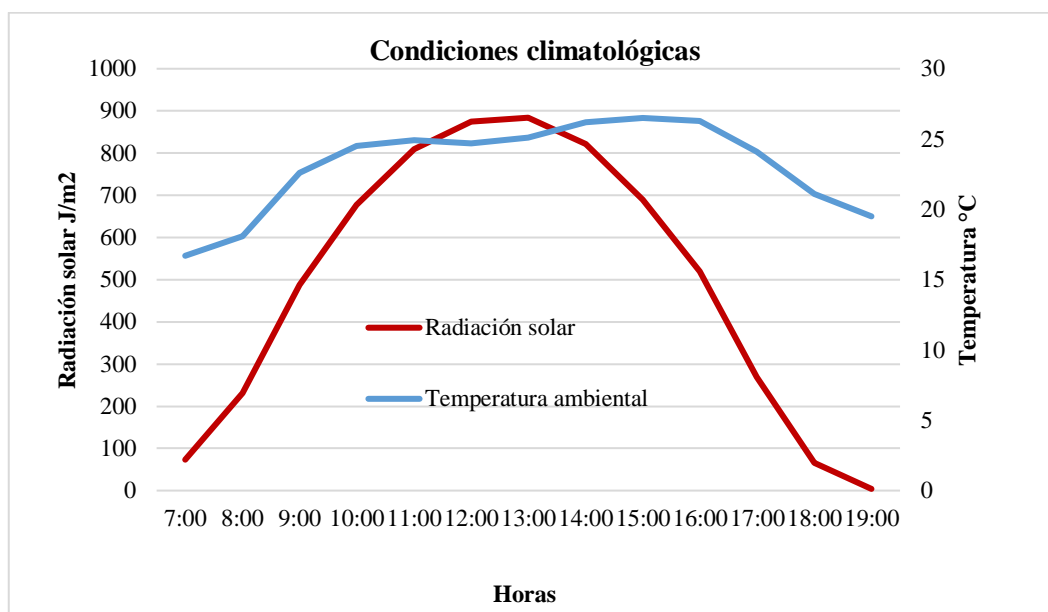


Figura 9. Temperatura atmosférica y radiación solar.

2.21. Determinación fisicoquímica de la FLB 1:3

La temperatura del digestato fue en aumento hasta llegar a los 48 grados. La capacidad de retener el calor y superar la temperatura ambiental se debe a que el capacitador funciona como un invernadero, permitiendo el ingreso de la radiación infrarroja de determinada

longitud de onda, que será absorbida por el digestato. Posteriormente, como cualquier cuerpo, el digestato emanará calor en forma de radiación infrarroja. Debido a la que la radiación emanada poseía una mayor longitud de onda que la que ingresó, esta no pudo salir del capacitador.

Meierhofe y Wegelin (2003) presenta estudios donde que demuestran que el uso de platina para concentrar la radiación solar en el capacitador y cubrirlo de negro con la finalidad de retener mejor el calor en el sistema, permite obtener temperaturas de hasta 65 grados en aguas, para su desinfección solar.

No todos los plásticos permiten el paso de la radiación UV. Luzi, Tobler, Suter y Meierhofer (2016), en la guía de SODIS, recomiendan como captador solar el uso de plástico PET u otro plástico previamente aprobado por algún otro estudio, ya que; la gran mayoría de plásticos, debido a su propia naturaleza o por el hecho de poseer aditivos para no deteriorarse, evitan el paso de la radiación UV. También se recomienda que el líquido a desinfectar no posea una profundidad mayor a 10 cm. El pH se mantuvo en el tiempo como se observa en la figura 10, lo que significó estabilidad en el proceso y que el amonio no se evaporó.

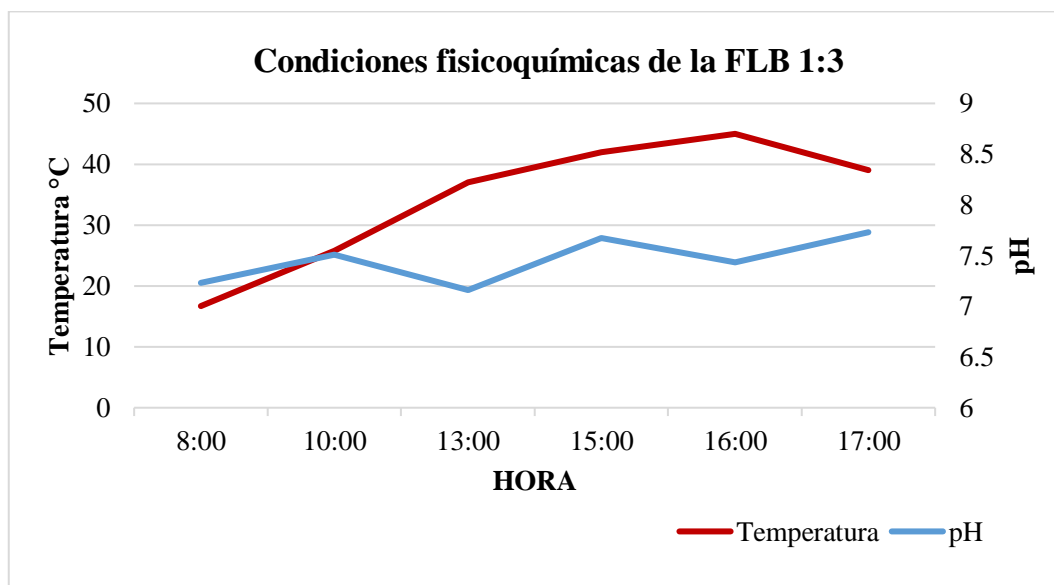


Figura 10. Caracterización fisicoquímica del biol durante el proceso de desinfección solar.

2.22. Cinética de la desinfección de enterobacterias respecto del tiempo de exposición, y cinética de desinfección de enterobacterias respecto al calor acumulado

El presente estudio mostró el efecto de fotoinactividad que ejerce la exposición de la fase líquida del biol a la radiación solar. Luego de ocho horas, la concentración de *Enterobactereaceas* se redujo dos logaritmos, llegando al límite de detección inferior del análisis de detección como se aprecia en la figura 11. Las pruebas de reconstitución bacteriana dieron negativo. Diversos estudios muestran la inactividad de coliformes, *Salmonella*, *Enterococcus* y demás bacterias de importancia sanitaria. El efecto biocida depende principalmente de tres parámetros: el tiempo de exposición solar, los niveles de NTU del líquido a desinfectar y la temperatura. Reportes de varios estudios informan que, el principal efecto de la radiación solar es la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) los cuales oxidan la cadena de ADN, produciendo dímeros de timina que afectan la función de las proteínas y desestabilizan la membrana (Helali, 2012). Baatout menciona que, el principal efecto de las temperaturas altas (30 °C-50 °C) es producido por una desestabilización de la membrana, afectando sus funciones (actividad respiratoria, el transporte, barrera de permeabilidad, etcétera). El efecto sinérgico de la radiación solar y el aumento de la temperatura producen un aumento de la generación de superóxidos en el citosol y mayores efectos sobre las enzimas catalasa y superoxidasa dismutasa (Castro-Alfárez, Polo-López, Marugán y Fernández-Ibáñez, 2017). En la tabla 7 se muestran los valores obtenidos en este estudio para la relación entre las diferentes horas del día y la radiación. Sin embargo, al juntarse las temperaturas elevadas y la radiación solar se produce un efecto sinérgico en la inactivación microbiana, siendo el principal sitio de acción la función de la enzima superoxidasa dismutasa, evitando que la bacteria pueda protegerse de los ROS generados por la radiación solar y las temperaturas altas (Castro-Alfárez *et al.*, 2017).

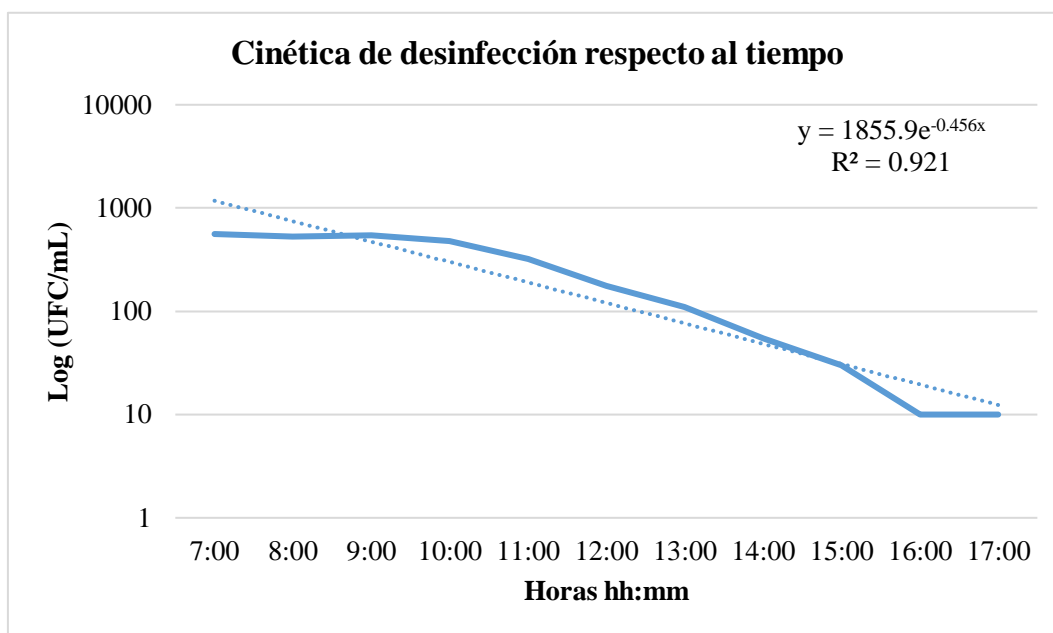


Figura 11. Número de UFC de enterobacterias por ml de biol vs. horas de tratamiento.

Tabla 7: Relación entre hora del día y radiación solar acumulada por litro de biol.

Horas	Q solar W/L
07:00 a. m.	0
08:00 a. m.	8.085
09:00 a. m.	25.165
10:00 a. m.	48.86
11:00 a. m.	77.21
12:00 p. m.	107.835
01:00 p. m.	138.775
02:00 p. m.	167.51
03:00 p. m.	191.625
04:00 p. m.	209.79
05:00 p. m.	219.205
06:00 p. m.	221.48
07:00 p. m.	221.62

Ya que la radiación solar no es un parámetro constante en este experimento, se buscó cuantificarlo de modo que se pueda replicar dichas condiciones y compararlo con otros trabajos de una manera más adecuada.

$$Q_{sol\ n} = \sum_n I_{sol\ n-1} * \frac{A_r}{V_t} (t_n - t_{n-1})$$

2.23. Modelamiento cinético de la desinfección solar de enterobacterias, determinación de los parámetros y formación de la ecuación de la curva

Los datos cinéticos de inactivación celular mostrados en la figura 12 se ajustaron estadísticamente con el modelo log-lineal de la ecuación modificada de Watson-Chick.

De este ajuste se obtienen los parámetros lineales de inactivación $k=0.009$, $a = 0.4$ y $b=-1.74$. También se puede apreciar una mejor comprensión de la relación entre las variables asociadas, para así poder comparar los resultados frente a otros estudios con los mismos parámetros experimentales y que se ajusten al mismo modelo.

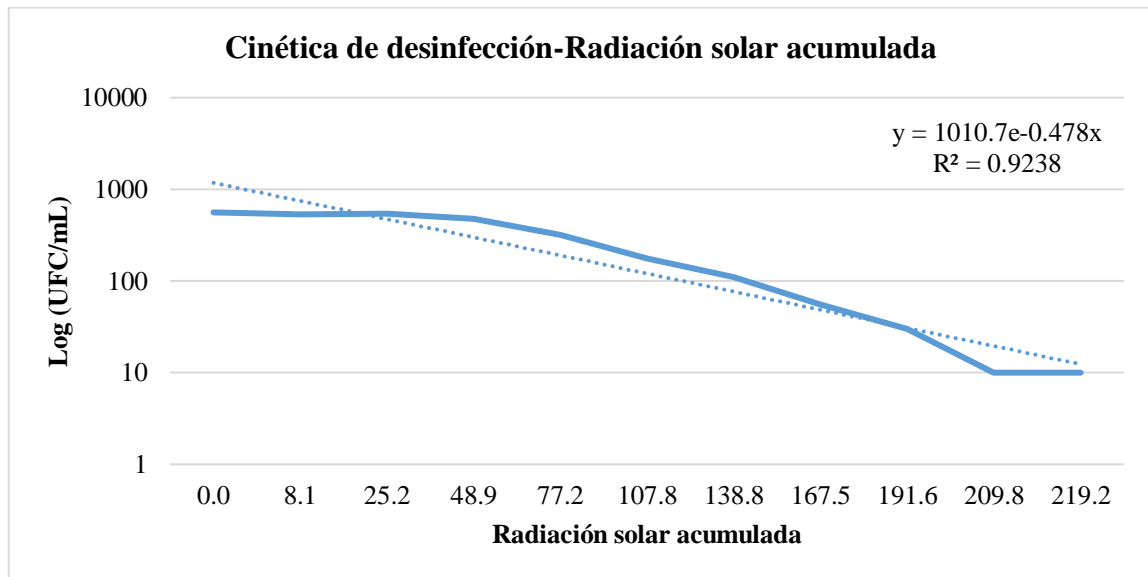


Figura 12. Logaritmo del número de UFC de enterobacterias por ml de biol respecto de la radiación solar acumulada por litro de biol.

Los modelos de inactivación suelen presentar segmentos no lineales al inicio y al final del proceso. La primera región no lineal se denomina hombro, y es un segmento de la curva donde no hay una disminución de la concentración microbiana, indicando que el proceso de desinfección no ha comenzado. La segunda región no lineal suele estar al final y se le denomina cola, es la región donde se alcanzó el máximo punto de desinfección y pese a

transcurrir el proceso de desinfección, la concentración microbiana no cambiará más. En la figura 13, se pueden observar 3 regiones (1 lineal y 2 no-lineales). Dicho comportamiento de la curva puede estar influenciado tanto por las especies microbianas que interactúan en el proceso como los componentes químicos del digestato.

El comportamiento lineal refleja una relación directa entre la dosis de radiación solar acumulada y la inactivación celular.

Existen diversas teorías para explicar la formación de las regiones no-lineales (hombro y cola) (Bevilacqua, Speranza, Sinigaglia y Corbo, 2015):

La formación de hombros en la gráfica puede deberse a:

- La presencia de algún grupo de bacteria resistente al tratamiento.
- Grupo de bacterias que contrarresten los efectos letales.
- El medio protege, hasta cierta medida, a las bacterias.
- Se requiere de la acumulación de lesiones para que el agente letal pueda empezar a inactivar a las bacterias.

La formación de cola en la gráfica de puede deber a:

- Subpoblación bacteriana resistente a la inactivación.
- Población inaccesible al tratamiento
- Población bacteriana no llega a recibir la cantidad de dosis letal.

Las enterobacterias son un grupo extenso de microorganismos, los cuales poseen un metabolismo distinto. La formación de hombro y de cola se puede deber a las distintas dosis que se requiere para cada especie bacteriana presente en el digestato. Por otro lado, también se puede asumir que, la formación de hombro se debe a la necesidad de lesiones acumuladas para que el tratamiento pueda llegar a ser letal, ya que, para que se forme la cantidad necesaria de ROS, por efecto del sinergismo entre las temperaturas ligeramente altas, la radiación solar y el oxígeno atmosférico, debe ocurrir una serie de procesos químicos tanto en el digestato como dentro de cada célula (Castro-Alfárez *et al.*, 2017).

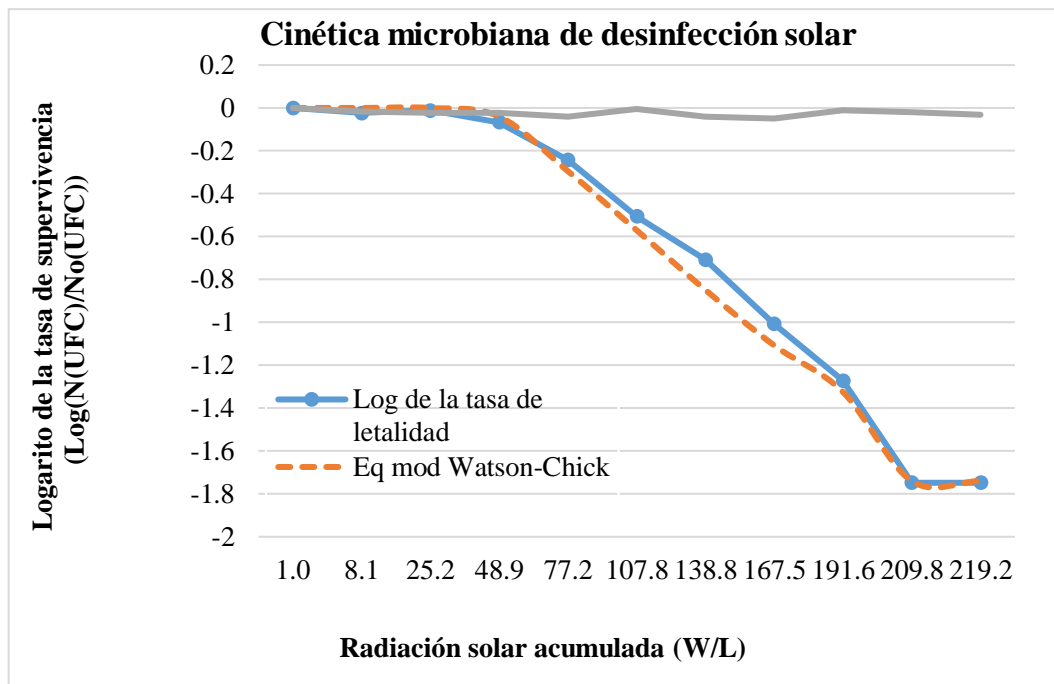


Figura 13. Cinética microbiana de desinfección solar.

Para el presente estudio se utilizó una modificación de la ecuación de Watson-Chick, la cual contempló la presencia de una fase de latencia tipo hombro y una fase terminal tipo cola.

$$\text{Log}(N/N_0) = \begin{cases} 0, & Q_{SOL} \leq Q_1 \\ a - k \times Q, & Q_{SOL} \geq Q_1 \end{cases}$$

Donde a y k son parámetros de ajuste de la región lineal del modelo de la ecuación modificada de Watson-Chick que observamos en la tabla 8, y b es el logaritmo de la tasa de letalidad máxima a la que se llegó con el tratamiento.

Tabla 8: Parámetros de la cinética de fotoinactivación de enterobacterias en biol.

K	Parámetro		Coef. R ²
	a	b	
0.009	0.4	-1.74	0.99

V. CONCLUSIONES

- Al separar las fases del biol se obtuvo un volumen de la fase líquida del 56 % con respecto del volumen total. La teoría nos muestra que, un eficiente proceso de separación de fases obtiene como volumen final de la fase líquida el 80-90 %. Por lo tanto, se puede concluir que, la separación de las fases por medio de sedimentación y una posterior filtración al vacío con una membrana de 5 micras de diámetro de poro no es eficiente.
- La fase líquida del biol contuvo un 36 % y 49 % del nitrógeno y fósforo total. Estudios previos demostraron un eficiente proceso de separación de fases del biol en la fase líquida de 70 y 55 % de nitrógeno y fósforo, respectivamente. En consecuencia, es de esperar que la mala separación de las fases haya producido una atípica repartición de los nutrientes.
- La separación de las fases disminuyó en gran medida la turbidez del biol. Pese a que el proceso de separación no fue del todo eficiente, se llegó a remover la cantidad de sólidos necesarios para que con una dilución posterior de la fase líquida del biol de 1:3 con agua destilada alcanzara la cantidad de NTU necesarias para un proceso óptimo de fotoinactivación solar de las enterobacterias nativas.
- El presente estudio demostró que, el oxígeno a nivel atmosférico, por sí solo no inactiva a las Enterobacterias nativas del biol. También se demostró que, la radiación solar sin presencia de oxígeno no produce una inactivación relevante. Por otro lado, al exponer al biol al oxígeno de la atmósfera y a la radiación solar se obtuvo un alto nivel de desinfección. Se presume que estos factores ambientales interactúan de manera sinérgica, promoviendo la formación de especies reactivas del oxígeno en biol, inactivando a las enterobacterias nativas.
- Se demostró por medio de la estación meteorológica Davis que, las condiciones atmosféricas eran las indicadas para que se pudiera realizar la desinfección solar de Enterobacterias en el biol de manera satisfactoria, con una temperatura máxima de 28 °C y una radiación máxima de 884 W/m².

- El tratamiento de desinfección solar no demostró afectar las propiedades fisicoquímicas características del biol, manteniendo estable su pH y sin sobrepasar las temperaturas de 60 °C.
- El estudio concluyó que, a las condiciones expuestas, el biol pudo ser sanitizado con éxito para su uso como abono agrícola. El efecto de letalidad empezó al recibir 48 J/L de calor acumulado, siguiendo una cinética de fotoinactivación microbiana de primer orden y alcanzado el límite de detección al recibir 209 W/l de calor acumulado.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios con sistema de captación solar (fotoreceptores) que aprovechen mejor la irradiación solar circunglobal optimizando el calor que puede llegar a generar los rayos solares que impactan cerca al biol a tratar y a la radiación que emana la tierra.
- También se recomienda evaluar la desinfección solar con una mayor concentración de NTU del biol, con el rango 600-900, con el fin de determinar la muerte celular de Enterobacterias en biol a una menor dilución.
- Mejorar la eficiencia de la separación de las fases líquidas y sólidas con tecnologías más sofisticadas, dando una fase líquida con una menor turbidez y así evitar diluir la fase líquida del biol. La fase sólida obtenida tendría una mayor concentración de fosforo y la fase líquida tendría una mayor concentración de nitrógeno.
- Se recomienda, por último, diseñar un sistema de captación solar que pueda aumentar la superficie de contacto del biol con la radiación solar a la que es expuesta, una posibilidad podría ser por medio de sistemas tubulares, disminuyendo la proporción de volumen por área superficial.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Ashbolt, N., Grabow, W. & Snozzi M. (2001). Indicators of microbial water quality. En Fewtrell L. y Bartram J. (Ed.), *Water quality: Guidelines, standards and health – Assessment of risk and risk management for water-related infectious disease*. (pp. 289-315). London, United Kingdom: IWA Publishing.
- Avery, L., Yongabi, K., Tumsweige, V., Strachan, N. & Goude, P. (2014). Potential for Pathogen reduction in anaerobic digestion and biogas generation in Sub-Saharan Africa. *Biomass and Bioenergy*, 30, 1-13. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/260994304_Potential_for_Pathogen_reduction_in_anaerobic_digestion_and_biogas_generation_in_Sub-Saharan_Africa
- Barrantes, K., Achí, M., Bolaños, S., Cerdas, M. & Cortés, X. (2012, marzo). Calidad microbiológica y aislamiento de *Shigella Flexneri* en vegetales frescos del Área Metropolitana de Costa Rica, 2001-2002. *Revistas Académicas*. Recuperado de <http://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/13390/1635-2454-2-PB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bevilacqua, A., Speranza, B., Sinigaglia, M. & Corbo, M. (2015). *A Focus on the Death Kinetics in Predictive Microbiology: Benefits and Limits of the Most Important Models and Some Tools Dealing with Their Application in Foods*. doi: 10.3390/foods4040565
- Blanco, L. (2016). *Análisis y caracterización de purines para la obtención de estruvita y biogás*. Valencia (tesis de pregrado). Recuperado de https://m.riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/71857/48587893W_TFG_14733867190452810241282594269288.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- Bonetta, S., Ferretti, E., Bonetta, S., Fezia, G. & Carraro, E. (septiembre, 2015). Agricultural Reuse of the Digestate from Anaerobic Co-Digestion of Organic Waste: Microbiological Contamination, Metal Hazards and Fertilizing Performance. *Iris AperTO*, 53(5), 552-7. Torino, Italia: Editorial Manager® doi: 10.1111/j.1472-765X.2011.03148

- British Standards Institution. (2010). *Specification for whole digestate, separated liquor and separated fibre derived from the anaerobic digestion of source-segregated biodegradable materials*. London, United Kingdom. Recuperado de https://isabel-project.eu/wp-content/uploads/PAS110_vis_10.pdf
- Brock, T. (1978). *Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperatures*, New York, United States: Springer-Verlag.
- Cabeza, E. (2011). *Fundamentos de microbiología predictiva: aplicaciones teóricas y prácticas*. Pamplona, Colombia: Universidad de Pamplona.
- Calderón, C. (2015). *Diseño de un biodigestor tubular para obtener biogas a partir de residuos orgánicos del ganado vacuno generados en la Hacienda Santa Mónica "Guamote"* (tesis de pregrado). Recuperado de <https://core.ac.uk/download/pdf/234580024.pdf>
- Calderón, J. (2017). *Ajuste de un modelo cinético para el crecimiento de Lactobacillus acidophilus en la fermentación de un sustrato complejo* (tesis de pregrado). Recuperado de <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/6598/1/6121940-2017-2-IQ.pdf>
- Cañote, V. (2012). *Determinación y comparación de la producción de biogás de mezclas de estiércol de vacuno y porcino* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Carrillo, E. & Lozano C. (2008). *Validación del método de detección de Coliformes totales y fecales en agua potable utilizando agar chromocult* (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Castillos, A.C. (2011). *BIOGAS - Construcción y funcionamiento de biodigestores plásticos de flujo continuo*. Colonia, Uruguay: Proyecto Colonia Integra. Recuperado de <https://sgp.undp.org/publications-188/312-biogas-construccion-y-funcionamiento-de-biodigestores-plasticos-de-flujo-continuo-ppd-uruguay-edicion-2011/file.html>
- Castro-Alfárez, M., Polo-López, M., Marugán, J. & Fernández-Ibáñez, P. (2017). Mechanistic modeling of UV and mild-heat synergistic effect on solar water disinfection. *Chemical Engineering Journal*, 316, 111–120.

- Claure, M. (2006). *Validación del Método SODIS como alternativa para la Desinfección del Agua en la Ciudad de Catacamas, Departamento de Olancho* (tesis de pregrado). Recuperado de: <http://hdl.handle.net/11036/5685>
- Corona, I. (2007). *Biodigestores* (tesis de pregrado). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Hidalgo, México.
- Downes, A. & Blunt, T. (1877). *Researches on the Effect of Light upon Bacteria and other Organisms. A rare original article from the Proceedings of the Royal Society of London*. London, United Kingdom: Proceedings of the Royal Society of London.
- Drosg, B. (2013). *Process monitoring in biogas plants*. Recuperado de https://www.ieabioenergy.com/wp-content/uploads/2013/12/Technical-Brochure-process_monitoring.pdf
- Drosg, B., Werner F., Seadi, T., Madsen, M. & Linke, B. (2015). *Nutrient Recovery by Biogas Digestate Processing*. Recuperado de http://task37.ieabioenergy.com/files/daten-redaktion/download/Technical%20Brochures/NUTRIENT_RECOVERY_RZ_web1.pdf
- Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua (Decreto Supremo N°002-2008-MINAM) (2008, 30 de julio). *Ministerio del Ambiente, Diario El Peruano, XXV – N°10311, 2008, 31, julio*.
- Fernández, A. & Sánchez-Osuna M. (2007). *Guía para la gestión integral de los residuos sólidos urbanos*. La Habana, Cuba: Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial [ONUDI].
- Gagliano, M. & Litter, M. (2003). Desinfección solar de aguas de Los Pereyra (Tucumán) y del Río de La Plata. En M. Litter y H. Mansilla. (Ed.), *Desinfección solar de aguas en comunidades rurales de América Latina* (pp. 13-28). La Plata, Argentina: Digital Grafic.
- Ganyu, G., Jiahuai, H., Cevallos-Cevallos, J. M., Richardson, S., Bartz, J. & van Bruggen, A. (2011). Internal colonization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in tomato plants. *PLoS One*, 6(11). doi: 10.1371/journal.pone.0027340
- García, M. (mayo, 2016). Estrategias tecnológicas para el tratamiento de las deyecciones ganaderas. En Escuela Politécnica Superior Universidad de Zaragoza. *Soluciones*

técnicas para los purines en el sector porcino. Simposio llevado a cabo en el XXVII Jornadas de Ciencia y Tecnología, Zaragoza, España.

García, R. (2010). *Energía solar para la inactivación de microorganismos presentes en efluentes contaminados* (tesis de maestría). Recuperado de <http://cdigital.dgb.uanl.mx/te/1080194736.PDF>

Garrity, G., Bell, M. & Lilburn, T. (2004). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Taxonomic outline of the Prokaryotes*. New York, U.E.: Springer.

Garrity, G., Brenner, D., Krieg, N. & Staley, J. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria*. New York, U.E.: Springer.

Gatti, M. (2015). *Studio delle problematiche sanitarie in alcuni impianti a biogas alimentati con sottoprodotti di origine animale* (tesis de pregrado). Azienda Sanitaria Locale, Piemonte, Italia.

Gibert, M. (2010). *Detección y caracterización de aislados de escherichia coli de origen clínico y fecal en gallinas ponedoras*. Recuperado de <https://www.visavet.es/data/tesis/deteccion-y-caracterizacion-de-aislados-de%20Escherichia-coli-de-origen-clinico-y-fecal-en%20gallinas-ponedoras.pdf>

GOV.UK. (2014a). *Guidance Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: acute trusts toolkit*. United Kingdom: Public Health England.

GOV.UK. (2014b). *Guidance Using animal by-products at compost and biogas sites*. United Kingdom: Department for Environment, Food & Rural Affairs and Animal and Plant Health Agency.

Granados, R. & Villaverde, M. (1997). *Ciencia de la salud microbiología tomo 1 bacteriología, características y clasificación bacteriana virología. Características y técnicas bioquímicas*. Madrid, España: Ediciones Paraninfo.

Guevara, A. (1996). *Fundamentos básicos para el diseño de biodigestores anaeróbicos rurales. Producción de gas y saneamiento de efluentes*. Lima, Perú: CEPIS.

Hernández, F. (2015). *Biogás: 10 casos de éxito en el sector industrial*. Recuperado de https://books.google.com.pe/books?id=-1TiBAAAQBAJ&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

- Herrero, M.A. & Gil, S. (2008). Consideraciones ambientales de la intensificación en producción animal. *Ecología Austral*, 18, 273-289.
- Helali, S. (2012). *Aplicación de fotocatalisis para la degradación de contaminantes químicos y bacteriológicos en agua mediante catalizadores irradiados por fotones de luz natural o artificial (UV-A / UV-B)* (tesis doctoral). Escuela de Doctorado en Química del Instituto Nacional de Ciencias Aplicadas Lyon, Villeurbanne, Francia.
- Hummel, A. (2014). *Implementación parcial de buenas prácticas pecuarias en la producción de cerdos e implementación de un sistema piloto de biodigestión en el Parque Porcino de Ventanilla* (tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2314/E21-H85-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Hussain, A. Arif, S. & Aslam, M. (2017). Emerging renewable and sustainable energy technologies: State of the art. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 71, 12-28.
- Iañez, E. (1998). *Acción de los agentes físicos sobre las bacterias*. Recuperado de http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/18_micro.htm#arriba.
- Intendencia Montevideo. (2014). *Importancia de los coliformes en los alimentos*. Recuperado de <https://montevideo.gub.uy/areas-tematicas/salud/regulacion-alimentaria/importancia-de-los-coliformes-en-los-alimentos>
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods [ICMSF]. (1972). *Significado de los microorganismos y de sus toxinas en los alimentos*. Toronto, Canadá: Universidad de Toronto.
- Ley General de Residuos Sólidos (Ley N° 27314) (2000, 20 de julio). *Congreso de la República, Diario El Peruano*, XVIII – N°7332, 2000, 20, julio.
- López, N. (2009). *Propuesta de un programa para el manejo de los residuos sólidos en la plaza de mercado de Cerete-Córdoba* (tesis de maestría). Recuperado de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/6132/tesis64.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Lukehurst C., Frost P. & Seadi T. (2010). *Utilisation of digestate from biogas plants as biofertiliser*. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Peter-Frost-7/publication/228367700_Utilisation_of_digestate_from_biogas_plants_as_biofertiliser

ser/links/00b7d52ca7ca1f381a000000/Utilisation-of-digestate-from-biogas-plants-as-biofertiliser.pdf

- Luzi, S., Tobler, M., Suter, F. & Meierhofer, R. (2016). *SODIS manual Guidance on solar water disinfection*. Dübendorf- Switzerland: Eawag. Recuperado de https://www.sodis.ch/methode/anwendung/ausbildungsmaterial/dokumente_material/sodismanual_2016.pdf
- Mariscal, G. (2007). Tratamiento excretas cerdos. En *Reporte de la Iniciativa de la Ganadería, el Medio Ambiente y el Desarrollo (LEAD)*. En Departamento de Agricultura de la FAO. *Integración por Zonas de la Ganadería y de la Agricultura Especializadas (AWI) - Opciones para el Manejo de Efluentes de Granjas Porcícolas de la Zona Centro de México*. Capítulo 7. Recuperado de: www.fao.org/wairdocs/LEAD/X6372S/x6372s08.htm.
- Márquez-Bravo, L. (octubre de 1998). Desinfección solar. *Simposio CEPIS sobre "Calidad del agua, desinfección efectiva*, Lima, Perú.
- Martínez, C. & Francesena, Y. (2018). Tratamiento y utilización de efluentes instalaciones de biogás como abonos orgánicos, revisión y análisis. *Centro Agrícola*. 45(2), 83-92. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852018000200012&script=sci_abstract&tlng=es
- Matthews, C. (29 de noviembre de 2006). La ganadería amenaza el medio ambiente. *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO] Sala de Prensa*. Recuperado de <http://www.fao.org/newsroom/es/news/2006/1000448/index.html>
- McGuigan K., Conroy R., Mosler H., du Preez, M., Ubomba-Jaswa, E. & Fernandez-Ibañez, P. (2012). Solar water disinfection (SODIS): a review from bench-top to roof-top. *J Hazard Mater*. 29(46), 235-236. doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.07.053
- Meierhofer, R. y Wegelin, M. (2003). *Desinfección Solar del Agua*, Lima, Perú: Indearth S.A.C.
- Méndez, E. (2008). *Correlación entre la presencia de microorganismos indicadores de higiene y grupos de patógenos de E. coli determinados por PCR en ensaladas de verduras crudas* (tesis de pregrado). Recuperado de

<http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/556/Correlacion%20entre%20la%20presencia%20de%20microorganismos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Ministerio de Energía [MINENERGIA], Programa de Desarrollo de las Naciones Unidas [PNUD], Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO] y Fondo Mundial para el Medio Ambiente [GEF]. (2011). *Manual de biogás*. Santiago de Chile, Chile: Proyecto CHI/00/G32. Recuperado de <http://www.fao.org/3/as400s/as400s.pdf>

Ministerio de Trabajo y Promoción del Empleo [MTPE]. (2018). *Mejora de las condiciones de vida de las familias porcicultoras del Parque Porcino de Ventanilla, mediante un sistema de biodigestión y manejo integral de residuos sólidos y líquidos, Lima – Ventanilla, Perú*. Recuperado de <http://sial.segat.gob.pe/download/file/fid/82534>

Monlau, F., Sambusiti, E., Ficara, A., Aboulkas, A., Barakat & Carrère, H. (2015). New opportunities for agricultural digestate valorization: current situation and perspectives. *Energy & Environmental Science* (8), 2600-2621. Recuperado de <https://doi.org/10.1039/C5EE01633A>

Morales, R., Rebatta, M., Lucas, J., Mateo, J. & Ramos, D. (2014). Caracterización de la crianza no tecnificada de cerdos en el parque porcino del distrito de Villa el Salvador, Lima-Perú. *Salud Y Tecnología Veterinaria*, 2(1), 39-48. <https://doi.org/10.20453/stv.v2i1.2206>

Muñoz, B. (15 de febrero de 2016). Autoridades firman ampliación en áreas de trabajo. *Gaceta Molinera*. Recuperado de <http://www.lamolina.edu.pe/Gaceta/edicion2016/notas/nota031.htm>

Obaya. (1991). Lodos anaerobios termófilos del proceso UASB III. Uso del metanol para su adaptación. *Revista ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar*, 25(3), 33-38.

Olaya, Y. & González, L. (2009). *Fundamentos para el diseño de biodigestores-Módulo para la asignatura de Construcciones Agrícolas*. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

Olvera, D. (2007). *Frecuencia y comportamiento de Salmonella y microorganismos indicadores de higiene en jugo de zanahoria* (tesis de pregrado). Recuperado de <https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/11145/Frecuen>

cia%20y%20comportamiento%20de%20salmonella%2c%20y%20microorganismos%20indicadores%20de%20higiene%20en%20jugo%20de%20zanahoria.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Ortega, I. (2014). *Comparación de métodos de cuantificación de bacterias lácticas expuesta a estrés y durante su desarrollo en salchichas* (tesis de pregrado). Universidad Autónoma de Querétaro, Santiago de Querétaro, México.

Orrego, R. (2011). *Biodigestores en el Perú: Guía de principales experiencias desarrolladas en el país*. Lima, Perú: Dirección General de Competitividad Agraria – Ministerio de Agricultura [MINAG].

Pan American Health Organization [PAHO]. (1995). *Revision of the WHO guidelines for drinking-water quality: Report of a coordination group consultation*. Institutional Repository for Information Sharing. Recuperado de <https://iris.paho.org/handle/10665.2/44539>

Parte, A. (2018). LPSN – List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (bacterio.net), 20 years on. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(6), 1825-1829. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002786>

Pell-Frischmann Consultants Ltd. (2012). *Enhancement and treatment of digestates from anaerobic digestion*. Recuperado de: https://www.researchgate.net/profile/Houda_Kawas/post/I_would_like_to_know_if_anyone_has_already_performed_the_biogas_treatment_with_the_digestate_liquid/attachment/59d6518179197b80779aa01e/AS%3A507679534534656%401498051641594/download/Digestates+from+Anaerobic+Digestion+A+review+of+enhancement+techniques+and+novel+digestate+products_0.pdf

Pérez, C. (2017). *Comparación del efecto fertilizante de productos derivados del digestato obtenido en la digestión anaeróbica de residuos de supermercados* (tesis de maestría). Recuperado de https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/43744/TFM_CristinaPerezMata.pdf?sequence=3&isAllowed=y

PSE PROBIOGAS. (2009). *Manual de estado del arte de la codigestión anaerobia de residuos ganaderos y agroindustriales (2ed)*. Asturias: Universidad de Oviedo. Recuperado de

[http://213.229.136.11/bases/ainia_probiogas.nsf/0/BB168DB006FAEAF1C12575380034D3DC/\\$FILE/Manual%20de%20Estado%20del%20Arte%20V2_\(23-11-2009\).pdf](http://213.229.136.11/bases/ainia_probiogas.nsf/0/BB168DB006FAEAF1C12575380034D3DC/$FILE/Manual%20de%20Estado%20del%20Arte%20V2_(23-11-2009).pdf)

PSE PROBIOGAS. (2011). *Guía de utilización agrícola y de los materiales digeridos por biometanización*. Murcia, España: Tipografía San Francisco S.A.

Ré, L. & Morales, V. (2011). *Manual del curso-taller El Biodigestor familiar tubular*. Cusco, Perú: Red Inti. Recuperado de https://www.minagri.gob.pe/portal/download/pdf/especiales/bioenergia/cusco_cedepac/presentacion_biogas_tubular-vladimir_morales.pdf

Reyes, S. (2001). *Introducción a la meteorología*. Baja California, México: Universidad Autónoma de Baja California

Romero, M. (junio, 2010). Proceso de eutrofización de afluentes y su prevención por medio de tratamiento de efluente. *Revista Ingeniería Primero*. Recuperado de http://www.fgsalazar.net/LANDIVAR/ING-PRIMERO/boletin17/URL_17_AMB02_TRATAMIENTO.pdf

Sahlström L. (2003). A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. *Bioresour Technol*, 87(2), 161-6. doi: 10.1016/s0960-8524(02)00168-2

Schüsseler, P. (2009). Resultados de la discusión y resumen (traducido del alemán). En Fachgespräche, G. (Ed). *Procesamiento de digerido para el cultivo de plantas: estado y necesidades de I+D* (traducido del alemán) (pp. 160-165). Gülzow, Alemania: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR).

Scott, H. (Ed.). (2001). *Elements of Chemical Reaction Engineering*. New Jersey, U. S.: Prentice-Hall.

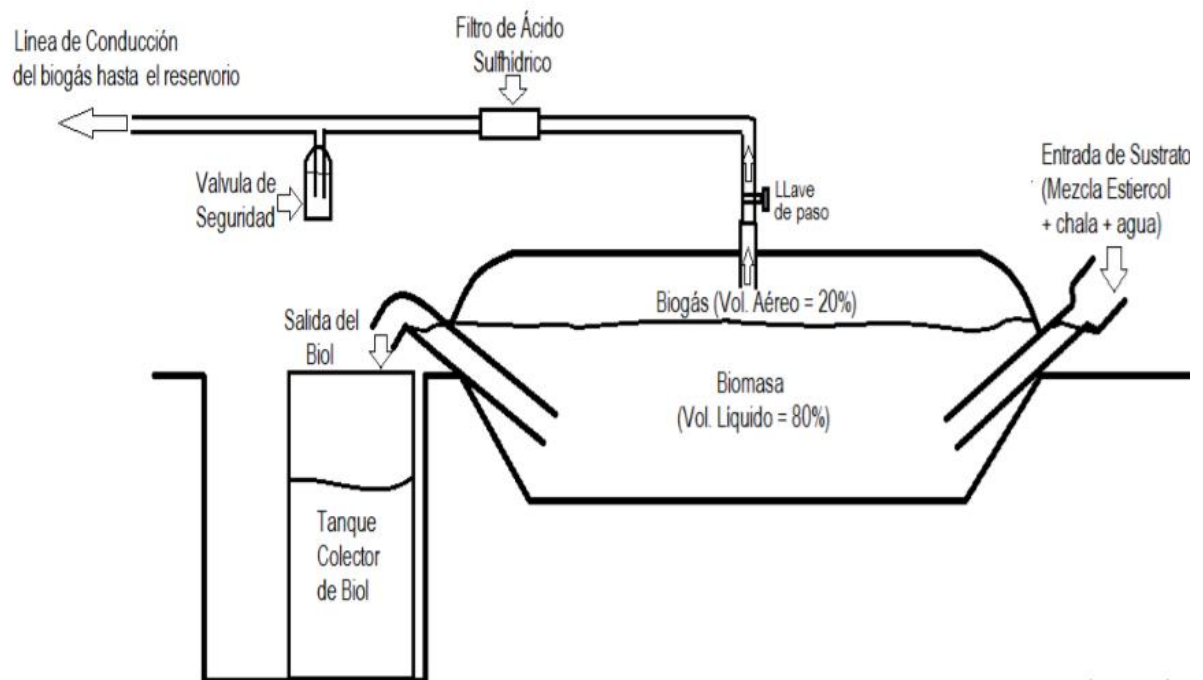
Solomon E., Yaron S. & R. Matthews, K. (2002). Transmission of Escherichia coli O157:H7 from Contaminated Manure and Irrigation Water to Lettuce Plant Tissue and Its Subsequent Internalization. *Appl Environ Microbiol*, 68(1), 397-400. doi: 10.1128/aem.68.1.397-400.2002

Soria, M., Ferrera, R., Etchevers, J., Alcántar, G., Santos, T., Borges, L. & Pereyda, G. (2001). Producción de biofertilizantes mediante biodigestión de excreta líquida de cerdo. *Terra Latinoamericana*, 19(4), 353-362. Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57319408>

- Soto, G. & Meléndez, G. (2004). Hoja técnica N° 48 - Cómo medir la calidad de los abonos orgánicos. *Manejo integrado de plagas y agroecología* (72), 91-97. Recuperado de <http://repositorio.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/318/A1909E.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sun L., Pope P., Eijssink V. & Schnürer A. (2015). Characterization of microbial community structure during continuous anaerobic digestion of straw and cow manure. *Microb Biotechnol*, 8(5):815-27. doi: 10.1111/1751-7915.12298
- Trémier, A., Déchaux, C., Mikkelsen, M., Seghetta, M. & Maiken Thomsen. (2013). Post-treatment of digestate from farm and collective biogas plants: What about eco-efficiency and nutrient recycling?. *Science for the Environment*, 17.
- United States Environmental Protection Agency [EPA]. (2015). *Efectos de la radiación UV en la salud*. Recuperado de <https://espanol.epa.gov/espanol/efectos-de-la-radiacion-uv-en-la-salud>
- United States Environmental Protection Agency [EPA]. (24 de septiembre, 2018). Preguntas frecuentes acerca de biosólidos. Recuperado de <https://www.epa.gov/biosolids/frequent-questions-about-biosolids>
- Universidad de Chile. (1990). *Aprovechamiento racional de desechos orgánicos* (1). Recuperado de <http://bibliotecadigital.fia.cl/handle/20.500.11944/145136>
- Vargas, L. (1992). *Los biodigestores, alternativa de tratamiento para residuos pecuarios* (tesis pregrado). Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia.
- Vásquez, G. (2003). La Contaminación de los Alimentos, un Problema por Resolver, *Revista Salud UIS*, 35(1), 48-57.
- Willey, J., Sherwood, L. & Woolverton, C. (2011). *Prescott's Principles of Microbiology*. New York, United States: The McGraw-Hill.
- Yarce, C. (2013). Microbiología predictiva: una ciencia en auge. *Inge@UAN*, 3(6), 31-43.
- Yuste, J. & Capellas, M. (junio, 2009). Reuniones y congresos. En J. Rodríguez (presidencia). Métodos rápidos de automatización en microbiología alimentaria llevado a cabo en el XVII workshop sobre Métodos rápidos, Barcelona, España.
- Zaratti, F. & Forno, R. (2003). Radiación ultravioleta en Bolivia. *U.M.S.A. (1)*, 45-49. La Paz, Bolivia.

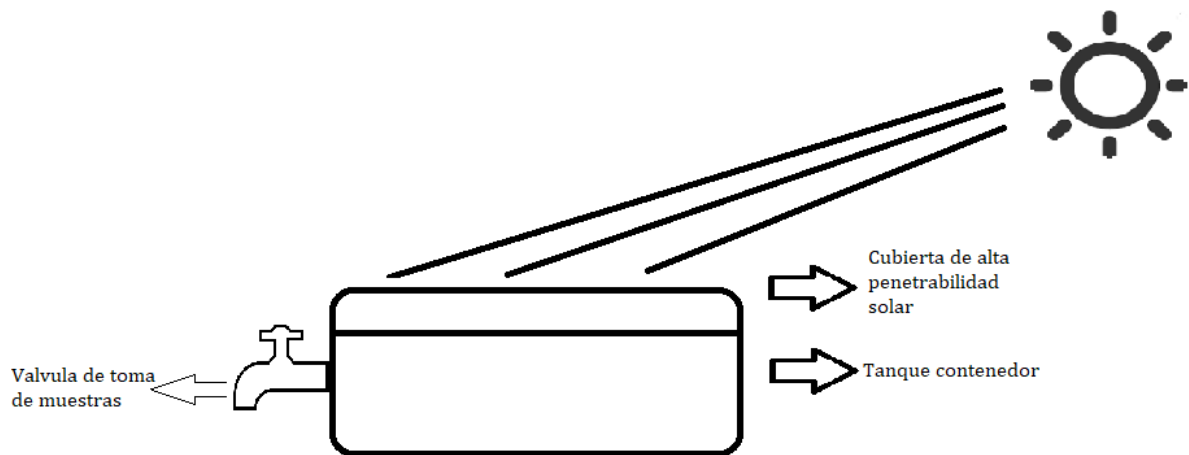
VIII. ANEXOS

Anexo 1. Diseño del biorreactor y del captador solar

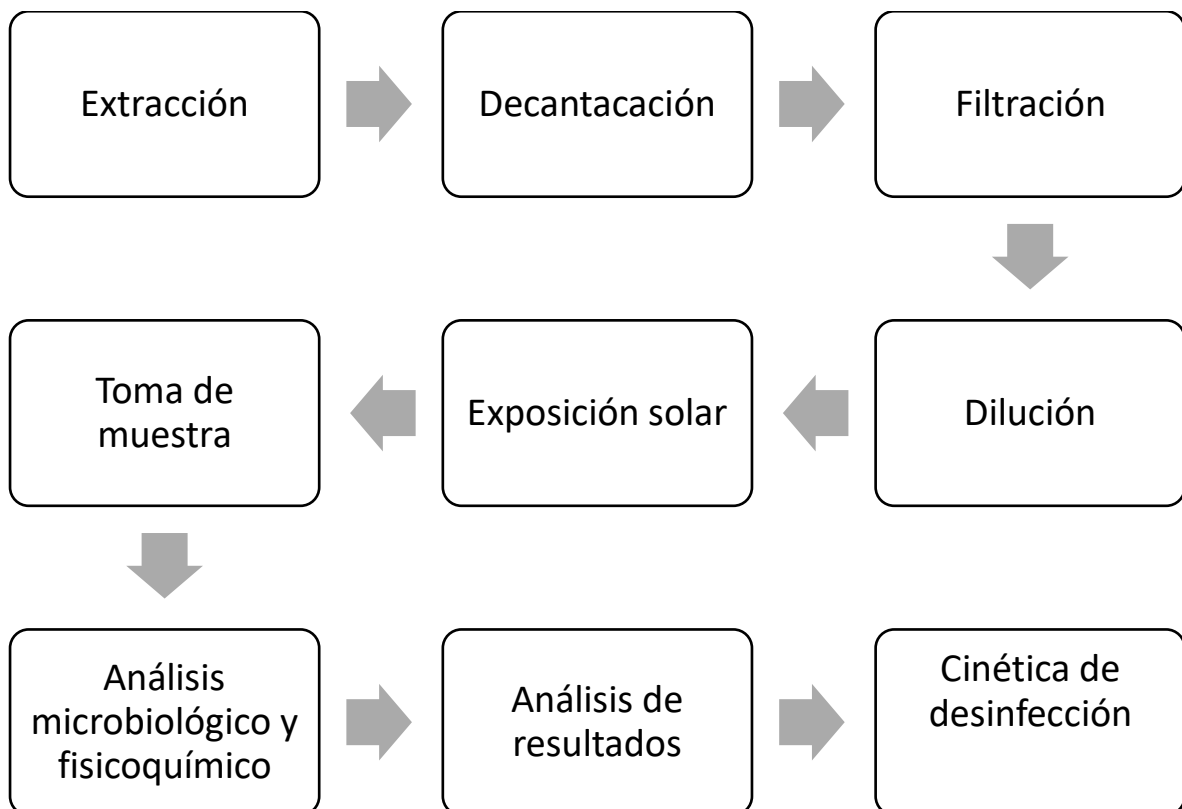


Nota: Imagen recuperada de Cañote (2012).

Anexo 2. Diagrama del flujo del proceso



Anexo 3. Diagrama del flujo de actividades

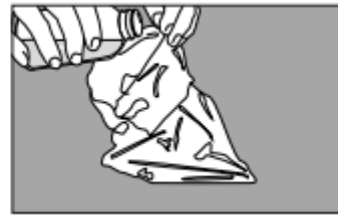


Anexo 4. Flujo de trabajo para el análisis microbiológico de las muestras

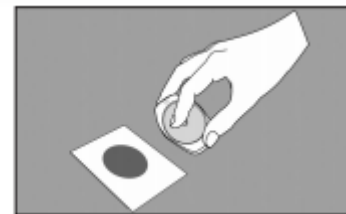
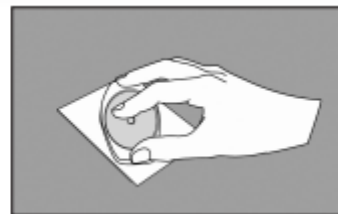
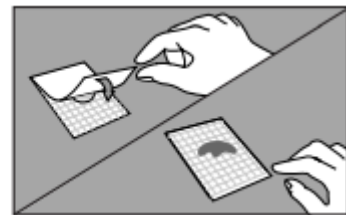
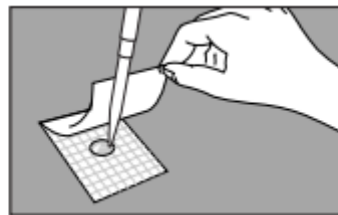
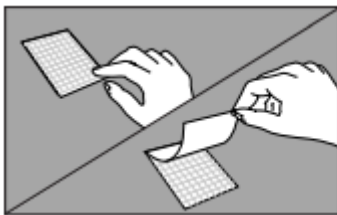
Almacenamiento:



Preparación de la muestra:



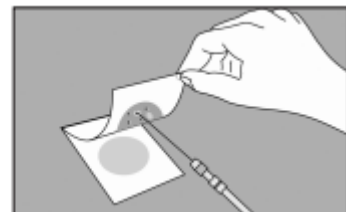
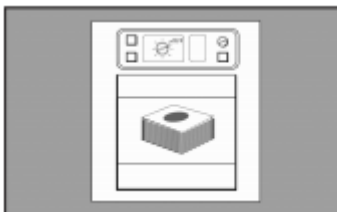
Inoculación



Incubación

Interpretación

Recuento



Anexo 5. Recuento de Enterobacterias con halo amarillo y/o burbujas asociadas a las colonias.



Nota: Elaborado en base al 3M.

Anexo 6. Resultados de análisis fisicoquímico del biol filtrado

MATERIA ORGÁNICA

SOLICITANTE : ISRAEL BELLATIN FORONDA
PROCEDENCIA : LIMA
MUESTRA DE : BIOL
REFERENCIA : H.R. 62002
BOLETA : 1184
FECHA : 15/01/18

N° LAB	CLAVES	N Total mg/L	P Total mg/L
989		431.20	89.60

Dr. Sady García Bendezú/Jefe de Laboratorio

Anexo 7. Análisis fisicoquímico del biol extraído

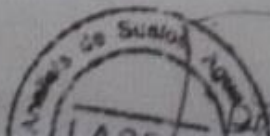
**INFORME DE ANALISIS ESPECIALE
MATERIA ORGANICA**

SOLICITANTE: LARRYNER GURUZO LINAQUIA
 INSTITUCION: LBMS/ LIMA/ LA MOLINA
 MINISTERIO DE: BIA
 REFERENCIA: H.R. 8008
 FECHA: 25/08/17

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	Sólidos Totales g/l	M.D. en Suspensión g/l	N Total mg/l	P Total mg/l	K Total mg/l
545		7.34	9.18	8.60	3.24	563.00	103.39	567.50

Nº LAB	CLAVES	Ca Total mg/l	Mg Total mg/l	Na Total mg/l	Pb Total mg/l	Cd Total mg/l	Cr Total mg/l
545		233.83	132.50	375.00	0.32	0.07	0.75

LAB	CLAVES	Fe Total mg/L	Cu Total mg/L	Zn Total mg/L	Mn Total mg/L	B Total mg/L
545		15.31	1.04	33.08	1.85	1.58


 Sady García Bendezo

Anexo 8. Temperaturas y radiación solar del día 12/12/2017 – 15/12/17 y gráfica de la irradiancia

Día	Tiempo	Temperatura		Radiación solar
		Alta	Bajo	Rad. Whatss/m2
12/12/2017	12:00 a. m.	17.6	16.5	0
12/12/2017	01:00 a. m.	16.6	16.1	0
12/12/2017	02:00 a. m.	16.1	15.4	0
12/12/2017	03:00 a. m.	15.4	15	0
12/12/2017	04:00 a. m.	15.1	14.9	0
12/12/2017	05:00 a. m.	15.2	14.7	0
12/12/2017	06:00 a. m.	15.4	14.7	5
12/12/2017	07:00 a. m.	16.7	15.4	73
12/12/2017	08:00 a. m.	18.1	16.7	231
12/12/2017	09:00 a. m.	22.6	18.1	488
12/12/2017	10:00 a. m.	24.6	22.6	677
12/12/2017	11:00 a. m.	24.9	24.4	810
12/12/2017	12:00 p. m.	25.1	24.6	875
12/12/2017	01:00 p. m.	25.2	24.7	884
12/12/2017	02:00 p. m.	26.2	25.1	821
12/12/2017	03:00 p. m.	26.7	26.1	689
12/12/2017	04:00 p. m.	26.6	26.1	519
12/12/2017	05:00 p. m.	26.4	24.1	269
12/12/2017	06:00 p. m.	24.1	21.1	65
12/12/2017	07:00 p. m.	21.1	19.5	4
12/12/2017	08:00 p. m.	19.5	19.1	0
12/12/2017	09:00 p. m.	19.2	19.1	0
12/12/2017	10:00 p. m.	19.1	18.8	0
12/12/2017	11:00 p. m.	18.9	18.4	0
13/12/2017	12:00 a. m.	18.4	17.8	0
13/12/2017	01:00 a. m.	17.8	17.4	0
13/12/2017	02:00 a. m.	17.4	17	0
13/12/2017	03:00 a. m.	17	16.3	0
13/12/2017	04:00 a. m.	16.3	15.8	0
13/12/2017	05:00 a. m.	16	15.7	0
13/12/2017	06:00 a. m.	16	15.7	5
13/12/2017	07:00 a. m.	17.4	16	72
13/12/2017	08:00 a. m.	18.6	17.4	246
13/12/2017	09:00 a. m.	21.8	18.7	479
13/12/2017	10:00 a. m.	24.3	21.8	653
13/12/2017	11:00 a. m.	24.9	24.2	789
13/12/2017	12:00 p. m.	25	24.5	877
13/12/2017	01:00 p. m.	25.1	24	538
13/12/2017	02:00 p. m.	24.9	24.1	662
13/12/2017	03:00 p. m.	24.5	23.2	624
13/12/2017	04:00 p. m.	24.2	22.6	414
13/12/2017	05:00 p. m.	23.4	22.6	309
13/12/2017	06:00 p. m.	23.3	21	114

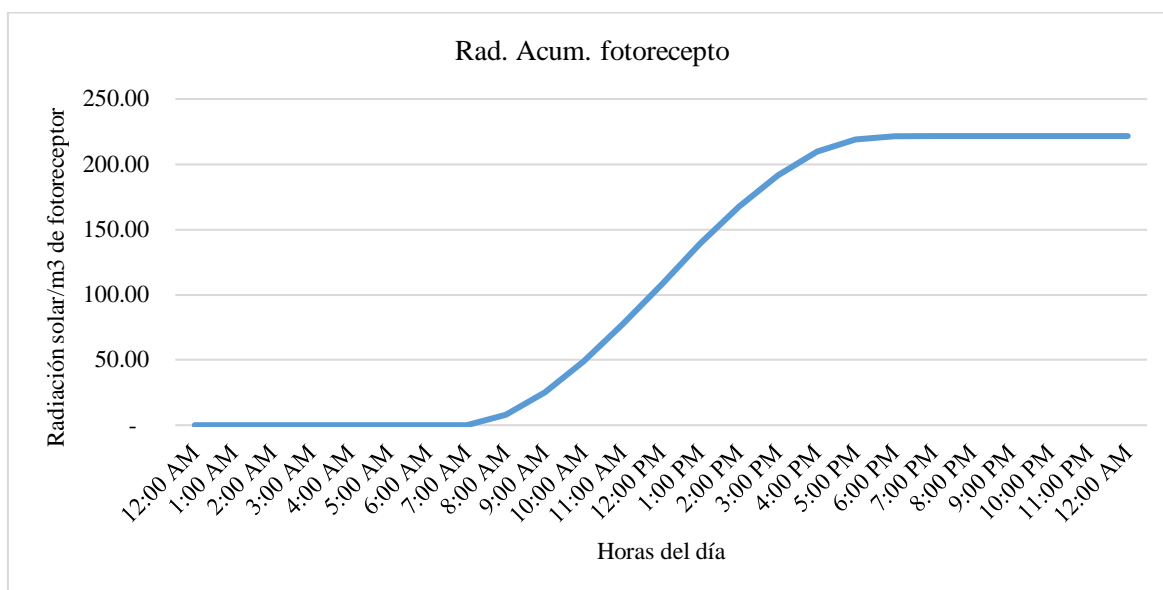
Continuación...

13/12/2017	07:00 p. m.	21	19.7	10
13/12/2017	08:00 p. m.	19.9	19.6	0
13/12/2017	09:00 p. m.	19.8	19.2	0
13/12/2017	10:00 p. m.	19.2	18.7	0
13/12/2017	11:00 p. m.	18.7	18.2	0
14/12/2017	12:00 a. m.	18.2	17.7	0
14/12/2017	01:00 a. m.	17.7	16.9	0
14/12/2017	02:00 a. m.	17	16.8	0
14/12/2017	03:00 a. m.	16.9	16.6	0
14/12/2017	04:00 a. m.	17.2	16.5	0
14/12/2017	05:00 a. m.	17.3	17.2	0
14/12/2017	06:00 a. m.	17.3	17.3	1
14/12/2017	07:00 a. m.	17.6	17.3	35
14/12/2017	08:00 a. m.	18.7	17.6	153
14/12/2017	09:00 a. m.	22.2	18.7	473
14/12/2017	10:00 a. m.	25	22.2	673
14/12/2017	11:00 a. m.	25.9	24.9	789
14/12/2017	12:00 p. m.	26.2	25.7	864
14/12/2017	01:00 p. m.	26.3	24.9	871
14/12/2017	02:00 p. m.	25	23.9	807
14/12/2017	03:00 p. m.	24.5	23.8	686
14/12/2017	04:00 p. m.	24	23.4	507
14/12/2017	05:00 p. m.	23.9	22.8	307
14/12/2017	06:00 p. m.	22.7	21.1	116
14/12/2017	07:00 p. m.	21.1	18.8	9
14/12/2017	08:00 p. m.	18.8	18.3	0
14/12/2017	09:00 p. m.	18.6	18.3	0
14/12/2017	10:00 p. m.	18.8	18.6	0
14/12/2017	11:00 p. m.	18.8	18.4	0
15/12/2017	12:00 a. m.	18.5	18.4	0
15/12/2017	01:00 a. m.	18.5	18.3	0
15/12/2017	02:00 a. m.	18.6	18.4	0
15/12/2017	03:00 a. m.	18.5	18.3	0
15/12/2017	04:00 a. m.	18.3	18.1	0
15/12/2017	05:00 a. m.	18.1	17.9	0
15/12/2017	06:00 a. m.	17.9	17.9	0
15/12/2017	07:00 a. m.	18.2	17.9	27
15/12/2017	08:00 a. m.	19.2	18.2	130
15/12/2017	09:00 a. m.	20.3	19.2	291
15/12/2017	10:00 a. m.	21.9	20.3	488
15/12/2017	11:00 a. m.	22.8	21.7	604
15/12/2017	12:00 p. m.	23.7	22.6	808
15/12/2017	01:00 p. m.	24.3	23.3	855
15/12/2017	02:00 p. m.	24.7	24.2	784
15/12/2017	03:00 p. m.	24.7	23.5	637
15/12/2017	04:00 p. m.	23.7	22.1	335

Continuación...

15/12/2017	05:00 p. m.	22.1	21	213
15/12/2017	06:00 p. m.	21	20.1	89
15/12/2017	07:00 p. m.	20.1	19.1	14
15/12/2017	08:00 p. m.	19.1	18.4	0
15/12/2017	09:00 p. m.	18.5	18.3	0
15/12/2017	10:00 p. m.	18.3	18.1	0
15/12/2017	11:00 p. m.	18.2	18.1	0

Anexo 9. Irradiación solar acumulada en el fotoreceptor

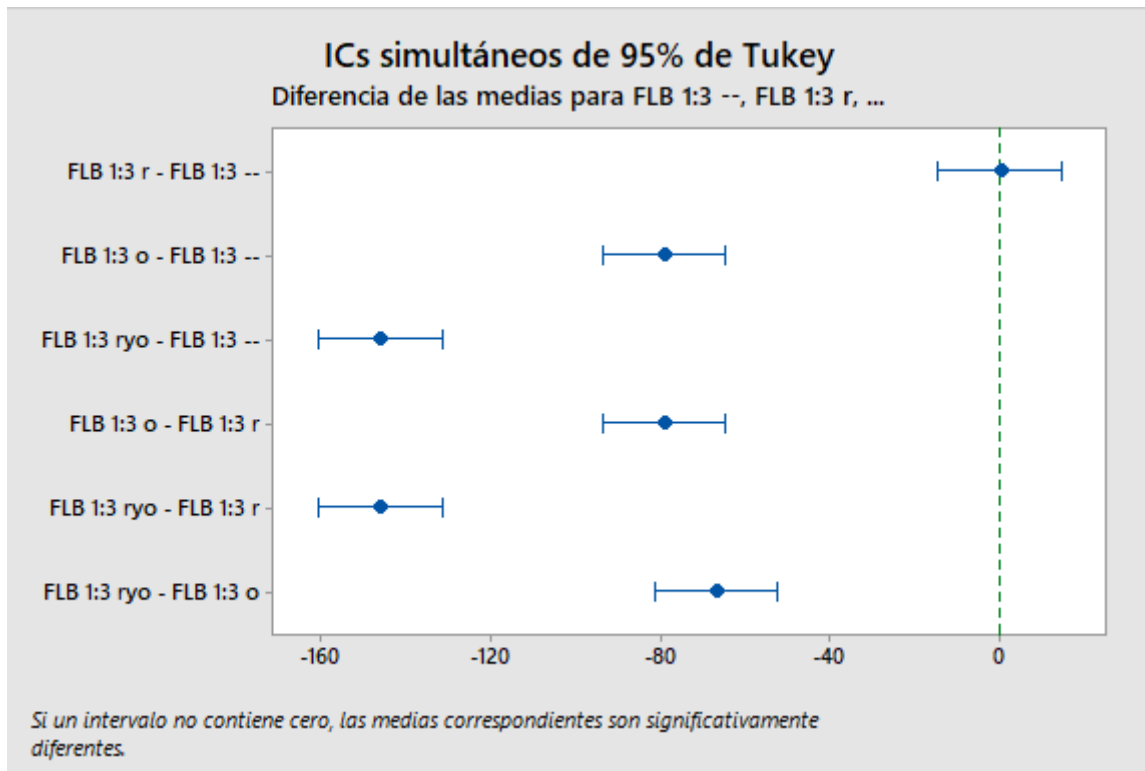


Anexo 10. Estadística de la prueba preliminar

Factor	N	Media	Agrupación
FLB 1:3 r	3	150.0	A
FLB 1:3 --	3	150.0	A
FLB 1:3 o	3	70.67	B
FLB 1:3 ryo	3	3.67	C

Nota: Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 11. Comparaciones en parejas de Tukey - agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%



Anexo 12. Fundamento de la generación de ambiente anaerobio del Anaerocult P[®] y reacción de las tiras indicadoras de ausencia de oxígeno Anaerotest

Instructivo Anaerocult[®] P

1.13807.0001

Microbiología

Anaerocult[®] P

para producción de un medio anaerobio en la cápsula de Petri individual



Producto sanitario para diagnóstico in vitro



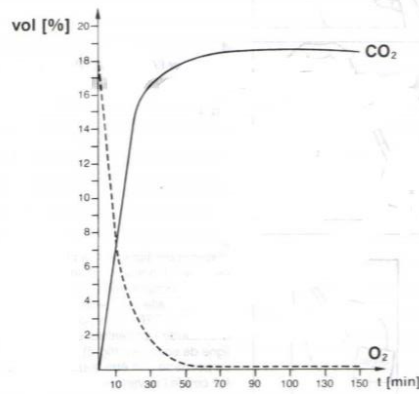
Contenido: 25 Anaerocult[®] P
25 bolsas de incubación especiales
Para uso profesional solamente

Empleo

Producción de un medio anaerobio en la cápsula de Petri individual para cultivo de anaerobios obligados y facultativos.

Fundamento

Anaerocult[®] P contiene componentes que fijan químicamente en forma completa el oxígeno dentro de breve tiempo y producen un medio exento de O₂ (anaerobio), inclusive una atmósfera de CO₂.



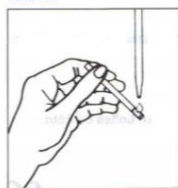
Composición

Tierra silicea
Hierro en polvo
Ácido cítrico
Carbonato sódico

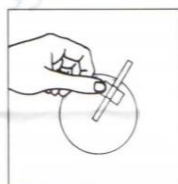
En la mezcla química contenida en los sobres hay cristales de sílice. En caso de rotura de los sobres, no inhalar el polvo. Inhalaciones repetidas pueden ser perjudiciales para la salud. En caso de contacto con los ojos pueden producirse irritaciones.

Instructivo Anaerotest:

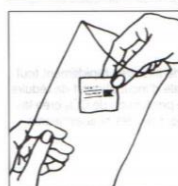
Técnica



1 Humedecer con agua la zona reactiva de la tira de Anaerotest® (art. núm. 1.15112.) (fig. 1).



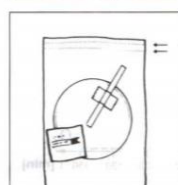
2 Sujetar con cinta adhesiva la tira de Anaerotest® sobre la tapa de la cápsula de Petri inoculada (la zona reactiva señala hacia abajo y debe quedar colgando al aire libre) (fig. 2).



3 Introducir Anaerocult® P en bolsas de incubación especiales (fig. 3).



4 Humedecer Anaerocult® P con 3,0 ml de agua (fig. 4).



5 Colocar la cápsula de Petri inmediatamente después con la tira de Anaerotest® fijada con cinta en la bolsa de incubación especial y cerrar con Anaeroclip® (art. núm. 1.14226.) o con un aparato usual para soldar láminas (es recomendable aplicar 2 costuras soldadas)* (fig. 5). La bolsa debe cerrarse por soldadura aprox. a 2 cm de distancia de la abertura de la bolsa.

Estabilidad

Ver fecha de caducidad.

Conservación

Proteger de la humedad y mantener bien cerrado (cerrar bien nuevamente los saquitos de plástico tras la toma de Anaerocult® P). Temperatura de almacenamiento recomendada: +15 °C ↔ +25 °C.

* La anaerobiosis es indicada por el viraje de color de la tira de Anaerotest® de azul a blanco tras aprox. 4 horas.

Microbiología Anaerotest®

Para comprobación de un medio anaerobio

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
Tel. +49 (0)6151 72-2440, www.merck-chemicals.com
Version 05-05-2017



Producto sanitario para diagnóstico in vitro



Contenido: 50 varillas indicadoras
Para uso profesional diagnóstico clínico solamente

Empleo

Para comprobación de un medio anaerobio.

Fundamento

La forma oxidada (azul) del colorante azul de metileno, en medio anaerobio exente de oxígeno se transforma en leuco-azul de metileno (incoloro). En caso de presencia de oxígeno la leucobase reducida se transforma de nuevo en la forma oxidada (azul).

Composición

Azul de metileno – reductores – estabilizador.

Aplicación

El indicador se utiliza conjuntamente con art. núm. 1.13829.0001 Anaerocult® A en el recipiente de anaerobios, con art. núm. 1.01611.0001 Anaerocult® A mini para 1-4 cápsulas de Petri y con art. núm. 1.13807.0001 Anaerocult® P en caso de uso de una sola cápsula de Petri. Anaerocult® IS (art. núm. 1.16819.0001) se emplea conjuntamente con el sistema de identificación o resp. con 1-2 placas microtítulo y el indicador de anaerobiosis Anaerotest® en la bolsa especial de incubación. El indicador se puede utilizar naturalmente en otros sistemas de anaerobios.

Cultura de estos organismos a partir de muestras clínicas humanas, por ejemplo, orina, heces, esputo, sangre, y material celular se realiza con medios culturales específicos (art. núm. 1.05452., 1.10326., 1.10455., 1.10866., 1.10676.) para el diagnóstico clínico. El cultivo debe estar en ambiente anaerobio o microaerofílico.

Ver instrucciones generales para uso

Técnica

Humedecer la zona de reacción con 1 gota de agua destilada y colocarla en el recipiente de anaerobios.

En caso de emplear el art. núm. 1.13829.0001 Anaerocult® A, art. núm. 1.16819.0001 Anaerocult® IS, art. núm. 1.01611.0001 Anaerocult® A mini y art. núm. 1.13807.0001 Anaerocult® P deben consultarse las exactas instrucciones de empleo en las correspondientes hojas adjuntas.

Evaluación

En condiciones anaerobias tiene lugar una decoloración gradual dentro de 6-9 horas.

Estabilidad

Ver fecha de caducidad.

Conservación

Almacenar bien cerrado y en lugar seco.

Almacenar de +15 °C a +25 °C.

Tomar solamente el número de varillas indicadoras que sea necesario en cada caso.

No tocar las zonas de reacción de la varilla indicadora.

Cerrar de nuevo inmediata y firmemente el recipiente.