

**PERFIL DE TOLERANCIA A VARIACIONES DE ACIDEZ Y ETANOL DE
BACTERIAS AISLADAS DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA EN UNA
PLANTA PRODUCTORA DE AZÚCAR Y BIOETANOL DE ARARAS SP-BRASIL**

SARIMA SALAZAR SANTOS

C.C. 1.193.558.548

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA

Pamplona, Colombia

2024

**PERFIL DE TOLERANCIA A VARIACIONES DE ACIDEZ Y ETANOL DE
BACTERIAS AISLADAS DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA EN UNA
PLANTA PRODUCTORA DE AZÚCAR Y BIOETANOL DE ARARAS SP-BRASIL**

SARIMA SALAZAR SANTOS

Informe de grado presentado como requisito para optar el título de:

Microbióloga

Tutor:

FRANCISCO RODRIGUEZ RINCÓN, Ph. D

Docente Titular del programa Microbiología, Universidad de Pamplona – Colombia

Jefe directo:

SANDRA REGINA CECCATO ANTONINI, Ph. D

Docente Titular del Laboratorio de Microbiología Agrícola e Molecular, Universidade
Federal de São Carlos – Brasil

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA

Pamplona, Colombia

2024

AGRADECIMIENTOS

Como con todas las cosas que me ocurren, primero que nada, quiero darle gracias a la vida, es decir, a Dios. Por permitirme escuchar los deseos más profundos de mi ser y darme la valentía de cumplir esos retos, aunque muera de miedo. Quiero agradecerle a mi familia, sobre todo a mi papá, Fernando Antonio Salazar, por el apoyo incondicional de toda la vida; a mi mamá Ana Santos Pinto, por ser un pilar fundamental en mi vida, y a mis hermanos, Sarwing, Saidy y Sadanys por ser esos compañeritos que tendré toda la vida.

Quiero agradecer a mi orientadora de pasantía, la Dra Sandra Ceccato-Antonini, por ser inspiración, su apoyo, por toda la paciencia, toda la enseñanza, sus buenas acciones, su entrega y amor incondicional por su trabajo, el cual se vio reflejado en todo el cariño que sentí por mi trabajo durante la realización de todo este proyecto. A todo el equipo de LAMAM, por recibirme con sus puertas y brazos abiertos, hicieron que esta experiencia fuera maravillosa.

Finalmente quiero agradecer a todos y cada uno de los profesores de la Universidad de Pamplona que aportaron su granito de arena con el que he ido construyendo la profesional que poco a poco estoy consiguiendo ser. A las personas que me apoyaron, creyeron en mí y me dieron la mano para que este evento se llevara a cabo.

A todos, infinitas gracias.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	11
2. OBJETIVOS.....	13
2.1. OBJETIVO GENERAL	13
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. JUSTIFICACIÓN	14
4. MARCO TEÓRICO	16
4.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	16
4.1.1. ESTUDIOS SOBRE BACTERIAS CONTAMINANTES.....	16
4.1.2. ESTUDIOS SOBRE LEVADURAS CONTAMINANTES	19
4.2. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	21
4.3. PRODUCCIÓN DE BIOETANOL.....	22
4.4. PRODUCCIÓN DE BIOETANOL EN BRASIL	24
4.5. LEVADURAS EMPLEADAS EN LA FERMENTACIÓN.....	27
4.6. MICROORGANISMOS CONTAMINANTES DE LA FERMENTACIÓN.....	29
4.7. TRATAMIENTOS EMPLEADOS PARA REDUCIR LA CONTAMINACIÓN EN LA FERMENTACIÓN DE BIOETANOL	31
4.8. MARCO LEGAL	33
4.8.1. Norma Técnica P4.231 de 2005	33
4.8.1.1. La Ley N.º 12.651.....	33
4.8.1.2. Decreto N.º 41.719 del 16 de abril de 1997 Del Estado de São Paulo.....	33
4.8.1.3. Decreto N.º 8.468, del 8 de septiembre de 1976, del Estado de São Paulo.....	34
4.8.2. Ley 13.576, promulgada el 26 de diciembre de 2017.....	34
4.8.3. Decreto N.º 9.888, del 27 de junio de 2019	34
4.8.4. La Ley 693 de 2001 de Colombia	35
5. METODOLOGÍA	36
5.1. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.....	36

5.2.	RECuento DE BACTERIAS Y LEVADURAS.....	36
5.3.	AIslAMIENTO Y CARACTERIZACIóN DE AIslADOS	36
5.4.	DETERMINACIóN DE TOLERANCIA AL pH Y ETANOL	37
5.5.	DETERMINACIóN DE LOS PARAMETROS DE TOLERANCIA ACIDO- ETANóLICA DE LAS BACTERIAS	38
5.7.	DISEño EXPERIMENTAL	39
6.	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	42
7.	RESULTADOS Y DISCUSIóN.....	43
7.1.	RECuento DE BACTERIAS Y LEVADURAS.....	43
7.2.	CARACTERIZACIóN DE LOS AIslADOS.....	44
7.3.	NIVELES DE TOLERANCIA AL ESTRÉS áCIDO-ETANóLICO	54
7.3.1.	TOLERANCIA AL pH.....	54
7.3.2.	TOLERANCIA AL ETANOL	56
7.4.	ANálISIS COMBINADO DE LOS PARáMETROS DE TOLERANCIA áCIDO- ETANóLICA.....	59
7.5.	COMPARACIóN DE LOS PERFILES DE TOLERANCIA AL pH Y ETANOL MEDIANTE MAPAS DE CALOR.....	77
8.	CONCLUSIONES.....	84
9.	REFERENCIAS	86
10.	ANEXOS	95

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Diferentes materias primas para la producción de bioetanol y su potencial de producción comparativo.	24
Tabla 2	Cronograma de actividades realizadas	42
Tabla 3	Recuento microbiológico de bacterias y levaduras observadas en las seis colectas	43
Tabla 4	Descripción macroscópica de las colonias de levaduras observadas en las seis colectas	45
Tabla 5	Caracterización de las bacterias aisladas en las seis colectas	50
Tabla 6	Valores promedio de la variación de absorbancia de los aislados bajo variaciones de pH y etanol.....	59
Tabla 7	Valores promedio de velocidad específica máxima de crecimiento de los aislados bajo variaciones de pH y etanol.....	60
Tabla 8	Valores promedio del tiempo de fase de latencia (lag) de los aislados bajo variaciones de pH y etanol	60
Tabla 9	Test de Tukey realizado a la variación de absorbancia	63
Tabla 10	Formulación química del medio Yeast Extract Peptone Dextrose (YEPD).....	95
Tabla 11	Formulación química del medio Man Rogosa Sharpe (MRS)	95
Tabla 12	Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 1 bajo distintos porcentajes de etanol	99
Tabla 13	Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 1 bajo variaciones de pH	102
Tabla 14	Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 2 bajo distintos porcentajes de etanol	107
Tabla 15	Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 2 bajo variaciones de pH	110
Tabla 16	Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 3 bajo distintos porcentajes de etanol	115
Tabla 17	Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 3 bajo variaciones de pH	119

Tabla 18 Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 4 bajo distintos porcentajes de etanol	123
Tabla 19 Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 4 bajo variaciones de pH	127
Tabla 20 Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 5 bajo variaciones de pH y etanol.....	132
Tabla 21 Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 6 bajo variaciones de pH y etanol.....	135
Tabla 22 Valores promedio de densidad óptica de bacterias de referencia bajo variaciones de pH y etanol.....	140

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Organización de las microplacas empleadas en el test de pH y de etanol	41
Figura 2 Comparación de la floculación de la levadura en función a la concentración bacteriana..	44
Figura 3 Morfología general de levaduras aisladas del mosto en las 6 colectas en Agar YPD	45
Figura 4 Morfología macroscópica y microscópica de levaduras aisladas en las 6 colectas y la cepa de referencia PE-2	48
Figura 5 Morfología macroscópica de las bacterias aisladas en las seis colectas	52
Figura 6 Tinción Gram de aislados bacterianos de las seis colectas y las dos cepas de referencia.	53
Figura 7 Curva de crecimiento de bacterias aisladas en las seis colectas bajo variaciones de pH..	55
Figura 8 Curva de crecimiento de bacterias aisladas en las seis colectas bajo diferentes porcentajes de etanol	58
Figura 9 Efecto del pH y etanol sobre los aislados bacterianos de la colecta 1	66
Figura 10 Efecto del pH y etanol sobre los aislados bacterianos de la colecta 2	68
Figura 11 Efecto del pH y etanol sobre los aislados bacterianos de la colecta 3	70
Figura 12 Efecto del pH y etanol sobre los aislados bacterianos de la colecta 4	72
Figura 13 Efecto del pH y etanol sobre los aislados bacterianos de la colecta 5	73
Figura 14 Efecto del pH y etanol sobre los aislados bacterianos de la colecta 6	75
Figura 15 Efecto del pH y etanol sobre las bacterias de colección <i>L. fermentum</i> y <i>L. plantarum</i> ..	77
Figura 16 Mapa de calor de la variación de absorbancia (Δ Abs) como indicador de crecimiento en respuesta al pH y etanol	78

Figura 17 Mapa de calor con agrupamiento jerárquico: respuesta de bacterias a condiciones de estrés evaluada por variación de absorbancia.....	81
Figura 18 Microplaca del test de pH y etanol aplicado en la colecta 1 y 2.....	96
Figura 19 Microplaca del test de pH y etanol aplicado en la colecta 5 y 6.....	97
Figura 20 Instalaciones de la usina Santa Lúcia	97
Figura 21 Lector de microplacas (Tecan Infinite M200, Mannedorf, Suíza).....	98
Figura 22 Evidencias fotográficas del proceso en general	98

RESUMEN

Se evaluó la tolerancia de bacterias aisladas del proceso de fermentación industrial de bioetanol frente a condiciones de estrés ácido-etanólico, con el objetivo de caracterizar su respuesta a diferentes niveles de pH (6.0, 5.5, 4.5, 3.5 y 2.5) y concentraciones de etanol (0 %, 5 %, 10 %, 15 % y 20 %). Para determinar sus perfiles de tolerancia, se realizó un análisis de variación de absorbancia (Δ Abs), se emplearon mapas de calor para visualizar y comparar el comportamiento de los aislados y test de Tukey para determinar diferencias en las respuestas individuales de cada aislado. Adicionalmente, se generó un mapa de calor con agrupamiento jerárquico utilizando la distancia euclidiana y el método de vinculación completa, para clasificar las bacterias según su respuesta al estrés. Los resultados revelaron una diversidad significativa en los perfiles de tolerancia bacteriana. Las bacterias aisladas de la colecta 1, como C1B3 y C1B2, destacaron por su alta tolerancia a concentraciones de etanol de hasta el 20 %, mientras que C6B2, de la colecta 6, demostró una tolerancia excepcional a pH extremadamente bajos (2.5). Estos aislados mostraron patrones de crecimiento sobresalientes, superando en algunos casos a las cepas de colección evaluadas como puntos referentes *Lactobacillus fermentum* y *L. plantarum*. Se observó una tendencia general de mayor sensibilidad al pH ácido que al etanol, lo que señala al estrés ácido como un factor limitante clave en estos sistemas. Se identificaron estrategias metabólicas diferenciadas entre los aislados. Algunas bacterias presentaron fases de latencia prolongadas seguidas de un crecimiento robusto, mientras que otras, con un inicio de crecimiento rápido, mostraron menor sostenibilidad a largo plazo. Este estudio destaca la complejidad de las dinámicas bacterianas en ambientes industriales, subrayando la importancia de continuar investigando los mecanismos de resistencia y adaptación de estas bacterias.

Palabras clave: tolerancia ácido-etanólica, bacterias ácido lácticas, fermentación etanólica

ABSTRACT

The tolerance of bacteria isolated from the industrial bioethanol fermentation process to acid-ethanol stress conditions was evaluated, with the aim of characterizing their response to different pH levels (6.0, 5.5, 4.5, 3, 5 and 2.5) and ethanol concentrations (0%, 5%, 10%, 15% and 20%). To determine their tolerance profiles, an absorbance variation analysis (Δ Abs) was carried out; heat maps were used to visualize and compare the behavior of the inmates and the Tukey test was used to determine differences in the individual responses of each isolate. Furthermore, a heat map with hierarchical clustering was generated using the Euclidean distance and the complete linkage method, to classify the bacteria according to their stress response. The results will reveal significant diversity in bacterial tolerance profiles. Bacteria isolated from collection 1, such as C1B3 and C1B2, stood out for their high tolerance to ethanol concentrations of up to 20%, while C6B2, from collection 6, demonstrated exceptional tolerance to an extremely low pH (2.5). These isolates showed outstanding growth drivers, in some cases surpassing the collection strains evaluated as points referring to *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus plantarum*. A general trend of greater sensitivity to acidic pH than to ethanol has been observed, indicating that acid stress is a key limiting factor in these systems. Differentiated metabolic strategies were identified among the isolates. Some bacteria presented prolonged dormancy phases followed by robust growth, while others, with a rapid onset of growth, showed less long-term sustainability. This study highlights the complexity of bacterial dynamics in industrial environments, underlining the importance of continuing to investigate the resistance and adaptation mechanisms of these bacteria.

Key words: acid-ethanol tolerance, lactic acid bacteria, ethanolic fermentation

1. INTRODUCCIÓN

La alta flexibilidad metabólica y la capacidad de adaptación de los microorganismos los ha convertido en una herramienta ampliamente utilizada en la industria para una gran variedad de aplicaciones, desde la producción de valiosos bioproductos hasta la limpieza de entornos contaminados (Etido 2024). Sin embargo, como seres ubicuos, los microorganismos, principalmente bacterias, también poseen la capacidad de contaminar muchos procesos de producción, generando pérdidas significativas en las industrias. En este sentido, las fermentaciones alcohólicas industriales generalmente también están sujetas a contaminación bacteriana o por levaduras distintas a la cepa seleccionada (*Saccharomyces* o no *Saccharomyes*), lo que afecta el rendimiento de producción, debido a que estos microorganismos también compiten con la cepa seleccionada por sobrevivir en los fermentadores, consumiendo los azúcares disponibles y produciendo gran cantidad de metabolitos distintos al etanol, afectando la viabilidad y eficiencia de la levadura, al inducir su floculación (Amorim 2011; Beckner et al. 2011)

El bioetanol es ampliamente reconocido como el biocombustible más adecuado para sustituir la gasolina. Este biocombustible de primera generación (1G), producido principalmente mediante la fermentación alcohólica de azúcares, se ha fabricado en Brasil desde principios del siglo XX (Sherpa, 2022). El modelo brasileño de producción de etanol se destaca por llevar a cabo fermentaciones en tanques de gran escala, con capacidades que oscilan entre 0,5 y 3 millones de litros. Estas fermentaciones emplean mostos de jugo de caña de azúcar, melaza diluida en agua, o una combinación de ambos, y tienen una duración breve de entre 6 y 12 horas, utilizando cepas del género *Saccharomyces* (Marques, 2008). Al finalizar el proceso fermentativo, el vino se destila, mientras que las células de levadura concentradas (crema de levadura) son tratadas con ácido sulfúrico a un pH de 2,0-2,5 durante un par de horas para reducir la contaminación bacteriana, permitiendo así su reciclaje en nuevas fermentaciones (Boza, 2012). Si bien el reciclaje de células, propio del modelo de producción de bioetanol empleado en Brasil, es muy buena opción para obtener altos rendimientos de etanol (92 a 93%), también es muy susceptible a alta contaminación por bacterias y levaduras nativas, ya que, a diferencia de la fermentación de bebidas alcohólicas, esta no está diseñada para llevarse a cabo en condiciones de cultivo puro, por lo que se espera una alta contaminación bacteriana. Debido a que las bacterias contaminantes que aparecen en la

fermentación generalmente provienen de la misma caña, el suelo, los equipos o producto de las condiciones de producción poco asépticas del proceso per se (Ceccato-Antonini, 2021), la diversidad de estas es muy alta e incluso puede estar sujeta a las condiciones específicas de la planta productora en cuestión. Sin embargo, estudios realizados en una planta han confirmado que la mayoría de bacterias aisladas de la fermentación son bacterias del ácido láctico, predominando *Lactobacillus fermentum*, *L. salivarius* y *L. casei* (Chang 1995). El control de la contaminación bacteriana en el proceso fermentativo puede lograrse mediante el monitoreo constante, para lo cual resulta fundamental contar con información detallada sobre los microorganismos contaminantes implicados. Esta información es esencial para diseñar estrategias efectivas de control. En este contexto, el objetivo principal de este estudio es establecer un perfil de tolerancia de las bacterias contaminantes presentes en la fermentación de la planta productora de azúcar y bioetanol seleccionada. Dicho perfil pretende aportar datos suficientes que faciliten el desarrollo de tratamientos efectivos, optimizando así el proceso de producción.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la tolerancia de bacterias aisladas de la fermentación del bioetanol combustible a variaciones de pH y distintas concentraciones de etanol.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar la población de levaduras y bacterias presentes en el proceso de fermentación alcohólica.
- Describir macroscópica y microscópicamente las colonias de levaduras y de bacterias aisladas del caldo de fermentación.
- Evaluar la respuesta de las bacterias aisladas del mosto bajo diferentes niveles de pH y concentraciones de etanol.
- Determinar la relación entre los perfiles de sensibilidad al pH y etanol de las bacterias.

3. JUSTIFICACIÓN

El uso eficiente y sostenible de energía es un pilar fundamental para el desarrollo de los seres humanos, ya que satisface muchas de las necesidades que actualmente se presentan en sociedad, desde el transporte hasta la generación de electricidad. Durante los últimos cien años, la principal fuente de energía se ha basado en la utilización de combustibles fósiles, lo que ha contribuido significativamente al aumento del calentamiento climático por el aumento de gases de efecto invernadero que estos generan. Para el año 2030, se proyecta que las emisiones de CO₂ serán más del doble que las emisiones reportadas en 1990 (Ballesteros et. al, 2006). La contaminación atmosférica, causada en gran medida por el uso de combustibles fósiles en el transporte, representa una amenaza directa para la salud pública, con más de 8 millones de muertes prematuras anuales relacionadas con la polución del aire (UNEP, 2023).

Dado lo anterior, muchos países han comenzado a promover alternativas energéticas que reduzcan tanto la dependencia de los recursos fósiles como el impacto ambiental negativo que conlleva su uso. En este sentido, el bioetanol es reconocido como el biocombustible más adecuado para reemplazar la gasolina. Países como Estados Unidos, Brasil, Japón, Colombia, India y la Unión Europea utilizan ampliamente el bioetanol mezclado con gasolina para mejorar el rendimiento de vehículos y minimizar los daños ocasionados por los gases de efecto invernadero (Aguilar, 2007).

Brasil, conocido como principal productor de caña de azúcar a nivel mundial, ha desarrollado una industria robusta en torno a la producción de bioetanol a partir de la caña (Furtado, 2011). Sin embargo, a pesar de que el proceso fermentativo utilizado en Brasil es peculiarmente productivo y competitivo, uno de los mayores retos para la industria sigue siendo la contaminación microbiana durante el proceso fermentativo. Las bacterias contaminantes pueden proliferar en el entorno de producción, especialmente porque estos sistemas reutilizan las levaduras en ciclos sucesivos durante varias cosechas (Ceccato-Antonini, 2021). Aunque se utilizan tratamientos con ácido sulfúrico y etanol para controlar estos microorganismos, ciertas bacterias han desarrollado resistencias que les permiten sobrevivir bajo condiciones extremas de bajo pH y altas concentraciones de etanol, lo que afecta negativamente la eficiencia y la productividad del proceso (Salles-Filho, 2017).

El tratamiento ácido ha sido una de las estrategias más utilizadas para combatir la contaminación microbiana en los procesos fermentativos, tanto en la industria de bioetanol como en otras industrias que dependen de la fermentación, sobre todo la cervecera (Simpson y Hammond, 1989). Sin embargo, la aparición de bacterias resistentes y aún desconocidas representa un desafío continuo, ya que estas bacterias pueden afectar la calidad del producto final y reducir la eficiencia económica del proceso, lo que impacta negativamente la viabilidad económica y la competitividad de la producción de bioetanol. Por ende, resulta muy interesante profundizar en la búsqueda de soluciones prontas que ayuden a resolver el problema de la contaminación bacteriana en la producción de bioetanol, centrándose en la creación de un perfil de resistencia bacteriana bajo condiciones de estrés como el bajo pH y las altas concentraciones de etanol. Al profundizar en los mecanismos que permiten a las bacterias sobrevivir y proliferar en este entorno hostil, se podrá generar información clave que facilite el desarrollo de soluciones más precisas y efectivas para mejorar el rendimiento del proceso fermentativo y reducir las pérdidas asociadas a la presencia de estos microorganismos.

Los conocimientos derivados de este proyecto tienen el potencial de impactar significativamente en la eficiencia de la producción de bioetanol, no solo en Brasil, sino en toda la industria global de biocombustibles. Este avance podría marcar un paso importante hacia la consolidación de fuentes de energía más sostenibles y competitivas, disminuyendo la dependencia de combustibles fósiles y mitigando el daño ambiental. Además, el estudio podría abrir nuevas oportunidades para perfeccionar los protocolos industriales mediante innovaciones que optimicen el control de la contaminación microbiana, contribuyendo a un proceso de producción más eficiente en términos económicos y ambientales.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

4.1.1. ESTUDIOS SOBRE BACTERIAS CONTAMINANTES

La producción de bioetanol a partir de caña de azúcar enfrenta varios desafíos, entre ellos la contaminación bacteriana, especialmente por *Lactobacillus fermentum*. Esta bacteria es común en ambientes fermentativos de bioetanol, y numerosos estudios respaldan su presencia en estos entornos. Aunque se han investigado varios métodos para controlar esta contaminación, las destilerías suelen emplear lavados ácidos con ácido sulfúrico para desinfectar la biomasa de levaduras después de cada ciclo de fermentación. Sin embargo, el manejo de grandes volúmenes de ácido sulfúrico conlleva riesgos de seguridad importantes y plantea problemas económicos y ambientales. Alternativas como el uso de antibióticos también resultan controvertidas, debido a los riesgos de generar resistencia bacteriana y a la posible contaminación de subproductos. Detectar, cuantificar e identificar estas bacterias contaminantes es crucial para el manejo efectivo del proceso industrial y para evitar una disminución en la productividad.

En un estudio realizado por da Silva-Neto y colaboradores en 2020, se exploró el potencial del etanol para sustituir parcial o totalmente al ácido sulfúrico en el lavado ácido de las levaduras durante la producción de bioetanol, con el objetivo de reducir la contaminación por *L. fermentum* de una manera más segura y efectiva. Los investigadores evaluaron si el etanol podía actuar como reemplazo o adyuvante del ácido sulfúrico en el tratamiento de células de levadura, analizando además su impacto en la viabilidad tanto de *L. fermentum* como de *Saccharomyces cerevisiae*, la levadura industrial utilizada en la fermentación.

La metodología del estudio consistió en tres fases. Primero, se evaluó cómo diferentes concentraciones de etanol (5-25%) y niveles de pH (2.0-6.5) afectaban el crecimiento de *L. fermentum* en un medio de cultivo MRS bajo condiciones controladas de laboratorio, midiendo la densidad óptica de las muestras para determinar la viabilidad y tasa de crecimiento de las bacterias. En la segunda fase, se analizó la efectividad de usar etanol como sustituto o complemento del ácido sulfúrico en el tratamiento de células de levadura contaminadas, aplicando diversas soluciones de ácido a pH 2.0 y 3.0 con y sin etanol, y

observando los cambios en la viabilidad de *L. fermentum*. También se probaron concentraciones de etanol de 0 a 25% en combinación con ácido para evaluar el efecto sinérgico entre pH bajo y etanol. En la fase final, se aplicaron estos tratamientos en un entorno de fermentación industrial con jugo de caña no estéril, contaminado intencionalmente con *L. fermentum* y *S. cerevisiae*. Se emplearon seis tratamientos entre ciclos de fermentación, que incluían combinaciones de pH bajo con etanol al 5%, el antibiótico Kamoran® y agua, evaluando en cada ciclo la viabilidad de *L. fermentum* y *S. cerevisiae*, la producción de etanol y los niveles de azúcares residuales.

Los resultados mostraron que a pH 2.0 se logró una reducción significativa en la viabilidad de *L. fermentum*, y que las concentraciones de etanol de 5-7% disminuyeron la velocidad de crecimiento bacteriano, mientras que concentraciones más altas (13-25%) prácticamente detuvieron el crecimiento. Sin embargo, solo concentraciones superiores al 22% lograron eliminar por completo la viabilidad bacteriana en ausencia de pH ácido. En los tratamientos combinados, la mezcla de un pH 2.0 con etanol al 5% eliminó completamente la viabilidad de *L. fermentum*, similar a los resultados obtenidos con el antibiótico Kamoran®. No obstante, el etanol por sí solo, incluso a pH 3.0, solo fue efectivo en concentraciones del 20% o más, lo cual subraya la importancia del efecto sinérgico entre el pH bajo y el etanol. Finalmente, en la fase de fermentación con jugo de caña no estéril, el tratamiento con pH 2.0 y etanol al 5% fue el más eficaz, manteniendo bajos los niveles de *L. fermentum* y permitiendo ciclos de fermentación con alta producción de etanol y bajos niveles de azúcares residuales. Estos resultados sugieren que *S. cerevisiae* no se vio afectada negativamente por el tratamiento, manteniendo la eficiencia de la fermentación.

En esta investigación los autores concluyeron que el uso de etanol en combinación con ácido sulfúrico potencia el efecto antimicrobiano del ácido, reduciendo significativamente la viabilidad de *L. fermentum* en los ciclos de fermentación con jugo de caña no estéril. Esta combinación permite controlar la proliferación bacteriana sin la necesidad de recurrir a altas concentraciones de ácido sulfúrico, haciendo el proceso más seguro y reduciendo el impacto ambiental. No obstante, el reemplazo completo del ácido por etanol no es viable en términos económicos, ya que se necesitarían concentraciones extremadamente altas de etanol (22% o más). En cambio, alternar el tratamiento combinado de ácido y etanol con ciclos de solo ácido

puede ser una estrategia efectiva para reducir el uso de ácido y mantener la viabilidad de la levadura durante todo el proceso de fermentación.

Otro estudio realizado por Costa et al. 2018, evaluó la posibilidad de agregar etanol al tratamiento ácido para mejorar su eficacia en la eliminación de *L. fermentum*, explorando si la combinación de un pH bajo con un 5% de etanol podría ser una alternativa viable al uso de antibióticos en la producción de bioetanol. Para ello, los investigadores implementaron un sistema de fermentación por lotes alimentados con reciclaje de células, utilizando la cepa industrial de levadura *Saccharomyces cerevisiae* PE-2 en condiciones de laboratorio controladas. Primero, determinaron la concentración mínima de etanol necesaria para complementar el ácido sulfúrico en el tratamiento, logrando así la pérdida completa de viabilidad de *L. fermentum* en condiciones de pH ácido. Tras establecer que una concentración de 5% de etanol en solución ácida de pH 2.0 era suficiente para eliminar la viabilidad bacteriana, aplicaron este tratamiento en ciclos de fermentación con y sin contaminación bacteriana, evaluando su efecto tanto en la población de *L. fermentum* como en la viabilidad y rendimiento de las levaduras industriales.

Los resultados mostraron que el tratamiento ácido sin etanol solo lograba reducir la población de *L. fermentum* en tres órdenes de magnitud después de seis ciclos de fermentación, mientras que el tratamiento combinado con un 5% de etanol eliminaba por completo la viabilidad de *L. fermentum* desde el primer ciclo. Además, este tratamiento no afectó la producción de etanol ni la viabilidad de las células de *S. cerevisiae*, manteniendo bajos niveles de azúcares residuales en el mosto fermentado, lo cual indica que el proceso de fermentación se mantuvo eficiente y estable.

A partir de estos hallazgos, los autores concluyeron que la adición de etanol mejora significativamente la eficacia del tratamiento ácido en la eliminación de *L. fermentum*, proporcionando una alternativa práctica y rentable al uso de antibióticos en el proceso de producción de bioetanol. Además, destacaron que esta combinación representa una opción más segura y económica para la industria, ya que el etanol es un producto accesible en las mismas plantas de bioetanol y no deja residuos en la biomasa, lo cual permite su aprovechamiento como alimento animal. Los autores sugieren que el tratamiento ácido combinado con etanol podría implementarse fácilmente en ciclos de fermentación

industriales, mejorando la seguridad y sostenibilidad del proceso de producción de bioetanol y ayudando a reducir la dependencia de antibióticos en la industria.

Lucena y colaboradores (2011) determinaron en un estudio $6,0 \times 10^5 - 8,9 \times 10^8$ UFC/mL de bacterias ácido lácticas (LAB) en sus tanques de fermentación, siendo la mayoría especies de *L. fermentum* y *L. vini*. Por otro lado, Li et al. (2016) identificaron diversas comunidades bacterianas en la fermentación de bioetanol a base de maíz en cinco plantas, utilizando la secuenciación del gen 16S. Ellos observaron *Lactobacillus spp.* de manera predominante en dos de las plantas, pero en las tres plantas restantes predominaban proteobacterias, especialmente los géneros *Pseudomonas* y *Escherichia-Shigella*. Esto sugiere que durante la fermentación de bioetanol se desarrolla una comunidad bacteriana bastante diversa (Ceccato-Antonini, 2018).

4.1.2. ESTUDIOS SOBRE LEVADURAS CONTAMINANTES

La producción de bioetanol también enfrenta numerosos retos relacionados con la contaminación por levaduras silvestres, ya que estos procesos industriales utilizan jugo de caña de azúcar o melaza sin esterilización previa. Esta falta de esterilización permite el ingreso de cepas de levaduras contaminantes que afectan el rendimiento y la eficiencia de la fermentación, generando pérdidas significativas. Detectar, cuantificar e identificar estas levaduras contaminantes es crucial para el manejo efectivo del proceso industrial y para evitar una disminución en la productividad.

El estudio de Basílio et al. En 2008 buscó identificar y monitorear las especies de levaduras contaminantes en destilerías de bioetanol en el noreste de Brasil mediante técnicas moleculares avanzadas. Los investigadores recolectaron muestras de mosto industrial en cinco plantas productoras de etanol durante diferentes cosechas, y las procesaron en laboratorio para el aislamiento de levaduras. Utilizaron métodos de tipificación molecular, incluyendo la amplificación del ADN ribosomal y el análisis de huellas digitales por PCR, lo que les permitió identificar especies contaminantes mediante patrones específicos de amplificación de ADN. Además, evaluaron la capacidad fermentativa de estas levaduras para determinar su impacto en el rendimiento del etanol.

Los resultados mostraron que, de las 147 muestras analizadas, se identificaron 24 especies de levaduras contaminantes, de las cuales *Dekkera bruxellensis*, *Candida tropicalis* y *Pichia*

galeiformis fueron las más asociadas a episodios de contaminación severa. Estas especies disminuyeron la eficiencia de la fermentación debido a su baja capacidad fermentativa en comparación con *Saccharomyces cerevisiae*, lo cual explicaba la menor producción de etanol en los lotes contaminados.

Los autores concluyeron que las técnicas de identificación molecular permiten una detección rápida y confiable de levaduras contaminantes en la industria del bioetanol, lo que puede ayudar a prevenir y controlar la contaminación en plantas de producción. Recomendaron la implementación de estas técnicas en el monitoreo rutinario para mejorar la productividad y reducir las pérdidas en el proceso industrial, destacando que estas herramientas pueden facilitar decisiones rápidas y precisas en la gestión de contaminantes y mejorar la eficiencia en la producción de etanol a gran escala.

Contrastado con la investigación anterior, un estudio realizado por de Souza y colaboradores en 2007 realizado en varias destilerías de bioetanol en el noreste de Brasil, evaluaron la dinámica de las poblaciones de levaduras contaminantes y su impacto en el rendimiento del proceso. Durante diferentes temporadas de cosecha, se recolectaron muestras de mosto para identificar la presencia de *D. bruxellensis* y otras especies contaminantes. A través de técnicas moleculares avanzadas, como el PCR-fingerprinting y la secuenciación del ADN ribosomal, los investigadores pudieron detectar y caracterizar genéticamente las especies de levaduras contaminantes en el mosto. Sus hallazgos revelaron que *D. bruxellensis* era la levadura contaminante más frecuente y que, bajo condiciones industriales, podía aumentar rápidamente su población, llegando a representar hasta el 50% de las levaduras presentes en el mosto. Además de la identificación, los investigadores realizaron ensayos de fermentación para evaluar el impacto de *D. bruxellensis* en la producción de etanol. Aunque esta levadura tiene una capacidad fermentativa similar a la de *S. cerevisiae*, su velocidad de crecimiento más lenta y su prolongado tiempo de fermentación afectan la productividad general. Los episodios de alta contaminación con *D. bruxellensis* mostraron una disminución significativa en el rendimiento de etanol, obligando a las plantas a realizar reemplazos periódicos de la biomasa de levaduras para restaurar la población predominante de *S. cerevisiae* y mantener la eficiencia del proceso.

Los autores concluyeron que la contaminación por *D. bruxellensis* representa un problema grave para la industria del bioetanol, dado que esta levadura puede desplazar a *S. cerevisiae* en los sistemas de fermentación continua y reducir considerablemente el rendimiento de etanol. Destacaron la importancia de implementar herramientas de identificación molecular rápida para detectar *D. bruxellensis* en fases tempranas, lo cual permitiría realizar ajustes a tiempo y minimizar el impacto en la producción. Este estudio subraya la necesidad de desarrollar y aplicar estrategias de monitoreo y control de contaminantes en las destilerías para prevenir problemas de rendimiento y asegurar una producción de bioetanol más eficiente y rentable.

4.2. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

La fermentación alcohólica es el proceso biológico que permite la degradación de azúcares con la formación de alcohol y dióxido de carbono (Basques y Dacosta, 2007). En términos bioquímicos, la fermentación podría considerarse la oxidación incompleta del azúcar, generando un compuesto orgánico oxidable como subproducto (Ceccato, 2021). A diferencia de los procesos oxidativos habituales, donde el oxígeno o algún otro compuesto inorgánico oxidado actúan como el aceptor final de electrones, en la fermentación la energía química se obtiene mediante un proceso de fosforilación. Este proceso involucra la transferencia de electrones, lo que culmina en la formación de un compuesto orgánico oxidable (Acosta, 2012).

Un proceso típico de fermentación es, en esencia, una actividad que normalmente se desarrolla en un recipiente conocido como fermentador o, más ampliamente, biorreactor. En este proceso, los sustratos presentes en el medio de cultivo son convertidos mediante la acción de microorganismos en metabolitos y biomasa. A medida que avanza el proceso, la concentración del microorganismo aumenta, mientras que el medio se transforma y se generan nuevos productos como resultado de las actividades catabólicas y anabólicas (Departamento de Educación, Cultura, Ciencia y Tecnología, 2006).

La fermentación alcohólica, es un proceso anaeróbico realizado por levaduras y algunas clases de bacterias (Acosta, 2012). Los microorganismos empleados en un proceso pueden ser obtenidos mediante aislamiento de fuentes naturales o de una colección de cultivos. A nivel industrial, generalmente cada empresa cuenta con su propia colección de organismos,

muchos de los cuales han sido mejorados mediante técnicas tradicionales de mutación o a través de ingeniería genética (Nielsen 2003).

La fermentación alcohólica ocurre mediante dos procesos diferenciados: la glucólisis (ruta de Embden-Meyerhof-Parnas) y el metabolismo anaeróbico del piruvato. En los microorganismos eucariotas, la glucólisis se lleva a cabo en el citoplasma y consta de dos etapas: una fase inicial en la que intervienen compuestos de seis carbonos, y una fase final con compuestos de tres carbonos. El objetivo del metabolismo de los azúcares es producir energía en forma de Adenosina Trifosfato (ATP), que será utilizada para llevar a cabo diversas funciones fisiológicas (como la absorción, excreción, entre otras) y para las biosíntesis esenciales que permiten el mantenimiento, crecimiento y reproducción de la levadura (ROMÃO, 2011). En la fase de los seis carbonos, la glucosa se fosforila en dos ocasiones, dando lugar a fructosa 1,6-difosfato, lo que implica el consumo de dos moléculas de ATP. En la fase de los tres carbonos, la conversión a piruvato produce cuatro moléculas de ATP. El proceso de reducción del piruvato a etanol también se divide en dos pasos: en el primero, el piruvato sufre una descarboxilación irreversible, catalizada por la enzima piruvato descarboxilasa; en el segundo paso, el acetaldehído es reducido a etanol (LIMA et al., 2001).

La fermentación alcohólica puede ser esquematizada por la siguiente ecuación:



4.3. PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

El etanol, también conocido como alcohol etílico, es un compuesto cuya fórmula molecular es $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$. Puede emplearse como combustible en motores de combustión interna con encendido por chispa (ciclo Otto) de dos formas principales: 1) mezclado con gasolina en forma de etanol anhidro; o 2) como etanol puro, que usualmente se presenta en su forma hidratada (Coordinación BDNE y CGEE, 2008). Actualmente, el bioetanol constituye más del 94% de la producción global de biocombustibles, con la caña de azúcar como principal fuente. Aproximadamente el 60% del bioetanol mundial se obtiene de este cultivo, mientras que el 40% restante proviene de otros tipos de plantas (Dufey, 2006).

Al igual que en la fabricación de bebidas alcohólicas, que puede llevarse a cabo de varias formas, la producción de biocombustibles a partir de materias primas vegetales también se

puede realizar a través de diversas rutas tecnológicas. Puede obtenerse a través de métodos químicos o microbiológicos; en el caso de la ruta química, se fundamenta en la hidratación del etileno. Por otro lado, el proceso microbiológico es llevado a cabo en su mayoría a través de la fermentación utilizando azúcares fermentables que provienen de productos agrícolas, materiales de celulosa o desechos de plantas, utilizando mayoritariamente la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, aunque hay otros microorganismos que también son capaces de producir etanol. En la actualidad, el proceso más utilizado a nivel industrial para la fabricación de etanol en el mundo es el microbiológico, empleando la fermentación alcohólica de materias primas que contienen azúcares y almidones, ya que estas opciones son más ventajosas desde el punto de vista económico (HIRA & OLIVEIRA, 2009; BAPTISTA et al., 2006).

La mayor parte del bioetanol se produce mediante la fermentación de glucosa a partir de maíz en Estados Unidos o de sacarosa en Brasil. Sin embargo, en las últimas dos décadas, estas tecnologías han avanzado significativamente, permitiendo que la producción a gran escala de bioetanol a partir de fuentes vegetales no alimentarias esté cada vez más cerca de ser una realidad (Lin & Yoshida, 2006). En Brasil, todo el bioetanol se produce a partir de caña de azúcar, destinándose en su mayoría al consumo interno, donde reemplaza cerca del 40% de la demanda de gasolina en el país. Aproximadamente el 20% de la producción se exporta a Estados Unidos, la Unión Europea y otros mercados. En cambio, en Estados Unidos, alrededor del 90% del bioetanol proviene del maíz (Dias 2005; Balat 2008).

Los biocombustibles se producen a partir de aceites vegetales, remolacha azucarera, cereales, desechos orgánicos y biomasa procesada. Las materias primas biológicas que contienen cantidades significativas de azúcar (o que pueden transformarse en azúcar, como el almidón o la celulosa) pueden fermentar para generar bioetanol, que luego se emplea en motores de gasolina. Las fuentes de bioetanol se dividen en tres categorías: (i) aquellas ricas en sacarosa, como la remolacha azucarera, el sorgo dulce y la caña de azúcar; (ii) materiales con almidón, como el trigo, el maíz y la cebada; y (iii) biomasa lignocelulósica, que incluye madera, paja y pastos (Balat et al., 2008). Las diferentes materias primas utilizadas para producción de bioetanol se encuentran descritas en la Tabla 1.

Tabla 1

Diferentes materias primas para la producción de bioetanol y su potencial de producción comparativo.

Materia prima	Potencial de producción de bioetanol (l/ton)
Caña de azúcar	70
Remolacha azucarera	110
Batata	125
Papa	110
Mandioca	180
Maíz	360
Arroz	430
Cebada	250
Trigo	340
Sorgo dulce	60
Bagazo y otras biomásas celulósicas	280

Fuente: Linoj, 2006

4.4. PRODUCCIÓN DE BIOETANOL EN BRASIL

En términos de producción de etanol, Brasil destaca como líder en la producción de alcohol a partir de caña de azúcar y es el único país que integra la producción de azúcar y alcohol en un mismo complejo industrial. Esta integración permite reducir los costos de producción y facilita el aprovechamiento de los residuos en las diferentes etapas del proceso productivo. Por cada tonelada de caña utilizada en la producción de azúcar, se generan aproximadamente 140 kg de bagazo seco, compuesto por un 43% de celulosa, un 25% de hemicelulosa y un 23% de lignina (Rodrigues, 2007).

Para producir bioetanol a partir de los residuos de la caña de azúcar (bagazo), es necesario transformar la celulosa de la biomasa en azúcares, que posteriormente se utilizarán en la fermentación alcohólica mediante la acción de enzimas (Knauf & Moniruzzaman, 2004). Al llegar la caña a la planta de procesamiento, suele lavarse para eliminar impurezas y luego se envía al sistema de preparación y extracción del jugo. En Brasil, este proceso se realiza

principalmente mediante molinos, que son máquinas con rodillos dispuestos en conjuntos de cuatro a siete unidades, cuya función principal es extraer la mayor cantidad de sacarosa de la caña y separar el bagazo con bajos niveles de humedad. Este bagazo se utiliza como combustible en las calderas de las plantas, generando electricidad para hacer el proceso autosuficiente. En algunas plantas también se emplea la extracción por difusión, en la que la caña pasa por varias etapas de lavado con agua caliente, lo que permite que los azúcares se liberen por lixiviación, y finalmente el bagazo se somete a un proceso de secado (BNDES & CGEE, 2008). El jugo de caña se somete a una segunda filtración para eliminar las impurezas más densas, facilitando así las etapas posteriores de decantación y filtración. Luego, se aplica un tratamiento químico que permite coagular los coloides y flocular y precipitar las impurezas restantes, que son eliminadas en el proceso de decantación. Para concentrar el azúcar en el jugo, este pasa por una fase de evaporación y luego se calienta para inducir la cristalización de la sacarosa. Durante este proceso, no toda la sacarosa disponible en la caña se cristaliza completamente; por lo tanto, la solución residual, rica en azúcar y conocida como miel, se recircula en el proceso para maximizar la recuperación de azúcar. Después de esta recirculación, la miel residual se denomina melaza, la cual contiene altos niveles de azúcares como glucosa y fructosa. Esta melaza puede aprovecharse en la producción de bioetanol mediante fermentación (Van Den Wall, 2009).

La fermentación para la producción de bioetanol a partir de caña de azúcar puede llevarse a cabo de dos formas diferentes: una consiste en usar el jugo de caña directamente y la otra implica una mezcla de jugo y melaza, siendo esta última la más común en Brasil. Antes de iniciar la fermentación, el mosto se calienta a temperaturas entre 103 °C y 105 °C para reducir la cantidad de microorganismos contaminantes. Posteriormente, el jugo de caña se coloca en tanques durante un período de 3 a 4 horas para permitir que se lleve a cabo la decantación, lo que resulta en un jugo más limpio. La siguiente etapa consiste en enfriar el mosto utilizando intercambiadores de calor, hasta alcanzar aproximadamente 30 °C. Luego, el mosto se envía para ser fermentado durante un período de 8 a 12 horas, lo que produce un vino que contiene entre un 7% y un 10% de alcohol. Durante la fermentación, los azúcares se convierten en etanol mediante la adición de levadura. En primer lugar, la sacarosa es hidrolizada por la levadura y, posteriormente, fermentada en etanol (Manochio et al., 2017; Ceccato-Antonini, 2021).

En Brasil, el método más comúnmente utilizado para llevar a cabo la fermentación es el Melle-Boinot, diseñado para recuperar las levaduras presentes en el vino a través de un proceso de centrifugación. Esta recuperación de levaduras es esencial, ya que permite reutilizarlas en futuros tratamientos. Posteriormente, el vino resultante se envía a las columnas de destilación (BNDES & CGEE, 2008). Al finalizar la centrifugación de las levaduras, estas se someten a un lavado ácido (tratamiento con ácido sulfúrico diluido a un pH de 2,0-2,5 durante 1-2 horas para reducir la contaminación bacteriana) y se reciclan, permitiendo al menos dos ciclos de fermentación diarios a lo largo de una temporada de producción de 200 a 250 días (Wheals et al., 1999). La elevada densidad celular, el reciclaje de las células y la alta concentración de etanol ayudan a limitar el crecimiento de la levadura, lo cual permite obtener altos rendimientos de etanol, alcanzando entre el 90% y el 92% de la conversión teórica de azúcar en etanol (Basso et al., 2008).

En el proceso de destilación, el vino se separa del etanol basándose en sus diferentes puntos de ebullición. La separación del alcohol del vino fermentado ocurre en dos etapas: en la primera, se genera una mezcla impura de agua y alcohol conocida como flegma, que tiene una concentración de vapores de entre 40 ° y 50 ° Gay Lussac (GL). La segunda etapa produce la vinaza, un residuo acuoso resultante de la destilación del vino. Al finalizar el proceso de destilación, se inicia la etapa de rectificación, que tiene como objetivo eliminar las impurezas del alcohol, tales como alcoholes superiores, ésteres, ácidos y otros compuestos. Esto permite concentrar la flegma hasta alcanzar un grado alcohólico de 96 °GL, resultando en etanol hidratado, que se puede utilizar como combustible para vehículos (Fugita, 2014; Sousa, 2020).

En la actualidad, unas 432 plantas y destilerías procesan aproximadamente 625 millones de toneladas de caña de azúcar por cosecha, lo que da como resultado la producción de cerca de 27 mil millones de litros de etanol y 38,7 millones de toneladas de azúcar (Ibeto et al. 2011). La mayoría de ellas empleando proceso fed-batch (cerca del 85%) y el 15% restante utiliza procesos de fermentación continua y altas densidades de levaduras seleccionadas (10-11% p/v). En el proceso discontinuo, el mosto se introduce de una sola vez junto con el inóculo, y la fermentación se detiene una vez que se alcanza el máximo de producción. En este sistema, se envía crema de levadura tratada con ácido a la cuba de fermentación, que se llena

con mosto a un flujo controlado para evitar el estrés por choque osmótico. Se pueden emplear varias cubas de fermentación, pero cada una opera de manera independiente, lo que significa que se llenan, manejan y limpian por separado (Godoy et al. 2008). Este enfoque presenta varias ventajas: permite medir más fácilmente el rendimiento de la fermentación, ya que el volumen se mantiene constante; es menos propenso a contaminaciones bacterianas debido a que cada cuba se limpia después de cada ciclo, lo que reduce la necesidad de usar antimicrobianos; el vino resultante tiene un menor nivel de acidez; se minimiza el riesgo de floculación y se mejora el rendimiento de las centrífugas; se facilita la optimización del tiempo de alimentación de las cubas; y se puede prolongar el tiempo de fermentación si la concentración de azúcar residual es alta. Se estima que alrededor del 83% de las destilerías utilizan este sistema, logrando rendimientos de entre el 92% y el 95%.

El sistema continuo fue introducido en la década de 1980 y se basa en la alimentación constante de todo el mosto inoculado en una o más cubas que se mantienen siempre llenas durante el proceso. El vino que ha comenzado a fermentar parcialmente desborda hacia una segunda cuba, que también se mantiene llena, y de esta fluye hacia una tercera, cuarta, y así sucesivamente, hasta que se consumen todos los azúcares. Una vez que el vino ha pasado por la última cuba, se dirige a la centrifugación, donde se separa la crema de levadura, que luego se somete a tratamiento ácido. El fermento tratado se regresa a la primera cuba, donde se mezcla nuevamente con el mosto, dando inicio a un nuevo ciclo de fermentación. La fermentación continua ofrece varias ventajas en comparación con la batelada alimentada, destacándose su menor costo de implementación, que puede ser entre un 50% y un 60% inferior, así como una mayor facilidad para la automatización del proceso. Sin embargo, presenta desventajas significativas, principalmente en lo que respecta al control de la contaminación por bacterias y levaduras nativas. Además, se dificulta la evaluación del rendimiento de la fermentación debido a las variaciones en el volumen de las cubas y al estrés osmótico que puede ocurrir (CEISE, 2017; Godoy et al., 2008; Ceccato-Antonini, 2021).

4.5. LEVADURAS EMPLEADAS EN LA FERMENTACIÓN

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es el microorganismo principal responsable de la fermentación en la producción de etanol como combustible. Aunque existen otros microorganismos capaces de generar etanol, *S. cerevisiae* es preferida por su notable

resistencia, su facilidad para ser manipulada genéticamente, su alta eficiencia en la fermentación y su tolerancia a diversas condiciones de estrés. Sin embargo, se presenta una considerable variabilidad entre sus cepas, por lo cual elegir la más adecuada es un punto crucial para optimizar el proceso fermentativo (Ceccato-Antonini, 2021).

Las plantas de etanol en Brasil solían emplear levadura de panadería como cultivo inicial debido a su bajo costo y fácil disponibilidad en grandes cantidades. Algunas destilerías, por ejemplo, comenzaron sus procesos con entre 1 y 12 toneladas de levadura de panadería prensada. Sin embargo, estudios realizados con análisis de cariotipo en levaduras de cinco destilerías mostraron que la levadura de panadería y otras dos cepas de *S. cerevisiae* no lograban competir con las levaduras nativas (silvestres) que ingresan al proceso industrial (Basso et al., 2008). La incapacidad de estas cepas iniciadoras de levadura para sobrevivir podría explicarse por las duras condiciones de estrés presentes en la fermentación industrial. Las levaduras deben enfrentar factores adversos como la alta concentración de etanol, temperaturas elevadas, estrés osmótico debido al azúcar y las sales, acidez, presencia de sulfitos y contaminación bacteriana, condiciones que son conocidas por afectar su supervivencia. Incluso, algunos de estos factores pueden actuar de manera sinérgica, especialmente cuando se aplica el reciclaje celular (Dorta et al., 2006). El primer desafío para mejorar el proceso de primera generación es la selección de cepas de levadura capaces de sobrevivir a estas condiciones industriales y competir con levaduras silvestres (Basso et al. 1993; Amorim et al. 2004).

En un estudio realizado por Basso y colaboradores en 2008, en el que realizaron un monitoreo de cepas de levadura en fermentaciones industriales en destilerías brasileñas durante un periodo de 12 años, analizaron casi 350 cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, de las cuales 24 se introdujeron en fermentaciones industriales, determinaron que las levaduras seleccionadas PE-2, CAT-1 y BG-1 mostraron una capacidad notable de competir con levaduras nativas, sobreviviendo y dominando durante las fermentaciones industriales, y actualmente son las cepas más utilizadas en las plantas de etanol en Brasil. Durante 2007/2008, las cepas PE-2 y CAT-1 se utilizaron en alrededor de 150 destilerías, lo que representa aproximadamente el 60% del etanol combustible producido en Brasil.

La selección de cepas adecuadas para la fermentación en la producción de bioetanol debe considerar criterios fundamentales como la capacidad de dominancia y persistencia hasta el final de la cosecha. No obstante, estos factores son insuficientes por sí solos. Las cepas óptimas deben exhibir un rendimiento fermentativo elevado, lo cual se traduce en una conversión eficiente de azúcar a etanol, alta productividad (velocidad de producción de etanol por unidad de tiempo), bajos niveles de azúcar residual en el medio de fermentación y una notable viabilidad a lo largo de los ciclos de reciclaje celular. Además, deben mantener una producción baja de glicerol y trehalosa intracelular para maximizar la eficiencia del proceso (Amorim, 2011). Por otro lado, es fundamental identificar y evitar características indeseables en las cepas seleccionadas, tales como la formación excesiva de espuma, una alta tasa de sedimentación durante la fermentación, floculación y tiempos prolongados de fermentación. La floculación, en particular, disminuye la eficiencia de la centrifugación al dificultar la separación entre el mosto fermentado y la crema de levaduras, resultando en una crema menos concentrada y con mayor contenido de vino. Este vino residual, debido a su capacidad tamponante, incrementa el consumo de ácido sulfúrico necesario para reducir el pH en el tratamiento del fermento, lo que puede afectar la actividad de las levaduras o incluso causar su mortalidad, además de aumentar los costos asociados al uso de ácido (Ceccato-Antonini, 2021).

4.6. MICROORGANISMOS CONTAMINANTES DE LA FERMENTACIÓN

La fermentación etanólica no es un proceso diseñado para llevarse a cabo de manera aséptica, la mayoría se realizan sin esterilización previa del mosto de caña de azúcar o melaza, por lo que se vuelve susceptible a la contaminación por bacterias y levaduras silvestres que compiten con la cepa seleccionada por sobrevivir en el ambiente del fermentador. Además, el reciclaje de grandes volúmenes de levadura hace que la tarea de eliminar la contaminación sea aún más complicada, ya que los microorganismos contaminantes han desarrollado diversas estrategias de adaptación y/o resistencia a los lavados ácidos y tratamientos antimicrobianos empleados (Basilio 2008; Amorim 2010).

En los procesos de fermentación alcohólica, los principales contaminantes suelen ser bacterias Gram-positivas, como *Lactobacillus* y *Bacillus* (Lucena et al., 2010). Aunque las bacterias Gram-negativas son menos frecuentes, suelen ser más difíciles de eliminar (Lopes

et al. 2004; Lucena et al. 2010). Para controlar estas poblaciones bacterianas, se utilizan métodos como tratamientos ácidos, antibióticos, derivados de lúpulo y biocidas químicos que no afectan a las células de levadura (Amorim et al., 2009). En casos de alta contaminación, las concentraciones bacterianas pueden alcanzar hasta 10^8 células por mililitro, lo que ocasiona pérdidas de bioetanol de entre 10,000 y 30,000 litros diarios en destilerías con una producción de un millón de litros al día. Además, una elevada carga bacteriana puede promover la floculación de la levadura e inhibir la fermentación (Amorim, 2011). En un estudio realizado en una planta comercial de etanol en Corea que utiliza tapioca y cebada como materias primas, se determinó que la mayoría de las bacterias presentes eran bacterias del ácido láctico, entre las cuales predominaron *Lactobacillus fermentum*, *L. salivarius* y *L. casei*. Esta alta presencia de bacterias lácticas destaca la importancia de un adecuado control microbiológico en el proceso, ya que estas bacterias pueden interferir con la eficiencia de la fermentación y afectar el rendimiento general en la producción de etanol (Skinner, 2004).

La fermentación en destilerías de bioetanol también enfrenta un desafío recurrente debido a la contaminación por distintas especies de levaduras. Diversos estudios han documentado la presencia de levaduras contaminantes en destilerías, especialmente en aquellas que utilizan jugo de caña de azúcar o melaza de caña como sustrato. Entre estas especies contaminantes, *Dekkera bruxellensis*, *Pichia galeiformes*, *Candida tropicalis* y otras especies del género *Candida* se destacan por su capacidad de proliferar en condiciones industriales y afectar significativamente la calidad de la fermentación (Conterno, 2013).

Específicamente, se ha observado que, en algunos casos, la presencia de *D. bruxellensis* y otras especies contaminantes puede representar más del 30% de la población de levaduras en los tanques de fermentación. *D. bruxellensis*, en particular, ha sido señalada como uno de los contaminantes predominantes en destilerías de caña de azúcar en Brasil, y su impacto negativo ha sido igualmente reconocido en instalaciones de bioetanol en otros países como Canadá y Estados Unidos. Esta especie se caracteriza por su alta tolerancia al etanol y a condiciones de estrés industrial, lo que dificulta su control y erradicación en el ambiente de fermentación (Basilio et al., 2008).

4.7. TRATAMIENTOS EMPLEADOS PARA REDUCIR LA CONTAMINACIÓN EN LA FERMENTACIÓN DE BIOETANOL

En las plantas de producción de etanol, el tratamiento con ácido sulfúrico es una práctica común para reducir la carga de bacterias contaminantes. Aunque esta técnica suele ser efectiva, en algunos casos no elimina completamente los contaminantes y puede, además, afectar a las levaduras iniciadoras, comprometiendo el rendimiento de la fermentación (Basso et al. 2008; Costa et al. 2018), por lo que en muchas ocasiones se requiere un tratamiento adicional con biocidas y antibióticos (Amorim et al., 2009). En las destilerías, también se ha recurrido al uso de antibióticos como la penicilina, estreptomicina, tetraciclina, monensina y virginiamicina para el control de bacterias (Aquarone, 1960; Islam et al., 1999; Stroppa et al., 2000; Bayrock et al., 2003; Oliva-Neto et al., 2013). Sin embargo, la aparición de cepas bacterianas resistentes ha reducido significativamente su eficacia en el proceso. Esta resistencia bacteriana a los antibióticos representa un problema de salud significativo, y en las unidades productoras de etanol con antecedentes de contaminación bacteriana se han aislado cepas que presentan resistencia a múltiples fármacos (Murphree et al. 2004). Además, los residuos de antibióticos en las células de levadura, que luego se destinan a la alimentación animal, plantean un riesgo potencial de inducir resistencia en patógenos de animales de granja y aves (Muthaiyan et al. 2011). Por ello, se ha explorado el uso de compuestos antimicrobianos de origen vegetal y subproductos agrícolas como alternativas que, además de mejorar el control bacteriano, podrían ofrecer beneficios económicos adicionales en la cadena de producción (Ceccato-Antonini, 2018).

Diversos agentes químicos con propiedades bacteriostáticas y bactericidas han sido objeto de estudio para evaluar su capacidad de inhibir o eliminar contaminantes bacterianos en sistemas fermentativos. Además de su acción antimicrobiana, estos agentes deben garantizar la viabilidad y actividad fermentativa de las levaduras, fundamentales para una producción de bioetanol de alta calidad. Dentro de los compuestos antimicrobianos evaluados a escala industrial, el dióxido de cloro ha demostrado ser particularmente efectivo. Este agente, un potente oxidante, posee propiedades antimicrobianas versátiles que actúan contra bacterias, virus, esporas y algas, siendo comúnmente empleado en la desinfección de sistemas de agua (Lapolli et al. 2005). De hecho, muchas destilerías han reemplazado el uso de antibióticos y parte del lavado ácido por dióxido de cloro, ya que de esta manera mitigan la resistencia

microbiana a los antibióticos, evitan los peligros asociados al lavado ácido y el dióxido de cloro no deja residuos en la crema de levadura ni en los subproductos generados (Meneghin et al. 2008).

Los productos naturales de origen vegetal también son empleados en la industria de bioetanol, ya que estos poseen componentes activos con actividad antimicrobiana. Uno de los bioproductos más utilizados es el extracto de lúpulo (extraído de *Humulus lupulus*) y también se han utilizado en la producción de cerveza contra microorganismos patógenos (Suzuki et al. 2006). En la búsqueda de más alternativas efectivas para controlar la contaminación bacteriana en procesos fermentativos, diversos bioproductos naturales han mostrado gran potencial. Entre ellos, el propóleo, de origen animal, ha destacado por sus propiedades antimicrobianas, que resultan prometedoras en la reducción de bacterias contaminantes. Otro ejemplo notable es el quitosano, un biopolímero de origen marino y fúngico, obtenido a través de la desacetilación de quitina de crustáceos y hongos (Ceccato-Antonini, 2018). Este compuesto posee una notable actividad antimicrobiana y ha demostrado su capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias lácticas (LAB) a bajas concentraciones, como 0,1 g/L, en la elaboración de cerveza, sin comprometer la viabilidad de las levaduras esenciales en el proceso (Gil et al., 2004).

El control de la contaminación microbiológica en industrias productoras de bioetanol también ha aplicado diversas estrategias químicas y biológicas para preservar la eficiencia fermentativa y asegurar altos rendimientos. Entre los tratamientos químicos empleados para reducir la contaminación bacteriana se encuentran el uso de sulfitos, mezclas de dióxido de cloro con peróxido de hidrógeno y peróxido de hidrógeno derivado de urea, los cuales han demostrado efectividad en la eliminación de bacterias en entornos industriales.

Para el control de levaduras silvestres, que representan un reto debido a su resistencia a antibióticos, se recurre al reemplazo total de la levadura junto con un monitoreo exhaustivo, una estrategia que permite mejorar el rendimiento fermentativo y mantener la estabilidad del cultivo de producción. Adicionalmente, el uso de bacteriófagos como agentes de control biológico ha mostrado eficacia en la reducción de contaminantes en medios industriales. En un estudio reciente, dos bacteriófagos específicos fueron aislados y caracterizados para controlar la proliferación de *Lactobacillus fermentum* en puré de maíz contaminado, logrando

restaurar el rendimiento en etanol y reduciendo niveles de azúcar residual y ácidos orgánicos indeseables (Liu et al., 2015).

A pesar de la existencia de estas alternativas, en las destilerías dedicadas a la producción de bioetanol, sobre todo en Brasil, el tratamiento ácido continúa siendo el método de control más utilizado, debido a su costo y facilidad de aplicación en comparación con otras técnicas. En este procedimiento, las células de levadura se extraen del caldo de fermentación, y se ajusta el pH de la biomasa celular a 2.0 mediante el uso de ácido sulfúrico. Luego, esta suspensión se incuba durante 2 horas a ese mismo pH antes de reincorporarla al fermentador (Muthaiyan et al. 2011).

4.8.MARCO LEGAL

4.8.1. Norma Técnica P4.231 de 2005

La norma técnica formulada por CETESB (2005) establece los criterios y procedimientos para el uso de la vinaza generada en la industria sucroalcoholera en el procesamiento de caña de azúcar. Su propósito es regular la aplicación de la vinaza en los suelos del estado de São Paulo, definiendo parámetros que aseguren un uso adecuado y sostenible de este subproducto, minimizando su impacto ambiental y promoviendo prácticas seguras en la gestión de residuos de la industria azucarera y alcoholera.

En la aplicación de esta norma es necesario consultar:

4.8.1.1. La Ley N.º 12.651

Promulgada el 25 de mayo de 2012 en Brasil, regula la protección de la vegetación nativa. Esta ley establece directrices para la conservación y uso sostenible de la vegetación nativa en el país, promoviendo la preservación ambiental y el equilibrio ecológico en Brasil.

4.8.1.2. Decreto N.º 41.719 del 16 de abril de 1997 Del Estado de São Paulo

La Asamblea Legislativa do Estado de Sao Paulo (1997) reglamenta la Ley N.º 6.171 del 4 de julio de 1988, modificada por la Ley N.º 8.421 del 23 de noviembre de 1993, la cual establece normas para el uso, conservación y preservación del suelo agrícola. Este decreto define los procedimientos y criterios específicos que deben seguirse para asegurar la sostenibilidad de los suelos agrícolas en el estado, promoviendo prácticas que protejan y mantengan su productividad y evitando la degradación del suelo.

4.8.1.3. Decreto N.º 8.468, del 8 de septiembre de 1976, del Estado de São Paulo

La Assembleia Legislativa do Estado de São Paulo (1976) aprueba el reglamento de la Ley N.º 997 del 31 de mayo de 1976, que establece disposiciones para la prevención y el control de la contaminación ambiental.

4.8.2. Ley 13.576, promulgada el 26 de diciembre de 2017

La Presidência da República Secretaria-Geral Subchefia para Assuntos Jurídicos (2017) Introdujo la Política Nacional de Biocombustibles, conocida como RenovaBio. Esta política tiene como objetivo principal impulsar la producción de biocombustibles en Brasil para contribuir a la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero.

Dentro de los propósitos de RenovaBio se encuentran:

- Fomentar una participación competitiva de los biocombustibles en el mercado nacional.
- Promover una producción sostenible de biocombustibles, tanto en el ámbito ambiental como en el económico.
- Examinar la función de los biocombustibles en la matriz energética de Brasil.
- Establecer normativas claras para su comercialización.

Además, la Ley 13.576 dispone que quienes incumplan sus disposiciones estarán sujetos a sanciones administrativas y multas, conforme a lo establecido en la Ley 9.847 de 1999.

4.8.3. Decreto N.º 9.888, del 27 de junio de 2019

La Presidência da República Secretaria-Geral Subchefia para Assuntos Jurídicos (2019) Establece metas anuales obligatorias para la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero en la comercialización de combustibles, conforme a lo dispuesto en la Ley N.º 13.576 del 26 de diciembre de 2017. Además, este decreto crea el Comité Nacional de Política de Biocombustibles, conocido como Comité RenovaBio, que es responsable de supervisar y coordinar la implementación de estas metas de reducción de emisiones en el sector de combustibles.

El objetivo central del decreto es contribuir a la disminución de emisiones mediante el establecimiento de cuotas de reducción para las empresas que comercializan combustibles fósiles, impulsando el mercado de biocombustibles como una alternativa más limpia. Estas metas anuales son fundamentales para incentivar el uso de biocombustibles, alineándose con la política RenovaBio en su esfuerzo por promover una matriz energética más sostenible y reducir el impacto ambiental del sector energético en Brasil.

4.8.4. La Ley 693 de 2001 de Colombia

El Congreso de Colombia (2001) Define normas para la producción, distribución y comercialización de alcoholes no potables y la mezcla de etanol carburante con combustibles. Esta Ley establece que:

- Las gasolinas en centros urbanos con más de 500,000 habitantes deben contener componentes oxigenados, como alcoholes carburantes, para mejorar la calidad del aire.
- Se permite la libre competencia en la producción, distribución y comercialización de alcoholes no potables.
- El Ministerio de Minas y Energía es responsable de regular técnicamente la producción, acopio, distribución y puntos de mezcla de los alcoholes carburantes.
- Los distribuidores mayoristas de combustibles serán responsables de la mezcla de etanol carburante con el combustible base.
- Se exceptúa de esta regulación la producción, distribución y comercialización de alcohol etílico potable destinado a la fabricación de licores.

5. METODOLOGÍA

5.1. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de mosto fueron recolectadas en la Usina Santa Lúcia, ubicada en Araras, en el Estado de São Paulo-Brasil. La planta Santa-Lúcia produce bioetanol en un proceso de fermentación continua, del cual se recolectaron 6 muestras de 100 ml de mosto de fermentación, específicamente del tanque de fermentación número 3, cada 10 días en dos tubos falcon de 50 ml estériles y fueron trasladadas a temperatura ambiente al laboratorio de Microbiología agrícola y molecular de la Universidad federal de São Carlos, sede Araras SP, Brasil.

5.2. RECuento DE BACTERIAS Y LEVADURAS

Las muestras recolectadas se diluyen hasta 10^{-7} , tomando 1 ml del mosto y depositándolo en 9 ml de solución salina. Se siembra 0.1 ml de las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} en agar Man-Rogosa-Sharpe (MRS) con adición de Actidione, para el aislamiento de bacterias, especialmente lactobacilos. De las diluciones 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} , se siembra 0.1 ml en Yeast Extract Peptone Dextrose Agar (YEPA) con adición de Cloranfenicol, para el aislamiento de levaduras. Todas las siembras se realizan por duplicado y se incuban a 35 °C y 30 °C para bacterias y levaduras, respectivamente, durante 48 horas. Al finalizar el tiempo, se realiza el recuento en placa tanto de levaduras como de bacterias siguiendo los parámetros del manual de recuento *Normas para interpretar e reportar a contagem “standard” em placa* propuesto por Gaviria, C. en 1978.

5.3. AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS

Se obtienen cultivos axénicos a partir de colonias de morfología diferente. La descripción macroscópica de las colonias se realiza de acuerdo con una modificación de la metodología empleada por Vizuite et al. (2021) y el manual de Práctica 8 – Descripción macroscópica de los microorganismos (2016). Para la determinación del color de las colonias se utiliza la tabla estándar de códigos de color HTML, disponible en: <https://htmlcolorcodes.com/es/> (Códigos de colores HTML, s.f). Las distintas morfologías se siembran por agotamiento en medio MRS para bacterias y medio YEPA para levaduras. La incubación se lleva a cabo a 35°C y 30°C para bacterias y levaduras, respectivamente, durante 48 horas. Se realiza tinción de

Gram y prueba de catalasa a cada asilado bacteriano, mientras que las levaduras son almacenadas en glicerol al 40% bajo congelación para la colección de cepas del laboratorio de Microbiología Agrícola e Molecular (LAMAM) de la Universidade Federal de São Carlos, sede Araras.

La prueba de catalasa se realiza tomando una asada de cada colonia bacteriana a la cual se le deposita una gota de agua oxigenada y se espera la reacción. Si se produce un burbujeo, indica que la reacción es positiva, si no ocurre nada, la reacción es negativa.

Para obtener un punto de referencia asociado a los microorganismos de interés, se realiza el aislamiento y caracterización de dos bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus plantarum*) y una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* (PE-2) proporcionadas por el LAMAM.

5.4. DETERMINACIÓN DE TOLERANCIA AL pH Y ETANOL

Se realizan inóculos iniciales tomando dos asadas de cada una de las colonias bacterianas aisladas en las placas, se transfieren a 15 ml de nuevo caldo MRS y se incuban a 30°C/48h. Partiendo de cada uno de los inóculos se realiza una dilución 10^{-1} en tubos falcon de 15 ml con caldo MRS, de los cuales se toman 20µ y se depositan en placas de poliestireno Corning® Costar de 96 pocillos con fondo plano y estériles con 180µ de caldo MRS con las distintas variaciones de pH: 6.0, 5.5, 4.5, 3.5 y 2.5, los cuales son acidificados con solución de HCL al 1N previamente. Para el test de etanol, se emplean distintas concentraciones de etanol: 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, y un control negativo sin adición de etanol. Para realizar la lectura de la densidad óptica se emplea un lector de microplacas (Tecan Infinite M200, Mannedorf, Suíza) con agitación, programado con una temperatura de 35°C+/-0,5 y una lectura de absorbancia a 600nm cada 15 minutos durante un periodo de 24 horas. Cada tratamiento se realiza por triplicado para establecer un valor promedio y se emplea un blanco para cada tratamiento con caldo de cultivo sin adición del microorganismo.

Para obtener un punto de referencia, se realiza este mismo experimento con dos bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus plantarum*) proporcionadas por el LAMAM.

5.5. DETERMINACIÓN DE LOS PARAMETROS DE TOLERANCIA ACIDO-ETANÓLICA DE LAS BACTERIAS

Las curvas de crecimiento se generan a partir de los resultados de absorbancia (densidad óptica) obtenidos en las diferentes condiciones de pH y etanol durante el tiempo de cultivo. Los datos de absorbancia se transforman a $\ln X$, y a partir de la fase exponencial de crecimiento promedio de las bacterias en cada condición se calcula la velocidad máxima de crecimiento específico ($\mu_{\max}$, h^{-1}), utilizando la regresión de los datos en la región lineal de las curvas, con la ecuación $y = a + bx$, en el cual el valor de a se toma como la velocidad específica de crecimiento que, al ser calculada sólo en la fase exponencial, se considera velocidad específica y máxima de crecimiento. Además, se determina la duración de la fase de latencia (en horas) y la variación de absorbancia (en densidad óptica, DO) para cada curva. Para determinar la fase de latencia se toman los datos desde el tiempo cero hasta la hora en que el aumento de la densidad óptica refleja un crecimiento exponencial, dando finalización a la fase de latencia, mientras que la variación de absorbancia se calcula como la diferencia entre el valor inicial y el valor final de DO, en el punto de máximo crecimiento de cada bacteria en las distintas condiciones de cultivo. Los datos de cada una de estas variables se presentan de manera combinada en un gráfico con tres ejes para su comparación visual.

5.6. COMPARACIÓN DE LOS PERFILES DE TOLERANCIA AL pH Y ETANOL DE LAS BACTERIAS

Para comparar de manera detallada la respuesta de cada microorganismo a las condiciones de estrés (pH y etanol), los parámetros de crecimiento se visualizan en dos tipos de mapas de calor (heatmaps). El mapa de calor es una forma de visualización de datos que asocia los colores con la intensidad de la variable mostrada, en este caso, la variación de absorbancia, permitiendo evaluar el efecto de diferentes condiciones de estrés sobre cada bacteria de una forma más visual y comparativa. Por tanto, cuanto mayor sea el valor de la variable, mayor será la intensidad del color.

Alternativamente, también se genera un mapa de calor con los mismos datos, pero agregando agrupamiento jerárquico. En este formato se crea un dendrograma que ilustra la disposición de los datos en grupos, lo que nos permite visualizar qué bacterias son más similares en cuanto a su respuesta a situaciones de estrés, teniendo en cuenta sólo la variación de

absorbancia. El cálculo de distancias para el agrupamiento de bacterias se basa en la distancia euclidiana, que calcula distancias por pares entre las condiciones de cultivo y las bacterias. Se utiliza el método de vinculación completa para la agrupación jerárquica, que se basa en la máxima disimilitud por pares entre puntos de datos. Los valores positivos en la escala (z-score) indican valores por encima de la media; Los valores negativos indican valores por debajo de la media.

Los heatmaps se generan en la plataforma SRPLOT, disponible en <https://www.bioinformatics.com.cn/en> (Tang et al., 2023).

5.7. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para evaluar la tolerancia de las bacterias aisladas bajo diferentes condiciones de pH y etanol, se realiza un experimento utilizando microplacas de 96 pocillos. Cada tratamiento experimental se realiza por triplicado, asignando tres pocillos por condición y evaluando simultáneamente seis bacterias en cada microplaca, según la disposición presentada en la Figura 1. Las condiciones experimentales incluyen cinco variaciones de pH (6.0, 5.5, 4.5, 3.5 y 2.5) y cinco concentraciones de etanol (0 %, 5 %, 10 %, 15 % y 20 %), utilizando caldo MRS ajustado para cada tratamiento. Además, se incluyen controles negativos, consistentes en pocillos sin inoculación, con el fin de corregir cualquier interferencia no relacionada con el crecimiento microbiano.

Las bacterias se inoculan en los pocillos correspondientes y la densidad óptica (DO) de cada pocillo se mide a intervalos de 15 minutos durante 24 horas utilizando un lector de microplacas. Cada lectura se corrige restando el valor del blanco (control negativo) correspondiente al mismo tratamiento, obteniendo así valores específicos de crecimiento microbiano. Una vez obtenidos los datos de 24 horas de lectura, se calcula el promedio de las tres lecturas de cada tratamiento y con estos valores promedio se generan las gráficas de curvas de crecimiento que representan la dinámica de cada bacteria bajo cada una de las condiciones evaluadas.

A partir de los datos de la curva de crecimiento se calcula la velocidad específica máxima (μ -max) utilizando los valores correspondientes a la fase exponencial de las curvas de crecimiento, así como el tiempo de fase de latencia, estimado como el tiempo necesario para que las bacterias alcanzaran la fase exponencial. En cuanto a la variación de absorbancia

(ΔAb) esta se calcula restando la DO inicial de la DO máxima individual registrada en cada tratamiento y se obtiene el promedio de estas variaciones para cada condición experimental. Posteriormente, los valores promedio finales de ΔAb son graficados para representar de manera comparativa el rendimiento de las bacterias en función de las condiciones de estrés.

Se emplean herramientas estadísticas para analizar y comparar los datos obtenidos, incluyendo mapas de calor (heat maps) y un test de Tukey. Los mapas de calor se utilizan como una herramienta visual para representar de manera integral el comportamiento de todas las bacterias bajo todas las condiciones evaluadas, ya que esta técnica asocia colores con la intensidad de la ΔAb . Se realizan mapas de calor con agrupamiento jerárquico, que clasifican las bacterias según la similitud de sus respuestas. Este análisis emplea la distancia euclidiana para medir las diferencias entre las bacterias y el método de vinculación completa para formar grupos, representados en un dendrograma. La escala utilizada (z-score) permite estandarizar los datos, resaltando con colores intensos los valores por encima de la media (mayor crecimiento) y con tonos más claros los valores por debajo de la media (menor crecimiento).

De manera complementaria, se realiza un test de Tukey para analizar los valores de ΔAb de cada bacteria bajo cada condición específica de pH y etanol. Este test estadístico permite realizar comparaciones múltiples para evaluar el comportamiento de las bacterias de manera individual, ya que el test indica qué bacterias tienen respuestas significativamente distintas bajo condiciones específicas, considerando un nivel de significancia de $p < 0.05$. Las bacterias que compartan la misma letra en las distintas condiciones de pH o etanol indican que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre ellas, sugiriendo que sus respuestas al estrés son similares en ambas condiciones evaluadas.

El test de Tukey se realizó con la plataforma facilitada por el programa de Centro de Ciencias Agrarias (CCA) de la UFSCar y se encuentra disponible en: <https://www.cca.ufscar.br/pt-br/servicos/teste-de-tukey>

Figura 1

Organización de las microplacas empleadas en el test de pH y de etanol

	pH											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	6.0	6.0	6.0	5.5	5.5	5.5	4.5	4.5	4.5	3.5	3.5	3.5
B	2.5	2.5	2.5	6.0	6.0	6.0	5.5	5.5	5.5	4.5	4.5	4.5
C	3.5	3.5	3.5	2.5	2.5	2.5	6.0	6.0	6.0	5.5	5.5	5.5
D	4.5	4.5	4.5	3.5	3.5	3.5	2.5	2.5	2.5	6.0	6.0	6.0
E	5.5	5.5	5.5	4.5	4.5	4.5	3.5	3.5	3.5	2.5	2.5	2.5
F	6.0	6.0	6.0	5.5	5.5	5.5	4.5	4.5	4.5	3.5	3.5	3.5
G	2.5	2.5	2.5	6.0	6.0	6.0	5.5	5.5	5.5	4.5	4.5	4.5
H	3.5	3.5	3.5	2.5	2.5	2.5	C 6.0	C 5.5	C 4.5	C 3.5	C 2.5	Agua
	ETANOL											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0%	0%	0%	5%	5%	5%	10%	10%	10%	15%	15%	15%
B	20%	20%	20%	0%	0%	0%	5%	5%	5%	10%	10%	10%
C	15%	15%	15%	20%	20%	20%	0%	0%	0%	5%	5%	5%
D	10%	10%	10%	15%	15%	15%	20%	20%	20%	0%	0%	0%
E	5%	5%	5%	10%	10%	10%	15%	15%	15%	20%	20%	20%
F	0%	0%	0%	5%	5%	5%	10%	10%	10%	15%	15%	15%
G	20%	20%	20%	0%	0%	0%	5%	5%	5%	10%	10%	10%
H	15%	15%	15%	20%	20%	20%	C 0%	C 5%	C 10%	C 15%	C 20%	Agua

Nota: cada microplaca empleada en el tratamiento de pH y de etanol se organizó como lo ilustra la figura. En cada microplaca se pudo testear 6 bacterias bajo las mismas condiciones al mismo tiempo, por triplicado. Los puntos de colores indican la organización de las seis bacterias, en la cual cada bacteria se depositó en 15 pocillos seguidos (hacia la derecha) a partir de cada punto, hasta conseguir testear las 15 bacterias aisladas y las dos cepas de referencia. Los pocillos a partir de H7 hasta H11 representan los controles negativos y en el pocillo final (H12) se utilizó sólo agua.

6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Tabla 2

Cronograma de actividades realizadas

Actividades	Meses																			
	Agos				Sept				Oct				Nov				Dic			
Semana	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Revisión bibliográfica																				
Inducción																				
Preparación de material																				
Lavado de material																				
Preparación de medios de cultivo																				
Recolección de muestras																				
Recuento de bacterias y levaduras																				
Selección y aislamiento de colonias bacterianas y levaduras																				
Test de sensibilidad a variaciones de pH																				
Test de sensibilidad a porcentajes de etanol																				
Análisis y reporte de resultados																				
Sustentación final																				

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1.RECUENTO DE BACTERIAS Y LEVADURAS

En cada una de las muestras recolectadas se realizaron recuentos en placa para la cuantificación de microorganismos. Las diluciones se ajustaron en función a la concentración de microorganismos presente en cada muestra, resultando en variaciones en las diluciones entre colectas. Los datos obtenidos de estos recuentos se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3

Recuento microbiológico de bacterias y levaduras observadas en las seis colectas

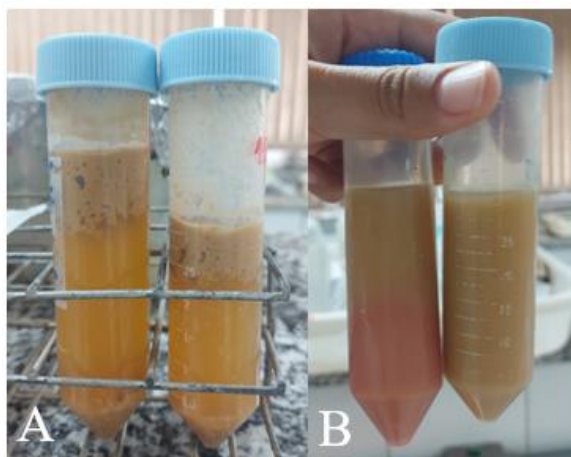
Colecta	Informe	
	Bacterias	Levaduras
C1	2.2x10 ⁵ UFC/mL	4.8x10 ⁹ UFC/mL
C2	1.8x10 ⁶ UFC/mL	1.0x10 ⁷ UFC/mL
C3	3.0x10 ⁵ UFC/mL	7.4x10 ⁶ UFC/mL
C4	1.8x10 ⁶ UFC/mL	1.8x10 ⁶ UFC/mL
C5	7.2x10 ⁶ UFC/mL	2.0x10 ⁹ UFC/mL
C6	1.4x10 ⁸ UFC/mL	2.8x10 ⁸ UFC/mL

El recuento de bacterias afecta significativamente la disposición de las células de levadura, ya que una alta concentración bacteriana es causante de su floculación, afectando el rendimiento de la levadura, promoviendo también la formación de espuma excesiva en el mosto de fermentación (Amorim, 2011). Esto se evidenció particularmente en la colecta 6, con un recuento bacteriano de 1.4x10⁸ UFC/mL, en la cual la floculación de la levadura fue

observable directamente en el mosto recolectado (figura 2A). En contraste, en el mosto sin presencia de floculación, la levadura se mantuvo dispersa (figura 2B). Esto sugiere que la interacción bacteriana es un factor clave en la dinámica de floculación de la levadura y puede influir en el desarrollo del proceso fermentativo. Este resultado contrasta con la información presentada por Amorim et al. (2011), en la cual afirma que, en casos de alta contaminación, las concentraciones bacterianas pueden alcanzar hasta 10^8 células por mililitro y esto muchas veces ocasiona pérdidas de bioetanol. Además, una elevada carga bacteriana puede promover la floculación de la levadura e inhibir la fermentación.

Figura 2

Comparación de la floculación de la levadura en función a la concentración bacteriana



Fuente: autora.

Nota: esta figura presenta el mosto de fermentación de diferentes colectas. La figura A, perteneciente a la colecta 6, presenta la floculación de la levadura en la parte inferior más la formación de espuma en la parte superior del mosto, mientras que la figura B, de la colecta 3, ilustra un mosto de fermentación en condiciones normales.

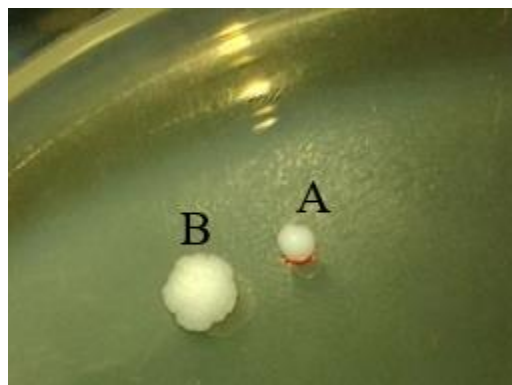
7.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS AISLADOS

A lo largo de las seis colectas realizadas en agar YEPD, se observaron frecuentemente dos tipos de morfología de levaduras, clasificadas como "lisa" y "rugosa" (Figura 3 A y B). En todas las muestras, la morfología rugosa predominó de manera significativa sobre la lisa. A nivel microscópico, se identificaron también dos patrones morfológicos recurrentes: grandes

agrupaciones de levaduras y otras de menor tamaño. La caracterización macroscópica de las colonias obtenidas se presenta en la Tabla 4.

Figura 3

Morfología general de levaduras aisladas del mosto en las 6 colectas en Agar YPD



Fuente: autora.

Tabla 4

Descripción macroscópica de las colonias de levaduras observadas en las seis colectas

Colecta	Característica						
	Forma	Bordes	Color	Superficie	Brillo	Elevación	Consistencia
C1L1	Circular	Entero	Blanco	Lisa	Brillante	Convexa	Creмоса
C1L2	Circular	Ondulados	Blanco	Rugosa	Opaca	Umbilical	Seca
C2L1	Circular	Entero	Blanco	Lisa	Brillante	Convexa	Creмоса
C2L2	Circular	Ondulados	Blanco	Rugosa	Opaca	Umbilical	Seca
C3L1	Circular	Ondulados	Blanco	Rugosa	Opaca	Umbilical	Seca
C3L2	Circular	Entero	Blanco	Lisa	Brillante	Convexa	Creмоса
C4L1	Circular	Ondulados	Blanco	Rugosa	Opaca	Umbilical	Seca
C4L2	Circular	Entero	Blanco	Lisa	Brillante	Convexa	Creмоса
C5L1	Circular	Entero	Blanco	Lisa	Brillante	Convexa	Creмоса
C5L2	Circular	Ondulados	Blanco	Rugosa	Opaca	Umbilical	Seca
C6L1	Circular	Entero	Blanco	Lisa	Brillante	Convexa	Creмоса
C6L2	Circular	Ondulados	Blanco	Rugosa	Opaca	Umbilical	Seca

Nota: Esta tabla describe la morfología macroscópica de las levaduras encontradas en las seis colectas realizadas en Agar YEPD. Las levaduras están codificadas por el número de la colecta antecedido por la letra C y el número de la morfología antecedido por la letra L, este último en función de la cantidad de morfologías encontradas en la misma placa.

La levadura utilizada en el proceso de fermentación de la Usina Santa-Lúcia, ubicada en Araras, es una cepa perteneciente a la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Esta cepa es seleccionada directamente del proceso fermentativo de la planta y sometida a un riguroso control de calidad en el laboratorio propio de la industria. Dicho laboratorio realiza aislamiento, purificación y evaluación de las levaduras mediante pruebas piloto a pequeña escala que replican las condiciones del proceso de fermentación industrial, seleccionando la cepa con mejores características para el proceso de fermentación.

Los criterios para la selección de levaduras en procesos industriales de fermentación, como los reportados por Ceccato-Antonini (2021), destacan la importancia de la dominancia y la persistencia. Estas características permiten a las levaduras mantenerse activas y competitivas frente a la presencia de microorganismos contaminantes, como las levaduras silvestres, durante toda la temporada de cosecha. Además, se evalúan parámetros críticos relacionados con el desempeño fermentativo, como un alto rendimiento en la producción de etanol, baja concentración de azúcares residuales, alta viabilidad celular y una mínima producción de subproductos como el glicerol. También se considera relevante evitar propiedades no deseadas como la excesiva formación de espuma, alta tasa de floculación y tiempos prolongados de fermentación (Amorim et al. 2011; Ceccato-Antonini 2021).

En el presente estudio, los aislados de levaduras presentaron un comportamiento que se aparta de lo esperado bajo condiciones ideales, evidenciando signos de estrés fisiológico, el cual se reflejó en una notable floculación de las células, como se observa en la figura 4.

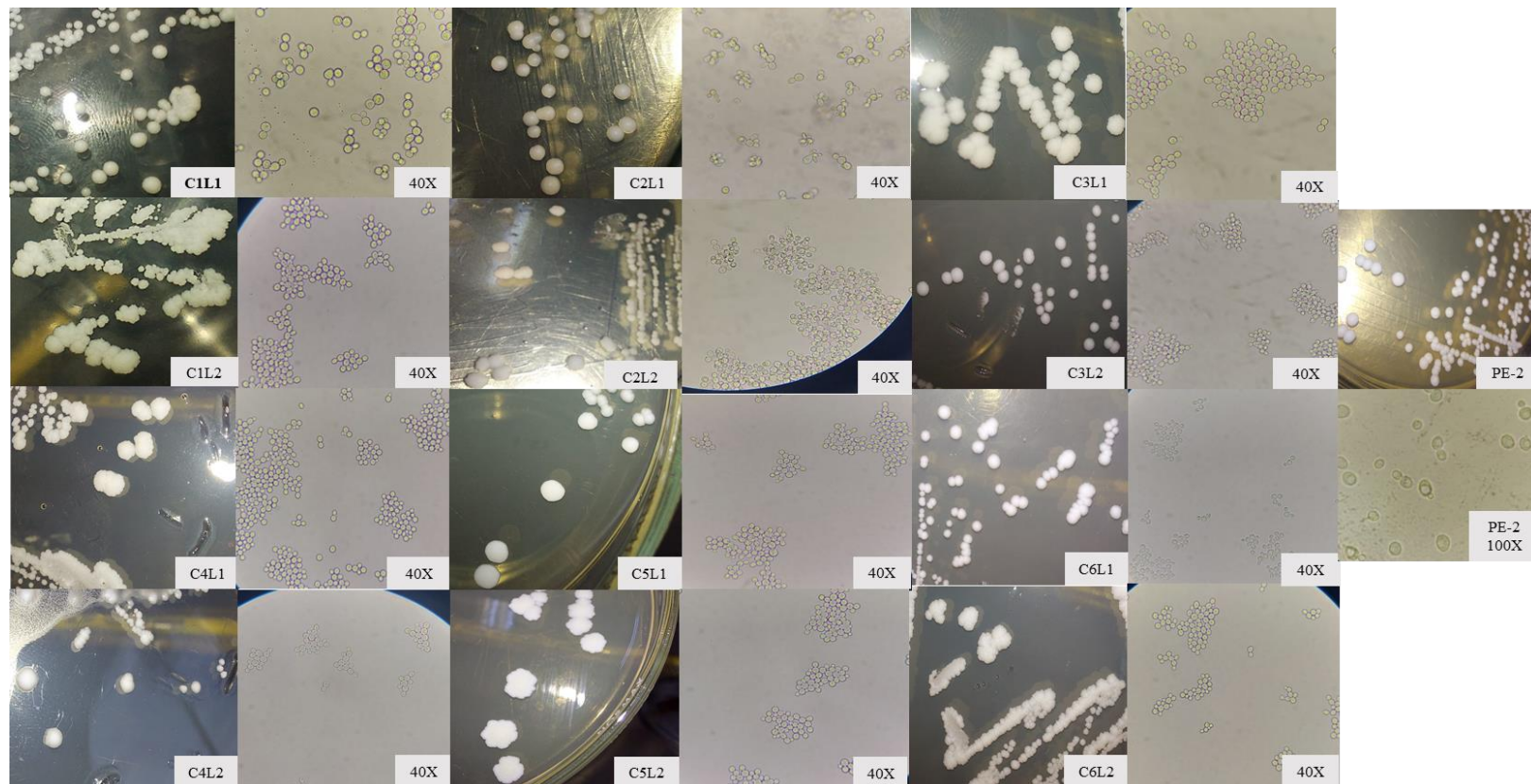
Para contextualizar estas observaciones, se compararon los aislados con la cepa industrial *Saccharomyces cerevisiae* PE-2, ampliamente utilizada en la producción de etanol en Brasil. PE-2 se caracteriza por formar colonias circulares con bordes enteros, textura lisa y apariencia opaca. A nivel microscópico, presenta células individuales con brotes característicos de su reproducción por gemación, como es típico de esta especie (Figura 4). En contraste, las levaduras aisladas en las seis colectas del presente estudio mostraron una disposición celular diferente, lo que sugiere dos posibles explicaciones. Por un lado, estas levaduras podrían pertenecer a una especie distinta dentro del género *Saccharomyces*, dada la variabilidad morfológica observada. Por otro lado, las agrupaciones celulares podrían ser

el resultado de la alta contaminación bacteriana en las muestras, lo cual podría interferir en el crecimiento y la disposición típica de las levaduras (Lucena et al. 2005).

Sin embargo, es necesario realizar análisis adicionales, como pruebas genéticas y fisiológicas, para identificar con precisión la especie de los aislados y determinar si las condiciones del entorno están influyendo en su morfología y disposición celular. Dicho enfoque permitirá esclarecer si las diferencias observadas son inherentes a las levaduras aisladas o una consecuencia del entorno contaminado.

Figura 4

Morfología macroscópica y microscópica de levaduras aisladas en las 6 colectas y la cepa de referencia PE-2



El proceso de fermentación implementado en la Usina Santa-Lúcia se realiza de forma continua en seis fermentadores y las muestras analizadas son recolectadas del tanque número tres. Este procedimiento incluye la inyección de nueva levadura mensualmente, con el fin de renovar las células fermentativas y reducir los niveles de contaminación bacteriana. En particular, la colecta 3 se realizó menos de diez días después de la inyección de nueva levadura, lo que probablemente explica el menor recuento bacteriano observado (Tabla 3) y la ausencia de floculación en las levaduras (Figura 2B). Este comportamiento difiere considerablemente de lo registrado en otras colectas, sugiriendo que el tiempo transcurrido después de la renovación de la levadura tiene un impacto significativo en la dinámica de la contaminación bacteriana y el estrés en las levaduras. Este factor temporal, asociado a la reintroducción de levadura fresca, resalta la dinámica de las poblaciones microbianas en el proceso de fermentación continua, ya que el menor tiempo transcurrido desde la inyección de la nueva levadura, como en la colecta 3, parece haber favorecido una menor contaminación bacteriana y una mayor estabilidad de las levaduras. Sin embargo, en otras colectas, como la 6, la contaminación bacteriana y el estrés en las levaduras aumentaron, lo que se reflejó en la floculación excesiva observada en la figura 2A. Este fenómeno es indicativo de la posible competencia entre las levaduras y las bacterias contaminantes por los nutrientes presentes en el medio (Bonatelli, 2017).

En Brasil, los procesos fed-batch son los más utilizados, representando aproximadamente el 83% de las destilerías, en contraste con el 17% de destilerías que emplean fermentación continua. Aunque los procesos fed-batch requieren una mayor inversión inicial, han demostrado generar mejores rendimientos fermentativos en comparación con los procesos continuos, como lo indican los resultados de un estudio realizado por Godoy et al. (2008) con 62 destilerías, donde los sistemas fed-batch alcanzaron mayores rendimientos y menor contaminación bacteriana en el mosto. No obstante, la eficiencia de un proceso fed-batch depende en gran medida de su correcta implementación, ya que una operación mal gestionada puede resultar menos eficiente que una fermentación continua bien diseñada (Lopes et al. 2016).

En cuanto al aislamiento de bacterias, se logró obtener un total de 15 morfologías durante las seis colectas. La mayoría de estos aislados tenían características visuales muy parecidas entre

colectas, sin embargo, algunas diferían de otras. Los datos se encuentran detallados en la tabla 5 y las morfologías macroscópicas de las bacterias se pueden visualizar en la figura 5.

Tabla 5

Caracterización de las bacterias aisladas en las seis colectas

Colecta	Característica								Tinción Gram
	Forma	Bordes	Color	Superficie	Brillo	Elevación	Consistencia	Catalasa	
C1B1	Circular	Ondulado	Blanco #FFFFFF	Lisa	Brillosa	Convexa	Seca	Negativo	Positivo
C1B2	Circular	Entero	Blanco #FFFFFF	Lisa	Brillante	Convexa	Creмоса	Negativo	Positivo
C1B3	Puntiforme	Entero	Nieve #FFFAFA	Lisa	Opaca	Plana	Seca	Negativo	Positivo
C2B1	Circular	Entero	Blanco #FFFFFF	Lisa	Brillosa	Convexa	Creмоса	Negativo	Positivo
C2B2	Circular	Entero	Nieve #FFFAFA	Lisa	Opaca	Plana	Seca	Negativo	Positivo
C2B3	Circular	Entero	Blanco #FFFFFF	Lisa	Brillosa	Convexa	Seca	Negativo	Positivo
C3B1	Circular	Entero	Nieve #FFFAFA	Lisa	Brillosa	Plana	Creмоса	Negativo	Positivo
C3B2	Puntiforme	Entero	Nieve #FFFAFA	Lisa	Brillosa	Plana	Seca	Negativo	Positivo
C3B3	Circular	Entero	Nieve #FFFAFA	Lisa	Brillosa	Plana	Creмоса	Negativo	Positivo
C3B4	Circular	Entero	Blanco #FFFFFF	Lisa	Brillosa	Plana	Seca	Negativo	Positivo
C4B1	Puntiforme	Ondulado	Nieve #FFFAFA	Rugosa	Brillosa	Pulvinada	Creмоса	Negativo	Positivo
C4B2	Puntiforme	Ondulado	Blanco #FFFFFF	Lisa	Opaca	Plana	Seca	Negativo	Positivo
C5B1	Puntiforme	Entero	Nieve #FFFAFA	Lisa	Opaca	Plana	Creмоса	Negativo	Positivo
C6B1	Circular	Entero	Nieve #FFFAFA	Lisa	Brillosa	Convexa	Creмоса	Negativo	Positivo
C6B2	Puntiforme	Entero	Nieve #FFFAFA	Lisa	Opaca	Plana	Seca	Negativo	Positivo

Nota: Esta tabla describe la morfología macroscópica de las bacterias encontradas en las seis colectas realizadas en Agar MRS. Las bacterias están codificadas por el número de la colecta antecedido por la letra C y el número de la morfología antecedido por la letra B, este último en función de la cantidad de morfologías encontradas en la misma colecta.

Los aislados bacterianos analizados presentaron características visuales, fisiológicas y morfológicas similares entre sí y a las bacterias ácido lácticas (BAL) de colección. Todos los aislados resultaron ser bacilos Gram positivos, con variaciones en su longitud (algunos largos y otros más cortos). En cuanto a la disposición celular, se identificaron bacilos completamente aislados, como C3B2 y C6B2, y bacilos con disposición filamentosa, como C2B2, aunque la disposición más común fue en agrupaciones irregulares (figura 6).

Desde el punto de vista fisiológico, todos los aislados fueron catalasa negativos (Tabla 5), resultado consistente con las cepas de colección *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus plantarum*, utilizadas como punto de referencia. Estas cepas son representantes típicos de las bacterias ácido-lácticas (BAL), conocidas por su capacidad de tolerar condiciones adversas como la presencia de etanol, pH bajo y altas temperaturas, características comunes en los procesos de fermentación industrial (Narendranath & Power, 2005). Cabe destacar que las bacterias ácido lácticas, incluyendo las cepas de referencia empleadas, están frecuentemente asociadas a la contaminación de procesos industriales de fermentación, como la producción de bioetanol. Esto sugiere que los aislados obtenidos podrían compartir adaptaciones similares que les permiten prosperar en estos entornos.

Figura 5

Morfología macroscópica de las bacterias aisladas en las seis colectas

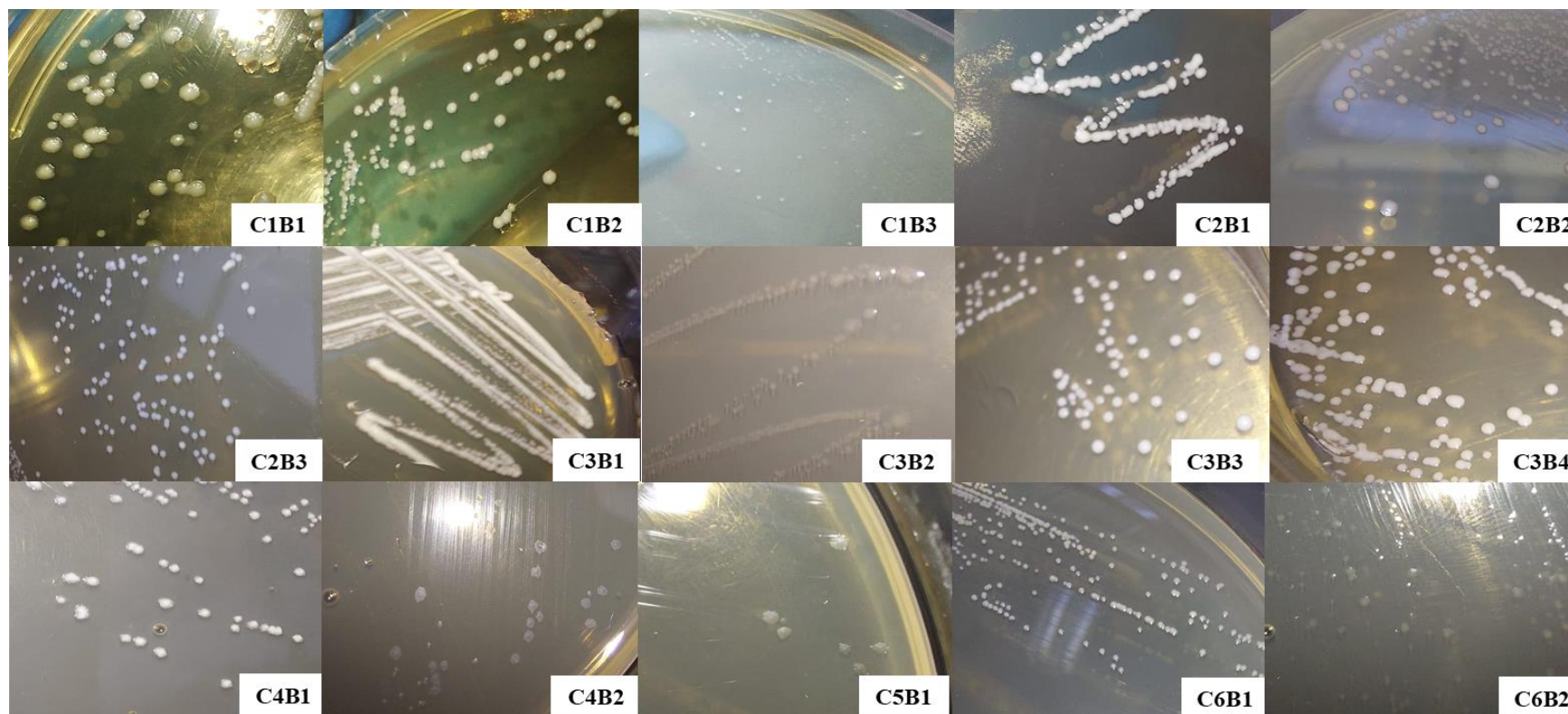
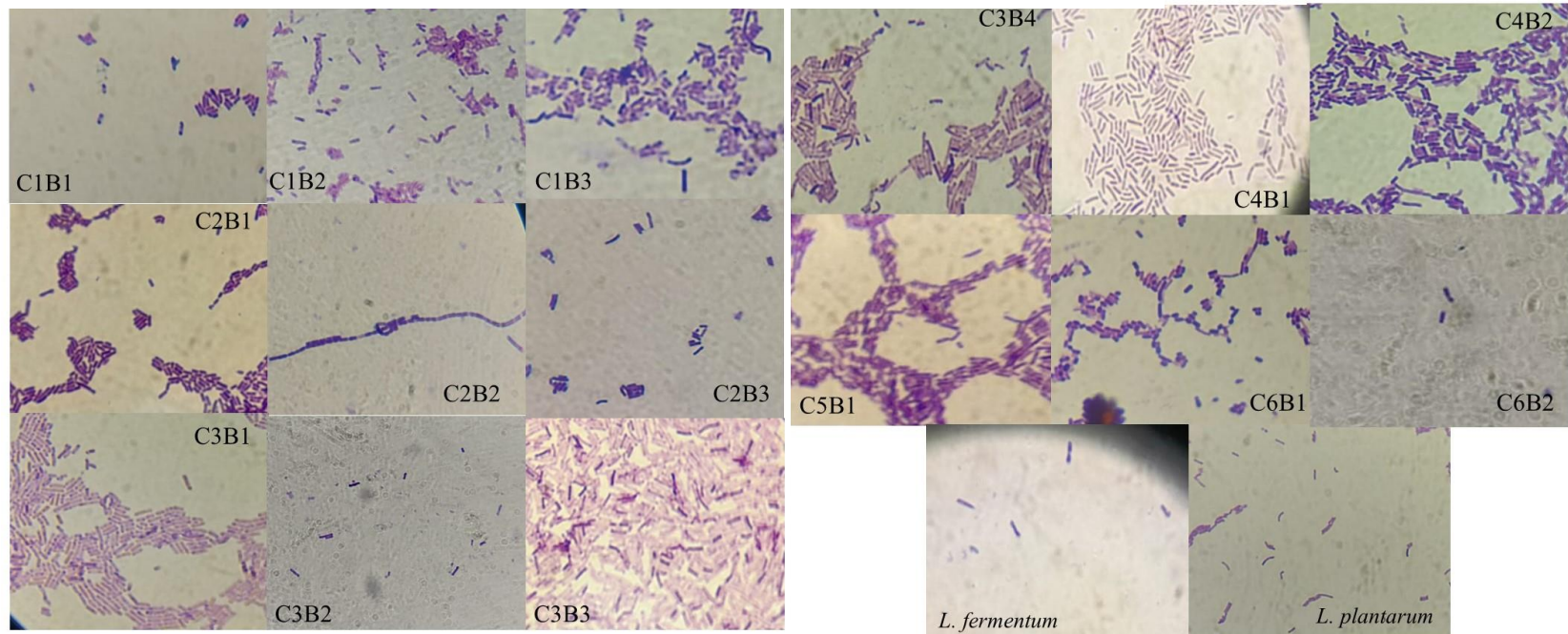


Figura 6

Tinción Gram de aislados bacterianos de las seis colectas y las dos cepas de referencia



Nota: todas las imágenes fueron capturadas en el lente de un microscopio óptico con un aumento de 100X.

7.3. NIVELES DE TOLERANCIA AL ESTRÉS ÁCIDO-ETANÓLICO

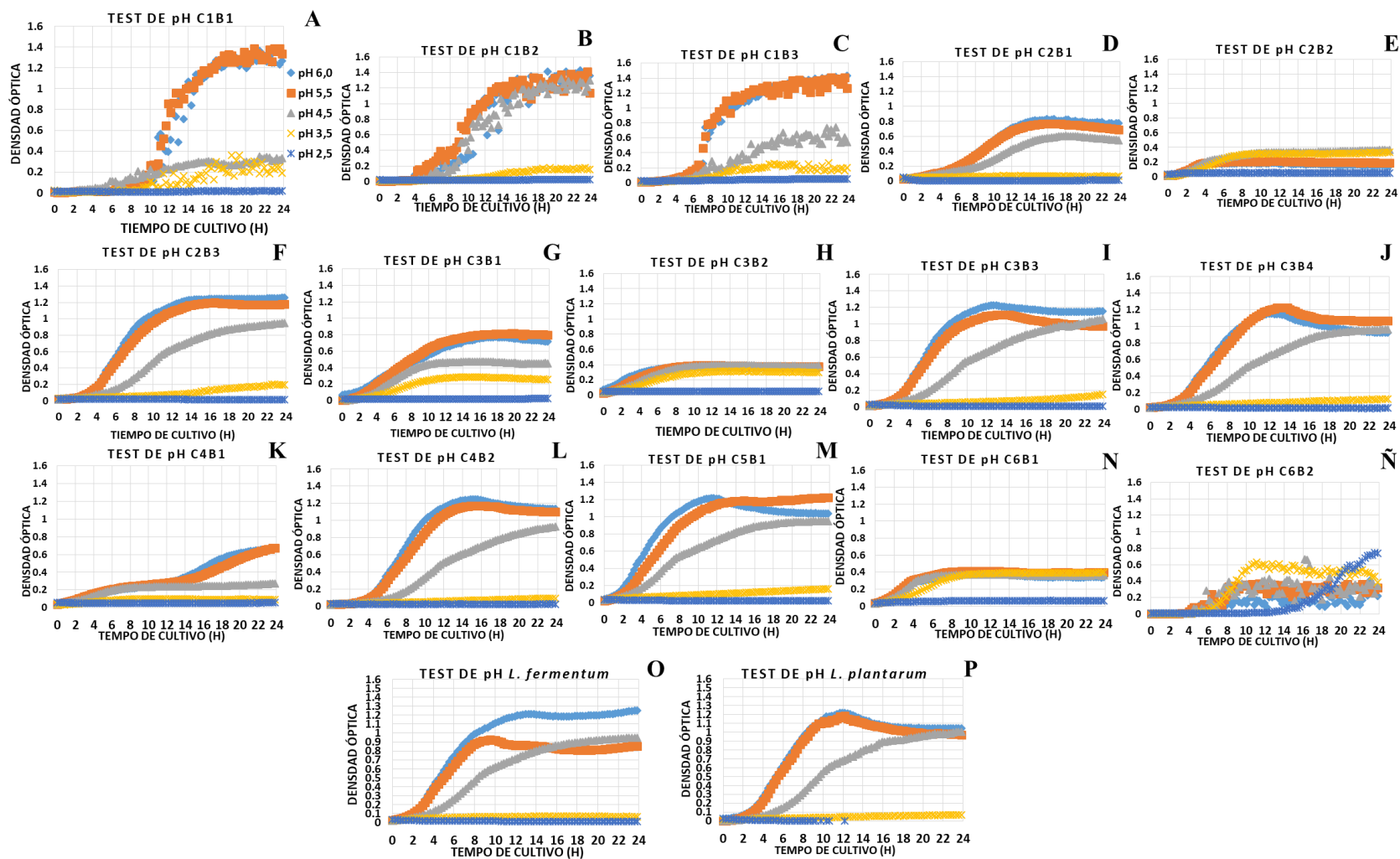
Los análisis realizados en el lector de microplacas bajo diferentes condiciones de pH y etanol revelaron valores de crecimiento únicos para cada microorganismo, evidenciando una diversidad fisiológica entre los aislados. Sin embargo, también se identificaron patrones comunes entre las colectas, lo que permite entender mejor las adaptaciones de estos microorganismos a las condiciones fermentativas industriales. Los valores promedio de cada absorbancia arrojada por el lector de microplacas se pueden visualizar en las tablas 12 a 22, en anexos.

7.3.1. TOLERANCIA AL pH

La mayoría de los aislados mostró un rango de pH favorable entre 6.0 y 5.5, con una disminución significativa en el crecimiento a partir de pH 4.5 (figura 7). Aunque algunos microorganismos lograron crecer en pH 3.5, todos los aislados murieron a pH 2.5, con excepción de la cepa C6B2 (Figura 7-Ñ), que exhibió un comportamiento inusual. Este resultado está en línea con estudios previos que documentan que las bacterias contaminantes comunes en fermentaciones industriales, como *Lactobacillus*, tienen tolerancia limitada a pH extremadamente bajos (Brexó & Sant'Ana, 2017). La capacidad de C6B2 para sobrevivir a pH 2.5 podría indicar la presencia de mecanismos especializados de resistencia, como sistemas de regulación del pH intracelular o proteínas de choque ácido, que merecen una investigación más detallada (Bonatelli et al., 2017).

Figura 7

Curva de crecimiento de bacterias aisladas en las seis colectas bajo variaciones de pH



Nota: Curvas de crecimiento bacteriano obtenidas bajo diferentes condiciones de pH. Las curvas muestran el crecimiento en términos de densidad óptica (DO) a lo largo del tiempo (en horas), permitiendo identificar la fase exponencial de crecimiento, la duración de la fase de latencia y la variación de absorbancia (ΔAb).

7.3.2. TOLERANCIA AL ETANOL

En términos de tolerancia al etanol, la mayoría de las bacterias mostró tolerancia hasta concentraciones de 15% y 20%, especialmente las de las colectas 1, 4 y 5. No obstante, algunas bacterias no toleraron concentraciones superiores al 10% de etanol, lo que refleja una heterogeneidad en la capacidad adaptativa de los aislados. Este comportamiento puede estar relacionado con diferencias en las condiciones locales de las muestras recolectadas o con variaciones genéticas entre los aislados.

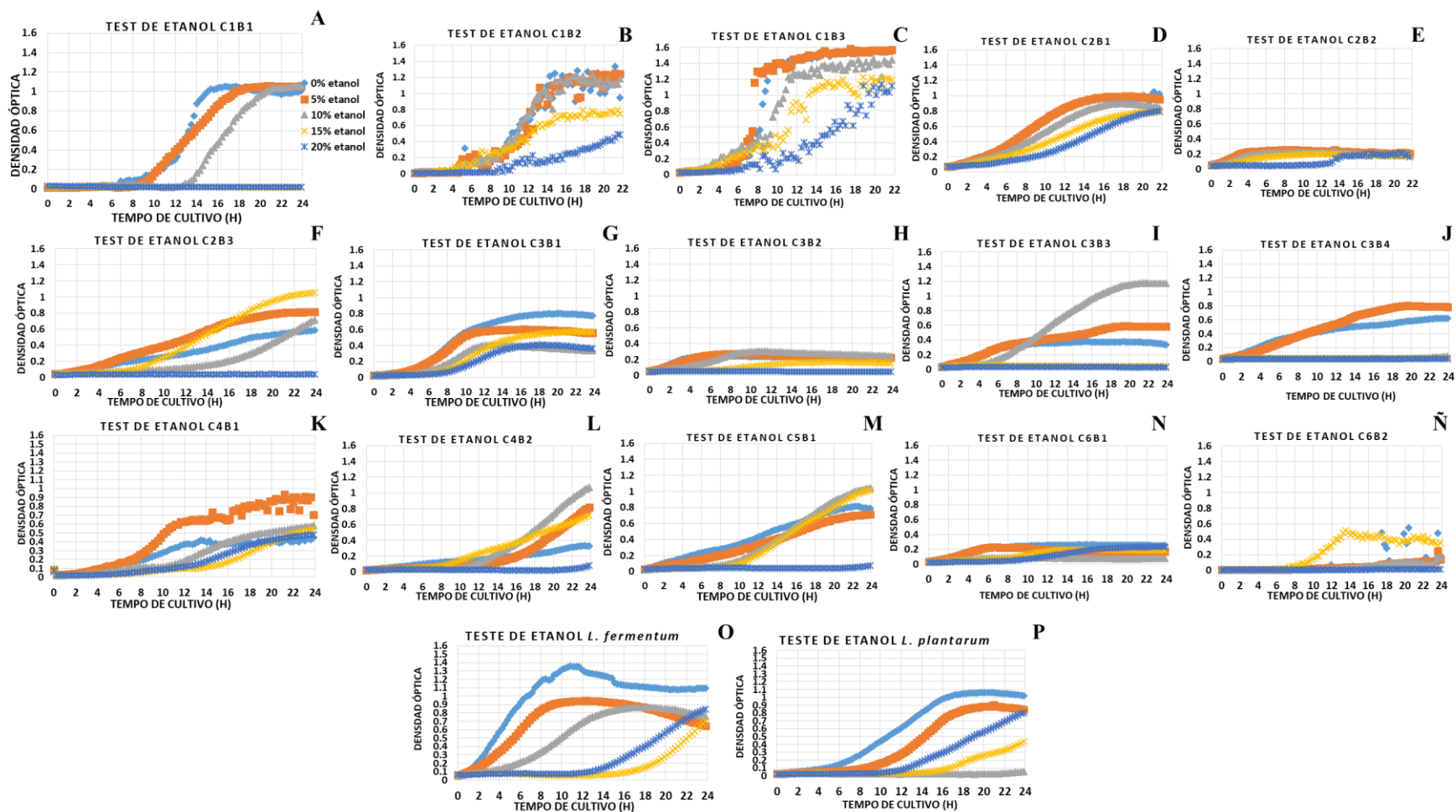
Un aspecto distintivo observado en las colectas 1 y 6 fue la formación de aglomeraciones de masa celular en el fondo de las microplacas (ver en anexos figuras 18 y 19), lo que generó gráficos con puntos de datos dispersos. Esta aglomeración, que fue visualmente evidente tras la lectura en el equipo, sugiere la posible formación de biofilms. Los biofilms son una estrategia adaptativa bien documentada en bacterias contaminantes industriales, permitiendo a los microorganismos resistir condiciones de estrés, como altas concentraciones de etanol y fluctuaciones de pH, al crear un entorno protegido y autosuficiente (Brexó & Sant'Ana, 2017). Estas estructuras también dificultan su eliminación en procesos industriales, lo que puede contribuir a la persistencia de contaminaciones crónicas en los sistemas de fermentación (Costa et al., 2014). En contraste, otros aislados presentaron un crecimiento más uniforme, por lo que se asume que existen diferencias en las estrategias de supervivencia entre las bacterias estudiadas.

En general, los patrones de crecimiento de los aislados se asemejan a los observados en las bacterias de colección utilizadas como referencia (figura 7 O-P), lo que sugiere que estas comparten características fisiológicas con especies contaminantes conocidas, como *Lactobacillus* y otras bacterias ácido lácticas (Bonatelli et al., 2017). Estas similitudes son relevantes en el contexto industrial, ya que refuerzan la hipótesis de que las bacterias aisladas tienen un papel activo en la dinámica de las contaminaciones en los procesos de fermentación, particularmente por su tolerancia al estrés ambiental y su posible capacidad de

formar biofilms. Sin embargo, la discusión más a fondo sobre cada colecta se presenta en la siguiente sección.

Figura 8

Curva de crecimiento de bacterias aisladas en las seis colectas bajo diferentes porcentajes de etanol



Nota: Curvas de crecimiento bacteriano obtenidas bajo diferentes concentraciones de etanol. Las curvas muestran el crecimiento en términos de densidad óptica (DO) a lo largo del tiempo, permitiendo identificar la fase exponencial de crecimiento, la duración de la fase de latencia (λ , en horas) y la variación de absorbancia (ΔDO).

7.4. ANÁLISIS COMBINADO DE LOS PARÁMETROS DE TOLERANCIA ÁCIDO-ETANÓLICA

Los resultados evidencian cómo las variables de pH y concentración de etanol influyen de manera diferenciada en los aislados bacterianos evaluados, reflejando adaptaciones específicas frente a condiciones estresantes. Para analizar estos efectos, se consideraron tres parámetros clave del crecimiento microbiano: **la velocidad específica máxima de crecimiento, variación de absorbancia y el tiempo correspondiente a la fase de latencia**. Los valores promedio de cada una de estas variables se presentan en las tablas 6, 7 y 8.

Tabla 6

Valores promedio de la variación de absorbancia de los aislados bajo variaciones de pH y etanol

Variación de absorbancia											
Grupo		pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH2.5	0%	5%	10%	15%	20%
							etanol	etanol	etanol	etanol	etanol
Colecta 1	C1B1	0,7415	1,0494	0,5152	0,2213	0	0,359	0,5902	1,1289	0,685	0,2787
	C1B2	1,3296	1,384	1,0238	0,1506	0,0006	0,926	1,1932	1,1714	0,7311	0,4739
	C1B3	1,3084	1,0971	0,8236	0,2266	0,0238	1,5266	1,4	1,1872	1,2353	1,0909
colecta 2	C2B1	0,5261	0,6665	0,4988	0,0212	0	0,9478	0,8793	0,7685	0,7126	0,7315
	C2B2	0,1276	0,1688	0,3449	0,3173	0,0207	0,1291	0,1549	0,1407	0,1266	0,1217
	C2B3	0,3138	0,2325	0,0697	0,0664	0	0,0876	0,1271	0,1906	0,1955	0
colecta 3	C3B1	0,6373	0,7961	0,4589	0,2452	0,0076	0,7331	0,5281	0,3026	0,5369	0,3241
	C3B2	0,2599	0,3555	0,3313	0,2617	0,0023	0,1568	0,1646	0,1814	0,102	0,0066
	C3B3	0,4334	0,4202	0,3236	0,2665	0	0,2815	0,4981	1,052	0,0081	0,0034
	C3B4	0,1716	0,2794	0,137	0	0	0,5686	0,8694	0,0581	0,0089	0,0086
colecta 4	C4B1	0,6369	0,6511	0,2409	0,055	0,0009	0,3753	0,7644	0,5348	0,4616	0,4059
	C4B2	1,1109	1,0756	0,925	0,0735	0,001	0,2978	0,8315	1,0725	0,7212	0,0783

Colecta 5	C5B1	0,9958	1,2038	0,9153	0,1304	0	0,7474	0,6915	1,0253	0,9968	0,0501
Colecta 6	C6B1	0,3105	0,3631	0,3342	0,3651	0,0247	0,1711	0,1354	0,0544	0,1338	0,2084
	C6B2	0,2034	0,3223	0,2411	0,3902	0,7284	0,3834	0,1322	0,1534	0,2343	0,0059
<i>L. Fermentum</i>		1,2316	0,8394	0,9311	0,0359	0	1,0286	0,576	0,6844	0,6873	0,7965
<i>L. Plantarum</i>		1,0137	0,9682	1,0067	0,0588	0	0,983	0,809	0,0456	0,4493	0,7992

Tabla 7

Valores promedio de velocidad específica máxima de crecimiento de los aislados bajo variaciones de pH y etanol

Grupo		Velocidad específica máxima de crecimiento (h-1)									
		pH					0%	5%	10%	15%	20%
		pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH2.5	etanol	etanol	etanol	etanol	etanol
Colecta 1	C1B1	0,567	0,5159	0,1187	0,2777	0	0,2475	0,2193	0,3838	0,216	0,2129
	C1B2	0,1523	0,2389	0,2747	0,166	0	0,2892	0,3054	0,2933	0,1852	0,1395
	C1B3	0,5282	0,5359	0,18	0,0771	0	0,6172	0,8447	0,2616	0,1875	0,1988
colecta 2	C2B1	0,2965	0,1778	0,1715	0	0	0,2006	0,1762	0,1682	0,1378	0,1191
	C2B2	0,6214	0,5086	0,0858	0,3991	0	0,369	0,3819	0,389	0,3302	0,6805
	C2B3	0,3138	0,2325	0,0697	0,0664	0	0,0876	0,1271	0,1906	0,1955	0
colecta 3	C3B1	0,1384	0,1453	0,3717	0,2123	0	0,2768	0,2824	0,2886	0,222	0,2605
	C3B2	0,1889	0,1974	0,2116	0,1871	0	0,4361	0,1444	0,1967	0,0273	0
	C3B3	0,2914	0,1183	0,1956	0,1068	0	0,3086	0,3259	0,2237	0	0
	C3B4	0,1363	0,1124	0,2634	0	0	0,3628	0,1721	0	0	0
colecta 4	C4B1	0,0951	0,106	0,2282	0	0	0,1839	0,3012	0,198	0,1735	0,0873
	C4B2	0,2978	0,2377	0,2926	0	0	0,0674	0,1759	0,1624	0,0957	0,4236
Colecta 5	C5B1	0,3117	0,2487	0,3324	0,042	0	0,111	0,1054	0,1588	0,1011	0
Colecta 6	C6B1	0,48	0,5442	0,5701	0,3274	0	0,3929	0,3573	0,2459	0,1817	0,1701
	C6B2	-	-	-	0,4808	0,4383	0	0	0	0,3811	0
<i>L. Fermentum</i>		0,2753	0,2816	0,3197	0	0	0,282	0,2753	0,2071	0,2551	0,1561
<i>L. Plantarum</i>		0,24	0,2323	0,3342	0	0	0,2635	0,2419	0	0,1403	0,1755

Tabla 8

Valores promedio del tiempo de fase de latencia (lag) de los aislados bajo variaciones de pH y etanol

Tiempo fase lag (horas)											
-------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

							0%	5%	10%	15%	20%
Grupo		pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH2.5	etanol	etanol	etanol	etanol	etanol
Colecta 1	C1B1	9	9,8	6	0	-	6,6	8,7	12,4	0	0
	C1B2	4	4,7	5,5	14,3	-	4,5	4,5	4,7	5,5	10,3
	C1B3	6,3	6,3	6,8	9,8	-	4,7	5,2	1,8	3,4	6,8
colecta 2	C2B1	3,7	3,7	6,8	0	-	0	0	0	0	3
	C2B2	0,2	1	0,2	2,6	-	0,2	0,5	12,9	2,11	0,7
	C2B3	2,3	2,38	3,97	14,3	-	0	0,7	14	7	-
colecta 3	C3B1	1	2,1	1,5	4,5	-	2,11	3,4	4,2	8,2	8,2
	C3B2	0	1,8	1,5	1,5	-	0	0,5	0,7	7,1	-
	C3B3	2	2,6	4	20	-	0	0	4	-	-
	C3B4	2,6	3,9	4,5	13	-	0	0	-	-	-
colecta 4	C4B1	1,3	1,3	1	3	-	2,11	2,6	10	15	6
	C4B2	3,4	4,9	5,5	0	-	2	14	10,3	8,2	22,7
Colecta 5	C5B1	0	2,1	3,1	5	-	0	0,7	8,4	9,2	22
Colecta 6	C6B1	0	1,3	0,7	1,5	-	0	1	2,9	8	8,5
	C6B2	5	6,6	6	6	14,3	17,4	17,2	-	7,5	-
<i>L. fermentum</i>		1,5	1,3	2,3	-	-	0	1	1,8	12,1	16,6
<i>L. plantarum</i>		2	2	4	0	0	4	6,6	22	14,8	13

Nota: esta tabla presenta los valores promedios de las fases de latencia de todas las bacterias aisladas en este estudio. El tiempo cero refleja aquellas bacterias que no tuvieron fase de latencia, es decir, su crecimiento fue inmediato, mientras que el guion (-) representa aquellas bacterias que no crecieron bajo la condición específica en la que se encuentra, es decir, hubo muerte celular.

Para interpretar de manera precisa la respuesta de cada bacteria bajo las diferentes condiciones de pH y etanol evaluadas, se realizó un análisis mediante el test de Tukey con los datos obtenidos de la variación de absorbancia, una herramienta estadística que permitió identificar diferencias significativas en el comportamiento de cada bacteria frente a las condiciones de estrés ácido-etílico, proporcionando una comparación directa entre su desempeño en distintas combinaciones de pH y etanol. Los resultados plasmados en la tabla 9 e igualmente ilustrados en las gráficas de las figuras 9 a 15 indican que, cuando una bacteria presenta la misma letra en dos o más condiciones, su respuesta no mostró diferencias estadísticamente significativas, lo que sugiere un comportamiento consistente en esas condiciones específicas. Sin embargo, cuando las letras asignadas son diferentes, se identifican diferencias significativas, reflejando una variabilidad en su nivel de tolerancia a

los factores de estrés evaluado. De esta forma, es posible establecer una diferenciación o comparación de manera individual de la respuesta de cada bacteria bajo los distintos niveles de estrés.

Tabla 9

Test de Tukey realizado a la variación de absorbancia

Test de Tukey												
	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	0% etanol	5% etanol	10% etanol	15% etanol	20% etanol		
C1B1	0,77 ab	1,19 a	0,46 bc	0,13 c	0,00 c	0,82 a	1,03 a	1,03 a	0,00 b	0,00 b		
C1B2	1,29 a	1,14 a	1,09 a	0,17 b	0,00 b	0,93 ab	1,17 a	1,17 a	0,73 bc	0,47 c		
C1B3	1,42 a	1,12 ab	0,77 bc	0,17 cd	0,02 d	1,53 a	1,40 a	1,19 a	1,24 a	1,09 a		
C2B1	0,53 a	0,67 a	0,50 a	0,02 b	0,00 b	0,95 a	0,88 ab	0,77 ab	0,71 b	0,73 b		
C2B2	0,13 b	0,17 b	0,34 a	0,31 a	0,02 c	0,13 a	0,15 a	0,14 a	0,13 a	0,12 a		
C2B3	1,24 a	1,16 a	0,94 b	0,18 c	0,00 d	0,48 b	0,77 ab	0,71 b	1,02 a	0,00 c		
C3B1	0,64 a	0,80 a	0,46 ab	0,25 bc	0,01 c	0,72 a	0,53 b	0,30 c	0,54 ab	0,32 c		
C3B2	0,27 b	0,36 a	0,34 a	0,26 b	0,00 c	0,16 a	0,17 a	0,19 a	0,11 b	0,00 c		
C3B3	1,14 a	0,96 a	1,07 a	0,14 b	0,00 b	0,28 c	0,60 b	1,14 a	0,01 d	0,00 d		
C3B4	0,90 a	1,06 a	0,95 a	0,11 b	0,00 b	0,57 a	0,87 a	0,06 b	0,01 b	0,01 b		
C4B1	0,63 a	0,65 a	0,24 b	0,06 c	0,00 d	0,38 b	0,76 a	0,53 ab	0,46 ab	0,41 b		
C4B2	1,11 a	1,08 a	0,93 b	0,07 c	0,00 d	0,30 bc	0,83 a	1,07 a	0,72 ab	0,08 c		
C5B1	1,00 b	1,20 a	0,92 b	0,13 c	0,00 c	0,75 ab	0,69 b	1,03 a	1,00 ab	0,05 c		
C6B1	0,37 a	0,36 a	0,33 a	0,37 a	0,02 b	0,17 a	0,14 ab	0,05 b	0,13 ab	0,21 a		
C6B2	0,20 b	0,32 ab	0,24 b	0,58 ab	0,73 a	0,38 a	0,13 a	0,15 a	0,23 a	0,01 a		
LF	1,23 a	0,84 c	0,93 b	0,04 d	0,00 d	1,03 a	0,58 b	0,68 b	0,69 b	0,80 ab		
LP	1,01 a	0,97 a	1,01 a	0,06 b	0,00 b	0,98 a	0,81 ab	0,05 c	0,45 bc	0,80 ab		

Nota: la tabla presenta los valores promedio de la variación de absorbancia junto con el test de Tukey. Se presentan las letras que representan los grupos homogéneos formados según el test de Tukey, las letras iguales indican que a un nivel de significancia del 5% no hay diferencia estadísticamente significativa de las medias. Resaltado en negrilla se encuentran los valores máximos de Δ Abs.

LF = *Lactobacillus fermentum*; LP = *Lactobacillus plantarum*.

En particular, las bacterias de la colecta 1 destacaron por su notable tolerancia a altas concentraciones de etanol, ya que la mayoría de los aislados mostró valores elevados de absorbancia en prácticamente todas las condiciones evaluadas. Este comportamiento sugiere una capacidad adaptativa significativa frente a concentraciones de etanol de hasta el 20% (Figura 9). Aunque el aumento del etanol prolongó la fase de latencia, la mayoría de las bacterias logró superar este periodo inicial de estrés, mostrando un crecimiento robusto una vez adaptadas. Este fenómeno es consistente con estudios previos que señalan que bacterias como las especies de *Lactobacillus* pueden desarrollar mecanismos de resistencia frente a altas concentraciones de etanol, tales como ajustes en la composición de la membrana celular o la activación de rutas metabólicas específicas, la producción de polisacáridos y biofilms (Costa et al., 2014; Bonatelli et al., 2017).

Sin embargo, la cepa C1B1 representó una excepción dentro de esta colecta. Esta bacteria presentó una menor tolerancia al etanol, mostrando incapacidad para crecer a concentraciones superiores al 15% (Figura 9-D). En contraste, el resto de los aislados evidenció un comportamiento interesante en concentraciones moderadas de etanol (10%), donde la fase de latencia disminuyó significativamente y la variación de absorbancia aumentó (Figura 9 E-F). Este patrón podría estar asociado con una estimulación metabólica inducida por etanol, como se ha documentado en otros estudios. Según Bonatelli et al. (2017), el etanol puede actuar como una señal que activa vías de resistencia en bacterias, promoviendo ajustes metabólicos que les permiten prosperar en condiciones estresantes.

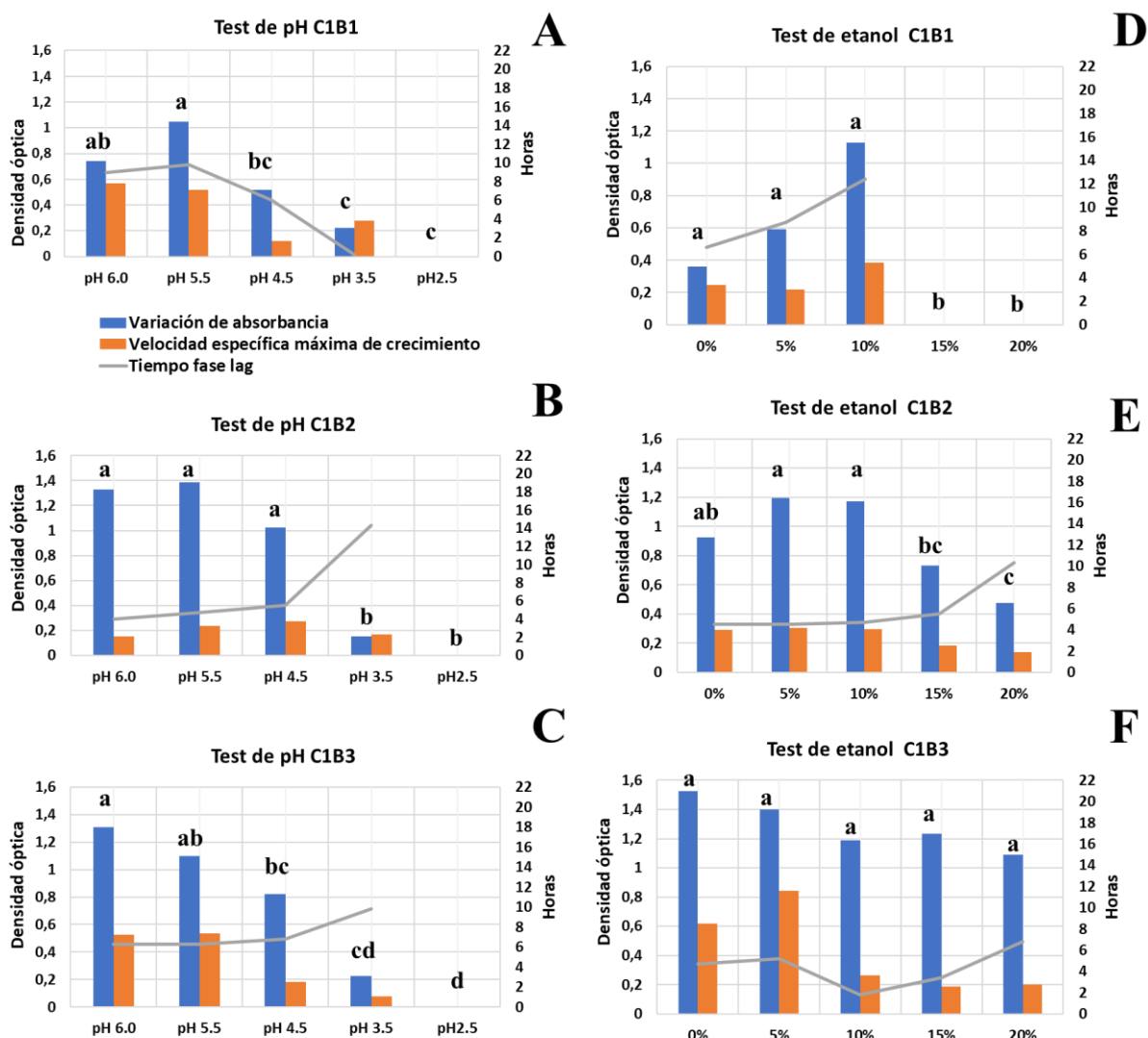
Otro aspecto destacable en esta colecta fue la relación observada entre la duración de la fase de latencia y la robustez del crecimiento bacteriano. Las bacterias con fases de latencia más prolongadas lograron un crecimiento más sostenido, lo que indica que estas invierten tiempo en ajustar su metabolismo al entorno antes de iniciar la división celular. Este comportamiento podría reflejar una estrategia adaptativa que prioriza la sostenibilidad sobre la rapidez de crecimiento. Por el contrario, las bacterias con fases de latencia más cortas mostraron menor viabilidad a largo plazo, lo que sugiere un agotamiento prematuro de recursos metabólicos o una menor capacidad para tolerar el estrés acumulado, según Brexó & Sant'Ana (2017).

En cuanto a la influencia del pH, estos aislados demostraron menor tolerancia en comparación con el etanol. Las condiciones de pH más bajas prolongaron significativamente

los tiempos de fase de latencia y redujeron tanto la variación de absorbancia como la velocidad específica de crecimiento. Este comportamiento refleja la sensibilidad de los aislados a ambientes ácidos, posiblemente debido a la alteración del equilibrio interno del pH celular o la desnaturalización de enzimas esenciales bajo estas condiciones. La relación más adversa entre el pH y la velocidad específica de crecimiento en comparación con el etanol sugiere que estas bacterias son más susceptibles a fluctuaciones en el pH que a concentraciones elevadas de etanol. Esto es consistente con la literatura, que documenta cómo el pH ácido representa un factor limitante importante para bacterias contaminantes en sistemas fermentativos (Costa et al., 2014; Brexó & Sant'Ana, 2017).

Figura 9

Efecto del pH y etanol sobre los aislados bacterianos de la colecta 1



Nota: Los siguientes gráficos muestran los parámetros de crecimiento bacteriano calculados en función de las condiciones de pH y etanol durante el cultivo. Se presentan tres parámetros claves para entender el comportamiento de cada bacteria bajo distintas condiciones de estrés durante un periodo de 24 horas: Velocidad máxima de crecimiento específico (μ_{max} , h^{-1}), duración de la fase de latencia (en horas) y variación de absorbancia (DO). Además, se presentan las letras que representan los grupos homogéneos formados según el test de Tukey en función a los valores de ΔAbs , las letras iguales indican que a un nivel de 5% de significancia no hay diferencia entre las medias.

Los aislados bacterianos de la segunda colecta (Figura 10) se caracterizaron por un patrón de crecimiento peculiar: presentaron un crecimiento general limitado, pero con tiempos de fase de latencia más cortos y velocidades de crecimiento específicas rápidas. Este comportamiento contrasta con el de las bacterias de la colecta 1, donde el crecimiento más robusto estuvo asociado a una fase de latencia prolongada. Sin embargo, comparten una similitud clave: una relación inversamente proporcional entre la velocidad específica máxima de crecimiento y la variación de absorbancia. Es decir, las bacterias que crecieron más rápido mostraron una pérdida de viabilidad más acelerada, reflejada en una menor capacidad para sostener su crecimiento en el tiempo.

Entre los aislados de la segunda colecta, la cepa C2B1 se destacó por su capacidad de tolerar tanto concentraciones elevadas de etanol como pH hasta 4.5, mostrando un crecimiento más robusto bajo estas condiciones (figura 10 A y D). En contraste, las cepas C2B2 y C2B3 (Figura 10 B, C, E, F) evidenciaron un crecimiento mucho más limitado, aunque acelerado. La C2B3 mostró un comportamiento interesante, con un crecimiento positivo en concentraciones moderadas de etanol (5, 10 y 15%), pero incapacidad de sobrevivir a concentraciones del 20%.

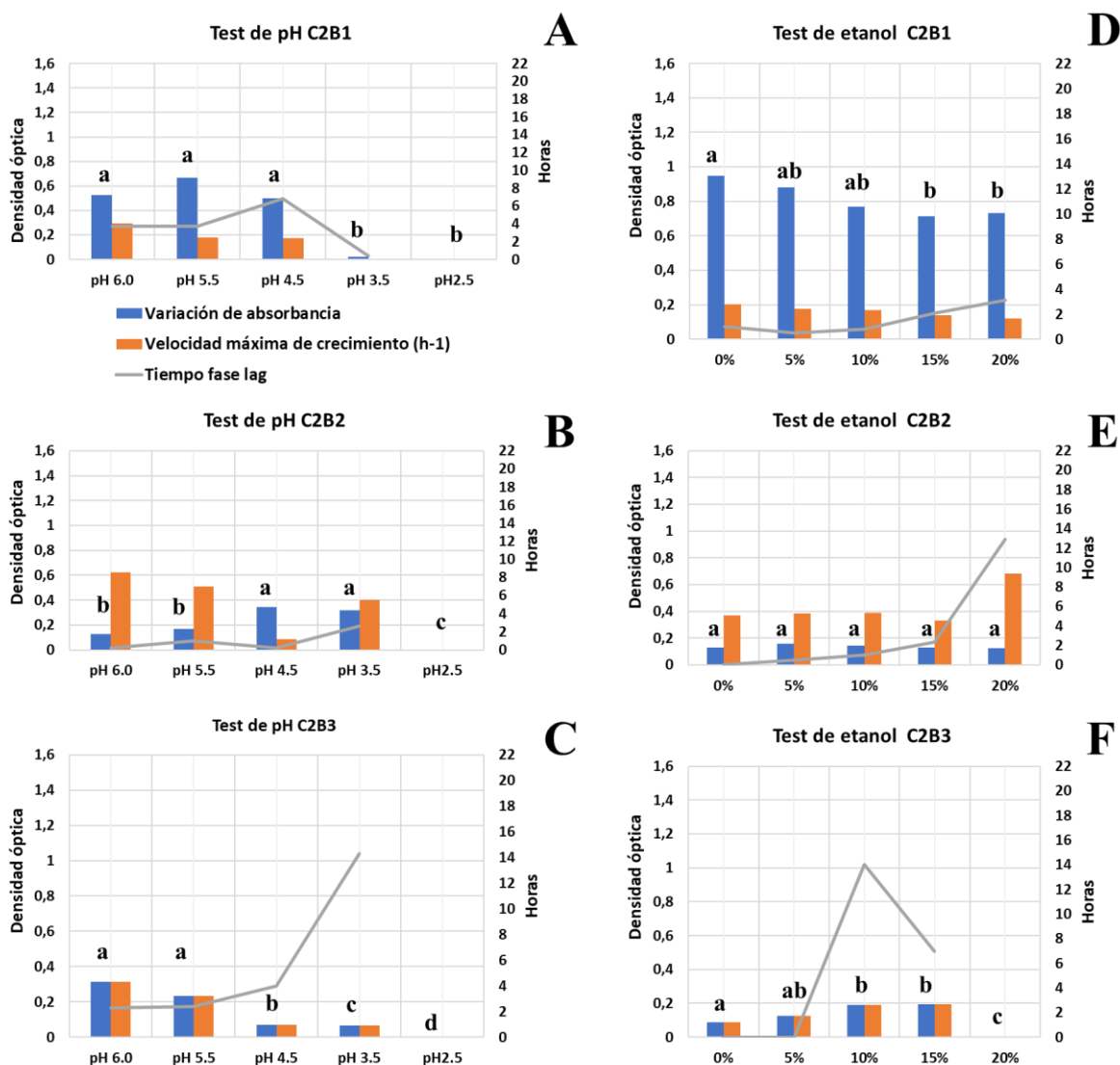
En cuanto al pH, las bacterias de esta colecta confirmaron un patrón observado previamente en las de la primera colecta: son más sensibles a variaciones en el pH que a altas concentraciones de etanol. Aunque lograron tolerar etanol hasta 20%, el crecimiento disminuyó significativamente en pH más bajos, reflejando su susceptibilidad a ambientes ácidos.

Un aspecto interesante de esta colecta es que las bacterias muestran diferencias claras en cómo gestionan su crecimiento bajo las mismas condiciones de fermentación. La cepa C2B1 parece equilibrar bien un crecimiento robusto y sostenido, lo que podría indicar un metabolismo más eficiente o mecanismos adaptativos particulares. En cambio, las cepas C2B2 y C2B3 priorizan un crecimiento rápido, pero esto ocurre a expensas de su viabilidad a largo plazo, ya que su capacidad para mantener el crecimiento disminuye rápidamente. Estas diferencias pueden ser el resultado de una variabilidad natural en las estrategias metabólicas de bacterias del mismo origen, posiblemente influenciada por diferencias

genéticas o fisiológicas específicas. Este tipo de diversidad metabólica puede ser común incluso entre bacterias aisladas del mismo sistema fermentativo (Rich et al., 2015).

Figura 10

Efecto del pH y etanol sobre los aislados bacterianos de la colecta 2



Las bacterias aisladas en la tercera colecta mostraron patrones de crecimiento diversos entre sí, aunque en términos generales mantuvieron ciertas similitudes con los aislados de colectas anteriores. Un aspecto clave observado fue la relación entre la fase de latencia y las condiciones de estrés, donde un aumento en la severidad del estrés, ya sea por disminución

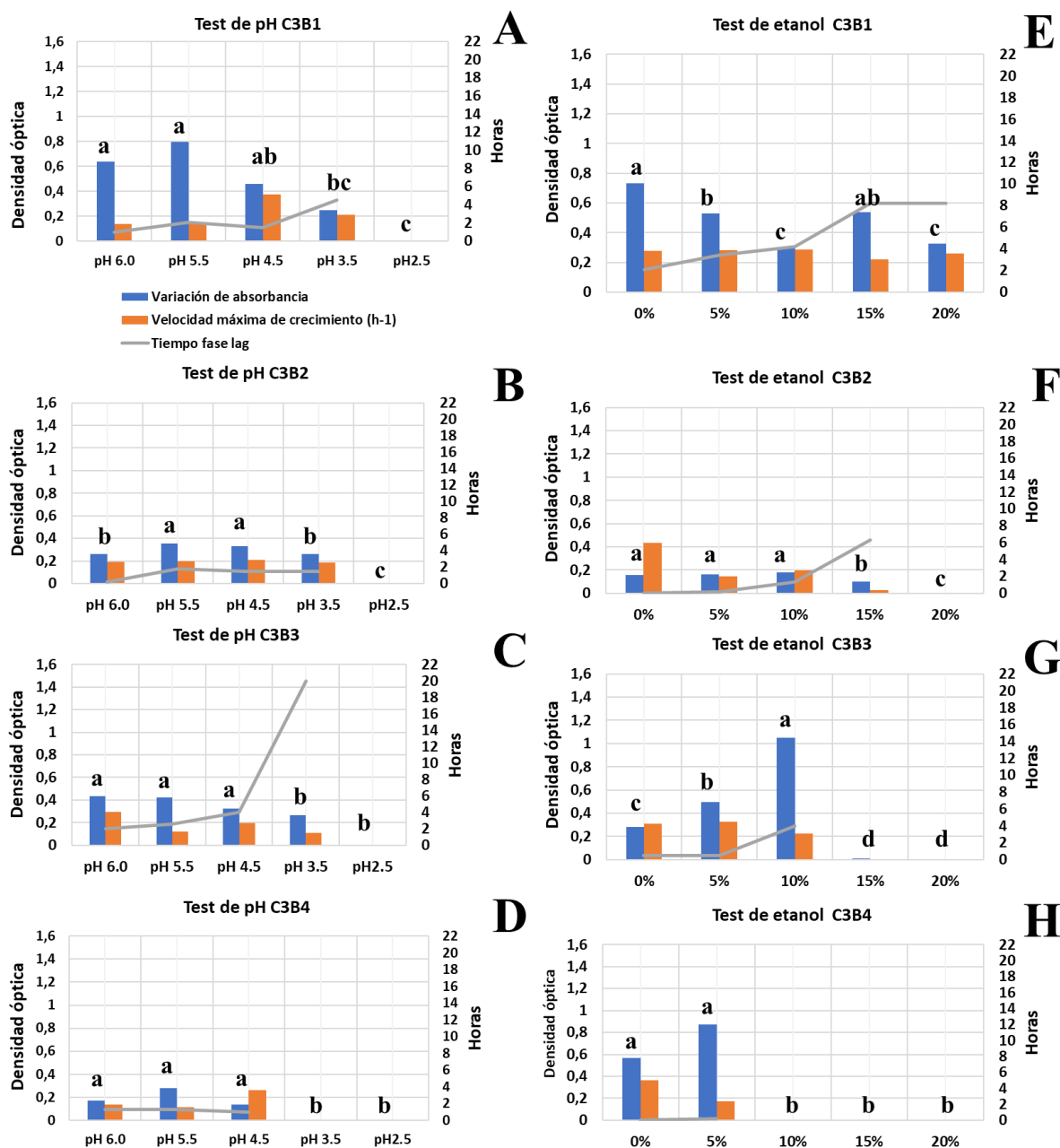
del pH o por incremento en la concentración de etanol, se tradujo en una prolongación de la fase de latencia (Figura 11).

Entre los aislados, la C3B4 destacó como la menos tolerante a condiciones de estrés. Esta bacteria solo pudo crecer hasta pH 4.5 o en presencia de un máximo de 5% de etanol, y perdió completamente la capacidad de crecer a pH menores o concentraciones de etanol más altas (Figura 11 D y H). En contraste, la cepa C3B3 mostró un comportamiento particular, ya que logró su mejor crecimiento a una concentración de etanol del 10% (Figura 11 G). Aunque su fase de latencia fue prolongada en estas condiciones, la bacteria logró adaptarse al medio y mantener un crecimiento robusto.

La cepa más destacada de la colecta fue C3B1, la cual presentó un perfil de tolerancia amplio. Esta bacteria logró crecer bajo todas las condiciones evaluadas, excepto a pH 2.5, un ambiente extremadamente hostil para la mayoría de los microorganismos (figura 11 A y E). Su capacidad para prosperar tanto en condiciones ácidas como en concentraciones de etanol de hasta 20% sugiere la presencia de mecanismos efectivos de adaptación, como la regulación de la homeostasis del pH intracelular y la estabilización de membranas en presencia de etanol. Este comportamiento representa un desafío considerable en procesos industriales al competir eficientemente con las levaduras por nutrientes esenciales y alterar las condiciones del medio.

Figura 11

Efecto del pH y etanol sobre los aislados bacterianos de la colecta 3



Las bacterias de la colecta 4 demostraron un comportamiento inverso al observado en las bacterias de la colecta 2. Mientras que las bacterias de la colecta 2 presentaban velocidades de crecimiento más altas, pero con menor crecimiento, las de la colecta 4 se caracterizaron por un crecimiento más robusto, aunque con velocidades de crecimiento relativamente bajas.

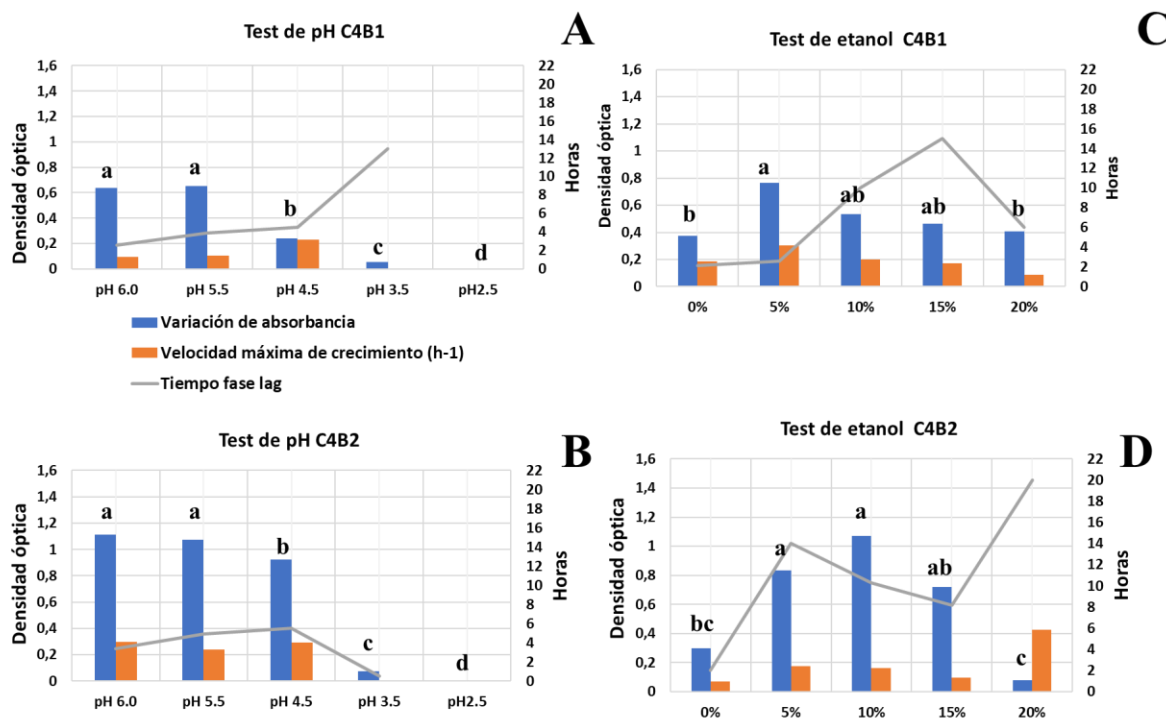
Este contraste sugiere la existencia de diferentes estrategias adaptativas o los requerimientos metabólicos específicos de cada grupo son diferentes.

Una característica común entre las bacterias de la colecta 4 y las de las colectas previas fue su mayor sensibilidad al pH ácido en comparación con el etanol. Ambas cepas de la colecta 4 experimentaron una disminución casi total en su crecimiento bajo condiciones de pH bajo, y su velocidad específica de crecimiento fue mínima en estos casos (figura 12). Estos resultados son consistentes con estudios como los de Carvalho-Netto et al. (2015), quienes describen cómo los ácidos orgánicos y el bajo pH pueden provocar estrés metabólico significativo en microorganismos al alterar el equilibrio energético y generar condiciones intracelulares desfavorables para el crecimiento. El etanol, aunque también un factor estresante, parece ser mejor tolerado por estas bacterias, ya que lograron crecer de manera robusta incluso a concentraciones más altas.

Los valores óptimos para el crecimiento de las bacterias de la colecta 4 se identifican en condiciones de pH moderado (6.0 y 5.5) y concentraciones de etanol de 5 a 10 %, ya que bajo estas condiciones evidenció un desarrollo más estable. A pesar de su menor velocidad de crecimiento, ambas cepas mostraron buena tolerancia a concentraciones más altas de etanol, lo que sugiere la activación de mecanismos de resistencia similares a los descritos en estudios previos, como la regulación génica adaptativa y la protección de membranas celulares (Basso et al., 2013; Carvalho-Netto et al., 2015).

Figura 12

Efecto del pH y etanol sobre los aislados bacterianos de la colecta 4



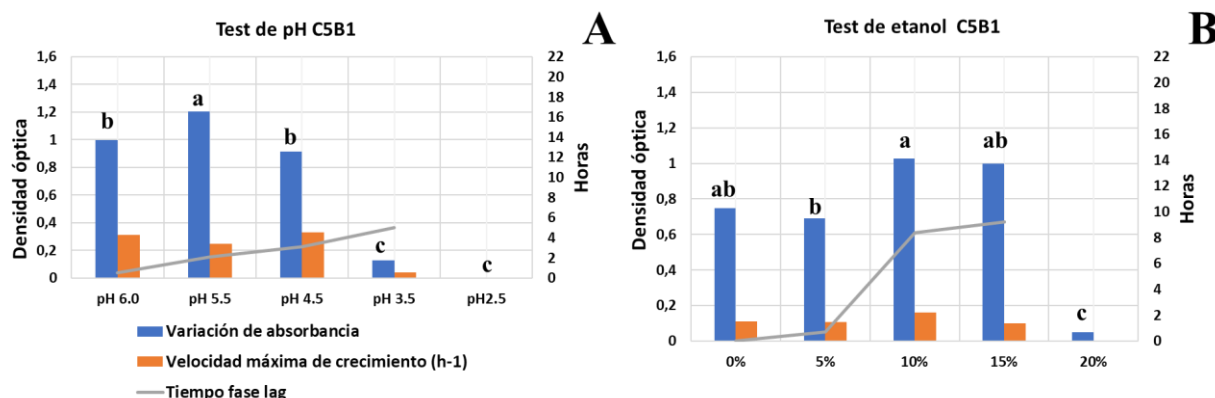
En la colecta 5, se aisló una única bacteria cuya respuesta a variaciones de pH y concentraciones de etanol mostró un patrón consistente con el incremento de la fase de latencia en función del nivel de estrés ambiental. A medida que el pH disminuyó o el porcentaje de etanol aumentó, se observó que la bacteria requería un mayor tiempo para adaptarse al medio antes de iniciar su crecimiento. Una vez completada su fase de adaptación, la bacteria demostró un crecimiento robusto incluso bajo condiciones altamente estresantes, como un 20% de etanol, aunque su velocidad de crecimiento permaneció baja (figura 13). Este perfil es indicativo de una estrategia fisiológica que prioriza la resistencia y la sostenibilidad del crecimiento sobre la rapidez, una característica que también se ha observado en otras bacterias industriales adaptadas a entornos con altos niveles de etanol y estrés osmótico (Basso et al., 2013; Lopes et al., 2016).

En términos de tolerancia al pH, la bacteria aislada presentó un comportamiento consistente con los patrones observados en otras bacterias de este proyecto. Aunque mostró viabilidad

en un rango de pH de 6.0 a 3.5, su crecimiento comenzó a disminuir significativamente a partir de este último valor, y perdió completamente su viabilidad a pH 2.5.

Figura 13

Efecto del pH y etanol sobre los aislados bacterianos de la colecta 5



En la colecta 6 se identificó una bacteria particularmente interesante y potencialmente problemática, la C6B2 (figura 14-B), debido a su capacidad de crecimiento significativo incluso en condiciones extremadamente ácidas, como un pH de 2.5. A pesar de que su fase de latencia fue considerablemente larga, una vez adaptada al medio, esta bacteria mostró un crecimiento rápido y robusto, lo que sugiere una notable tolerancia a niveles extremos de estrés. Este comportamiento es raro entre las bacterias analizadas, ya que la mayoría perdió viabilidad a valores de pH por debajo de 3.5.

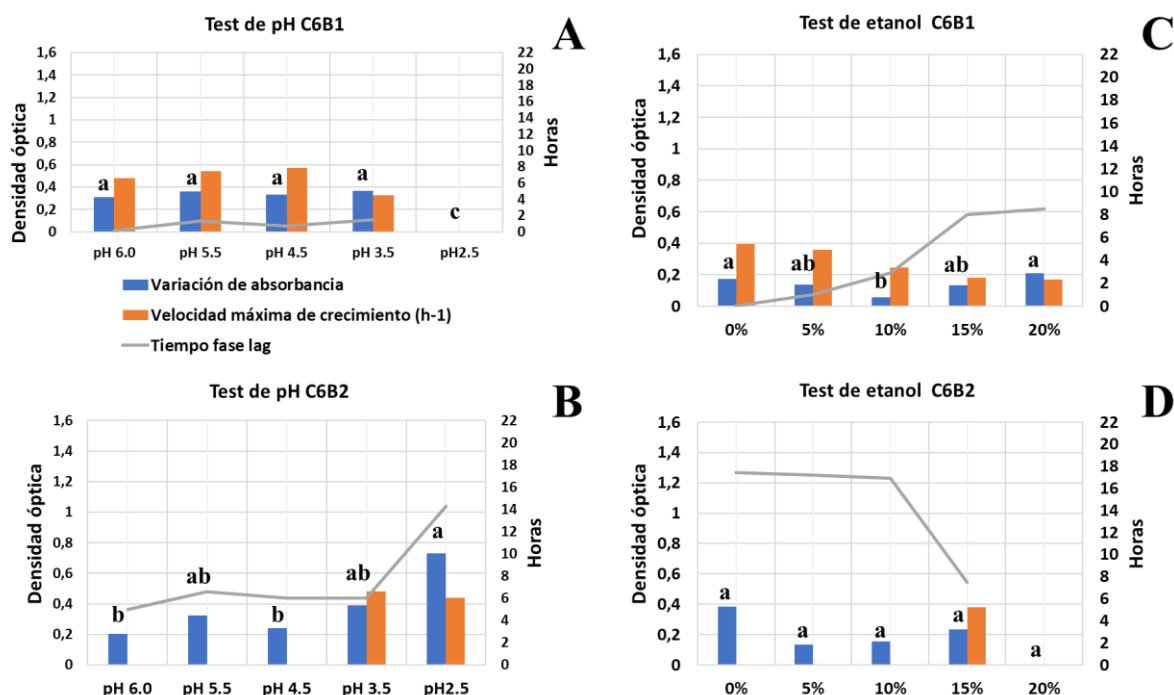
Sin embargo, la caracterización del crecimiento de C6B2 en otras condiciones se vio limitada debido a la formación de aglomeraciones celulares observadas en las microplacas de cultivo (ver en anexos figura 19). Este fenómeno, que también se presentó en bacterias de la primera colecta, interfirió con las lecturas realizadas en el lector de microplacas, dificultando la obtención de datos precisos. Las aglomeraciones no homogéneas en los pocillos pudieron haber causado sobreestimaciones en los valores de densidad óptica, particularmente en condiciones de estrés como los pH bajos. Esto sugiere que los datos obtenidos podrían reflejar, en parte, la acumulación celular más que el crecimiento individual, lo que subraya la necesidad de validar estos resultados mediante métodos alternativos, como el uso de ensayos de viabilidad celular o microscopía (Rich et al., 2015).

La capacidad de formar aglomeraciones celulares sugiere que esta cepa podría ser formadora de biofilms, lo que le confiere ventajas adaptativas en ambientes hostiles. Los biofilms actúan como una barrera protectora frente a condiciones de estrés, facilitando la supervivencia y el mantenimiento del metabolismo en entornos adversos. Esto es consistente con hallazgos previos que relacionan la formación de biofilms con una mayor tolerancia a pH extremos y altas concentraciones de etanol en bacterias industriales (Basso et al., 2013; Carvalho-Netto et al., 2015). Comparando con las bacterias de la primera colecta, que también presentaron aglomeraciones y destacaron por su crecimiento robusto, es posible que la capacidad de formar biofilms sea una estrategia común entre estas cepas para resistir condiciones de estrés severo.

Dado que las lecturas obtenidas para C6B2 en pH 2.5 y 3.5 podrían estar influenciadas por estas aglomeraciones, resulta crucial estudiar más a fondo las características de esta cepa para comprender los mecanismos detrás de su alta adaptabilidad. Investigaciones adicionales podrían incluir análisis genéticos y transcriptómicos que identifiquen los genes asociados con la formación de biofilms y la tolerancia al pH ácido, así como experimentos que permitan discriminar entre el crecimiento real y los efectos de las aglomeraciones en las mediciones.

Figura 14

Efecto del pH y etanol sobre los aislados bacterianos de la colecta 6



Las cepas de colección, *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus plantarum*, mostraron un patrón de crecimiento en general similar al observado en las bacterias aisladas durante este estudio, destacando su mayor tolerancia a altas concentraciones de etanol en comparación con su sensibilidad a pH bajos. Sin embargo, se observaron diferencias específicas entre estas cepas.

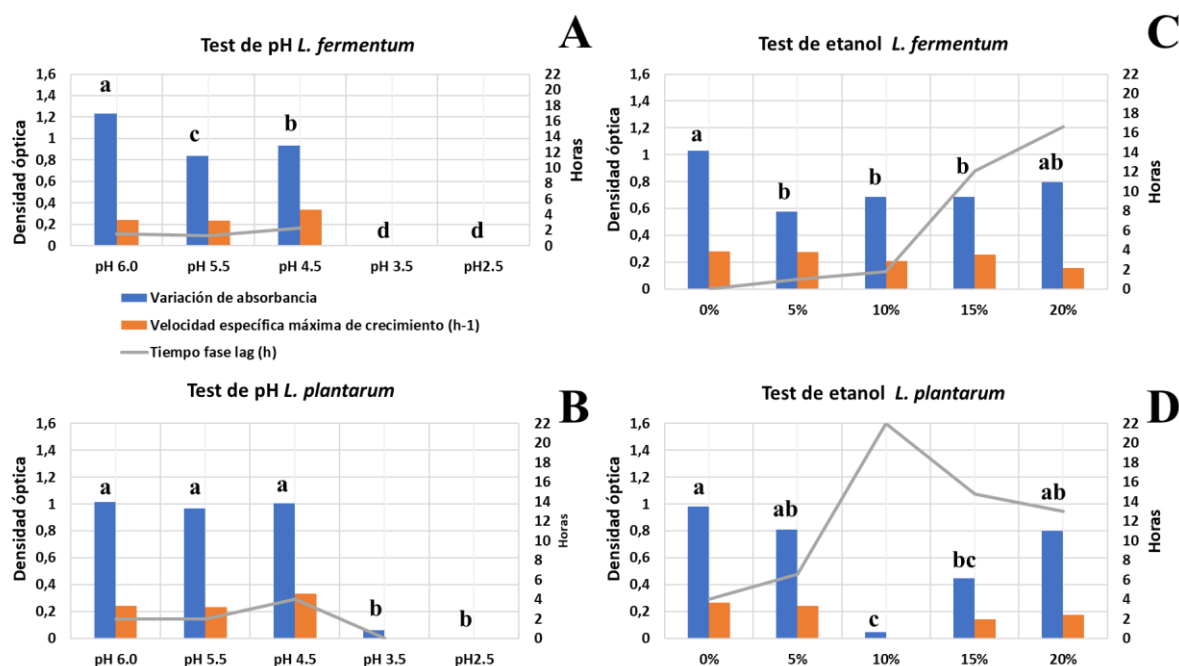
En cuanto a la tolerancia al pH, *L. fermentum* demostró ser más sensible, logrando sobrevivir únicamente hasta un pH de 4.5, mientras que *L. plantarum* toleró hasta pH 3.5 (figura 15 A-B). No obstante, el crecimiento de *L. plantarum* a este pH fue mínimo, lo que sugiere que su viabilidad probablemente se reduce con el tiempo, como se ha documentado en otras bacterias expuestas a estrés ácido prolongado (Rich et al., 2015). Este resultado refuerza lo observado en las bacterias aisladas en este proyecto, donde la sensibilidad al pH ácido fue una característica común, probablemente relacionada con la acumulación intracelular de protones que compromete el metabolismo celular (Carvalho-Netto et al., 2015).

En lo que respecta a la tolerancia al etanol, ambas cepas de colección evidenciaron altos niveles de variación de absorbancia y una baja velocidad de crecimiento, alineándose con el comportamiento observado en las bacterias aisladas en este estudio. Sin embargo, un aspecto distintivo de estas cepas fue su capacidad para adaptarse al medio sin requerir fases de latencia prolongadas, logrando desarrollar un crecimiento robusto en menor tiempo de adaptación. Dentro de este contexto, *L. fermentum* mostró una ventaja relativa sobre *L. plantarum*, ya que se adaptó más rápidamente a condiciones adversas de manera general.

Una diferencia específica entre estas bacterias se evidenció bajo una concentración de 10 % de etanol, donde *L. plantarum* mostró un crecimiento reducido y una fase de latencia prolongada. Este resultado es inconsistente con el patrón general observado en ambas cepas, lo que sugiere la necesidad de repetir este experimento o realizar estudios adicionales para confirmar estos hallazgos. La posibilidad de factores externos, como una distribución no homogénea del cultivo o pequeñas variaciones en las condiciones experimentales, podría haber influido en este comportamiento atípico, como también se ha sugerido en estudios previos sobre la evaluación de bacterias contaminantes en procesos de fermentación industrial (Rich et al., 2015).

Figura 15

Efecto del pH y etanol sobre las bacterias de colección L. fermentum y L. plantarum



7.5. COMPARACIÓN DE LOS PERFILES DE TOLERANCIA AL pH Y ETANOL MEDIANTE MAPAS DE CALOR

La visualización mediante mapas de calor ofrece una herramienta integral para comparar los parámetros evaluados en los aislados bacterianos, centrándose en este caso en la variación de absorbancia, y permite establecer perfiles diferenciados de tolerancia al pH y al etanol. Estos mapas facilitan la identificación de patrones y comportamientos específicos de cada bacteria bajo condiciones de estrés, posibilitando además la comparación entre los perfiles para determinar similitudes y diferencias en sus respuestas a las condiciones experimentales. Aunque los tres parámetros analizados contribuyen significativamente a caracterizar las respuestas bacterianas, la discusión se centrará en la variación de absorbancia por ser la variable más representativa, ya que refleja de manera directa la capacidad total de crecimiento de las bacterias bajo cada condición, considerando un periodo de tiempo determinado. La comparación de los perfiles de tolerancia luego de 24 horas ilustrados en el mapa de calor (heat map) se puede visualizar en la figura 16.

Figura 16

Mapa de calor de la variación de absorbancia (ΔAbs) como indicador de crecimiento en respuesta al pH y etanol



Nota: Mapa de calor que ilustra la variación de absorbancia (ΔAbs) de los aislados bacterianos y cepas de referencia bajo distintas condiciones de pH y concentraciones de etanol. En los ejes verticales se presentan las condiciones de estrés evaluadas y la densidad óptica, mientras que el eje horizontal presenta la variedad de aislados. Los colores más intensos corresponden a mayores valores de ΔAbs , reflejando el grado de crecimiento bacteriano y su respuesta a las condiciones evaluadas. LF= *L. fermentum*; LP= *L. platarum*.

Como se observa en el mapa de calor, los perfiles de tolerancia al pH y al etanol de los aislados bacterianos se agrupan en dos categorías generales: bacterias altamente tolerantes, representadas por colores más oscuros, y aquellas con menor tolerancia, con tonalidades más claras. Entre las más tolerantes destacan los aislados de la colecta 1, particularmente C1B3, que demostró una resistencia notable a concentraciones elevadas de etanol. Sin embargo, su tolerancia a bajos niveles de pH fue limitada, lo que es consistente con características previamente observadas en bacterias contaminantes como *Lactobacillus fermentum*. Estas

bacterias, aunque sensibles al pH ácido, suelen ser problemáticas en las fermentaciones industriales debido a su capacidad para formar aglomeraciones celulares, que podrían estar relacionadas con la formación de biofilms. Este fenómeno no solo dificulta la eliminación de las bacterias, sino que también puede albergar microorganismos más resistentes, como C6B2 de la colecta 6, que demostró tolerancia a pH tan bajos como 2.5. Esta combinación de biofilms y alta resistencia representa un desafío crítico para las estrategias de control utilizadas en procesos de bioetanol, como los lavados ácidos aplicados durante el reciclaje celular, comúnmente empleados en Brasil (Costa et al., 2018).

La formación de biofilms es especialmente relevante en este contexto, ya que protege a las bacterias de los agentes antimicrobianos y prolonga su persistencia en los sistemas industriales, dificultando el manejo de los contaminantes. Como lo evidenció Costa et al. (2018), el control de bacterias como *L. fermentum* mediante tratamientos ácidos puede ser limitado si estas bacterias están protegidas en biofilms. Además, se ha demostrado que estos biofilms pueden incrementar la resistencia no solo al ácido, sino también a otros factores de estrés, como el etanol, lo que subraya la importancia de identificar y estudiar bacterias con estas características para desarrollar estrategias de control más efectivas.

Comparar los aislados con *L. fermentum* y *L. plantarum* es fundamental en este estudio, ya que ambas especies son reconocidas como los contaminantes más comunes en las fermentaciones industriales de bioetanol, ya que estas bacterias son altamente tolerantes al estrés ácido-etílico, aumentando su persistencia y competitividad en estos entornos. Los resultados del mapa de calor indican que las bacterias de la colecta 1 presentan perfiles de tolerancia a variaciones de pH y etanol similares a los de *L. fermentum*, lo que sugiere que comparten características adaptativas clave que las convierten en un riesgo significativo. Del mismo modo, aislados como C3B1, C5B1 y los pertenecientes a la colecta 4 también mostraron perfiles de tolerancia amplios, comparables a los de *L. fermentum* y *L. plantarum*, lo que refuerza su potencial como contaminantes problemáticos en fermentaciones industriales.

Bacterias como C6B2 representan un riesgo adicional debido a su capacidad para sobrevivir en condiciones de pH extremadamente bajas, lo que sugiere una robustez adaptativa que podría dificultar incluso las estrategias más agresivas de control. La persistencia de estos

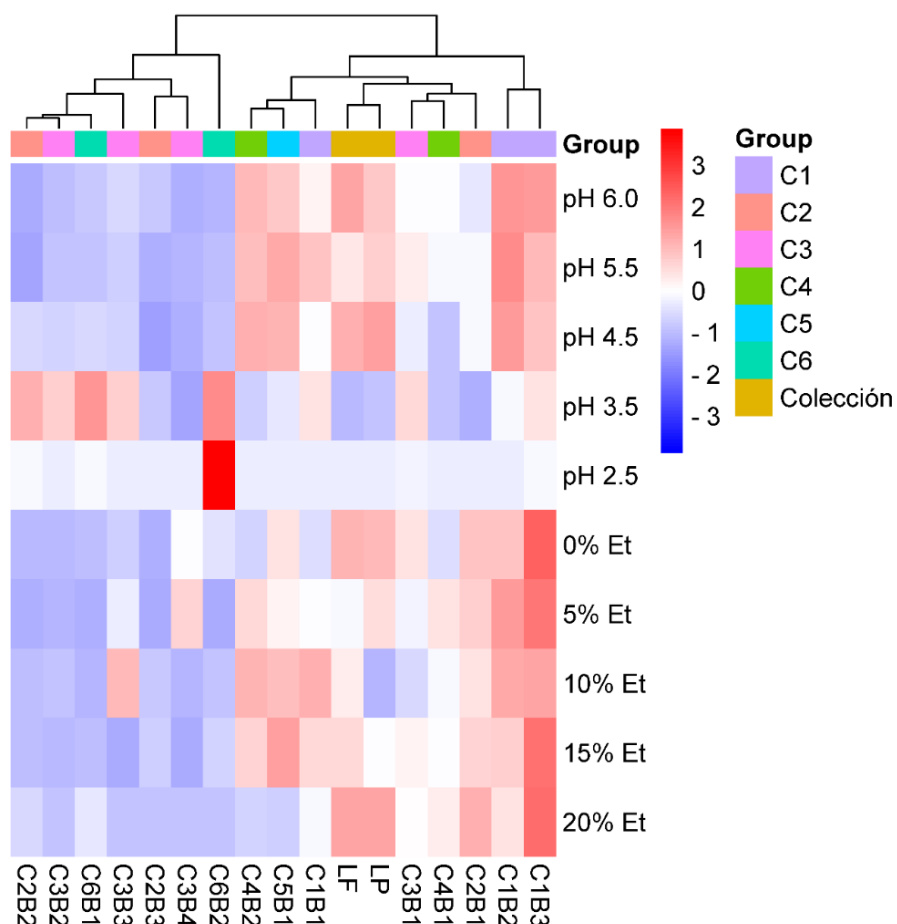
contaminantes puede llevar a una reducción significativa en la eficiencia del proceso fermentativo, ya sea mediante la competencia por nutrientes esenciales, la inhibición de la fermentación o la pérdida de viabilidad de las levaduras. Este panorama subraya la necesidad de una caracterización detallada de los perfiles de tolerancia y de mecanismos adaptativos de estas bacterias, con el fin de implementar controles específicos y eficaces que consideren tanto las bacterias individuales como las comunidades formadoras de biofilms.

Finalmente, La creación de los perfiles de tolerancia de las bacterias aisladas permitió realizar un análisis jerárquico que facilita la interpretación de las respuestas de estos microorganismos frente a condiciones de estrés ácido-etanólico. Este análisis, representado en un mapa de calor con agrupamiento jerárquico, asocia los colores con la variación de absorbancia (ΔDO) de las bacterias bajo diferentes combinaciones de pH y etanol, y organiza los datos mediante un dendrograma que agrupa a los aislados según la similitud de sus respuestas. Utilizando la distancia euclidiana para medir qué tan distintas son las respuestas de las bacterias y el método de vinculación completa para determinar las agrupaciones, se identificaron patrones claros en la tolerancia de los aislados. Estos patrones destacan similitudes entre los perfiles de tolerancia de las bacterias estudiadas y permiten una comparación efectiva con las cepas de colección, *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus plantarum*.

El mapa de calor también emplea valores estandarizados (z-scores) para mostrar de manera intuitiva las diferencias en la respuesta de cada bacteria frente a las condiciones evaluadas. Un z-score positivo (colores más intensos) indica un rendimiento por encima del promedio, es decir, un crecimiento más robusto bajo cada condición específica. En contraste, un z-score negativo (colores más claros) refleja un rendimiento menor al promedio. Este enfoque permitió identificar bacterias como C1B3, que destacaron por su alta tolerancia a concentraciones elevadas de etanol, y C6B2, que sobresalió por su capacidad de proliferar a pH extremadamente bajos (figura 17).

Figura 17

Mapa de calor con agrupamiento jerárquico: respuesta de bacterias a condiciones de estrés evaluada por variación de absorbancia



Nota: Mapa de calor con agrupamiento jerárquico que ilustra la respuesta de las bacterias a las condiciones de estrés, en función de la variación de absorbancia (ΔDO) en diferentes condiciones de pH y etanol. El dendrograma muestra cómo las bacterias se agrupan según su similitud en la respuesta al estrés, utilizando la distancia euclidiana para calcular las distancias entre las condiciones de cultivo y las bacterias. El agrupamiento se realizó mediante el método de vinculación completa, que considera la máxima disimilitud entre los puntos de datos. Los valores en la escala (z-score) son positivos cuando están por encima de la media y negativos cuando están por debajo, permitiendo una visualización clara de las diferencias en el comportamiento de las bacterias frente a los diferentes tratamientos. LF: *L. fermentum*; LP: *L. plantarum*.

El dendrograma obtenido a partir del agrupamiento jerárquico de las bacterias aisladas permitió identificar dos grandes grupos, claramente diferenciados por la distribución de colores y tonalidades en el mapa de calor. En el grupo ubicado en la parte izquierda, se encuentran las bacterias que presentaron menor grado de tolerancia a las condiciones de estrés ácido-etílico. Estas bacterias se caracterizan por una coloración predominante azul en el mapa, lo que indica valores bajos de absorbancia y, por ende, un crecimiento limitado en las condiciones evaluadas.

En contraste, en el grupo de la derecha se agruparon las bacterias con mayor tolerancia al estrés, junto con las cepas de colección *Lactobacillus fermentum* (LF) y *L. plantarum* (LP). Este grupo destaca por su predominancia de colores cálidos, representando valores altos de absorbancia y un crecimiento robusto bajo condiciones estresantes. La cercanía entre estas bacterias y las cepas de colección sugiere similitudes significativas en sus mecanismos adaptativos, como la resistencia a altas concentraciones de etanol y la capacidad de persistir en entornos adversos, características ampliamente documentadas en *L. fermentum* y *L. plantarum* como contaminantes clásicos en procesos de bioetanol.

De manera particular, la bacteria C6B2, con su perfil único de tolerancia extrema al pH 2.5, se posiciona en el centro de ambos grupos, pero con mayor proximidad al clúster de menor tolerancia. Su crecimiento destacado a un pH tan bajo, indicado por una fuerte coloración roja en el mapa de calor, resalta su adaptabilidad a ambientes extremadamente ácidos, una característica rara entre los aislados analizados. Esta ubicación intermedia refuerza su singularidad y el riesgo potencial que representa como contaminante persistente en procesos industriales, ya que este nivel de tolerancia no es común incluso entre las bacterias más resistentes.

En el grupo derecho, las bacterias con los perfiles más ampliamente tolerantes fueron C1B3 y C1B2, ambas aisladas de la primera colecta. Estas bacterias demostraron una respuesta similar al estrés, lo que las agrupa en el mismo clúster, y destacan por ser incluso más tolerantes que las cepas de referencia LF y LP, especialmente en su capacidad para soportar altas concentraciones de etanol. En contraste, la cepa C1B1, también de la colecta 1, mostró un perfil menos tolerante y se encuentra más alejada en el dendrograma, indicando una menor similitud con las otras dos bacterias de su colecta.

Estos resultados subrayan la importancia de estudiar en profundidad las bacterias C1B3, C1B2 y C6B2, ya que representan perfiles de tolerancia sobresalientes que pueden tener un impacto significativo en procesos fermentativos industriales. Su alta resistencia a condiciones de estrés plantea un desafío para los controles microbiológicos convencionales, como los lavados ácidos, y sugiere la necesidad de desarrollar estrategias específicas para mitigar su impacto. Además, su comparación con cepas de referencia como *L. fermentum* y *L. plantarum* refuerza la idea de que estos aislados poseen características adaptativas similares, como la capacidad de formar biofilms y resistir tratamientos antimicrobianos.

Estudiar estas bacterias con mayor detalle permitirá no solo comprender mejor los mecanismos que las hacen altamente tolerantes, sino también diseñar enfoques más efectivos para su manejo, mejorando la eficiencia y sostenibilidad de los procesos de producción de bioetanol. Este conocimiento es esencial para prevenir la contaminación persistente y minimizar las pérdidas económicas asociadas con la inhibición de la fermentación y la reducción de la viabilidad de las levaduras.

8. CONCLUSIONES

La cuantificación de levaduras y bacterias en el proceso de fermentación alcohólica evidencia una relación directa entre la concentración bacteriana y la disposición de las células de levadura. En particular, se observó que altos recuentos bacterianos promueven la floculación de las levaduras y contribuye a la formación excesiva de espuma en el mosto. Por lo tanto, la presencia de una elevada carga bacteriana no solo altera la dinámica celular de las levaduras, sino que también puede impactar negativamente el desarrollo del proceso fermentativo, alineándose parcialmente con lo descrito en estudios anteriores.

A nivel macroscópico, las levaduras presentaron dos tipos de morfología predominantes (lisa y rugosa), con una clara predominancia de la morfología rugosa en todas las colectas. Microscópicamente, se observaron grandes agrupaciones celulares en las levaduras como signo de estrés fisiológico asociado a la presencia de altas concentraciones bacterianas, resultado que contrasta con colectas donde la renovación reciente de levadura fresca (como en la colecta 3) favoreció una menor contaminación bacteriana y una mayor estabilidad de las levaduras. La comparación con la cepa industrial *Saccharomyces cerevisiae* PE-2 mostró que las levaduras aisladas en el presente estudio presentan morfologías y disposiciones celulares divergentes, sugiriendo la presencia de especies distintas dentro del género *Saccharomyces* o la influencia del entorno contaminado en su desarrollo.

En términos generales, los aislados bacterianos presentaron una mayor tolerancia a concentraciones elevadas de etanol (hasta 20%) en comparación con ambientes ácidos, donde el crecimiento disminuyó considerablemente a pH menores de 4.5. Esta tendencia sugiere que las condiciones ácidas imponen un mayor desafío metabólico que el etanol, probablemente debido a la alteración del pH intracelular y la desnaturalización de enzimas esenciales.

La respuesta general frente a las condiciones de estrés estuvo caracterizada por un fenómeno consistente: aunque el aumento en su concentración de etanol o disminución de pH prolongó la fase de latencia, la mayoría de las bacterias lograron superar este período inicial de estrés y desarrollar un crecimiento robusto una vez adaptadas.

Se observó un patrón general en el comportamiento de las bacterias bajo condiciones de estrés, evidenciando una relación significativa entre la duración de la fase de latencia y la robustez del crecimiento bacteriano. Las bacterias que presentaron fases de latencia más prolongadas lograron un crecimiento más sostenido y estable a lo largo del tiempo, lo que sugiere que estas invierten recursos y tiempo en ajustar su metabolismo al entorno adverso antes de iniciar la división celular. Por otro lado, las bacterias con fases de latencia más cortas, aunque inician su crecimiento más rápidamente, mostraron menor robustez y viabilidad a largo plazo, lo que podría deberse a un agotamiento prematuro de los recursos metabólicos o a una menor capacidad para tolerar el estrés acumulado.

El análisis del dendrograma basado en el agrupamiento jerárquico de las bacterias aisladas permitió identificar dos grandes grupos diferenciados por su capacidad de tolerancia al estrés ácido-etílico. El grupo con menor tolerancia, caracterizado por tonalidades azuladas en el mapa de calor, mostró un crecimiento limitado bajo condiciones estresantes, mientras que el grupo más tolerante, representado por colores cálidos, incluyó bacterias con mayor resistencia al estrés, como *Lactobacillus fermentum* y *L. plantarum*.

Entre los aislados, C6B2 destacó por su capacidad única de tolerar un pH extremo de 2.5, posicionándose como un contaminante potencialmente persistente y difícil de manejar debido a su adaptabilidad a ambientes ácidos extremos. También se encontró que las bacterias C1B3 y C1B2 mostraron perfiles sobresalientes, incluso superando a las cepas de referencia *Lactobacillus fermentum* y *L. plantarum* en su capacidad para soportar altas concentraciones de etanol. Es importante estudiar con mayor detalle las bacterias C1B3, C1B2 y C6B2, ya que sus perfiles de tolerancia extrema representan un desafío significativo para los métodos convencionales de control microbiológico, como los lavados ácidos.

9. REFERENCIAS

Aguilar-Rivera, N., (2007). Bioetanol de la caña de azúcar. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 11 (3), 25-39.

Amorim HV, Basso LC, Oliveira AJ, Godoy A, Cherubin RA, Lopes ML (2004) Identificación y selección de cepas de levaduras de fermentaciones alcohólicas en Brasil mediante cariotipado electroforético. En: Undécimo Congreso Internacional de Levaduras en Ciencia y Tecnología, 2004, Río de Janeiro, vol. 1, pág. 51–51

Amorim HV, Basso LC, Lopes ML (2009) Sugar cane juice and molasses, beet molasses and sweet sorghum: composition and usage. In: Ingledew WM, Kelsall DR, Austin GD, Kluhspies C (eds) *The alcohol textbook: a reference for the beverage, fuel, and industrial alcohol industries*, vol. 1. Nottingham University Press, Nottingham, pp 39–46

Amorim, H.V., Lopes, M.L., de Castro Oliveira, J.V. *et al.* (2011) Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. *Appl Microbiol Biotechnol* 91, 1267–1275 <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3437-6>

Aquarone E (1960) Penicillin and tetracycline as contamination control agents in alcoholic fermentation of sugarcane molasses. *Appl Environ Microbiol* 8:263–268

Assemblea Legislativa do Estado de Sao Paulo (1976) DECRETO N.º 8.468, DE 8 DE SETEMBRO DE 1976 (Brasil)

Assemblea Legislativa do Estado de Sao Paulo (1997) DECRETO Nº 41.719, DE 16 DE ABRIL DE 1997 (Brasil)

Balat, M., Balat, H., & Öz, C. (2008). Progress in bioethanol processing. *Progress in energy and combustion science*, 34(5), pp 551-573.

Ballesteros, I., Negro, M. J., Oliva, J. M., Cabañas, A., Manzanares, P., & Ballesteros, M. (2006). Ethanol production from steam-explosion pretreated wheat straw. CIEMAT-Renewable Energies Division. Av. Complutense, 22, 28040 Madrid, Spain. Doi: 10.1385/ABAB:130:1:496

Basílio, A.C.M., de Araújo, P.R.L., de Moraes, J.O.F. *et al.* (2008) Detection and Identification of Wild Yeast Contaminants of the Industrial Fuel Ethanol Fermentation Process. *Curr Microbiol.* **56**, 322–326 <https://doi.org/10.1007/s00284-007-9085-5>

Basso LC, Oliveira AJ, Orelli VFDM, Campos AA, Gallo CR, Amorim HV (1993) Dominância das leveduras contaminantes sobre as linhagens industrialis avaliada pela técnica da cariotipagem. *Anais Congresso Nacional da STAB* 5:246–250

Basso, Luiz C.; Amorim, Henrique V., Oliveira, Antonio J.; Lopes, Mario L. (2008) Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil, *FEMS Yeast Research*, Volume 8, Issue 7. Pages 1155–1163.

Bayrock DP, Thomas KC, Ingledew WM (2003) Control of *Lactobacillus* contaminants in continuous fuel ethanol fermentations by constant or pulsed addition of penicillin G. *Appl Microbiol Biotechnol* 62:498–502.

Beckner M, Ivey ML, Phisher TG (2011) Microbial contamination of fuel ethanol fermentations. *Lett Appl Microbiol* 53:387–394.

BNDES E CGEE. (Org.). Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável. Rio de Janeiro: Bndes, Pp 316.

Bonatelli, Maria L.; Quecine, Maria C.; Silva, Mariana S.; Labate, Carlos A. (2017) Characterization of the contaminant bacterial communities in sugarcane first-generation industrial ethanol production, *FEMS Microbiology Letters*, Volume 364, Issue 17, <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx159>

Brexó, Ramon Peres; Sant’Ana, Anderson S. (2017) Impact and significance of microbial contamination during fermentation for bioethanol production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 73, Pages 423-434, ISSN 1364-0321, <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.151>.

Carvalho-Netto, Osmar V; Carazzolle1, Marcelo F; Mofatto1, Luciana S; Teixeira1, Paulo JPL; Noronha1, Melline F; Calderón1, Luige AL; Mieczkowski, Piotr A; Argueso, Juan Lucas; Pereira, Gonçalo AG (2015) *Saccharomyces cerevisiae* transcriptional

reprogramming due to bacterial contamination during industrial scale bioethanol production. *Microbial Cell Factories*. 14:13

Ceccato-Antonini, S.R. (2018) Conventional and nonconventional strategies for controlling bacterial contamination in fuel ethanol fermentations. *World J Microbiol Biotechnol* 34, 80.

Ceccato-Antonini, S. R. (2021) Microbiologia da fermentação etanólica. Fundamentos, Avanços e perspectivas. Editora Universidade Federal de São Carlos.

Centro Nacional das Indústrias do Setor Sucroenergético e Biocombustíveis. Renovabio: novo momento no setor sucroenergético (2020). Disponível em: <http://www.ceisebr.com/conteudo/renovabio--novo-momento-no-setorsucroenergetico.html>.

CETESB (2006) VINHAÇA – CRITÉRIOS E PROCEDIMENTOS PARA APLICAÇÃO NO SOLO AGRÍCOLA P4.231

Chang IS, Kim BH, Shin PK, Lee WK (1995) Bacterial contamination and its effects on ethanol fermentation. *J Microbiol Biotechnol*. 5 309 314

Congreso de Colombia (2001) LEY 693 DE 2001. Edición 44.564. (Colombia)

Conterno, Lorenza; Aprea Eugenio; Franceschi, Pietro; Roberto Viola, Urska Vrhovsek (2013) Overview of *Dekkera bruxellensis* behaviour in an ethanol-rich environment using untargeted and targeted metabolomic approaches. *Food Research International*, Vol 51, Issue 2, Pages 670-678.

Coordinación BDNES & CGEE (2008) Bioetanol de Caña de Azúcar Energía para el Desarrollo Sostenible. 1ra ed. Pp 153-169.

Costa MAS, Cerri BC, Ceccato-Antonini SR (2018) Ethanol addition enhances acid treatment to eliminate *Lactobacillus fermentum* from the fermentation process for fuel ethanol production. *Lett Appl Microbiol*. 66(1): 77-85.

Costa OY, Souto BM, Tupinambá DD, Bergmann JC, Kyaw CM, Kruger RH, Barreto CC, Quirino BF. (2015) Microbial diversity in sugarcane ethanol production in a

Brazilian distillery using a culture-independent method. *J Ind Microbiol Biotechnol.* Jan;42(1):73-84. doi: 10.1007/s10295-014-1533-1.

De Souza Liberal AT, Basílio AC, do Monte Resende A, Brasileiro BT, da Silva-Filho EA, de Moraes JO, Simões DA, de Moraes MA Jr. (2007) Identification of *Dekkera bruxellensis* as a major contaminant yeast in continuous fuel ethanol fermentation. *J Appl Microbiol.* 102(2):538-47. doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.03082.x

Dias De Oliveira, M. E., Vaughan, B. E., & Rykiel, E. J. (2005). Ethanol as fuel: energy, carbon dioxide balances, and ecological footprint. *BioScience*, 55(7), pp 593-602.

Dorta C Oliva-Neto P Abreu-Neto MS Nicolu-Junior N Nagashima AI (2006) Synergism among lactic acid, sulfite, pH and ethanol in alcoholic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* (PE-2 and M-26). *World J Microb Biot*22: 177–182.

Dufey Annie (2006) Biofuels Production, trade and sustainable development: emerging issues. Ed iied (pp 5-12). Disponible en <https://www.iied.org/15504iied>

Etido Ifiok Mfon (2024) Microbial Biotechnology: Application of Bacteria in Various Industrial Processes and Environment Remediation. *International Journal of Development, Sustainability and Environmental Management* 4. Pg 16-24. DOI: 10.5281/zenodo.10511013

Fugita, Renan Augusto (2014) Desidratação e retificação de etanol produzido a partir da amêndoa do caroço da manga. 56 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências.

Furtado, A. T., Scandiffio, M. I. G., & Cortez, L. A. B. (2011). The Brazilian sugarcane innovation system. *Energy Policy*, 39(1), 156-166. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2010.09.023>

Gaviria, C. (1978) Normas para interpretar e reportar a contagem “standard” em placa. Disponible en: <https://document.onl/documents /normas-para-interpretacao-de-contagem-em-placa.html>. Acceso en 29 de octubre de 2024.

Gil G, del Monaco S, Cerrutti P, Galvagno M (2004) Selective antimicrobial activity of chitosan on beer spoilage bacteria and brewing yeasts. *Biotechnol Lett* 26(7):569–574

Godoy A, Amorim HV, Lopes ML, Oliveira AJ (2008) Continuous and batch fermentation processes: advantages and disadvantages of these processes in the Brazilian ethanol production. *Int Sugar J* 110:175–181

Ibeto C.N., Ofoefule A.U., Agbo K.E (2011) A Global Overview of Biomass Potentials for Bioethanol Production: A Renewable Alternative Fuel. *Science Alert*. Doi:10.3923/tras.2011.410.425

Islam M, Toledo R, Hamdy MK (1999) Stability of virginiamycin and penicillin during alcohol fermentation. *Biomass Bioenergy* 17:369–376

Knauf, M.; Moniruzzaman, K. (2004) Lignocellulosic biomass processing: A perspective. *International Sugar Journal*, v. 106, n.1263, p. 147-150.

Lapolli FR, Hassemer MEN, Camargo JG, Damásio DL, Lobo-Recio MA (2005) Desinfecção de efluentes sanitários através de dióxido de cloro. *Eng Sanit Ambient* 10(3):200–208.

Linoj Kumar N.V., P. Dhavala, A. Goswami, S. Maithel (2006) Liquid biofuels in South Asia: resources and technologies. *Asian Biotechnol Develop Rev*, 8. pp. 31-49

Lin, Y., Yoshida, Y (2006) Ethanol fermentation from biomass resources: Current state and prospects (Short Survey). *Scopus Preview*. Volume 69, Issue 6. Pp 627-642. DOI: 10.1007/s00253-005-0229-x

Li Q, Heist EP, Moe LA (2016) Bacterial community structure and dynamics during corn-based bioethanol fermentation. *Microb Ecol* 71:409–421

Liu M, Bischoff KM, Gill JJ, Mire-Criscione MD, Berry JD, Young R, Summer EJ (2015) Bacteriophage application restores ethanol fermentation characteristics disrupted by *Lactobacillus fermentum*. *Biotechnol Biofuels* 8:132.

Lopes ML, Amorim HV, Godoy A, Oliveira AJ, Cherubin RA, Basso LC (2004) Interaction between yeast and acetic acid bacteria in industrial fermentation for ethanol

production: a case study. Eleventh International Congress on Yeast–Yeasts in Science and Technology 1:183–183

Lopes Mario Lucio, de Lima Paulillo Silene Cristina, Godoy Alexandre, Cherubin Rudimar Antonio, Salmeron Lorenzi Marcel, Carvalho Giometti Fernando Henrique, Domingos Bernardino Claudemir, Berbert de Amorim Neto Henrique, Vianna de Amorim Henrique (2016) Ethanol production in Brazil: a bridge between science and industry, Brazilian Journal of Microbiology, Volume 47, Supplement. Pages 64-76, ISSN 1517-8382. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.003>.

Lucena BTL, Santos BM, Moreira JLS, Moreira APB, Nunes AC, Azevedo V, Miyoshi A, Thompson FL, Morais MA Jr (2010) Diversity of lactic acid bacteria of the bioethanol process. *BMC Microbiol* 10:298–306.

Manochio, C. et al. (2017) Ethanol from biomass: A comparative overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 80, p. 743-755.

Meneghin SP, Reis FC, Almeida PG, Ceccato-Antonini SR (2008) Chlorine dioxide against bacteria and yeasts from the alcoholic fermentation. *Braz J Microbiol* 39:337–343.

Mosquera A., O. D., Fernández Henao, S., & Mosquera M., J. C. (2010). *Análisis de emisiones de CO₂ para diferentes combustibles en la población de taxis en Pereira y Dosquebradas*. *Scientia et Technica*, 16(45), Universidad Tecnológica de Pereira. ISSN 0122-1701.

Murphree CA, Li Q, Heist PE, Moe LA (2014) A multiple antibiotic-resistant *Enterobacter cloacae* strain isolated from a bioethanol fermentation facility. *Microbes Environ* 29(3):322–325.

Muthaiyan A, Limayem A, Ricke SC (2011) Antimicrobial strategies for limiting bacterial contaminants in fuel bioethanol fermentations. *Prog Energy Comb Sci*. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2010.06.005>

Narendranath NV, R (2005) Relationship between pH and Medium Dissolved Solids in Terms of Growth and Metabolism of *Lactobacilli* and *Saccharomyces cerevisiae*

during Ethanol Production. *Appl Environ Microbiol* 71: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.5.2239-2243.2005>

Nielsen 2003: Nielsen, J., Villadsen, J., Lidén, G. (2003). *Bioreaction engineering principles*. New York, Plenum Publishers. Edic. 3.

Oliva-Neto P, Dorta C, Carvalho AFA, Lima VMG, Silva DF (2013) The Brazilian technology of fuel ethanol fermentation—yeast inhibition factors and new perspectives to improve the technology. In: Mendez-Vilas A (ed) *Materials and processes for energy: communicating current research and technological development*. Formatex, Badajoz, pp 372–379.

Presidência da República Secretaria-Geral Subchefia para Assuntos Jurídicos (2017) LEI Nº 13.576, DE 26 DE DEZEMBRO DE 2017 (Brasil)

Presidência da República Secretaria-Geral Subchefia para Assuntos Jurídicos (2019) DECRETO Nº 9.888, DE 27 DE JUNHO DE 2019 (Brasil)

Rich Joseph O., Leathers Timothy D., Bischoff Kenneth M., Anderson Amber M., Nunnally Melinda S. (2015) Biofilm formation and ethanol inhibition by bacterial contaminants of biofuel fermentation, *Bioresource Technology*, Volume 196, Pages 347-354, ISSN 0960-8524, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.071>.

Rodrigues, F.A. (2007) *Avaliação da tecnologia de hidrólise ácida de bagaço de cana*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Salles-Filho, S. L. M., Drummond de Castro, P. F., Bin, A., Edquist, C., Portilho Ferro, A. F., & Corder, S. (2017). Perspectives for the Brazilian bioethanol sector: The innovation driver. *Energy Policy*, 108, 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2017.05.037>

Sampaio, P., & de Almeida, M. (2012). El caso de la producción de etanol en Brasil: un ejemplo para los países de américa latina. *Cuadernos de Geografía: Revista Colombiana de Geografía*, 21(1), 147-161.

Sherpa Chhunji Knawang, Debajyoti Kundu, Subhodeep Banerjee, Makarand Madhao Ghangrekar, Rintu Banerjee (2022) An integrated biorefinery approach for bioethanol production from sugarcane tops, *Journal of Cleaner Production* (Vol 352).

Silva-Neto, J.M., Covre, E.A., Rosa, B.C. *et al.* (2020) Can ethanol partially or fully replace sulfuric acid in the acid wash step of bioethanol production to fight contamination by *Lactobacillus fermentum*?. *Braz. J. Chem. Eng.* **37**, 323–332
<https://doi.org/10.1007/s43153-020-00033-x>

Simpson, W. J., & Hammond, J. R. M. (1989). The response of brewing yeasts to acid washing. *Journal of the Institute of Brewing*, 95(5), 347-354.

Skinner Kelly A, Timothy D Leathers (2004) Bacterial contaminants of fuel ethanol production, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, Vol 31 9 Pg 401–408

Sousa Santos, P. H (2020) Panorama atual da produção de bioetanol no brasil e no mundo. UnB Gama O novo endereço da tecnologia. P 6-12.

Stroppa CT, Andrietta MGS, Andrietta SR, Steckelberg C, Serra GE (2000) Use of penicillin and monensin to control bacterial contamination of Brazilian alcohol fermentations. *Int Sugar J* 102:78–82

Suzuki K, Iijima K, Sakamoto K, Sami M, Yamashita H (2006) A review of hop resistance in beer spoilage lactic acid bacteria. *J Inst Brew* 112:173–191.

Tang, D.; Chen, M.; Huang, X.; Zhang, G.; Zeng, L.; Zhang, G.; Wu, S.; Wang, Y. (2023) SRplot: A free online platform for data visualization and graphing. *PLoS One*, v. 18, n. 11, e0294236.

Un Environment Programme (2023) Pollution Action Note – Data you need to know

Van Den Wall Bake, J. D. (2009) Explaining the experience curve: Cost reductions of Brazilian ethanol from sugarcane. *Biomass and bioenergy*, v. 33, n. 4, p. 644-658.

Vázquez H.J.; Dacosta O. (2007) Alcoholic fermentation: An option for renewable energy production from agricultural residues. *Ing. invest. y tecnol.* vol.8 no.4

Wheals, AE; Basso, LC; Alves, DMG; Amorim HV (1999) Fuel ethanol after 25 years. Trends Biot17: 482–487.

10. ANEXOS

Tabla 10

Formulación química del medio Yeast Extract Peptone Dextrose (YEPD)

YEPD	1 L
Extracto de levadura	10g
Peptona	20g
Glucosa / Dextrosa	20g
Agar	20g

Fuente: Universidade Federal de Sao Carlos

Tabla 11

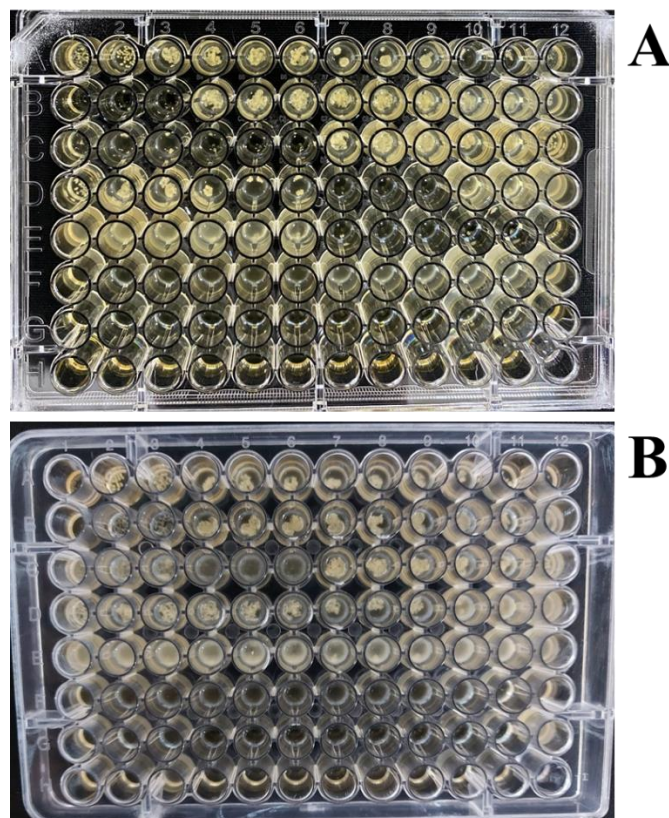
Formulación química del medio Man Rogosa Sharpe (MRS)

MRS	1L
Peptona	10g
Extracto de carne	10g
Extracto de levadura	4g
Glucosa	20g
Fosfato de potasio (K_2HPO_4)	2g
Acetato de sodio (anhidro)	3,02g
Citrato de amonio bi-básico	2g
Sulfato de magnesio ($7H_2O$)	0,2g
Sulfato de manganeso ($4H_2O$)	0,05g
Agar	20g
Tween 80	1ml

Fuente: Universidade Federal de Sao Carlos

Figura 18

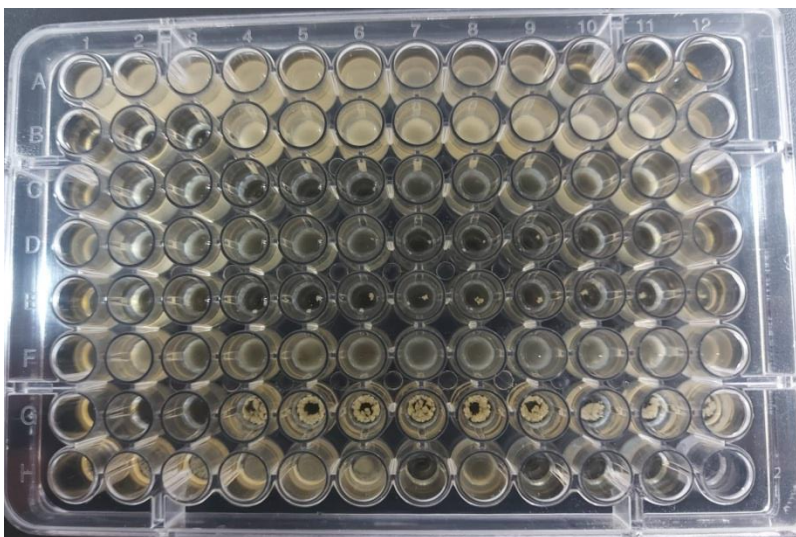
Microplaca del test de pH y etanol aplicado en la colecta 1 y 2



Nota: Esta figura ilustra las microplacas empleadas en el test de pH (A) y de etanol (B) aplicado a las 6 bacterias aisladas en la colecta 1 y 2. Se puede visualizar la aglomeración de las colonias en el fondo de la microplaca, la cual va disminuyendo a medida que el pH o los porcentajes de etanol aumenta.

Figura 19

Microplaca del test de pH y etanol aplicado en la colecta 5 y 6



Nota: Esta figura ilustra la microplaca empleada en el test de etanol aplicado a las 6 bacterias aisladas en la colecta 5 y 6. En concreto, la bacteria C6B2 se encuentra ubicada a partir del pocillo G4 hasta H6, en los cuales es posible visualizar la aglomeración celular en el fondo de la microplaca y su disminución a medida que el porcentaje de etanol aumenta.

Figura 20

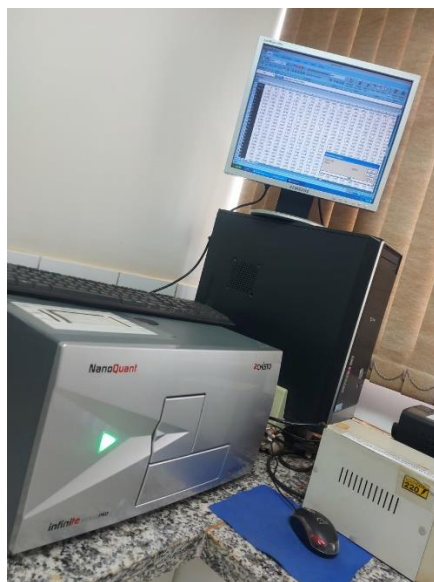
Instalaciones de la usina Santa Lúcia



Fuente: autora.

Figura 21

Lector de microplacas (Tecan Infinite M200, Mannedorf, Suíza)



Fuente: autora.

Figura 22

Evidencias fotográficas del proceso en general



Fuente: autora.

Tabla 12

Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 1 bajo distintos porcentajes de etanol

	Promedio de absorbancia (DO)														
	C1B1					C1B2					C1B3				
	0	5%	10%	15%	20%	0	5%	10%	15%	20%	0	5%	10%	15%	20%
Horas	0,0188	0,0141	0,0233	0,0179	0,029567	0,023667	0,0117	0,0134	0,014767	0,0119	0,042067	0,0302	0,0373	0,0318	0,02925
0,264972	0,0191	0,0128	0,0234	0,019767	0,029967	0,023767	0,0099	0,013967	0,0134	0,011933	0,0426	0,0312	0,03545	0,03035	0,026333
0,529917	0,0197	0,012833	0,023233	0,020433	0,0305	0,026233	0,0106	0,0129	0,014033	0,011267	0,047067	0,0324	0,0354	0,0441	0,026467
0,794889	0,0201	0,017567	0,023733	0,020267	0,029333	0,030333	0,0123	0,0137	0,015433	0,008233	0,049833	0,0373	0,0506	0,0385	0,0244
1,059861	0,0204	0,014033	0,024067	0,020633	0,029067	0,0314	0,0143	0,015133	0,015767	0,010767	0,051967	0,0379	0,0452	0,03915	0,0272
1,324806	0,0212	0,014533	0,0243	0,020533	0,028167	0,0318	0,0155	0,0167	0,0169	0,010667	0,053433	0,0405	0,05485	0,04585	0,0279
1,589778	0,0215	0,014767	0,025267	0,0209	0,028767	0,030367	0,0176	0,017967	0,017533	0,010833	0,053233	0,0423	0,049	0,0541	0,0287
1,85475	0,0225	0,015233	0,028167	0,021333	0,027967	0,0285	0,0175	0,019967	0,018767	0,010733	0,050033	0,045	0,06985	0,0507	0,029167
2,119722	0,0223	0,018	0,027633	0,021267	0,026833	0,0268	0,0181	0,020933	0,0248	0,010967	0,0608	0,0462	0,07205	0,0549	0,029567
2,384667	0,0221	0,0164	0,028767	0,0214	0,0276	0,025267	0,0174	0,020967	0,0282	0,011567	0,070867	0,0459	0,08135	0,0516	0,031333
2,649639	0,022	0,016033	0,029833	0,021967	0,026667	0,025467	0,0174	0,0217	0,033567	0,011767	0,050433	0,0516	0,09885	0,07145	0,0318
2,914611	0,0196	0,0192	0,029467	0,0218	0,026733	0,024467	0,0278	0,020367	0,047967	0,0122	0,078633	0,0505	0,09725	0,0786	0,0327
3,179556	0,018	0,020233	0,0295	0,0212	0,026367	0,0236	0,0168	0,019733	0,034033	0,012333	0,059433	0,0562	0,12215	0,0855	0,034167
3,444528	0,0178	0,0191	0,0288	0,021767	0,0252	0,025567	0,0158	0,018933	0,044567	0,012367	0,0776	0,0637	0,15715	0,09455	0,039233
3,7095	0,0168	0,022433	0,034233	0,022367	0,025633	0,026033	0,0158	0,018367	0,0346	0,012767	0,061967	0,064	0,15405	0,1313	0,038333
3,974472	0,0152	0,025967	0,029467	0,021733	0,0248	0,043	0,0159	0,0185	0,052967	0,013	0,068033	0,0713	0,165	0,1325	0,039733
4,239417	0,015	0,026633	0,03	0,021767	0,023267	0,045267	0,0161	0,038567	0,082233	0,0133	0,073833	0,079	0,2269	0,12105	0,0402
4,504389	0,0158	0,024733	0,031033	0,021633	0,025067	0,0964	0,0167	0,046733	0,0737	0,013767	0,079933	0,0833	0,2213	0,1527	0,042367
4,769361	0,0163	0,026533	0,0325	0,021867	0,022633	0,1432	0,1067	0,088633	0,1045	0,013933	0,086033	0,0881	0,1975	0,1909	0,0407
5,034306	0,0182	0,025733	0,034067	0,021867	0,023267	0,092933	0,1811	0,093933	0,132233	0,013967	0,152333	0,103	0,23015	0,1795	0,0573

5,299278	0,0218	0,0283	0,034	0,021667	0,0221	0,3171	0,1382	0,1283	0,1143	0,0145	0,107033	0,1588	0,28205	0,22795	0,044033
5,56425	0,0329	0,026267	0,036433	0,0215	0,0219	0,142433	0,1197	0,1087	0,0608	0,0149	0,2009	0,155	0,28135	0,2162	0,0544
5,829194	0,0279	0,027033	0,035333	0,0217	0,021967	0,168833	0,208	0,0447	0,1149	0,0151	0,165	0,1402	0,29195	0,2155	0,066233
6,094167	0,0361	0,024467	0,0376	0,021533	0,019167	0,165	0,1981	0,1355	0,099567	0,015833	0,180367	0,2259	0,30335	0,2444	0,069533
6,359139	0,0291	0,021333	0,039067	0,021433	0,020367	0,1942	0,242	0,173167	0,1392	0,0161	0,2573	0,2776	0,3679	0,25335	0,0641
6,624083	0,0361	0,017167	0,037433	0,021533	0,020367	0,165567	0,1834	0,152633	0,161467	0,016367	0,2536	0,2387	0,3022	0,2836	0,1033
6,889056	0,082	0,021233	0,040867	0,021133	0,020767	0,149733	0,1268	0,1314	0,251633	0,0166	0,287333	0,4178	0,3253	0,2626	0,098233
7,154028	0,0678	0,025533	0,039167	0,020867	0,019733	0,105533	0,0582	0,190133	0,2844	0,022167	0,236733	0,452	0,35965	0,28485	0,1258
7,419	0,0874	0,021033	0,0423	0,020467	0,018667	0,1183	0,0819	0,162567	0,264133	0,018167	0,332967	0,5478	0,37755	0,3236	0,130233
7,683944	0,0918	0,024533	0,041733	0,0202	0,018533	0,195567	0,1063	0,1456	0,1509	0,028433	0,3972	1,1577	0,379	0,3017	0,120067
7,948917	0,0801	0,0271	0,0413	0,020233	0,019633	0,197367	0,1578	0,184933	0,2344	0,0177	0,500233	1,2985	0,42335	0,35945	0,132067
8,213889	0,0914	0,0323	0,042433	0,019833	0,018967	0,189933	0,2088	0,184	0,255633	0,016367	0,562733	1,2841	0,48955	0,3742	0,072067
8,478833	0,0972	0,0384	0,0415	0,020033	0,018367	0,203633	0,2813	0,186867	0,262933	0,016333	0,888167	1,272	0,36025	0,29535	0,231
8,743806	0,0977	0,0609	0,0413	0,0197	0,021	0,241167	0,1896	0,199333	0,279833	0,045233	1,047933	1,3133	0,4737	0,31155	0,2423
9,008778	0,115	0,065767	0,040533	0,0199	0,019533	0,234067	0,189	0,263033	0,2326	0,066333	1,176	1,3604	0,39345	0,36835	0,181767
9,273722	0,1391	0,083433	0,039967	0,019967	0,019567	0,271833	0,236	0,310267	0,2868	0,023067	1,3	1,3447	0,50865	0,38515	0,164167
9,538694	0,1399	0,102333	0,0338	0,019367	0,019433	0,2958	0,2287	0,334133	0,298533	0,0985	1,353367	1,3062	0,72495	0,3381	0,116933
9,803667	0,1509	0,133033	0,0326	0,019467	0,019067	0,387833	0,3359	0,353167	0,318033	0,049767	1,357967	1,4004	0,8113	0,4943	0,064933
10,06864	0,1846	0,170767	0,023967	0,0192	0,019033	0,4405	0,3094	0,424033	0,298233	0,042667	1,3853	1,4047	0,8907	0,35805	0,141067
10,33369	0,1982	0,192633	0,024167	0,018833	0,0195	0,510333	0,3585	0,404933	0,3526	0,086233	1,3973	1,4107	0,8966	0,4648	0,153133
10,59867	0,2081	0,2316	0,018267	0,019367	0,019133	0,512967	0,3434	0,445167	0,325633	0,128633	1,387167	1,3894	0,96435	0,4327	0,274
10,86361	0,2086	0,253267	0,016033	0,018833	0,018833	0,530867	0,3703	0,505067	0,380867	0,142867	1,381767	1,3333	1,06795	0,51445	0,202933
11,12858	0,254	0,297867	0,0197	0,018933	0,0188	0,614833	0,4125	0,600533	0,4183	0,137333	1,427667	1,356	1,2271	0,55535	0,2037
11,39356	0,2699	0,327433	0,024433	0,018767	0,0207	0,671967	0,4416	0,666833	0,421133	0,184233	1,389833	1,3732	1,19615	0,79235	0,2594
11,6585	0,2792	0,339767	0,016467	0,0192	0,019133	0,6209	0,5851	0,6995	0,4464	0,121067	1,400667	1,4477	1,28175	0,8758	0,216667
11,92347	0,2955	0,385433	0,017467	0,019167	0,0187	0,672233	0,4924	0,7163	0,389567	0,1893	1,4642	1,4503	1,2558	0,90455	0,2059
12,18844	0,3325	0,411767	0,0239	0,0186	0,0189	0,6729	0,7709	0,766667	0,486433	0,1511	1,4555	1,4549	1,2683	0,8088	0,1775
12,45339	0,3941	0,436767	0,025733	0,0189	0,019533	0,743267	0,5618	0,843167	0,5369	0,2278	1,4363	1,4694	1,25555	0,8785	0,337367

12,71836	0,4545	0,470633	0,037533	0,0191	0,018633	0,8548	0,8512	0,9214	0,523567	0,135467	1,444167	1,4695	1,27895	0,82075	0,405833
12,98333	0,5298	0,5029	0,060833	0,0194	0,018933	0,8159	0,8692	0,972567	0,591733	0,124767	1,501167	1,4779	1,23745	0,6917	0,363933
13,24831	0,5927	0,5401	0,065833	0,018733	0,017867	0,9264	1,0719	0,939667	0,6172	0,154267	1,476033	1,5045	1,24225	1,0008	0,284033
13,51325	0,6626	0,557467	0,085733	0,019033	0,018233	1,008067	0,9881	1,0326	0,5804	0,1343	1,458167	1,494	1,3341	1,0386	0,379333
13,77822	0,7495	0,590133	0,106933	0,0193	0,018667	0,816667	1,0013	1,025367	0,612833	0,141167	1,4918	1,4964	1,27225	1,0643	0,372767
14,04319	0,8752	0,6289	0,1651	0,019667	0,019633	1,091633	0,8693	0,986233	0,617	0,173333	1,470967	1,4976	1,32935	1,06875	0,4144
14,30814	0,9153	0,6572	0,192833	0,0188	0,019367	1,2139	0,9817	0,9573	0,631533	0,1586	1,484767	1,5092	1,2557	1,0993	0,3759
14,57311	0,9405	0,6823	0,2414	0,018667	0,020267	0,940767	1,1019	0,8069	0,640833	0,212933	1,515433	1,533	1,36755	1,1163	0,4882
14,83808	0,9774	0,717567	0,295233	0,0184	0,018967	1,2499	1,0831	1,1511	0,722	0,173933	1,520833	1,5578	1,37235	1,1026	0,493367
15,10306	1,0057	0,743	0,3472	0,018033	0,018933	1,089467	1,1067	1,020467	0,688533	0,169133	1,5137	1,5296	1,3427	1,16145	0,498
15,368	1,0236	0,781067	0,390967	0,019233	0,0196	1,077633	1,135	1,1645	0,7128	0,2212	1,492533	1,5241	1,3617	1,14315	0,569633
15,63297	1,0225	0,823767	0,421867	0,017967	0,018467	1,223167	1,1418	1,0366	0,727433	0,185167	1,5396	1,5227	1,3806	1,0971	0,529067
15,89794	1,0324	0,853233	0,4582	0,0177	0,0187	1,170367	1,1342	1,144933	0,734767	0,240467	1,5442	1,5273	1,3283	1,11195	0,666233
16,16289	1,0403	0,872833	0,484033	0,018167	0,019833	1,106067	1,1873	1,183333	0,6786	0,248233	1,5402	1,5414	1,3549	1,15525	0,572833
16,42786	1,0393	0,9031	0,533633	0,017067	0,0187	1,215567	1,1994	1,155333	0,7231	0,254533	1,5171	1,5374	1,3861	1,13435	0,620133
16,69283	1,0517	0,923533	0,575333	0,018633	0,019967	1,106567	1,1798	1,207	0,707267	0,2584	1,534633	1,529	1,3109	1,1958	0,6702
16,95778	1,0498	0,939133	0,6072	0,0183	0,019467	0,9012	1,1492	1,207467	0,729333	0,247767	1,544067	1,5435	1,3118	1,13275	0,612967
17,22275	1,0443	0,954267	0,626067	0,018	0,019667	1,280233	0,9409	1,218433	0,715867	0,268767	1,567267	1,546	1,35475	1,11135	0,870967
17,48772	1,0488	0,981267	0,692233	0,017567	0,0198	1,1412	0,9535	1,165567	0,723	0,300267	1,532833	1,5867	1,4068	1,0676	0,8257
17,75269	1,0543	1,000933	0,7324	0,017167	0,019867	1,060833	1,1426	1,214733	0,7929	0,2953	1,540567	1,5291	1,3997	1,02395	0,613333
18,01764	1,0443	1,009333	0,761567	0,016933	0,019433	1,170367	1,1308	1,154267	0,691933	0,3182	1,535633	1,5652	1,32805	1,02655	0,7671
18,28261	1,0332	1,020433	0,802367	0,017533	0,018933	1,267967	1,1547	1,151533	0,7388	0,303367	1,535267	1,5442	1,4393	0,98995	0,806367
18,54758	1,0462	1,031033	0,8327	0,0171	0,0192	1,033167	1,1435	1,138267	0,7388	0,315733	1,5642	1,5586	1,3929	1,1346	0,867433
18,81253	1,0382	1,039633	0,8533	0,0177	0,018967	1,1023	1,2315	1,2322	0,777767	0,329167	1,538	1,5361	1,3308	1,22565	1,1143
19,0775	1,0199	1,042567	0,873967	0,0167	0,021067	1,226333	1,2391	1,163433	0,763467	0,3505	1,538933	1,5543	1,41295	1,1426	0,7419
19,34247	1,0095	1,042467	0,8952	0,0166	0,017767	1,2556	1,2201	1,118433	0,736967	0,344533	1,5392	1,5369	1,35085	1,0651	1,024267
19,60742	1,0073	1,049333	0,933333	0,016733	0,018333	0,9998	1,1432	1,173167	0,7241	0,3662	1,5299	1,5652	1,4094	1,2209	0,8776
19,87239	1,0115	1,047867	0,954467	0,0165	0,019267	1,198033	1,0602	1,0839	0,7392	0,388533	1,5473	1,5574	1,4459	1,1725	1,105967

20,13736	1,0052	1,053533	0,9729	0,016	0,019567	0,999367	1,2378	1,096433	0,745233	0,403433	1,570133	1,5567	1,38405	1,1872	1,0017
20,40233	1,0094	1,054333	0,9871	0,0167	0,017833	1,0768	1,1636	1,168933	0,743633	0,430233	1,545467	1,5629	1,396	1,1701	1,0844
20,66728	1,0133	1,058133	1,0192	0,0159	0,019967	1,115667	1,2287	1,1235	0,780267	0,411	1,534767	1,5625	1,22925	1,21335	1,134267
20,93236	0,9957	1,056933	1,012667	0,015933	0,020533	1,174767	1,1478	1,105833	0,766233	0,418267	1,556	1,5487	1,43555	1,1135	1,0374
21,19731	0,9903	1,054733	1,0421	0,015567	0,0205	1,3334	1,2471	1,1131	0,755133	0,454667	1,570333	1,6234	1,407	1,21125	1,050833
21,46228	0,9864	1,053067	1,0367	0,015833	0,019733	1,2437	1,2177	1,116167	0,793867	0,4922	1,5532	1,5588	1,3877	1,20505	1,032767
21,72725	0,9842	1,055067	1,033033	0,015567	0,021667	0,9497	1,2429	1,1848	0,745933	0,485867	1,5687	1,5718	1,4419	1,1943	1,119033
21,99219	0,9707	1,0503	1,033233	0,015567	0,019933	0,9497	1,2429	1,1848	0,745933	0,485867	1,5687	1,5718	1,4419	1,1943	1,119033
22,25717	0,9788	1,051233	1,036333	0,014967	0,018333	0,9497	1,2429	1,1848	0,745933	0,485867	1,5687	1,5718	1,4419	1,1943	1,119033
22,52214	0,9843	1,054667	1,044533	0,0145	0,019267	0,9497	1,2429	1,1848	0,745933	0,485867	1,5687	1,5718	1,4419	1,1943	1,119033
22,78711	0,9802	1,049233	1,0446	0,0152	0,0186	0,9497	1,2429	1,1848	0,745933	0,485867	1,5687	1,5718	1,4419	1,1943	1,119033
23,05206	0,9869	1,053267	1,051767	0,014933	0,0201	0,9497	1,2429	1,1848	0,745933	0,485867	1,5687	1,5718	1,4419	1,1943	1,119033
23,31703	1,0003	1,0549	1,0553	0,014967	0,018267	0,9497	1,2429	1,1848	0,745933	0,485867	1,5687	1,5718	1,4419	1,1943	1,119033
23,582	0,9902	1,0518	1,054467	0,0147	0,019	0,9497	1,2429	1,1848	0,745933	0,485867	1,5687	1,5718	1,4419	1,1943	1,119033
23,84694	1,0074	1,0561	1,059667	0,014667	0,020767	0,9497	1,2429	1,1848	0,745933	0,485867	1,5687	1,5718	1,4419	1,1943	1,119033
24,11192	0,9847	1,049567	1,056767	0,0147	0,020433	0,9497	1,2429	1,1848	0,745933	0,485867	1,5687	1,5718	1,4419	1,1943	1,119033
24,37689	0,9786	1,044133	1,054433	0,014433	0,0199	0,9497	1,2429	1,1848	0,745933	0,485867	1,5687	1,5718	1,4419	1,1943	1,119033

Tabla 13

Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 1 bajo variaciones de pH

Horas	Promedio Densidad óptica (DO)														
	C1B1					C1B2					C1B3				
	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5
0	0,0036	0,008499 99	0,0148	0,0235	0,020033 33	0,001700 01	0,007	0,0157	0,012233 34	0,023633 33	0,0114	0,01115	0,01465	0,0176	0,026266 67

0,264944 44	0,0016	0,0043	0,00795	0,018766 66	0,016166 67	0,0004	0,001633 33	0,0069	0,0088	0,020933 34	0,01105	0,00995	0,0133	0,0138	0,023833 33
0,529916 67	0,0023	0,0035	0,007399 99	0,004866 66	0,0155	0,0025	0,002133 33	0,00695	0,007666 66	0,018733 34	0,0135	0,01015	0,01365	0,0134	0,022233 33
0,794888 89	0,0034	0,0035	0,0081	0,009133 33	0,015300 01	0,0034	0,003166 67	0,0074	0,008366 66	0,017766 67	0,01535	0,011800 01	0,01495	0,0142	0,0218
1,059833 33	0,0042	0,004	0,00915	0,006966 67	0,015066 66	0,0037	0,0039	0,008	0,0084	0,017366 66	0,0168	0,013100 01	0,01525	0,0145	0,021733 33
1,324805 56	0,0074	0,0052	0,0105	0,005266 66	0,014199 99	0,0056	0,005266 66	0,00875	0,008533 33	0,017433 33	0,02085	0,0162	0,01825	0,015466 67	0,022133 33
1,58975	0,0089	0,0066	0,01315	0,004766 67	0,013866 66	0,007000 01	0,007266 67	0,0101	0,008966 67	0,016666 67	0,02345	0,01835	0,017	0,0162	0,022266 66
1,854722 22	0,0112	0,0095	0,0164	0,004766 67	0,013933 33	0,0082	0,0094	0,01225	0,008866 66	0,016366 67	0,0261	0,021	0,01915	0,016833 33	0,022333 33
2,119666 67	0,0141	0,012700 01	0,020599 99	0,005866 66	0,0132	0,009	0,011933 34	0,01395	0,009666 66	0,016366 67	0,028600 01	0,02445	0,0202	0,0179	0,022333 34
2,384638 89	0,0176	0,014600 01	0,024600 01	0,0054	0,012933 33	0,0102	0,012833 34	0,0151	0,009833 33	0,015833 34	0,0315	0,0269	0,02095	0,0185	0,023533 34
2,649583 33	0,0205	0,0183	0,027849 99	0,0056	0,012633 33	0,0102	0,014133 33	0,0161	0,0099	0,015966 67	0,0345	0,030499 99	0,0214	0,019000 01	0,0236
2,914555 56	0,0213	0,02	0,03055	0,005833 33	0,012933 34	0,011	0,015133 33	0,0171	0,0103	0,016066 67	0,0385	0,034	0,0228	0,019866 67	0,0243
3,1795	0,0214	0,018400 01	0,0329	0,005666 67	0,012033 34	0,0108	0,0128	0,01775	0,0105	0,015833 34	0,0427	0,0381	0,0413	0,020833 34	0,0242
3,444472 22	0,0211	0,0178	0,0354	0,006166 67	0,0119	0,0138	0,014966 67	0,0179	0,010533 34	0,015566 67	0,049300 01	0,04225	0,02655	0,021566 67	0,024766 67
3,709416 67	0,0202	0,0183	0,03595	0,007033 33	0,011	0,0094	0,014233 33	0,0207	0,0114	0,015566 66	0,0544	0,05155	0,03055	0,0231	0,025
3,974388 89	0,0188	0,017099 99	0,0371	0,006733 33	0,011166 66	0,084599 99	0,0298	0,0198	0,0118	0,015633 33	0,06265	0,05445	0,0306	0,024466 67	0,025633 34
4,239361 11	0,0178	0,017100 01	0,0458	0,007733 33	0,011033 34	0,1288	0,136833 33	0,0207	0,011933 33	0,015366 67	0,069	0,0697	0,04675	0,025733 33	0,026133 34
4,504305 56	0,0178	0,016399 99	0,043	0,0074	0,011166 67	0,135200 01	0,152333 33	0,03085	0,0126	0,015966 67	0,0804	0,07245	0,041250 01	0,027399 99	0,027066 67
4,769277 78	0,0146	0,017299 99	0,0406	0,007333 33	0,010733 33	0,1002	0,082566 67	0,0249	0,012366 67	0,0153	0,08645	0,080850 01	0,03825	0,0289	0,0264
5,034222 22	0,0166	0,0168	0,0495	0,007733 33	0,011	0,138999 99	0,121666 66	0,044049 99	0,013366 66	0,015433 33	0,0932	0,0764	0,04415	0,031066 66	0,027066 67
5,299194 44	0,017	0,0159	0,06515	0,008266 67	0,0119	0,16	0,199	0,0296	0,013833 34	0,016	0,104400 01	0,115249 99	0,05095	0,0337	0,027833 33
5,564166 67	0,0168	0,017	0,0542	0,0083	0,0103	0,112	0,220133 34	0,04295	0,016166 66	0,0153	0,11645	0,1325	0,0612	0,035966 67	0,0286
5,829111 11	0,0201	0,0196	0,10965	0,009833 33	0,0103	0,137199 99	0,171733 34	0,10345	0,014766 66	0,0158	0,12965	0,159450 01	0,059099 99	0,0389	0,028566 66
6,094083 33	0,0182	0,0195	0,112700 01	0,012466 66	0,010866 67	0,1939	0,246833 34	0,0601	0,015466 66	0,016433 34	0,1503	0,151850 01	0,07875	0,042233 33	0,029233 33

6,359027 78	0,0197	0,029700 01	0,109099 99	0,0234	0,010366 67	0,280499 99	0,2678	0,1388	0,015966 66	0,016033 34	0,14805	0,188650 01	0,106649 99	0,045366 66	0,029733 34
6,624	0,020200 01	0,04	0,083050 01	0,011	0,010066 67	0,128400 01	0,324833 33	0,10655	0,017066 66	0,0192	0,2419	0,24215	0,10175	0,0485	0,0301
6,888944 44	0,026499 99	0,0499	0,0792	0,021133 34	0,009933 33	0,2417	0,389799 99	0,0782	0,017666 67	0,0162	0,2057	0,2203	0,12825	0,052466 67	0,0305
7,153916 67	0,0226	0,0446	0,08995	0,026233 33	0,011066 67	0,1641	0,323599 99	0,0833	0,018166 66	0,016833 34	0,253049 99	0,466800 02	0,157949 99	0,0561	0,031133 33
7,418861 11	0,060799 99	0,0652	0,122199 99	0,015366 67	0,010033 33	0,2539	0,278533 33	0,20345	0,019833 34	0,016333 33	0,7397	0,625200 02	0,190449 99	0,060566 67	0,031866 66
7,683833 33	0,041300 01	0,0376	0,125949 99	0,014733 34	0,009866 66	0,231299 99	0,356466 67	0,120299 99	0,020733 34	0,017333 33	0,590600 01	0,784599 99	0,1521	0,0652	0,031966 66
7,948777 78	0,0729	0,039	0,1529	0,0244	0,0099	0,221400 02	0,394666 67	0,153249 99	0,020733 34	0,0165	0,666049 98	0,787200 02	0,20705	0,0698	0,032566 67
8,21375	0,0302	0,073	0,12925	0,018766 67	0,0104	0,227900 01	0,345933 35	0,14605	0,023333 34	0,017966 66	0,7331	0,79725	0,2895	0,0747	0,033333 33
8,478722 22	0,0295	0,074300 01	0,13535	0,0229	0,009733 33	0,243900 01	0,403433 33	0,197900 01	0,024466 67	0,0165	0,866550 01	0,87205	0,213600 01	0,079833 33	0,034133 33
8,743666 67	0,032500 01	0,0694	0,2092	0,033266 67	0,0097	0,206300 01	0,432866 68	0,184499 99	0,026466 67	0,016666 67	0,84795	0,883150 03	0,17405	0,088033 34	0,034566 67
9,008638 89	0,0566	0,085700 01	0,1452	0,0184	0,009566 66	0,272300 01	0,5143	0,2669	0,027566 67	0,0165	0,810399 99	0,952499 97	0,181799 99	0,091033 33	0,034666 66
9,273583 33	0,0971	0,0887	0,18665	0,055933 34	0,009933 34	0,316600 02	0,711966 67	0,49685	0,0296	0,0169	0,820700 01	0,953399 96	0,201449 99	0,108533 34	0,035233 34
9,538555 56	0,0778	0,172999 99	0,1578	0,0542	0,009266 67	0,286600 02	0,679833 34	0,506849 99	0,0315	0,016633 33	0,952900 01	0,99755	0,164	0,122333 33	0,035333 34
9,8035	0,1235	0,1214	0,1812	0,059666 67	0,009166 67	0,282700 01	0,662633 34	0,516849 99	0,034166 67	0,017366 67	0,958200 02	1,100300 04	0,1767	0,145733 32	0,0362
10,06847 22	0,1301	0,261600 01	0,22375	0,1049	0,0092	0,347200 01	0,782300 01	0,405400 01	0,035833 33	0,017	0,932049 97	1,099399 98	0,219249 99	0,147433 33	0,0365
10,33352 78	0,112599 99	0,2687	0,1732	0,0958	0,008933 34	0,334999 99	0,889933 34	0,565699 99	0,037966 66	0,016966 67	1,030199 95	0,929600 03	0,3033	0,160533 33	0,037066 67
10,5985	0,186600 01	0,253499 99	0,18075	0,055133 34	0,009066 67	0,350400 01	0,849	0,74125	0,041	0,017266 67	1,016949 99	1,098999 98	0,265100 01	0,160466 66	0,037433 34
10,86344 44	0,531599 98	0,2797	0,187050 01	0,044266 67	0,009566 67	0,8895	0,935066 69	0,701050 01	0,0434	0,017666 67	1,014600 02	1,165250 05	0,260600 01	0,1694	0,038166 67
11,12841 67	0,5676	0,453500 02	0,195349 99	0,051966 67	0,009233 33	0,9641	0,899233 35	0,75755	0,046766 67	0,017933 33	1,029599 96	1,141099 97	0,338599 99	0,202366 67	0,038733 33
11,39336 11	0,2495	0,518500 03	0,223600 01	0,185833 33	0,009333 34	0,982200 02	0,994466 68	0,830899 99	0,046766 66	0,018033 34	1,055200 03	1,106999 99	0,294200 01	0,160966 67	0,039433 34
11,65833 33	0,400599 98	0,6451	0,22955	0,096566 67	0,009466 67	1,032700 02	0,959200 03	0,711599 99	0,0515	0,0202	1,126949 99	1,134949 99	0,3805	0,168900 01	0,0403
11,92330 56	0,396900 02	0,856700 03	0,229299 99	0,0441	0,009833 34	1,071400 01	1,020733 31	0,749249 99	0,059166 67	0,018566 67	1,074800 04	1,177049 96	0,314450 01	0,180333 34	0,0402
12,18825	0,511300 01	0,768099 97	0,2262	0,077566 67	0,010233 33	0,597200 01	1,0471	0,785949 98	0,057433 34	0,0196	1,100450 02	1,180549 99	0,316849 99	0,177966 66	0,040133 33

12,45322 22	0,750900 02	0,8646 02	0,2397 01	0,189066 67	0,011966 67	0,977600 02	1,060900 01	0,813900 04	0,0628 02	0,019 02	1,089849 99	1,211049 97	0,31295 98	0,178799 99	0,041033 33
12,71816 67	0,728200 02	0,960399 99	0,252350 01	0,075833 33	0,010166 66	1,050399 96	1,161566 66	0,689000 02	0,066566 66	0,020866 66	1,139499 96	1,199199 98	0,515249 98	0,183533 34	0,041133 33
12,98313 89	0,4873 02	0,856400 02	0,257000 01	0,080899 99	0,011366 67	1,003699 98	1,156400 01	0,862100 04	0,069966 67	0,0191 02	1,181499 98	1,251649 98	0,38 99	0,200799 99	0,041533 33
13,24808 33	0,902 01	0,956700 01	0,251999 99	0,130300 01	0,011566 67	1,115799 95	1,197266 7	0,850049 99	0,075333 33	0,018899 99	1,146449 97	1,229450 03	0,415549 99	0,1891 99	0,041633 33
13,51305 56	0,705700 01	0,899899 99	0,263800 01	0,160333 33	0,0098 01	0,655400 01	1,221666 68	0,724800 01	0,0859 02	0,019366 67	1,151800 01	1,238999 99	0,469699 99	0,191866 66	0,042433 33
13,778 94	0,995799 95	0,999499 95	0,2711 02	0,1061 33	0,011233 33	1,148500 01	1,199766 67	1,064600 01	0,097266 67	0,019266 67	1,189850 02	1,2247 99	0,450899 99	0,200933 34	0,042766 67
14,04297 22	1,068499 95	1,011799 94	0,27665 02	0,073433 33	0,009866 67	1,073699 98	1,147100 02	1,0097 02	0,1032 02	0,019433 33	1,215850 03	1,271200 01	0,504000 01	0,200366 66	0,0431 33
14,30791 67	0,837900 01	1,028699 99	0,276449 99	0,0794 02	0,0192 66	1,088799 98	1,225566 7	0,949449 97	0,098466 67	0,019666 66	1,210050 02	1,272950 05	0,505200 01	0,205333 33	0,043433 33
14,57288 89	0,967799 95	1,008499 97	0,27975 02	0,132166 67	0,014966 66	1,030900 05	1,123166 67	0,888900 01	0,110699 99	0,020166 67	1,212699 99	1,298499 99	0,506050 01	0,211833 33	0,043366 67
14,83783 33	1,135100 05	1,074499 97	0,28725 02	0,134266 67	0,015433 33	1,090199 99	1,210800 02	0,974300 03	0,120366 67	0,0202 02	1,225800 02	1,201749 99	0,501750 01	0,247633 34	0,044333 33
15,10280 56	1,103400 01	1,079500 06	0,295799 99	0,168833 33	0,016266 66	1,233600 04	1,290366 63	1,105950 01	0,115933 34	0,019966 67	1,278400 02	1,169099 96	0,558599 99	0,2372 99	0,044433 33
15,36777 78	1,134200 06	1,141600 01	0,292799 99	0,170233 33	0,0169 02	1,240300 02	1,279033 34	1,131800 01	0,1158 02	0,020266 66	1,26385 99	1,234199 99	0,490250 01	0,253033 34	0,044466 66
15,63272 22	1,103500 05	1,172799 95	0,2947 02	0,116033 34	0,016733 33	1,318499 97	1,270033 33	0,995749 97	0,124033 33	0,020433 34	1,290000 01	1,295650 01	0,525149 99	0,244866 66	0,044966 67
15,89769 44	1,118799 95	1,172999 97	0,2976 02	0,189766 66	0,014433 34	1,219499 98	1,190233 34	1,011449 99	0,1198 02	0,020366 67	1,246700 02	1,202350 01	0,596499 98	0,244600 01	0,0449 33
16,16263 89	1,163300 05	1,153899 99	0,3026 02	0,253033 34	0,0165 02	1,233299 99	1,306733 33	1,186200 02	0,131733 33	0,0213 02	1,264350 01	1,28255 99	0,57345 99	0,237233 33	0,045933 33
16,42761 11	1,210500 05	1,205100 04	0,2984 02	0,237466 68	0,0125 03	1,253500 03	1,236199 99	1,182699 99	0,121633 33	0,020733 33	1,3115 99	1,301500 06	0,6673 99	0,220833 34	0,045666 66
16,69255 56	1,235000 04	1,187200 05	0,293299 99	0,1265 66	0,017366 66	1,153399 97	1,089033 3	1,1258 99	0,122599 99	0,021 02	1,266 99	1,316149 99	0,5702 99	0,224566 66	0,045933 33
16,95752 78	1,274299 99	1,232199 99	0,278849 99	0,296466 66	0,014566 66	0,994799 99	1,222799 98	1,171149 98	0,127433 33	0,0212 02	1,325100 02	1,1899 99	0,554400 01	0,229766 66	0,0463 33
17,22247 22	1,217399 97	1,260600 05	0,277699 99	0,240966 66	0,0198 06	1,353700 06	1,064033 33	1,09815 99	0,143666 66	0,021366 67	1,34475 98	1,289999 98	0,540849 98	0,248633 34	0,046433 33
17,48744 44	1,206200 02	1,274300 06	0,277150 01	0,231199 99	0,016433 33	1,320099 96	1,334133 31	1,185199 98	0,136699 99	0,022966 66	1,307499 96	1,368600 03	0,589999 99	0,245600 01	0,047333 33
17,75238 89	1,216699 97	1,315999 96	0,2798 02	0,235733 33	0,017966 67	1,326699 99	1,166133 34	1,141749 99	0,155199 99	0,0213 02	1,307649 98	1,268150 01	0,558700 01	0,248233 32	0,046866 66
18,01736 11	1,283400 05	1,256999 95	0,265650 01	0,196933 33	0,018033 33	1,338199 97	1,329000 01	1,187700 01	0,153066 66	0,021633 33	1,341199 99	1,359900 03	0,64325 99	0,225633 33	0,0471 33
18,28230 56	1,289100 05	1,328900 04	0,266650 01	0,192766 67	0,016466 67	1,225100 04	1,2829 03	1,260750 03	0,155633 33	0,021733 34	1,351150 04	1,37965 99	0,519800 01	0,170533 33	0,047166 66

18,54727 78	1,305200 03	1,315700 02	0,267050 01	0,358599 99	0,016433 33	1,194799 94	1,242900 02	1,204600 01	0,1666	0,0218	1,337299 99	1,343850 04	0,610100 01	0,168633 33	0,047566 66
18,81222 22	1,298100 01	1,2527	0,261950 01	0,164366 66	0,0147	1,232599 99	1,247799 98	1,251650 01	0,157133 34	0,0221	1,365949 94	1,356300 03	0,62135	0,189433 34	0,047666 67
19,07719 44	1,296699 98	1,275000 02	0,2683	0,307266 67	0,015466 67	1,409100 03	1,254666 65	1,12535	0,153200 01	0,021966 67	1,343849 99	1,245300 04	0,654349 98	0,1676	0,0479
19,34213 89	1,221099 99	1,281400 02	0,272850 01	0,362	0,014566 67	1,283000 01	1,194033 32	1,220700 03	0,180800 01	0,021966 67	1,373299 97	1,29995	0,63575	0,247066 67	0,047666 67
19,60711 11	1,281299 95	1,264300 05	0,272000 01	0,200666 66	0,021766 67	1,335399 99	1,285933 32	1,231000 04	0,157600 01	0,022366 67	1,364650 01	1,20615	0,6406	0,167233 34	0,048133 34
19,87208 33	1,267899 97	1,351399 94	0,292499 99	0,199600 01	0,021	1,351700 05	1,324533 31	1,208349 96	0,157866 67	0,022133 34	1,331199 98	1,352150 01	0,568399 98	0,200633 34	0,048233 33
20,13702 78	1,198700 05	1,250199 94	0,300049 99	0,2936	0,014766 67	1,359500 03	1,325199 99	1,176299 99	0,151666 65	0,022566 67	1,395450 03	1,313100 01	0,59085	0,1815	0,048033 33
20,402	1,238800 05	1,273400 01	0,294550 01	0,202600 01	0,015733 33	1,314900 04	1,182633 34	1,178400 03	0,151966 68	0,022533 33	1,371850 01	1,369799 97	0,60815	0,165433 33	0,048533 33
20,66694 44	1,2931	1,328499 97	0,281299 99	0,2449	0,019866 67	1,269999 98	1,374499 98	1,317950 01	0,171300 01	0,0251	1,349550 01	1,217450 02	0,526300 01	0,194433 35	0,048833 33
20,93202 78	1,280799 96	1,384200 01	0,297100 01	0,301899 99	0,013866 67	1,313899 97	1,160466 66	1,253950 01	0,1629	0,022966 67	1,399499 99	1,29075	0,516749 99	0,227733 33	0,048533 34
21,19697 22	1,264899 97	1,338499 95	0,291050 01	0,264799 99	0,018533 34	1,412400 01	1,236233 36	1,182350 02	0,1571	0,022633 34	1,377750 04	1,383250 04	0,650150 01	0,1645	0,048766 67
21,46194 44	1,363700 03	1,320699 96	0,348199 99	0,1853	0,017633 33	1,236700 06	1,277799 99	1,287350 01	0,153866 66	0,0228	1,397199 99	1,27535	0,733399 97	0,167733 34	0,048866 66
21,72688 89	1,317800 01	1,278000 04	0,3268	0,294833 33	0,018866 67	1,289599 98	1,381099 98	1,2375	0,155466 67	0,023166 67	1,383550 01	1,376700 03	0,6224	0,265366 66	0,049166 67
21,99186 11	1,315299 95	1,304700 05	0,32965	0,240966 66	0,017033 34	1,342500 05	1,340166 68	1,256650 03	0,171133 33	0,0235	1,41225	1,411550 02	0,712950 02	0,1626	0,049033 33
22,25680 56	1,261399 96	1,290100 01	0,3415	0,2005	0,018666 66	1,391599 99	1,248299 99	1,179599 96	0,157566 66	0,023433 33	1,395449 97	1,373699 99	0,666699 99	0,184066 66	0,049566 66
22,52177 78	1,313600 03	1,372900 02	0,340899 99	0,185266 67	0,0217	1,291699 97	1,237666 66	1,20715	0,1565	0,0233	1,418900 04	1,390799 95	0,7375	0,1892	0,049366 67
22,78672 22	1,246599 99	1,261099 99	0,3111	0,235733 34	0,015733 33	1,428299 99	1,368099 99	1,282100 01	0,167499 99	0,0236	1,374099 99	1,35165	0,615799 99	0,171766 67	0,049566 66
23,05169 44	1,246499 99	1,385100 02	0,3018	0,221466 68	0,017466 67	1,340800 02	1,291133 34	1,269199 98	0,1701	0,023766 67	1,381100 04	1,318349 97	0,53855	0,193866 67	0,049666 67
23,31663 89	1,381200 04	1,3576	0,332799 99	0,246233 33	0,016566 67	1,2912	1,316200 01	1,155450 03	0,180866 67	0,0236	1,358	1,356700 03	0,5491	0,195633 32	0,049666 67
23,58161 11	1,231900 06	1,388299 97	0,3146	0,2458	0,0147	1,345900 02	1,412866 66	1,214050 03	0,157466 66	0,023933 33	1,365950 01	1,412099 99	0,607800 01	0,1604	0,049633 33
23,84655 56	1,267900 06	1,333799 97	0,332799 99	0,189066 67	0,0175	1,360300 01	1,138700 02	1,298600 01	0,152533 33	0,023666 66	1,429750 03	1,261649 98	0,541400 01	0,204266 67	0,049666 67
24,11152 78	1,188600 03	1,337299 96	0,2874	0,205733 34	0,0167	1,450299 94	1,344566 68	1,256999 96	0,155333 33	0,0238	1,383749 98	1,393099 98	0,628949 99	0,255333 34	0,049733 33
24,37647 22	1,263499 98	1,383999 99	0,3209	0,1518	0,0145	1,296399 95	1,150866 67	1,264299 97	0,181500 01	0,024133 33	1,383049 96	1,317099 97	0,577400 02	0,184733 33	0,049833 33

Tabla 14

Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 2 bajo distintos porcentajes de etanol

Promedio de absorbancia (DO)															
Horas	C2B1					C2B2					C2B3				
	0	5%	10%	15%	20%	0	5%	10%	15%	20%	0	5%	10%	15%	20%
	0,076167	0,0702	0,072567	0,072233	0,069267	0,064067	0,050967	0,0499	0,045933	0,042167	0,0286	0,041633	0,0406	0,038067	0,035667
0,264972	0,080367	0,0746	0,075467	0,076333	0,0713	0,067933	0,055433	0,0497	0,048067	0,040567	0,0333	0,044367	0,041633	0,041433	0,032733
0,529917	0,0846	0,080233	0,079967	0,079633	0,072067	0,0758	0,062633	0,055733	0,0495	0,043233	0,0378	0,045267	0,043133	0,041	0,0333
0,794889	0,091067	0,087133	0,085433	0,0844	0,072767	0,081633	0,071633	0,059	0,0487	0,0401	0,0424	0,051833	0,045867	0,042333	0,0341
1,059861	0,096067	0,0966	0,091767	0,0873	0,0778	0,091967	0,0825	0,065533	0,0506	0,0438	0,0479	0,0575	0,047133	0,0425	0,034167
1,324806	0,102233	0,105867	0,097733	0,091867	0,080767	0,102933	0,093567	0,0738	0,054967	0,045333	0,0535	0,0656	0,0498	0,044233	0,0347
1,589778	0,111033	0,115067	0,104467	0,095567	0,0841	0,112467	0,109833	0,080367	0,055567	0,047167	0,0592	0,0731	0,050733	0,045167	0,039167
1,85475	0,1195	0,124967	0,112533	0,100733	0,086033	0,128	0,121767	0,090267	0,060767	0,045133	0,0649	0,079367	0,049567	0,044967	0,038267
2,119722	0,1289	0,137867	0,121133	0,104633	0,088467	0,1416	0,1388	0,0995	0,0648	0,045833	0,0703	0,0868	0,048467	0,047067	0,0391
2,384667	0,139067	0,1461	0,129433	0,110167	0,0909	0,160867	0,154633	0,110767	0,072933	0,048667	0,0747	0,090467	0,0501	0,048233	0,0403
2,649639	0,152033	0,159	0,139867	0,1161	0,092833	0,172867	0,169767	0,124333	0,080333	0,05	0,08	0,0968	0,052367	0,049167	0,039767
2,914611	0,160567	0,17	0,1485	0,1222	0,0938	0,189	0,186267	0,136533	0,085833	0,0466	0,0854	0,1048	0,0535	0,050133	0,039233
3,179556	0,1735	0,180167	0,156233	0,128867	0,095433	0,2004	0,199833	0,1502	0,0928	0,0448	0,0928	0,111433	0,055767	0,049467	0,040667
3,444528	0,182033	0,1906	0,1653	0,136133	0,096767	0,210133	0,2095	0,163533	0,102233	0,0523	0,0998	0,1211	0,0579	0,051633	0,041633
3,7095	0,1917	0,200833	0,1728	0,143567	0,0992	0,2171	0,2174	0,1718	0,112	0,0448	0,1086	0,132433	0,0625	0,053167	0,041333
3,974472	0,203033	0,213	0,181967	0,1501	0,102333	0,223067	0,221667	0,181367	0,121567	0,047767	0,1165	0,1441	0,066567	0,0547	0,041033
4,239417	0,216133	0,224933	0,189767	0,159033	0,106933	0,227667	0,225533	0,1824	0,1268	0,043667	0,1256	0,155933	0,067633	0,056367	0,0402
4,504389	0,230867	0,2405	0,1993	0,165667	0,111067	0,2303	0,229767	0,1903	0,1354	0,046667	0,1358	0,168033	0,069467	0,0573	0,0413
4,769361	0,2458	0,255167	0,208667	0,173033	0,1162	0,230867	0,233133	0,195633	0,1404	0,0516	0,1448	0,182	0,070467	0,0592	0,0401
5,034306	0,2612	0,271067	0,2189	0,180233	0,121567	0,2324	0,234567	0,1945	0,1449	0,046333	0,1532	0,194467	0,0722	0,062267	0,040067
5,299278	0,278267	0,2898	0,230167	0,191	0,127567	0,235367	0,2334	0,205333	0,149633	0,0454	0,1606	0,206833	0,073433	0,0648	0,0396
5,56425	0,2996	0,307233	0,2411	0,196533	0,132733	0,236267	0,238667	0,2076	0,1494	0,045767	0,17	0,219567	0,076167	0,067667	0,040067

5,829194	0,3196	0,3272	0,254233	0,2052	0,1383	0,237133	0,2386	0,209233	0,154233	0,0478	0,1768	0,231967	0,0793	0,070133	0,0395
6,094167	0,342033	0,347633	0,2683	0,2084	0,144	0,238	0,242	0,206333	0,158433	0,041933	0,1826	0,2448	0,077533	0,074533	0,0371
6,359139	0,364767	0,370367	0,282933	0,2165	0,1497	0,237967	0,2428	0,2213	0,159167	0,043733	0,1906	0,255633	0,078367	0,078733	0,0392
6,624083	0,3884	0,392533	0,300233	0,225867	0,154533	0,239367	0,2393	0,212	0,1631	0,041967	0,1925	0,266533	0,080033	0,085267	0,038533
6,889056	0,4122	0,4131	0,312467	0,2389	0,159	0,236833	0,2445	0,210533	0,1673	0,0428	0,1974	0,277733	0,081567	0,0915	0,038367
7,154028	0,436967	0,436967	0,328733	0,2447	0,165167	0,24	0,2439	0,218	0,1667	0,048633	0,2034	0,2883	0,082667	0,099533	0,0393
7,419	0,461733	0,460833	0,341767	0,255167	0,170967	0,235367	0,242633	0,210167	0,170667	0,043833	0,2087	0,300033	0,083867	0,108567	0,038
7,683944	0,4865	0,485667	0,363733	0,2647	0,1743	0,239167	0,2499	0,212267	0,1747	0,044867	0,2129	0,309033	0,084667	0,119167	0,038333
7,948917	0,513	0,509467	0,379167	0,273667	0,178233	0,2367	0,245267	0,209033	0,173433	0,0438	0,2182	0,319867	0,0864	0,130467	0,0385
8,213889	0,539433	0,532067	0,3962	0,288267	0,1846	0,236467	0,244267	0,219867	0,175733	0,0461	0,2229	0,329333	0,0876	0,1439	0,0394
8,478833	0,5647	0,557133	0,4176	0,296733	0,191367	0,234167	0,250733	0,2176	0,180267	0,046167	0,2281	0,338533	0,0886	0,1582	0,038367
8,743806	0,5882	0,579933	0,4323	0,31	0,2024	0,2354	0,252833	0,2116	0,187533	0,045867	0,2328	0,347867	0,090633	0,172633	0,042
9,008778	0,612133	0,603433	0,4568	0,323	0,205367	0,234967	0,247233	0,219767	0,180833	0,047233	0,238	0,356733	0,091633	0,189767	0,039433
9,273722	0,638633	0,6278	0,474	0,343233	0,214033	0,234533	0,250067	0,222667	0,185233	0,047967	0,2418	0,365267	0,094033	0,206367	0,038967
9,538694	0,660833	0,6483	0,4931	0,348033	0,221933	0,234267	0,243667	0,2206	0,187533	0,051033	0,2478	0,376133	0,0957	0,219133	0,0399
9,803667	0,686433	0,6733	0,512767	0,361533	0,229933	0,225867	0,248167	0,217233	0,188967	0,050033	0,2522	0,385267	0,098067	0,2383	0,041
10,06864	0,7096	0,6945	0,531533	0,372367	0,240933	0,228233	0,245467	0,226033	0,191767	0,051033	0,2564	0,394067	0,100567	0,250533	0,039433
10,33369	0,730433	0,717	0,553133	0,388167	0,253367	0,228433	0,245133	0,2151	0,193567	0,0525	0,2612	0,4058	0,1024	0,265767	0,040067
10,59867	0,753067	0,738567	0,5739	0,407467	0,260733	0,225833	0,245533	0,2149	0,192767	0,053633	0,2658	0,416267	0,1054	0,284833	0,041467
10,86361	0,773833	0,759033	0,593467	0,418167	0,272567	0,224233	0,242	0,213867	0,1941	0,056267	0,2696	0,427967	0,1093	0,301867	0,0401
11,12858	0,793933	0,777867	0,613933	0,436667	0,285033	0,2252	0,237767	0,215367	0,1943	0,0567	0,2762	0,438667	0,1105	0,320267	0,039867
11,39356	0,8125	0,7976	0,632367	0,450033	0,305367	0,2211	0,2402	0,219867	0,194767	0,0596	0,2789	0,448167	0,113367	0,3375	0,040333
11,6585	0,830667	0,8146	0,6519	0,465467	0,314733	0,226067	0,235933	0,214267	0,1966	0,057267	0,2842	0,459233	0,116567	0,358267	0,040167
11,92347	0,845967	0,831767	0,670733	0,478633	0,328667	0,219367	0,2345	0,2258	0,2059	0,061167	0,2904	0,4743	0,1208	0,375233	0,0401
12,18844	0,8604	0,847333	0,689367	0,495067	0,3374	0,222667	0,2387	0,2143	0,1963	0,066533	0,2975	0,485567	0,126567	0,3952	0,040433
12,45339	0,874167	0,862667	0,706733	0,508667	0,352567	0,217833	0,231067	0,216433	0,2028	0,066033	0,3054	0,500933	0,1274	0,416167	0,040367
12,71836	0,886967	0,8753	0,723267	0,522733	0,368633	0,219933	0,230067	0,210767	0,1913	0,071567	0,3179	0,516233	0,131433	0,437767	0,040533
12,98333	0,899567	0,889733	0,7416	0,5452	0,384667	0,224533	0,233967	0,220767	0,197533	0,074533	0,3212	0,530167	0,136667	0,4608	0,041067

13,24831	0,910367	0,900833	0,757867	0,555	0,398067	0,2199	0,238333	0,229867	0,196267	0,097167	0,3271	0,545	0,1393	0,480933	0,039733
13,51325	0,920567	0,913233	0,7714	0,569067	0,4148	0,221033	0,252633	0,237033	0,196667	0,1426	0,3334	0,5613	0,144967	0,504733	0,0397
13,77822	0,9287	0,924233	0,785167	0,584167	0,4299	0,213933	0,236067	0,214533	0,193633	0,135067	0,3399	0,575633	0,1504	0,5241	0,039967
14,04319	0,935767	0,932833	0,798767	0,600433	0,447267	0,213833	0,2241	0,213233	0,1933	0,155733	0,3484	0,5914	0,1549	0,545033	0,040467
14,30814	0,940567	0,9418	0,809467	0,6145	0,463533	0,2183	0,229133	0,214267	0,186833	0,177133	0,357	0,603533	0,1607	0,5651	0,0411
14,57311	0,948067	0,949633	0,823133	0,6281	0,4795	0,2097	0,228933	0,213767	0,1853	0,1766	0,365	0,6171	0,1662	0,583367	0,0414
14,83808	0,950667	0,956133	0,8318	0,639767	0,496533	0,213167	0,228833	0,210767	0,184767	0,1754	0,3735	0,629833	0,172467	0,601767	0,040333
15,10306	0,951767	0,964967	0,843267	0,654133	0,513367	0,212667	0,223533	0,204133	0,183967	0,1754	0,3835	0,645567	0,180067	0,620867	0,040867
15,368	0,953133	0,972267	0,8525	0,6683	0,5294	0,209567	0,226267	0,213767	0,1866	0,167867	0,3933	0,6618	0,186733	0,640833	0,040567
15,63297	0,955333	0,973133	0,858833	0,674133	0,547267	0,205633	0,223567	0,2062	0,1812	0,178467	0,4022	0,6728	0,196467	0,66	0,039267
15,89794	0,962	0,9773	0,869233	0,6873	0,561367	0,208967	0,224167	0,202	0,185167	0,181833	0,4128	0,683167	0,2036	0,685033	0,039467
16,16289	0,948	0,981067	0,873533	0,695233	0,577067	0,207133	0,219167	0,199233	0,175667	0,181867	0,4235	0,6927	0,213167	0,7019	0,0419
16,42786	0,957	0,987067	0,881233	0,705867	0,593933	0,2119	0,2202	0,205267	0,178733	0,172633	0,4343	0,699467	0,223067	0,7218	0,040467
16,69283	0,952267	0,9885	0,8861	0,712367	0,609	0,212667	0,2161	0,204367	0,175167	0,179033	0,4427	0,708267	0,2338	0,740433	0,041967
16,95778	0,936933	0,9879	0,889533	0,7206	0,6267	0,206367	0,2109	0,203467	0,182967	0,203933	0,4538	0,717367	0,244333	0,757867	0,039967
17,22275	0,935667	0,9886	0,891467	0,726633	0,6406	0,2035	0,211133	0,1967	0,1802	0,170833	0,466	0,724067	0,258367	0,779933	0,04
17,48772	0,940433	0,988133	0,8967	0,733833	0,6564	0,209167	0,2221	0,1988	0,179367	0,205067	0,4738	0,729967	0,271967	0,794133	0,040267
17,75269	0,987267	0,9903	0,898967	0,740033	0,668367	0,205967	0,218667	0,198267	0,176367	0,1925	0,4843	0,7372	0,288933	0,819033	0,039767
18,01764	0,943133	0,9858	0,893767	0,751433	0,6827	0,2048	0,214233	0,197367	0,172533	0,1964	0,4913	0,7435	0,3011	0,8383	0,040433
18,28261	0,956833	0,9969	0,894767	0,751567	0,693533	0,201233	0,211233	0,2073	0,1809	0,194933	0,498	0,749533	0,3134	0,8545	0,039533
18,54758	0,940333	0,995767	0,8925	0,7575	0,704067	0,2017	0,211733	0,196833	0,176833	0,185967	0,5042	0,757733	0,329967	0,872633	0,0384
18,81253	0,960833	0,991733	0,890967	0,765967	0,716233	0,2031	0,211633	0,194167	0,176667	0,176367	0,5075	0,764267	0,345767	0,8883	0,0444
19,0775	0,927533	0,9897	0,890767	0,773	0,728533	0,205367	0,207067	0,193767	0,1688	0,182633	0,514	0,770733	0,364	0,903933	0,039933
19,34247	0,948867	0,984633	0,8839	0,7734	0,737333	0,201233	0,206033	0,194633	0,168633	0,197633	0,5171	0,776633	0,384	0,920533	0,038867
19,60742	0,943167	0,9864	0,8796	0,777367	0,745933	0,204367	0,2039	0,194367	0,1727	0,189267	0,5225	0,781833	0,403	0,9307	0,040467
19,87239	0,959467	0,982233	0,878533	0,786533	0,755633	0,200867	0,2029	0,198933	0,168933	0,1931	0,526	0,787433	0,424867	0,9435	0,043167
20,13736	0,999467	0,978867	0,8738	0,783567	0,763667	0,202967	0,2104	0,199567	0,167833	0,204633	0,5311	0,7913	0,441167	0,954733	0,041533
20,40233	0,978233	0,975967	0,866167	0,780067	0,770733	0,1978	0,2007	0,196567	0,1663	0,178567	0,536	0,794333	0,458867	0,9673	0,038233

20,66728	0,918033	0,976433	0,863233	0,786233	0,7781	0,199533	0,214367	0,190967	0,168667	0,211933	0,5417	0,798433	0,480267	0,977433	0,039267
20,93236	1,010367	0,966433	0,855767	0,780067	0,784167	0,200767	0,205233	0,196833	0,1649	0,2083	0,5464	0,803033	0,501967	0,9894	0,039167
21,19731	1,049333	0,964467	0,857433	0,7796	0,789633	0,204133	0,217133	0,1941	0,1675	0,182567	0,5502	0,8054	0,5218	1,000133	0,038633
21,46228	1,001	0,960833	0,861433	0,787467	0,795333	0,199167	0,211333	0,192633	0,1664	0,1907	0,5546	0,806933	0,543267	1,007933	0,038367
21,72725	1,024067	0,9495	0,8411	0,784933	0,8008	0,193233	0,205967	0,1906	0,1726	0,1639	0,56	0,8099	0,5603	1,016967	0,0407
21,99219	1,024067	0,9495	0,8411	0,784933	0,8008	0,193233	0,205967	0,1906	0,1726	0,1639	0,5638	0,8108	0,579267	1,023967	0,038533
22,25717	1,024067	0,9495	0,8411	0,784933	0,8008	0,193233	0,205967	0,1906	0,1726	0,1639	0,5666	0,810733	0,597	1,027733	0,037767
22,52214	1,024067	0,9495	0,8411	0,784933	0,8008	0,193233	0,205967	0,1906	0,1726	0,1639	0,5704	0,811533	0,617867	1,0339	0,0396
22,78711	1,024067	0,9495	0,8411	0,784933	0,8008	0,193233	0,205967	0,1906	0,1726	0,1639	0,5745	0,8115	0,637833	1,042733	0,039433
23,05206	1,024067	0,9495	0,8411	0,784933	0,8008	0,193233	0,205967	0,1906	0,1726	0,1639	0,5767	0,8124	0,657467	1,0427	0,038767
23,31703	1,024067	0,9495	0,8411	0,784933	0,8008	0,193233	0,205967	0,1906	0,1726	0,1639	0,5799	0,814233	0,6795	1,0511	0,041467
23,582	1,024067	0,9495	0,8411	0,784933	0,8008	0,193233	0,205967	0,1906	0,1726	0,1639	0,5834	0,814	0,699733	1,049933	0,037867
23,84694	1,024067	0,9495	0,8411	0,784933	0,8008	0,193233	0,205967	0,1906	0,1726	0,1639	0,5857	0,813033	0,717133	1,052833	0,040533
24,11192	1,024067	0,9495	0,8411	0,784933	0,8008	0,193233	0,205967	0,1906	0,1726	0,1639	0,5892	0,811533	0,734733	1,055867	0,038567
24,37689	1,024067	0,9495	0,8411	0,784933	0,8008	0,193233	0,205967	0,1906	0,1726	0,1639	0,5931	0,810567	0,7491	1,0544	0,039067

Tabla 15

Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 2 bajo variaciones de pH

Promedio Densidad óptima (DO)															
Horas	C2B1					C2B2					C2B3				
	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5
0	0,0319	0,029533 33	0,035266 67	0,040533 34	0,050766 66	0,020166 67	0,0205	0,022733 34	0,0249	0,033466 66	0,024433 33	0,020866 67	0,012866 67	0,026566 67	0,025166 67
0,264944	0,033000 01	0,030833 33	0,037366 67	0,0397 0,0339	0,0339	0,022133 34	0,020033 33	0,015033 33	0,013333 33	0,0357 0,0265	0,0265	0,0219	0,024966 67	0,0263 0,0263	0,024666 66
0,529916	0,036999 99	0,033333 33	0,0398 0,0398	0,040233 33	0,029 0,029	0,0275 0,0275	0,022166 67	0,021233 33	0,013433 33	0,037966 66	0,0274 0,0274	0,023366 67	0,025233 34	0,025533 33	0,024366 66
0,794888	0,0413 89	0,036533 33	0,042633 34	0,043933 33	0,022933 34	0,033166 66	0,0278	0,0286	0,0141	0,0411	0,0288	0,024666 67	0,033733 33	0,025333 34	0,023766 67

1,059833 33	0,0433	0,040633 34	0,0451	0,045166 66	0,016433 33	0,041366 67	0,0365	0,035466 67	0,020166 67	0,0435	0,032	0,0278	0,029266 66	0,026233 34	0,022533 34
1,324805 56	0,0492	0,045066 66	0,0486	0,0468	0,014133 33	0,0547	0,048499 99	0,043233 34	0,028666 66	0,0469	0,0371	0,0312	0,0315	0,025	0,022633 33
1,58975 01	0,058500	0,0501	0,0527	0,0492	0,0099	0,0666	0,062066 66	0,051833 33	0,0348	0,048799 99	0,0408	0,034466 66	0,038466 66	0,028033 33	0,022366 66
1,854722 22	0,058999 99	0,056666 66	0,057299 99	0,049633 33	0,007666 66	0,080699 99	0,073	0,0636 33	0,041633 33	0,050466 66	0,039233 33	0,034533 34	0,029366 67	0,022533 34	
2,119666 67	0,0624	0,061566 67	0,061833 33	0,0511	0,006333 34	0,094366 66	0,0878	0,077166 66	0,049866 66	0,052566 67	0,0535	0,0467	0,0389	0,032499 99	0,021966 67
2,384638 89	0,0686	0,068366 67	0,0667	0,0536	0,004966 67	0,1098	0,1041	0,090366 67	0,058166 67	0,0526	0,061166 67	0,053966 66	0,039733 34	0,031700 01	0,021466 67
2,649583 33	0,0755	0,075833 33	0,0716	0,0528	0,004733 33	0,1286	0,1245	0,104266 67	0,067600 01	0,0542	0,074033 33	0,0666	0,045033 33	0,033866 67	0,0224
2,914555 56	0,083300 01	0,084333 33	0,076866 66	0,053533 33	0,0046	0,145233 34	0,145	0,1217	0,077766 67	0,054166 67	0,085733 33	0,079766 67	0,052233 33	0,0345	0,021366 66
3,1795 01	0,1047	0,091333 33	0,081666 67	0,054533 34	0,0042	0,156633 34	0,1566	0,1393	0,0884	0,054766 67	0,1023	0,096700 01	0,051733 34	0,035333 34	0,021299 99
3,444472 22	0,104500 01	0,0989	0,0873	0,0542	0,003733 33	0,169833 34	0,176566 66	0,157066 67	0,099233 34	0,055166 67	0,122933 33	0,115033 34	0,061733 33	0,038033 33	0,020266 67
3,709416 67	0,1092	0,105633 33	0,092866 67	0,054933 33	0,002933 33	0,175933 34	0,185099 99	0,178333 32	0,111633 33	0,054966 67	0,149266 67	0,137633 34	0,067933 33	0,040266 67	0,021433 33
3,974388 89	0,115399 99	0,108266 66	0,0987	0,0552	0,003466 67	0,1809	0,192100 01	0,1973	0,124933 33	0,055066 67	0,180333 32	0,160366 67	0,076366 66	0,039733 34	0,0218
4,239361 11	0,1338	0,115633 33	0,1038	0,0557	0,0029	0,179733 33	0,192766 67	0,211566 66	0,138066 66	0,0549	0,216033 33	0,191833 33	0,076466 67	0,0408	0,021766 66
4,504305 56	0,126	0,121633 33	0,109433 34	0,055699 99	0,003366 67	0,177833 34	0,1936	0,221533 33	0,152266 66	0,055233 33	0,261033 33	0,227399 99	0,0899	0,0424	0,021233 33
4,769277 78	0,137	0,114433 34	0,0558	0,002566 67	0,179600 01	0,193366 66	0,228133 32	0,165766 66	0,055766 67	0,3124	0,268933 34	0,094166 66	0,043066 66	0,021133 33	
5,034222 22	0,149	0,119666 66	0,057833 33	0,002833 33	0,177733 34	0,195266 65	0,2353	0,183066 67	0,055966 67	0,370200 01	0,314433 33	0,101733 32	0,044766 67	0,020833 33	
5,299194 44	0,162600 01	0,160833 33	0,123966 67	0,056566 67	0,0029	0,1847	0,1975	0,242066 67	0,198933 34	0,055866 66	0,411499 98	0,361333 34	0,111866 67	0,0454	0,021266 67
5,564166 67	0,1782	0,175433 34	0,129733 34	0,056266 67	0,0031	0,181366 66	0,1996	0,248466 67	0,2158	0,056466 67	0,456900 01	0,399466 66	0,1241	0,046633 33	0,021333 33
5,829111 11	0,193299 99	0,188333 34	0,135133 33	0,057233 33	0,002733 33	0,1773	0,198199 99	0,251566 67	0,229799 99	0,055866 66	0,497500 01	0,441266 69	0,1334	0,047933 34	0,020633 33
6,094083 33	0,2081	0,204533 35	0,140633 34	0,0572	0,003233 33	0,184233 33	0,198466 67	0,258133 33	0,242733 33	0,055766 66	0,543800 01	0,477066 66	0,145166 66	0,049533 33	0,021133 33
6,359027 78	0,2256	0,220766 67	0,146166 67	0,058166 67	0,002766 67	0,178766 66	0,202133 34	0,264233 32	0,257233 33	0,056133 33	0,596833 34	0,518666 67	0,162	0,050633 34	0,021333 34
6,624 01	0,244600 01	0,237433 33	0,151499 99	0,0585	0,002666 67	0,178633 34	0,204033 33	0,268566 68	0,268533 33	0,056466 67	0,646399 98	0,560533 32	0,175800 01	0,052266 67	0,0211
6,888944 44	0,264599 99	0,255400 01	0,157666 66	0,0588	0,0026	0,178766 67	0,203800 01	0,276	0,2755	0,0556	0,699233 32	0,603099 98	0,193033 33	0,0533	0,020666 67

7,153916 67	0,2873	0,2731	0,163466 66	0,058966 66	0,003133 34	0,181633 34	0,203500 01	0,280333 34	0,284166 67	0,056233 34	0,7472	0,640333 33	0,2112	0,056466 67	0,0208
7,418861 11	0,308999 99	0,2936	0,171733 32	0,0659	0,003133 33	0,185166 66	0,205666 67	0,285733 32	0,2895	0,055533 33	0,787233 35	0,675633 34	0,2273	0,054266 67	0,020700 01
7,683833 33	0,3361	0,312466 66	0,179399 99	0,059866 67	0,0035	0,185633 34	0,206666 66	0,291833 34	0,294466 67	0,0565	0,831166 68	0,711233 33	0,252533 33	0,053733 34	0,0203
7,948777 78	0,361300 01	0,3358	0,188733 32	0,059833 33	0,0039	0,1854	0,207666 67	0,298333 33	0,300266 66	0,055966 67	0,872966 67	0,746033 33	0,273266 67	0,055933 34	0,020433 33
8,21375 01	0,383300 01	0,358533 34	0,198233 34	0,060566 67	0,002966 66	0,190566 67	0,206033 34	0,302333 34	0,303366 66	0,0566	0,900566 68	0,7773	0,291200 01	0,056866 67	0,019866 67
8,478722 22	0,409899 99	0,380400 01	0,2073	0,0612	0,002866 67	0,1797	0,205033 34	0,304066 68	0,308466 67	0,055866 66	0,941333 32	0,8097	0,323299 99	0,058533 34	0,019433 33
8,743666 67	0,4338	0,403999 99	0,2187	0,0679	0,003433 33	0,187966 66	0,205733 33	0,3109	0,307333 34	0,056299 99	0,839033 35	0,343666 67	0,0589	0,019433 34	
9,008638 89	0,456999 99	0,429333 33	0,233099 99	0,061833 33	0,002933 33	0,180500 01	0,2099	0,316466 66	0,313933 35	0,056366 66	0,987233 34	0,867033 33	0,371733 32	0,059766 67	0,019133 33
9,273583 33	0,481099 99	0,454966 64	0,246733 32	0,062933 34	0,002766 67	0,189166 67	0,206666 66	0,317233 33	0,311633 33	0,0556	1,005133 32	0,892066 68	0,398566 65	0,060933 33	0,019433 33
9,538555 56	0,505199 99	0,479433 34	0,2615	0,063166 66	0,0024	0,184900 01	0,210366 67	0,323433 33	0,317933 33	0,055533 33	1,023833 37	0,916266 66	0,427666 66	0,062733 34	0,018733 34
9,8035 22	0,5296	0,503466 66	0,278166 66	0,0634	0,003	0,184400 01	0,207933 33	0,324499 99	0,3128	0,056466 67	1,042166 66	0,944333 33	0,454733 34	0,064033 33	0,018666 67
10,06847 22	0,5515	0,524	0,293466 66	0,063733 33	0,002733 34	0,182900 01	0,208633 33	0,326299 99	0,316100 01	0,055900 01	1,059800 03	0,964700 03	0,478166 67	0,0649	0,019166 67
10,33352 78	0,576299 97	0,547999 99	0,310533 34	0,069733 33	0,002866 67	0,188033 33	0,2095	0,329366 67	0,310666 66	0,055833 34	1,074933 32	0,982633 33	0,505666 68	0,0661	0,0187
10,5985 10	0,600199 98	0,567933 35	0,326766 66	0,0656	0,002866 67	0,183733 34	0,208666 66	0,331600 01	0,314666 67	0,056433 33	1,085433 33	1,002033 3	0,535100 01	0,067299 99	0,019433 33
10,86344 44	0,624100 01	0,589666 67	0,3455	0,065	0,0033	0,179999 99	0,211766 68	0,3336	0,318133 33	0,056333 33	1,097733 31	1,019200 02	0,562199 98	0,069933 33	0,019433 33
11,12841 67	0,643800 01	0,608733 34	0,362300 01	0,073566 67	0,003966 67	0,186666 67	0,214133 34	0,3335	0,316866 66	0,056566 67	1,113166 69	1,038933 35	0,581933 33	0,070866 67	0,018833 34
11,39336 11	0,664399 97	0,6262	0,378533 34	0,071333 33	0,004533 34	0,1864	0,215	0,3339	0,318433 33	0,056200 01	1,129199 98	1,059933 34	0,598800 02	0,073633 34	0,0185
11,65833 33	0,682100 02	0,644733 32	0,398166 67	0,066	0,004266 67	0,187933 34	0,211733 33	0,334233 33	0,3148	0,056633 33	1,141333 34	1,073199 97	0,614766 65	0,0735	0,0188
11,92330 56	0,701599 98	0,661866 67	0,4151	0,066000 01	0,0033	0,1854	0,2102	0,334966 67	0,312466 67	0,056033 34	1,157033 33	1,084999 98	0,631133 32	0,080533 33	0,0189
12,18825 12	0,7171	0,677000 01	0,431599 99	0,066266 66	0,003433 33	0,174533 33	0,210600 01	0,336533 33	0,319166 67	0,055766 67	1,170500 01	1,097633 35	0,642066 68	0,077666 67	0,019266 67
12,45322 22	0,7321	0,688666 65	0,446133 34	0,065999 99	0,005733 33	0,184933 33	0,214233 34	0,336700 01	0,318566 66	0,056233 33	1,186266 66	1,105999 98	0,655666 66	0,081000 01	0,018466 66
12,71816 67	0,745400 01	0,702133 35	0,461466 67	0,0661	0,003533 33	0,186799 99	0,208033 34	0,334300 01	0,312366 66	0,055666 67	1,195166 64	1,116766 7	0,6705	0,081566 67	0,018966 67
12,98313 89	0,760599 99	0,7131	0,474233 33	0,0738	0,003966 67	0,177566 67	0,204566 66	0,335833 34	0,312766 66	0,0575	1,207633 32	1,129233 35	0,680033 34	0,083333 33	0,0185

13,24808 33	0,771599 99	0,7234 01	0,487866 65	0,066433 34	0,003133 33	0,176533 33	0,203233 34	0,3353	0,3167	0,0558	1,215533 33	1,140233 38	0,693433 34	0,085933 34	0,0183
13,51305 56	0,783499 99	0,733100 01	0,501266 66	0,0665	0,003633 34	0,1744	0,208666 67	0,339633 33	0,317866 66	0,056033 34	1,219366 68	1,152433 34	0,706499 99	0,088133 33	0,018666 66
13,778	0,790599 99	0,740033 32	0,511633 33	0,066333 33	0,005266 67	0,174633 33	0,202466 67	0,335666 67	0,319766 67	0,0562	1,226566 67	1,161533 32	0,719133 31	0,090366 66	0,018033 34
14,04297 22	0,797000 02	0,746733 34	0,522533 34	0,066766 67	0,007233 34	0,178166 67	0,203300 01	0,333466 67	0,313233 33	0,055900 01	1,229666 69	1,166599 98	0,7354	0,094033 34	0,018366 67
14,30791 67	0,803800 02	0,752433 33	0,534300 01	0,066933 33	0,006366 67	0,169666 67	0,203333 33	0,336666 67	0,314199 99	0,055766 66	1,2339	1,170533 3	0,745933 32	0,096466 67	0,017933 34
14,57288 89	0,819500 01	0,755499 99	0,543066 68	0,072266 67	0,0063	0,172566 66	0,203266 66	0,336033 32	0,312499 99	0,055966 67	1,234400 02	1,175999 96	0,7573	0,103666 67	0,018066 67
14,83783 33	0,810999 97	0,7619	0,553166 67	0,069933 33	0,006333 33	0,1687	0,201966 66	0,3371	0,315799 99	0,056233 33	1,233799 99	1,179833 35	0,768566 67	0,103433 33	0,017366 66
15,10280 56	0,811899 97	0,762766 66	0,560066 68	0,066466 66	0,006266 67	0,173133 34	0,198400 01	0,336033 33	0,318533 33	0,055666 67	1,236933 34	1,184366 66	0,780499 98	0,114166 66	0,0173
15,36777 78	0,813699 98	0,764733 33	0,566466 64	0,0721	0,006166 66	0,171700 01	0,201900 01	0,337699 99	0,319666 66	0,056166 66	1,236966 68	1,187699 97	0,790666 67	0,1228	0,017333 34
15,63272 22	0,812300 01	0,765066 67	0,570933 32	0,065933 33	0,006266 67	0,1728	0,199266 67	0,337233 33	0,321833 33	0,056333 34	1,239366 64	1,190933 32	0,801466 67	0,113733 33	0,0174
15,89769 44	0,830000 01	0,767199 99	0,576566 66	0,065633 33	0,006766 67	0,172233 34	0,200666 67	0,3377	0,3183	0,055033 34	1,240600 04	1,193233 32	0,811466 65	0,1228	0,016766 67
16,16263 89	0,815199 99	0,767033 34	0,5807	0,066033 33	0,006666 67	0,17	0,196633 33	0,339733 33	0,312466 67	0,055733 34	1,240399 98	1,193566 65	0,820233 33	0,134866 67	0,016
16,42761 11	0,822499 98	0,767566 66	0,584999 99	0,066433 34	0,0068	0,164533 33	0,196833 33	0,342466 67	0,314099 99	0,0555	1,242166 69	1,200299 98	0,830066 66	0,133933 34	0,016633 34
16,69255 56	0,828399 99	0,765866 67	0,588766 68	0,065966 67	0,007666 66	0,168033 33	0,195966 67	0,341300 01	0,309866 67	0,055666 66	1,240399 99	1,196633 3	0,835300 01	0,1371	0,016266 67
16,95752 78	0,8106	0,764199 99	0,592866 65	0,065566 66	0,006933 33	0,165933 34	0,199233 34	0,341133 33	0,314799 99	0,0558	1,242300 01	1,192199 98	0,8444	0,1378	0,016366 67
17,22247 22	0,809399 98	0,764466 67	0,600566 67	0,065533 33	0,0078	0,166833 34	0,197700 01	0,342033 33	0,314133 33	0,055933 33	1,242733 33	1,1884	0,852233 31	0,147066 67	0,016766 67
17,48744 44	0,806400 02	0,764766 68	0,604400 02	0,0652	0,0077	0,168766 67	0,195933 33	0,342333 34	0,315366 67	0,0555	1,243066 67	1,1863	0,8584	0,147133 33	0,0163
17,75238 89	0,805899 99	0,762333 33	0,604900 02	0,065766 66	0,006633 33	0,1693	0,1979	0,3463	0,315633 33	0,055533 33	1,244433 32	1,186466 68	0,8677	0,149633 33	0,0158
18,01736 11	0,820699 98	0,760500 01	0,606233 34	0,065366 67	0,006866 67	0,163366 66	0,197966 66	0,345633 34	0,316733 33	0,055833 33	1,243266 66	1,182499 98	0,868900 01	0,1502	0,016
18,28230 56	0,820200 03	0,755199 99	0,604266 67	0,065766 66	0,007033 33	0,151966 67	0,194033 33	0,345533 34	0,3153	0,0561	1,244433 35	1,179266 71	0,874766 68	0,150533 33	0,015333 33
18,54727 78	0,798399 97	0,754533 33	0,603933 33	0,0672	0,0072	0,161033 33	0,196400 01	0,348666 67	0,315833 33	0,055866 67	1,243033 3	1,178200 02	0,879866 65	0,154033 34	0,015933 33
18,81222 22	0,800499 99	0,753366 68	0,602966 66	0,065533 34	0,007433 34	0,156566 66	0,198633 33	0,348933 33	0,318099 99	0,056233 33	1,243899 97	1,178033 36	0,885299 98	0,158433 33	0,0161
19,07719 44	0,811300 02	0,752433 34	0,601033 33	0,064966 67	0,0091	0,164733 34	0,1971	0,348399 99	0,318233 34	0,0554	1,244066 66	1,176166 64	0,889000 02	0,160766 66	0,0157

19,34213 89	0,794699 98	0,751200 02	0,598233 34	0,0649	0,011233 33	0,1592	0,193966 67	0,350266 66	0,3199	0,0555	1,243900 03	1,174433 29	0,891633 31	0,1663	0,016533 34
19,60711 11	0,792800 01	0,747766 67	0,593566 67	0,064966 67	0,0072	0,163400 01	0,197033 33	0,350400 01	0,3195	0,055066 67	1,245966 67	1,172833 35	0,895400 02	0,169333 34	0,016633 34
19,87208 33	0,801699 97	0,743833 33	0,591033 33	0,069333 34	0,007	0,161266 66	0,195766 66	0,3536 33	0,318133 33	0,055	1,247000 03	1,173466 69	0,901266 68	0,169966 68	0,016366 67
20,13702 78	0,7929	0,738866 68	0,586333 33	0,064433 33	0,011933 33	0,164399 99	0,195833 34	0,353833 34	0,3172	0,0553	1,244066 66	1,171100 01	0,905199 99	0,1725	0,016333 33
20,402	0,783800 01	0,736266 67	0,5818	0,064633 34	0,012566 67	0,164033 34	0,195466 67	0,354233 34	0,326133 34	0,054966 66	1,242199 97	1,170400 01	0,906466 69	0,170633 33	0,016433 34
20,66694 44	0,782899 98	0,733333 33	0,581633 35	0,063966 67	0,013933 34	0,1618	0,193566 66	0,355933 33	0,319833 34	0,055166 67	1,243699 97	1,171433 33	0,912300 03	0,170066 67	0,015266 66
20,93202 78	0,786500 01	0,729966 65	0,580733 35	0,065233 33	0,0187	0,152466 67	0,1933	0,355633 33	0,3203	0,055066 67	1,245199 99	1,168866 67	0,914133 35	0,1729	0,016433 33
21,19697 22	0,785799 98	0,727500 01	0,578833 34	0,064	0,012633 34	0,1541	0,1951	0,358366 68	0,324599 99	0,054666 67	1,244700 02	1,169166 63	0,918833 32	0,181933 33	0,0157
21,46194 44	0,790099 98	0,722666 67	0,573166 66	0,065633 33	0,0142	0,156266 66	0,1949	0,358066 66	0,326666 67	0,054566 67	1,246933 37	1,168233 32	0,921899 98	0,177233 34	0,016166 66
21,72688 89	0,781699 98	0,720266 67	0,570466 66	0,0687	0,0139	0,163766 67	0,194199 99	0,359233 34	0,3315	0,055233 33	1,246300 01	1,169233 35	0,924499 99	0,180066 67	0,016466 67
21,99186 11	0,794200 03	0,714966 66	0,567899 98	0,063766 67	0,0145	0,1532	0,1914	0,3602	0,328166 66	0,055033 34	1,248966 67	1,169533 31	0,929699 99	0,185133 34	0,015833 34
22,25680 56	0,770300 01	0,716133 35	0,5689	0,068133 33	0,015366 66	0,159466 66	0,194566 66	0,362866 65	0,3248	0,055733 33	1,247866 68	1,168233 32	0,928433 29	0,186366 67	0,016433 34
22,52177 78	0,763399 98	0,709300 02	0,561899 99	0,067366 67	0,015233 33	0,159633 34	0,192533 34	0,3618	0,330433 34	0,054966 66	1,249833 29	1,170166 64	0,932933 33	0,203499 99	0,016399 99
22,78672 22	0,778300 01	0,706266 66	0,561533 34	0,0635	0,0143	0,155033 33	0,189933 33	0,363366 67	0,330233 34	0,054933 33	1,250433 3	1,171466 67	0,9375	0,203866 66	0,015866 67
23,05169 44	0,773299 97	0,701400 02	0,554200 01	0,062466 66	0,013466 67	0,160666 66	0,192300 01	0,3634	0,328933 34	0,054966 67	1,252299 97	1,172866 65	0,940333 33	0,195633 34	0,0161
23,31663 89	0,7585	0,698266 66	0,5535	0,062366 67	0,0133	0,155466 66	0,191833 33	0,364166 66	0,336633 33	0,0547	1,253366 67	1,173333 29	0,943233 33	0,1954	0,0163
23,58161 11	0,777600 01	0,695666 66	0,553733 35	0,063166 67	0,0141	0,152933 33	0,188333 34	0,362666 67	0,334566 66	0,054633 33	1,254833 31	1,176066 64	0,944799 99	0,198133 34	0,0165
23,84655 56	0,7722	0,6923	0,547233 36	0,0659	0,013733 33	0,151166 67	0,190400 01	0,3636	0,333233 34	0,055233 33	1,256200 03	1,178333 33	0,948233 3	0,194333 32	0,016
24,11152 78	0,753900 01	0,694200 01	0,543466 66	0,061966 67	0,015366 66	0,150766 67	0,190299 99	0,366866 66	0,340499 99	0,0542	1,258833 32	1,179933 3	0,948733 37	0,191833 33	0,016433 33
24,37647 22	0,753099 98	0,7017	0,538333 31	0,061900 01	0,0175	0,154966 67	0,193133 33	0,365733 33	0,336833 34	0,0545	1,261299 98	1,180833 34	0,953333 32	0,209733 33	0,015633 33

Tabla 16

Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 3 bajo distintos porcentajes de etanol

Promedio de absorbancia (DO)																				
Horas	C3B1					C3B2					C3B3					C3B4				
	0%	5%	10%	15%	20%	0%	5%	10%	15%	20%	0%	5%	10%	15%	20%	0%	5%	10%	15%	20%
0	0,02945	0,02583 333	0,02486 667	0,02953 333	0,02760 001	0,05140 001	0,05383 333	0,05773 334	0,04696 667	0,04873 333	0,0354 001	0,03410 001	0,0374 666	0,03426 001	0,02980 333	0,04103 001	0,04090 001	0,02883 333	0,0379 666	0,0336 667
0,26497 222	0,0302	0,02666 666	0,0191 001	0,02870 001	0,02716 667	0,0583 001	0,05853 333	0,05876 667	0,04896 667	0,04863 334	0,04076 667	0,0425 001	0,04156 666	0,0339 666	0,02966 667	0,048 001	0,04755 001	0,0316 666	0,03706 666	0,03576 667
0,52991 667	0,0323	0,0284 001	0,02390 001	0,02956 667	0,02726 667	0,06936 666	0,06500 001	0,0605 001	0,05056 666	0,04906 667	0,04696 667	0,05250 001	0,04219 999	0,03646 666	0,0294 001	0,0547 001	0,05285 001	0,03386 666	0,03623 333	0,03496 667
0,79488 889	0,03415	0,0302 333	0,02403 333	0,03056 667	0,02776 666	0,0804 334	0,07283 334	0,06393 334	0,05169 999	0,0491 667	0,05346 001	0,06200 001	0,04283 334	0,03846 667	0,02963 334	0,0547 001	0,05985 001	0,03566 667	0,03993 333	0,03566 667
1,05986 111	0,0362	0,0322 334	0,02113 334	0,03083 333	0,0278 001	0,09276 667	0,0809 001	0,06646 666	0,05196 667	0,04973 333	0,06313 334	0,06900 001	0,04336 667	0,0424 667	0,02846 667	0,0742 001	0,06605 001	0,03663 334	0,04283 334	0,03599 999
1,32480 556	0,0387	0,03456 667	0,02476 666	0,03026 667	0,0282 001	0,1052 001	0,0908 001	0,06933 333	0,05266 666	0,0507 333	0,07213 333	0,0775 001	0,04413 334	0,04486 667	0,0289 667	0,0851 001	0,07435 001	0,0391 666	0,04386 666	0,03670 001
1,58977 778	0,04255 001	0,0376 001	0,02440 001	0,03113 333	0,0285 001	0,11849 999	0,1015 001	0,07366 667	0,05343 334	0,05136 666	0,08203 333	0,08330 001	0,04353 333	0,0464 667	0,02896 667	0,0958 001	0,0809 001	0,03956 666	0,04463 333	0,0366 667
1,85475	0,04505	0,04006 667	0,02863 334	0,0317 001	0,02866 667	0,13233 333	0,1118 001	0,07736 667	0,05393 333	0,05156 667	0,08933 334	0,0932 001	0,04473 333	0,04793 334	0,03063 333	0,10563 333	0,08755 001	0,04116 666	0,0462 333	0,03603 333
2,11972 222	0,0501	0,04456 667	0,02696 667	0,03193 333	0,02966 667	0,14623 333	0,12286 667	0,08163 333	0,05436 667	0,05183 333	0,09843 333	0,10399 999	0,04586 666	0,0486 666	0,0321 001	0,1199 001	0,0956 001	0,04113 332	0,04713 334	0,03743 334
2,38466 667	0,05425	0,04866 667	0,02809 999	0,03193 333	0,0306 001	0,16186 667	0,13566 667	0,08643 333	0,05476 667	0,05206 666	0,10776 667	0,11299 999	0,04836 666	0,0509 666	0,03116 667	0,13169 999	0,10259 999	0,04209 999	0,04893 334	0,03963 333
2,64963 889	0,0596	0,05286 667	0,03249 999	0,03256 666	0,0306 001	0,1748 001	0,14840 334	0,09113 333	0,05543 333	0,052 001	0,1185 001	0,12249 999	0,05123 333	0,05156 667	0,03193 333	0,14446 667	0,11084 999	0,04259 999	0,0501 001	0,03956 666
2,91461 111	0,0662	0,058 333	0,03093 333	0,0335 333	0,03073 333	0,19006 667	0,16283 333	0,09583 333	0,05613 333	0,05263 333	0,13149 999	0,0533 001	0,053 001	0,03116 667	0,15626 667	0,1185 001	0,04250 001	0,04250 001	0,0518 333	0,03883 334
3,17955 556	0,07285	0,06553 333	0,0334 333	0,03313 333	0,03073 333	0,20106 666	0,17496 667	0,1015 334	0,05583 334	0,05266 667	0,14216 666	0,1455 001	0,05679 999	0,05336 667	0,03226 666	0,1708 001	0,12839 999	0,04326 666	0,04983 334	0,03976 666
3,44452 778	0,0806	0,07176 666	0,03839 999	0,03423 333	0,0314 001	0,2109 001	0,18536 667	0,10743 334	0,05713 333	0,05296 666	0,1569 001	0,1573 001	0,06033 334	0,0541 001	0,03230 001	0,18683 333	0,14035 667	0,04326 667	0,04853 334	0,03970 001
3,7095	0,08925	0,07993 333	0,0368 001	0,0341 001	0,0318 001	0,21783 333	0,19556 665	0,11399 999	0,05743 333	0,05296 666	0,1711 001	0,1706 001	0,06486 666	0,05476 667	0,03236 666	0,201 001	0,15215 001	0,04389 999	0,0523 001	0,04056 666
3,97447 222	0,09715	0,08829 999	0,04076 667	0,0344 001	0,03206 667	0,2246 001	0,2055 001	0,12106 667	0,05786 666	0,05276 667	0,18333 333	0,18509 999	0,06966 666	0,0555 001	0,03296 666	0,21566 666	0,16435 001	0,04466 666	0,05413 334	0,04116 666
4,23941 667	0,1068	0,09653 333	0,04676 666	0,03526 667	0,03233 333	0,22900 001	0,21433 333	0,12886 667	0,05296 667	0,05926 667	0,19926 666	0,199 001	0,07470 001	0,05603 334	0,03306 668	0,23103 334	0,176 001	0,04276 667	0,05083 333	0,04016 667
4,50438 889	0,12004 999	0,10576 666	0,04723 333	0,03686 666	0,03296 666	0,23456 667	0,22253 334	0,1361 001	0,05953 334	0,05256 666	0,21423 333	0,2132 001	0,08040 001	0,05613 333	0,03243 333	0,2464 002	0,18840 002	0,0422 001	0,05063 333	0,0397 668
4,76936 111	0,13369 999	0,1192 667	0,05376 667	0,0381 333	0,03363 333	0,23786 667	0,2296 001	0,1415 001	0,05926 667	0,0524 001	0,22876 667	0,22789 998	0,08856 667	0,05626 666	0,03313 334	0,26043 333	0,20225 001	0,04290 001	0,05156 666	0,03986 668
5,03430 556	0,15055	0,13220 001	0,06193 334	0,04096 667	0,03376 667	0,24136 666	0,23663 333	0,14813 333	0,06033 334	0,05236 667	0,23816 667	0,24560 001	0,09576 666	0,0569 001	0,03343 334	0,27456 667	0,21570 002	0,04170 001	0,05093 333	0,03916 667

5,29927 778	0,16550 002	0,14753 334	0,06756 667	0,04246 667	0,03513 333	0,24383 333	0,24236 666	0,15536 667	0,0621 666	0,05296 666	0,25 001	0,25860 001	0,10563 334	0,0574 999	0,03299 999	0,28716 667	0,22784 999	0,04186 667	0,05053 334	0,03936 666
5,56425	0,1798 666	0,16436 666	0,07256 667	0,04576 667	0,03646 666	0,24536 668	0,24723 333	0,16303 333	0,06256 667	0,05323 333	0,2621 333	0,2719 333	0,11613 333	0,0568 668	0,03286 668	0,30056 666	0,24305 001	0,0415 667	0,05026 667	0,03973 334
5,82919 444	0,19634 999	0,18303 332	0,07786 666	0,0472 667	0,03786 667	0,24836 666	0,25126 667	0,17029 999	0,06353 334	0,05263 333	0,27343 335	0,28400 001	0,12846 667	0,0563 999	0,03243 333	0,31139 999	0,25595 999	0,04066 666	0,04883 333	0,0392 999
6,09416 667	0,21264 999	0,2025 333	0,09003 333	0,04896 667	0,0399 667	0,25060 001	0,25496 667	0,17913 333	0,0652 667	0,05266 667	0,28406 666	0,29610 001	0,14513 334	0,0562 667	0,03336 667	0,32150 001	0,27035 001	0,04076 667	0,04846 667	0,04006 667
6,35913 889	0,23455 001	0,21886 668	0,10040 001	0,05403 334	0,042 334	0,25153 333	0,25843 334	0,1885 333	0,06673 333	0,05233 334	0,29059 999	0,30830 002	0,16036 667	0,05523 333	0,03333 334	0,33006 666	0,28354 999	0,0404 667	0,0479 667	0,04090 001
6,62408 333	0,2578 666	0,23436 001	0,10580 001	0,05703 334	0,04416 666	0,25216 668	0,26216 667	0,19809 999	0,06736 667	0,05266 667	0,29549 999	0,31850 001	0,17473 334	0,0552 667	0,03326 667	0,33613 333	0,29500 002	0,04000 001	0,04763 334	0,04003 334
6,88905 556	0,2827 666	0,2546 665	0,11636 334	0,06253 334	0,04776 667	0,25156 667	0,26406 666	0,20893 333	0,06986 667	0,05216 667	0,30216 666	0,32519 999	0,19030 001	0,05383 333	0,03350 001	0,34420 001	0,31085 001	0,04 667	0,04716 667	0,04060 001
7,15402 778	0,27696 668	0,12943 334	0,06793 333	0,05113 333	0,25083 333	0,26583 333	0,22003 334	0,0726 666	0,05196 666	0,30986 667	0,33309 999	0,21100 001	0,05293 333	0,03293 334	0,35073 334	0,32590 002	0,0395 667	0,04783 333	0,03926 667	
7,419	0,33549 999	0,29170 002	0,1462 333	0,07413 333	0,0556 333	0,25043 333	0,26826 668	0,23223 334	0,07513 333	0,05246 667	0,31673 333	0,34040 001	0,23296 668	0,0521 666	0,03356 666	0,33965 001	0,03926 667	0,04726 667	0,03803 332	
7,68394 444	0,36264 999	0,16173 334	0,0804 333	0,0607 667	0,24926 667	0,27060 001	0,24316 667	0,07839 999	0,05183 333	0,32026 668	0,34760 001	0,25516 667	0,0521 667	0,03376 667	0,36503 334	0,35235 667	0,03936 667	0,04763 333	0,03876 668	
7,94891 667	0,39049 999	0,33853 333	0,17263 333	0,08946 667	0,0659 001	0,24780 001	0,27076 667	0,25293 333	0,08076 667	0,05183 334	0,32386 666	0,354 333	0,27583 333	0,05156 667	0,0329 667	0,37116 667	0,36535 001	0,03916 667	0,04670 001	0,03876 667
8,21388 889	0,41804 999	0,36496 666	0,18553 333	0,10073 334	0,07273 334	0,24633 333	0,2721 667	0,26136 667	0,08423 333	0,32826 667	0,36010 002	0,29653 333	0,05089 999	0,03279 999	0,37703 334	0,37710 002	0,03949 999	0,04716 666	0,03943 333	
8,47883 333	0,44305 001	0,39283 333	0,20583 333	0,1125 001	0,0804 334	0,24423 334	0,27250 001	0,27013 333	0,08806 666	0,05186 666	0,33246 666	0,36359 999	0,31643 332	0,0503 666	0,03336 666	0,38396 668	0,38974 999	0,03799 999	0,04616 666	0,0393 667
8,74380 556	0,46925 001	0,42353 333	0,22010 001	0,12663 334	0,08983 334	0,24280 001	0,27173 333	0,27753 333	0,09156 667	0,05186 667	0,33446 667	0,3707 001	0,33760 001	0,05043 333	0,03253 334	0,3896 001	0,40050 001	0,03906 667	0,04666 666	0,03873 333
9,00877 778	0,44673 334	0,23810 001	0,14316 667	0,1003 667	0,24170 001	0,27036 666	0,28336 667	0,0945 667	0,05146 667	0,37540 001	0,35983 333	0,3385 001	0,37540 333	0,04956 667	0,03240 001	0,39623 334	0,41255 002	0,03906 667	0,04663 334	0,03916 667
9,27372 222	0,51474 999	0,47153 332	0,25823 334	0,15906 666	0,11046 667	0,24103 333	0,26970 001	0,28873 333	0,09866 667	0,05116 667	0,34386 666	0,38160 001	0,38256 669	0,04973 333	0,0332 666	0,40186 666	0,42510 001	0,03906 667	0,04683 333	0,04093 333
9,53869 444	0,53399 998	0,49609 998	0,27843 333	0,17673 333	0,12239 999	0,24106 667	0,2687 667	0,29356 667	0,1042 667	0,0517 668	0,34726 668	0,3866 666	0,4046 666	0,04936 666	0,03333 333	0,40946 666	0,43705 667	0,03936 667	0,04659 999	0,04053 333
9,80366 667	0,55534 999	0,5164 999	0,299 334	0,19623 334	0,1335 333	0,23893 334	0,26713 333	0,29613 333	0,10623 333	0,05113 333	0,34906 667	0,38879 998	0,42823 333	0,0472 667	0,0325 666	0,4157 334	0,4492 998	0,03993 333	0,04536 666	0,04006 667
10,0686 389	0,57099 999	0,52676 666	0,31533 334	0,2157 333	0,1473 333	0,23843 333	0,2646 333	0,29683 333	0,10993 333	0,0513 334	0,35093 998	0,39309 666	0,45036 666	0,0486 666	0,03246 666	0,42333 334	0,46099 998	0,0405 667	0,04666 667	0,04126 667
10,3336 944	0,54300 001	0,33693 333	0,2376 333	0,1603 333	0,2643 333	0,23793 999	0,30029 667	0,11446 667	0,05096 667	0,35556 666	0,39770 003	0,47683 331	0,0482 667	0,03230 001	0,42933 334	0,473 999	0,03940 001	0,04683 333	0,0403 667	
10,5986 667	0,55129 999	0,5129 999	0,25603 332	0,1735 333	0,23723 333	0,26286 668	0,30176 666	0,05103 334	0,35683 333	0,40299 998	0,50413 332	0,04796 667	0,03260 001	0,44343 333	0,4954 666	0,03913 334	0,0466 667	0,04546 667	0,03983 333	
10,8636 111	0,60905 001	0,56213 333	0,36676 668	0,27486 666	0,1876 667	0,23576 333	0,26083 333	0,3019 667	0,1226 334	0,05073 334	0,35773 335	0,40650 001	0,52766 668	0,0465 666	0,0316 666	0,44343 333	0,4954 666	0,0394 667	0,04546 667	0,03983 333
11,1285 833	0,61895 002	0,56483 332	0,37483 334	0,29240 001	0,20146 666	0,25986 667	0,30240 001	0,126 667	0,0508 333	0,35833 333	0,413 667	0,55486 666	0,04766 666	0,03256 666	0,44976 666	0,50585 666	0,03943 334	0,04713 332	0,0408 667	
11,3935 556	0,63190 001	0,57080 001	0,38353 334	0,3111 666	0,21706 666	0,23410 001	0,25799 999	0,30156 666	0,1297 334	0,05043 333	0,35713 996	0,41779 334	0,57973 334	0,0464 666	0,03253 333	0,45443 335	0,51460 001	0,0403 667	0,04649 999	0,04233 332
11,6585	0,57569 999	0,39410 002	0,32956 666	0,22996 668	0,23466 667	0,30173 333	0,134 334	0,05063 334	0,35759 999	0,42259 997	0,60696 668	0,04686 667	0,03276 666	0,52544 999	0,03896 667	0,04713 334	0,04069 999	0,04053 333		
11,9234 722	0,65324 999	0,57946 668	0,39693 333	0,34636 666	0,2446 667	0,23369 999	0,2571 333	0,30063 333	0,1367 667	0,0503 667	0,35956 667	0,42729 999	0,63276 666	0,04746 666	0,03213 333	0,46899 999	0,53579 998	0,03883 334	0,04749 999	0,04053 333

12,1884 444	0,65984 999	0,58083 334	0,40173 331	0,36356 666	0,25876 667	0,23223 333	0,2549	0,29876 667	0,13936 667	0,04986 666	0,35923 334	0,4302 333	0,65713 333	0,0463 332	0,03203 332	0,47236 666	0,54520 001	0,03876 667	0,04713 333	0,04256 666
12,4533 889	0,66874 999	0,58176 667	0,40546 665	0,37883 334	0,27343 334	0,23083 333	0,2534	0,29623 333	0,14263 333	0,05013 333	0,36096 667	0,43579 999	0,6813 333	0,04636 666	0,03223 333	0,47833 333	0,55849 999	0,0393 333	0,04786 666	0,04263 332
12,7183 611	0,67780 001	0,58730 001	0,40429 999	0,39346 666	0,287	0,23136 333	0,25333 333	0,29576 666	0,1453 333	0,04993 333	0,36349 998	0,43799 998	0,70439 999	0,04496 666	0,03236 666	0,48236 666	0,57280 003	0,03873 333	0,04633 333	0,04199 999
12,9833 333	0,68645 668	0,58816 668	0,41003 334	0,40743 333	0,30173 334	0,23103 333	0,25323 333	0,29516 667	0,14810 001	0,04996 667	0,36283 334	0,4425 999	0,72309 999	0,04533 335	0,03209 999	0,4868 001	0,58430 001	0,03940 001	0,0465 001	0,04063 333
13,2483 056	0,69484 998	0,59296 668	0,40826 666	0,41939 998	0,31170 001	0,23006 666	0,25073 333	0,29296 666	0,1503 001	0,0496 667	0,36446 667	0,44690 003	0,74406 668	0,04623 333	0,03239 999	0,49013 334	0,59890 001	0,03859 999	0,0481 001	0,04083 333
13,5132 5	0,70404 997	0,59246 667	0,40876 666	0,43146 668	0,32233 333	0,22913 334	0,25093 334	0,29096 667	0,15303 333	0,04946 666	0,36606 667	0,45289 999	0,7691 001	0,04590 001	0,03226 667	0,49490 001	0,6173 001	0,03926 667	0,04816 667	0,04116 667
13,7782 222	0,71165 001	0,5954 001	0,4068 331	0,44063 331	0,33200 001	0,2291 001	0,2491	0,29063 333	0,15376 666	0,04936 667	0,36660 001	0,4576 001	0,79023 335	0,04629 999	0,03180 001	0,49783 333	0,63235 333	0,03903 333	0,04829 999	0,04100 001
14,0431 944	0,72080 003	0,59750 001	0,41203 333	0,4531	0,3427	0,22756 666	0,24806 667	0,2889	0,15553 333	0,04906 667	0,36946 665	0,46270 002	0,81266 666	0,04573 333	0,0323	0,50326 667	0,64885 001	0,04096 666	0,0487 001	0,04146 666
14,3081 389	0,72729 999	0,59420 002	0,40496 666	0,4612	0,35256 666	0,227	0,24636 667	0,2861	0,15796 666	0,04906 667	0,37036 667	0,46969 999	0,83206 668	0,0459 667	0,03276 667	0,50599 999	0,66274 999	0,0388 999	0,04786 667	0,04133 333
14,5731 111	0,73555	0,59553 333	0,40443 333	0,46893 335	0,35843 333	0,22666 665	0,24593 334	0,28620 001	0,15906 666	0,04843 333	0,37246 666	0,47329 998	0,84936 665	0,04556 666	0,0321	0,5065	0,67260 003	0,04003 333	0,04833 332	0,04186 667
14,8380 833	0,74145	0,59733 334	0,39946 665	0,47876 667	0,3644	0,22606 667	0,24486 667	0,28416 667	0,1612	0,04836 666	0,37460 001	0,47849 999	0,87223 333	0,0453	0,03253	0,50876 666	0,68420 003	0,04056 666	0,04806 667	0,04126 667
15,1030 556	0,74820 001	0,59906 665	0,40543 332	0,48483 333	0,37033 331	0,22546 667	0,2452	0,28363 333	0,16113 334	0,048	0,37723 334	0,48540 004	0,89523 333	0,04536 666	0,03303 334	0,51180 001	0,69289 999	0,03933 333	0,04799 999	0,04176 666
15,368	0,75265 001	0,59633 331	0,39756 666	0,49349 999	0,37736 667	0,2245	0,2431	0,2819	0,16166 667	0,04809 999	0,37693 333	0,48969 999	0,91436 668	0,04483 334	0,03243 333	0,51246 667	0,69825	0,0393	0,04806 667	0,04136 666
15,6329 722	0,75855 002	0,59793 332	0,39776 667	0,50073 333	0,38010 001	0,2243	0,24206 667	0,28036 666	0,16253 333	0,04826 667	0,37806 666	0,49780 002	0,93460 001	0,0446	0,0312	0,51643 333	0,70455	0,03996 666	0,0478	0,0402
15,8979 444	0,76345 001	0,59863 335	0,39340 001	0,50883 334	0,38330 001	0,22363 333	0,24163 333	0,27910 001	0,1628	0,04783 334	0,37263 334	0,50650 002	0,95496 669	0,04486 666	0,03213 333	0,51796 666	0,70934 997	0,04046 667	0,04836 666	0,04196 666
16,1628 889	0,76864 998	0,60096 667	0,38963 335	0,51619 999	0,39056 667	0,22326 668	0,2402	0,27766 667	0,16476 667	0,04816 666	0,37370 001	0,51490 001	0,97473 333	0,04443 334	0,0322	0,51893 333	0,71680 002	0,04026 667	0,048	0,04726 666
16,4278 611	0,77154 998	0,60146 666	0,38730 002	0,52053 334	0,39369 999	0,2227	0,23920 001	0,27693 333	0,1647	0,0475	0,3734	0,5246	0,99309 997	0,04456 666	0,0322	0,52019 999	0,72504 999	0,04049 999	0,04876 666	0,0408
16,6928 333	0,77540 001	0,60113 335	0,38546 666	0,5245	0,39676 667	0,22183 333	0,23853 333	0,27506 666	0,1653	0,0476	0,37276 665	0,53429 997	1,01073 334	0,0448	0,03216 666	0,52426 667	0,73545 001	0,03946 666	0,0488	0,0435
16,9577 778	0,77860 001	0,60003 333	0,38729 999	0,53026 667	0,39816 666	0,22106 667	0,2376	0,27489 999	0,16453 333	0,04753 334	0,37286 668	0,5403	1,02523 331	0,04413 333	0,03186 666	0,52643 334	0,74049 999	0,04106 666	0,04853 333	0,04033 333
17,2227 5	0,78260 001	0,60066 667	0,38323 333	0,53103 333	0,40176 669	0,22123 334	0,2377	0,27459 999	0,16573 333	0,04736 667	0,37116 333	0,55109 997	1,04243 336	0,04443 334	0,03226 667	0,5317	0,75289 999	0,04076 667	0,04923 334	0,04106 666
17,4877 222	0,78465 002	0,60083 332	0,3784	0,53590 001	0,4044	0,22096 667	0,23633 334	0,27106 667	0,16583 333	0,04706 667	0,37043 333	0,559	1,05563 332	0,04386 666	0,03226 666	0,5348	0,75954 999	0,04120 001	0,04783 333	0,04036 666
17,7526 944	0,78714 997	0,6	0,37929 999	0,53919 999	0,40593 334	0,2207	0,23626 667	0,2729	0,16573 333	0,04683 333	0,37363 333	0,56579 998	1,07073 334	0,0415	0,03129 999	0,5412	0,76720 001	0,04133 334	0,04573 334	0,04336 666
18,0176 389	0,78684 998	0,59656 668	0,37706 666	0,54326 668	0,40443 334	0,21913 333	0,23476 666	0,2701	0,16526 667	0,04573 333	0,37426 668	0,57350 002	1,08323 33	0,04373 333	0,03326 667	0,54339 999	0,77335 002	0,04196 667	0,04863 332	0,04080 001
18,2826 111	0,7894	0,59639 999	0,37563 333	0,54830 001	0,40636 667	0,2199	0,23426 666	0,26830 001	0,1663	0,04563 334	0,37116 665	0,57889 998	1,09819 999	0,04343 334	0,0313	0,5494	0,78095 002	0,04256 667	0,04893 334	0,04073 334
18,5475 833	0,7922	0,59446 666	0,37473 334	0,54873 333	0,40623 333	0,21943 334	0,23373 334	0,2692	0,16556 667	0,0456	0,37366 667	0,58190 002	1,10803 334	0,04343 333	0,0312	0,55593 333	0,78684 999	0,04283 334	0,0491	0,0411
18,8125 278	0,79339 999	0,59036 668	0,37023 333	0,55153 333	0,40473 333	0,21916 667	0,23316 666	0,26733 333	0,1664	0,04530 001	0,37433 334	0,5861	1,12140 002	0,04363 332	0,03243 333	0,56180 001	0,79025 002	0,0433	0,04853 333	0,04006 666

		0,59286	0,37053	0,55543	0,40246		0,23166	0,26633	0,16586		0,37416	0,58690	1,13173	0,04389			0,79690	0,04450		0,03936
19,0775	0,7992	665	333	334	668	0,2178	666	333	667	0,0449	665	003	333	999	0,0309	0,5677	002	001	0,0482	667
19,3424			0,36536	0,55869	0,40233	0,21790				0,04463		0,58850	1,13943			0,57490	0,79935	0,04526	0,04810	0,03996
722	0,7967	0,5907	666	999	334	001	0,2318	0,2644	0,1657	333	0,376	002	333	0,0442	0,0303	001	001	666	001	666
19,6074	0,79630	0,58939		0,55989	0,40276	0,21846		0,26416	0,16443	0,04493	0,37466	0,58989	1,14533	0,04403	0,03113	0,58016	0,80154	0,04500	0,04813	0,04113
167	002	999	0,3645	999	666	667	0,2318	667	333	333	666	999	332	333	333	667	999	001	333	333
19,8723	0,79775	0,58430		0,56239		0,21813	0,23069	0,26296	0,16423	0,04433	0,37486	0,58909	1,15263	0,04363	0,02916	0,58163	0,80120	0,04666	0,04779	
889	001	001	0,3608	999	0,4012	333	999	666	332	333	666	997	33	332	666	333	002	667	999	0,0382
20,1373		0,58313	0,36009	0,56546		0,21626		0,26173	0,16403		0,37379	0,58689	1,15816	0,04316		0,58396			0,04839	0,03936
611	0,79825	334	999	668	0,4004	665	0,2299	333	333	0,0444	999	997	665	666	0,0297	666	0,7982	0,0475	999	667
20,4023		0,58333	0,36336	0,56673	0,39736	0,21669		0,26043	0,16366	0,04456	0,37286	0,58300	1,16449	0,04296	0,02943	0,58659	0,79720	0,04926	0,04736	0,04283
333	0,79895	334	667	333	666	999	0,2296	333	667	666	668	002	996	667	333	999	001	667	666	333
20,6672	0,79584	0,58183	0,35446	0,56726	0,39640	0,21646	0,22873	0,25966	0,16293	0,04419	0,37150	0,58300	1,16120	0,04296	0,02910		0,79689	0,04863	0,04773	0,04356
778	998	333	667	666	001	667	333	667	333	999	001	002	003	666	001	0,5913	999	333	333	666
20,9323	0,79655	0,58339	0,35373	0,56826	0,39376			0,25786	0,16246	0,04456	0,37439	0,58300			0,02933			0,05109		0,03893
611	001	999	334	666	666	0,2142	0,2278	667	666	666	999	002	1,1714	0,0397	333	0,5938	0,7941	999	0,0443	333
21,1973	0,79664	0,58450	0,35306	0,57299	0,39176			0,25639	0,16056	0,04383	0,37033	0,58300	1,17263				0,79145	0,05223	0,04713	0,03920
056	998	001	666	998	667	0,2148	667	999	667	334	331	002	331	0,0451	0,0306	0,596	001	334	333	001
21,4622	0,79329	0,58083	0,35173	0,57236	0,38803	0,21539		0,25656			0,36629	0,58300	1,17523	0,04303				0,05296		0,03923
778	999	334	334	666	333	999	0,2277	666	0,1631	0,0441	999	002	336	333	0,0305	0,6007	0,7907	666	0,0476	333
21,7272		0,57843	0,34976	0,57586	0,38389	0,21446	0,22560	0,25489	0,16073	0,04563	0,36736	0,58300	1,17683	0,04223	0,03243	0,60513	0,79215	0,05546	0,04723	0,03916
5	0,79435	333	666	667	999	668	001	999	332	334	666	002	334	334	333	333	001	666	334	667
21,9921	0,79140	0,57266	0,34766	0,57456	0,38233	0,21453	0,22573	0,25276	0,15983	0,04453	0,36589	0,58300		0,04206	0,03043	0,60960	0,79094	0,05736	0,04663	0,03986
944	001	666	667	667	334	333	333	666	333	334	999	002	1,1733	666	333	001	999	667	333	667
22,2571			0,34336	0,57203	0,37809	0,21436	0,22566	0,25156	0,15936	0,04593	0,36623	0,58300		0,04353	0,03003	0,61366	0,79054	0,05993	0,04733	0,03933
667	0,78665	0,5683	665	333	999	667	666	665	667	334	333	002	1,1733	333	333	669	998	333	333	332
22,5221		0,56750	0,34139	0,57303	0,37339	0,21333	0,22483	0,25263	0,15849		0,35953	0,58300		0,04196	0,03026	0,61743	0,79020			0,04503
389	0,78745	002	999	333	999	333	333	334	999	0,0446	332	002	1,1733	666	667	333	001	0,0607	0,0473	333
22,7871	0,78374	0,56383	0,34073	0,56973	0,37166	0,21383		0,25046	0,15783	0,04513		0,58300		0,04233		0,61929	0,78914	0,06466		0,04003
111	999	335	332	333	666	334	0,2247	666	333	334	0,3571	002	1,1733	333	0,0302	999	998	666	0,0465	334
23,0520		0,55989	0,33766	0,57013	0,36676	0,21313	0,22363	0,24973	0,15793	0,04523	0,35236	0,58300		0,04200			0,78885	0,06639	0,04716	0,04113
556	0,78195	998	667	335	667	334	334	334	333	333	667	002	1,1733	001	0,0324	0,6228	002	999	667	334
23,3170	0,77935	0,56100		0,56753	0,36603	0,21329	0,22343			0,04606	0,34999	0,58300			0,02803	0,62306		0,06996	0,04683	0,04006
278	001	002	0,3342	335	333	999	333		0,2481	0,1583	667	002	1,1733	0,0419	334	667	0,78815	666	334	667
	0,77584	0,56076	0,33366	0,56963	0,36103	0,21113	0,22236	0,24656			0,34433	0,58300		0,04293	0,02899	0,62116	0,78714	0,07356	0,04716	0,04113
23,582	999	665	667	333	333	335	667	667	0,1571	0,0461	334	002	1,1733	333	999	668	998	667	666	332
23,8469		0,56066	0,33216		0,35956	0,21136	0,22233	0,24633	0,15583	0,04643	0,33516	0,58300		0,04183	0,02956	0,61743		0,07819	0,04643	0,04086
444	0,77265	667	667	0,5709	666	667	332	333	333	333	667	002	1,1733	333	667	334	0,7844	999	333	666
24,1119		0,55680	0,32833	0,56616	0,35496	0,21113	0,22166	0,24626		0,04696	0,32813	0,58300		0,04253	0,02956	0,61403	0,78109	0,08203	0,04743	0,04186
167	0,7686	001	335	666	667	333	667	667	0,1548	666	333	002	1,1733	333	667	334	999	333	333	667
24,3768	0,76259	0,55390	0,32743	0,56646	0,35166	0,21156			0,15486		0,31690	0,58300		0,04243		0,60966			0,04683	0,04223
889	999	002	333	666	668	666	0,2217	0,2456	666	0,0475	001	002	1,1733	333	0,0324	667	0,77755	0,087	333	333

Tabla 17

Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 3 bajo variaciones de pH

Promedio Densidad óptica (DO)																				
	C3B1					C3B2					C3B3					C3B4				
Hora	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5
0	0,0686 6666	0,0019 3334	- 0,0024	0,0125 6666	0,0192 3334	0,0706 5	0,0285	0,0316 5	0,0406 5	0,0467	0,0168 3333	0,0171 6667	0,0070 3334	0,0214 3334	0,0297 3333	0,0267 6667	0,0221 6667	0,015 0,015	0,0244 3334	0,0260 3334
0,2649 4444	0,0735 3334	0,0061 3333	- 0,0001	0,0130 3334	0,0183 6667	0,0802 4999	0,0343	0,0352	0,0425	0,0491 6667	0,0200 3333	0,0191 3334	0,0201	0,0225 3333	0,0286 3333	0,0287 3333	0,0270 3333	0,0290 3334	0,0253 3334	0,0265
0,5299 1667	0,078 0,078	0,0098 0,0098	0,0023 0,0023	0,0143 3333	0,0184 3333	0,0940 9999	0,0412	0,0396 5	0,0447 5001	0,0488 6667	0,0235 3333	0,0222 3333	0,0209 6667	0,0240 6667	0,0279 6666	0,0313 6666	0,0294 0,029	0,0294 6667	0,0266 0,0266	0,0266 3333
0,7948 6111	0,0801 9999	0,0145 3333	0,0058 0,0058	0,0164 6667	0,0165 6667	0,1087 4999	0,0503	0,0453 5	0,0481 5	0,0491 3334	0,0270 6667	0,0257 3333	0,0235 3333	0,0251 3334	0,0280 3333	0,0342 6666	0,0312 0,0312	0,0315 0,0315	0,0276 6667	0,0263 0,0263
1,0598 3333	0,0856 3334	0,0215 0,0215	0,0101 3333	0,0184 3333	0,0177 0,0177	0,1228 0,1228	0,0607 5	0,0528 0,0528	0,0562 0001	0,0492 3333	0,0320 3334	0,0312 0,0312	0,0259 0,0259	0,0262 0,0262	0,0266 3333	0,0391 0,0391	0,0364 0,0364	0,0328 6666	0,0286 3334	0,0257 3334
1,3248 0556	0,0944 6667	0,0295 6666	0,0142 6667	0,0207 0,0207	0,0165 0,0165	0,1391 0,1391	0,0723 5	0,0606 0,0606	0,0589 5	0,0493 3334	0,0375 3334	0,0363 0001	0,0281 0,0281	0,0258 0,0258	0,0264 0,0264	0,0451 6667	0,0419 0,0419	0,0367 3333	0,0286 6667	0,0259 0,0259
1,5897 5	0,1034 6666	0,0389 3333	0,0176 6667	0,023 0,023	0,0169 6667	0,1556 0,1556	0,0848 5	0,0703 5	0,0602 0,0602	0,0501 0,0501	0,0459 6667	0,0443 3333	0,0311 9999	0,0272 3333	0,0261 6666	0,0531 3333	0,0471 3333	0,0400 3333	0,0307 0,0307	0,0258 9999
1,8547 2222	0,1145 0001	0,0495 3333	0,0271 0,0271	0,0270 0001	0,0167 0,0167	0,1758 5	0,0982 5	0,0791 0,0791	0,0662 0,0662	0,0502 0,0502	0,0555 6667	0,0345 0,0345	0,0293 6667	0,0240 6667	0,0620 3333	0,0551 0,0551	0,0439 0,0439	0,0329 6666	0,0257 6667	0,0257 6667
2,1196 6667	0,1248 3333	0,0617 3333	0,0348 0,0348	0,0316 0,0316	0,0166 3333	0,1956 5	0,1156 9999	0,0897 9999	0,0729 5	0,0497 9999	0,0699 6667	0,0662 3333	0,0393 0,0393	0,0312 6666	0,0226 6667	0,0743 6667	0,0653 3333	0,0484 3333	0,0356 0,0356	0,0254 0,0254
2,3846 3889	0,1367 3334	0,0749 3333	0,0403 6666	0,0337 0,0337	0,0167 3334	0,2141 9999	0,1002 5	0,0798 5	0,0501 6667	0,0845 3333	0,0435 0,0435	0,0315 6667	0,0211 6667	0,0886 6667	0,0771 3333	0,0525 3333	0,0372 3333	0,0249 6667	0,0249 6667	0,0249 6667
2,6495 8333	0,1528 3334	0,0903 9999	0,0527 3333	0,0386 3334	0,0182 0001	0,2309 0,2309	0,1510 9999	0,1124 5	0,0852 0,0852	0,0498 0,0498	0,1045 9999	0,0966 6667	0,0487 6667	0,0327 3334	0,0206 6667	0,1065 0,1065	0,0920 6666	0,0587 6667	0,0393 6667	0,0255 0,0255
2,9145 5556	0,1680 3333	0,1099 3333	0,0612 3334	0,0419 3334	0,0170 6666	0,2458 5	0,1703 4999	0,1253 0,1253	0,0939 0,0939	0,0494 6667	0,1292 3333	0,1174 6667	0,0552 3333	0,0342 3334	0,0182 6666	0,1279 3333	0,1076 6666	0,0650 6666	0,0409 0,0409	0,0249 6667
3,1795 2778	0,1870 3333	0,1284 3333	0,0716 6667	0,0418 3333	0,0165 0001	0,2564 5	0,1892 5	0,1010 0,1010	0,0497 3333	0,1566 6667	0,1411 6667	0,0616 3333	0,0349 6667	0,0162 6666	0,1531 3333	0,1281 3334	0,0722 6666	0,0424 0,0424	0,0247 6666	0,0247 6666
3,4444 7222	0,2041 3333	0,1501 6666	0,0838 6668	0,0483 3333	0,0169 6666	0,2680 5	0,2035 0001	0,1548 4999	0,1112 5001	0,0495 6667	0,1726 6667	0,0709 3333	0,0357 0,0357	0,0155 0,0155	0,1851 3333	0,1541 0,1541	0,0804 9999	0,0452 3333	0,0244 3334	0,0244 3334
3,7094 4444	0,2279 6667	0,1747 9999	0,0975 3333	0,0547 3334	0,0172 6668	0,279 0,279	0,2149 5	0,169 0,169	0,1221 0,1221	0,0492 6667	0,2338 6666	0,2046 6667	0,0788 0,0788	0,037 0,037	0,0152 3333	0,2203 3334	0,1802 3333	0,0889 3333	0,0466 0,0466	0,0243 6666
3,9743 8889	0,1971 0,2475	0,1971 3333	0,1123 0,1123	0,0614 0001	0,0173 6666	0,2890 5	0,2286 5	0,1847 5001	0,1306 0,1306	0,0491 0,0491	0,2816 3332	0,2438 9999	0,0865 6666	0,0376 6667	0,0148 3333	0,2600 3334	0,2131 0001	0,0969 0,0969	0,0476 3333	0,0239 3333
4,2393 6111	0,2647 0,2647	0,2166 0,2166	0,1296 3333	0,0667 6666	0,0169 3334	0,2979 5	0,2415 9999	0,1993 5001	0,1395 4999	0,0493 0,0493	0,3317 0001	0,2859 3333	0,0948 6667	0,0383 6667	0,0140 6667	0,3065 6667	0,2507 3334	0,1064 0,1064	0,0492 3334	0,0236 0,0236
4,5043 0556	0,2815 9999	0,2365 0,2365	0,1488 3334	0,0706 6666	0,0177 0,0177	0,3077 0,3077	0,2543 9999	0,2129 0,2129	0,1470 0001	0,0490 6667	0,3857 6665	0,3359 3333	0,1062 3333	0,0390 6667	0,0135 6667	0,3568 3334	0,2934 3333	0,1184 0,1184	0,0501 6667	0,0235 6667

4,7692 7778	0,298	0,2563	0,1683 3333	0,0820 0001	0,0186 6667	0,3146 5001	0,267	0,2256 4999	0,1619 0001	0,0488 6667	0,4305	0,3873 3334	0,1186 6666	0,0402	0,0125 6666	0,3942 3332	0,3411 3333	0,1296 3333	0,0514	0,0223 3333
5,0342 2222	0,3123 6666	0,2758 6667	0,1865 6667	0,0868 3334	0,0180 3333	0,3222 5001	0,2774 5	0,2375 5001	0,1697 5001	0,0492	0,4794 6667	0,4253	0,132	0,0415 3333	0,0119 9999	0,4305 3334	0,3813 6668	0,1426 3333	0,053	0,0216
5,2991 9444	0,3249	0,2968	0,2044 6666	0,0974	0,0188 6667	0,3285	0,2888 0002	0,2499 0001	0,1816	0,0493 3333	0,5254 6665	0,4674 3333	0,1451 3333	0,0427 6667	0,0123 3334	0,4669 6666	0,4156 6669	0,1574	0,054	0,0226 3334
5,5641 6667	0,338	0,3190 3333	0,2225 3334	0,1073 6667	0,0192 6667	0,3334	0,2991	0,2612	0,1913 4999	0,0492 6667	0,581	0,5127 6665	0,1606 6668	0,0428 3333	0,0122	0,5101 6665	0,4538 6665	0,1719 9999	0,0553	0,0226
5,8292 2222	0,3530 3333	0,3413 3333	0,2403 3333	0,1144	0,0190 3334	0,3391 5001	0,3088 9999	0,2713	0,1969 5	0,0486 3333	0,6385 3332	0,5517 3333	0,0443	0,0121	0,5542 6668	0,4861 0001	0,1868 3334	0,0571	0,0224	6666
6,0941 6667	0,3672 3333	0,3639 3334	0,2569 3333	0,1248	0,0189	0,3456 0001	0,3199 9999	0,2844 4999	0,2155	0,0488 3334	0,6957 3334	0,5982 6666	0,1963 3333	0,0452 3333	0,0116 3333	0,6018 6667	0,5259 3331	0,2032 6667	0,0580	0,0221
6,3591 3889	0,3789 6666	0,2732 0,3833	0,1330 6666	0,0202	0,3503	0,3295	0,2944 9999	0,2129 5	0,0494 6667	0,7448 6668	0,6409 3334	0,2142 6667	0,0454	0,0119	0,6450 6667	0,5655 3334	0,2217 3333	0,0585	0,0220	6667
6,6240 8333	0,3918 0001	0,4051 3334	0,2916 3333	0,1426 3333	0,0207 6666	0,3523 9999	0,3359 0001	0,2214 0,3028	0,0489	0,7941 0002	0,6845 3332	0,2370 3334	0,0468 3334	0,0115 6667	0,5988 6667	0,2408 6667	0,0603	0,0215	6667	6667
6,8890 5556	0,4072 6666	0,4241	0,3073	0,1531 6668	0,0198 6666	0,3555 4999	0,3451	0,3133	0,2289 4999	0,0493 6667	0,8381 3335	0,7236 3333	0,2596 6666	0,0477	0,0112	0,7304 6667	0,6526 3335	0,2618 6667	0,0606 3333	0,0211 3333
7,1540 2778	0,4220 3333	0,4441 9999	0,3237 3332	0,1625 3333	0,0197	0,3603 9999	0,3526	0,3225 5	0,2431	0,0489 6666	0,8757 3337	0,7604 3333	0,2826 6667	0,0484	0,0112	0,7716 6668	0,6929 0001	0,2824	0,0619	0,0211
7,4189 7222	0,4315 9999	0,4623 3332	0,3396	0,1741	0,0210 3334	0,3631 4999	0,358	0,3309 5001	0,2414 4999	0,0493 0001	0,9143 9999	0,7962 6666	0,3072 3334	0,0498	0,0110 3333	0,8097 3334	0,7239 3333	0,3035 3333	0,0623 6667	0,0207 0001
7,6839 4444	0,4438 9999	0,4801 9999	0,3531 3334	0,1835 3335	0,0204	0,3657 5	0,3634 4999	0,3375 9999	0,248	0,0486 3333	0,9446 9998	0,8273 3334	0,3317	0,0491	0,0108 3333	0,8481 9998	0,7706 3334	0,3267 3334	0,0621 6667	0,0208 3334
7,9488 8889	0,4540 0001	0,4981	0,3686 9999	0,1936 9999	0,0204 3334	0,3683 5	0,3694 0001	0,3455 4999	0,2556 0001	0,9771 3338	0,8602 6665	0,3575 0001	0,0510 0001	0,0105	0,8798 6666	0,8001 0002	0,3542 6666	0,0648 3334	0,0205	6666
8,2138 6111	0,4660 6667	0,5145 9999	0,3794	0,2012 3333	0,0202	0,3709 4998	0,3719 9999	0,3508 5	0,2625 5	0,0492 6667	1,0047 3331	0,8872	0,3854 3334	0,0523 6666	0,0105 3334	0,9132 3331	0,8362 3332	0,3797 3332	0,0662 9999	0,0204 6667
8,4788 0556	0,4791 0001	0,5330 3333	0,3925 3333	0,2098 6666	0,0207	0,3731	0,3768 4999	0,3568 5	0,2677 4999	0,0495	1,0269 333	0,9145 0003	0,4133 3334	0,0530 6667	0,0097 3333	0,9433 0003	0,8786 0001	0,4011 9999	0,0669 6667	0,0192
8,7437 7778	0,4924 6666	0,5499 3331	0,4043 3331	0,2169 3333	0,0199 3334	0,3739	0,3812 5001	0,3623 5	0,2736 9999	0,0489	1,0484 6668	0,9359 6667	0,4357 6668	0,0537	0,0098 6667	0,9693 0003	0,9138 6669	0,4240 3333	0,0679 3334	0,0192
9,0087 2222	0,5042 6666	0,5688 3335	0,4145 3333	0,2267	0,0206 3333	0,3717	0,3815 0002	0,3668	0,2787	0,0479 3334	1,0720 9999	0,9595 6664	0,4657 0001	0,0551 6666	0,0095	0,9945 0002	0,9467 3329	0,4528 6668	0,0694	0,0187 3333
9,2736 9444	0,5095 6668	0,5857 3335	0,4218 3332	0,2333 6666	0,0202 6667	0,3732 9999	0,3856 9998	0,3715 4999	0,2830 5001	0,049	1,0871 6664	0,9751 9999	0,4954 6667	0,0553 6667	0,0100	1,0148 3333	0,9822 3333	0,4791 3335	0,069	0,0196
9,5386 3889	0,5263 3331	0,6052 6667	0,4296 6667	0,2365 3332	0,0197 6666	0,3725 5001	0,3867 5001	0,3745 5	0,2841 5	0,0488	1,1062 9997	0,9901 6668	0,5240 0001	0,0572	0,0094 6667	1,0332 333	1,0164 3334	0,5050 3331	0,0728	0,0189 3333
9,8036 1111	0,5365 6666	0,6209 3335	0,4355 6667	0,2443 3332	0,0206	0,3728 0001	0,3883 5001	0,3775 4999	0,2868	0,0493	1,1198 3334	1,0045 9999	0,5444	0,0582	0,0093 3333	1,0538 3335	1,0472 3334	0,5200 0001	0,0735 6667	0,0190 3333
10,068 5833	0,5562 9998	0,6382 6666	0,442	0,2482 3333	0,0202 3334	0,3717 4998	0,3889 4999	0,3792	0,2923 5	0,0490 6667	1,1321 3332	1,0165 3334	0,5602 3334	0,0584 3334	0,0099 3334	1,0695 0001	1,0690 0003	0,5374	0,0734 3334	0,0193 6667
10,333 5278	0,5675 6665	0,6524 6667	0,4455	0,2520 3334	0,0201	0,3720 4999	0,3899 5	0,2924 5	0,0482 6666	1,1462 6669	1,0275 0001	0,5742 6667	0,0600 6667	0,0091 3334	1,0862 3333	1,0961 6666	0,5511 3334	0,0744 3334	0,0185	6667
10,598 4722	0,5799 3333	0,6661 3334	0,4537 6666	0,2574 6667	0,0203 6667	0,3705 5	0,3911 5001	0,3843 5	0,2925	0,0492 6666	1,1608 3333	1,0449 3331	0,5901	0,061	0,01	1,1050 6667	1,1216 3332	0,5659 9999	0,0766	0,0189

10,863		0,6779	0,4556	0,2612	0,0208		0,3930	0,3864	0,2979	0,0488	1,1718	1,0557	0,6031	0,0613	0,0098		1,1363	0,5798	0,0774	0,0196
4444	0,5965	9999	3332	6668	3333	0,369	5001	0001	4999	3334	6667	9998	3334	3333	3333	1,1158	3338	3334	3333	3333
11,128		0,6874		0,2647		0,3685	0,3919	0,3867	0,3010		1,1838	1,0653		0,0099		1,1276	1,1568	0,5997	0,0810	0,0185
4167	0,608	3332	0,4591	9999	0,0209	0002	5	5001	5001	0,049	0002	9996	0,6149	0,0629		9997	9999	3334	6667	6667
11,393	0,6226	0,6998	0,4608	0,2675	0,0204	0,3675	0,3926	0,3886				1,0802		0,0095		1,1427		0,6136	0,0800	
3611	6668	0001	3334	6666	3334	0001	5	4999	0,3015	0,0492	1,1959	3333	0,6316	0,0628	3333	3329	1,1808	9999	0001	0,0182
11,658	0,6373	0,7087	0,4623	0,2726	0,0212	0,3661	0,3926	0,3894	0,3114	0,0490	1,2045	1,0851		0,0641	0,0096	1,1469	1,1878	0,6302	0,0790	0,0183
3333	6665	6665	6666	6666	3333	9999	4999	9999	5	6667	333	9997	0,6444	6667		6665	6667	6666	6667	6667
11,923		0,7173		0,2731	0,0211	0,3655	0,3933		0,3068		1,2147	1,0958		0,0099		1,2019	0,6456	0,0818	0,0185	
2778	0,6491	0001	0,4609	6666	6667	4999	5001	0,3902	5002	0,0485	6671	3332	0,6612	0,0658	0001	1,1561	6666	6668	9999	3333
12,188	0,6594	0,7248	0,4652	0,2751	0,0216	0,3660	0,3929	0,3904			1,2224	1,0966	0,6731	0,0663	0,0099	1,1557	1,2038	0,6604	0,0811	0,0187
25	6667	6666	6667	6666	3333	9999	5001	5	0,3084	0,0489	333	6668	9999	3333	6667	0002	6667	9999	6667	3334
12,453	0,6613	0,7307	0,4652	0,2766	0,0206	0,3648		0,3914	0,3081		1,2285	1,1019	0,6883	0,0670	0,0095	1,1516	1,2135	0,6718	0,0808	0,0180
1944	3335	9999	6668	6667	6666	4999	0,3924	4999	5	0,0494	6669	6669	0001	6667	6666	333	667	6667	6667	3333
12,718	0,6775	0,7394	0,4656	0,2792	0,0204	0,3649	0,3909	0,3917	0,3077	0,0491	1,2298	1,1086	0,7074	0,0680	0,0100	1,1520	1,2278	0,6888	0,0845	0,0180
1667	6667	6666	3334	3332	0001	5002	9999	4999	5001	3333	6668	3336	3332	3333	3333	6664	6664	6667	6667	6667
12,983	0,6823	0,7441	0,4659	0,0204		0,3898	0,3930	0,3143	0,0483	1,2281	1,1121	0,7217	0,0693	0,0096		1,1490	1,2241	0,7038	0,0850	
1389	9999	6667	3335	0,2812	0001	0,3641	0001	0001	6667	3335	3333	0001	3333	3333		6668	3332	3333	3333	0,0179
13,248	0,6917	0,7525	0,4670	0,2820	0,0207	0,3643		0,3932	0,3148	0,0494	1,2211	1,1130	0,7381	0,0697		1,1440	1,2296	0,7197	0,0835	0,0180
0833	3334	3333	0001	6666	6666	0001	0,3893	4999	5	3333	6669	3331	3333	3334	0,0098	6669	6666	6665	6667	6667
13,513	0,6961	0,7563	0,4678		0,0203		0,3884	0,3936	0,3127	0,0491	1,2156	1,1138	0,7521	0,0710	0,0100	1,1330	1,2259	0,7329	0,0853	0,0175
0556	6665	0001	3333	0,2823	6668		0001	5	5	6667	6666	333	6667	9999	6666	6667	3331	6668	6666	9999
13,778	0,6988	0,7621	0,4699	0,2835	0,0205	0,3626	0,3869	0,3937		0,0495	1,2101	1,1146	0,7696		0,0094	1,1206	1,2266		0,0172	
	6667	9999	3331	3333	3333	5001	9999	5001	0,3092	3333	0001	0003	6667	0,0715	6667	3332	3333	0,7474	0,0849	3334
14,042	0,7141	0,7694	0,4705	0,2839	0,0205	0,3609	0,3854	0,3923	0,3103			1,1140	0,7808	0,0736		1,2071	0,7612	0,0879	0,0178	
9722	6667	6665	6666	3332	6666	4999	9999	4999	9999	0,0495	1,2065	6663	0002	3334	0,0103	1,105	6667	0001	6667	3333
14,307	0,7258	0,7743	0,4699	0,2847	0,0207	0,3630	0,3850	0,3934	0,3179		1,2022	1,1106		0,0743	0,0103	1,0905	1,1936	0,7771		0,0172
9167	3334	6667	0001	6667	3333	5001	9999	4999	0001	0,0496	6666	3334	0,7932	3333	3333	0005	3332	6667	0,0885	3334
14,572	0,7286	0,7782	0,4703	0,2832	0,0202	0,3621	0,3849	0,3945	0,3122	0,0499	1,1990	1,1051	0,8091	0,0753		1,0781	1,1813	0,7929	0,0909	
8889	0001	3332	9999	6666	6666	9999	0001	4998	5	6667	3336	9998	0001	3333	0,0098	3337	3335	9999	6667	0,0169
14,837	0,7329	0,7839	0,4714	0,2849	0,0214	0,3610	0,3842	0,3935	0,3149	0,0498		1,0973		0,0094		1,0672	1,1640	0,8036		0,0167
8333	3334	9999	6669	6665	6666	0001	5001	5002	5001	0001	1,197	6663	0,8208	0,0761	6667	6664	3331	6665	0,0924	9999
15,102	0,7314	0,7863	0,4717	0,2851	0,0200		0,3816	0,3919	0,3151	0,0500	1,1947	1,0911	0,8323	0,0775		1,0591	1,1465		0,0163	
8056	6667	3334	6665	3333	6667	0,3581	5	0001	5	6666	6667	3335	6667	3333	0,0093	3332	6665	0,818	0,0924	6667
15,367	0,7372	0,7906	0,4716	0,2854	0,0206	0,3565	0,3835	0,3939	0,3112	0,0498	1,1899	1,0824		0,0784	0,0092	1,0505	1,1398	0,8275	0,0931	0,0164
7778	6665	3334	6667	6667	3332	5	9999	9999	5	6667	6667	3336	0,8398	6667	3333	667	3332	6666	6667	3333
15,632	0,7505	0,7969	0,4714	0,2850			0,3806	0,3912	0,3125		1,1889	1,0766	0,8538		0,0096	1,0460	1,1339	0,8427		0,0162
7222	3336	3333	0001	6667	0,0201	0,3515	4998	9999	5	0,05	3332	6665	3332	0,0796	3333	3333	6666	6666	0,093	9999
15,897	0,7530	0,7979			0,0207	0,3546	0,3812	0,3927		0,0498	1,1856	1,0693	0,8658	0,0810		1,0398		0,8556	0,0963	0,0157
6944	6667	9999	0,4716	0,2866	6667	5	9999	0002	0,3204	3333	6665	6669	3334	6667	0,0086	6666	1,127	6667	6667	6667
16,162	0,7581	0,7998	0,4713	0,2834	0,0209		0,3802	0,3913	0,3107	0,0498	1,1822	1,0634	0,8757	0,0824		1,0315	1,1187		0,0988	0,0150
6389	6669	6667	6665	3333	3333	0,3537	4998	0001	5001	0001	3332	6671	3334	3334	0,0082	6668	9998	0,8637	3333	3333
16,427	0,7619	0,8028	0,4704	0,2836	0,0204		0,3803	0,3906		0,0499	1,1782	1,0567	0,8846			1,0261	1,1057	0,8753	0,1041	
7222	6666	6667	6667	3333	9999	0,3543	5001	0001	0,3119	3334	6666	6667	6668	0,084	0,0089	3335	9998	6665	3333	0,016
16,692	0,7647	0,8041	0,4714	0,2836	0,0209	0,3557		0,3898	0,3090	0,0496	1,1753	1,0512	0,8906		0,0085	1,0201	1,1012		0,1013	0,0152
6667	3333	9999	6667	6666	3333	0001	0,3805	0001	0001	6667	3334	3334	3332	0,0845	3334	3329	9999	0,8817	6667	3334

16,957		0,8056	0,4705	0,2812	0,0205		0,3801	0,3892	0,3076	0,0497	1,1759	1,0488	0,9026	0,0859		1,0151	1,0912	0,8883	0,1051	0,0171
6389	0,7667	3332	6666	9999	6667	0,3555	4999	5001	4999	6666	6667	3332	333	9999	0,0085	0001	6669	9999	3333	6666
17,222	0,7652	0,8059	0,4696	0,2804	0,0202	0,3567	0,3802		0,3099		1,1720	1,0445	0,9122	0,0884	0,0099	1,0072	1,0867	0,8963	0,1045	0,0155
5833	0002	9999	6665	6668	6667	4998	5001	0,3888	5001	0,0498	3332	3334	6667	6666	3334	3335	6666	6665	3333	3333
17,487	0,7691	0,8071	0,4698	0,2790		0,3564	0,3791	0,3860	0,3118	0,0501	1,1693	1,0395	0,9216			1,0033		0,9031	0,1035	0,0160
5556	6668	6665	0001	6668	0,0212	9998	5	9999	5	6667	6668	333	3332	0,0895	0,009	3333	1,0887	3329	3333	6667
17,752	0,7724	0,8093		0,2786	0,0195	0,3563	0,3796	0,3864	0,3100		1,1657	1,0353	0,9262	0,0910	0,0087	0,9979	1,0853	0,9090		0,0148
5	6667	9998	0,4676	6667	3334	5	5	0001	4999	0,0501	6667	6668	6665	3334	3334	6668	0001	3332	0,1107	6667
18,017	0,7697	0,8111	0,4685	0,2768	0,0201	0,3579	0,3798	0,3856		0,0498	1,1616	1,0289	0,9324	0,0917		0,9911	1,0822	0,9158		0,0150
4722	9999	3332	3333	6666	3333	5	9999	4999	0,3103	3334	6667	9998	9999	6667	0,0091	6667	3333	9998	0,1029	3333
18,282	0,7690	0,8121	0,4672		0,0195	0,3562	0,3797	0,3847			1,1581	1,0227	0,9442	0,0938	0,0096		1,0805	0,9182	0,1054	
4167	3332	0001	3334	0,2779	3333	9999	5001	9999	0,3105	0,0501	6663	0001	3331	0001	6666	0,9855	3335	6667	3333	0,0139
18,547	0,7685			0,2766	0,0205			0,3832		0,0498	1,1562	1,0213	0,9491	0,0955	0,0103	0,9803	1,0799	0,9237	0,1049	
3889	6665	0,8118	0,4656	3333	6667	0,3549	0,3788	5	0,3079	6666	3332	6665	6669	3334	9999	9998	3332	0003	3333	0,015
18,812	0,7701	0,8121	0,4643	0,2765	0,0203	0,3561	0,3799		0,3078	0,0506	1,1561		0,9622	0,0972	0,0103	0,9767	1,0796	0,9286	0,1081	0,0145
3611	3333	3333	6668	0001	3333	5	5	0,3845	5	0001	3332	1,0203	6669	6667	6667	3331	3329	9997	3334	6667
19,077	0,7683	0,8131	0,4594	0,2745		0,3541	0,3788	0,3824	0,3085	0,0501	1,1524	1,0162	0,9644	0,0992	0,0103	0,9714	1,0778	0,9323	0,1068	0,0146
3056	6667	6665	3335	3332	0,0195	5	9999	5001	9999	3333	333	3335	0001	3333		0001	3331	6665	3333	3334
19,342	0,7599	0,8116	0,4613	0,2749	0,0198		0,3788	0,3827	0,3090	0,0500	1,1509	1,0124	0,9777		0,0120	0,9688	1,0803	0,9352		0,0151
2778	9999	6666	3333	6667	3333	0,3543	4999	0001	9999	6667	6665	0001	6671	0,1021	6667	6668	3333	6663	0,1125	6667
19,607	0,7620		0,4599	0,2742	0,0193	0,3541	0,3791		0,3044	0,0502	1,1499	1,0076	0,9788	0,1037	0,0112	0,9624	1,0761	0,9374	0,1116	
2222	9998	0,8153	6669	6667	6667	9999	5002	0,3829	5	3333	3334	3332	0001	3334	6666	6667	3334	3334	3333	0,0152
19,872	0,7564	0,8151	0,4576	0,2722	0,0189	0,3530	0,3780	0,3812	0,3036	0,0502	1,1486	1,0066	0,9824		0,0114	0,9582	1,0745	0,9409	0,1101	0,0146
1944	0001	6667	0001	6665	3334	4999	5001	5001	5001	3333	9997	9996	6671	0,1055	0001	6663	6665	3329	6667	0001
20,137	0,7556				0,0195	0,3545	0,3798	0,3827	0,3049		1,1458	1,0009	0,9865	0,1066	0,0100	0,9528	1,0738	0,9428	0,1119	0,0145
1389	3331	0,8124	0,4553	0,269	6668	4999	9999	5	9999	0,0503	3336	9999	6663	6666	6667	6666	3329	6667	3334	6667
20,402	0,7512	0,8119	0,4522	0,2697	0,0173	0,3533	0,3788	0,3816	0,3070	0,0493	1,1467	0,9993	0,9726	0,1100	0,0124	0,9499	1,0728	0,9447		
1111	9997	0001	3335	6666	6667	5	5001	5	5	3333	6666	3333	333	3333	3333	3333	3331	0001	0,116	0,0154
20,667	0,7480	0,8109	0,4524				0,3784	0,3810			1,1486		0,9782	0,1121	0,0095	0,9467	1,0705	0,9473	0,1134	
0556	3334	6665	6665	0,2662	0,0191	0,3531	5001	4999	0,3079	0,0503	3335	0,9978	6668	3333	6666	6668	3333	6664	3334	0,0143
20,932	0,7366	0,7885	0,4426	0,2626		0,3516	0,3781	0,3819		0,0500	1,1486	0,9946	0,9842		0,0112	0,9450	1,0712	0,9501	0,1131	
0278	0001	3332	6666	0001	0,0191	5	5001	5001	0,303	6666	0001	3331	6668	0,1144	6667	6664	3335	9996	6667	0,0147
	0,7390	0,8086		0,2642	0,0198	0,3526	0,3788			0,0509	1,1486		0,9916	0,1183			1,0651	0,9489		0,0141
21,197	0002	3332	0,4505	6667	3334	5002	4999	0,3831	0,3056	3333	6668	0,9924	6668	3333	0,0107	0,9383	6667	6669	0,1201	0001
21,461		0,8067	0,4502		0,0205	0,3527	0,3783	0,3813	0,3041	0,0496	1,1498	0,9907	1,0029	0,1201	0,0121	0,9383	1,0681	0,9542	0,1172	
9444	0,7398	0001	6666	0,2674	9999	4999	5	9999	9999	3333	3335	9999	3333	3333	6667	3334	9999	6665	6667	0,0145
21,726	0,7400	0,8076	0,4510	0,2638	0,0222	0,3503	0,3773	0,3816	0,3082	0,0496		0,9884	1,0059			0,9351	1,0662	0,9534	0,1198	0,0151
8889	3332	3334	3334	3332	6668	5001	5001	5	5	3333	1,1488	6665	9998	0,1218	0,0116	0003	667	9999	6667	6667
21,991	0,7351	0,8056	0,4512	0,2630	0,0236		0,3773	0,3815	0,3044	0,0508		0,9867	1,0197	0,1248	0,0123	0,9332	1,0669	0,9557	0,1170	
8611	0001	6666	6668	9998	3333	0,3512	9999	5001	5001	9999	1,1486	0004	333	6666	6666	3332	0004	9999	3333	0,014
22,256	0,7293	0,8061	0,4526	0,2608	0,0245				0,3014		1,1488	0,9835	1,0170	0,1273	0,0121	0,9321	1,0685	0,9582	0,1251	
8333	0001	6666	0001	6668	6667	0,3506	0,3757	0,3812	0001	0,0504	6666	6669	3333	6667	3334	0003	9999	3334	6667	0,015
22,521	0,7333		0,4526	0,2584	0,0242	0,3489	0,3749	0,3807	0,2966	0,0508	1,1496	0,9829		0,1299		0,9299	1,0680	0,9586		0,0147
7778	9999	0,8058	9999	6667	6666	9999	9999	4999	4999	3333	6665	3335	1,0317	6667	0,0127	3334	6668	3335	0,1171	9999
22,786	0,7304	0,8017	0,4514	0,2577	0,0234	0,3492	0,3759			0,0514	1,1484	0,9801	1,0346			0,9256	1,0658	0,9575	0,1195	
75	6668	0001	3332	3333	0001	5	5	0,3813	0,2977	3333	6668	6668	9998	0,1345	0,0106	9997	6665	0002	3333	0,0137

23,051 6944	0,7240 3335	0,8015	0,4534 9999	0,2564 3333	0,0241 6666	0,3487 5	0,3765 5	0,3818 4999	0,3000 5001	0,0510 3334	1,1500 333	0,9801 3332	1,0427 3336	0,1401 6667	0,0121 6666	0,9279 6666	1,0684 9998	0,9595	0,1222 6667	0,0146
23,316 6667	0,7219 3334	0,8010 6667	0,4534 3333	0,2604 3333	0,0244 9999	0,3481 9999	0,3762 5001	0,3813	0,2986 5	0,0509	1,1523 333	0,9797 3331	1,0509 6668	0,1445	0,0121 3333	0,9266 667	1,0706 3335	0,9620 6669	0,1239	0,0147 6667
23,581 6111	0,7157 9999	0,7999 3333	0,4547	0,2568	0,0243 3334	0,3484	0,3760 5	0,3818 4999	0,3000 5001	0,0512	1,1524 6667	0,9768 9999	1,0505 9999	0,1475	0,0128 3333	0,9256 6666	1,0696 6667	0,9617 9999	0,123	0,0147
23,846 5833	0,7165 3335	0,7973 6665	0,4537 3333	0,2542	0,0244 3333	0,3469 5	0,3767 0001	0,3819 0001	0,2978 5	0,0512	1,1526 9998	0,9760 6667	1,0599	0,1542	0,0125 3334	0,9244 3335	1,0709 667	0,9620 3337	0,1218	0,0145 0001
24,111 5556	0,7102 6668	0,7962 6667	0,4529 0002	0,2545 3334	0,0241 6666	0,3466 0001	0,3766 0001	0,3815 0001	0,3001 4999	0,0508 3334	1,1558 0001	0,9757 3331	1,0653 0001	0,1595 6666	0,0160 9999	0,9253 6667	1,0727	0,9633 6667	0,1236	0,0148 3333
24,376 5	0,706	0,7980 3331	0,4565	0,2578 3334	0,0239 3333	0,3457	0,3747 5	0,3809	0,2977 5	0,0506	1,1571 3335	0,9755 3333	1,0745 9998	0,1647 6666	0,0146 6667	0,9255 0001	1,08	0,9631 6669	0,1299	0,0143

Tabla 18

Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 4 bajo distintos porcentajes de etanol

Promedio de absorbancia (DO)																				
Horas	C4B1					C4B2					C4B3					C4B4				
	0%	5%	10%	15%	20%	0%	5%	10%	15%	20%	0%	5%	10%	15%	20%	0%	5%	10%	15%	20%
0	0,0909	0,0854 6667	0,0657 3334	0,0994 3333	0,081	0,0326	0,0238 3334	0,0262 6666	0,0316 6666	0,0301 3333	0,0279	0,0250 6667	0,0215 6667	0,0288 3332	0,0239	0,0295 3333	0,0248 3334	0,0295 6666	0,0263	0,0275
0,2649 7222	0,0176 6667	0,0262 6667	0,0188 3333	0,0198 3333	0,0224	0,0337	0,0261 3333	0,0273 0001	0,0346 3333	0,0326	0,0289	0,0263 3333	0,0232 6667	0,0307 6666	0,0227 6667	0,0314 6667	0,0270 6667	0,0317 3333	0,0269	0,0263
0,5299 1667	0,0186 3333	0,0273 3333	0,0195 3333	0,0203	0,0235 3334	0,0349 6666	0,0253 0001	0,0296 3333	0,0362 6665	0,0316	0,0302 3333	0,0272 0001	0,0235 3332	0,0306 3333	0,0223 6666	0,0336 6667	0,0290 6667	0,0326 9999	0,0284 3333	0,0265 6667
0,7948 8889	0,0204 0001	0,0291	0,0202	0,0205	0,0240 3334	0,0362 6666	0,0274 3334	0,0309	0,0367 6667	0,0335 0001	0,0308 3333	0,0281 3334	0,0241 3334	0,0294 3333	0,0230 3334	0,0354	0,0308 3333	0,0335 6667	0,0280 6666	0,0274 3333
1,0598 6111	0,0219 6667	0,0313 6667	0,0215 3334	0,0207	0,0243 0001	0,0399 3334	0,0288 6667	0,0325	0,0396 6667	0,0338 3333	0,0298	0,0250 3334	0,0308 6667	0,0233 3334	0,0387 3334	0,0333 6667	0,0350 6667	0,0299 6667	0,0281 6666	0,0281
1,3248 0556	0,0247 3334	0,0336	0,0226	0,0216	0,0248	0,044	0,0309	0,0341 0001	0,0445	0,0333 6667	0,0342 3334	0,0314 3333	0,0258 6667	0,0312 6666	0,0236 3333	0,0416 3333	0,0362 6666	0,0359 3334	0,0312 3333	0,0287 3334
1,5897 7778	0,0276	0,0365 6666	0,0236 3333	0,0219 6667	0,0248 9999	0,0478 6666	0,0330 3334	0,0337 3333	0,0486 6667	0,0327 3333	0,0362 6667	0,0327 3334	0,0257 9999	0,0313 6667	0,0237 3333	0,0447 3333	0,0376 3333	0,0356 3333	0,0320 0001	0,0297 3333
1,8547 5	0,0313	0,0405 0001	0,0251 9999	0,0224 3333	0,0248 3333	0,0502 6666	0,0352 6667	0,0337 3333	0,0559 6667	0,0321	0,0378 6667	0,0340 6667	0,0272 9999	0,0315 6667	0,0239 3334	0,0479 3333	0,0399 3333	0,0359 3333	0,0330 0001	0,0308 6666
2,1197 2222	0,0332 6667	0,0444 6666	0,0262 3333	0,0231	0,0254 6667	0,0550 6666	0,0367	0,0344 3333	0,0476 6667	0,0325 6667	0,0389 6667	0,0360 3333	0,0277 9999	0,0318 6666	0,0245 3334	0,0510 3334	0,0424 9999	0,0362 6666	0,0336 6667	0,0320 0001

2,3846 6667	0,0390 3333	0,0499 6668	0,0279 3334	0,0230 6667	0,0255 6666	0,0595 3334	0,0389 9999	0,0341 9999	0,0498	0,0326 6667	0,0411 6667	0,0379 3332	0,0278	0,0327 0001	0,0250 6667	0,0551	0,0438 3333	0,0361 6666	0,0348 6668	0,0323 0001
2,6496 3889	0,044	0,0536	0,0304 6667	0,0236 6666	0,0257	0,0647 6667	0,0411 6666	0,0346 6667	0,0546 3333	0,0326 9999	0,0431	0,0399 6666	0,028	0,0315 3334	0,0258 9999	0,0585 3333	0,0455 9999	0,0368 9999	0,0346	0,0328 6666
2,9146 1111	0,0502	0,0587 6666	0,0326 6667	0,0250 3333	0,0259 3333	0,0696	0,0426	0,0345	0,0546 6667	0,0325 3333	0,0446 3333	0,0402 6667	0,0278	0,0321 6666	0,0252 3333	0,0610 3333	0,0454 6667	0,0366 0,036	0,0366 3333	0,0330 3333
3,1795 5556	0,0547 6667	0,0675 3334	0,0344	0,0250 9999	0,0265 3333	0,0763 3333	0,0448 3332	0,0345 3332	0,0582 0001	0,0336 3333	0,0463 3333	0,0404 6666	0,0284 9999	0,0331 3334	0,0260 6666	0,0639	0,0456 9999	0,0365 3333	0,0381 3334	0,0336 6666
3,4445 2778	0,0594	0,0727	0,0370 0001	0,0255 3333	0,0265 3333	0,0817 6667	0,0344 0001	0,0576 6667	0,0333 3334	0,0481 3334	0,0416 6666	0,0284 3334	0,0333 3334	0,0259 3334	0,0669 3333	0,0465 9999	0,0363 6667	0,0378 3333	0,0338 6667	0,0338 6667
3,7095 3333	0,0669 3333	0,0835 3333	0,0405 0001	0,0257 9999	0,0263 6667	0,0873	0,0496 3334	0,0345 3333	0,0757 3334	0,0337 3333	0,0502	0,0417 3334	0,0286 3333	0,0333 6667	0,0260 6666	0,0701 6666	0,0465 3333	0,0366 3333	0,0385 0001	0,0347 3333
3,9744 7222	0,0742 6666	0,0899 6667	0,0451	0,0265 6667	0,0278 6666	0,0931	0,0516 3333	0,0341 3333	0,0573 6666	0,0334 6666	0,0513 3333	0,0418 3333	0,0281 3333	0,0265 9999	0,0727	0,0471 3333	0,0365 3333	0,0395	0,0344 3333	0,0344 3333
4,2394 1667	0,0838	0,0969 6667	0,0465	0,0285 6667	0,0289	0,0971	0,0541 3333	0,0324	0,0654 3333	0,0329 0001	0,0534	0,0408	0,0275 3334	0,0322 3333	0,0262	0,0761	0,0474	0,0357	0,0400 3333	0,0350 3334
4,5043 8889	0,0929	0,1056 6667	0,0519	0,0286 3333	0,0297 3333	0,1051	0,0563	0,0314 3334	0,0782 9999	0,0329 3333	0,0560 3333	0,0410 6667	0,0261 3334	0,0315 3333	0,0261 3333	0,0804 3334	0,0472 0001	0,0348 0001	0,0406 9999	0,0349 3333
4,7693 6111	0,1008 3333	0,1134	0,0546	0,0294 6667	0,0308 3334	0,1111 6667	0,0594 6666	0,0314 3334	0,0738 3333	0,0337 6667	0,0581 6667	0,0427 6666	0,0266 0001	0,0316 3333	0,0266 3333	0,0843 3333	0,0499 6666	0,0361 0001	0,0416 9999	0,0351 3334
5,0343 0556	0,109	0,1267 6667	0,0576 3333	0,0311 3333	0,0319 6667	0,1174 3334	0,0608 6667	0,0305	0,0506	0,0332	0,0597 6667	0,0431	0,0263	0,0328 3334	0,0263 6667	0,0875 6667	0,0510 6668	0,0356 6667	0,0448 6667	0,0346 6667
5,2992 7778	0,1146	0,1283 6667	0,0635	0,0327 6667	0,0335	0,1254 3333	0,0633	0,0303	0,0487 3334	0,034	0,0618 3333	0,0427	0,0270 6667	0,0330 3334	0,0266 3333	0,0911 3334	0,0527 3334	0,0359 6667	0,0484	0,0353 3333
5,5642 5	0,1210 3333	0,1357 6667	0,0665 3333	0,0338	0,0346	0,1332 6667	0,0298 3333	0,0344 0001	0,0298 3333	0,0344 0001	0,0639	0,0437	0,0275 6667	0,0267 6667	0,0950 6666	0,0542 6667	0,0505 6667	0,0358	0,0505 6667	0,0353 3334
5,8291 9444	0,1280 6667	0,1463 3334	0,0743 6666	0,0350 6666	0,037	0,1414 6667	0,0697 3333	0,0295 3333	0,0590 3333	0,0337 3333	0,0667 3334	0,0444 3334	0,0268 6666	0,0349 3334	0,0263 3334	0,0986 3334	0,0554 3333	0,0352	0,0553 6667	0,0349 6666
6,0941 6667	0,1352 3333	0,162	0,0828 3333	0,0376	0,0396 6667	0,1506 3335	0,0725 6667	0,0297 3333	0,0824 6667	0,0341 6667	0,0451 3334	0,0271 3334	0,0348	0,0270 0001	0,1022 3334	0,0576 6667	0,0359 3334	0,0475 6667	0,0349 6667	0,0349 6667
6,3591 3889	0,1424	0,1680 6667	0,0848 3333	0,0386 6667	0,0419 3333	0,1603 3332	0,0767 3334	0,0294 0001	0,0476 3333	0,0347 0001	0,0715 3334	0,0461 3334	0,0272 0001	0,0347	0,0270 6667	0,1051 3333	0,0593 0001	0,0361 0001	0,0517 6666	0,0352 0001
6,6240 8333	0,1509 3334	0,1705 6667	0,0911 6667	0,0414	0,0447 6666	0,1686	0,0798	0,0291 3334	0,0558 3334	0,0342 6667	0,0743 3333	0,0462 3334	0,0270 6667	0,0349 3334	0,0266 3333	0,1089 3334	0,0602 3334	0,0353 0001	0,0517 0001	0,0346 0,0346
6,8890 5556	0,1585 3334	0,1868 3333	0,1026 3333	0,0434 6666	0,0478	0,1803	0,0834	0,0282 3333	0,0790 3334	0,0347 6667	0,0773	0,0461 3333	0,0257 6667	0,0346 3333	0,0267 3334	0,1117 9999	0,0614 3333	0,0352	0,0581 6666	0,0349 6667
7,1540 2778	0,1663	0,1994 6668	0,1036	0,0453 3333	0,0527 9999	0,1905 3334	0,0870 3334	0,0278 3333	0,0510 3333	0,0344 6667	0,0811 6666	0,0469	0,0254 3334	0,0254 0,035	0,0269 3334	0,1146 6666	0,0627 6667	0,0361 3333	0,0651 3332	0,0340 0001
7,419	0,1721 6667	0,2148 3333	0,1059 6667	0,0503 3333	0,0537 6667	0,2160 6667	0,0908 3334	0,0279 3334	0,0625 3334	0,0347 6665	0,0850 3333	0,0478 3333	0,0252 3334	0,0341 6667	0,0272 9999	0,1181 6667	0,0651	0,0365	0,0640 3333	0,0342
7,6839 4444	0,1799	0,2327 6667	0,1134	0,0497 3333	0,0582	0,2243 3334	0,0939 6667	0,0278 0001	0,0834 3334	0,0341 0001	0,0885 6667	0,0477 6667	0,0252 0001	0,0343 6667	0,0269 0001	0,1211 3334	0,0669 6667	0,0370 6667	0,0648 3334	0,0338 0001
7,9489 1667	0,1868 0001	0,2528 6668	0,1189 3333	0,0567	0,0626	0,2352 9999	0,0973 3334	0,0271	0,0586 3334	0,0331 6667	0,0933 6667	0,0487	0,0250 6667	0,0267 6667	0,1240 3333	0,0689 3334	0,0370 6667	0,0776	0,0332	0,0332
8,2138 8889	0,1953 3334	0,2741 6667	0,1146 6667	0,0565 6667	0,066	0,2492 0001	0,1012 6667	0,0273 3332	0,0639 3333	0,0343 6666	0,0974 6667	0,0490 3334	0,0248 3333	0,0345 6666	0,0273 9999	0,1262 3334	0,0705 0001	0,0372 3333	0,0802 9999	0,0332 3333

8,4788 3333	0,2054	0,2985 6668	0,1152	0,0597 6667	0,0708 3333	0,2659 0001	0,1037 3334	0,0260 9999	0,0441 3333	0,0342 6667	0,1016 6667	0,0494	0,0235 9999	0,0337 6666	0,0274 6666	0,1288 3334	0,0718 6667	0,0378 3333	0,0878	0,0327 9999
8,7438 0556	0,2174 3334	0,3232 6668	0,1105 6667	0,0627 6667	0,0771	0,2832 0001	0,1080 3333	0,0265 0001	0,0527 3333	0,0344 6667	0,1068	0,0500 6666	0,0233	0,0341	0,0270 3334	0,1311 0001	0,0735 3334	0,0392	0,0981 6666	0,0322 3333
9,0087 7778	0,2290 3334	0,3496 3334	0,1202	0,0671 3333	0,0807 3333	0,2968 6667	0,1110 6667	0,0257 3333	0,0465 6667	0,0346 6667	0,1114	0,0506	0,0229	0,0339 0001	0,0271 6667	0,1328	0,0752	0,0405 3333	0,1054 3334	0,0319 6668
9,2737 2222	0,2429 6667	0,3806 3333	0,1121	0,0703 6666	0,0812 3333	0,3079 3334	0,1152 3334	0,0256 3334	0,0463 3333	0,0345 6667	0,1162	0,0505 3333	0,0229 3334	0,0339 9999	0,0277 3333	0,1346 3333	0,0767 6667	0,0427 3334	0,1187 9999	0,0317 6667
9,5386 9444	0,2518 9999	0,4144 6668	0,1148 0001	0,0761 3334	0,0838 3333	0,3194 6668	0,1181 6666	0,0491 0,0257	0,0355 3333	0,0355 6666	0,1226	0,0505 6666	0,0229 0001	0,0340 3333	0,0280 6666	0,1375 6666	0,0453 0,0782	0,1274 3334	0,0316 6666	0,0316 6667
9,8036 6667	0,2654 3332	0,4467 3332	0,1168 6667	0,0755 3334	0,0863 6666	0,3299 3333	0,1215 3333	0,0253 3333	0,0451 6666	0,0350 6667	0,1285 9999	0,0511 6666	0,0227 3334	0,0329	0,0276	0,1386	0,0800 6667	0,0485	0,1396 6667	0,0312
10,068 6389	0,2784 3333	0,4888 3335	0,1224 3333	0,0838	0,0899 6667	0,3417 9999	0,1242	0,025	0,0543 6667	0,0349 3333	0,1333 6666	0,0514 6666	0,0221 9999	0,0342	0,0278 3334	0,1415 6666	0,0819 6666	0,0517 9999	0,1491 6667	0,0305 3334
10,333 6944	0,2928 6666	0,5142 6666	0,1282 3333	0,0864 6667	0,0933 6667	0,3463 0001	0,1273 3334	0,0251 3334	0,0720 9999	0,0348 6667	0,1391 6666	0,0517	0,0223	0,0346 6667	0,0281 6667	0,1428 3332	0,0839 3333	0,0566	0,1656 9999	0,0303
10,598 6667	0,3100 6667	0,5496 6664	0,1346	0,0882	0,0974 6667	0,3629	0,1314 3333	0,0252	0,0600 6667	0,0356 0001	0,1457 6666	0,0518 3333	0,0219 6667	0,0347 3334	0,0283 0001	0,1453 6667	0,0853 6666	0,0623 6667	0,1749 3334	0,0299 0001
10,863 6111	0,3185 3333	0,573	0,1414 3334	0,0946	0,1015	0,3782 3333	0,135	0,0248 3334	0,0436	0,0353 6666	0,1522	0,0523	0,0217 3333	0,0339 3333	0,0281 6666	0,1475 6667	0,0883 3333	0,0705 3334	0,1831 3333	0,0290 6666
11,128 5833	0,3336 6666	0,5947	0,1489	0,0893 6666	0,1036	0,3915 6668	0,1380 6666	0,0249 3334	0,0481 6666	0,0364 3333	0,1586 6666	0,0519 9999	0,0219 6667	0,0358 9999	0,0295 6666	0,1493	0,0892 6666	0,0780 3334	0,1975 3333	0,0291 6666
11,393 5556	0,3373	0,5964 9999	0,1596 6667	0,0921	0,1122 3333	0,4053 6667	0,1418 3333	0,0246	0,0478	0,0369 3333	0,1665 3333	0,0523 3333	0,0218 3334	0,0357 3333	0,0302 6666	0,1521 6666	0,0921 6667	0,0874 3334	0,2152 6666	0,0292
11,658 5	0,3577 6668	0,6276 6669	0,1706 6667	0,101	0,1160 3333	0,4205 3335	0,1457 6666	0,0247 3333	0,0478 3334	0,0375 9999	0,1735 3334	0,0523 6666	0,0216 3334	0,0368 6666	0,0305 6666	0,1545 0001	0,0947	0,0984 3334	0,2226 3334	0,0287 9999
11,923 4722	0,3694 6667	0,6228 6664	0,1833 3334	0,0952 3334	0,1171 6666	0,4356 3334	0,1496	0,0248 6667	0,0486 6666	0,0383 3332	0,1801 3333	0,0524 9999	0,0211	0,0376 6666	0,0313 6666	0,1560 6667	0,0972	0,1104	0,2317	0,0282 3332
12,188 4444	0,3768 0001	0,6295 9998	0,1978 6666	0,0959 3333	0,1261 3333	0,4514	0,1533 9999	0,0246 6667	0,0453	0,0395 3332	0,1881	0,0535 3333	0,021	0,0385 0001	0,0325 3333	0,1586 3334	0,1002	0,1244	0,2398 6667	0,0282 6666
12,453 3889	0,3762	0,6376 6666	0,2118 6666	0,1004 3333	0,1264 6668	0,4741 6667	0,1580 3332	0,0248 3334	0,0448	0,0411 6666	0,1989 0001	0,0538 9999	0,0214 3334	0,0405 6666	0,0340 3333	0,1617 0001	0,1044 6666	0,1396 3334	0,2471 6666	0,0281 3333
12,718 3611	0,3712 3333	0,6487 9999	0,2271	0,0976 9999	0,1326 3333	0,4936 6667	0,1611 3334	0,0243	0,0427 3333	0,0427 3333	0,2075 3332	0,0536 3334	0,0211	0,0408	0,0352 9999	0,1637 6668	0,1076 3333	0,1573 3334	0,2577 3334	0,0277 3333
12,983 3333	0,3832 6666	0,6385 3334	0,2426	0,0989 6667	0,1401 6667	0,5091 0002	0,1647 3334	0,0245 0001	0,0442 9999	0,0446 6667	0,2169 6667	0,0535 6667	0,0211 6667	0,0437	0,0368 6666	0,1654 6668	0,1116 0001	0,1752 0001	0,2717 6666	0,0273
13,248 3056	0,4027 3333	0,6430 6667	0,2581 3332	0,1013 3334	0,1486	0,5289 3335	0,1682 9999	0,0241	0,0501 6666	0,0475 3332	0,2267 6666	0,0548 6667	0,0204 3333	0,0477 6667	0,0395 9999	0,1689 3333	0,1156 3333	0,1891 3333	0,2749 6665	0,0271 6666
13,513 25	0,4175 0001	0,6553 667	0,2729 3334	0,1056 3333	0,1591 6666	0,5522 6666	0,1730 6668	0,0246	0,0469 6667	0,0512 0001	0,2361 3334	0,0547 6667	0,0211 6667	0,0510 3334	0,0416 0001	0,1731 0001	0,1215 6667	0,2086	0,2857 3333	0,0267
13,778 2222	0,4144 3333	0,6347 3335	0,2883 3334	0,1146 6667	0,1696 6666	0,5728 6666	0,1779	0,0246 6666	0,0460 3333	0,0547 3334	0,2456	0,0555 0001	0,0211 9999	0,0552 9999	0,0444 3334	0,1756 3334	0,1270 6667	0,2245 9999	0,2951 6666	0,0263 6667
14,043 1944	0,3953 9999	0,6414 3333	0,3034 6666	0,1190 9999	0,1798 6667	0,5894 6669	0,1811 0001	0,0242 9999	0,0481 3333	0,0592 3333	0,2537 6668	0,0556	0,0209 9999	0,0600 3333	0,0481 3333	0,1790 3334	0,1330 3334	0,2388 3333	0,3035 6666	0,027
14,308 1389	0,4142 3334	0,6549 6666	0,3173 3333	0,12	0,1927	0,6048 6666	0,1858 3334	0,0240 6667	0,0463	0,0654 6667	0,2663 9999	0,0567 6667	0,0205 3334	0,0661 6667	0,0528 3333	0,1829 3333	0,1395	0,2550 9999	0,3118 6668	0,0262 6666

14,573 1111	0,3755 3332	0,7329 6669	0,3311 3334	0,1265 6666	0,2046 3334	0,6208 6664	0,1914 3334	0,0246 6666	0,0408	0,0719 9999	0,2781 3333	0,0571 3333	0,0212 3333	0,0732 9999	0,0578 6666	0,1866 3333	0,1473 3333	0,2719 3332	0,3183 3333	0,0259 6666
14,838 0833	0,3818 3334	0,6739 6665	0,3467 3332	0,1310 6666	0,2164 3333	0,6330 0001	0,1970 6666	0,0243 6666	0,043	0,0807 6667	0,2835 6665	0,0582	0,0212 3333	0,0819 9999	0,0631	0,1896 9999	0,1542 9999	0,2879 6666	0,3262 6665	0,0259 6667
15,103 0556	0,3697 9999	0,6814 6666	0,3612 6667	0,1388 3333	0,2292 6666	0,6458 6665	0,2021 6666	0,0241 6666	0,0439 3333	0,0900 3333	0,2949	0,0585 0001	0,0206 6667	0,0927 9999	0,0701 6666	0,1942 3334	0,1621 0001	0,3043 3334	0,3378 3333	0,0259
15,368	0,3730 6667	0,6744 3334	0,3741 3333	0,1480 3334	0,2427 6667	0,6553 6668	0,2078 3333	0,0237 6666	0,0446 6667	0,1002 6666	0,3062	0,0601 3334	0,0208 6666	0,0767 6666	0,1973 0001	0,1712 6667	0,3214	0,3468		0,0254 3333
15,632 9722	0,3694 3334	0,6614 9999	0,3851 0001	0,1575 6666	0,2569 3334	0,6670 9998	0,2129 9999	0,0238 3334	0,0529 3334	0,3182 3333	0,0602 3333	0,1171 3333	0,0206 6667	0,084 3334	0,2011 3334	0,1812 3334	0,3384 3334	0,35		0,0243 3333
15,897 9444	0,3736 3333	0,6413 3334	0,3976 3334	0,1684 6667	0,2687 6668	0,6808 3333	0,2190 3333	0,0238 3334	0,0475 3333	0,1260 9999	0,3316 3333	0,0633 6667	0,0206 6667	0,1318 6666	0,0945 6666	0,2047 3333	0,1921 3334	0,3556 6668	0,3635 3332	0,0251
16,162 8889	0,3816 6667	0,6529 9999	0,4080 3334	0,1809	0,2812	0,6979 6669	0,2259 3334	0,0406 0,024	0,1416 6667	0,3182 3333	0,3452	0,0633 6667	0,0208 6667	0,1482 3333	0,1053	0,2086	0,2056	0,3740 3334	0,3732 3334	0,0248 3333
16,427 8611	0,3718 3334	0,7468	0,4194	0,1916 6666	0,2929 3333	0,7121 3334	0,2343 6666	0,0242 3333	0,0495 6666	0,1592	0,3559	0,0668 3334	0,0208 9999	0,1660 6666	0,117	0,2109 3334	0,2175	0,3926 3332	0,3844 3333	0,0249 3333
16,692 8333	0,3763 3332	0,7571 9997	0,4290 3333	0,2063 6667	0,3054 6667	0,7302 9997	0,2429	0,0234	0,0480 3333	0,1764 3334	0,3692 6667	0,0661 6666	0,0197 3333	0,1835 3334	0,1297 3333	0,2144	0,2328 3333	0,4137 3333	0,3948 6667	0,0245
16,957 7778	0,3900 3334	0,7767 6667	0,4384	0,2205	0,3170 3334	0,7418 3333	0,2506 3333	0,0243 3332	0,0467 6666	0,1921 3334	0,3824 6667	0,068	0,021	0,1982 9999	0,1427	0,2179 3334	0,248	0,4370 3332	0,4119 3333	0,0245
17,222 75	0,3731 3332	0,7004 3331	0,4478 9999	0,2354 9999	0,3293 3335	0,7568 3334	0,2591	0,0238 3333	0,0463 6667	0,2100 3334	0,3937	0,0706	0,0205	0,2174	0,1559 6666	0,2198	0,2631	0,4597 6666	0,4228 3335	0,0247
17,487 7222	0,3912 6666	0,8009 3332	0,4564 9999	0,2505 0001	0,3408	0,7674 6667	0,2670 6666	0,0246 3333	0,0441 3334	0,2296 3334	0,4066 6666	0,0720 3333	0,0208 6667	0,2292 9999	0,171	0,2232	0,2811	0,4841 6669	0,4425 6668	0,0246 3333
17,752 6944	0,3816 9999	0,7776 3333	0,4629 0001	0,2659 3333	0,3524 3333	0,7807 3332	0,2755 6667	0,024	0,0440 6666	0,2423 9999	0,4170 3333	0,0747	0,0205 6667	0,2417 6667	0,1825 3332	0,2253 6667	0,2973 3333	0,5095 3333	0,4510 0002	0,0243 3333
18,017 6389	0,3942 6666	0,8155	0,4705 3334	0,2811 6667	0,3627 6666	0,7906 6667	0,2828 3333	0,0239 3334	0,0441 3333	0,2608 3334	0,4297	0,0772	0,0205 3334	0,2601 6666	0,1961	0,2281 3334	0,3164	0,5372 3335	0,4734 6668	0,0239
18,282 6111	0,3760 3333	0,8015 0001	0,4765 3332	0,2969 6667	0,3720 9998	0,7965 9999	0,2906 6666	0,0242 3334	0,041	0,2769 6667	0,4406	0,0793 6667	0,0207 3334	0,2745 3334	0,2146 0001	0,2312 3333	0,3359	0,5631 6667	0,4805 6669	0,0244 6667
18,547 5833	0,3778 0001	0,7961 3333	0,4833 6666	0,3138 3334	0,3822 9999	0,7959 3333	0,2982 6666	0,0243	0,0427 6667	0,2995 6667	0,4503 6667	0,0817 3334	0,0208	0,2931 6667	0,2232 6666	0,2362 3333	0,3575 3334	0,5872 6669	0,4981	0,0246 6667
18,812 5278	0,4039 6666	0,8347 3332	0,4886 6667	0,3296 6667	0,3904	0,8012	0,3059	0,0244 0001	0,0462 3333	0,3189 3332	0,4564	0,0856	0,0210 3334	0,3094 6666	0,2330 3332	0,2396 0001	0,3796 3333	0,6141 9999	0,5037 9997	0,0250 6666
19,077 5	0,3953 9999	0,8248 0003	0,4963 6666	0,3454 3332	0,3999 9999	0,8062 9997	0,3153 3333	0,0242 6667	0,0467	0,3406 6667	0,4645 6667	0,0879	0,0209 0001	0,3269 3332	0,2419 3334	0,4069 6667	0,6354 9998	0,5141 6665	0,0245 6667	
19,342 4722	0,3949 3333	0,8060 6665	0,5000 0001	0,3601 9999	0,4069	0,8150 6665	0,3255 6667	0,0245 9999	0,0386	0,3595	0,4716 3334	0,0918 6667	0,0209 6666	0,3341	0,2536 3333	0,2486 6667	0,4289	0,6607 6664	0,5287 3334	0,0245 9999
19,607 4167	0,3996	0,7563 667	0,5061 6667	0,3755 0001	0,4128 6668	0,824	0,3351 0001	0,0234 3334	0,0514 9999	0,3814 6665	0,4783 3333	0,0957	0,0199 6667	0,3605 6665	0,2641 0001	0,2536	0,4502 3335	0,6885 6669	0,5406 6667	0,0243 6667
19,872 3889	0,3872 3333	0,8527 3332	0,5102 6669	0,3901 6667	0,4197	0,8318 3334	0,3472	0,0243 6667	0,0491	0,4043 6666	0,4867 6665	0,0995	0,0207 3334	0,3777 6665	0,2763 3333	0,2603	0,4719 0002	0,7183 9999	0,5449 6665	0,0249 3333
20,137 3611	0,4116 3334	0,8585 6667	0,5162 3334	0,4036 6667	0,426	0,8394 0002	0,3619	0,0241	0,0459 6666	0,4271 3334	0,4935 6667	0,1048	0,0205 6667	0,3961 9999	0,2862	0,2660 6666	0,4913 6666	0,7465 3332	0,5549	0,0259 6666
20,402 3333	0,3985 0001	0,8871 9999	0,5202 3335	0,4149 9999	0,4326 3333	0,8502 0003	0,3736 3333	0,0243 6667	0,0404 6667	0,4533 6668	0,5003 0001	0,1092	0,0206 3333	0,4143 9999	0,2940 6666	0,2732 6667	0,5155	0,7776 3331	0,5657 6667	0,0271 6666

20,667 2778	0,3888	0,7485	0,5257 3334	0,4285	0,4356 6667	0,8555 3335	0,3837 6668	0,0241 3333	0,0447 6666	0,4788 3333	0,5014 6666	0,1135	0,0212	0,4342 9998	0,3018 0001	0,2787 3334	0,5358 9999	0,8037 9999	0,5743 9999	0,0279 3333
20,932 3611	0,3958 6667	0,8708 3332	0,5299	0,4394 3333	0,4405 9998	0,8644 3334	0,3956 3333	0,0243 3332	0,0483	0,5048 3334	0,5044 6668	0,1198	0,0212 9999	0,4550 3332	0,3104 3333	0,2866	0,5602 6667	0,8318 9997	0,5807 0002	0,0297
21,197 3056	0,4107	0,937	0,5346	0,4519 6668	0,4451 0001	0,8694 6665	0,4040 6667	0,0246	0,0492	0,5269 6665	0,5058 9999	0,1259	0,0212 3334	0,4817 6667	0,3201 3333	0,2922 6666	0,5819 3333	0,8576 6665	0,5930 3335	0,0316 3334
21,462 2778	0,4231 3333	0,8817 6667	0,5373 6667	0,4608 6666	0,4504 3333	0,8773 3332	0,4125 0001	0,0238	0,0457	0,5527 6667	0,5051 3334	0,1316 9999	0,0205	0,5066 6666	0,3294 9998	0,2998	0,6051 3331	0,8830 6669	0,6023 9999	0,0341
21,727 25	0,3979 6667	0,7680 0002	0,5445 0001	0,4701 3333	0,4531 9998	0,8814 9999	0,4348 3332	0,0250 6666	0,0430 6668	0,5739 3332	0,5058 0001	0,1392 9999	0,0214 9999	0,5313 0001	0,3381 6668	0,3065 9998	0,6298 6665	0,9053 9998	0,6152 0001	0,0369 3334
21,992 1944	0,4024 6668	0,8470 3331	0,5463 6666	0,4798 6666	0,4589 6669	0,8833 6665	0,4380 6665	0,0247 3334	0,0424	0,5949 0002	0,5034 6668	0,1456	0,0219	0,5525 6665	0,3458 3334	0,3122	0,6542 3333	0,9284 0001	0,6250 3334	0,0390 6666
22,257 1667	0,4172 6666	0,9030 0001	0,5518 6666	0,4884 3333	0,4602 6667	0,8855 3333	0,4414 6664	0,0247 6667	0,0425 3334	0,6197 6667	0,4993 6667	0,1535 6667	0,0215 9999	0,5771 6665	0,3551 3332	0,3167 6666	0,677	0,9515 6668	0,6368 0002	0,0429 6666
22,522 1389	0,4116 3333	0,9026 0001	0,5555 3333	0,4981 9999	0,4633 3332	0,8861 6668	0,4453 9999	0,0232 3334	0,0461 3333	0,6441 3333	0,4990 6668	0,1640 3334	0,0208 3334	0,5982 6667	0,3668 3334	0,3217 6667	0,7024 6666	0,9732 6667	0,6486 3333	0,0475 0001
22,787 1111	0,4011 9999	0,7596 0003	0,5589 3334	0,5044 0001	0,4696 3334	0,8868 6667	0,4500 6665	0,0246 3332	0,0451 6667	0,6676 6669	0,4972 9999	0,1707	0,0223	0,6192 0001	0,3777 6667	0,3261 6666	0,7272 0001	0,9958 6667	0,6608 6666	0,0524 3334
23,052 0556	0,4243 6668	0,8714 0002	0,5642 3332	0,5126	0,4695 3333	0,8857	0,4540 6667	0,0237 3333	0,0442 3334	0,6903 3334	0,4947 6668	0,1795 6666	0,0216 9999	0,6428 3332	0,3873 3335	0,3298 6667	0,7552 3332	1,0168 6663	0,6750 6664	0,0579 0001
23,317 0278	0,4123 0001	0,9098 3331	0,5676 6669	0,5192 0001	0,4717 3334	0,8854 3334	0,4598 3333	0,0234 6667	0,0439 3334	0,7126 6666	0,4928 3332	0,1885 6667	0,0222 3333	0,6671 3334	0,3988 6667	0,3324 3334	0,7844 6666	1,0397 6664	0,6875 3334	0,0634 6667
23,582	0,4355 3334	0,8688 3331	0,5721 6668	0,5268 6666	0,4767 3335	0,8805 0001	0,4646 3333	0,0235 3333	0,0464 3333	0,7375 3335	0,4886 6667	0,1993 3333	0,0223 6667	0,6916 6665	0,4119 3333	0,3319 3334	0,7968 9999	1,0546 3333	0,7044 3332	0,0732 3332
23,846 9444	0,4219 0001	0,9031 3334	0,5757 3331	0,5314 6667	0,4791 6666	0,8775 3335	0,4710 0002	0,0239 6666	0,0481	0,7615	0,4835 6668	0,2109 6666	0,0234 6666	0,7176 3331	0,4269 6668	0,3318 6668	0,8209 667	1,0719	0,7160 9999	0,0814 6667
24,111 9167	0,4498 6667	0,7056 6667	0,5824 6667	0,5401 3336	0,4802 0001	0,8709 3331	0,4751 6665	0,0239 6666	0,0465	0,7843	0,4757 6665	0,2213 6667	0,0239 9999	0,7426 6664	0,4412 3332	0,3302 9998	0,8406 3333	1,0866 0001	0,7395	0,0929 0001
24,376 8889	0,4292 3334	0,8530 3333	0,5854 0002	0,5452 3333	0,4835 9999	0,8625 6667	0,4806 3334	0,0244 6667	0,0408 3333	0,8068 6665	0,4675	0,2338 6667	0,0245	0,7677 6666	0,4557 0001	0,3274 0002	0,8563 6665	1,1020 6667	0,7476 3332	0,1058 3333

Tabla 19

Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 4 bajo variaciones de pH

Promedio Densidad óptica (DO)																				
	C4B1					C4B2					C4B3					C4B4				
Hora	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5
0	0,0397 3334	0,0397 3333	0,0377 0,0377	0,0355 3333	0,0559 3334	0,0217 3333	0,0175	0,0107	0,0253 3334	0,0223	0,0232 3333	0,0199 3334	0,0111	0,0249 3334	0,0241 6667	0,0236 6667	0,0208 0001	0,0128	0,0241 3334	0,0261 6667

0,2649 4444	0,0438 3333	0,0437 6667	0,0406 3334	0,0335 6667	0,0564 3333	0,0228 6666	0,0174	0,0233 5	0,0261 6667	0,0221 3334	0,0247 6666	0,0212 3333	0,0241 6667	0,0252 3334	0,0251 6667	0,0248	0,0218 3333	0,0252 3333	0,0249	0,0274 3333
0,5299 1667	0,0491 3333	0,0504	0,0441 3334	0,0348 6667	0,0566 3333	0,0237 3333	0,0177 6667	0,0233 0001	0,0264 3333	0,0223	0,0248 6667	0,0212 3333	0,0236 3333	0,0259 6666	0,0262 3333	0,0251	0,0219 6667	0,0251 6667	0,0247 6666	0,0266
0,7948 6111	0,0556 3334	0,0580 3333	0,0477 3334	0,0342 6667	0,0557 6667	0,0233 3333	0,0180 6667	0,0237	0,0267 3333	0,0223 6667	0,0246 3334	0,0205 3334	0,0238 6667	0,0260 6667	0,0263 6667	0,0255 6666	0,0222 6667	0,0255 3333	0,0259	0,0266 3333
1,0598 3333	0,0603 9999	0,0647 6667	0,0551 3333	0,0356 6667	0,0556 3334	0,0241 6667	0,0193 6667	0,0238	0,0278 3333	0,0212 3334	0,0253 6667	0,0218	0,0229	0,0259 3334	0,0253 6668	0,0267 3334	0,0243 6667	0,0253 6667	0,0257 6667	0,0257 3334
1,3248 0556	0,0660 3333	0,0713 3334	0,0634 3333	0,0375 6666	0,0375 6666	0,0251 3333	0,0199	0,0248	0,0256 6666	0,0212 3333	0,0267 6667	0,0235	0,0240 3333	0,0246 6666	0,0253 6667	0,0283	0,0249 0001	0,0269 3333	0,0258	0,0254 6666
1,5897 5	0,0714 6666	0,0783	0,0711 6667	0,0429 3333	0,0547 3333	0,0269 3333	0,0215 3333	0,0254 9999	0,0263 3333	0,0214 6666	0,0287 3333	0,0236	0,0250 3333	0,0251 6667	0,0259 3334	0,0308 3334	0,0263 6667	0,0279 3333	0,0262 3333	0,0257 3333
1,8547 2222	0,0794	0,0847 3333	0,0730 6667	0,0457 3334	0,0544 6666	0,0288 6667	0,0224 3333	0,0258	0,0276 3333	0,0207	0,0298	0,0252	0,0252	0,0263 6667	0,0256 6667	0,0332 6667	0,0288	0,0285 3333	0,0274	0,0250 6667
2,1196 6667	0,0862	0,0941	0,0775 6666	0,0443	0,0541 6667	0,0312	0,0245 3333	0,0269 4999	0,0289 9999	0,0197 0001	0,0314 9999	0,0268	0,0259 3333	0,0275 6667	0,0245 3334	0,0367	0,0313 0001	0,0296 6666	0,0277 9999	0,0241 3334
2,3846 3889	0,095	0,1034 3333	0,0828 6667	0,0455 6666	0,0540 6667	0,0334 6667	0,027	0,0273 5	0,0293 3334	0,0189 3333	0,0342 3333	0,0286 3333	0,0268 6667	0,0271 3333	0,0240 3333	0,041	0,0349 3333	0,0308 6667	0,028	0,0231 6667
2,6495 8333	0,1034 3333	0,1131 6666	0,0918 6667	0,05	0,0542	9999	0,03	0,0289	0,0298 3334	0,0197 6667	0,0376	0,0319 3333	0,0276 9999	0,0278 6667	0,0242	0,0464 6666	0,0397 3333	0,0324 3333	0,0291 3333	0,0247
2,9145 5556	0,1132 3333	0,1231 6666	0,0988 3333	0,0527	0,0527 6667	0,0415	0,0344 6667	0,0304 4999	0,0304 3334	0,0186 3334	0,0417 6667	0,0354	0,0294	0,0288	0,0237 3333	0,0536 3333	0,0453 6667	0,0345 6666	0,0294	0,0238 6667
3,1795 2778	0,1202	0,1322	0,1063	0,0560 3333	0,0533 6667	0,0469 3333	0,0391 6666	0,0322 5	0,0313	0,0182 3333	0,0471 6667	0,0395 0001	0,0306 3333	0,0290 6667	0,0228 6666	0,0618 6667	0,0529 6667	0,0366 3333	0,0300 6666	0,0234 6666
3,4444 7222	0,1284	0,1415 9999	0,1144 3333	0,0591	0,0531 6666	0,0540 6667	0,0475 3334	0,0343	0,0316 6666	0,0175	0,0533	0,0458 6667	0,0332 6666	0,0291	0,0231 6667	0,0730 6667	0,0620 6667	0,0393 6666	0,0318 6667	0,0235 3334
3,7094 4444	0,1375 6667	0,1517 6666	0,1265 3333	0,0625 3333	0,0522 6667	0,063	0,0529 3333	0,0373 0001	0,0179 3333	0,0621 3333	0,0533	0,0342 3333	0,0300 6667	0,0241 6666	0,0866 3333	0,0727	0,0423 3334	0,0322 3333	0,0231 3333	
3,9743 8889	0,1455 3332	0,1596 3334	0,1319 6667	0,0650 3333	0,0523	0,0743	0,0629 6667	0,0399	0,0335	0,0179	0,0720 6667	0,0617 3333	0,0357 3333	0,0317 3333	0,0240 6667	0,1026 9999	0,0454 6666	0,0326 3334	0,0241 6667	
4,2393 6111	0,1548 6666	0,1668 3334	0,1407 3333	0,0671 6667	0,0522 6667	0,0884 3334	0,0762 6667	0,0423	0,0336 3333	0,0180 3334	0,0852 6667	0,0724 6667	0,0379 6666	0,0308 3334	0,0243 6667	0,1226	0,1019 6667	0,0491 6667	0,0336 6667	0,025
4,5043 0556	0,1621 3334	0,1740 3334	0,1503 3333	0,0705 6667	0,0519 6666	0,1045	0,0879 6666	0,0461 5001	0,0346 3333	0,0174 3334	0,1009	0,0861	0,0408 3333	0,0310 3333	0,0250 3334	0,1469 0001	0,1196 6667	0,0532	0,0340 6667	0,0242 6667
4,7692 7778	0,1663 9999	0,1810 6667	0,1579 3334	0,0736 3334	0,0518 6667	0,125	0,1050 6667	0,0505	0,0349 3334	0,0165 3334	0,1201 3334	0,1017	0,0440 3333	0,0323	0,0225	0,1748 3334	0,1416 6667	0,0581	0,0354 3333	0,0233 3333
5,0342 2222	0,1728	0,1884 6667	0,1674 6667	0,0764 3333	0,0519	0,1497 9999	0,1253 6667	0,0555 4999	0,0360 3333	0,0165 6666	0,1427 6666	0,1200 3334	0,0473 6666	0,0348	0,0227	0,2091 6668	0,1676 6667	0,0637 9999	0,0361 3333	0,0233
5,2991 9444	0,1761	0,1946 9999	0,1763	0,0788 9999	0,0520 3333	0,1799	0,1492	0,0606	0,0360 3333	0,0169 6667	0,1712 6666	0,1423	0,0512	0,0332 3333	0,0232 6667	0,2485	0,1980 6667	0,0702 6666	0,0367 6666	0,0239
5,5641 6667	0,1798 3333	0,1998	0,184	0,0813	0,0519 3334	0,2125 0001	0,1772 9999	0,0663	0,0369 6666	0,0166 9999	0,2032 6667	0,1664 3333	0,0551	0,0343 6666	0,0243 3333	0,2925 3334	0,2322 6666	0,0767 3333	0,0378 3334	0,0238
5,8292 2222	0,1837 6666	0,2062	0,1919	0,0840 6667	0,0516 6667	0,2512 3333	0,2118 3333	0,0734 5001	0,0398 3334	0,0167	0,2414	0,1995	0,0609	0,0349 3334	0,0236 6666	0,3441	0,2717 6667	0,0846	0,038	0,0245
6,0941 6667	0,1903 0001	0,2108	0,1972 3332	0,0855	0,0516 0001	0,2992	0,2491 3334	0,0798	0,0395 6666	0,0165 6666	0,2836 6667	0,2320 6666	0,0658 3333	0,0368 9999	0,0231 6667	0,3822 6667	0,3116 3333	0,0914 9999	0,0400 6666	0,0244 6666

6,3591 3889	0,1936	0,2148	0,2039 3333	0,0869 6667	0,0519	0,3450 6667	0,2927 6666	0,0882 5	0,0402 6667	0,0168 6667	0,3369	0,2717 9999	0,0725 6667	0,0355 3334	0,0240 6667	0,4203 6665	0,3526 6667	0,0998	0,0402 6667	0,0244
6,6240 8333	0,1967 6667	0,2193	0,2074 9999	0,0893 3334	0,0515 6667	0,3811 6668	0,3396 6667	0,0971 5001	0,0403	0,0164 6667	0,3809	0,3131 9999	0,0792	0,0368 6666	0,0243	0,4631 0001	0,3858 3333	0,109	0,0419 6667	0,0249
6,8890 5556	0,2054 6667	0,2265 6666	0,2127 3333	0,0907 3333	0,0513	0,4220 0002	0,3803 0001	0,1066	0,0408	0,0161 6666	0,4221 6666	0,3597 6667	0,0864 6666	0,0366 6666	0,023	0,5030 0001	0,4194 3334	0,1207 6666	0,0413 6667	0,0243
7,1540 2778	0,2093 3333	0,2315 3333	0,2174 0001	0,0926 6667	0,0513	0,4685 6667	0,4164 9999	0,1174 5001	0,0421	0,0162 6666	0,4660 6667	0,3889 3334	0,0948 0001	0,037	0,0234	0,5447 6666	0,4573 3333	0,1320 6667	0,0424 3333	0,0238 9999
7,4189 7222	0,2111 3333	0,2334 6666	0,2207 9999	0,0924 6666	0,0511	0,5110 6669	0,4602 5	0,1280 3334	0,0420	0,0159 3332	0,5081 3332	0,4211 0001	0,1029 6667	0,0375 3334	0,0234 0001	0,5940 3333	0,4895 9999	0,1448 3333	0,0434 3334	0,0243
7,6839 4444	0,2143 3332	0,2388 3333	0,2242 6667	0,0947 6667	0,0512	0,5564 6667	0,5012 9999	0,1397 5	0,0415 6667	0,0160 0001	0,5545	0,4668 9998	0,1122 3333	0,0375 3333	0,0227	0,6446 6666	0,5250 6669	0,1577 6667	0,0427 6667	0,0241
7,9488 8889	0,2160 3333	0,2398	0,2254 9999	0,0955 6667	0,0505 3333	0,6025 3335	0,5387 0001	0,1551	0,0434 6667	0,0156 6667	0,6016	0,5023 6668	0,1232 6667	0,0393 0001	0,0229	0,6896 6667	0,5606 6666	0,1748 0001	0,0446 6667	0,0240 3334
8,2138 6111	0,2220 3333	0,2425	0,2286	0,0968 3333	0,0514 0001	0,6479 3333	0,5804 9999	0,1704	0,0438	0,0161 3334	0,6490 6667	0,5365 3334	0,1348 6667	0,04	0,0227 3334	0,7381 6666	0,6017 0001	0,1922 3333	0,0456 3333	0,0243 0001
8,4788 0556	0,2211 6667	0,2449 6667	0,2293 3333	0,0978	0,0506 6667	0,6911 9998	0,6245 9998	0,1879 4999	0,0469	0,0151 3334	0,6953 0001	0,5795 6668	0,1484 3334	0,0414 6666	0,0223	0,7838 3333	0,6411 6667	0,2105 3333	0,0465	0,0238 6666
8,7437 7778	0,2245 6666	0,2477 6667	0,2307 6666	0,0987 3333	0,0513 6667	0,7361 3335	0,6635 0001	0,2053 4999	0,0451 6667	0,0151 3334	0,7432 9998	0,6236 9998	0,1636 3333	0,0403 3334	0,0224 3334	0,8285 3333	0,6759 9998	0,2287 6666	0,0472 3333	0,0233 6667
9,0087 2222	0,2316 3334	0,2514 6667	0,2334 3333	0,0992 3333	0,0504 6667	0,7768 0001	0,7037 0001	0,2246 5	0,0460 6667	0,0150 3333	0,7911 6665	0,6693 6666	0,1781 3333	0,0410 6667	0,0225	0,8702 6666	0,7162 3333	0,2507 3334	0,0479 3333	0,0237
9,2736 9444	0,2310 3333	0,2535 6666	0,2338	0,0993 3333	0,0507 3334	0,8130 3333	0,7421 3332	0,2467 5	0,0464 3333	0,0153	0,8352 3334	0,7094 6668	0,1934 6667	0,0431 6666	0,0226 6667	0,9131 6665	0,7566 6666	0,2739 6666	0,0493 3333	0,0243 3334
9,5386 3889	0,2380 6666	0,2562	0,2343 3333	0,0996	0,0508 3333	0,8457 3334	0,7756 6665	0,2685 9999	0,0475	0,0152 3333	0,8736 3332	0,7459 3335	0,2095 3333	0,0422	0,0218 3334	0,9489 6667	0,7929	0,2961	0,0491	0,0235 6667
9,8036 1111	0,2387 6666	0,2589 0001	0,2348	0,1004 3333	0,0508 3333	0,8797 3333	0,8119 3334	0,2915 5	0,0485 3333	0,0150 3333	0,9141 3334	0,7884 3333	0,2281	0,0434	0,0221 3334	0,9834 3331	0,8316 3335	0,3189 6667	0,0494 3333	0,0232 6667
10,068 5833	0,2424 3334	0,2609	0,2357 3333	0,0998 3333	0,0509 3333	0,9062 3335	0,8469 6667	0,3151	0,0482 3333	0,0152	0,9494 0003	0,8236 9999	0,2457 3333	0,0432	0,0222	1,0144 9998	0,8688 3335	0,3429 6667	0,0504 6667	0,0248 3333
10,333 5278	0,2474 3333	0,2625 3334	0,2353 3334	0,1007 6667	0,0501 3333	0,9334 0002	0,8782 3333	0,3406 5	0,0496 6666	0,0146 3333	0,9810 6665	0,8591 6668	0,2654 3333	0,0448	0,0218	1,0401 6668	0,9029 6666	0,3682 6666	0,0518	0,0241 6667
10,598 4722	0,2515 3333	0,2658 6667	0,2366	0,0998 3333	0,0513 6666	0,9595 9999	0,9106 9999	0,365	0,0506 6666	0,0153 3334	1,0105 333	0,8984 0002	0,2885 0001	0,0448 3333	0,0228 6667	1,0612 6667	0,9339 0003	0,3881 6666	0,0526 6666	0,0241 3333
10,863 4444	0,2585 3333	0,2692	0,2367 6667	0,1001 6667	0,0509	0,9770 6665	0,9379 4999	0,3898 6667	0,0507 6667	0,0150 3333	1,0366 9998	0,9309 3337	0,3127 0001	0,0461 3334	0,0223 3334	1,0802 6669	0,9610 3332	0,4092 9998	0,0528 3333	0,0236 3333
11,128 4167	0,2605	0,2708	0,2367 6666	0,1005	0,0508	0,9962 9998	0,9671 6665	0,4148 5	0,0536 3333	0,0147 3334	1,0590 3331	0,9611 3335	0,3360 3333	0,0466 3333	0,0217	1,0993 3332	0,9886 9999	0,4338 0001	0,0543	0,0238 3333
11,393 3611	0,2652 3335	0,2738 3333	0,2371 9999	0,1002	0,0508 9999	1,0149 0001	0,9881 6664	0,4371 5	0,0548 3334	0,0148 6667	1,0803 6669	0,9894 3336	0,3602 3333	0,0462 6667	0,0221 6667	1,1203 9999	1,0192 6664	0,4609 6669	0,0547 3334	0,0237 3333
11,658 3333	0,2704 9999	0,2787 6667	0,2382 6667	0,1001	0,0524	1,0278 3334	1,0108 3336	0,4635 9999	0,0536	0,0146	1,0955 6663	1,0128 6667	0,3839 3333	0,0487 3334	0,0222 3334	1,1352 6666	1,0402 0001	0,4871	0,0553	0,0244 3333
11,923 2778	0,2758 3334	0,2807 3334	0,2382	0,1003	0,0521	1,0484 3331	1,0282 9998	0,4884 5	0,0537	0,0152 3333	1,1119 6666	1,0354 6665	0,4035 0001	0,0484	0,0224	1,1516 0001	1,0602 9997	0,5069 3333	0,0574 9999	0,0246 6667
12,188 25	0,2829 9999	0,2827 3333	0,2383 3333	0,0995	0,0517 3333	1,0623 6665	1,0488 9996	0,5144 5001	0,0568 6667	0,0152 6667	1,1286 9999	1,0565 3336	0,4314 6666	0,0489 6667	0,0227 6667	1,1662 3335	1,0777 6664	0,5229 6665	0,0576 6667	0,0247

12,453 1944	0,2906 6667	0,2873 3333	0,2398	0,0996	0,0528 6667	1,0762 3331	1,0641 3336	0,5347 5	0,055	0,0144 6666	1,1443 3332	1,0748 6668	0,4588 6667	0,0496 6667	0,0225 3333	1,1804 0001	1,0939	0,5348 6667	0,0583	0,0239 6666
12,718 1667	0,2963 3334	0,2898 3333	0,2398	0,0986 3334	0,0525	1,1050 9997	1,0794 6667	0,5502 5001	0,0555 3333	0,0152 3333	1,1591 9997	1,0925 6665	0,4856 9999	0,0506 3333	0,0223 3334	1,1937 3335	1,1100 6662	0,5488 9998	0,0597 3333	0,0243 3333
12,983 1389	0,3064 6667	0,2939 3333	0,2397 3333	0,0988	0,0517	1,1123 6666	1,0942 6664	0,556 6667	0,0145 6667	1,1719 6666	1,1086 3335	0,5104 6667	0,0219 3333	0,0513 3333	0,0219 9999	1,2037 0003	1,1212 3333	0,5589 3333	0,0601	0,024
13,248 0833	0,3147 3334	0,2978 6668	0,24	0,0984	0,0525	1,1313 9999	1,1069 6667	0,5774 0001	0,057	0,0149 3333	1,1863 3334	1,1222 0003	0,5315 6667	0,0520 6666	0,0223 6666	1,2141 0004	1,1335 3332	0,5737 3332	0,0609 6667	0,0243 6666
13,513 0556	0,3245 6667	0,3008 0001	0,2401 3333	0,0975 6667	0,0521 3334	1,1382 0002	1,1185 0002	0,5873 0001	0,0574 9999	0,0148 6667	1,1986 9996	1,1355 3332	0,5448 3332	0,0534 6667	0,0224 3333	1,2211 3336	1,1416 9998	0,5864 6667	0,0623 6667	0,0248
13,778 14,042 9722	0,3368 3334	0,3070 3334	0,2404 0001	0,0979 9999	0,0528	1,1539 6666	1,1304 6666	0,6011 0001	0,0581 3333	0,0144 3333	1,2093 333	1,1475 6666	0,5642 3333	0,0541 3333	0,0216 6667	1,2308 6663	1,1527 6663	0,6	0,0622 6666	0,024
14,042 9722	0,3479 3334	0,3113 6666	0,2407 6666	0,0968 6666	0,0526 3334	1,1575 0001	1,1385 6669	0,6117 0001	0,0590 9999	0,0153	1,2178 3334	1,1544 3336	0,5758	0,0562 6667	0,0222 6667	1,2354 3332	1,1564 9997	0,6113 3333	0,0633	0,0248
14,307 9167	0,3593 3334	0,3177 6667	0,2414	0,0965	0,0525	1,1655 9999	1,1479 6663	0,6244 5001	0,0600 6666	0,0143	1,2263 3335	1,1633 6664	0,5886 6667	0,0563 6666	0,0221	1,2401 6663	1,1604 3329	0,6212 0001	0,0647 6666	0,0239 6667
14,572 8889	0,3724 6666	0,3237 3334	0,2409 6667	0,0958 6667	0,0529 3333	1,1731 9999	1,1575 0003	0,6370 0002	0,0604 3333	0,0143 6667	1,2351 9999	1,1731 333	0,6025	0,0564 3333	0,0216 3334	1,2430 0001	1,1639 3332	0,6336 6668	0,0662	0,0241 3333
14,837 8333	0,3881 3334	0,3316 6667	0,2411 6666	0,0959 3334	0,0530 6667	1,1629 1,1853	0,6468 6667	0,0612 5	0,0666	0,0135	1,2418 6668	1,1774 6669	0,6133 9998	0,0569 3334	0,021	1,2466 3334	1,1680 3334	0,6442 3332	0,0662 6666	0,0235 6667
15,102 8056	0,4014 6668	0,3393 6666	0,2419 6667	0,0954 6667	0,0533 3333	1,1875 6667	1,1700 6671	0,6608 9999	0,0621	0,0142 3333	1,2472 3334	1,1834 3333	0,6255 3332	0,0583 3334	0,0209 9998	1,2489 9998	1,1699 6665	0,6573 6666	0,0681 9999	0,0236 3333
15,367 7778	0,4158 6667	0,3478 6667	0,2414 6666	0,0945 9999	0,0528 6667	1,1930 0003	1,1736 3335	0,6726 5002	0,0621	0,0135 3333	1,2514 3332	1,1872 6665	0,6383 9999	0,0588 6667	0,0207 6667	1,2496 3334	1,1731 9999	0,6711 3333	0,0687 0001	0,0236 3333
15,632 7222	0,4306 9999	0,3574 6667	0,2427 6667	0,0936 6667	0,0533 6667	1,1975 3332	1,1815 9999	0,689	0,0640 3333	0,0139	1,2558 6663	1,1890 9996	0,6508 9999	0,0595	0,0211 6667	1,2484 6668	1,1734 3332	0,6833 3332	0,0686 6666	0,0238
15,897 6944	0,4451 6666	0,3674 3332	0,2430 3333	0,093	0,0530 3333	1,1943 3332	1,1879 3336	0,7046 4999	0,0657	0,0131 3333	1,2594 0002	1,1916 3334	0,6627 9999	0,061	0,0206 3333	1,2415 6671	1,1718 6669	0,6954 9999	0,0704 3334	0,0232 3333
16,162 6389	0,4606	0,3781	0,2436 6666	0,0926 6667	0,0531 3334	1,1872 6669	1,1900 6666	0,7147 5003	0,0652 6667	0,0126 9999	1,2591 6666	1,1934 3333	0,6776 6667	0,0615 3333	0,0199	1,2330 3332	1,1702 3333	0,7087 3335	0,0712	0,0224 3333
16,427 7222	0,4764 0002	0,3898 9999	0,2442	0,0923 3333	0,0532 3334	1,1851 0001	1,1953 0003	0,7288 4998	0,0651	0,0129	1,2557 6668	1,1940 9999	0,6914 6667	0,0628 6667	0,0204 6667	1,2259 3333	1,1687 0002	0,7179	0,0720 3334	0,0230 3333
16,692 6667	0,4902 6664	0,4007 3333	0,2438 3334	0,0925	0,0529 3333	1,1781 3337	1,1965 6667	0,7401 5	0,0658 3333	0,0123	1,2524 6664	1,1918 6664	0,7046 3334	0,0652 6667	0,0200 6668	1,2186 3329	1,1656 9996	0,727	0,0722 3334	0,0232 6667
16,957 6389	0,5049 3334	0,4126 6668	0,2447 3333	0,0917 3333	0,0536 6667	1,1726 333	1,1991 0001	0,7551 5	0,0656	0,0127	1,2476 6665	1,1899 0003	0,7166 6667	0,0655 3333	0,0205 3333	1,2119 0001	1,1620 0001	0,7406 6668	0,0727 6667	0,0229 9999
17,222 5833	0,5209 0001	0,4248 6668	0,2457	0,0912	0,0535 3334	1,1722 3335	1,2002 3335	0,7679 5001	0,0687 3333	0,0135 6667	1,2449 3338	1,1876 3336	0,7310 9998	0,0680 6666	0,0209 6667	1,2059 3334	1,1616 6664	0,7525 6665	0,0751 6667	0,024
17,487 5556	0,5340 6668	0,4366 6667	0,2453 6667	0,0910 6667	0,0537	1,1723 3332	1,1996 3333	0,7790 5	0,0690 6667	0,0136 6666	1,2408 667	1,1856 6665	0,7444 3332	0,0657 6666	0,0205 3333	1,2013 0002	1,1602 3334	0,7659 3333	0,0744	0,0230 3333
17,752 5	0,5454 6668	0,4489 6668	0,245	0,0903	0,0535	1,1660 0001	1,1988 6667	0,7905 5	0,0702 6667	0,0126 3334	1,2386 0001	1,1810 0002	0,7545 3335	0,0682	0,0207 0001	1,1962 6669	1,1536 3334	0,7739 9999	0,0760 3334	0,0231
18,017 4722	0,5570 6665	0,4634 6666	0,2462 3333	0,0907 0001	0,0533 0001	1,1651 3331	1,1976 0002	0,8026	0,0688 0001	0,0130 3334	1,2347 6664	1,1754 3333	0,7651 0001	0,0667 0001	0,0201	1,1912 3335	1,1479 6668	0,7823 3332	0,0753 3333	0,0233
18,282 4167	0,5664 0001	0,4743	0,2476 6666	0,0905 3333	0,0537 0001	1,1654 9999	1,1921 3336	0,8126 0001	0,0704	0,0123 6667	1,2309 3333	1,1671 6665	0,7753 6666	0,0697 3333	0,0196 6667	1,1872 9999	1,1412 0004	0,7937 6669	0,0771 3334	0,0223 6667

18,547 3889	0,5788 6666	0,4881 0001	0,2480 0001		0,0535 6667	1,1614 0001	1,1873 3336	0,8220 0001	0,0700 3334		1,2281 9997	1,1585 9999	0,7847 6667	0,0706 0001	0,0203 3333	1,1827 3335	1,1342 3329	0,8014 3334	0,0773 6667	0,0236 6666	
18,812 3611	0,5857 0003	0,5007 3334	0,2494 3333	0,0895 3333	0,0542 6667	1,1644 9999	1,1854 3335	0,8327 9999	0,0712 6667	0,0133 3334	1,2263 3333	1,1535 3334	0,7946 3333	0,0710 6667	0,0203 6667	1,1785 6664	1,1308 3335	0,8137 6666	0,0791 3334	0,0237 3334	
19,077 3056	0,5934 9998	0,5116 0001	0,2499 6667	0,0912 6666	0,0539 6666	1,1594 6669	1,183 4998	0,8434 4998	0,0712 6667	0,0133 6667	1,2238 3335	1,1469 3335	0,8016 3334		0,02	1,1757 3332	1,1283 0002	0,8219 3333	0,0788 3333	0,0234	
19,342 2778	0,6000 3332	0,5249 6667		0,0889 6666	0,0539 0001	1,1637 3337	1,1775 0003	0,85 6667	0,0722 0001	0,0140 3336	1,2206 9998	1,1417 9998	0,8090 6667	0,0724 0,0204		1,1720 667	1,1250 9999	0,8332 9999	0,0812 9999	0,0241	
19,607 2222	0,6074 9998	0,5374 3333	0,2523 6666	0,0918 6667		1,1605 3331	1,1757 6665	0,8588 0001	0,0720 3333		1,2193 6663	1,1374 6666	0,8144 3333	0,0722 6667	0,0208 3333	1,1691 6668	1,1230 6669	0,8384 0002	0,0812 3334	0,0238	
19,872 1944		0,5493 6667	0,2525 6667	0,0989 3333	0,0541 6667	1,1574 6666	1,1736 9998	0,8657 4999	0,0732 3333	0,0139 6667	1,2173 6663	1,1345 6663	0,8234 0001	0,0738 3333				0,8462 9999	0,0828 9999	0,0239	
20,137 1389	0,6193 6667	0,5616 0001	0,2549 3334		0,0546 6667	1,1552 6667	1,1722 6671	0,8690 5	0,0731	0,0135 6667	1,2167 6666	1,1318 333	0,8268	0,074	0,0204	1,1618 6665	1,1200 0003	0,8525 0001	0,0827 6667	0,0240 3334	
20,402 1111	0,6238 3332	0,5717 3333	0,2551 6667		0,0971	0,0534	1,1531 6669	1,1679 6667	0,8764 4999	0,0758 3333	1,2137 6665	1,1285 0001	0,8318 6666		0,0764	0,0208	1,1578 3334	1,1164 3333	0,8599 6668	0,0840 6667	0,0237 3334
20,667 0556	0,6299 3332	0,5827 0001	0,2569 3333	0,0979 0001		0,0547	1,1526 9997	1,1664 6668	0,8821 4999	0,0740 0001	0,0133 3334	1,2132 6668	1,1231 3334	0,8389 0001	0,0768	0,0198 6666	1,1567 6664	1,1142	0,8681 6667	0,0831	0,0230 9999
20,932 0278	0,6336 9998	0,5922 0002	0,2571 3332	0,0929	0,0538 6667	1,1504 3329	1,1657 3333	0,8888 5003	0,0747	0,0142 3334	1,2124 6666	1,1180 0002	0,8419 0001		0,0765	0,0207	1,1543 6664	1,1123 3333	0,8748 3333	0,0851 3334	0,0237 3333
	0,6385 6666	0,6016 6668	0,2584 6667	0,0923 6667		0,0551	1,1483 9997	1,1629 9998	0,8949 0003	0,0749	0,0131 6667	1,2108 0003	1,1162 6664	0,8468 6667	0,0767	0,0198 6667	1,1505 6668	1,1104 6663	0,8815 3335	0,0865	0,0233 3334
21,461 9444	0,6435 3333	0,6128 6665	0,2606 3333	0,0974	0,0536 3333	1,1487 667	1,1625 6666	0,9012 5001	0,0769	0,0145 6666	1,2104 9999	1,1126 6665	0,8507 0001		0,0788	0,0202 3334	1,1475 0003	1,1083 9999	0,8889 0001	0,0875 3334	0,0241
21,726 8889	0,6454 9998	0,6207 0001	0,2608 6667	0,0932 3333	0,0540 6667	1,1460 6669	1,161	0,9071 9998	0,0776 3334		1,2086 0003	1,1099 3332	0,8581 3334	0,0781 3334	0,0207 3334	1,1455 3331	1,1081 6668	0,8919 6666	0,0884	0,0244	
21,991 8611	0,6491 6667	0,6280 6667	0,2613 6667	0,0914 6667	0,0553 9999		1,1462	1,1606	0,9128 9999	0,0768 3333	0,0135 6667	1,2067 3332	1,1063 6665	0,8597 3334		0,0201 3333	1,1438 3329	1,1063 9999	0,8980 3334	0,0889 3333	0,0239 3333
22,256 8333	0,6533 3333	0,6379 0001	0,2633 6667		0,0927	0,0547	1,1449 6665	1,1598 667	0,9150 0003	0,0764 6666	0,0137 3334	1,2057 0001		0,8611 3334	0,0806 6667	0,0208 6667	1,1413 9999	1,1046 9997	0,9012 6668		0,0250 0001
22,521 7778	0,6557 6667	0,6438 6667	0,2646 3334	0,0937 6667		0,0549	1,1455 3331	1,1564 9997	0,9198 9996	0,0778	0,0136 3333	1,2065 6664	1,1011 3334	0,8644 6665	0,0808 3333	0,0208 3333	1,1394 3333	1,1036 0002	0,9060 3334	0,0899	0,0247
22,786 75	0,6597 6667		0,2665 3334	0,0920 6667	0,0554 6666	1,1420 6666	1,1557 3331	0,9230 5001	0,0775	0,0132 6667	1,2045 3332	1,0996 9998	0,8699 6665		0,0198 6667	1,1362 3335	1,1023 0001	0,9091 3334	0,0903 6666	0,0239	
23,051 6944	0,6630 9998	0,6593 3332	0,2683 6666	0,0932 3334		0,0553	1,1449 9997	1,1549 3332	0,9267 5005	0,0797	0,0137 3334	1,2045 9996	1,0980 6668	0,8724 3335	0,0824 3333	0,0202 6667	1,1370 3333	1,1018 6667	0,9134 6666	0,0913 3333	0,0239
23,316 6667	0,6644 6666	0,6637 9999	0,2696 6667		0,0550	9999	1,1444 6668	1,1545 9999	0,9309	0,0797 3333	0,0139 3333	1,0935 6666	0,8754 9999	0,0844 3333	0,0208 6667	1,1357 0003	1,1014 3332	0,9192 667	0,0925	0,0249 3333	
23,581 6111	0,6689	0,6714 6666	0,2716	0,094	0,056	1,1432 6665	1,1525 6668	0,9329 0003	0,0794 6667		0,0141	1,2051 9997	1,0913 6662	0,8757 6667	0,0829 6666	0,0206 6667	1,1338 6664	1,0999 6665	0,9207 0001	0,0926	0,0249
23,846 5833	0,6689 6667	0,6754 3336	0,2731 3333	0,0928 0001	0,0556 3334	1,1438 9999	1,1520 6667	0,9369	0,0799 3333	0,0136 3334	1,2060 6665	1,0899 3332	0,8807 6669	0,0893 3334		0,0204	1,1342 0001	1,0991 6668	0,9255 0001	0,0934 6667	0,0242
24,111 5556	0,6711 3334	0,6786 0001		0,0920 3333	0,0548 6667	1,1465 3332	1,1507 9998	0,9394 9997	0,0812 6667		0,0143	1,2055 9997	1,0879 0003	0,8844 9999	0,0851 3333	0,0209 3333	1,1338 667	1,0984 6666	0,9282 0001	0,0952	0,0248 9999
24,376 5	0,6741 6666	0,6859 3333	0,2756 6667	0,0911 3333	0,0551 3334	1,1465 3334	1,1510 3332	0,9423 5001	0,0814 3333	0,0133 6666	1,2061 6664	1,0850 3334	0,8859 6664		0,0874	0,0202 6667	1,1329 6665	1,0966 9995	0,9314 333	0,0976 3333	0,0242 3334

Tabla 20

Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 5 bajo variaciones de pH y etanol

Promedio densidad óptica (DO)										
Horas	C5B1									
	0%	5%	10%	15%	20%	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5
0	0,034	0,02773333	0,02489999	0,02523333	0,0304	0,04583333	0,02603333	0,03263334	0,03403334	0,03956667
0,26497222	0,03946667	0,02763333	0,02053333	0,02686667	0,0292	0,05163334	0,03096667	0,03456667	0,03376666	0,03946667
0,52991667	0,04716667	0,03603334	0,02676667	0,02886667	0,0303	0,0578	0,0374	0,03926667	0,03993333	0,03756666
0,79488889	0,05546667	0,04276667	0,0288	0,0306	0,03123333	0,07116667	0,04413333	0,04356667	0,04176667	0,03636667
1,05983333	0,0652	0,0465	0,0271	0,03156666	0,03216666	0,08570001	0,05326666	0,04833334	0,04436666	0,03566666
1,32480556	0,07563333	0,05596667	0,03106666	0,03326666	0,03306666	0,10326666	0,0639	0,0552	0,04823334	0,03466666
1,58975	0,08736667	0,06416667	0,03123334	0,03406667	0,03376667	0,1256	0,07746666	0,06296666	0,049	0,03366667
1,85472222	0,09743333	0,07296667	0,03590001	0,0351	0,03483334	0,15266666	0,0921	0,07056667	0,05083333	0,03246667
2,11966667	0,10623333	0,07556667	0,03626667	0,03626666	0,03673333	0,19186667	0,11033333	0,07860001	0,05286667	0,03156667
2,38463889	0,11383334	0,0785	0,03709999	0,0368	0,0375	0,2274	0,13206665	0,0887	0,0547	0,03173333
2,64958333	0,12033334	0,08476667	0,04206667	0,0375	0,03779999	0,27473334	0,15866668	0,10053333	0,05763333	0,03103333
2,91455556	0,12923333	0,08953333	0,03949999	0,03883333	0,03913333	0,32706667	0,18966666	0,1118	0,05863333	0,0303
3,17952778	0,13673333	0,09043333	0,0407	0,03953333	0,03956667	0,38346667	0,2242	0,1273	0,06006667	0,02926667
3,44447222	0,1459	0,09666666	0,04526666	0,0403	0,04053334	0,44660001	0,2645	0,14116666	0,06206666	0,0295
3,70944444	0,155	0,10053333	0,04343333	0,0411	0,04099999	0,48423333	0,3087	0,15693334	0,06270001	0,029
3,97438889	0,16443334	0,10946667	0,04513334	0,0421	0,04076667	0,52846666	0,35846666	0,17383333	0,0636	0,02856667
4,23936111	0,17353333	0,11323333	0,04936666	0,04203334	0,04153333	0,57363334	0,39849999	0,19313333	0,06496667	0,0274
4,50430556	0,18313334	0,11773333	0,04816666	0,04313333	0,04186666	0,62523331	0,43106668	0,21319999	0,0663	0,02780001
4,76927778	0,19243332	0,12496667	0,05163333	0,04323333	0,04213334	0,67313332	0,47059999	0,2366	0,0683	0,0274
5,03422222	0,20223334	0,13300001	0,05593334	0,04373334	0,0423	0,71986668	0,50426666	0,25979999	0,06936667	0,02773333

5,29919444	0,21196668	0,139	0,05746667	0,04456667	0,0428	0,76353333	0,53956666	0,28479999	0,0697	0,02743333
5,56413889	0,2195	0,14436666	0,05793334	0,0455	0,0438	0,80376667	0,57946667	0,3101	0,07113334	0,02696667
5,82911111	0,22666667	0,14873333	0,05683333	0,04556667	0,0437	0,84260002	0,61743331	0,3396	0,07333334	0,02656666
6,09408333	0,233	0,15833333	0,06403332	0,04586667	0,04406667	0,87783333	0,65649999	0,37079999	0,07413333	0,0263
6,35902778	0,24073334	0,16406667	0,06503334	0,0464	0,04476667	0,91016665	0,69483334	0,4017	0,07566667	0,0265
6,624	0,24783334	0,1677	0,06263334	0,04646666	0,0447	0,94179997	0,7351	0,42716668	0,07633334	0,02563334
6,88894444	0,25376667	0,1737	0,06289999	0,04816667	0,04486667	0,96903334	0,76473332	0,45186669	0,0781	0,02563333
7,15388889	0,26073333	0,1804	0,06566667	0,0479	0,04513333	0,99759999	0,80503333	0,48003331	0,07913333	0,02533334
7,41886111	0,26653333	0,18846667	0,06986667	0,0493	0,04513333	1,01953334	0,83613335	0,50596665	0,0801	0,02526667
7,68383333	0,27223333	0,19506668	0,07453334	0,04983333	0,04493333	1,03940001	0,86976668	0,52533334	0,0825	0,02533333
7,94877778	0,27793333	0,20103333	0,07653333	0,05246667	0,04596667	1,06179999	0,90166665	0,54053332	0,08353333	0,02543333
8,21375	0,2842	0,20813333	0,08103333	0,05526667	0,04546667	1,07656667	0,92120002	0,5547	0,08436667	0,0253
8,47869444	0,29026667	0,2177	0,09036667	0,05816666	0,04476666	1,09716668	0,94543332	0,57010001	0,08603334	0,02513333
8,74366667	0,29716668	0,22076667	0,09186667	0,062	0,04536667	1,11356665	0,96376668	0,57733334	0,0867	0,02513334
9,00861111	0,30556668	0,22966667	0,09903334	0,0662	0,0456	1,12846667	0,98236667	0,59200001	0,0883	0,02553333
9,27358333	0,31546668	0,2384	0,10956667	0,0717	0,0447	1,15116668	1,00096669	0,60483333	0,0892	0,02506667
9,53852778	0,32356667	0,24863334	0,11949999	0,07916667	0,0452	1,1636	1,02139996	0,61823332	0,0909	0,02453333
9,80361111	0,33293335	0,25486667	0,12833333	0,0862	0,04463334	1,16829997	1,03763332	0,63009999	0,09156667	0,0254
10,0685556	0,34376667	0,26213334	0,13593333	0,09646667	0,04523333	1,18506667	1,05513333	0,64329999	0,09306667	0,0249
10,3335278	0,3551	0,28086667	0,1543	0,1077	0,0452	1,19063335	1,07010001	0,65106667	0,09486667	0,02503334
10,5984722	0,36403333	0,28296666	0,16763333	0,1198	0,04446667	1,20570001	1,09086667	0,66649999	0,09603334	0,0244
10,8634444	0,37550001	0,29193334	0,18206668	0,13353333	0,04443334	1,21213333	1,09570001	0,67646665	0,0963	0,0245
11,1284167	0,38666665	0,2982	0,19526665	0,14596667	0,04386667	1,21420001	1,11089999	0,69073333	0,09886667	0,0242
11,3933611	0,4002	0,30873334	0,2131	0,16696666	0,04393333	1,21509997	1,12406666	0,70413334	0,0977	0,0237
11,6583333	0,41280001	0,32306667	0,23133335	0,1837	0,04403334	1,21663335	1,13613334	0,72009998	0,1007	0,0245
11,9232778	0,42736665	0,32836667	0,24866667	0,20003333	0,04373333	1,2140333	1,14393332	0,72986668	0,1019	0,02413333
12,18825	0,4387	0,33563333	0,26380001	0,2178	0,04353333	1,21283331	1,15673334	0,74250002	0,10300001	0,02433333
12,4531944	0,45163335	0,34713333	0,2799	0,2372	0,04303333	1,19803334	1,16046666	0,753	0,10513333	0,0243

12,7181667	0,46479999	0,35473335	0,29326667	0,25493332	0,0429	1,18670003	1,16450002	0,7639	0,10556667	0,02429999
12,9831111	0,47743334	0,36713334	0,31506666	0,27673333	0,04316667	1,17853334	1,17263335	0,77753334	0,10706666	0,02383333
13,2480833	0,48960001	0,37626667	0,33416667	0,29696667	0,04306667	1,16219999	1,17260002	0,7878	0,1086	0,02406667
13,5130556	0,50356665	0,38863334	0,35459999	0,3221	0,04236666	1,15463333	1,17619998	0,79899998	0,10926667	0,02443333
13,778	0,51513333	0,39606666	0,37453334	0,34163334	0,04206666	1,14870003	1,18119997	0,81319999	0,11093334	0,02350001
14,0429722	0,52593335	0,41000001	0,39856666	0,3676	0,04346667	1,14030001	1,18233334	0,82176667	0,11263333	0,02386667
14,3079167	0,53753333	0,41833332	0,41496668	0,39036667	0,04173333	1,13496671	1,1859	0,83443335	0,11323333	0,02423333
14,5728889	0,54603336	0,42746666	0,43880001	0,41319999	0,04156666	1,13110002	1,1869	0,84156668	0,11526667	0,0242
14,8378333	0,55496666	0,4375	0,45880001	0,43526667	0,04106666	1,1232	1,18793331	0,85086668	0,11593333	0,02399999
15,1028056	0,5675	0,45286668	0,4873	0,45913334	0,04103333	1,11756663	1,18660003	0,85906668	0,11856666	0,02393333
15,36775	0,57659999	0,46156667	0,51023335	0,47836668	0,04106667	1,11453333	1,18316669	0,86676669	0,11903333	0,02433333
15,6327222	0,58456667	0,4731	0,53659998	0,4978	0,04173333	1,10970002	1,18130003	0,87489999	0,119	0,024
15,8976944	0,59516669	0,48606667	0,55969998	0,52020003	0,04073333	1,10546669	1,18199999	0,88363335	0,12213333	0,02393333
16,1626389	0,60446668	0,49993334	0,58253335	0,53820001	0,0405	1,09860001	1,17983332	0,88763335	0,12333333	0,02446666
16,4276111	0,61333334	0,50836667	0,60400003	0,5574	0,04143333	1,09459996	1,18006665	0,89216667	0,12403334	0,02440001
16,6925556	0,62296667	0,51720001	0,62360001	0,58	0,0403	1,08986667	1,17913332	0,89789998	0,12453333	0,02443334
16,9575278	0,63036665	0,53853334	0,65056666	0,60003333	0,04036667	1,08366664	1,17896667	0,9020667	0,1269	0,0239
17,2224722	0,64026668	0,54683332	0,66803333	0,61703332	0,04016668	1,0785	1,17996663	0,90603331	0,1281	0,02453334
17,4874444	0,65310001	0,55603333	0,68703335	0,63393332	0,04050001	1,07483332	1,17936665	0,90973334	0,12966666	0,02423333
17,7523889	0,6671	0,57016668	0,70976665	0,65186666	0,04066667	1,07163333	1,18383335	0,91576664	0,13083334	0,02413333
18,0173611	0,67873335	0,58026667	0,73246665	0,66786667	0,04053334	1,06540002	1,18433335	0,91619999	0,1318	0,0242
18,2823056	0,69033334	0,59213331	0,75363333	0,68339999	0,03976667	1,06553334	1,18509998	0,92046666	0,13276667	0,0244
18,5472778	0,70390002	0,6087	0,77746666	0,69856666	0,0404	1,0621333	1,1864333	0,92553334	0,13523333	0,02436667
18,81225	0,71333333	0,61429998	0,79540001	0,71586666	0,03973333	1,05816667	1,19630001	0,92696668	0,13556667	0,024
19,0771944	0,72366667	0,62283334	0,81746667	0,73326669	0,03943333	1,05799997	1,19583335	0,93080001	0,1372	0,02396667
19,3421667	0,73456666	0,62910001	0,83689999	0,75019998	0,0403	1,05410004	1,19163337	0,93219999	0,1394	0,0245
19,6071111	0,74336667	0,63523334	0,85539999	0,76869999	0,03996667	1,05150001	1,19433334	0,93406666	0,14033334	0,02506666
19,8720833	0,75586667	0,65103333	0,87183335	0,78743331	0,0417	1,05106664	1,19369998	0,93493332	0,14266667	0,02443333

20,1370278	0,76266669	0,6509	0,8874	0,80693333	0,0417	1,0493	1,19803332	0,94006666	0,14376666	0,02466667
20,4021111	0,7688	0,66196668	0,90593333	0,82576667	0,0416	1,04726666	1,1993	0,94006665	0,1451	0,0244
20,6670556	0,77743332	0,66803333	0,91476669	0,84453334	0,0424	1,04613331	1,20380003	0,93989997	0,1464	0,02443334
20,9320278	0,78073333	0,6712	0,9296333	0,86119999	0,0428	1,04623332	1,20519998	0,94369999	0,1486	0,0247
21,1969722	0,79173334	0,68256667	0,94159997	0,88166667	0,0447	1,04363334	1,20906665	0,94399997	0,14893334	0,0244
21,4619444	0,79836666	0,68456667	0,9563667	0,90073334	0,04483333	1,04366667	1,21103333	0,94470001	0,15043332	0,0249
21,7269167	0,80306665	0,68603331	0,96993336	0,91346666	0,04696666	1,04180002	1,21459999	0,94413333	0,15273333	0,02473333
21,9918611	0,80696667	0,69136666	0,98116668	0,92753332	0,04803333	1,04253336	1,21619998	0,94600003	0,15349999	0,02443333
22,2568333	0,80983334	0,69586667	0,98999999	0,94366664	0,05023333	1,04123337	1,21739998	0,94690002	0,1551	0,02503333
22,5217778	0,81143334	0,69996666	1,00069998	0,95656667	0,05153333	1,04363334	1,21656667	0,94906667	0,15653334	0,0245
22,78675	0,81190003	0,70253332	1,0112333	0,97086663	0,05406667	1,04143332	1,21963333	0,95029999	0,1567	0,0247
23,0516944	0,81056668	0,70023334	1,01743334	0,9805	0,05696667	1,04133334	1,22119997	0,94933334	0,1568	0,02493333
23,3166667	0,79683333	0,70483334	1,02320001	0,99049999	0,0598	1,04196664	1,22343332	0,95070002	0,16013333	0,0244
23,5816111	0,79300001	0,70656667	1,03063333	0,99890004	0,0645	1,04136666	1,22446667	0,9519	0,16063333	0,0248
23,8465833	0,7883	0,71163333	1,03653337	1,00666662	0,07096667	1,04099999	1,22450001	0,94880002	0,16190001	0,02426666
24,1115556	0,78676665	0,71523332	1,04096664	1,01546666	0,07413333	1,04330001	1,22666667	0,94683333	0,16380001	0,02433334
24,3765	0,78143335	0,71926667	1,05026666	1,02210001	0,08053333	1,04166667	1,22989999	0,94796667	0,16443333	0,02416666

Tabla 21

Valores promedio de densidad óptica de bacterias de la colecta 6 bajo variaciones de pH y etanol

Promedio densidad óptica (DO)																				
Horas	C6B1										C6B2									
	0%	5%	10%	15%	20%	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	0%	5%	10%	15%	20%	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5
0	0,0347 0001	0,0324 00324	0,0242 6667	0,0285 00285	0,0280 6666	0,0389 3333	0,0356 3333	0,0303 5	0,0336 3334	0,0362 3333	0,0099 5	0,0060 6667	0,0035 9999	0,0075 00075	0,0116 3333	0,0079 00079	0,0048 6666	0,0043 3334	0,0019 00019	0,0103 00103

0,2649 7222	0,0395 0001	0,0357 6667	0,0211 6666		0,0268 6667	0,0448 0001	0,042	0,0337	0,0332 9999	0,0389 3333	0,0091	0,0058	0,0031	0,0067	0,0079	0,0077 3334	0,0046	0,0047	0,0006 6667	- 0,0107
0,5299 1667	0,0451 0001	0,0399 6667	0,0277 3334	0,0296	0,0266 6667	0,0522 3333	0,0513 3333	0,0399 5	0,0398 6666	0,0397 5	0,0093 5	0,0064	0,0032 5	0,0074 5	0,0080 3333	0,0071 3333	0,0049 3333	0,0041 6666	0,0014 6666	0,01
0,7948 8889	0,0510 0001	0,0460 6667	0,0301	0,0312 9999	0,0271 3333	0,0629 6666	0,0616 6667	0,0480 5	0,0431 3333	0,0414 3334	0,0092 0001	0,0061 3333	0,0033 5	0,0077 5	0,0080 3333	0,0074 6666	0,005	0,0040 3334	0,0020 6667	0,0091 3334
1,0598 3333	0,0580 0001	0,0504	0,0278 3334	0,0329 0001	0,0264 3334	0,0747 3333	0,0756 9999	0,0581	0,0482	0,0428 6667	0,009	0,0060 6667	0,0030 5	0,0071 5	0,0078 3334	0,0081	0,0054 3333	0,0039 6667	0,0006 3333	0,0085 6667
1,3248 0556	0,0670 0001	0,0584 6667	0,0328 6666	0,0335	0,0268	0,0892 3333	0,0920 3333	0,0707 5	0,0543 3333	0,0449 9999	0,0091 5	0,0065	0,0032	0,0085 5	0,0082 6666	0,0072 3333	0,0054 3333	0,0044 3333	0,0014 6667	0,0082 6667
1,5897 5	0,076	0,0659	0,0334	0,0353	0,0268	0,103	0,1055	0,0832	0,0582 3333	0,0454 6667	0,0090 5	0,0060 3333	0,0031	0,0075 4999	0,0082 3333	0,0073 6666	0,0051 6666	0,0041 6667	0,0014 6667	0,0076
1,8547 2222	0,0853 0001	0,0751 6666	0,0389 3334	0,0359	0,0266	0,12	0,1243	0,0971 5	0,0638 3334	0,0465 6667	0,0090 5	0,0066 6667	0,0029	0,0079	0,0083 6667	0,0076 3333	0,005	0,0044	0,0004	0,0075 3334
2,1196 6667	0,0938	0,0793	0,0399	0,037	0,0272 9999	0,1399 3333	0,1474 3333	0,1128 5	0,0715 3333	0,0473	0,0089	0,0063	0,0032 5	0,007	0,0084 3333	0,0075 6667	0,0053	0,0041 6667	0,0017	0,0064 6667
2,3846 3889	0,1030 0001	0,0893	0,0418 6666	0,0397	0,0288	0,1617 6666	0,1731 3334	0,1324	0,0787	0,0494 3334	0,0091 5	0,0063 6667	0,0030 5	0,0074 0001	0,0092 6667	0,0055	0,0044	3,3334 E-05	0,0074 3333	
2,6495 8333	0,1123	0,0971	0,0470 6666	0,0409 9999	0,0289 6667	0,1837 0001	0,1988 3333	0,1503	0,0887 3333	0,0488 6667	0,0093	0,0062 3333	0,0029 5	0,0075 4999	0,0092 3333	0,0070 6667	0,0053 3333	0,0044 3333	0,0003 3333	0,0071 3333
2,9145 5556	0,1240 9999	0,1061 3333	0,0470 3333	0,0427 9999	0,0288	0,2077 6667	0,2252 3333	0,1758	0,0972 6667	0,0496 6667	0,0093 5	0,0055 3333	0,0031 4999	0,0078 5	0,0093 3333	0,0078 6667	0,0053 6666	0,004	0,0002 3333	0,0072 6666
3,1795 2778	0,1347	0,1181 9999	0,051	0,0435 9999	0,0290 3334	0,2305 6667	0,2468 6667	0,1928	0,1069 6667	0,0504 3334	0,0088 5	0,0060 9999	0,0030 5	0,0080 5	0,0091 3334	0,0079	0,0064 6666	0,0043	0,0002 3333	0,0062 6667
3,4444 7222	0,1472	0,1299	0,0582 3333	0,0449	0,03	0,2509 3333	0,2722 9999	0,2187 5	0,1185	0,0516 6666	0,0094 5	0,0063	0,0037 5	0,0074 5	0,0092 3333	0,0083 3333	0,0104 3333	0,0044 6667	-0,0003	0,0065 3333
3,7094 4444	0,1572	0,1405 6666	0,0568 3334	0,0462 9999	0,0303 6667	0,2654 6668	0,2927	0,2427	0,1297	0,0525 3333	0,0094	0,0065 3333	0,0031 9999	0,0074 5	0,0095 6667	0,0081 3334	0,0083	0,0043 6667	-0,0002	0,0070 6667
3,9743 8889	0,1709 0001	0,1525 6666	0,0607 3334	0,0478	0,0306	0,2769 3334	0,3048 6667	0,27	0,1411	0,0530 3333	0,0098 5	0,0066 6667	0,0032 5	0,0080 5	0,0093 6667	0,0142 3333	0,0299 3333	0,0046 6667	-0,0005	0,0070 6667
4,2393 6111	0,1816	0,1632 3333	0,0664 6666	0,0483	0,0308 6667	0,2862 6666	0,3116 3332	0,2915	0,156	0,0536 6667	0,0098 5	0,0063 6667	0,0032 5	0,0074 0001	0,0097 3333	0,0337	0,0607	0,0052 3333	0,0011 3334	0,0063 3333
4,5043 0556	0,1910 9999	0,1783 3333	0,0669	0,0492	0,0319 3333	0,2912	0,3193 6667	0,3064	0,1663 6667	0,0547 6667	0,0100 5	0,0068 3332	0,0037	0,0081	0,0094 9999	0,0476	0,0789 6667	0,0672 9999	0,0003 6667	0,0068
4,7692 7778	0,1973 0001	0,1854 6666	0,0699 6667	0,0511 0001	0,0318 3334	0,2966	0,33	0,3169 5	0,0553 6666	0,0101	0,0077 3333	0,0038	0,0072 5	0,0092 6667	0,0357 3334	0,0636 6666	0,0569 6667	0,0088 3333	0,0072 3333	
5,0342 2222	0,2023	0,1940 3333	0,0764 3334	0,0538 0001	0,0330 0001	0,3010 6666	0,3378 3333	0,3238 5001	0,1942 6667	0,0561 6667	0,0071 3334	0,0035 4999	0,0089 3333	0,0072 3333	0,1038	0,037	0,0170 3333	0,0162 6667	0,0066 3334	
5,2991 9444	0,2075	0,2048 6667	0,0799	0,0555 0001	0,0333 3333	0,3054 3333	0,3433 6666	0,3384 0001	0,2078	0,0567	0,0107	0,0074 3333	0,0032 5	0,0072 5	0,0092 6667	0,1121	0,0885 3333	0,0664 3334	0,0283	0,0068
5,5641 3889	0,2107 0001	0,2118 6666	0,0808 6667	0,0592 9999	0,0345	0,3098 6667	0,3499 3333	0,3381 5	0,2240 6668	0,0574 3333	0,0111 5	0,0078 3333	0,0035	0,0069	0,0093 6666	0,0794	0,1178	0,0531 6667	0,0272	0,0068

5,8291 1111	0,2158 0001	0,2195	0,0809 6666	0,0594	0,035	0,3149 0001	0,3591	0,3445 9999	0,2403 3334	0,0577 6667	0,0118	0,0082 6666	0,0049 4999	0,0077	0,0091 6667	0,0451	0,1124 3333	0,2838 9999	0,0274	0,0068 3333
6,0940 8333	0,2210 0001	0,2222 3333	0,0862 6666	0,062	0,0362	0,3193 6668	0,3666 3333	0,3511	0,2552 3333	0,0581 6667	0,0118	0,0084 9999	0,0043	0,0196	0,0093 3333	0,0555	0,1070 6667	0,1642 9999	0,0459	0,0068
6,3590 2778	0,2233	0,2276 6668	0,0875 0001	0,0639	0,0375 3334	0,3243	0,3740 9999	0,3555 4999	0,2699 6667	0,0583 6667	0,0122 4999	0,0088 3333	0,0037 5	0,0136 5	0,0093	0,117	0,2383 0001	0,1413 3334	0,0633 3334	0,0067
6,624	0,2244	0,2244 6666	0,0839 3334	0,0662 9999	0,0379 3333	0,3289 3334	0,3803 5	0,3571 5	0,0575 3333	0,0123 5	0,0093 3333	0,0035 9999	0,0109 5	0,0094 6667	0,1038 3334	0,1585 3333	0,1027 3333	0,0837 6667	0,0078	
6,8889 4444	0,2247 0,2251	0,0826 3333	0,0699	0,039	0,3345	0,3862 3332	0,3605 0001	0,2978	0,0591 3333	0,0133 5	0,0099	0,0053 9999	0,0154 5	0,0095 6667	0,1359 3333	0,1272 3333	0,0919 3333	0,1103	0,0066	
7,1538 8889	0,2273 9999	0,2241 3334	0,0719	0,0402 3333	0,3397 6667	0,3909	0,3598 4999	0,3077 3332	0,0588 6667	0,0138 5	0,0103 3333	0,0044	0,0281 5	0,0093 6667	0,0635 6667	0,1009 6667	0,2563 3333	0,1394 3334	0,0066	
7,4188 6111	0,2235 9999	0,2240 0001	0,0873 3334	0,0736	0,0421 3333	0,3444 3333	0,3954 6665	0,3617	0,3168	0,0607	0,0145 4999	0,0113 0001	0,006	0,0412 5001	0,0093	0,0499 6667	0,1018 6666	0,2521 6665	0,1444 6667	0,0066
7,6838 3333	0,2265	0,2241 6668	0,0864 6668	0,0765 0001	0,0434 3333	0,3495 0001	0,3643 4999	0,3293 3333	0,0609 3334	0,0148 9999	0,0116	0,0048 5	0,0552	0,0090 3333	0,0894	0,1725 3333	0,3229 9999	0,2167 3333	0,0066 3333	
7,9487 7778	0,2304	0,2241 3333	0,0865 6666	0,0828 0001	0,0454	0,3522 0001	0,4032 9999	0,3664	0,3366	0,0607 6667	0,0157 5	0,0123 3333	0,0052	0,0514	0,0094	0,1092 6666	0,2336 9999	0,3370 6668	0,2038	0,0071 6667
8,2137 5	0,2337 9999	0,2198 6666	0,0874 6667	0,0862 0001	0,0474 0001	0,3582 3332	0,4056 0002	0,3666	0,3444 6667	0,0620 6667	0,0164 6667	0,0134 6667	0,0052 5	0,0555 5	0,0093 3333	0,1556 3334	0,3302 3334	0,3935 6668	0,2891 6666	0,008
8,4786 9444	0,2381 0001	0,2224 3333	0,0909	0,0927 9999	0,0496 6667	0,3622 3334	0,4083 6665	0,3683 9999	0,3502 3334	0,0621 6667	0,0175 5001	0,0148	0,0055	0,0783 3333	0,0087 3333	0,1009 3333	0,3318 3333	0,2744 0001	0,2947 6668	0,0077
8,7436 6667	0,2404 9999	0,2202 9999	0,0854 6667	0,0981	0,0545 6667	0,3626 9999	0,4089 6667	0,3671 5	0,3554	0,0636	0,0187	0,0162 0001	0,0056 9999	0,0902 5001	0,0093	0,1447	0,3394 3334	0,2244 6667	0,3467 6666	0,0086
9,0086 1111	0,2411 0001	0,2208 6666	0,0876 3334	0,1045	0,0556	0,3670 6667	0,4117 6665	0,3703 0001	0,3613	0,0611	0,019	0,0163 3334	0,0062	0,0846 4999	0,0094	0,1760 3334	0,3269 6667	0,2705 6667	0,4103 0002	0,0091
9,2735 8333	0,2427	0,2204 3333	0,0900 3333	0,1101 0001	0,0587	0,3696	0,4125 6667	0,37	0,3710 6666	0,0635	0,0199 5	0,0179 3333	0,0066 4999	0,1068	0,0093 3333	0,1487 3334	0,3046	0,3265 3334	0,4076	0,0090 6667
9,5385 2778	0,2443 9999	0,2197 3333	0,0911 9999	0,1184	0,0621 6666	0,3722	0,4125 3335	0,3686 0001	0,3723 0001	0,0638 3333	0,0218 5	0,0188 3333	0,0073	0,1188 5	0,0099	0,1299 0001	0,3470 0001	0,3672 6667	0,4956 3332	0,0101 3333
9,8036 1111	0,2458	0,2149 6667	0,0897	0,1247	0,0662 6667	0,3749 6666	0,4133 6666	0,3701	0,3753 6668	0,0653	0,0224 0001	0,0203 0001	0,0099 5	0,1388 5001	0,0097 3333	0,1632 3333	0,3444 3334	0,3531	0,5286 9999	0,0112 3333
10,068 5556	0,2460 9999	0,2127	0,0849 3334	0,1309 9999	0,0705	0,3775	0,4148 9999	0,3720 5001	0,3782	0,0633	0,0230 5	0,0219 6667	0,0084	0,1568 0001	0,0111	0,1225 3334	0,3567	0,3620 3333	0,5280 6666	0,0127 3333
10,333 5278	0,2467 9999	0,2093 6668	0,0890 6667	0,1360 9999	0,0751 6666	0,3805 6667	0,4154 9999	0,3731 9998	0,3788 3333	0,0640 6667	0,0234 5	0,0238 3334	0,0091 5	0,1835 9999	0,0101 6666	0,1858 6666	0,3451 6666	0,2903 6666	0,5623 6665	0,0138 3334
10,598 4722	0,2471	0,2059 3333	0,0887 3334	0,1442 9999	0,0782 3333	0,3824 3333	0,4134 6666	0,3732 5	0,3793 6666	0,0632	0,0239	0,0257	0,0105	0,1799 9999	0,0099 6666	0,2028 6666	0,3656 6666	0,2447	0,6000 3334	0,0135 6667
10,863 4444	0,2493 0001	0,2042 3334	0,0891 6667	0,1520 9999	0,0845 6667	0,3838 3332	0,4150 3335	0,3748 4999	0,3811 6666	0,0637 0001	0,0258 5	0,0275 6667	0,0114 5	0,2351 5	0,0100 3334	0,1115 9999	0,3334 6666	0,2788 6667	0,6089 3333	0,0145 3333
11,128 4167	0,2500 0001	0,2003	0,0843 6666	0,1564 0001	0,0884 3333	0,3818 9999	0,4144 3333	0,3723 5001	0,3827 3333	0,0628 3334	0,0265	0,0291 3333	0,0123 4999	0,2409 5	0,01	0,1674 3333	0,3016 9999	0,3480 6666	0,6304 3333	0,0161 3333
11,393 3611	0,2522	0,1986 3333	0,0837 6667	0,1627 9998	0,0936	0,3844 6666	0,4158 6668	0,3746 0002	0,3828 3332	0,0617 3333	0,0295	0,0311 6666	0,0135 9999	0,2848 0001	0,0097 6666	0,1616 6666	0,3690 3334	0,3387 3334	0,5793 6666	0,0155
11,658 3333	0,2533	0,1999 3333	0,0833	0,1654	0,0993 3334	0,3837 9999	0,4152 6668	0,3743	0,3844 6666	0,0632	0,0284 5	0,0324 3333	0,0149	0,2980 9999	0,0100 6667	0,1254 6667	0,3042 3332	0,3981 6666	0,6037 3333	0,0163 9999

11,923 2778	0,2537 9999	0,1938 3334	0,0831 6667	0,1731 9999	0,1056 9999	0,3820 6667	0,4131 0001	0,3731 0001	0,3846 6667	0,0625 9999	0,0699 5	0,0343 3333	0,0164 5	0,3153 5	0,01	0,1326 6666	0,3622 6667	0,4069 9998	0,6003 3333	0,0181 6666
12,188 25	0,2535 0001	0,1917 3335	0,0812 3333	0,1760 0001	0,1094	0,3810 3334	0,4131 9999	0,3744 9999	0,3875 9999	0,0650 6667	0,0331 5	0,0349 6667	0,0182	0,3627	0,01	0,0837 3334	0,2471 6667	0,3474 3333	0,5792 3334	0,0194 0001
12,453 1944	0,2547 0001	0,1889 0001	0,0817 6666	0,1785	0,1151 0001	0,3803 3335	0,4105 9999	0,3729 4999	0,3857 3335	0,0642 3334	0,0370 0001	0,0357 6668	0,0206	0,4007	0,0093 6667	0,2016 6667	0,2881 3333	0,4241 6665	0,5463 0001	0,0187
12,718 1667	0,2542	0,1857	0,0779 0001	0,1818	0,1234	0,3780 6666	0,4086	0,3724 4999	0,3868 6666	0,065	0,0338 5	0,0368 0001	0,0221	0,3916 0001	0,0098	0,2062 6667	0,3065 9999	0,3763 0001	0,6047 6666	0,0215 3333
12,983 1111	0,2560 9999	0,1844 3334	0,0822 3333	0,1862 9999	0,1269 0001	0,3765 0002	0,411	0,3727 4998	0,3885 6666	0,0638 3333	0,0281	0,0387 5	0,0235 5	0,4236 5	0,0101	0,2163 6667	0,3539 9999	0,3709 9999	0,5654 3332	0,0278
13,248 0833	0,2591 9999	0,1843 6666	0,0811	0,1880 9999	0,1309 0001	0,3736 0001	0,4081 3331	0,3701 5001	0,3889 9999	0,0641 3334	0,0284 5	0,0386 6667	0,0257 5	0,4838 9999	0,0104 3334	0,3444 9999	0,2887 6668	0,2375 3333	0,5873 9999	0,034
13,513 0556	0,2590 9999	0,1817 3334	0,0803	0,1901 9999	0,1353 6666	0,3736 6667	0,4058 6667	0,3699 0002	0,3889 6668	0,0642 6667	0,0281 9999	0,0412	0,0283	0,5128 0002	0,0105 6666	0,1817 9999	0,3468 6667	0,2534 6667	0,6064 6668	0,0376 6667
13,778	0,2603 0001	0,1767	0,0778 6667	0,1893 9999	0,1417 3333	0,3690 6667	0,4061 6666	0,3688 4999	0,3906 0001	0,0641 3334	0,0301	0,0398 6667	0,0296 5	0,4880 0001	0,0102 3334	0,1238	0,3057 6667	0,2560 3333	0,5499	0,0396
14,042 9722	0,2600 9999	0,1776 6665	0,0809 9999	0,1915 9999	0,1467 6667	0,3660 3334	0,4037 3332	0,3674 5001	0,3912 3333	0,0655 6667	0,0375 5	0,0426 9999	0,0315	0,4577 9999	0,0106 6667	0,1754 3334	0,2554	0,3863 3333	0,5634 6665	0,0406 3334
14,307 9167	0,2592 0001	0,1740 3333	0,0760 3334	0,1928	0,1518 9999	0,3635 3335	0,4027 6665	0,3663 5	0,3924	0,0646	0,0581 5	0,0426	0,0356	0,4783 4997	0,0104	0,1106 6666	0,2998 3332	0,4146 6665	0,5230 6667	0,0531 6666
14,572 8889	0,2603	0,1729 0001	0,0777 3334	0,1948 0001	0,1584 6667	0,3615 6667	0,4029 0001	0,3641 5	0,3934	0,0641 6667	0,0296 5	0,0413	0,0361 9999	0,4664 5001	0,0109 3334	0,1607 6666	0,2661 6666	0,4143 6666	0,5442 6668	0,0745 3334
14,837 8333	0,2598	0,1683 9999	0,0731 3333	0,1933	0,1645 3333	0,3593 9999	0,3989 9999	0,3637 5	0,3925 3333	0,0631 3333	0,0431 5	0,0441 5	0,0386 5	0,4262 5001	0,0103 3333	0,128	0,2105 3332	0,3673 3335	0,5919 3332	0,0704
15,102 8056	0,2609 0001	0,1675 3333	0,0792 6667	0,1944 0001	0,1696 9999	0,3572 6666	0,3971 3334	0,3635	0,3903 3334	0,0632 6667	0,0288	0,0450 6667	0,0418 9999	0,4495 5	0,0104 3333	0,1852 9999	0,2681 6666	0,1618	0,5846	0,0744
15,367 75	0,2602 0001	0,1627	0,0753	0,1954 9999	0,1740 6666	0,3554	0,3968 6666	0,3621 0001	0,3904 3335	0,0643	0,0395	0,0435 6666	0,0447	0,4072 0001	0,0105 6667	0,1331 6667	0,2961 9999	0,3808 0001	0,5252	0,0752 3333
15,632 7222	0,2606	0,1619	0,0772 6666	0,1938	0,1791	0,3533 3333	0,3943 6665	0,3612 9999	0,3879 9999	0,0642 3333	0,0272	0,045	0,0444 9999	0,4667 0001	0,0110 3333	0,1822	0,3298 6666	0,3156 9999	0,5591 3333	0,0916 3333
15,897 6944	0,2616 9999	0,1624 3334	0,0769 6667	0,1939	0,1842 3334	0,3509 0001	0,3928 6666	0,3605 9999	0,3907 6668	0,0641 6667	0,0309	0,0468 6667	0,0499	0,4390 5001	0,0112	0,1600 3333	0,2672 9999	0,2481 6667	0,5224 6668	0,1153 3333
16,162 6389	0,2598 9999	0,1613 6667	0,0730 3333	0,1927 0001	0,1896 6667	0,3469 3334	0,3922 6668	0,3600 5001	0,3906 9999	0,0657 3333	0,0375 5	0,0489 6667	0,0527	0,4331 9999	0,0109	0,2099 3332	0,2500 6665	0,6657 6665	0,5215 6667	0,1428 3333
16,427 6111	0,2613 0001	0,1578	0,0721 6667	0,1932 9999	0,1934 3333	0,3464 6667	0,3895 6668	0,3581 5001	0,3899 3335	0,0636 6667	0,0423	0,0519 3334	0,0565	0,4182 4999	0,0113 6667	0,2826 0001	0,3485 3334	0,6572 6667	0,5314 6666	0,1385
16,692 5556	0,2612 9999	0,1569 6667	0,0726 9999	0,1918 9999	0,1970 0001	0,3462	0,3900 0001	0,3579 4999	0,3899 9999	0,0643 6667	0,0613 5	0,0521 3334	0,0609 5	0,4186 4999	0,0112	0,1328 3333	0,2844 6667	0,5881 6668	0,4758	0,1666 0001
16,957 5278	0,2604	0,1557	0,0773	0,1929 0001	0,2005	0,3426 3334	0,3883 0001	0,3567 5	0,3902 3334	0,0636 3333	0,0342	0,0516 6667	0,0638 5	0,4534 5	0,0114 6667	0,1564	0,3249 6666	0,3111 3333	0,5255 9999	0,1656 9999
17,222 4722	0,2600 0001	0,1542 6668	0,0745 6666	0,1932 9999	0,2037 3333	0,3437 3333	0,3891 3334	0,3567 5	0,3906 3332	0,0663 0001	0,0564 5	0,0618 3334	0,0677	0,4388 9999	0,0115 6667	0,1523 3334	0,302	0,3149 3333	0,5103 9999	0,1928 6667
17,487 4444	0,2599	0,1545	0,0722 3333	0,1929	0,2062	0,3422 6665	0,3892 6665	0,3552 4999	0,3910 3334	0,0635 6666	0,4831 4998	0,0754 3333	0,0714	0,4587 4999	0,0116 6667	0,2286 6666	0,3241 3333	0,2703 3333	0,4983 3334	0,2157 3333
17,752 3889	0,2601 0001	0,1548 0001	0,0747	0,1923 9999	0,2103 6666	0,3412 3334	0,3899 9999	0,3542	0,3917 6667	0,0656 6668	0,3316	0,0791	0,0785	0,4235 4999	0,0118	0,0978 6667	0,2873 6666	0,3136 9999	0,4733 6668	0,2381 6667

18,017 3611	0,2601 0001	0,1574 3334	0,0744 3333	0,1912 9999	0,2115 6668	0,3390 6666	0,3893 6665	0,3542 5	0,3903 3334	0,0667	0,2871 0001	0,0814 6667	0,0807 5	0,3918	0,0119 3334	0,1552 6666	0,2826	0,1777 3333	0,4793 3332	0,2703
18,282 3056	0,2586 0001	0,1582 9999	0,072	0,1905 9999	0,2136 3332	0,3399 6666	0,3906 3333	0,3548	0,3913 0001	0,0672	0,1221	0,0865 3332	0,0853 5	0,397	0,0118	0,0912 3333	0,3322	0,3053 6668	0,5239 0002	0,3021 3334
18,547 2778	0,2586	0,1581	0,0743 3334	0,1900 0001	0,2165	0,3386 6667	0,3930 0001	0,3545 4999	0,3922 6667	0,0643 6667	0,0539 5	0,0936	0,09	0,3736 0001	0,0123 6667	0,1180 0001	0,3510 6665	0,3252 3334	0,5490 3334	0,3383 9999
18,812 25	0,2594 0001	0,1614 6668	0,0712 9999	0,188	0,2167	0,3395 3333	0,3966 9999	0,3547 5	0,3911 6667	0,0631 6667	0,0738 5	0,0900 6667	0,0954 4999	0,3921 0001	0,0119 6667	0,2106 0001	0,2671	0,4491 6667	0,5106 3334	0,2919
19,077 1944	0,2595	0,1621 3334	0,0733 6667	0,1902 0001	0,2207 0001	0,3416 6667	0,3971 9999	0,3554 9999	0,3907 3334	0,0633 6667	0,05	0,0926	0,1007 0001	0,3859 5001	0,0118 6667	0,1985 6667	0,2824 6666	0,2355 3334	0,5234 6666	0,3120 3334
19,342 1667	0,2585 0001	0,1617 0001	0,0696 3333	0,1903	0,2221 0001	0,3406 3334	0,3958 6667	0,3555 6667	0,3916 6667	0,0633 6667	0,0339 0001	0,0926 4999	0,1039	0,3408	0,0124 3334	0,1247 0001	0,2591 0001	0,3350 3333	0,5011 0001	0,3655
19,607 1111	0,2581	0,1655 3333	0,0716	0,1899	0,2229 3333	0,3420 6667	0,3968 3333	0,3558 5	0,3901 6667	0,0659 6667	0,0819 5	0,0953 3334	0,1006	0,3827	0,0118 6667	0,1359 3334	0,3043 0001	0,2843 0001	0,4925 3334	0,4145 6667
19,872 0833	0,2582	0,1665 3334	0,0727 6667	0,1910 9999	0,2243	0,3398	0,3939 6668	0,355	0,3901 6668	0,0634 3333	0,4679 0002	0,0967 6667	0,1056	0,3771 0001	0,0126 6666	0,1669 3333	0,2451	0,3136 3332	0,5323	0,4537 9999
20,137 0278	0,2575 9999	0,1657 6667	0,0708 6666	0,1891 0001	0,2291	0,3410 3333	0,3968 3333	0,3575 0001	0,3915 6666	0,0657	0,3434 0001	0,1010 3334	0,1064 4999	0,3678 0001	0,0129	0,3103 6666	0,2662 9999	0,2472 6668	0,4941	0,5003 6666
20,402 1111	0,2573	0,1658 6666	0,0786	0,1891 9998	0,2275 3334	0,3401 6666	0,3949 6668	0,3572	0,3925 9999	0,0661 6667	0,5440 4998	0,1037 6666	0,1043 9999	0,3821 5001	0,0130 6667	0,1353 6666	0,3433 6666	0,2408 3333	0,5301 3332	0,5390 6668
20,667 0556	0,257	0,1636 3333	0,0715 6667	0,1877 0001	0,2285 0001	0,3373 6667	0,392	0,3575 5	0,3913 0001	0,0638	0,0519	0,1045	0,1035 4999	0,3976 5001	0,0137 3333	0,0970 3333	0,3605 3334	0,2860 6667	0,5373 6666	0,5639 0001
20,932 0278	0,2567 0001	0,1661 3333	0,0724 3334	0,1849 9999	0,2295 6667	0,3391 3333	0,3932	0,3584 5	0,3935 3334	0,0647 3333	0,1125	0,1066 5	0,1023 5001	0,4390 5001	0,0136 3334	0,1975 3334	0,3096 3334	0,3480 0001	0,4565 0001	0,5908 3334
21,196 9722	0,2564	0,1672 6667	0,0717	0,1866 9999	0,2293	0,3383	0,3923 6667	0,3588 5001	0,3923 6666	0,0647	0,0726	0,1096 3334	0,0954 5	0,4086 5001	0,0139 3334	0,1548 6667	0,3083	0,2836 9999	0,5083 6666	0,5438 6666
21,461 9444	0,2548 9999	0,1665 6668	0,0724 3334	0,1875	0,2291	0,3387 3333	0,3929	0,3547 5	0,3923 6666	0,0646 3334	0,0439	0,1098 3334	0,0894	0,4182 0002	0,0140 3333	0,1172 6667	0,3231 6667	0,3520 0002	0,4770 3333	0,5669
21,726 9167	0,2542 0001	0,1668 0001	0,0719 6666	0,1864 9999	0,2294	0,3380 3333	0,3935 3333	0,3567 5	0,3942	0,0628 3334	0,0849	0,1115 3334	0,0866 5	0,4065 9999	0,0139	0,1286	0,3318 6667	0,3254	0,5050 6666	0,5978 3334
21,991 8611	0,2544 0001	0,1673	0,0731 6666	0,1837 0002	0,2312	0,3396 6666	0,3949 6667	0,3578	0,3946 6665	0,0631	0,0208 5	0,1150 6666	0,0845	0,3843 0002	0,0147 6667	0,1074 6666	0,2999 6665	0,2108 6667	0,5235 3334	0,6107
22,256 8333	0,2534	0,1663 6666	0,0723 9999	0,1853 0001	0,2311	0,3405 3333	0,3966 3333	0,3592 5	0,3941 6667	0,0644 3334	0,1021 9999	0,1148 3334	0,0811 5	0,4401	0,0149 3334	0,1691 3333	0,3609 6666	0,3201 6667	0,5363 6667	0,6436 6666
22,521 7778	0,2536 0002	0,1688	0,0744 6667	0,1844 0001	0,2313 9999	0,3395 6668	0,3976 6668	0,3602	0,3946 6667	0,0646	0,1677 5	0,1157 3334	0,0798 5	0,3725 9999	0,0155	0,2534 6667	0,2647 9999	0,2871 3333	0,5094 9999	0,6780 3333
22,786 75	0,2526 9999	0,168	0,0737 6666	0,1849 9999	0,2324	0,3402	0,3975 9998	0,361	0,3945 3334	0,0636 3334	0,1087	0,1175 3334	0,0772 5	0,4161 4999	0,0155	0,2256 6668	0,2708 3334	0,3676 6667	0,4969 6666	0,7060 3333
23,051 6944	0,2516 9999	0,1691	0,0734 3333	0,1868 0001	0,2337 6667	0,3409	0,3975 6666	0,3604 9999	0,3952 6666	0,0634 6667	0,1001	0,1183 6666	0,0741 5	0,3600 9999	0,0157	0,4022 9999	0,2809 3333	0,3508 3333	0,4906 3334	0,7182 9999
23,316 6667	0,252	0,1679 6667	0,0721 3334	0,1826 9999	0,2333 3334	0,3405 3334	0,3980 3333	0,3611 5	0,3968 3333	0,0635	0,1145 4999	0,1162 6667	0,0749 4999	0,3689 4999	0,0154 6667	0,3165 6666	0,2860 3333	0,3822 0001	0,4560 3333	0,7135 3333
23,581 6111	0,2515	0,1687 3333	0,0753	0,1833 0001	0,2349	0,338	0,3979 6667	0,3601 0001	0,3970 6667	0,0626 3333	0,1474 9999	0,1170 6667	0,1286 4999	0,3558 5	0,0163	0,2682 6667	0,3008 6666	0,2480 0001	0,4571 6668	0,7468 6665
23,846 5833	0,2513 0001	0,1663 3334	0,0760 6667	0,1844 0001	0,2358	0,3398	0,3986 0001	0,3615 5	0,3973 3334	0,0624	0,4780 0003	0,2484 6668	0,1665 5	0,3277 5	0,0171 3333	0,2185 9999	0,3174 6667	0,3384	0,3827 3332	0,7374 6665

24,111 5556	0,2514 0001	0,1681 6667	0,0766	0,1837 0001	0,2357 3333	0,3416 6667	0,3968 6666	0,3606	0,3971 6667	0,0616	0,1882 5	0,1376 3333	0,1663 0001	0,3555 4999	0,0171	0,2497 3333	0,3620 6665	0,3297 3333	0,3797 6667	0,7564 3332
24,376 5	0,2492	0,1678 3334	0,0787	0,1826 9999	0,2365	0,3495	0,3988	0,3617 9999	0,3987 6667	0,061	0,1002	0,1383	0,1840 9999	0,323	0,0175 3333	0,2113 3333	0,3271 6666	0,2455	0,3921 3335	0,7387

Tabla 22

Valores promedio de densidad óptica de bacterias de referencia bajo variaciones de pH y etanol

Promedio Densidad óptica (DO)																				
	Lactobacillus fermentum										Lactobacillus plantarum									
Hora	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	0%	5%	10%	15%	20%	0%	5%	10%	15%	20%	pH 6.0	pH 5.5	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5
0	0,0293	0,0260	0,0201	0,0282	0,0300	0,0602	0,0567	0,0557	0,0643											
	3334	3333	3333	3333	3333	3333	0001	3334	3333	0,0665	0,0263	0,0236	0,0243	0,0288	0,0224	0,0258	0,0009		0,0122	0,0262
0,2649 4444	0,0340	0,0309	0,0228	0,0276		0,0690	0,0653		0,0645	0,0600	0,0282	0,0263	0,0256	0,0295	0,0218	0,0273	0,0048	0,0012	0,0121	0,0216
	6667	6667	3334	3333	0,0307	3333	6666	0,0588	3334	3334	3333	3333	6667	3334	0001	3333	3333	0001	3334	0001
0,5299 1667			0,0263	0,0325	0,0294		0,0747	0,0632	0,0651		0,0306		0,0266	0,0288	0,0219		0,0069	0,0036	0,0133	0,0208
	0,0396	0,0374	6667	6666	3333	0,082	6667	6666	3332	0,0594	3333	0,0279	3333	3332	9999	0,0303	9999	3334	9999	3333
0,7948 6111	0,0478	0,0440		0,0337	0,0279	0,0972	0,0868		0,0677		0,0340			0,0301	0,0211	0,0339	0,0109	0,0056	0,0145	0,0191
	6666	3334	0,0297	3334	6667	3334	6666	0,0683	6666	0,06	6666	0,0305	0,0268	9999	6667	3333	3333	3333	9999	3333
1,0598 3333	0,0576	0,0530	0,0338	0,0354			0,1009	0,0738	0,0696	0,0640	0,0380		0,0275		0,0231	0,0389	0,0164		0,0166	
	3334	6667	6667	3333	0,027	0,1183	6666	3333	6667	0001	6667	0,0319	6666	0,0305	6667	9999	3333	0,0088	3333	0,019
1,3248 0556	0,0690		0,0393	0,0380	0,0263	0,1411	0,1145	0,0778	0,0722	0,0663	0,0426	0,0355		0,0232	0,0443	0,0226		0,0171	0,0183	
	6667	0,0636	3333	3333	6666	6667	6666	3334	0001	3333	6667	6666	0,0286	0,0304	6667	6667	6666	0,01	6666	3334
1,5897 5	0,0825	0,0773		0,0397	0,0252	0,1678	0,1304		0,0727	0,0684		0,0365	0,0276	0,0299		0,0516	0,0290	0,0109	0,0168	0,0183
	3333	6667	0,0441	6667	6667	9999	3333	0,0815	6667	6667	0,0462	3333	3334	6667	0,0244	3333	6666	3334	6667	3333
1,8547 2222			0,0495	0,0418	0,0243	0,2026	0,1466	0,0899	0,0746		0,0505	0,0376		0,0316	0,0243	0,0606	0,0374	0,0166	0,0182	0,0155
	0,1002	0,0917	3334	6667	6667	3333	3333	3334	3334	0,0699	3333	6666	0,0303	6667	6668	6667	6667	3334	0001	6667
2,1196 6667	0,1206	0,1100	0,0559		0,0232		0,1650	0,0944	0,0761	0,0713	0,0540	0,0405	0,0311	0,0320	0,0248				0,0211	0,0147
	0001	3333	3334	0,043	3333	0,2395	6666	6667	0001	9999	6667	3333	3333	6667	3333	0,0721	0,0496	0,0203	3334	3333
2,3846 3889	0,1463	0,1316	0,0632		0,0238		0,1871	0,0966	0,0781	0,0709	0,0579	0,0401	0,0287	0,0332		0,0874	0,0625	0,0206		0,0128
	3334	6665	6667	0,0451	0001	0,2806	6666	6666	6667	0001	3333	3333	3333	3334	0,0242	0001	3333	6666	0,0226	6668
2,6495 8333	0,1801	0,1581		0,0459	0,0223	0,3264	0,2081		0,0812	0,0742	0,0620	0,0432	0,0309	0,0342		0,1055		0,0275	0,0240	0,0133
	3334	6668	0,0715	6667	3333	3334	3333	0,1036	3334	6667	9999	6666	3333	6667	0,0266	6667	0,0792	6666	6667	6666
2,9145 5556	0,2131	0,1891		0,0471	0,0216	0,3757		0,1090	0,0825	0,0744	0,0659	0,0424	0,0308		0,0262	0,1280	0,0985	0,0331	0,0244	0,0113
	3333	6667	0,0783	6666	6666	0001	0,2314	6668	0001	3333	3333	6667	3334	0,034	3333	3333	6666	0001	6667	6666
3,1795 2778	0,2570		0,0880	0,0484	0,0211	0,4250				0,0741	0,0688	0,0432	0,0304	0,0311	0,0260	0,1535		0,0374	0,0220	0,0118
	3334	0,2237	6667	6667	6666	3333	0,2563	0,1138	0,0795	3334	3333	6666	3334	3333	6667	3333	0,1212	6667	6666	3334
3,4444 7222	0,3078		0,0981	0,0489	0,0206	0,4666	0,2826	0,1201		0,0746	0,0726		0,0302	0,0338	0,0267	0,1856	0,1484	0,0440	0,0268	0,0109
	6666	0,2636	6666	6666	6667	3333	3334	6667	0,0827	6666	3333	0,0446	3334	6666	9999	0001	9999	3334	3333	6666

3,7094 4444	0,3580 6667	0,308 3333	0,1095 3333	0,0508 6667	0,0210 6667	0,5157 3334	0,3101 3332	0,1273 3333	0,0833 6667	0,0769 6667	0,0768 3333	0,0457 6666	0,0303 9999	0,036 6667	0,0267 6666	0,2239 6666	0,1811 3333	0,0514 3333	0,0266 6668	0,0090 6668
3,9743 8889	0,4016 6668	0,3575 6666	0,1217 3334	0,0533 0001	0,0199 3333	0,5685 3333	0,3376 3334	0,1330 3334	0,0828 0001	0,0750 9999	0,0818 3333	0,0472 6666	0,0294 6667	0,0359 3334	0,0263 6666	0,2667 6667	0,2195 6667	0,0587 6667	0,0289 6668	0,0078 6668
4,2393 6111	0,4468 3334	0,3976 9999	0,1356 3333	0,0521 0,0521	0,0194 0,0194	0,6139 0003	0,3633 3334	0,1411 6667	0,0809 6667	0,0766 3334	0,0867 3334	0,048 0,048	0,0294 0,0294	0,0348 3333	0,0278 0001	0,3153 6667	0,2623 3333	0,0671 6667	0,0273 6666	0,0077 3334
4,5043 0556	0,4884 6666	0,4300 6668	0,1505 3333	0,0529 6667	0,0192 3333	0,6658 0001	0,3986 0,1501	0,0811 9999	0,0773 3334	0,0928 6667	0,0492 6667	0,0299 3333	0,0272 3333	0,0350 3333	0,0272 0001	0,3695 0001	0,3115 3333	0,0774 6668	0,0286 6666	0,0072 6667
4,7692 7778	0,5353 0,5353	0,4694 0,4694	0,1671 0,1671	0,0548 0,0548	0,0189 0,0189	0,7183 0002	0,4270 3334	0,1588 0,1588	0,0812 6667	0,0783 3333	0,1008 3333	0,0505 6666	0,0289 6667	0,0361 6667	0,0286 0001	0,4106 3333	0,3647 9999	0,0876 3333	0,0306 6667	0,0085 6667
5,0342 2222	0,5845 6668	0,5027 6667	0,1853 3334	0,0568 3334	0,0183 0001	0,7652 0001	0,4571 6667	0,1674 9999	0,0794 6667	0,0779 6666	0,1085 3333	0,0525 3333	0,0292 6667	0,0358 6666	0,0282 3332	0,4542 3332	0,4133 6667	0,0997 3333	0,0306 3333	0,0073 3333
5,2991 9444	0,6316 6666	0,5377 6667	0,2043 0001	0,0549 6666	0,0209 6666	0,8105 6666	0,4882 6666	0,1768 0,1768	0,0761 3334	0,0785 6667	0,1175 0,1175	0,0549 0,0549	0,0283 9999	0,0348 6666	0,0293 6666	0,5025 6665	0,4598 6668	0,1134 9999	0,0305 3333	0,0056 3333
5,5641 6667	0,6748 6668	0,5770 6667	0,2257 3334	0,0566 0,0566	0,0209 0,0209	0,8495 9999	0,5249 3333	0,1882 3334	0,0748 3334	0,0792 6667	0,1266 6667	0,0562 3333	0,0281 6666	0,0366 3333	0,0288 3334	0,5454 0,5454	0,5131 3334	0,1268 6667	0,0319 6667	0,0068 6667
5,8292 2222	0,7197 9998	0,6148 3332	0,2482 3333	0,0577 0001	0,0199 9999	0,8856 6665	0,5632 0001	0,2002 0001	0,0726 3333	0,0779 3333	0,1376 3333	0,0588 3333	0,028 0,028	0,0360 3333	0,0290 3333	0,5932 9999	0,5478 3332	0,1429 6666	0,0328 0,0328	0,0050 3333
6,0941 6667	0,7559 6667	0,6528 9999	0,2711 6666	0,058 0,058	0,0198 3333	0,9275 3337	0,5999 3332	0,2132 3332	0,0712 3333	0,0783 6667	0,1481 3334	0,0608 0,0608	0,028 0,028	0,0360 6667	0,0283 3334	0,6442 3335	0,5893 0001	0,1564 6667	0,0326 6667	0,0046 0,0046
6,3591 3889	0,7961 3333	0,6901 3335	0,2972 9999	0,0595 6667	0,0189 3333	0,9662 0001	0,6402 0001	0,2290 3334	0,0692 3333	0,0791 3333	0,1611 6666	0,0644 0,0644	0,0279 3332	0,036 0,036	0,0298 6667	0,6901 6667	0,6322 3334	0,1743 3332	0,0340 3333	0,0047 6666
6,6240 8333	0,8305 6666	0,729 6667	0,3235 6667	0,0593 6667	0,0181 3338	0,9981 9999	0,6786 9998	0,2438 6667	0,0680 3333	0,0794 3333	0,1741 0,1741	0,0668 0,0668	0,0277 3333	0,0367 9999	0,0297 9999	0,738 3333	0,6796 3332	0,1941 3332	0,0348 3334	0,0039 3333
6,8890 5556	0,8641 3334	0,7556 3333	0,3508 6667	0,0609 3334	0,0178 3332	1,0115 0,7134	0,2596 3334	0,0661 6667	0,0784 9999	0,0784 0,1885	0,0704 6667	0,0276 3334	0,0359 3334	0,0292 9999	0,7776 6665	0,7121 6666	0,2150 6666	0,0358 6667	0,0034 0,0034	
7,1540 2778	0,8992 3333	0,7943 3333	0,3782 6666	0,0613 3333	0,0176 6667	1,0438 9997	0,7467 6664	0,2768 3334	0,0654 6667	0,0773 6667	0,2056 0,2056	0,0743 0,0743	0,0271 0,0271	0,0345 6667	0,0289 3333	0,8230 3333	0,7633 9999	0,2386 3333	0,0364 0,0364	0,0022 6667
7,4189 7222	0,9280 6668	0,8217 3336	0,4088 6665	0,0612 3334	0,0175 0,0175	1,0997 6665	0,7769 3335	0,2930 0001	0,0649 6667	0,0773 3334	0,2227 0001	0,0787 0,0787	0,0271 0,0271	0,0344 3334	0,0292 3334	0,8638 3333	0,8100 6668	0,2621 6667	0,0368 6666	0,0042 3334
7,6839 4444	0,9575 0001	0,8505 6668	0,4337 3333	0,0628 0,0628	0,0174 0,0174	1,1347 9997	0,8037 3332	0,3114 3332	0,0626 6667	0,0774 9999	0,2421 0,8336	0,0267 3333	0,0267 0001	0,0332 0001	0,0308 6667	0,9042 6665	0,8592 3333	0,2898 6666	0,0368 6667	0,0027 0001
7,9488 8889	0,9834 6666	0,8749 6666	0,4587 6667	0,0631 3332	0,0171 0001	1,1675 3332	0,8264 0001	0,3299 6666	0,0625 3334	0,0761 3334	0,2608 6666	0,0902 9999	0,0266 3333	0,0338 6666	0,0298 3334	0,9423 6668	0,8988 6665	0,3162 6666	0,0378 6666	0,0035 6667
8,2138 6111	0,9981 3336	0,8893 0002	0,4903 3333	0,0637 0001	0,0163 6667	1,1994 0003	0,8491 6669	0,3498 6667	0,0611 0001	0,0759 6667	0,2847 6667	0,0964 6666	0,0248 3334	0,0298 3333	0,0298 6667	0,9782 3332	0,9216 3332	0,3449 3334	0,0375 6667	0,0012 6666
8,4788 0556	1,0187 9997	0,9026 3333	0,5223 0,5223	0,0639 0,0639	0,0164 0,0164	1,2030 3334	0,8659 6667	0,3719 6667	0,0597 9999	0,0754 6666	0,3053 6668	0,1022 3333	0,0258 6667	0,0333 9999	0,0307 9999	1,0098 3335	0,9578 0003	0,3754 0,3754	0,0386 3333	0,0013 6667
8,7437 7778	1,0344 6668	0,9106 6669	0,5460 3335	0,0636 0,0636	0,0166 6667	1,1937 0002	0,8828 3332	0,3946 3334	0,0588 3333	0,0745 6667	0,3281 3334	0,1098 6666	0,0256 6666	0,0329 9999	0,0303 3334	1,0408 9998	0,9996 0001	0,4081 3335	0,0400 6666	0,0012 3333
9,0087 2222	1,0538 3335	0,9169 6668	0,5652 3333	0,0661 6667	0,0163 6667	1,2045 3332	0,8960 3332	0,4194 3334	0,0581 0,0581	0,0737 3333	0,3518 3332	0,1172 9999	0,0261 6666	0,0328 0,0328	0,0319 0,0319	1,0660 3335	1,0389 3331	0,4362 6668	0,0402 0,0402	0,0008 0,0008
9,2736 9444	1,0615 0004	0,9224 6669	0,5812 9999	0,0647 6667	0,0164 6667	1,2523 3328	0,9058 3332	0,4428 6665	0,0574 9999	0,0737 3334	0,3765 9999	0,1266 0,1266	0,0267 0,0267	0,0316 6666	0,0325 6667	1,0802 6667	1,0596 6667	0,4624 6666	0,0401 6666	0,0006 6667

9,5386 3889	1,0819 6667	0,9281 9996	0,5962 6666	0,0652 6666	0,0161 3333	1,2702 9999	0,9148 9998	0,4678 3335	0,0574 6666	0,0739 9999	0,3996 3334		0,0260 3334	0,0320 6666	0,0333 3333	1,1038 3332	1,0930 0001		0,0412 9999	- 3335
9,8036 1111	1,0989 3336	0,9227 3333	0,6113 6667		0,0162 6666	1,2942 6671	0,9217 6663	0,4925 6666	0,0588 6666	0,0731	0,4221 0001	0,1483 3333	0,0252 6667		0,0364 3334	1,1263 3333	1,0957 0002	0,5274 3333	0,0421 3333	0,0032 6667
10,068 5833	1,1155 0002	0,9183 3332	0,6249 9999	0,0666 3333	0,0163 3333	1,3178 3332	0,9280 0001	0,5191	0,0561	0,0745 3333	0,4432	0,1600 6666	0,0253 9999		0,0374 3334	1,1463 6665	1,1220 3335	0,5599 3333	0,0421 3334	0,0003 6666
10,333 5278	1,1289 0003	0,9085 0001	0,6386 6667	0,0660 6667	0,0168 6667	1,3290 6667	0,9303 6667	0,5393 3331	0,0570 3334	0,0736 6667		0,4641	0,0221 3333		0,0424 6667	1,1765 9998	1,0999 3334	0,5846 9997	0,0431 6667	3,3329 E-05
10,598 4722	1,1389 0001	0,9036 6668	0,6512 3334	0,0664 3333	0,0157 3333	1,3452 3335	0,9329 3333	0,5684	0,0556	0,0748 6667	0,4875 6667	0,1857 6666	0,0248 6667	0,0307 3333		1,1792 3334	1,1075 6667	0,6092 6667		0,0003
10,863 4444	1,1525 9997	0,8803 0002	0,6617 6668	0,0659 9999		1,3541 3337	0,9341 3333	0,5919 0001	0,0562 3334		0,5106 3335	0,2016 3333	0,0231 6667	0,0315 0001	0,0504 6667	1,1807 6666	1,1335 9995	0,6247 3332	0,0437 6667	0,0003 9999
11,128 4167	1,1632 3335	0,8722 9999	0,6751 6665	0,0677 6667	0,0152 3333	1,3482 6662	0,9375 6667	0,6189 6667	0,0562 6666	0,0780 6667	0,5368 6668		0,0246 3334	0,0319 6666	0,0522 3333	1,1919 6667	1,1317 3333	0,6391 0001	0,0450 3333	-0,0008
11,393 3611	1,1722 3335	0,8712 6665	0,6851 0001		0,0150 6667	1,3520 9997	0,9402 3338	0,6402 6669	0,0555 3333	0,0796 3334	0,5601 3334	0,2369 3334	0,0235 0001	0,0307 3333	0,0600 6668	1,2034 0002	1,1512 3335	0,6516 0001		-0,0012
11,658 3333	1,1804 6668	0,8648 3334	0,6986 3335	0,0681 6667		1,3496 0001	0,9436 0001	0,6672 0001	0,0566 9999	0,0836 3333	0,5798 333	0,2535 6667		0,0311 9999	0,0656 9999	1,2154 3333	1,1793 6666	0,6694 6665	0,0464 9999	0,0007 6667
11,923 2778	1,1884 9998	0,8618 3331	0,7100 9999	0,0693 3333	0,0151 3333	1,3194 0001	0,9432 3333	0,6827 3333	0,0566 3333	0,0866 6668	0,6001 6665	0,2720 6667	0,0214 3333	0,0305 3333	0,0728 3334	1,2135 3333	1,1650 6663	0,6738 3334	0,0475 6667	0,0015 3333
12,188 25	1,1964 6667	0,8668 3335	0,7246 6665	0,0683 0001	0,0150 6667	1,2908 9998	0,9462 3335	0,7045 3332	0,0566 6667	0,0911 3333	0,6272 6667	0,2932 6667	0,0242 6667		0,0817 3333	1,2148 3332	1,1820 3337	0,6921 6667	0,0462 6667	0,0003 9999
12,453 1944	1,1992 9997	0,8643 6665	0,7387 6667			1,2773 0003	0,9443 3331		0,0575 6667		0,6519 6666	0,3156 9999	0,0238 9999	0,0326 3333	0,0923 3333	1,2100 3332	1,1465 667	0,7042 3333	0,0482 0001	0,0004 3334
12,718 1667	1,2044 3333	0,8618 0002	0,7510 0001	0,0683 3334	0,0153 3333	1,2735 3334	0,9429 3332	0,7394 0002	0,0584 6666	0,1022 3334	0,6765 6666		0,0224 0001	0,0339 6666	0,1048 3334	1,2058 6665	1,1398 6667	0,7254 3334	0,0485 3333	0,0021 6666
12,983 1389	1,2109 0002	0,8648 3335	0,7616 9998	0,0688 3334	0,0147 9999	1,2676 3336	0,9422 6666	0,7536 6666	0,0588	0,1091 6668	0,7059 3333	0,3670 6667	0,0230 3334	0,0334 3333	0,1164 6667	1,1861	1,1253 6664	0,7252 6666	0,0477	-0,0019
13,248 0833	1,2106 6667	0,8594 0003	0,7722 3333	0,0692 6666	0,0152 3333	1,2639 3338	0,9401 3333		0,1165 3333	0,7320 3333	0,3946 3332	0,0227 6666	0,0363 6666	0,1323 3333		1,1344 333		0,7495	0,0506	0,0021 6667
13,513 0556	1,2133 6667	0,8581 9997	0,7825 6666	0,0679 3333		1,2537 3333	0,9389 6667	0,7823 6666	0,0615 3333	0,1256 6667	0,7568 0001	0,4223 9999	0,0229 6666	0,0363 6667	0,1476 0001	1,1603 3333	1,1132 6666	0,7573 6667	0,0502 3333	0,0028 3333
13,778	1,2120 3334	0,8589 9999	0,7936 9999			1,2478 6667	0,9363 9997	0,7925 6668	0,0624 6667	0,1354 0001	0,7806 3333	0,4508 9998	0,0236 9999		0,1646 6667	1,1490 3331	1,1089 6666	0,7817 6665	0,0500 6666	0,0029 3333
14,042 9722	1,2055 6666	0,8551 3332	0,8016 6668		0,0145 3333	1,2420 9999	0,9340 6665	0,8018 9998	0,065	0,1465 3333	0,8073 9999	0,4802 6666	0,0231 3333		0,1805 6665	1,1381 3331	1,1011 9998	0,7949 3331	0,0504 9999	0,0032 6667

14,307 9167	1,2026 3336	0,8539	0,8119 3333	0,0694	0,0147 3332	1,2344 6667	0,9304 3331	0,8100 3336	0,0663 6666	0,1585 3333	0,8331	0,5112 3333	0,0226 6667	0,0430 9999	0,1989 6666	1,1263 3332	1,0901 6668	0,8062 6666	0,0519 6666	0,0018 3334	-
14,572 8889	1,1992	0,8517 0001	0,8186 9998	0,0714 6667	0,0147 6667	1,2251 0004	0,9279 6667	0,8182 6666	0,0682	0,1721 3333	0,8579 3332	0,5441 6666	0,0228 3332	0,0458	0,2153 6665	1,1194 3336	1,0821 0003	0,8123	0,0531 3333	0,0033 6667	-
14,837 8333	1,1958 9998	0,8491 3331	0,8278 6666	0,0698 3334	0,0146 6667	1,2172 3334	0,9239 9998	0,8261 3334	0,0713 6666	0,1869 3333	0,8846 0001	0,5744	0,0227 6666	0,0496	0,2294 6666	1,1004 0001	1,0751 667	0,8316	0,0530 6666	-0,0035	-
15,102 8056	1,1938 6666	0,8431 0003	0,8352 0001	0,0701 3334	0,0141 3333	1,1563 9998	0,9199 0001	0,8324 3332	0,0758 9999	0,2018 6666	0,9084 9999	0,6044 6665	0,0236 6666	0,0541 3333	0,2479 3334	1,0945	1,0686 6665	0,8282 3334	0,0538 9999	0,0039 9999	-
15,367 7778	1,1928 3329	0,8362 6669	0,8425 6666	0,0704	0,0141 3333	1,1472 333	0,9166 3332	0,8383 6668	0,0770 6666	0,2191 3333	0,9304 6665	0,6367 3333	0,0231 6667	0,0597 6667	0,2613 6667	1,0908 0002	1,0642	0,8554 6664	0,0539	-0,0038	-
15,632 7222	1,1876 9997	0,8318 0004	0,8497	0,0680 6666	0,0145	1,1401 3338	0,9121 3333	0,8442 0001	0,0811 6667	0,2366 6667	0,9513 3334	0,6701 6667	0,0224 6666	0,0666	0,2743 3334	1,0862	1,0607 6669	0,8747 6664	0,0546 6667	0,0035 9999	-
15,897 6944	1,1896 6667	0,8280 9999	0,8579	0,0699 3334	0,0135 6667	1,1343 3331	0,9070 0002	0,8491 0002	0,0867 3334	0,2554 6667	0,9705 6667	0,6996	0,0221 6666	0,0724 6666	0,2886 9998	1,0791 3333	1,0563 6664	0,8891 3332	0,0559 6666	0,0037 3334	-
16,162 6389	1,1870 6665	0,8235 3331	0,8627 9997	0,071	0,0143	1,1286	0,9015 6666	0,8549 6667	0,0911 3333	0,2747 3332	0,9871	0,7271 0001	0,0229	0,0817 6666	0,3031 6666	1,0736 0001	1,0475 3335	0,8888 9999	0,0560 3333	0,0042 3334	-
16,427 7222	1,1881 6666	0,8201 6667	0,8694 6668	0,0695	0,0136 6666	1,1262 3335	0,8968 9997	0,8590 6666	0,0982	0,2938 9998	1,0002 9998	0,7501 6665	0,0223	0,0900 3333	0,3169	1,0690 6666	1,0413 0001	0,8953 6666	0,0573 6666	0,0032 6668	-
16,692 6667	1,1862 9999	0,8173 3332	0,8751 6667	0,0696 6667	0,0138 3334	1,1213 3333	0,8899 9998	0,8613	0,1038 9999	0,3103 6667	1,0103 0001	0,7668 3334	0,0226 3333	0,0997 3332	0,3357	1,0646 0004	1,0363 667	0,9037 6666	0,0577 6666	0,0047 6667	-
16,957 6389	1,1873 6669	0,8144 6667	0,8794 6667	0,0693 3333	0,0136	1,1193 3336	0,8844 0001	0,8630 6668	0,1123 6666	0,3279 3335	1,0225 9999	0,7850 6666	0,0222 6667	0,1105 3333	0,3526 6667	1,0580 667	1,0290 3334	0,9058 6667	0,0581 3333	0,0043 6666	-
17,222 5833	1,1883 3335	0,8136 6663	0,8846 3332	0,0714 6666	0,0143 0001	1,1168 3333	0,8802 6666	0,8636 3333	0,1201	0,3475 6666	1,0314 333	0,8028 3335	0,0225 3334	0,1229 6666	0,3718 3333	1,0578 9999	1,0252 333	0,9096 6669	0,0591	0,0046 6666	-
17,487 5556	1,1869 667	0,8112 6665	0,8894 0001	0,0697	0,0139	1,1132 3334	0,8730 3334	0,8634 6667	0,1297 0001	0,3668 6667	1,0357 667	0,8160 0002	0,0226 6667	0,1388 6667	0,3912 3332	1,0560 9999	1,0205 6666	0,9105 3332	0,0587 0001	0,0054 3334	-
17,752 5	1,1888 6668	0,8128 3334	0,8930 6667	0,0701 3334	0,0134 6667	1,1116 3335	0,8689 3333	0,8649 3335	0,1396 6667	0,3819 3334	1,0418 6667	0,8276 6668	0,0216 3334	0,1527 0001	0,4100 3333	1,0522 3335	1,0139 6667	0,9097 3337	0,0608 3333	0,0046 6666	-
18,017 4722	1,1899 3332	0,8109 3336	0,8967 6667	0,0707	0,0132 6667	1,1088 6665	0,8606 6665	0,8655 6664	0,1494 3334	0,4002	1,0469 6667	0,8407 0003	0,0224 6666	0,1655 3332	0,4283 3335	1,0520 9998	1,0128 6669	0,9164 3332	0,0585 6666	0,0051 6667	-
18,282 4167	1,1912 3333	0,8103 9999	0,9004 9996	0,0687 6667	0,0135 3333	1,1061 9996	0,8535 6666	0,8663 3335	0,1643 6667	0,4206 9999	1,0516 3334	0,8498 3332	0,0234 6666	0,1857 9999	0,4506 9999	1,0489 6667	1,0076 6666	0,9206 6669	0,0619 3333	0,0043 0001	-

18,547 3889	1,1903 9999	0,8098 3332	0,9035 3331	0,0699 3333	0,0129	1,1029 3335	0,8447 9999	0,8654 3331	0,1789 9999	0,4417 9999	1,0537 3333	0,8572 333	0,0226 3332	0,2008 9999	0,4713 6666	1,0472 6671	1,0042 3332	0,9280 333	0,0612 9999	0,0057 6666	-
18,812 3611	1,1919 9999	0,8174 0001	0,9093 6668	0,0691 3333	0,0128 3334	1,0996 9999	0,8377 6666	0,8644 9999	0,1940 0001	0,4645 3333	1,0565 3331	0,8648 9999	0,0225	0,2128 3333	0,4869 6665	1,0469 9999	1,0018 6669	0,9363 3336	0,0626 0001	0,0053 3334	-
19,077 3056	1,1956 3333	0,8165 3337	0,9118 0002	0,0691 3333	0,0128 3333	1,0982 6668	0,8290 6667	0,8605 6667	0,2118 3332	0,4857 6666	1,0582 6668	0,8673 0003	0,0208 3333	0,2253 6667	0,5065 3332	1,0458 6665	0,9969 9997	0,9362 9999	0,0608 3332	0,0065 6667	-
19,342 2778	1,1964 3335	0,8103 3335	0,9139 6668	0,0689 6667	0,0129 6667	1,0926 6664	0,8191 0002	0,8586 0002	0,2298 3332	0,5108 6666	1,0567 3335	0,8709 6669	0,0230 3334	0,2370 3333	0,5243 6665	1,0454 333	0,9959 3329	0,9447	0,0629 3333	0,0055 0001	-
19,607 2222	1,1983 9998	0,8120 3334	0,9165 6666	0,0690 3334	0,0129	1,0900 6663	0,8082 6665	0,8579 6665	0,2512 3333	0,5329 9999	1,0596 6667	0,8758 3333	0,0232 6667	0,2454 3333	0,5368	1,0474 6664	0,9942 9996	0,9516 6664	0,0637 6666	-0,0064	-
19,872 1944	1,1997 3334	0,8114 9999	0,9188 6669	0,0709 3333	0,0129	1,0893 0003	0,7989 3334	0,8532 6665	0,2731 6666	0,5550 9999	1,0599 6668	0,8803 3334	0,0237 6667	0,2543 9999	0,5505 0003	1,0456 6669	0,9889 3332	0,9588 3333	0,0631 6666	0,0065 9999	-
20,137 1389	1,2013 3333	0,8145 3329	0,9234 0001	0,0696 6666	0,0124 6667	1,0888 6667	0,7886 6666	0,8507 3334	0,2970 6666	0,5798 9999	1,0586 3333	0,8828 667	0,0251 3333	0,2629 6667	0,5655 0001	1,0450 333	0,9817 9999	0,9588 3332	0,0630 6667	0,0050 3333	-
20,402 1111	1,2031 6666	0,8149	0,9247 0002	0,0755 3333	0,0121	1,0782 9997	0,7789	0,8454 6667	0,3225 6667	0,5985 6668	1,0587 6666	0,8849 9999	0,0251	0,2699 3334	0,5790 3334	1,0439 0003	0,9842 6667	0,9638 3333	0,0638	0,0085 3332	-
20,667 0556	1,2072 0004	0,8199 0006	0,9271 3331	0,0695 3333	0,0127 6667	1,0808 3335	0,7680 6668	0,8426 0003	0,3499 0001	0,6228 6665	1,0606 6668	0,8869 6666	0,0262 6666	0,2787 3334	0,6017 3334	1,0427 9999	0,9817 9996	0,9692 3334	0,0654 6667	-0,0073	-
20,932 0278	1,2102 6666	0,8214 9998	0,9294 3338	0,0685 6666	0,0130 3333	1,0797 3334	0,7600 3332	0,8413 9998	0,3781 6666	0,6451 6667	1,0600 3333	0,9054 3333	0,0269 6667	0,2883 3335	0,6160 3334	1,0408 6667	0,9753 3333	0,9665 6668	0,0657 6667	0,0067 6666	-
21,197	1,2132 3335	0,8259 6664	0,9318 6663	0,0683 6667	0,0119 3333	1,0769 6668	0,7455 9998	0,8319 9999	0,4027 9999	0,6675 6666	1,0559 9999	0,8844 0001	0,0276	0,2974 6666	0,6336 6668	1,0424 6668	0,9811 3334	0,9796	0,0652 6666	0,0063 9999	-
21,461 9444	1,2137 9998	0,8290 3332	0,9330 6669	0,0678 3333	0,0121 3334	1,0800 3334	0,7345 9998	0,8251 3333	0,4322 6665	0,6884 3332	1,0534 3338	0,8819 6671	0,0276 3332	0,3069 6665	0,6495 3332	1,0443 6668	0,9876 6664	0,9779 6667	0,0653 6666	0,0065 6667	-
21,726 8889	1,2204 0002	0,8336 9998	0,9349 3335	0,0678 3333	0,0124	1,0817 0002	0,7249 6666	0,8200 9999	0,4603	0,7065 6669	1,0502	0,8761	0,0299 3333	0,3151 9999	0,6700 3333	1,0436 6666	0,9816	0,9766 9997	0,0664 9999	0,0087 9999	-
21,991 8611	1,2232 6665	0,8362 9999	0,9370 3337	0,0669	0,0117	1,0844 6667	0,7141 3332	0,8119 3333	0,4899 3333	0,7272 6665	1,0472 6666	0,8717 6664	0,0316 3334	0,3259 6667	0,6881 9998	1,0443 6669	0,9839 3332	0,9809 3334	0,0672 3333	0,0073 6667	-
22,256 8333	1,2275 6667	0,8390 9998	0,9391 6666	0,0667 3333	0,0118 3333	1,0850 6666	0,7044	0,8051 3333	0,5208 6665	0,7473 6665	1,0463 6668	0,8688 0002	0,0335	0,3369 3333	0,7079 9999	1,0428 9999	0,9799	0,9788 6664	0,0670 3334	0,0060 6667	-
22,521 7778	1,2334 6667	0,8395 6668	0,9405 6665	0,0662 3334	0,0115 6666	1,0838 6664	0,6936 9999	0,7954 6668	0,5519	0,7676 9999	1,0434 3335	0,8663 667	0,0360 6667	0,3504 3333	0,7240 9999	1,0430 6662	0,9796 667	0,9845 9998	0,068	0,0080 3334	-

22,786 75	1,2376	0,8445 3332	0,9439 3332	0,0703	0,0118 6667	1,0841 0001	0,6850 3332	0,7904 0001	0,5843 3332	0,7855 3333	1,0397 3337	0,8629 6665	0,0386	0,3642 0001	0,7462 0001	1,0409 6667	0,9761 3334	0,9845 6665	0,0688 9999	0,0076 3332	-
23,051 6944	1,2418 3335	0,8480 9998	0,9464 3332	0,0647 6667	0,0117 3334	1,0967 9999	0,6756 3333	0,7824 3333	0,6163 3332	0,8030 0002	1,0364 0003	0,8601 6664	0,0425 6666	0,3815 6666	0,7619 6664	1,0420 6664	0,9773	0,9947 3331	0,0688 3334	0,0073 3333	-
23,316 6667	1,2467 6669	0,8527 3333	0,9479 3331	0,0655 3333	0,0114	1,0955 6669	0,6661	0,7736 9999	0,6467	0,8175 3331	1,0315 0001	0,8554	0,0458 6667	0,3975 6665	0,7756	1,0409 3336	0,9757 9999	1,0004 0002	0,0697 6666	0,0071 6667	-
23,581 6111	1,2519 3334	0,8544 6668	0,9481 6664	0,0651 6667	0,0115	1,0942 0003	0,6576 3334	0,7653 3332	0,6742	0,8290 3332	1,0251 6667	0,8505 3332	0,0505	0,4139 6668	0,7915 6667	1,0398 6666	0,9737 333	1,0029 9999	0,0691 6667	0,0079 9999	-
23,846 5833	1,2542 0004	0,8572 0002	0,9486 6668	0,0649 6666	0,0112 6667	1,0914 6662	0,648	0,7568 3333	0,7037 3333	0,8422 6668	1,0183 6667	0,8439 6666	0,0556 6667	0,4341 3335	0,8013 9999	1,0410 6664	0,9700 6662	1,0010 3339	0,0697 6667	0,0073 6667	-
24,111 5556	1,2584 3336	0,8605 6668	0,9488 3333	0,0640 0001	0,0107	1,0894 9996	0,6416 6667	0,7465 6666	0,7293 3334	0,8529 0001	1,0119 3332	0,8389 6666	0,0613	0,4567 0001	0,8134 3331	1,0393 6666	0,9696 3334	1,0019	0,0698 3334	0,0070 3334	-
24,376 5	1,2609 9996	0,8655	0,9512 3335	0,0641 3333	0,0106	1,0889 0001	0,6327	0,7401 9999	0,7517	0,8630 6664	1,0092 9999	0,8326 9999	0,0699 9999	0,4781 6667	0,8216 3332	1,0396 3335	0,9691 6663	1,0080 3335	0,0710 6667	0,0079 3334	-