

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS:

**Optimización de la capacidad queratinolítica de dos
cepas bacterianas nativas. Ayacucho, 2023**

Para optar el título profesional de:

BIÓLOGO, ESPECIALIDAD: MICROBIOLOGÍA

PRESENTADO POR:

Bach. Gary Heynar COTRADO CANDIA

ASESOR:

Dr. Saúl Alonso CHUCHÓN MARTÍNEZ

AYACUCHO - PERÚ

2024

Dedico mi tesis a mi madre
con todo mi corazón, pues sin ella no
lo habría logrado. Su bendición a diario
a lo largo de mi vida me protege y me
lleva por el camino del bien.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por constituir el *Alma Máter* de mi formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela Profesional de Biología, a la Especialidad de Microbiología y a los docentes quienes contribuyeron en mi formación profesional.

A mi asesor Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez, por la orientación y guía académica en el presente trabajo de investigación.

Al Mg. Rilder Nemesio Gastelú Quispe, por el apoyo y accesibilidad que me permitió realizar satisfactoriamente el presente trabajo de investigación.

Al Blgo. Pedro Mauricio Delgadillo Coronado, por el apoyo logístico y académico en el presente trabajo de investigación.

A mi madre Zósima Florisa Candia Huamán, hermana y amistades por el apoyo económico, emocional y sus consejos, para poder finalizar el presente trabajo de tesis, gracias a todos ellos superé todas las dificultades que se presentaron, personas importantes para mi formación personal.

A Liz Coras, por permitirme continuar esta línea de investigación con el uso de sus cepas queratinofílicas, aisladas e identificadas.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	lii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.1.1. Antecedentes internacionales	3
2.1.2. Antecedentes nacionales	5
2.2. Marco conceptual	5
2.2.1. Optimización	5
2.2.2. Cepa nativa	6
2.2.3. Bacteria queratinolítica	6
2.2.4. Biomasa	6
2.2.5. Plumas	6
2.2.6. Sustrato	6
2.2.7. Proteínas	6
2.2.8. Proteínas fibrosas	7
2.2.9. Queratina	7
2.2.10. Enzimas microbianas	7
2.2.11. Proteasas	7
2.2.12. Queratinasas	7
2.2.13. Aminoácidos	8
2.2.14. Temperatura óptima	8
2.2.15. pH óptimo	8
2.3. Fundamento teórico	8
2.3.1. Composición estructural de la pluma de ave	8
2.3.2. Usos de la pluma de pollo	9
2.3.3. Queratina: estructura, propiedades y funciones	9
2.3.4. Microorganismos del género <i>Bacillus</i> productores de queratinasas	10
2.3.5. Enzimas queratinolíticas: tipos, características y mecanismos de acción	10
2.3.6. Mecanismo de degradación de queratina en las plumas	11
2.3.7. Optimización enzimática	12
2.3.8. Efecto de la temperatura en el incremento de biomasa y actividad enzimática	13
2.3.9. Efecto del pH en el incremento de biomasa y actividad enzimática	13
2.3.10. Efecto de la concentración de sustrato en el incremento de	14

biomasa y actividad enzimática	
2.3.11. Técnicas de medición de proteínas y aminoácidos	14
2.3.12. Aplicaciones de la queratinólisis: industriales, médicas y ambientales	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Ubicación del lugar donde se realizó el experimento	17
3.2. Ubicación política y geográfica del Laboratorio de Microbiología Ambiental	17
3.3. Unidad de análisis	18
3.4. Metodología y recolección de datos	18
3.4.1. Obtención de muestras	18
3.4.2. Proceso de adaptación de las cepas nativas a sustrato de plumas molidas	18
3.4.3. Determinación de los parámetros óptimos de degradación de queratina en plumas molidas	19
3.4.4. Evaluación de la producción de biomasa, concentración de proteínas y aminoácidos resultados de la degradación de la queratina de plumas	21
3.4.5. Determinación de biomasa en la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina en plumas molidas	22
3.4.6. Estandarización de la curva patrón para la determinación de biomasa microbiana	22
3.4.7. Determinación de proteínas totales en la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina en plumas molidas	23
3.4.8. Estandarización de la curva patrón para la determinación de proteínas totales	24
3.4.9. Determinación de aminoácidos en la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina en plumas molidas	24
3.4.10. Estandarización de la curva patrón para la determinación de aminoácidos	25
IV. RESULTADOS	27
V. DISCUSIÓN	43
VI. CONCLUSIONES	49
VII. RECOMENDACIONES	51
VIII. Referencias bibliográficas	53
IX. ANEXOS	57

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Coordenadas de ubicación del laboratorio de Microbiología Ambiental.	17
Tabla 2. Concentración de componentes de medio de cultivo para el proceso de adaptación a sustrato de plumas molidas.	19
Tabla 3. Tratamientos para la determinación de los parámetros óptimos de la capacidad queratinolítica de dos cepas bacterianas nativas. Ayacucho, 2023.	20

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Anatomía de la pluma	9
Figura 2. Mecanismo de actividad queratinolítica por enzimas queratinasas	12
Figura 3. Factores que modifican la actividad enzimática	12
Figura 4. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento microbiano	13
Figura 5. Interacción de las concentraciones de proteínas (mg/mL) resultado de la degradación de plumas por acción de dos cepas bacterianas nativas, incubados a diferentes temperaturas, pH y concentraciones de sustrato. Ayacucho – 2024.	29
Figura 6. Interacción de las concentraciones de aminoácidos (mg/mL) resultado de la degradación de plumas por acción de dos cepas bacterianas nativas, incubados a diferentes temperaturas, pH y concentraciones de sustrato. Ayacucho – 2024	31
Figura 7. Valores promedios de la biomasa (mg/mL) durante 23 días de incubación a temperatura, pH y concentraciones de sustrato óptimos, de las cepas C1 y C2. Ayacucho – 2024.	33
Figura 8. Valores promedios de las concentraciones de proteínas (mg/mL) durante 23 días de incubación a temperatura, pH y concentraciones de sustrato óptimos, de las cepas C1 y C2. Ayacucho – 2024.	35
Figura 9. Valores promedios de las concentraciones de aminoácidos (mg/mL) durante 23 días de incubación a temperatura, pH y concentraciones de sustrato óptimos, de las cepas C1 y C2. Ayacucho – 2024.	37
Figura 10. Valores promedios finales de las concentraciones de biomasa, proteínas y aminoácidos (mg/mL) en el día 1 (24 horas) y 23 (552 horas) de incubación a temperatura, pH y concentración de sustrato óptimos, de las cepas bacterianas C1 y C2. Ayacucho – 2024.	39
Figura 11. Porcentaje promedio de incremento (%) de biomasa, concentración de proteínas y aminoácidos, en 23 días de incubación a temperatura, pH y concentración de sustrato óptimos, de las cepas bacterianas C1 y C2. Ayacucho – 2024.	41

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Fotografía de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 (C6.1 y C1.S) con capacidad queratinolítica. Ayacucho – 2024.	59
Anexo 2. Tubos de ensayo con MBS suplementadas con 60, 120 y 240 mg de sustrato (plumas molidas), para el proceso de adaptación. Ayacucho – 2024.	60
Anexo 3. Frascos con MBS suplementadas con sustrato de plumas molidas, inoculadas con cepas bacterianas en incubación para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina incubadas durante 240 horas. Ayacucho – 2024.	61
Anexo 4. Composición y modo de preparación del reactivo de Bradford. Ayacucho – 2024.	62
Anexo 5. Batería de tubos con las muestras la degradación de queratina y el reactivo de Bradford para la determinación de proteínas. Ayacucho – 2024.	63
Anexo 6. Muestras y equipo de filtración para la determinación de grupos aminos libres (GAL). Ayacucho – 2024.	64
Anexo 7. Frascos con MBS suplementadas con plumas molidas, inoculadas con cepas bacterianas e incubadas durante 552 horas para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	65
Anexo 8. Estandarización de la curva patrón de concentración de glicina para la determinación de aminoácidos (mg/mL). Ayacucho – 2024.	66
Anexo 9. Curva patrón de concentración de glicina para la determinación de aminoácidos (mg/mL). Ayacucho – 2024.	67
Anexo 10. Estandarización de la curva patrón de concentración de Albúmina de Suero Bovino (BSA) para la determinación de proteínas (mg/mL). Ayacucho – 2024.	68
Anexo 11. Curva patrón de concentración de Albúmina de Suero Bovino (BSA) para la determinación de proteínas (mg/mL). Ayacucho – 2024.	69
Anexo 12. Estandarización de la curva patrón de biomasa (mg/ml) de dos cepas bacterianas nativas degradadoras de queratina en 48 horas de incubación. Ayacucho – 2024.	70
Anexo 13. Curva patrón de biomasa (mg/ml) de dos cepas bacterianas nativas degradadoras de queratina en 48 horas de incubación. Ayacucho – 2024.	71
Anexo 14. Resultados de la medición de absorbancias (Abs) con el método de Bradford, en el día 1 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	72

Anexo 15. Resultados de la medición de absorbancias (Abs) con el método de Bradford, en el día 10 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	73
Anexo 16. Resultados de la medición de absorbancias (Abs) con el método de Ninhidrina, en el día 1 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024	74
Anexo 17. Resultados de la medición de absorbancias (Abs) con el método de Ninhidrina, en el día 10 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	75
Anexo 18. Resultados de la concentración de proteínas (mg/mL) con el método de Bradford, en el día 1 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	76
Anexo 19. Resultados de la concentración de proteínas (mg/mL) con el método de Bradford, en el día 10 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	77
Anexo 20. Resultados de la concentración de aminoácidos (mg/mL) con el método de Ninhidrina, en el día 1 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	78
Anexo 21. Resultados de la concentración de aminoácidos (mg/mL) con el método de Ninhidrina, en el día 10 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	79
Anexo 22. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de las concentraciones de proteínas (mg/mL) a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	80
Anexo 23. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de las concentraciones de proteínas (mg/mL) a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	81
Anexo 24. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de las concentraciones de aminoácidos (mg/mL) a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	84
Anexo 25. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de las concentraciones de aminoácidos (mg/mL) a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	85
Anexo 26. Resultados de la medición de absorbancias (Abs) de biomasa, proteínas y aminoácidos en 23 días de incubación a 35 °C, pH	88

9 y 20 mg/mL de sustrato, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	
Anexo 27. Resultados de las concentraciones de biomasa, proteínas y aminoácidos (mg/mL) en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.	90
Anexo 28. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la biomasa (mg/mL) de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.	92
Anexo 29. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biomasa (mg/mL) de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.	93
Anexo 30. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de proteínas (mg/mL) de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.	95
Anexo 31. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de las concentraciones de proteínas (mg/mL) de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.	96
Anexo 32. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de aminoácidos (mg/mL) de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.	98
Anexo 33. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de las concentraciones de aminoácidos (mg/mL) de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.	99
Anexo 34. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de biomasa, proteínas y aminoácidos (mg/mL) entre las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.	101
Anexo 35. Matriz de consistencia	102

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo la optimización de la capacidad queratinolítica de dos cepas bacterianas nativas en plumas de pollo. Se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología Ambiental de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. El estudio fue del tipo experimental con tres variables de estudio como la temperatura, el pH y la concentración de sustrato de plumas molidas. Se realizó la preparación de cuatro etapas en base a las variables de estudio y llevados a incubación para determinar los parámetros óptimos de degradación de queratina en 10 días de incubación, en una primera fase, con la medición de proteínas y aminoácidos en solución. Posteriormente, en la segunda fase se utilizó los parámetros óptimos para la determinación del tiempo óptimo de degradación queratinolítica utilizando el método de Bradford para concentración proteínas y el método de Ninhidrina al 10% para concentración de grupos aminos libres de aminoácidos, a través de la medición de absorbancia en espectrofotómetro, los cuales se midieron en diferentes longitudes de onda como biomasa microbiana a 600 nm de longitud de onda, proteínas a 595 nm y aminoácidos a 540 nm respectivamente durante 23 días de incubación. Se utilizó como curvas patrón a las concentraciones de biomasa de las dos cepas bacterianas nativas de *Bacillus sanguinis* para la determinación de biomasa de las cepas C1 y C2, Albúmina de Suero Bovino para la concentración de proteínas y Glicina para la concentración de aminoácidos. Se concluyó como parámetros óptimos de temperatura a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de concentración de sustrato como las condiciones óptimas de degradación queratinolítica de las dos cepas bacterianas nativas, con una máxima concentración de 0,8380 mg/mL de biomasa, 0,4807 mg/mL de proteínas producto de la hidrólisis y 0,6321 mg/mL de aminoácidos para la cepa C1; una máxima concentración de 0,8605 mg/mL de biomasa, 0,4819 mg/mL de proteínas producto de la hidrólisis y 0,6515 mg/mL de aminoácidos para la cepa C2. Las dos cepas no presentan diferencia significativa estadísticamente, pero sí una diferencia numérica donde la cepa C2 posee una mayor degradación de queratina.

Palabras claves: capacidad queratinolítica, degradación de queratina, optimización queratinolítica, cepas bacterianas queratinolíticas.

I. INTRODUCCIÓN

La presente investigación se refiere a la optimización de la capacidad queratinolítica de cepas bacterianas nativas, aisladas de suelos de vertederos de plumas de las granjas avícolas, en el cual podemos definir a la queratina como una proteína insoluble presente en materiales orgánicos como cabello, uñas, cuernos y plumas, esta última que genera un problema, el cual representa un desafío ambiental cuando se acumula como desecho. La degradación eficiente de esta proteína por microorganismos ha despertado interés en áreas como la biotecnología y la gestión ambiental. Las bacterias queratinolíticas producen enzimas llamadas queratinasas, que pueden romper los enlaces disulfuro de la queratina, permitiendo su reutilización en aplicaciones agroindustriales, cosméticas, farmacéuticas y biotecnológicas (Loja et al., 2016).

Este estudio se enfoca en la optimización de la capacidad queratinolítica de dos cepas bacterianas nativas de la región de Ayacucho. La optimización de procesos enzimáticos incluye ajustar parámetros como temperatura, pH, concentración de sustrato y tiempo de cultivo, con el objetivo de maximizar el crecimiento, producción de enzimas y su eficiencia. Además, los avances en el uso de los métodos de detección de proteínas y aminoácidos como Bradford y Ninhidrina, facilitan identificar las biomoléculas y su mayor productividad enzimática (López, 2020).

La relevancia de este trabajo radica en el potencial de estas cepas nativas para ofrecer soluciones sostenibles al manejo de residuos queratinosos, como plumas de aves. Además, sugiere una alternativa económica al reemplazar métodos químicos agresivos por procesos biológicos más amigables con el medio ambiente. La optimización de las condiciones de cultivo no solo mejora la

producción de queratinasas, sino que también favorece su aplicación industrial y la reducción del impacto ambiental (Arroyo, 2023).

Con estos objetivos en mente, el presente trabajo investigación no solo busca aportar al conocimiento científico sobre los métodos y capacidades de cepas bacterianas locales, sino también promover el uso de tecnologías limpias en contextos biotecnológicos para producción de enzimas, aminoácidos y biopolímeros que reemplacen tecnologías químicas actuales (Hernández, 2020).

Los objetivos que se trazaron fueron:

Objetivo general

Evaluar las condiciones óptimas de dos cepas bacterianas nativas, en la capacidad queratinolítica.

Objetivos específicos

1. Determinar la temperatura (°C) óptima de dos cepas bacterianas nativas en la capacidad queratinolítica.
2. Determinar el potencial de hidrógeno (pH) óptimo de dos cepas bacterianas nativas en la capacidad queratinolítica.
3. Determinar la concentración de sustrato [S] óptimo de dos cepas bacterianas nativas en la capacidad queratinolítica.
4. Determinar el tiempo óptimo de degradación de dos cepas bacterianas nativas en la capacidad queratinolítica.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

Vargas, J. (2018), en la tesis titulada: Diseño y optimización de un medio de cultivo para producción de esporas de *Bacillus sp.*, realizada en la Universidad Javeriana en Colombia, menciona la problemática que genera la producción de toneladas de residuos orgánicos con potencial valor agregado para su transformación, resaltando la capacidad del género *Bacillus* como microorganismo encargado de degradar diferentes sustratos con la producción de exoenzimas, además de ser resistentes a condiciones adversas como temperatura, pH y concentración de sustrato. Para lo cual realizó una evaluación de la optimización de temperatura a 55° C obteniendo producción de esporas manteniendo un nivel de producción de aminoácidos relativamente baja.

Hernández, L. (2020), en la tesis titulada: Estrategia biotecnológica para la biodegradación de la pluma de pollo con bacterias productoras de enzimas queratinasas, realizada en la Universidad Autónoma de Puebla en México, menciona que logró aislar en suelo 16 cepas bacterianas que presentan capacidad queratinolítica en el cual se evaluó en 5 días las condiciones en las que degradan la queratina en medio líquido utilizando un medio mínimo adicionado con plumas de pollo como la única fuente de carbono y nitrógeno, teniendo una temperatura de 32 °C y un pH de 8 donde la bacteria de código M2ABB4II presenta una mayor eficiencia degradando la queratina y finalmente medida en espectrofotómetro a una longitud de onda de 230 nm para determinar los fragmentos de queratina degradados.

Alahyaribeik et al., (2020), en la investigación titulada: Bioconversión de desechos de plumas de pollo por bacterias queratinolíticas, realizado en el Instituto Nacional de Ingeniería Genética y Biotecnología en Irán, evaluaron a cuatro microorganismos queratinolíticos para la producción de proteasas a través de la degradación de plumas de pollo como única fuente de carbono y nitrógeno. Entre ellas *Bacillus licheniformis* produjo mayor cantidad de enzimas microbianas en condiciones de 40 °C de temperatura y pH 10, seguidamente de *Bacillus pumilis* que produjo enzimas a 37 °C de temperatura y pH 7, ambos en cultivo líquido en un medio basal suplementado con plumas a 30 mg/mL en 96 horas de incubación,

sugiriendo nuevas estrategias biotecnológicas para la gestión de residuos de queratina y desarrollo de materiales sostenibles de aplicaciones industriales.

Siller, (2014), por otro lado, en la investigación titulada: Búsqueda e identificación de microorganismos con actividad queratinolítica, realizada en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en México, logró aislar 26 cepas de suelos de granjas avícolas en su región, de las cuales se identificaron 2 cepas del género *Bacillus* con las que se trabajaron, usando como medio salino basal concentraciones de cloruro de amonio, cloruro de sodio, cloruro de magnesio, fosfato monobásico de potasio, fosfato dibásico de potasio, extracto de levadura y plumas de ave (15 g/L). Se realizó la degradación usando una temperatura de 32 °C durante 48 horas con agitación orbital a 300 rpm, determinando concentraciones de proteínas y grupos aminos libres (GAL) usando como indicador el reactivo de ninhidrina al 10% sometido a baño maría y enfriamiento rápido, para su posterior lectura de absorbancia en espectrofotómetro a 540 nm.

López, J. (2020), en tanto, en su trabajo de tesis titulado: Degradación de plumas de ave mediante la aplicación de aislados de *Bacillus licheniformis* procedentes de pilas de compostaje de restos vegetales, realizado en la Universidad de Almería en España, usando un medio salino basal y plumas (20 g/L) como única fuente de carbono y nitrógeno, determinó el tiempo estimado de la producción máxima de enzimas degradadoras de queratina en 36 a 48 horas. Además, usó diferentes pH obteniendo valores altos de producción de enzimas de queratinasas en niveles de 7, 8, 9 y 10 de pH con actividad hasta 96 horas a una temperatura constante de 30 °C con una agitación de 180 rpm.

Montes, L. (2020), en la investigación titulada: Caracterización bioquímica de la proteasa producida por *Bacillus licheniformis* LB04, realizada en la Universidad Autónoma de Nuevo León en México, estableció que las bacterias poseen una actividad enzimática optima al 100% a 40° C y una actividad de 70 – 80% en un rango de 50 – 90° C, además de su máxima actividad a un pH de 8 y 80 – 90% en un rango de 9 – 12.

Viloria et al., (2019), en el artículo titulado: Evaluación de la hidrolisis enzimática de plumas de pollo para la obtención de queratina, realizado en Colombia, determina la actividad enzimática en la hidrolisis para la obtención de concentrados de proteínas, utilizando la enzima Genencor® Tan G plus en un

rango de pH de 8 a 9 con el método de Bradford, electroforesis en gel y Albúmina de Suero Bovino como patrón, dando como resultado una concentración proteínica de 2,106 mg/mL y un pH óptimo de 8 el cual no presenta diferencia significativa con el pH 9.

Stiborová et al., (2016), en la investigación titulada: Transformación de desechos de plumas crudas en péptidos y aminoácidos digeribles, realizado en la Universidad de Química y Tecnología de Praga en Chequia, demostraron la actividad queratinolítica de un asilado de *Pseudomonas sp.* que mostró eficiencia para hidrolizar a la queratina de plumas de pollo obteniendo hasta 0,301 mg/mL de aminoácidos libres y 6,2 mg/mL de péptidos en condiciones alcalinas.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Coras, L. (2023), en su trabajo de tesis titulada: Bacterias queratinofílicas en el vertedero clandestino de plumas, Ayacucho 2023, realizado en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, logró aislar 4 cepas queratinofílicas; bacilos Gram positivos de las cuales 2 cepas fueron identificadas molecularmente como *B. sanguinis*, las que trabajaron con parámetros de temperatura ambiente que van desde los 18 a 23° C, pH neutro, durante 35 días en un medio salino basal (MSB) suplementada con plumas de pollos trituradas.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Optimización

Referencia a buscar la mejor manera de realizar una actividad. La optimización tiene que ver principalmente con la eficiencia, es decir que se utilicen las enzimas de la mejor manera posible, en el que se espera obtener mayores beneficios con un mínimo de esfuerzo y energía. Por lo tanto, para optimizar parámetros no deberá ser únicamente eficiente sino también eficaz (Corvi, 2016).

2.2.2. Cepa nativa

Conjunto de individuos de una especie autóctona que pertenece a una región o ecosistema determinado donde la intervención humana es relativamente baja o no existe (Hernández et al., 2012).

2.2.3. Bacteria queratinolítica

Las bacterias queratinolíticas son capaces de degradar la queratina, el principal componente de las plumas, son conocidas por su alta capacidad de segregar compuestos enzimáticos de amplio espectro y que las aves podrían utilizar para reducir la carga parasitaria en sus nidos (Ruiz, 2016).

2.2.4. Biomasa

La biomasa es la cantidad de materia derivada de los seres vivos tanto viables o no viables que encontramos en el medio en un momento y área determinada que almacena energía, además; que se puede expresar en gramos (g) o calorías (cal) por cada mililitro (mL) o gramo (g) de muestra (Paolini, 2018).

2.2.5. Plumas

Las plumas son componentes epidérmicas que están formadas por un eje central bien rígido llamado raquis, con paletillas suaves en sus lados que se componen de varias ramas laterales al cual llamamos barbas.

Una de las características de la pluma es que presentan una gran resistencia al agua, también de una constitución liviana que a la vez le permite el fácil aislamiento térmico, estas plumas son flexibles y rígidas, lo cual le proporciona otras características funcionales como vuelo, retención de calor, camuflaje y protección (David et al., 2017).

2.2.6. Sustrato

El sustrato es la superficie en la que un organismo como bacterias, plantas o animales viven, puede incluir materiales bióticos o abióticos; orgánicos o minerales, así como también es su fuente de energía y nutrientes (Agroactivo, 2021).

2.2.7. Proteínas

Las proteínas son biomoléculas que se encuentran presentes en todos los organismos vivos, llevando grandes actividades celulares dentro del metabolismo. Estas biomoléculas están formadas por 20 aminoácidos (aa) específicos en diferentes proporciones, para poder formar o sintetizar proteínas específicas con funciones específicas dentro del organismo (González et al., 2007).

2.2.8. Proteína fibrosa

Las proteínas fibrosas es una estructura muy importante que ocupa una función estructural dentro de células y tejidos animales. Es una molécula de forma alargada con una estructura secundaria bien definida. La posición de sus aminoácidos repetitivos le otorga características mecánicas y arquitectónicas a la proteína para darle forma a los componentes presentes en la pluma de pollo. La disposición de aminoácidos en la proteína le permite una conformación plana o en hebra helicoidal permitiendo la composición estructural de la queratina (Costa et al., 2018).

2.2.9. Queratina

La queratina es una proteína fibrosa, la más abundante que conforma la estructura de la pluma de pollo, pico, garras, cabello y uñas. Esta queratina está conformada por 19 aminoácidos dentro de los cuales podemos destacar a la serina, prolina, cistina y lisina (Gopinath et al., 2015).

2.2.10. Enzimas microbianas

Las enzimas microbianas son producidas por microorganismos con capacidades de catálisis de un sustrato determinado para cada tipo de enzima, estas se obtienen por aislamiento en medios de cultivo por fermentación. Estas enzimas obtenidas por microorganismos tienen una aplicación industrial, farmacéutica, química, alimentaria entre otros. Los microorganismos de donde se obtienen las enzimas son a nivel mundial de bacteria, hongos y levaduras por la biosíntesis (Rojas, 2019).

2.2.11. Proteasas

Las proteasas son un tipo de enzimas que cumple la función de descomponer a la proteína hasta péptidos o aminoácidos. Las enzimas son de origen extracelular en microorganismos (Romero y Palencia, 2018).

2.2.12. Queratinasas

Las queratinasas son enzimas proteínicas que cumplen la función de degradar la queratina, estas enzimas tienen predominancia extracelular y son producidos por microorganismos que crecen en medios ricos en queratina. Presentan un alto grado de importancia en la industria porque degradan proteínas complejas, así

proporcionando los aminoácidos y péptidos. Estas se caracterizan por tener un amplio espectro de acción de temperatura y pH lo que le permite realizar la descomposición de la queratina en diferentes condiciones (Hernández, 2020).

2.2.13. Aminoácidos

Los aminoácidos son moléculas orgánicas que conforman la unidad básica de la proteína, constituido por un grupo amino (NH_2) y un grupo de ácido carboxílico (COOH) ambos en extremos de la molécula. Estos actúan en diversas funciones celulares y en la construcción de proteínas por los organismos vivos (Calderón, 2006).

2.2.14. Temperatura óptima

La temperatura optima de reacción para una actividad enzimática es un modelo cinético para determinar el máximo crecimiento del microorganismo, así como la producción de enzimas y su actividad queratinolítica. El modelo ajustado para la mayoría de microorganismos predice la producción de enzimas en un rango de temperatura de 20 a 40 °C (León y Cujilema, 2018).

2.2.15. pH óptimo

El pH o concentración de iones hidrogeno óptimo para la actividad enzimática es el punto en el rango en el que la enzima puede realizar una actividad catalítica y no alterarse los grupos laterales ácidos y básicos de una enzima debido a que estos poseen una cierta carga lo que la neutralización de una de estas cargas altera la actividad enzimática (Martínez, 2014).

2.3. Fundamento teórico

2.3.1. Composición estructural de la pluma de ave

Las plumas están químicamente formadas en un 83% por proteínas y 17% por materia orgánica. La queratina compone un 85 al 90% de la proteína presente en las plumas. Esta queratina es fibrosa e insoluble con una baja digestibilidad para humanos y animales (Florida, 2019).

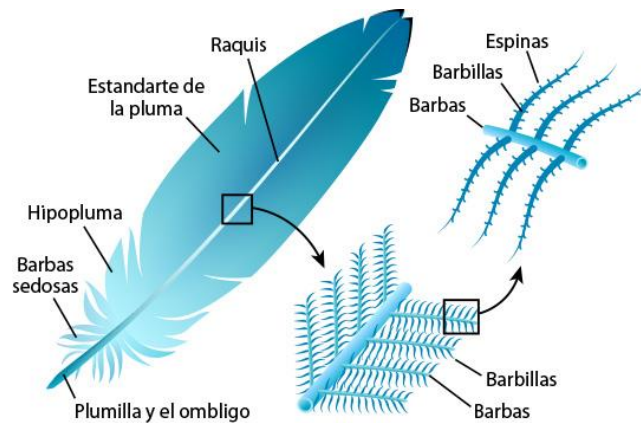


Figura 1. Anatomía de la pluma (Kazilek, 2017).

2.3.2. Usos de la pluma de pollo

Las plumas son desechos que se aprovechan muy poco, por lo que se podría aplicar como un suplemento alimenticio, debido a que presenta un alto valor proteico. Existen procesos térmicos y de alta presión; sin embargo, estos procesos disminuyen el valor nutricional por desbalances de aminoácidos esenciales, además, de la utilización de grandes cantidades de energía. Las plumas presentan un gran potencial en las industrias como formación de biopolímeros para sustitución de plásticos de difícil degradación y obtención de queratina cosmética. El compostaje de las plumas de pollo produce un aumento de materia orgánica en los suelos, lo cual favorece a la fertilidad de las mismas mejorando la capacidad agrícola de las tierras de cultivo (Gurav y Jadhav, 2013).

2.3.3. Queratina: estructura, propiedades y funciones

La queratina es una proteína fibrosa que forma parte de la piel, pelo, uñas y otras estructuras corporales. Su estructura presenta enlaces covalentes (puentes disulfuro), enlaces no covalentes (fuerzas hidrófobas y puentes de hidrogeno). Debido a estos enlaces la estabilidad de la queratina es bastante alta permitiéndole ser insolubles en solventes polares, solventes orgánicos y ácidos débiles, así como una resistencia a mecanismos enzimáticos como la tripsina o pepsina. Presenta dos tipos de conformación estructural la alfa-queratina y beta-queratina; las alfa queratina tiene forma tridimensional helicoidal o hélice que se encuentra presente en pelos, cuernos, uñas y cabello; las beta queratina que posee una formación tridimensional plana y compacta que es más asequible a la degradación enzimática por queratinasas que principalmente se encuentra en la pluma de las aves (Hernández, 2020).

La queratina es resistente a la degradación por enzimas proteolíticas comunes, está compuesta por una variedad de aminoácidos en la cual podemos destacar la glicina y cisteína (Salazar, 2013), esta última presenta enlaces disulfuro del dímero de cistina, los enlaces se entrecruzan formando una red tridimensional de cadenas polipeptídicas y residuos hidrofóbicos que le confieren a la queratina la característica de insolubilidad en agua y que le dan resistencia (Florida, 2019). Está compuesta por lisina, arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, metionina, cisteína, treonina, triptófano, valina (González y Bauza, 2010).

2.3.4. Microorganismos del género *Bacillus* productores de queratinasas

Los microorganismos que producen queratinasas son pocos, se han reportado bacterias, actinobacterias y hongos. Dentro de las bacterias encontramos al género *Bacillus* las cuales son las más estudiadas y con mayor uso en el sector industrial (Hernández, 2020), como potencialidad en diferentes aspectos como productores de antagonistas, promotores de crecimiento en plantas, productores de enzimas (P. Rojas, 2015). Sin embargo, se han registrado también bacterias que sintetizan la formación de enzimas (queratinasas) que degradan la queratina en el medio como: *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. thuringensis*, *B. licheliniformes*, *B. circulans*, *B. mutans* entre otra; con actividad queratinolítica. Se encontraron que estas bacterias generan enzimas extra e intracelulares por estímulo o falta de nutrientes en cual se adapta a sustratos que no son su primera fuente de energía, las cuales pueden presentar diferentes actividades a nivel industrial, lo que acelera y facilita muchos procesos químicos para obtener moléculas deseadas. Su especificidad le ha conferido una característica única que permite su uso de interés como biocatalizador (Hernández, 2020).

2.3.5. Enzimas queratinolíticas: tipos, características y mecanismos de acción

Las enzimas queratinolíticas son proteínas que catalizan la degradación de la queratina, una proteína fibrosa resistente. Existen varios tipos de enzimas queratinolíticas, incluyendo:

- Keratinasas: hidrolizan la queratina en presencia de agua.
- Queratinasas alcalinas: activadas en condiciones alcalinas, hidrolizan la queratina en péptidos y aminoácidos.

- Queratinasas ácidas: activadas en condiciones ácidas, hidrolizan la queratina en péptidos y aminoácidos.

Estas enzimas tienen características únicas, como la capacidad de unirse a la queratina e hidrolizarla en presencia de iones metálicos. Los mecanismos de acción involucran la formación de complejos enzimáticos con la queratina, seguido de la hidrólisis de los enlaces peptídicos.

Las enzimas queratinolíticas tienen aplicaciones importantes en la industria, como la producción de productos cosméticos y farmacéuticos, y en la medicina, como herramientas para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades relacionadas con la queratina. La comprensión de los tipos, características y mecanismos de acción de estas enzimas es fundamental para su aplicación efectiva (Gupta y Ramnani, 2006).

2.3.6. Mecanismo de degradación de queratina en las plumas

El mecanismo de degradación de la queratina en las plumas por bacterias queratinolíticas sigue la secuencia de la mayoría de microorganismos en la degradación de sustratos sólidos como la adhesión, colonización, producción de hidrolasas específicas (proteasas y queratinasas) (Cavello, 2013). La queratinólisis se da por dos procesos; la sulfitólisis y la proteólisis. La sulfitólisis es realizada por la enzima reductasa disulfuro, la cual, provoca la reducción de los enlaces disulfuro modificando la estructura aminoacídica en la lámina de beta queratina; esto a su vez, da lugar a diferentes sitios hidrolíticos para un ataque proteolítico (queratinasas y proteasas) en la queratina clivando los residuos hidrofóbicos como se muestra en la figura. Se ha propuesto que la degradación de la queratina por actividad proteolítica da lugar a reacciones de desaminación y liberación de nitrógeno en exceso como iones de amonio, elevando así el pH en la solución (Hernández, 2020).

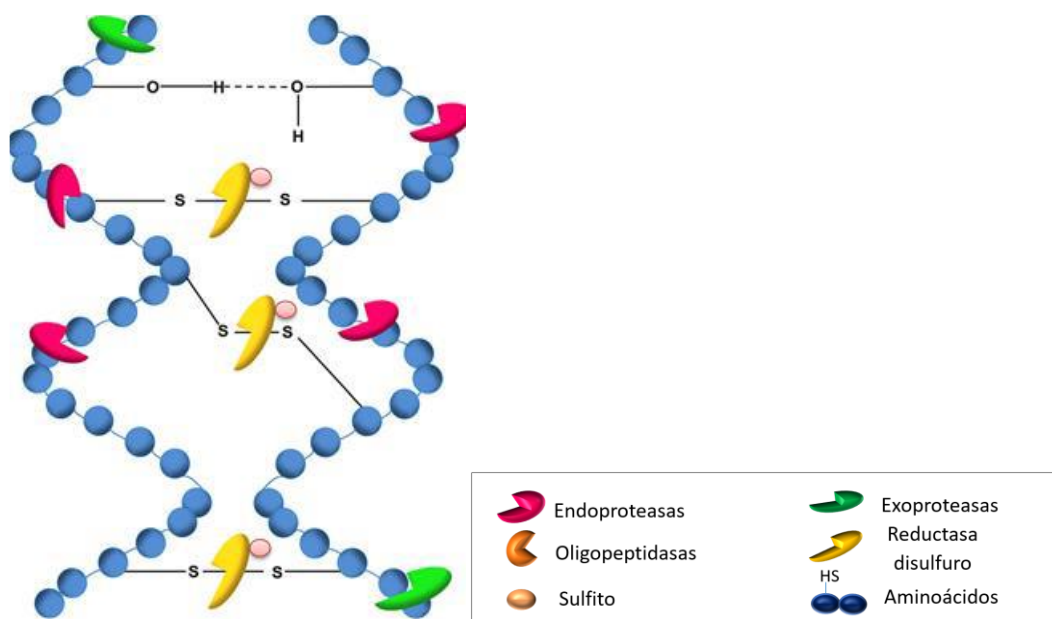


Figura 2. Mecanismo de actividad queratinolítica por enzimas queratinasas (Lange et al., 2016).

2.3.7. Optimización enzimática

La optimización enzimática es un proceso de reconocimiento de los factores con efectos importantes en la hidrólisis enzimática como la temperatura y pH. Por lo cual se desarrolla una gran cantidad de óptimos locales como una estrategia común para el estudio de las condiciones en las que trabajan las reacciones de hidrólisis. Los hidrolizados de proteína son usados en muchos procesos en la industria alimentaria gracias a sus propiedades funcionales. Los productos obtenidos por una optimización paramétrica y una certera reacción enzimática producen péptidos y aminoácidos con efectos biológicos específicos (Figueroa et al., 2016).

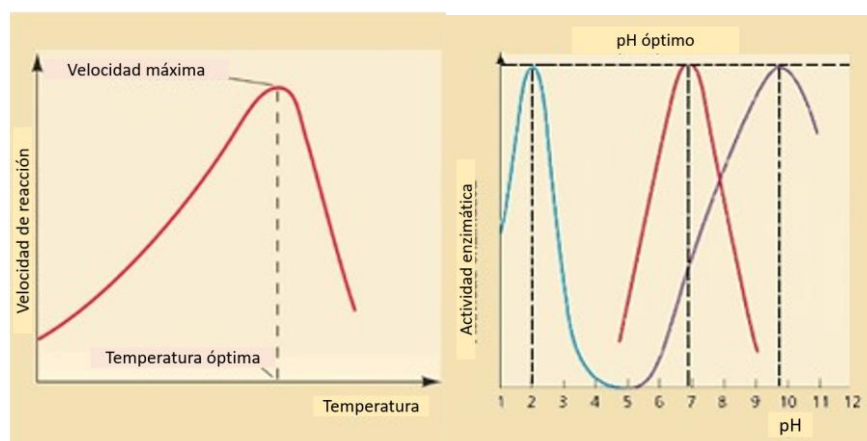


Figura 3. Factores que modifican la actividad enzimática (P. Rojas, 2015).

2.3.8. Efecto de la temperatura en el incremento de biomasa y actividad enzimática

La temperatura es un parámetro ambiental importante en el desarrollo y crecimiento de microorganismos que afecta la velocidad de reproducción y crecimiento alargando o acortando el tiempo de generación. Cada microorganismo posee una curva característica en su tasa de crecimiento en donde se distingue tres puntos llamados temperaturas cardinales; así como temperatura mínima que por debajo de ella no hay crecimiento; temperatura máxima que por encima de ella tampoco existe crecimiento y una temperatura óptima que muestra la tasa máxima de crecimiento (Delgado y Castillo, 2019).

Esta afecta también en la actividad enzimática de hidrolisis de todas las enzimas produciendo un incremento o reducción en la velocidad de la reacción en el cual una temperatura mínima reduce la actividad enzimática por el contrario un incremento de temperatura podría causar la desnaturalización de la enzima (Diestra et al., 2015).

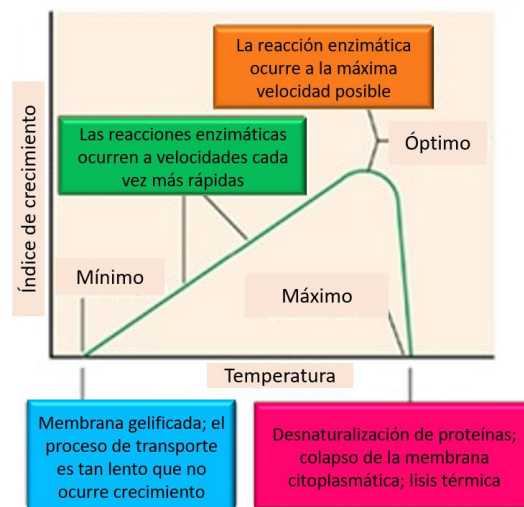


Figura 4. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento microbiano (Perales, 2016).

El género *Bacillus* es muy versátil debido a su gran plasticidad metabólica por los diversos medios y nichos ecológicos en las que se encuentran, lo que le permite crecer en rangos de temperatura de entre 3 y 45 °C (Bravo et al., 2023).

2.3.9. Efecto del pH en el incremento de biomasa y actividad enzimática

El pH es uno de los factores también muy importantes que influyen en el desarrollo de microorganismos, como las bacterias crecen en pH ligeramente ácidos a

neutros, algunos en un medio alcalino y pueden modificar o alterar el pH del medio no amortiguado en el que se encuentran por el producto que genera durante su desarrollo (Cervantes et al., 2017).

Así mismo; el Género *Bacillus* al ser muy versátil metabólicamente también se desarrolla en grandes rangos de pH tolerando los efectos que podría causarle (Bravo et al., 2023). Pero la actividad enzimática que produce sus exoenzimas tienen un rango de acción más corta, teniendo un pequeño rango de pH óptimo donde la actividad es mucho mayor, cambiar el pH fuera de este rango afecta la actividad ralentizando su acción sobre un sustrato; o pH extremos que logran causar en la enzima su desnaturalización (Yañiquez et al., 2019).

2.3.10. Efecto de la concentración de sustrato en el incremento de biomasa y actividad enzimática

La concentración de sustrato es un parámetro que afecta la velocidad de la queratinólisis. La concentración óptima de sustrato varía según la enzima y la cepa bacteriana. La concentración de sustrato puede influir en la velocidad de reacción, la afinidad de la enzima por el sustrato y la estabilidad de la enzima. Por lo general, la concentración óptima de sustrato se encuentra entre 0,5 y 2% (Patil et al., 2019).

2.3.11. Técnicas de medición de proteínas y aminoácidos

a. Método de Bradford

El método de Bradford es un método colorimétrico y espectrofotométrico que obtiene resultados en base a los colores en una solución concreta. Está compuesta por los reactivos Azul de Comassie G-250, ácido fosfórico y etanol. Este reactivo se presenta en tres formas, catiónica doble protonada (color rojizo o café), neutra (color verde) y aniónica (color azul) en el cual se encuentran en equilibrio. En su forma catiónica el reactivo al unirse con la proteína forma un complejo donde dona sus electrones libres hacia los residuos de aminoácidos de la proteína en la solución convirtiéndose en su forma aniónica con una coloración azul y que presenta una absorción máxima de luz a una longitud de onda de 595 nm La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración (Amador, 2021).

b. Método de ninhidrina

El método de ninhidrina o púrpura de Ruhemann es un método colorimétrico y

espectrofotométrico para determinar aminoácidos a través de la identificación de grupos aminos libres (GAL) al reaccionar con la ninhidrina en una solución acuosa. Esta reacción forma una reducción de la ninhidrina a hidrindantina con la liberación de amoníaco (NH_3) y anhídrido carbónico (CO_2), la hidrindantina resultante reacciona a su vez con otra molécula de ninhidrina y amoníaco para formar un complejo doble que presenta una coloración de azul a púrpura. La reacción se da con la mayoría de aminoácidos libres a excepción de la prolina que presenta una coloración amarillenta. Esta coloración presenta una absorción máxima de luz a una longitud de onda de 540 nm que se da en pH de 4 a 9 (Friedman, 2004).

2.3.12. Aplicaciones de la queratinólisis: industriales, médicas y ambientales

La queratinólisis tiene diversas aplicaciones en diferentes campos:

Aplicaciones industriales:

- Producción de cosméticos y productos de cuidado personal: la queratinólisis se utiliza para hidrolizar la queratina y obtener péptidos y aminoácidos que se utilizan en cremas, champús y otros productos.
- Industria textil: la queratinólisis se utiliza para tratar fibras de lana y seda, mejorando su suavidad y resistencia.
- Producción de alimentos: la queratinólisis se utiliza para obtener proteínas y aminoácidos a partir de subproductos de la industria avícola y porcina.

Aplicaciones médicas:

- Tratamiento de enfermedades de la piel: la queratinólisis se utiliza para tratar enfermedades como la psoriasis y la dermatitis.
- Obtención de biomateriales: la queratinólisis se utiliza para obtener biomateriales que se utilizan en la medicina regenerativa.

Aplicaciones ambientales:

- Biorremediación: la queratinólisis se utiliza para degradar contaminantes ambientales como los hidrocarburos.
- Tratamiento de residuos: la queratinólisis se utiliza para tratar residuos orgánicos y reducir su impacto ambiental.

La queratinólisis tiene un gran potencial para ser utilizada en diversas aplicaciones, mejorando la calidad de vida de las personas y reduciendo el

impacto ambiental (Gupta y Ramnani, 2006)

La queratina resultante en péptidos o aminoácidos mediante las enzimas queratinolíticas, pueden ser utilizados como monómeros para producir biopolímeros. Estos biopolímeros tienen propiedades únicas, como biocompatibilidad, biodegradabilidad y resistencia a la degradación enzimática.

Estos biopolímeros tienen aplicaciones potenciales en:

- Materiales médicos: como suturas, parches y matrices para la liberación de fármacos.
- Materiales de embalaje: como películas y envases biodegradables.
- Materiales textiles: como fibras y telas biodegradables.

La producción de biopolímeros a partir de la queratina es una forma sostenible de utilizar recursos naturales y reducir la dependencia de los polímeros sintéticos. Además, estos biopolímeros pueden ser biodegradables y compostables, lo que reduce su impacto ambiental (Daroit y Brandelli, 2014).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del lugar donde se realizó el experimento

La investigación de la optimización de la capacidad queratinolítica de dos cepas bacterianas nativas, se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología Ambiental de la Escuela Profesional de Biología en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Ubicación política y geográfica del Laboratorio de Microbiología Ambiental

Está ubicada políticamente de la siguiente manera:

Región : Ayacucho

Provincia : Huamanga

Distrito : Ayacucho

El lugar donde se realizó el experimento, está ubicado de acuerdo a las coordenadas geográficas y la altitud.

Tabla 1. Coordenadas de ubicación del laboratorio de Microbiología Ambiental.

Provincia	Distrito	Coordenadas		Altitud (m s.n.m.)
		X	Y	
Huamanga	Ayacucho	13° 08' 53" S	74° 13' 12" O	2750

3.3. Unidad de análisis

Está conformada por muestras de plumas y dos cepas nativas con capacidad queratinolítica.

3.4. Metodología y recolección de datos

3.4.1. Obtención de muestras

Las dos cepas nativas, fueron obtenidas como resultado de la investigación titulada “Bacterias queratinofílicas en los vertederos clandestinos de plumas, Ayacucho del 2021”, (Coras, 2024), que fueron codificados de la siguiente manera:

Cepa 1: *Bacillus sanguinis*, aislada de pluma (C6.1)

Cepa 2: *Bacillus sanguinis*, aislada de suelo (C1.S)

Las muestras de plumas, fueron obtenidas de una granja avícola, fueron lavadas y secadas al sol. Posteriormente fueron secados en un horno de 100 a 150 °C durante 45 a 60 min. Finalmente se llevó a una molienda en un batan artesanal de piedra.

Las plumas molidas fueron trasladadas en un recipiente cerrado herméticamente al Laboratorio de Microbiología Ambiental.

3.4.2. Proceso de adaptación de las cepas nativas a sustrato de plumas molidas

- Se preparó una batería de 06 tubos de ensayo, en los cuales se vertieron medio salino basal (MSB) que contienen cloruro de sodio (NaCl) 0,5 g/L, cloruro de magnesio (MgCl) 0,1 g/L, cloruro de amonio (NH₄Cl) 0,5 g/L, fosfato mono potásico (KHPO₄) 0,3 g/L, fosfato di potásico (K₂HPO₄) 0,4 g/L; glucosa, cloruro de calcio (CaCl₂), extracto de levadura y plumas molidas en diferentes concentraciones, según lo descrito en la Tabla 2.
- De los viales que contenían el cultivo de las cepas nativas (C1 y C2), se tomaron dos asadas y se inocularon en los tubos con medios de cultivo en diferentes concentraciones como se describe en el bloque A con sus códigos respectivos, los cuales se incubaron a 30 °C por 24 horas, transcurrido el tiempo se repicaron a los tubos con medios de cultivo con diferentes concentraciones como se describe en el bloque B y finalmente se repicaron a los tubos con medios de cultivos como se describe en el bloque C, e incubados según lo descrito en la tabla.

Tabla 2. Concentración de componentes de medio de cultivo para el proceso de adaptación a sustrato de plumas molidas.

Bloque	Cepa	Contenido por tubo					Periodo de incubación (días)
		MBS (mL)	Glucosa (mg)	Cloruro de Calcio (mg)	Extracto de levadura (mg)	Plumas molidas (mg)	
A	C1	10	100	20	30	60	1
	C2	10	100	20	30	60	
B	C1	10	50	20	20	120	2
	C2	10	50	20	20	120	
C	C1	10	10	20	10	240	3
	C2	10	10	20	10	240	

MSB : Medio Salino Basal

- Finalmente, transcurrido los periodos de incubación, se tomaron tres inóculos con hisopos estériles del bloque C y fueron sembrados en tres placas de Petri para cada cepa con agar nutritivo (AN) de modo que la siembra cubra toda la superficie del medio e incubados a 30 °C por 24 a 48 horas con la finalidad de obtener biomasa microbiana. Se reservó para la evaluación de degradación de queratina. Se repitió el proceso para cada una de las cuatro etapas en la evaluación de parámetros óptimos de degradación de queratina en plumas molidas (López, 2020).

3.4.3. Determinación de los parámetros óptimos de degradación de queratina en plumas molidas

a. Preparación del inóculo

- De las tres placas de Petri con biomasa de cepas nativas adaptadas a la degradación de pluma, con la ayuda de dos hisopos estériles, se cosecharon y se transfirieron en dos matraces conteniendo 300 mL de solución salina fisiológica (SSF) en condiciones asépticas.
- Para determinar la concentración (cel/mL) de inóculo microbiano contenidos en el matraz, se comparó el grado de turbidez con el tubo N° 5 de la escala Mc Farland (15×10^8 cel/mL).

b. Preparación de medios y sembrado de inóculo

- Para cada etapa se preparó una batería de 63 frascos de vidrio de 600 mL de capacidad, las cuales 27 frascos fueron rotulados para la Cepa C1, 27 frascos para la Cepa C2 y 09 frascos para el blanco B.

Tabla 3. Tratamientos para la determinación de los parámetros óptimos de la capacidad queratinolítica de dos cepas bacterianas nativas. Ayacucho, 2023.

Etapa	Parámetro			Cepa 1			Cepa 2			Control
	Temperatura (°C)	pH	Sustrato (mg/mL)	Tratamiento I			Tratamiento II			Blanco
				Repeticiones			Repeticiones			
				A	B	C	A	B	C	
I	Amb	7	10	A,7,10,I,A	A,7,10,I,B	A,7,10,I,C	A,7,10,II,A	A,7,10,II,B	A,7,10,II,C	A,7,10,0,B
			15	A,7,15,I,A	A,7,15,I,B	A,7,15,I,C	A,7,15,II,A	A,7,15,II,B	A,7,15,II,C	A,7,15,0,B
			20	A,7,20,I,A	A,7,20,I,B	A,7,20,I,C	A,7,20,II,A	A,7,20,II,B	A,7,20,II,C	A,7,20,0,B
		8	10	A,8,10,I,A	A,8,10,I,B	A,8,10,I,C	A,8,10,II,A	A,8,10,II,B	A,8,10,II,C	A,8,10,0,B
			15	A,8,15,I,A	A,8,15,I,B	A,8,15,I,C	A,8,15,II,A	A,8,15,II,B	A,8,15,II,C	A,8,15,0,B
			20	A,8,20,I,A	A,8,20,I,B	A,8,20,I,C	A,8,20,II,A	A,8,20,II,B	A,8,20,II,C	A,8,20,0,B
		9	10	A,9,10,I,A	A,9,10,I,B	A,9,10,I,C	A,9,10,II,A	A,9,10,II,B	A,9,10,II,C	A,9,10,0,B
			15	A,9,15,I,A	A,9,15,I,B	A,9,15,I,C	A,9,15,II,A	A,9,15,II,B	A,9,15,II,C	A,9,15,0,B
			20	A,9,20,I,A	A,9,20,I,B	A,9,20,I,C	A,9,20,II,A	A,9,20,II,B	A,9,20,II,C	A,9,20,0,B
II	30	7	10	30,7,10,I,A	30,7,10,I,B	30,7,10,I,C	30,7,10,II,A	30,7,10,II,B	30,7,10,II,C	30,7,10,0,B
			15	30,7,15,I,A	30,7,15,I,B	30,7,15,I,C	30,7,15,II,A	30,7,15,II,B	30,7,15,II,C	30,7,15,0,B
			20	30,7,20,I,A	30,7,20,I,B	30,7,20,I,C	30,7,20,II,A	30,7,20,II,B	30,7,20,II,C	30,7,20,0,B
		8	10	30,8,10,I,A	30,8,10,I,B	30,8,10,I,C	30,8,10,II,A	30,8,10,II,B	30,8,10,II,C	30,8,10,0,B
			15	30,8,15,I,A	30,8,15,I,B	30,8,15,I,C	30,8,15,II,A	30,8,15,II,B	30,8,15,II,C	30,8,15,0,B
			20	30,8,20,I,A	30,8,20,I,B	30,8,20,I,C	30,8,20,II,A	30,8,20,II,B	30,8,20,II,C	30,8,20,0,B
		9	10	30,9,10,I,A	30,9,10,I,B	30,9,10,I,C	30,9,10,II,A	30,9,10,II,B	30,9,10,II,C	30,9,10,0,B
			15	30,9,15,I,A	30,9,15,I,B	30,9,15,I,C	30,9,15,II,A	30,9,15,II,B	30,9,15,II,C	30,9,15,0,B
			20	30,9,20,I,A	30,9,20,I,B	30,9,20,I,C	30,9,20,II,A	30,9,20,II,B	30,9,20,II,C	30,9,20,0,B
III	35	7	10	35,7,10,I,A	35,7,10,I,B	35,7,10,I,C	35,7,10,II,A	35,7,10,II,B	35,7,10,II,C	35,7,10,0,B
			15	35,7,15,I,A	35,7,15,I,B	35,7,15,I,C	35,7,15,II,A	35,7,15,II,B	35,7,15,II,C	35,7,15,0,B
			20	35,7,20,I,A	35,7,20,I,B	35,7,20,I,C	35,7,20,II,A	35,7,20,II,B	35,7,20,II,C	35,7,20,0,B
		8	10	35,8,10,I,A	35,8,10,I,B	35,8,10,I,C	35,8,10,II,A	35,8,10,II,B	35,8,10,II,C	35,8,10,0,B
			15	35,8,15,I,A	35,8,15,I,B	35,8,15,I,C	35,8,15,II,A	35,8,15,II,B	35,8,15,II,C	35,8,15,0,B
			20	35,8,20,I,A	35,8,20,I,B	35,8,20,I,C	35,8,20,II,A	35,8,20,II,B	35,8,20,II,C	35,8,20,0,B
		9	10	35,9,10,I,A	35,9,10,I,B	35,9,10,I,C	35,9,10,II,A	35,9,10,II,B	35,9,10,II,C	35,9,10,0,B
			15	35,9,15,I,A	35,9,15,I,B	35,9,15,I,C	35,9,15,II,A	35,9,15,II,B	35,9,15,II,C	35,9,15,0,B
			20	35,9,20,I,A	35,9,20,I,B	35,9,20,I,C	35,9,20,II,A	35,9,20,II,B	35,9,20,II,C	35,9,20,0,B
IV	40	7	10	40,7,10,I,A	40,7,10,I,B	40,7,10,I,C	40,7,10,II,A	40,7,10,II,B	40,7,10,II,C	40,7,10,0,B
			15	40,7,15,I,A	40,7,15,I,B	40,7,15,I,C	40,7,15,II,A	40,7,15,II,B	40,7,15,II,C	40,7,15,0,B
			20	40,7,20,I,A	40,7,20,I,B	40,7,20,I,C	40,7,20,II,A	40,7,20,II,B	40,7,20,II,C	40,7,20,0,B
		8	10	40,8,10,I,A	40,8,10,I,B	40,8,10,I,C	40,8,10,II,A	40,8,10,II,B	40,8,10,II,C	40,8,10,0,B
			15	40,8,15,I,A	40,8,15,I,B	40,8,15,I,C	40,8,15,II,A	40,8,15,II,B	40,8,15,II,C	40,8,15,0,B
			20	40,8,20,I,A	40,8,20,I,B	40,8,20,I,C	40,8,20,II,A	40,8,20,II,B	40,8,20,II,C	40,8,20,0,B
		9	10	40,9,10,I,A	40,9,10,I,B	40,9,10,I,C	40,9,10,II,A	40,9,10,II,B	40,9,10,II,C	40,9,10,0,B
			15	40,9,15,I,A	40,9,15,I,B	40,9,15,I,C	40,9,15,II,A	40,9,15,II,B	40,9,15,II,C	40,9,15,0,B
			20	40,9,20,I,A	40,9,20,I,B	40,9,20,I,C	40,9,20,II,A	40,9,20,II,B	40,9,20,II,C	40,9,20,0,B

- Para cada frasco se prepararon 100 mL MSB y suplementadas con plumas.
- Se hicieron los ajustes del pH para cada caso con alícuotas de hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 N
- Se añadieron los sustratos según lo descrito en la tabla 3.
- Luego fueron llevadas a esterilización a 121 °C, 15 lb/pulg² de presión por 15 minutos.
- Se agregaron 10 mL de una suspensión de inóculo de las cepas bacterianas nativas a cada una de los frascos con MSB suplementadas con plumas, excepto a los frascos considerados como blanco.
- Posteriormente, los frascos fueron incubación a la temperatura descrita para cada etapa, con una agitación manual cada seis horas por un periodo de 1 – 2 min, durante 10 días (240 horas).
- En los días 1 y 10 de incubación, se procedieron a medir la concentración de proteínas y aminoácidos en la fase líquida de los cultivos.
- Con los resultados obtenidos de los parámetros evaluados, se determinó la temperatura, pH y concentración sustrato óptimos para la degradación de la pluma (Hernández, 2020).

3.4.4. Evaluación de la producción de biomasa, concentración de proteínas y aminoácidos resultados de la degradación de la queratina de plumas

Con la temperatura, pH y concentración de sustrato óptimo se procedió a realizar la siguiente fase de la investigación que consistió en:

- Para la determinación de biomasa y concentraciones de proteínas y aminoácidos, las cepas nativas fueron sometidas a 23 días (552 horas) de cultivo con tres repeticiones por cada cepa.
- Se prepararon siete frascos de vidrio de 600 mL de capacidad, los cuales tres frascos fueron rotulados para la Cepa C1 (1, 2 y 3), tres frascos rotulados para la Cepa C2 (4, 5 y 6) y un frasco rotulado como (7) para el blanco.
- Se agregó a cada frasco 300 mL de MSB, suplementadas con plumas. Se ajustó al pH y concentración de sustrato óptimos. Luego fueron esterilizados en autoclave.
- Se agregó 30 mL de una suspensión de inóculo preparadas y reservadas

de las cepas bacterianas nativas, a cada uno de los frascos del experimento, excepto el blanco.

- Se llevaron los siete frascos a incubación a la temperatura óptima obtenida en los experimentos anteriores, con una agitación manual de 3 veces por día, con lecturas de biomasa, proteínas y aminoácidos cada 24 horas durante 23 días, considerando como tiempo cero las evaluaciones iniciales.

3.4.5. Determinación de biomasa en la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina en plumas molidas

- Se tomó 10 mL de cada una de los siete frascos y se vertió en una primera batería de siete tubos de ensayos rotulados (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7), luego fueron filtrados con el equipo con bomba de succión al vacío con el filtro Whatman grado 40. Se reservaron para los siguientes procedimientos.
- Se tomó 1,5 mL del cultivo filtrado y fue sometido a la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro Thermo Scientific a 600 nm para la determinación de biomasa.
- Para el porcentaje de incremento (%) de biomasa se utilizó la fórmula:

$$\text{Incremento (\%)} = \frac{\text{Biomasa final} - \text{Biomasa inicial (t0)}}{\text{Biomasa inicial (t0)}} \times 100$$

- Para la determinación de la biomasa se utilizó la ecuación de regresión lineal obtenida en la estandarización de la curva patrón de biomasa (Fernández y Galván, 2015).

3.4.6. Estandarización de la curva patrón para la determinación de biomasa microbiana

- Se tomaron dos asadas de la cepa nativa C1 y se inoculó en un matraz con 150 mL de medio salino basal (MSB) suplementadas con 1,25 g de plumas molidas.
- Se llevó a agitación manual de 3 veces por día e incubadas a 30 °C por 24 – 48 horas.
- Se realizó la comparación de la turbidez con la escala Mc Farland tubo N° 5 (15×10^8 cel/mL).

- Para la retención de las partículas grandes (plumas) presentes en el cultivo, este fue filtrado a través del filtro Whatman grado 40 con el uso de una bomba de succión al vacío.
- El cultivo filtrado, fue transferido a seis tubos de ensayo a razón de 30, 25, 20, 15, 10 y 5 mL, a cada tubo se le agregó agua destilada a razón de 0, 5, 10, 15, 20 y 25 mL, respectivamente, así se obtuvieron seis tubos con diferentes concentraciones de número de células bacterianas. Estos procedimientos fueron replicados para la cepa nativa C2.
- La turbidez resultante en cada tubo, fue sometida a lectura de Absorbancia en un espectrofotómetro Thermo Scientific a 600 nm, los datos obtenidos fueron sometidos a cálculos de prueba de regresión lineal.
- Paralelamente, el cultivo filtrado a través del papel Whatman y contenidos en los seis tubos descritos en el ítem anterior, fueron sometidos a una segunda filtración, a través de un filtro de membrana, previamente pesado (mg), de 0,45 µm de porosidad, cada filtro de membrana fue retirada del equipo de filtración y colocada en placas de Petri y secadas en estufa a 95°C por 24 horas, transcurrido el tiempo fueron pesados en una balanza analítica. Para el cálculo de biomasa se utilizó la siguiente fórmula.

$$\text{Peso seco biomasa (mg/mL)} = \frac{\text{Peso de la membrana con biomasa (mg)} - \text{Peso de membrana sin biomasa (mg)}}{\text{Contenido del tubo (mL)}}$$

- Los datos obtenidos fueron llevados a un plano cartesiano del programa de Excel para el cálculo R², relacionando la Absorbancia (Abs) con la biomasa (mg/mL) (Arnaiz et al., 2000).

3.4.7. Determinación de proteínas totales en la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina en plumas molidas

- La determinación de proteínas se realizó usando la técnica de Bradford.
- Se tomó 10 mL de cada uno de los frascos y se vertió en una primera batería de tubos de ensayos rotuladas con los mismos códigos que los frascos. Se dejó reposar durante 30 min.
- Se tomó 0,2 mL del sobrenadante de las muestras y se vertió en una segunda batería de tubos de ensayo rotuladas, se agregó 2 mL del reactivo de Bradford previamente preparado, el cual reaccionó de una coloración marrón claro a un azul (la cantidad de proteínas es proporcional a la

intensidad de la coloración), se dejó reposar durante 2 – 5 min. El filtrado sobrante se reservó para la determinación de aminoácidos (Altervista, 2021).

- Posteriormente se llevó a lectura de Absorbancia en espectrofotómetro Thermo Scientific a 595 nm y se anotaron los resultados.
- Para la determinación de la concentración de proteínas se utilizó la ecuación de regresión lineal obtenidas en la estandarización de la curva patrón de proteínas (Fernández y Galván, 2015).

3.4.8. Estandarización de la curva patrón para la determinación de proteínas totales

- La preparación del reactivo de Bradford se realizó previamente. Se reservó en una botella de vidrio color ámbar.
- Se preparó una solución estándar de la proteína de Albúmina de Suero Bovino (ASB) en una concentración de 0,5 mg/mL con agua destilada. Para lo cual se realizó 4 diluciones con 1 blanco.
- Se rotularon 05 tubos de ensayo de 13 x 100 mm (1, 2, 3, 4 y blanco) donde se agregó 4 mL del reactivo de Bradford a cada tubo, obteniendo las siguientes concentraciones de Albúmina de Suero Bovino: tubo 1 con 0,125, tubo 2 con 0,250, tubo 3 con 0,375, tubo 4 con 0,500 y blanco con 0,000 en mg/mL.
- Se dejó reposar durante 2 – 5 minutos.
- Finalmente se llevó a lectura de Absorbancia en un espectrofotómetro Thermo Scientific a 595 nm, los datos obtenidos fueron sometidos a cálculos de prueba de regresión lineal y cálculo del valor de R^2 .
- Los datos obtenidos de la prueba de regresión lineal fueron llevados a un plano cartesiano, relacionando la Absorbancia (Abs) con la concentración de proteínas (mg/mL) (Fernández y Galván, 2015).

3.4.9. Determinación de aminoácidos en la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina en plumas molidas

- La cuantificación de aminoácidos se realizó usando la técnica de Ninhidrina al 10%.
- Se tomó 5 mL del cultivo filtrado en la determinación de proteínas y se vertió en una batería de tubos de ensayos rotuladas con los mismos

códigos que los frascos. El cultivo fue sometido a un segundo filtrado en el equipo con bomba de succión al vacío con un filtro de membrana de 0,45 μm de porosidad. Se vertió el filtrado en otra batería de tubos debidamente rotulados.

- Seguidamente se agregó a cada tubo 5 gotas de la solución de ninhidrina al 10%, la mezcla se llevó a baño maría durante 15 min y se enfrió en agua helada (4 °C) durante 5 min, se dejó estabilizar por 1 min.
- Posteriormente se llevó a lectura de Absorbancia en espectrofotómetro Thermo Scientific a 540 nm de los grupos aminos libres (GAL) y se anotaron los resultados.
- Para la determinación de la mayor concentración de aminoácidos se utilizó la ecuación de regresión lineal obtenidas en la estandarización de la curva patrón de aminoácidos (Fernández y Galván, 2015).

3.4.10. Estandarización de la curva patrón para la determinación de aminoácidos

- Se preparó una solución estándar del aminoácido de glicina en una concentración de 5 mg/mL con agua destilada. Para lo cual se realizó 5 diluciones con 1 blanco.
- Se rotularon 06 tubos de ensayo de 13 x 100 mm (1, 2, 3, 4, 5 y blanco), obteniendo las siguientes concentraciones de glicina: tubo 1 con 0,5, tubo 2 con 1,0, tubo 3 con 1,5, tubo 4 con 2,0, tubo 5 con 2,5 y blanco con 0,0 en mg/mL.
- Se agregó 0,05 mL de Ninhidrina al 10% a cada uno de los tubos incluido el blanco.
- La mezcla se llevó a baño maría durante 15 min y se enfrió en agua helada (4 °C) durante 5 min, se dejó estabilizar por 1 min.
- Finalmente, se llevó a lectura de Absorbancia en un espectrofotómetro Thermo Scientific a 540 nm, los datos obtenidos fueron sometidos a cálculos de prueba de regresión lineal y cálculo del valor de R^2 .
- Los datos obtenidos de la prueba de regresión lineal fueron llevados a un plano cartesiano, relacionando la Absorbancia (Abs) con la concentración de proteínas (mg/mL) (Fernández y Galván, 2015).

IV. RESULTADOS

Figura 5. Interacción de las concentraciones de proteínas (mg/mL) resultado de la degradación de plumas por acción de dos cepas bacterianas nativas, incubados a diferentes temperaturas, pH y concentraciones de sustrato. Ayacucho – 2024.

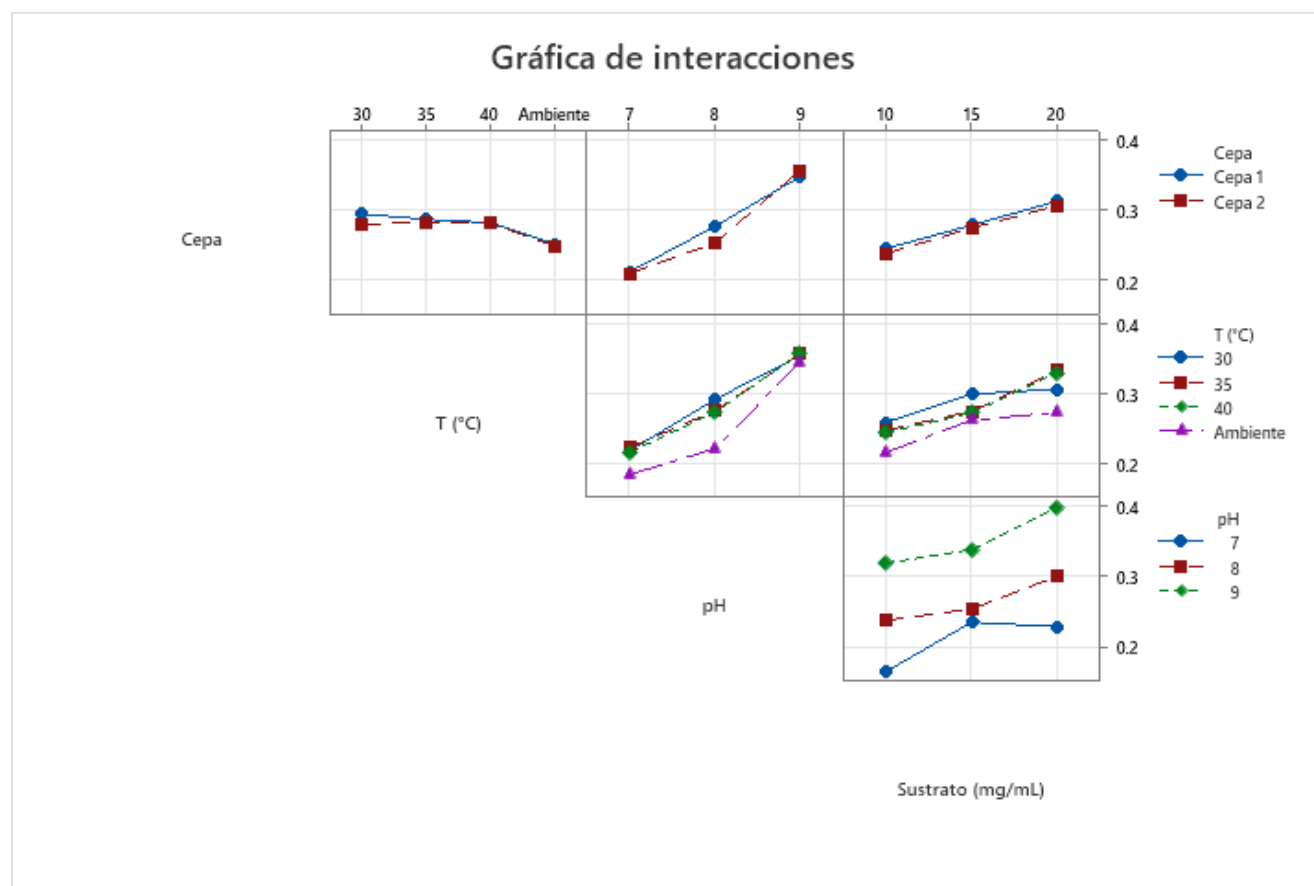


Figura 6. Interacción de las concentraciones de aminoácidos (mg/mL) resultado de la degradación de plumas por acción de dos cepas bacterianas nativas, incubados a diferentes temperaturas, pH y concentraciones de sustrato. Ayacucho – 2024.

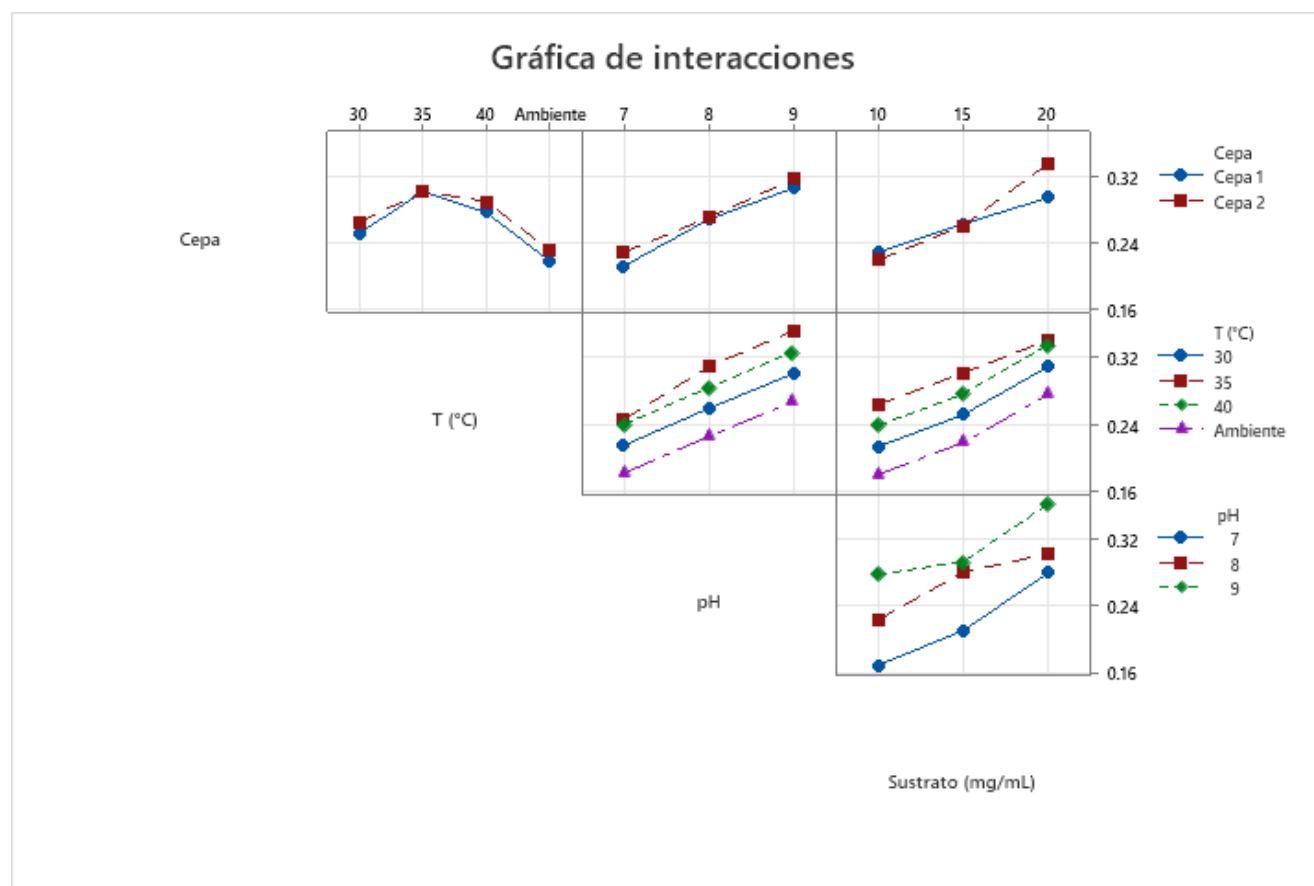


Figura 7. Valores promedios de la biomasa (mg/mL) durante 23 días de incubación a temperatura, pH y concentraciones de sustrato óptimos, de las cepas C1 y C2. Ayacucho – 2024.

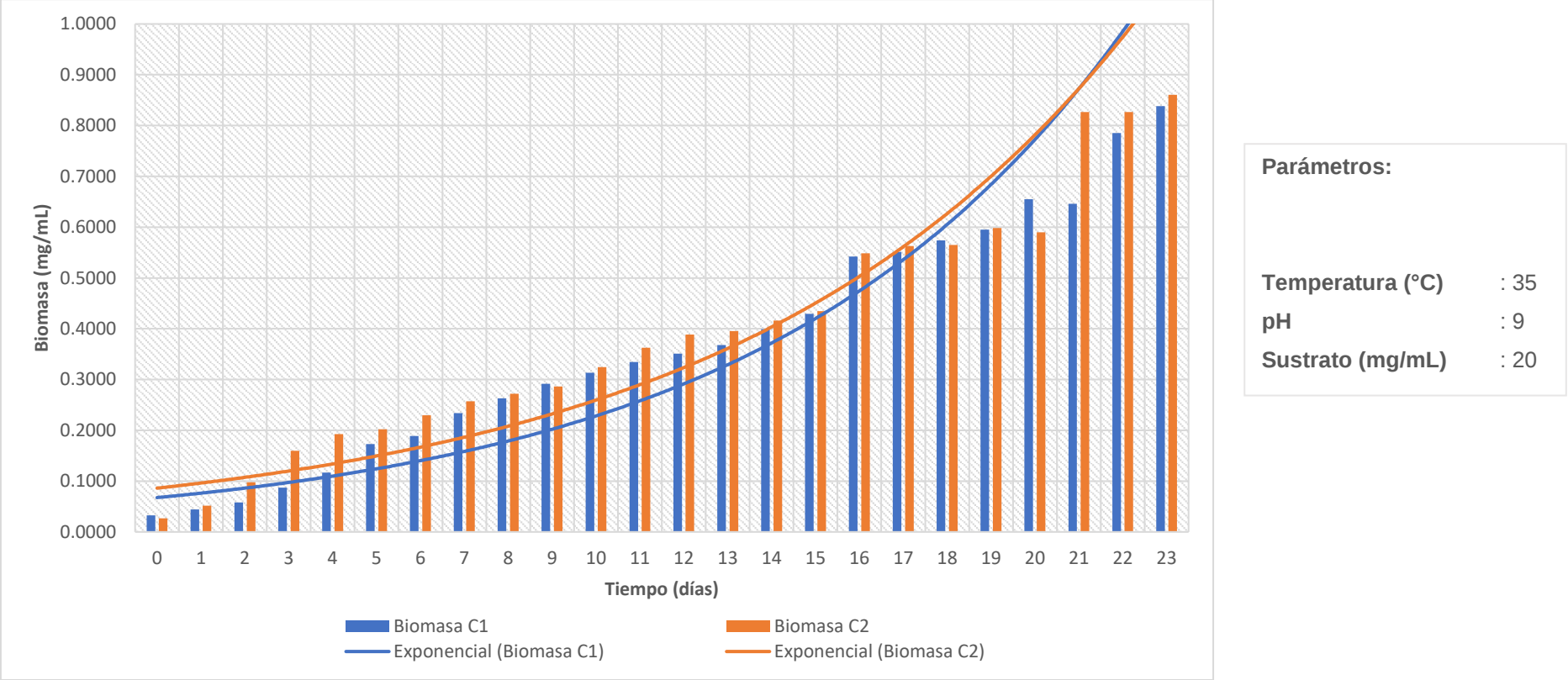


Figura 8. Valores promedios de las concentraciones de proteínas (mg/mL) durante 23 días de incubación a temperatura, pH y concentraciones de sustrato óptimos, de las cepas C1 y C2. Ayacucho – 2024.

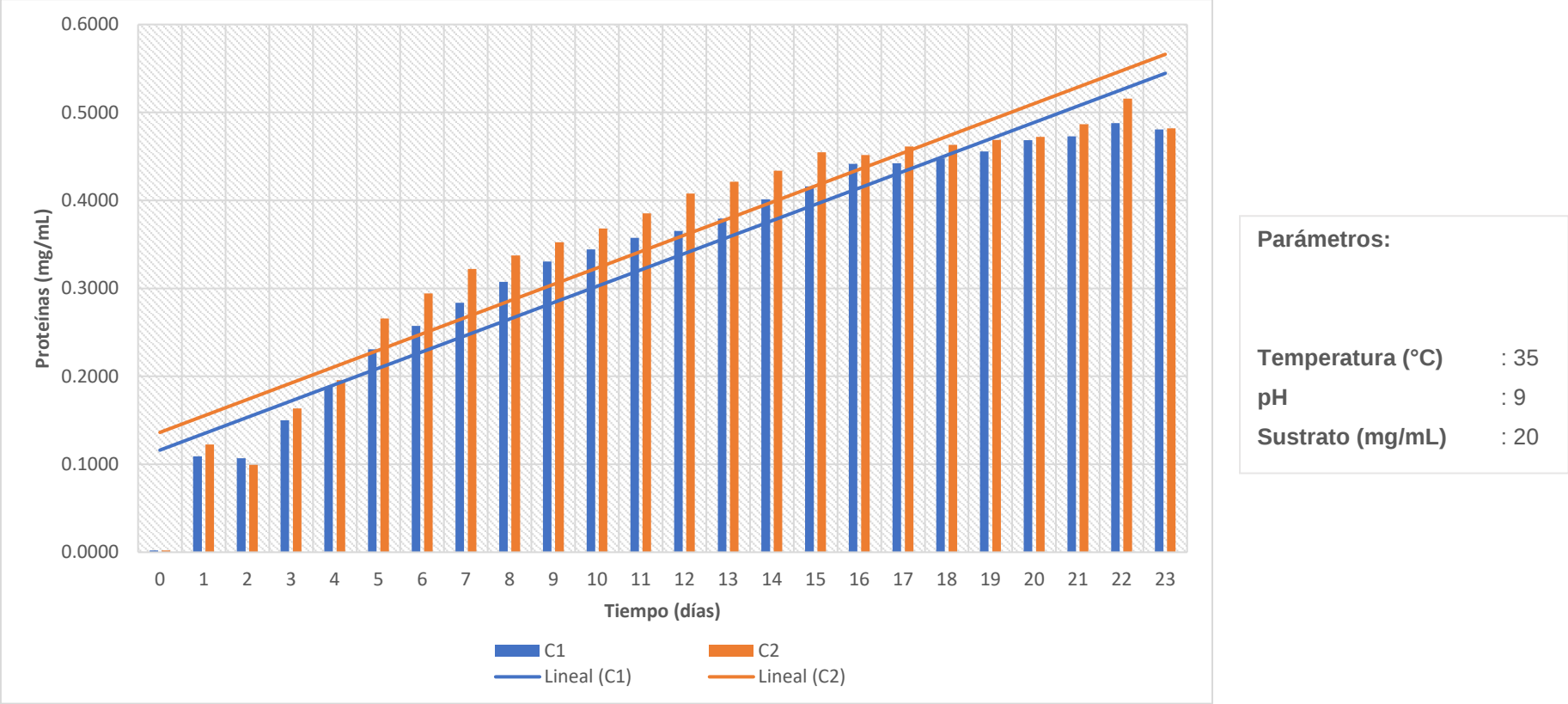


Figura 9. Valores promedios de las concentraciones de aminoácidos (mg/mL) durante 23 días de incubación a temperatura, pH y concentraciones de sustrato óptimos, de las cepas C1 y C2. Ayacucho – 2024.

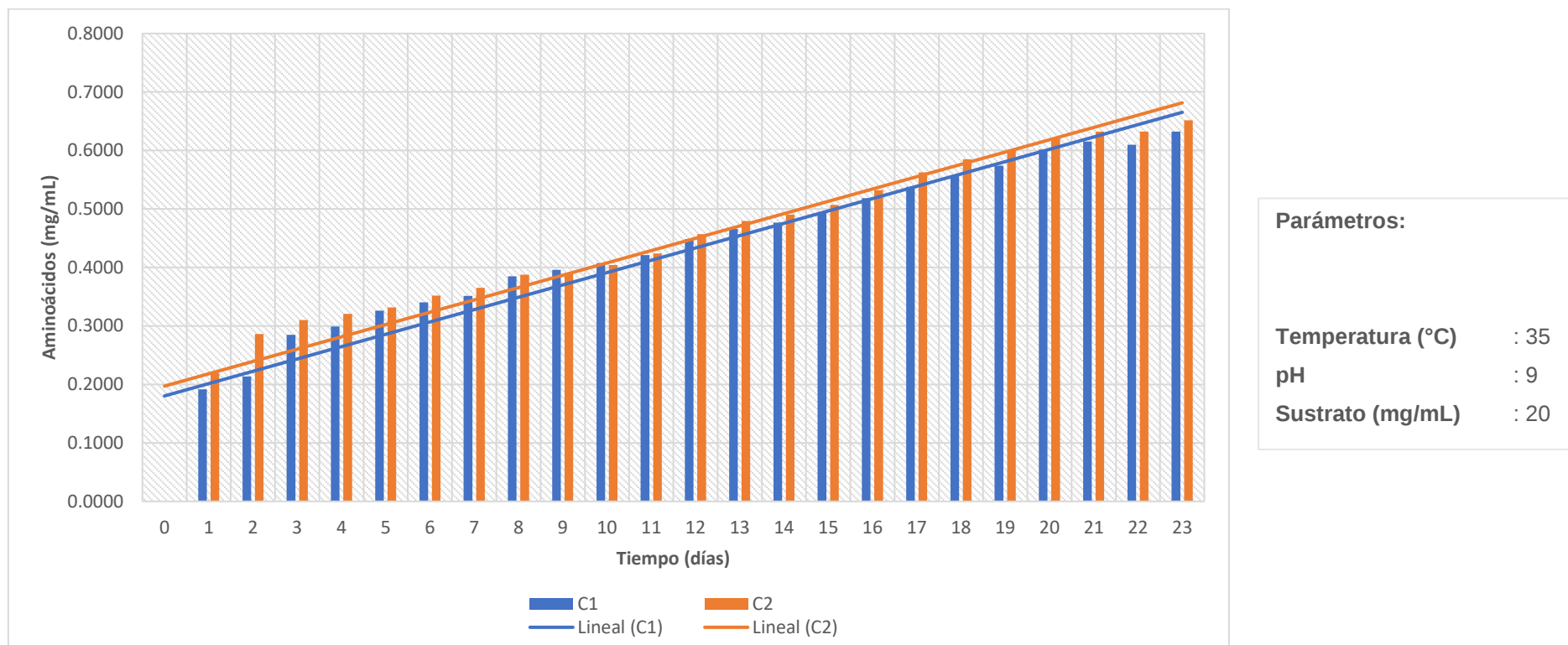
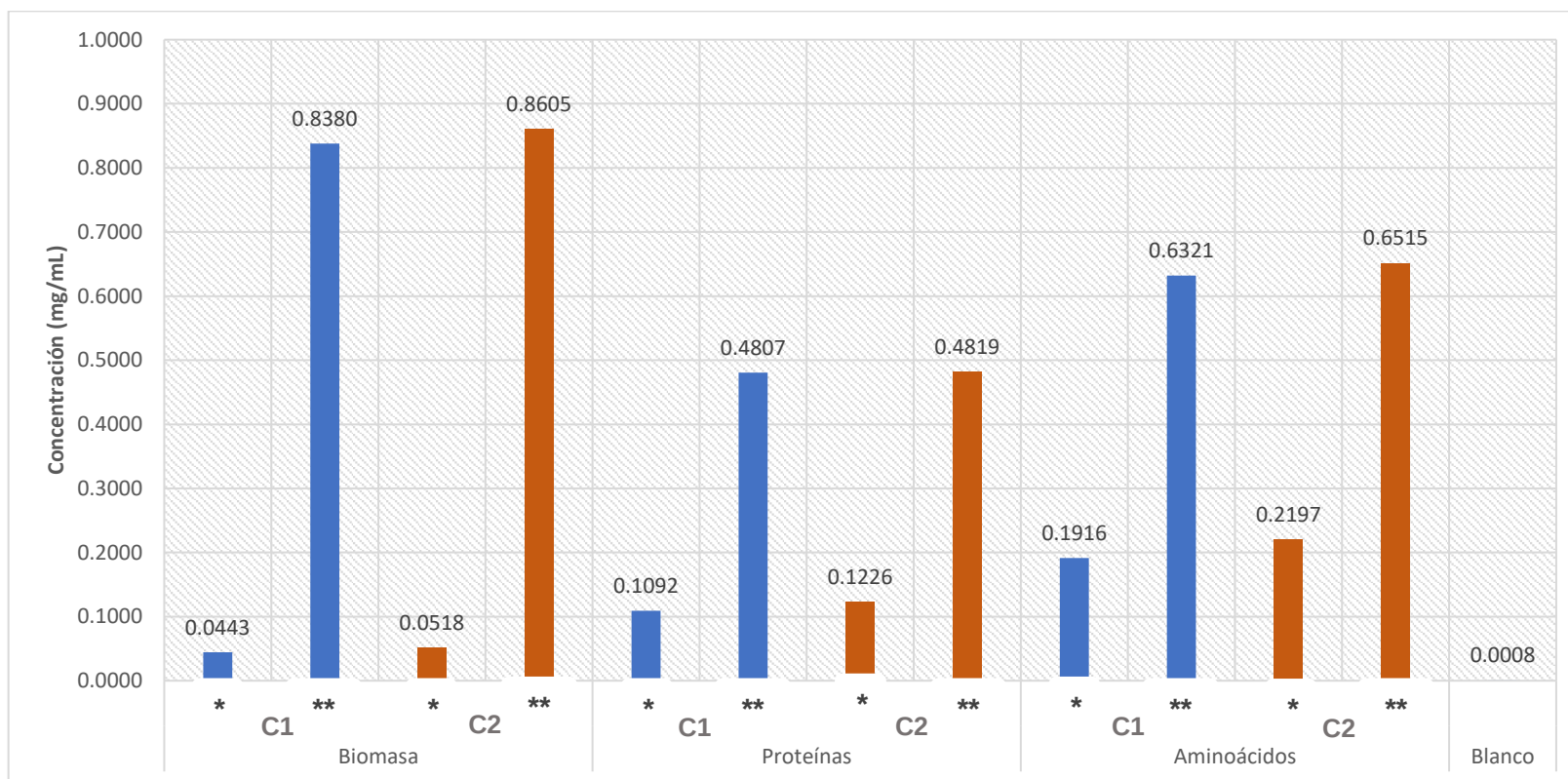


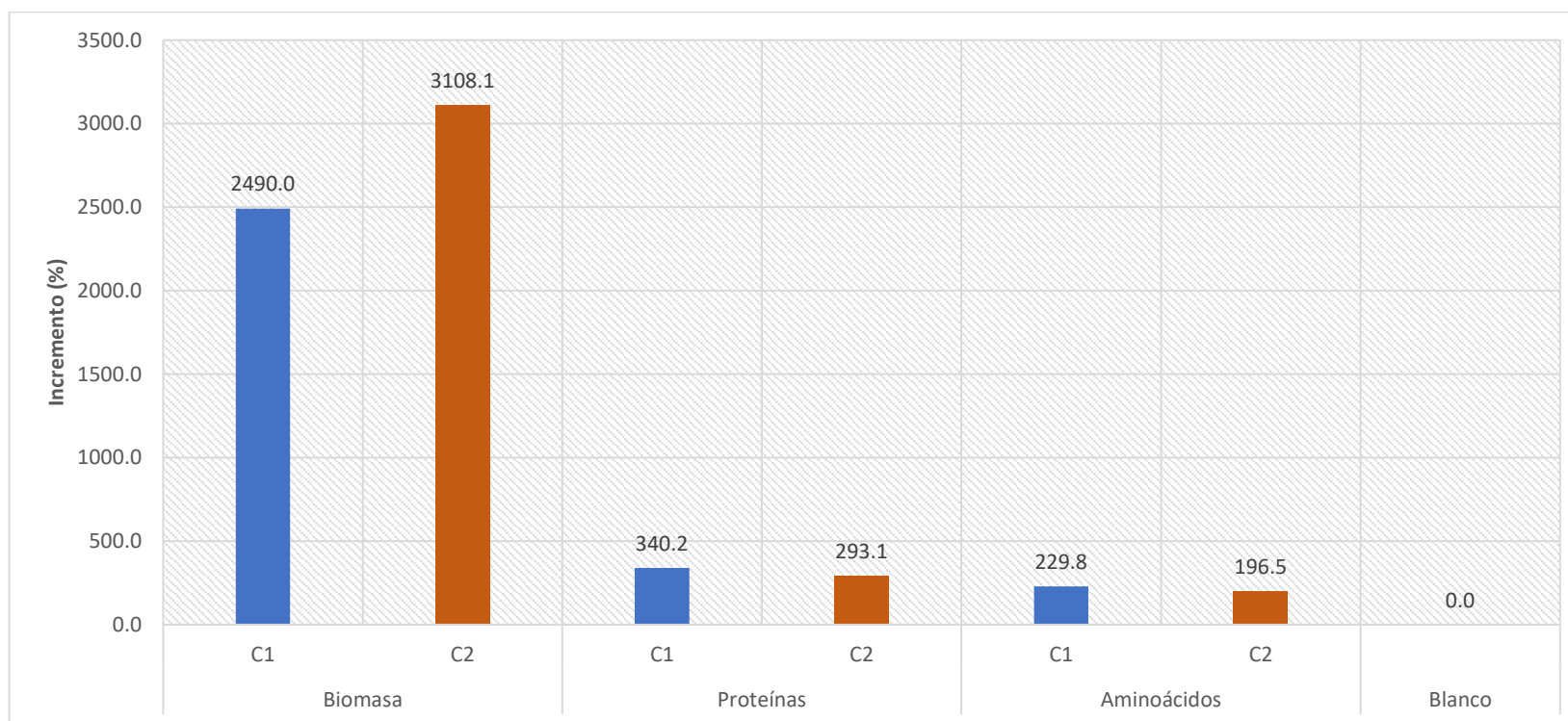
Figura 10. Valores promedios finales de las concentraciones de biomasa, proteínas y aminoácidos (mg/mL) en el día 1 (24 horas) y 23 (552 horas) de incubación a temperatura, pH y concentración de sustrato óptimos, de las cepas bacterianas C1 y C2. Ayacucho – 2024.



(*) : 24 horas

(**) : 552 horas

Figura 11. Porcentaje promedio de incremento (%) de biomasa, concentración de proteínas y aminoácidos, en 23 días de incubación a temperatura, pH y concentración de sustrato óptimos, de las cepas bacterianas C1 y C2. Ayacucho – 2024.



V. DISCUSIÓN

En la Figura 5, se observan las interacciones de las concentraciones de proteínas (mg/mL) durante 1 y 10 días de incubación en medio salino basal (MSB) suplementadas con plumas molidas, de las dos cepas bacterianas nativas cepa C1 y cepa C2, realizado con tres diferentes parámetros de temperatura (ambiente, 30, 35 y 40 °C), pH (7, 8 y 9) y concentración de sustrato de plumas (10, 15 y 20 mg/mL). En el cual se muestra una concentración mínima de 0,2319 mg/mL en temperatura ambiente y una máxima de 0,3558 mg/mL a 35 °C al primer día (24 horas), y una concentración mínima de 0,3739 mg/mL en temperatura ambiente y una máxima de 0,4026 mg/mL al día 10 (240 horas) para la cepa C1, promedios tomados a pH 9 y 20 mg/mL de sustrato de plumas molidas. Para la cepa C2 se muestra una concentración mínima de 0,2270 mg/mL en temperatura ambiente y una máxima de 0,3473 mg/mL a 35 °C al primer día (24 horas), y una concentración mínima de 0,3903 mg/mL en temperatura ambiente y una máxima de 0,4133 mg/mL al día 10 (240 horas) promedios máximos tomados a pH 9 y 20 mg/mL de sustrato de plumas molidas. Estos promedios muestran las condiciones óptimas de degradación de queratina de las plumas de pollo a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato (plumas molidas), evaluados con el método de Bradford, estos resultados son comparables con los datos obtenidos por Alahyaribeik et al., (2020), demostraron que la actividad queratinolítica de *Bacillus licheniformis* ocurre en su máxima capacidad a una concentración de 30 mg/mL de sustrato (plumas molidas), 40 °C de temperatura y pH 10, similar a los resultados obtenidos en la presente investigación con la diferencia, en el que se tuvo a 35 °C de temperatura, pH 9 y 20 mg/mL, como condición óptima de degradación de queratina en plumas de pollo, por otro lado; López, (2020), da a conocer a una bacteria de la especie *Bacillus licheniformis*, la cual obtuvo valores altos de

producción de enzimas a pH de 7, 8, 9 y 10, las cepas C1 y C2 del estudio tienen una mayor actividad enzimática a pH 9, en tanto, Montes, (2020), muestra la actividad queratinolítica óptima de las proteasas en un rango de pH de 9 – 12 obteniendo una optimización proteolítica en un 80 – 90 % de su capacidad degradadora de queratinas, al igual, Hernández, (2020), quien demostró la actividad queratinolítica óptima de una cepa bacteriana a una temperatura de 32 °C en 5 días de cultivo en un medio mínimo suplementado con plumas de pollo, donde se evidencia cualitativamente la actividad de la síntesis de proteasas y queratinasas para la degradación de la queratina, que ocurre en mayor medida a 32 °C en comparación a temperaturas inferiores o superiores, estas enzimas actúan rompiendo los enlaces peptídicos formados por los aminoácidos presentes en las proteínas

En la Figura 6, se observan las interacciones de la obtención de aminoácidos producto de la hidrólisis de queratina en mg/mL, al día 1 y 10 de incubación en medio salino basal (MSB) suplementadas con plumas molidas, de las dos cepas bacterianas nativas cepa C1 y cepa C2, realizado con tres diferentes parámetros de temperatura (ambiente, 30, 35 y 40 °C), pH (7, 8 y 9) y concentración de sustrato de plumas (10, 15 y 20 mg/mL). En la cual se muestra una concentración mínima de 0,2183 mg/mL en temperatura ambiente y una máxima de 0,3044 mg/mL a 35 °C al primer día (24 horas), y una concentración mínima de 0,3016 mg/mL en temperatura ambiente y una máxima de 0,3877 mg/mL al día 10 (240 horas) para la cepa C1, promedios tomados a pH 9 y 20 mg/mL de sustrato de plumas molidas. Para la cepa C2 se muestra una concentración mínima de 0,2211 mg/mL en temperatura ambiente y una máxima de 0,3072 mg/mL a 35 °C al primer día (24 horas), y una concentración mínima de 0,3322 mg/mL en temperatura ambiente y una máxima de 0,4183 mg/mL al día 10 (240 horas) promedios máximos tomados a pH 9 y 20 mg/mL de sustrato de plumas molidas. Estos promedios muestran las tres condiciones óptimas de degradación de queratina a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato (plumas molidas), evaluadas con el método de ninhidrina al 10%, resultados de los parámetros similares a los obtenidos por Piñero et al., (2020), quien demostró la actividad queratinolítica óptima de una cepa LPB-2 del género *Bacillus* a 35 y 40 °C y 20 mg/mL de sustrato en MSB demostrando la presencia cualitativa de grupos aminos libres (GAL) usando también el método de ninhidrina a través de la coloración púrpura de las muestras. Estos parámetros optimizan la producción de la enzima disulfuro reductasa y

queratinasas que actúan en simultaneo con las proteasas rompiendo los puentes disulfuro y modificando la estructura aminoacídica de la lámina de beta queratina originando sitios hidrolíticos para el ataque proteolítico en la queratina de las plumas, lo que origina una reacción de desaminación y la liberación de exceso de nitrógeno manteniendo el pH alcalino de los tratamientos.

En la Figura 10, se muestran los valores promedios finales de biomasa microbiana, proteínas y aminoácidos presentes en los medios de cultivo de las dos cepas bacterianas nativas queratinolíticas *Bacillus sanguinis* (C1 - pluma) y *Bacillus sanguinis* (C2 - suelo) en 23 días de incubación en condiciones de los parámetros óptimos de crecimiento y degradación de 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL, con el uso de filtros Whatman grado 40 que permite la retención de partículas grandes y permite el paso de las proteínas y la biomasa a través de su porosidad de 8 µm y filtro de membrana con 0,45 µm de porosidad que retiene la biomasa y asegura el paso únicamente de aminoácidos. La concentración de biomasa fue de 0,8380 mg/mL para la cepa C1 y 0,8605 mg/mL para la cepa C2 valores mayores comparados con los resultados obtenidos por Coras, (2024), quien reportó una biomasa de 0,1612 mg/mL para la cepa C6.1 y 0,1994 mg/mL para la cepa C1.S ambas del género *Bacillus* de la especie *B. sanguinis* en un cultivo liquido a temperatura ambiente y pH no especificado del medio salino basal suplementada con plumas molidas, a las que fueron sometidos estos microorganismos ambientales; pero con valores relativamente menores comparados con los resultados obtenidos por Macedo et al., (2002), quien reportó una concentración de biomasa microbiana más alta, con un valor de 2,34 mg/mL en 44 horas de cultivo usando a una cepa del género *Bacillus*, en tanto, que, Piñero et al., (2000) muestra un valor alto de 1,6 mg/mL usando cepas del género *Bacillus spp.* incubadas a 35 y 40 °C, condiciones muy similares a las que también se realizó en la presente investigación, esto podría deberse a la adaptación del microorganismo a una fermentación hidrolítica con plumas en polvo en el cual el método de procesamiento de las plumas hayan causado la debilitación de los enlaces peptídicos y disulfuros presentes en la queratina de la pluma, en comparación a las muestras de la presente investigación que fueron llevadas por un proceso artesanal de secado y molienda en piedra “batán”.

Las concentraciones máximas de proteínas fueron de 0,4807 para la cepa C1 (*Bacillus sanguinis*) y 0,4819 mg/mL para la cepa C2 (*Bacillus sanguinis*), estos

resultados fueron comparados con los datos obtenidos por Goldstein et al., (2004), que reportan resultados de 2 mg/mL de proteínas con *Bacillus licheniformis* en 142 horas (6 días) de cultivo en un medio salino, valor mayor en comparación a los resultados obtenidos en la presente investigación, donde las proteínas fueron separadas del sedimento de plumas y biomasa con una microcentrífuga de tubos Eppendorf a 10 000 rpm, el sobrenadante conteniendo a las proteínas fue medido a diferentes longitudes de onda de absorción, el cual mostró la mayor absorción a una longitud de onda de 230 nm y usando a la albumina de suero bovino (BSA) como curva patrón para interpolar la concentración de proteínas obtenidas, considerando que no se utilizó ninguna coloración para demostrar la presencia cualitativa de dichas proteínas en solución, al igual que Vilorio et al., (2019) también obtuvieron una concentración proteínica de 2,106 mg/mL a pH de 8 y 9 utilizando el método de Bradford con la albumina de suero bovino (ASB) como patrón, estos valores son mayores en comparación a los resultados obtenidos en la presente investigación.

Las concentraciones máximas de aminoácidos fueron de 0,6321 mg/mL para la cepa C1 (*Bacillus sanguinis*) y 0,6515 mg/mL para la cepa C2 (*Bacillus sanguinis*), resultados comparados con los resultados obtenidos por Coras, (2024), quien muestra concentraciones de 0,00189 mg/mL para la cepa C6.1 y 0,00194 mg/mL para la cepa C1.S ambas del género *Bacillus* de la especie *B. sanguinis* a través del método de ninhidrina al 10%, valores menores en comparación a los resultados obtenidos en la presente investigación, debido a la diferencia de condiciones de cultivo, y crecimiento microbiano que fue medido en 35 días de incubación a temperatura ambiente y pH no especificado, contrastable en comparación con demás autores que muestran resultados cualitativos en base a la coloración de incoloro a púrpura para demostrar la presencia de grupos aminos libres (GAL) producto de la actividad queratinolítica en la degradación de queratina en plumas y la absorbancia, contrastando la presencia de esta, usando al medio salino basal y pluma como única fuente de carbono y nitrógeno.

En la Figura 11, se observan los valores de incremento de biomasa (%) de las dos cepas bacterianas nativas queratinolíticas en 23 días de incubación en las condiciones óptimas obtenidas de crecimiento y degradación de 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato (plumas molidas), con resultados de incremento en un 2490,0 % para la cepa C1 en el día final con respecto al día cero (día inicial) y un

incremento de 3108,1 % para la cepa C2 respectivamente; estos valores mayores comparadas con resultados obtenidos por Coras, (2024), quien obtuvo dos mayores valores de 204,7 y 280,4 % respectivamente, estos resultados superan en 11,1 veces el crecimiento para los mayores valores, con la diferencia en las condiciones óptimas de crecimiento microbiano en base a la temperatura, pH y concentración de sustrato, además se utilizó una cantidad indispensable de sales en el MSB que posee un equilibrio estequiométrico que favorecen en su máxima capacidad al crecimiento microbiano, adaptación, producción de enzimas, finalmente en la actividad queratinolítica de plumas de pollo por las cepas bacterianas nativas de *Bacillus sanguinis*.

Finalmente, los datos obtenidos de biomasa microbiana, proteínas y aminoácidos en promedio, de las dos cepas bacterianas nativas de *Bacillus sanguinis* fueron similares y las pruebas estadísticas realizadas con ANOVA y Tukey, sugieren que no hay diferencia significativa en la actividad queratinolítica de ambas cepas en los tratamientos realizados por la degradación de plumas de pollo a pesar de haber diferencia numérica entre los promedios obtenidos. Los resultados en la presente investigación abren las puertas a futuras investigaciones con el uso de este microorganismo para acelerar procesos degradativos en la reducción del impacto ambiental que generan estos desechos de plumas de aves, como también el aprovechamiento proteico de para alimentación de animales de granjas, de igual manera potencia y enriquecer las tierras de cultivo con los productos obtenidos de la degradación que funcionaran como abono y mejoraran la fertilidad, como también la incorporación de aminoácidos y proteínas en el cuidado del cabello y productos de la industria cosmética que va creciendo a pasos agigantados con el uso correcto de los conocimientos y productos biotecnológicos del uso de microorganismos con estas capacidades, además; del aislamiento y aprovechamiento directo de las enzimas sobre la queratina en un control adecuado de condiciones para la producción de biomateriales a base de proteínas fibrosas de queratina en la reparación de tejidos celulares como lo menciona Costa et al., (2018) que actuaran como ambiente extracelular nativo de los tejidos humanos, al igual que su aprovechamiento en la resistencia de biopolímeros termoplásticos usados en estructuras de equipos altamente resistentes al deterioro por acción calórica como lo menciona Sánchez et al., (2017).

VI. CONCLUSIONES

1. La temperatura (°C) óptima de las dos cepas bacterianas nativas en el crecimiento y en la capacidad queratinolítica es de 35 °C.
2. El potencial de hidrógeno (pH) óptimo de las dos cepas bacterianas nativas en el crecimiento y en la capacidad queratinolítica es de pH 9.
3. La concentración de sustrato (mg/mL) óptimo de las dos cepas bacterianas nativas en el crecimiento y en la capacidad queratinolítica es de 20 mg/mL.
4. Las cepas bacterianas nativas en 23 días de incubación en condiciones óptimas produjeron una biomasa de: cepa C1 de *Bacillus sanguinis* 0,8380 mg/mL y la cepa C2 *Bacillus sanguinis* 0,8605 mg/mL; proteínas para la cepa C1 0,4807 mg/mL y la cepa C2 0,4819 mg/mL y aminoácidos para la cepa C1 0,6321 mg/mL y la cepa C2 0,6515 mg/mL. No hubo diferencia estadística significativa entre los tratamientos. El tiempo es directamente proporcional a la concentración de las mismas.
5. La cepa C2 de *Bacillus sanguinis* aislada del suelo, presentó en promedio la mayor concentración en biomasa, proteínas y aminoácidos en comparación a la cepa C1, aislada de la pluma.

VII. RECOMENDACIONES

- 1.** Continuar con la línea de investigación en la optimización de las condiciones queratinolíticas de plumas por bacterias nativas en diferentes especies.
- 2.** Continuar con el aislamiento de enzimas queratinolíticas y establecer los parámetros óptimos individuales para cada una de ellas en la degradación de la queratina.
- 3.** Analizar las oportunidades biotecnológicas del uso de enzimas con capacidad queratinolítica en la producción de biopolímeros de uso industrial.
- 4.** Realizar las evaluaciones del método de Bradford y Ninhidrina al 10% de manera seriada cada 15 tubos.
- 5.** Realizar la lisis celular de la biomasa para la determinación de la proteína monocelular en futuras investigaciones.

VIII. Referencias bibliográficas

- Agroactivo. (2021). Tipos de sustratos para las plantas. Agroactivo. <https://agroactivocol.com/sin-categoria/tipos-de-sustratos-para-las-plantas/>
- Alahyaribeik, S., Sharifi, S., Tabandeh, F., Honarbakhsh, S., y Ghazanfari, S. (2020). Bioconversion of Chicken Feather Wastes by Keratinolytic Bacteria. *Process Safety and Environmental Protection*, 135. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.01.014>
- Altervista. (2021). El método de Bradford para cuantificar proteínas (cuantificación celular indirecta). Cultivo de células. <https://cellculture.altervista.org/the-bradford-method-to-quantify-cell-protein/>
- Amador, S. (2021). Método de Bradford. <https://psicologiymente.com/cultura/metodo-bradford>
- Arnaiz, C., Isac, L., y Lebrato, J. (2000). Determinación de la biomasa en procesos biológicos I. Métodos directos e indirectos. *Technología del Agua*, 20, 45-52.
- Arroyo, E. (2023). Aprovechamiento de los residuos orgánicos (plumas de pollo de los mercados) aplicando economía circular al proceso de obtención de queratina para su uso en cosmética. Sistema de Gestión de la Información sobre la Investigación (CRIS Ulima). <https://cris.ulima.edu.pe/es/projects/aprovechamiento-de-los-residuos-org%C3%A1nicos-plumas-de-pollo-de-los-mercados>
- Bravo, J., Ramales, S., García, M., Sánchez, A., y Bañuelos, G. (2023). Modelación de la cinética de reacción para la producción de polihidroxialcanoatos microbianos mediante *Bacillus megaterium*. *Project Design and Management*. <https://doi.org/10.35992/pdm.mo2023.1886>
- Calderón, J. (2006). Proteínas: redefiniendo algunos conceptos. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112006000200010
- Cavello, I. (2013). Queratinasas microbianas: Microorganismos, producción y caracterización [Tesis, Universidad Nacional de La Plata]. <https://doi.org/10.35537/10915/32430>
- Cervantes, J., Orihuela, R., y Rutiaga, J. (2017). Acerca del Desarrollo y Control de Microorganismos en la Fabricación de Papel. *Conciencia Tecnológica*. <https://www.redalyc.org/journal/944/94454631001/html/>
- Coras, L. (2024). Bacterias queratinofílicas en los vertederos clandestinos de plumas, Ayacucho del 2021. <https://repositorio.unsch.edu.pe/handle/123456789/6746>
- Corvi, L. (2016). Aplicación y optimización de recursos. https://www.academia.edu/31362133/APLICACION_Y_OPTIMIZACION_DE_RECURSOS_30_DE_OCTUBRE_DE_2016
- Costa, F., Silva, R., y Boccaccini, A. (2018). Fibrous protein-based biomaterials (silk, keratin, elastin, and resilin proteins) for tissue regeneration and repair. En M. Barbosa y C. Martins (Eds.), *Peptides and Proteins as Biomaterials for Tissue Regeneration and Repair* (pp. 175-204). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100803-4.00007-3>
- Daroit, D., y Brandelli, A. (2014). A current assessment on the production of bacterial keratinases. *Critical Reviews in Biotechnology*, 34(4), 372-384. <https://doi.org/10.3109/07388551.2013.794768>

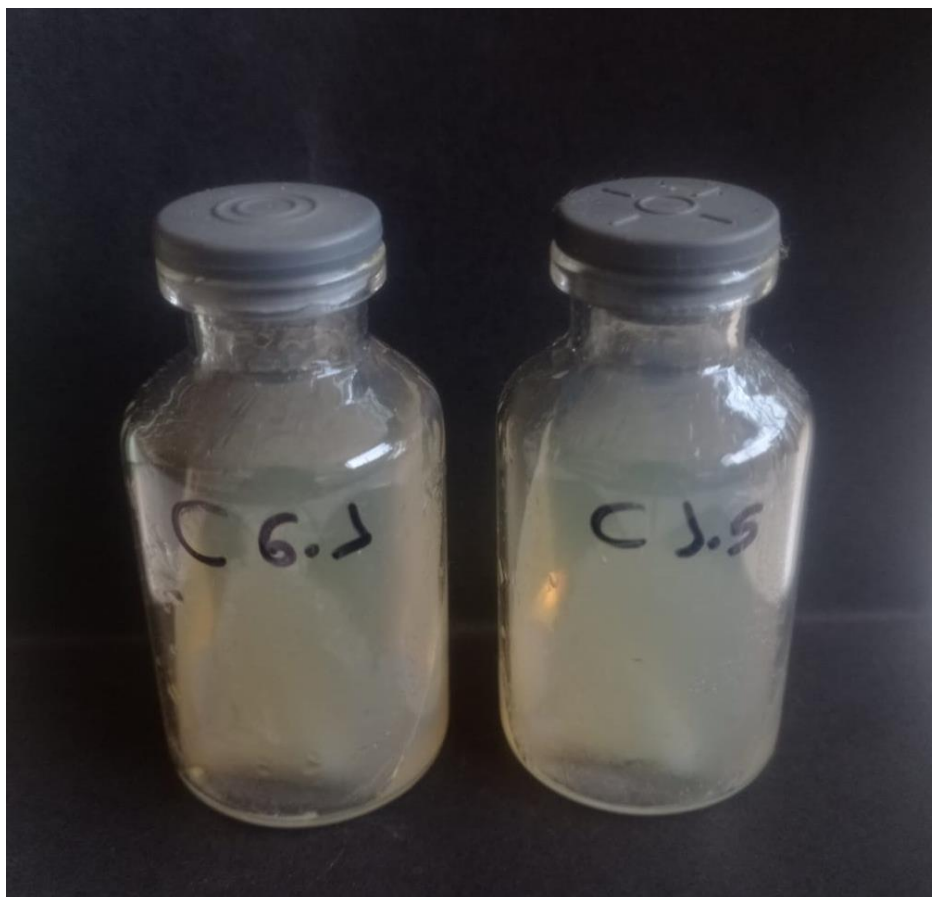
- David, E., Curvelo, G., y Diaz, W. (2017). Procesamiento de plumas de pollo para la obtención de queratina. *UGCiencia*, 23, 82-88. <https://doi.org/10.18634/ugcj.23v.Oi.767>
- Delgado, S., y Castillo, D. (2019). Influencia de la temperatura en el crecimiento de un consorcio microbiano y su capacidad biooxidativa sobre el hierro de la calcopirita. *Ecología Aplicada*, 18(1), 85-90. <https://doi.org/10.21704/rea.v18i1.1310>
- Diestra, J., Margarito, L., Vega, R., y Castillo, A. (2015). Modelación matemática del efecto de la temperatura en la actividad y la estabilidad térmica de la inulinasa de *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571. *Scientia Agropecuaria*, 6(4), 303-312. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.04.07>
- Fernández, E., y Galván, A. (2015). Inicio. Universidad de Córdoba. <http://www.uco.es/resultados.html?cx=004105944070986911672%3Anbt dm60cjl c&cof=FORID%3A11&q=27.+M%C3%A9todos+para+la+cuantific aci%C3%B3n+de+prote%C3%ADnas>
- Figuerola, O., Zapata, J., y Sánchez, C. (2016). Optimización de la Hidrólisis Enzimática de Proteínas de Plasma Bovino. *Información tecnológica*, 27(2), 39-52. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000200006>
- Florida, N. (2019). Plumaz: Implicancia ambiental y uso en la industria agropecuaria. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 21(3), 225-237. <https://doi.org/10.18271/ria.2019.480>
- Friedman, M. (2004). Applications of the Ninhydrin Reaction for Analysis of Amino Acids, Peptides, and Proteins to Agricultural and Biomedical Sciences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(3), 385-406. <https://doi.org/10.1021/jf030490p>
- Goldstein, G., Flory, K., Browne, B., Majid, S., Ichida, J., y Burt, E. (2004). Bacterial Degradation of Black and White Feathers. *The Auk*, 121(3), 656-659. <https://doi.org/10.1093/auk/121.3.656>
- González, A., y Bauza, R. (2010). Valor nutritivo de plumas tratadas por dos métodos de hidrólisis para la alimentación de cerdos. *Agrociencia (Uruguay)*, 14(2), 55-65.
- González, L., Téllez, A., Sampedro, J., y Nájera, H. (2007). Las proteínas en la nutrición. *RESPYN Revista Salud Pública y Nutrición*, 8(2), Article 2. <https://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/189>
- Gopinath, S. C. B., Anbu, P., Lakshmipriya, T., Tang, T.-H., Chen, Y., Hashim, U., Ruslinda, A. R., y Arshad, M. K. M. (2015). Biotechnological Aspects and Perspective of Microbial Keratinase Production. *BioMed Research International*, 2015, e140726. <https://doi.org/10.1155/2015/140726>
- Gupta, R., y Ramnani, P. (2006). Microbial keratinases and their prospective applications: An overview. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 70(1), 21-33. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0239-8>
- Gurav, R., y Jadhav, J. (2013). A novel source of biofertilizer from feather biomass for banana cultivation. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(7), 4532-4539. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1405-z>
- Hernández, L. (2020). Estrategia biotecnológica para la biodegradación de la pluma de pollo con bacterias productoras de enzimas queratinasas. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/10017>
- Hernández, L., Munive, A., Sandoval, E., Martínez, D., y Villegas, C. (2012).

- Poblaciones bacterianas nativas: Alternativa sustentable para la agricultura. *Terra Latinoamericana*, 30(2), 129-138.
- Kazilek, C. (2017). *Biología de las Plumas*.
<https://askabiologist.asu.edu/explore/biologia-de-las-plumas>
- Lange, L., Huang, Y., y Busk, P. (2016). Microbial decomposition of keratin in nature—A new hypothesis of industrial relevance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(5), 2083-2096.
<https://doi.org/10.1007/s00253-015-7262-1>
- León, G., y Cujilema, M. (2018). Determinación de la temperatura óptima para la producción de celulasas con *aspergillus niger* en fermentación sólida.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2223-48612018000300001&script=sci_arttext
- Loja, G., Celi, B., Galvan, D., y Rodríguez, J. (2016). Queratina a partir de la hidrólisis enzimática de harina de plumas de pollo, utilizando queratinasas producidas por *Bacillus subtilis* / Getting keratin from feather meal using keratinases produced by *Bacillus subtilis*. *CIENCIA UNEMI*, 9(20), Article 20.
<https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol9iss20.2016pp50-58p>
- López, J. (2020). Degradación de plumas de ave mediante la aplicación de aislados de *Bacillus licheniformis* procedentes de pilas de compostaje de restos vegetales.
<http://repositorio.ual.es/handle/10835/9885>
- Macedo, M., Segura, R., Bonilla, J., y Coello, N. (2002). Obtención de un hidrolizado proteico por fermentación sumergida de plumas utilizando *Bacillus* spp. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 12(3), 214-221.
- Martínez, J. (2014). Efecto del pH y la temperatura sobre la actividad de las enzimas | Libro electrónico de bioquímica | Juan José Martínez Guerra.
<https://libroelectronico.uaa.mx/capitulo-6-enzimas/efecto-del-ph-y-la-temperat.html>
- Montes, L. (2020). Caracterización bioquímica de la proteasa producida por *Bacillus licheniformis* LB04 [Masters, Universidad Autónoma de Nuevo León].
<http://eprints.uanl.mx/22380/>
- Paolini, J. (2018). Actividad microbiológica y biomasa microbiana en suelos cafetaleros de los Andes venezolanos.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792018000100013
- Patil, R., Wagh, C., y Kavathekar, B. (2019). Microbial Degradation of Keratin Waste: A Review.
- Perales, D. (2016). Biogenmol: Efecto de la temperatura sobre el crecimiento microbiano. *Biogenmol*.
<https://biogenmol.blogspot.com/2008/12/efecto-de-la-temperatura-sobre-el.html>
- Piñero, J., Vidal, L., y Coello, N. (2000). Aislamiento y caracterización de una cepa de *Bacillus* spp degradadora de plumas de aves de corral. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 10(2), 124-130.
- Rojas, N. (2019). Enzimas microbianas para la revalorización y/o remediación de residuos agroindustriales.
https://repositoriosdigitales.mincyt.gob.ar/vufind/Record/RIDAA_a7ea92a0bba20b9571fffe0bce7bb8cf
- Rojas, P. (2015). Actividad: Factores que modifican la actividad enzimática (temperatura y pH).

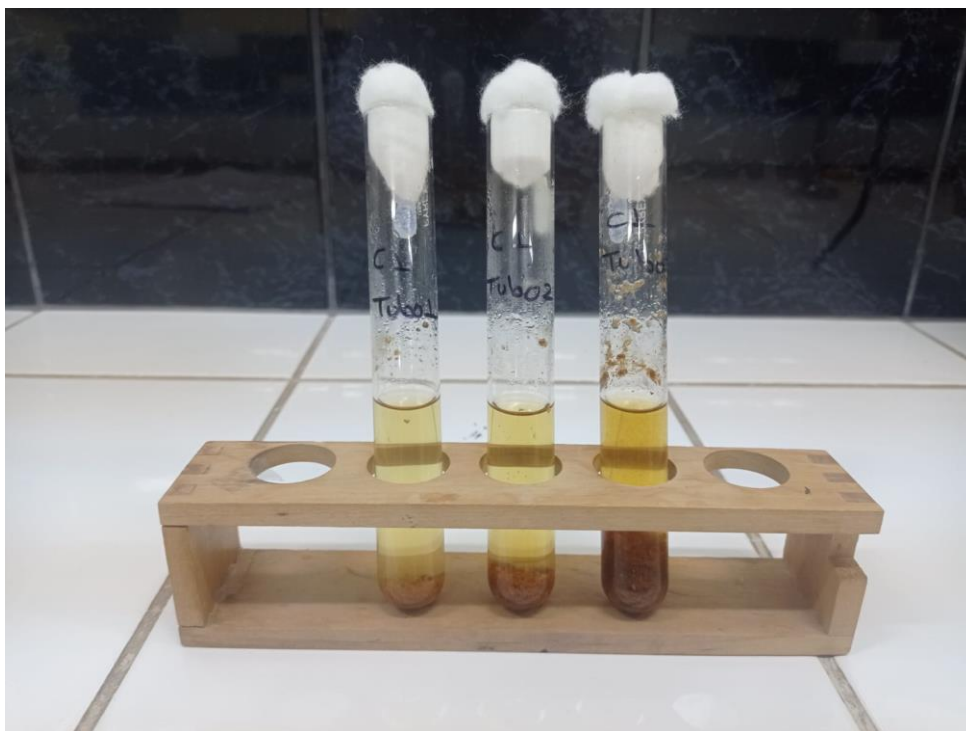
- https://www.geopaloma.com/biologia_2b/unidades/ejercicios/act8aenztema1.htm
- Romero, G., y Palencia, A. (2018). Proteasas: enzimas versátiles. Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, 21(1), Article 1. http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ACSVBE/article/view/18676
- Ruiz, C. (2016). Plumas, plantas y bacterias en nidos de estornino negro (*Sturnus unicolor*) y sus efectos en la reproducción [Http://purl.org/dc/dcmitype/Text, Universidad de Granada]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=61137>
- Salazar, M. (2013). Repositorio Digital: Determinación del método para la obtención de queratina cosmética a partir de plumas gallináceas. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/1088>
- Sánchez, G., Medina, L., Calderas, F., Sánchez, A., y Moreno, R. (2017). Efecto de la biofibra de queratina en las propiedades de un biopolímero termoplástico: Estudio preliminar. Ingeniería, investigación y tecnología, 18(4), 369-378.
- Siller, J. (2014). Búsqueda e identificación de microorganismos con actividad queratinolítica. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/503>
- Stiborová, H., Branska, B., Vesela, T., Lovecka, P., Stranska, M., Hajslova, J., Jířů, M., Patakova, P., y Demnerova, K. (2016). Transformation of raw feather waste into digestible peptides and amino acids. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 91, n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/jctb.4912>
- Vargas, J. (2018). Diseño y optimización de un medio de cultivo para producción de esporas de *Bacillus sp.* <http://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/35019>
- Viloria, L., Azabache, M., Agudelo, R., y Hernández, J. (2019). Evaluación de la Hidrólisis enzimática de plumas de pollo para la obtención de Queratina. Revista Politécnica, 15(30), 17-24. <https://doi.org/10.33571/rpolitec.v15n30a2>
- Yañiquez, J., Huanca, S., Tejeda, L., Aliaga, E., Peñarrieta, M., y Mollinedo, P. (2019). Determinación de los parámetros temperatura, pH y concentración para la nueva enzima α -Amilasa Mg. Revista Boliviana de Química, 36(1), 51-59.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Cepas bacterianas nativas C1 y C2 (C6.1 y C1.S) con capacidad queratinolítica aisladas e identificadas por Coras, (2023). Ayacucho – 2024.



Anexo 2. Medio salino basal suplementado con 60, 120 y 240 mg/10 mL de sustrato (plumas molidas), para el proceso de adaptación. Ayacucho – 2024.



Anexo 3. Medio salino basal suplementado con sustrato de plumas molidas, inoculado con cepas bacterianas incubados por 240 horas, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

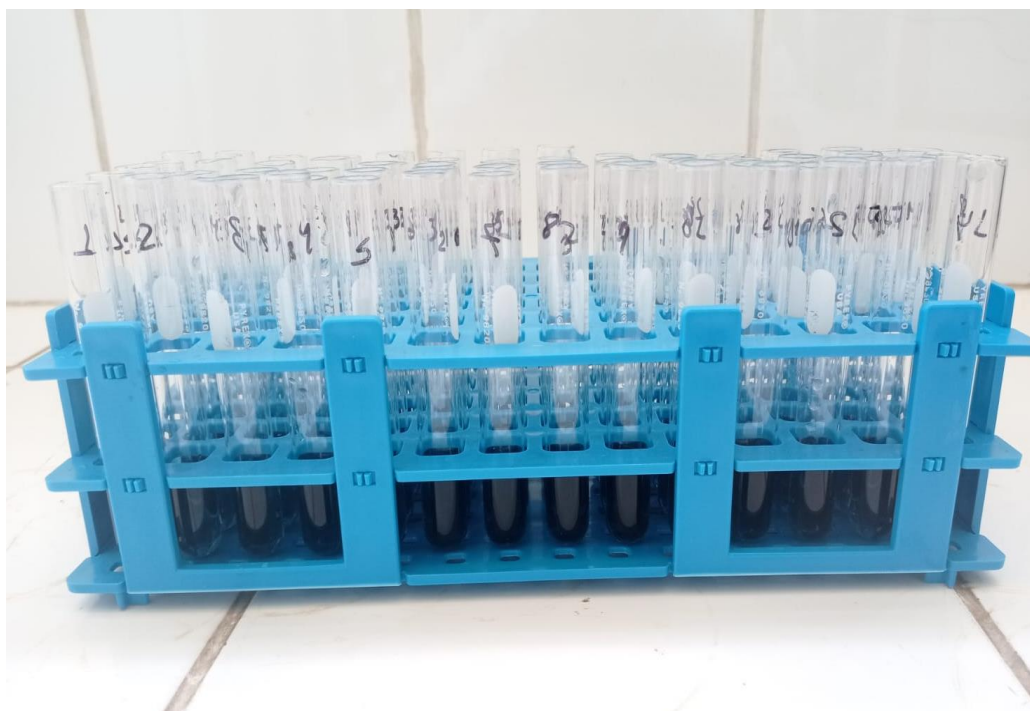


Anexo 4. Composición y modo de preparación del reactivo de Bradford.
Ayacucho – 2024.

Ingredientes	Cantidad
Azul de comassie G – 250	100 mg/L
Ácido fosfórico al 85%	100 mL/L
Etanol al 95%	50 mL/L

Nota: diluir 100 mg del reactivo de azul de comassie G – 250 en 100 mL de ácido fosfórico, luego agregar cuidadosamente 50 mL de etanol en la solución ácida obtenida. Agregar el ácido fosfórico diluido obtenido anteriormente en 500 mL de agua destilada, lo que se añade lentamente de modo que la reacción exotérmica no sea brusca, finalmente enrasar el envase hasta 1 L con agua destilada para obtener la solución del reactivo de Bradford. Reservar en una botella de vidrio color ámbar, esta solución se puede guardar durante varias semanas.

Anexo 5. Cuantificación de proteínas, obtenidas por la hidrólisis de queratina, mediante el método de Bradford. Ayacucho – 2024.



Anexo 6. Equipo de filtración para la determinación de grupos aminos libres (GAL) a partir de las muestras hidrolizadas de queratina. Ayacucho – 2024.



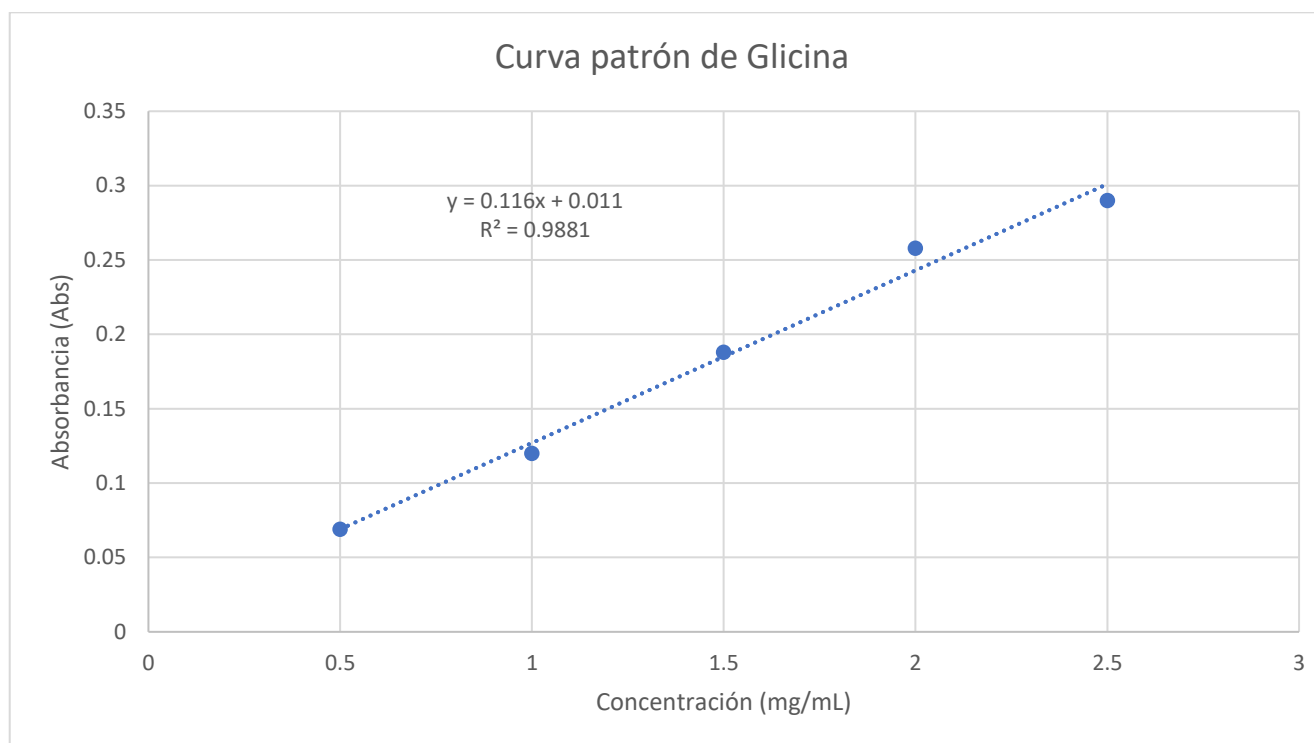
Anexo 7. Medio salino basal suplementado con plumas molidas, inoculadas con cepas bacterianas e incubadas durante 552 horas para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.



Anexo 8. Estandarización de la curva patrón de concentración de glicina para la determinación de aminoácidos (mg/mL). Ayacucho – 2024.

N°	Concentración de a.a. (mg/mL)	Absorbancia (Abs)	Ecuación de la recta
1	0,5	0,069	$y = 0,116x + 0,011$ $R^2 = 0,9881$
2	1,0	0,120	
3	1,5	0,188	
4	2,0	0,258	
5	2,5	0,290	

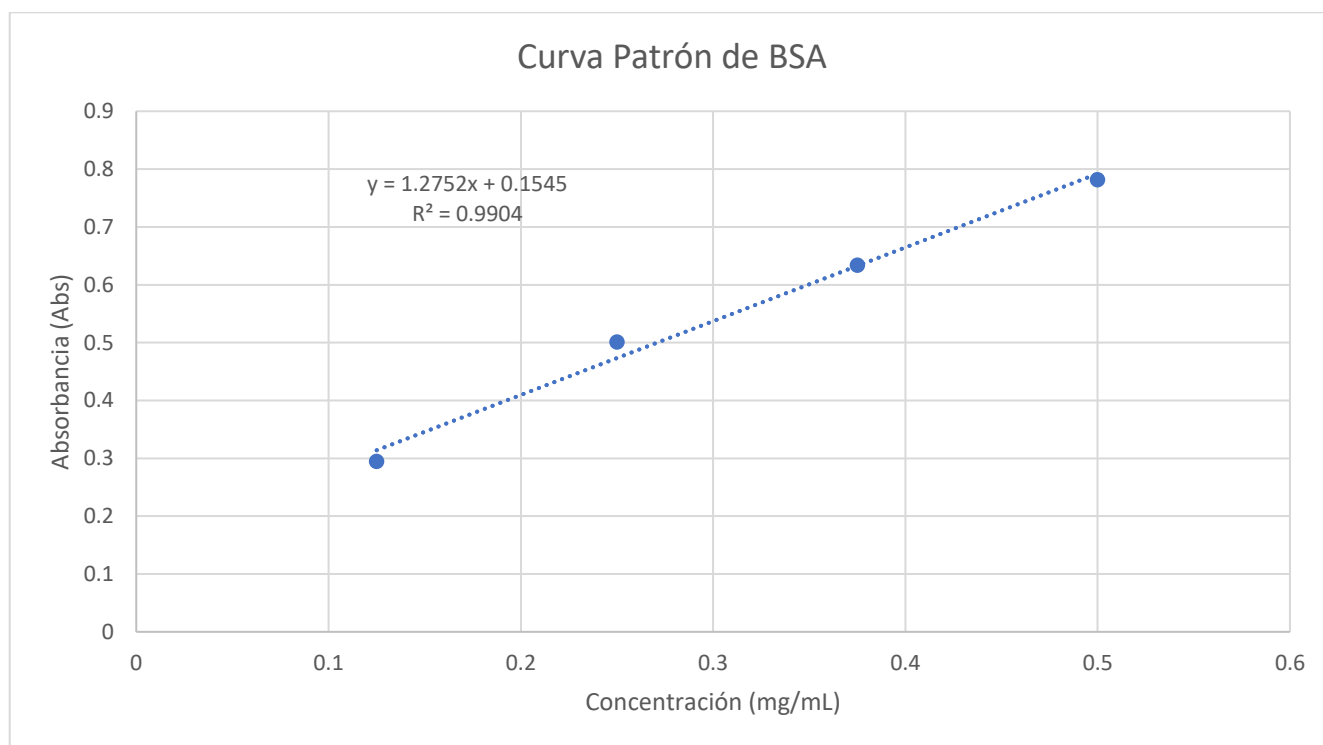
Anexo 9. Curva patrón de concentración de glicina para la determinación de aminoácidos (mg/mL). Ayacucho – 2024.



Anexo 10. Estandarización de la curva patrón de concentración de Albúmina de Suero Bovino (BSA) para la determinación de proteínas (mg/mL). Ayacucho – 2024.

N°	Concentración de proteínas (mg/mL)	Absorbancia (Abs)	Ecuación de la recta
1	0,125	0,295	$y = 1,2752x + 0,1545$ $R^2 = 0,9904$
2	0,25	0,501	
3	0,375	0,634	
4	0,5	0,782	

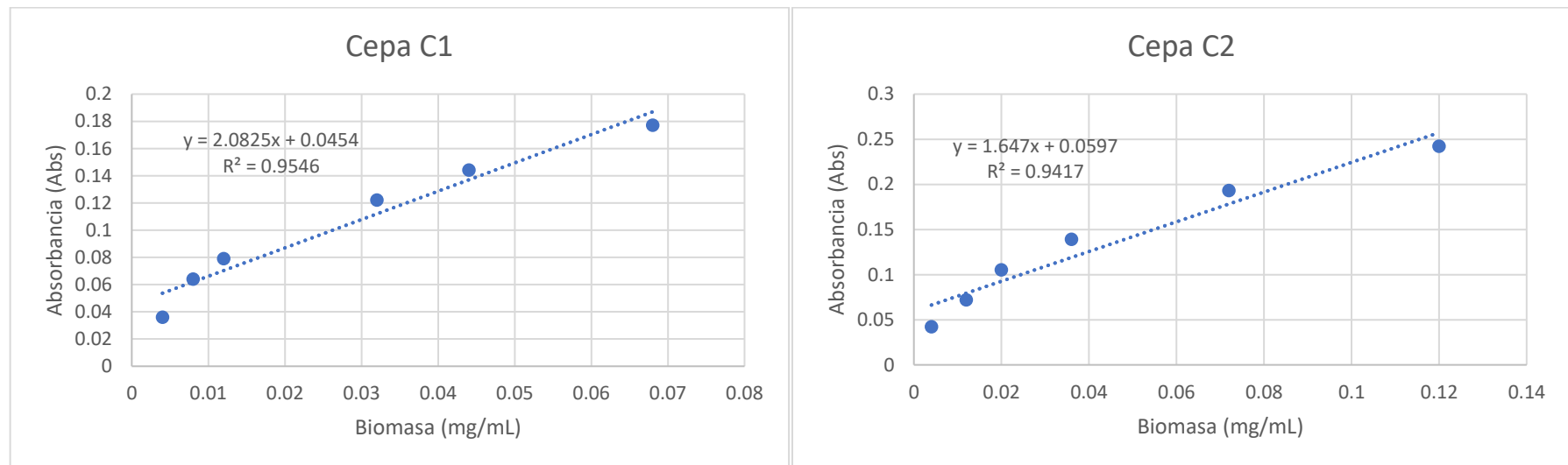
Anexo 11. Curva patrón de concentración de Albúmina de Suero Bovino (BSA) para la determinación de proteínas (mg/mL). Ayacucho – 2024.



Anexo 12. Estandarización de la curva patrón de biomasa (mg/ml) de dos cepas bacterianas nativas degradadoras de queratina en 48 horas de incubación. Ayacucho – 2024.

Código de cepa	Biomasa (mg/mL)	Absorbancia (Abs)	Ecuación de la recta $y = bx + a$
C1	0,068	0,177	$Y = 2,0825x + 0,0454$ $R^2 = 0,9546$
	0,044	0,144	
	0,032	0,122	
	0,012	0,076	
	0,008	0,064	
	0,004	0,036	
C2	0,12	0,242	$Y = 1,647x + 0,0597$ $R^2 = 0,9417$
	0,072	0,193	
	0,036	0,139	
	0,02	0,105	
	0,012	0,072	
	0,004	0,042	

Anexo 13. Curva patrón de biomasa (mg/ml) de dos cepas bacterianas nativas degradadoras de queratina en 48 horas de incubación. Ayacucho – 2024.



Anexo 14. Resultados de la medición de absorbancias (Abs) con el método de Bradford, en el día 1 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Etapa	Parámetro			Cepa 1			Cepa 2			Control
	Temperatura (°C)	pH	Sustrato (mg/mL)	Tratamiento I			Tratamiento II			Blanco
				Repeticiones			Repeticiones			
				A	B	C	A	B	C	
I	Amb	7	10	0.075	0.043	0.034	0.041	0.036	0.049	0.000
			15	0.119	0.131	0.125	0.136	0.118	0.143	0.000
			20	0.110	0.108	0.129	0.187	0.235	0.055	0.000
		8	10	0.067	0.079	0.075	0.054	0.083	0.065	0.000
			15	0.160	0.133	0.123	0.154	0.165	0.163	0.000
			20	0.184	0.164	0.176	0.154	0.157	0.175	0.000
		9	10	0.253	0.252	0.257	0.267	0.257	0.314	0.000
			15	0.300	0.300	0.328	0.384	0.365	0.317	0.000
			20	0.424	0.391	0.430	0.354	0.431	0.437	0.000
II	30	7	10	0.047	0.100	0.099	0.124	0.111	0.124	0.000
			15	0.149	0.120	0.233	0.199	0.160	0.195	0.000
			20	0.168	0.169	0.173	0.228	0.127	0.143	0.000
		8	10	0.421	0.208	0.214	0.262	0.213	0.270	0.000
			15	0.248	0.323	0.343	0.391	0.346	0.324	0.000
			20	0.372	0.239	0.391	0.359	0.377	0.343	0.000
		9	10	0.536	0.544	0.627	0.539	0.525	0.523	0.000
			15	0.446	0.498	0.448	0.445	0.613	0.632	0.000
			20	0.471	0.473	0.618	0.500	0.457	0.452	0.000
III	35	7	10	0.051	0.111	0.177	0.098	0.113	0.105	0.000
			15	0.154	0.125	0.238	0.205	0.126	0.201	0.000
			20	0.174	0.175	0.179	0.235	0.134	0.151	0.000
		8	10	0.425	0.212	0.220	0.268	0.219	0.277	0.000
			15	0.253	0.329	0.350	0.397	0.354	0.332	0.000
			20	0.378	0.246	0.399	0.356	0.385	0.353	0.000
		9	10	0.540	0.555	0.639	0.549	0.537	0.537	0.000
			15	0.456	0.504	0.450	0.451	0.457	0.452	0.000
			20	0.579	0.622	0.627	0.509	0.631	0.648	0.000
IV	40	7	10	0.047	0.107	0.083	0.094	0.109	0.101	0.000
			15	0.151	0.121	0.154	0.201	0.122	0.197	0.000
			20	0.171	0.171	0.178	0.230	0.129	0.146	0.000
		8	10	0.200	0.208	0.211	0.258	0.209	0.265	0.000
			15	0.249	0.260	0.219	0.397	0.301	0.329	0.000
			20	0.328	0.299	0.369	0.285	0.326	0.327	0.000
		9	10	0.484	0.423	0.385	0.516	0.527	0.542	0.000
			15	0.552	0.523	0.487	0.498	0.501	0.508	0.000
			20	0.575	0.617	0.623	0.505	0.626	0.644	0.000

Anexo 15. Resultados de la medición de absorbancias (Abs) con el método de Bradford, en el día 10 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Etapa	Parámetro			Cepa 1			Cepa 2			Control
	Temperatura (°C)	pH	Sustrato (mg/mL)	Tratamiento I			Tratamiento II			Blanco
				Repeticiones			Repeticiones			
				A	B	C	A	B	C	
I	Amb	7	10	0.250	0.351	0.355	0.358	0.288	0.262	0.000
			15	0.322	0.354	0.318	0.449	0.415	0.437	0.000
			20	0.337	0.384	0.373	0.320	0.352	0.204	0.000
		8	10	0.321	0.342	0.340	0.277	0.362	0.293	0.000
			15	0.394	0.405	0.507	0.455	0.465	0.417	0.000
			20	0.491	0.428	0.441	0.529	0.408	0.439	0.000
		9	10	0.546	0.574	0.569	0.509	0.490	0.521	0.000
			15	0.591	0.541	0.583	0.608	0.619	0.582	0.000
			20	0.608	0.646	0.659	0.646	0.683	0.661	0.000
			20	0.608	0.646	0.659	0.646	0.683	0.661	0.000
II	30	7	10	0.458	0.251	0.239	0.301	0.303	0.340	0.000
			15	0.424	0.454	0.402	0.461	0.411	0.435	0.000
			20	0.453	0.475	0.438	0.447	0.354	0.444	0.000
		8	10	0.760	0.436	0.469	0.462	0.418	0.417	0.000
			15	0.336	0.724	0.643	0.616	0.611	0.542	0.000
			20	0.499	0.528	0.524	0.485	0.399	0.446	0.000
		9	10	0.543	0.502	0.581	0.547	0.606	0.589	0.000
			15	0.599	0.546	0.575	0.618	0.605	0.524	0.000
			20	0.689	0.678	0.638	0.691	0.641	0.718	0.000
			20	0.689	0.678	0.638	0.691	0.641	0.718	0.000
III	35	7	10	0.462	0.256	0.245	0.306	0.309	0.347	0.000
			15	0.429	0.460	0.409	0.467	0.418	0.443	0.000
			20	0.459	0.481	0.446	0.454	0.362	0.453	0.000
		8	10	0.439	0.441	0.475	0.467	0.422	0.424	0.000
			15	0.336	0.534	0.532	0.491	0.407	0.455	0.000
			20	0.506	0.537	0.650	0.623	0.618	0.550	0.000
		9	10	0.547	0.507	0.587	0.452	0.612	0.598	0.000
			15	0.604	0.551	0.582	0.624	0.612	0.532	0.000
			20	0.703	0.693	0.652	0.706	0.657	0.735	0.000
			20	0.703	0.693	0.652	0.706	0.657	0.735	0.000
IV	40	7	10	0.358	0.252	0.241	0.289	0.305	0.343	0.000
			15	0.424	0.456	0.404	0.463	0.414	0.439	0.000
			20	0.455	0.477	0.442	0.450	0.358	0.449	0.000
		8	10	0.434	0.437	0.471	0.463	0.418	0.420	0.000
			15	0.332	0.530	0.538	0.487	0.403	0.451	0.000
			20	0.502	0.533	0.646	0.619	0.614	0.546	0.000
		9	10	0.543	0.503	0.583	0.548	0.608	0.594	0.000
			15	0.600	0.547	0.578	0.620	0.608	0.528	0.000
			20	0.699	0.689	0.648	0.702	0.653	0.731	0.000
			20	0.699	0.689	0.648	0.702	0.653	0.731	0.000

Anexo 16. Resultados de la medición de absorbancias (Abs) con el método de Ninhidrina, en el día 1 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Etapa	Parámetro			Cepa 1			Cepa 2			Control
	Temperatura (°C)	pH	Sustrato (mg/mL)	Tratamiento I			Tratamiento II			Blanco
				Repeticiones			Repeticiones			
				A	B	C	A	B	C	
I	Amb	7	10	0.009	0.012	0.010	0.012	0.008	0.010	0.000
			15	0.015	0.017	0.017	0.015	0.013	0.014	0.000
			20	0.019	0.021	0.017	0.019	0.015	0.060	0.000
		8	10	0.018	0.017	0.019	0.016	0.017	0.013	0.000
			15	0.021	0.023	0.025	0.026	0.025	0.021	0.000
			20	0.025	0.026	0.024	0.028	0.026	0.028	0.000
		9	10	0.025	0.021	0.024	0.023	0.022	0.024	0.000
			15	0.025	0.023	0.026	0.025	0.025	0.026	0.000
			20	0.031	0.031	0.032	0.035	0.024	0.036	0.000
			20	0.031	0.031	0.032	0.035	0.024	0.036	0.000
II	30	7	10	0.016	0.013	0.014	0.012	0.016	0.014	0.000
			15	0.021	0.019	0.021	0.017	0.019	0.018	0.000
			20	0.025	0.023	0.021	0.019	0.023	0.064	0.000
		8	10	0.021	0.022	0.023	0.021	0.020	0.017	0.000
			15	0.027	0.025	0.029	0.029	0.030	0.025	0.000
			20	0.030	0.029	0.028	0.030	0.032	0.032	0.010
		9	10	0.025	0.029	0.028	0.026	0.027	0.028	0.000
			15	0.027	0.029	0.030	0.029	0.029	0.030	0.000
			20	0.035	0.035	0.036	0.028	0.039	0.040	0.000
			20	0.035	0.035	0.036	0.028	0.039	0.040	0.000
III	35	7	10	0.022	0.020	0.019	0.018	0.020	0.022	0.000
			15	0.027	0.027	0.025	0.023	0.024	0.025	0.000
			20	0.031	0.027	0.029	0.025	0.070	0.029	0.000
		8	10	0.027	0.029	0.028	0.027	0.023	0.026	0.000
			15	0.033	0.035	0.031	0.035	0.031	0.036	0.000
			20	0.036	0.034	0.035	0.036	0.038	0.038	0.000
		9	10	0.031	0.034	0.035	0.032	0.034	0.033	0.000
			15	0.033	0.036	0.035	0.035	0.036	0.035	0.000
			20	0.041	0.043	0.041	0.035	0.046	0.045	0.000
			20	0.041	0.043	0.041	0.035	0.046	0.045	0.000
IV	40	7	10	0.017	0.016	0.019	0.017	0.019	0.015	0.000
			15	0.024	0.022	0.024	0.021	0.022	0.020	0.000
			20	0.024	0.026	0.028	0.067	0.026	0.022	0.000
		8	10	0.026	0.025	0.024	0.020	0.023	0.024	0.000
			15	0.032	0.028	0.030	0.028	0.033	0.032	0.000
			20	0.031	0.032	0.033	0.035	0.035	0.033	0.000
		9	10	0.031	0.032	0.028	0.031	0.030	0.029	0.000
			15	0.033	0.032	0.030	0.033	0.032	0.032	0.000
			20	0.040	0.038	0.038	0.044	0.042	0.031	0.000
			20	0.040	0.038	0.038	0.044	0.042	0.031	0.000

Anexo 17. Resultados de la medición de absorbancias (Abs) con el método de Ninhidrina, en el día 10 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Etapa	Parámetro			Cepa 1			Cepa 2			Control
	Temperatura (°C)	pH	Sustrato (mg/mL)	Tratamiento I			Tratamiento II			Blanco
				Repeticiones			Repeticiones			
				A	B	C	A	B	C	
I	Amb	7	10	0.019	0.022	0.020	0.022	0.018	0.020	0.000
			15	0.025	0.027	0.027	0.025	0.023	0.024	0.000
			20	0.029	0.031	0.027	0.029	0.025	0.070	0.000
		8	10	0.028	0.027	0.029	0.026	0.027	0.023	0.000
			15	0.031	0.033	0.035	0.036	0.035	0.031	0.000
			20	0.035	0.036	0.034	0.038	0.036	0.038	0.000
		9	10	0.035	0.031	0.034	0.033	0.032	0.034	0.000
			15	0.035	0.033	0.036	0.035	0.035	0.036	0.000
			20	0.041	0.041	0.042	0.045	0.034	0.056	0.000
			20	0.041	0.041	0.042	0.045	0.034	0.056	0.000
II	30	7	10	0.026	0.023	0.024	0.022	0.026	0.024	0.000
			15	0.031	0.029	0.031	0.027	0.029	0.028	0.000
			20	0.035	0.033	0.031	0.029	0.033	0.074	0.000
		8	10	0.031	0.032	0.033	0.031	0.030	0.027	0.000
			15	0.037	0.035	0.039	0.039	0.040	0.035	0.000
			20	0.040	0.039	0.038	0.040	0.042	0.042	0.000
		9	10	0.035	0.039	0.038	0.036	0.037	0.038	0.000
			15	0.037	0.039	0.040	0.039	0.039	0.040	0.000
			20	0.045	0.045	0.046	0.038	0.049	0.060	0.000
			20	0.045	0.045	0.046	0.038	0.049	0.060	0.000
III	35	7	10	0.032	0.030	0.029	0.028	0.030	0.032	0.000
			15	0.037	0.037	0.035	0.033	0.034	0.035	0.000
			20	0.041	0.037	0.039	0.035	0.038	0.039	0.000
		8	10	0.037	0.039	0.038	0.037	0.033	0.036	0.000
			15	0.043	0.045	0.041	0.045	0.041	0.046	0.000
			20	0.046	0.044	0.045	0.046	0.048	0.048	0.000
		9	10	0.041	0.044	0.045	0.042	0.044	0.043	0.000
			15	0.043	0.046	0.045	0.045	0.046	0.045	0.000
			20	0.051	0.052	0.052	0.045	0.066	0.055	0.000
			20	0.051	0.052	0.052	0.045	0.066	0.055	0.000
IV	40	7	10	0.027	0.026	0.029	0.027	0.029	0.025	0.000
			15	0.034	0.032	0.034	0.031	0.032	0.030	0.000
			20	0.034	0.036	0.038	0.077	0.036	0.032	0.000
		8	10	0.036	0.035	0.034	0.030	0.033	0.034	0.000
			15	0.042	0.038	0.040	0.038	0.043	0.042	0.000
			20	0.041	0.042	0.043	0.045	0.045	0.043	0.000
		9	10	0.041	0.042	0.038	0.041	0.040	0.039	0.000
			15	0.043	0.042	0.040	0.043	0.042	0.042	0.000
			20	0.051	0.047	0.048	0.064	0.052	0.041	0.000
			20	0.051	0.047	0.048	0.064	0.052	0.041	0.000

Anexo 18. Resultados de la concentración de proteínas (mg/mL) con el método de Bradford, en el día 1 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Etap	Parámetro			Cepa 1			Cepa 2			Control
	Temperatura (°C)	pH	Sustrato (mg/mL)	Tratamiento I			Tratamiento II			Blanco
				Repeticiones			Repeticiones			
				A	B	C	A	B	C	
I	Amb	7	10	0.0150	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
			15	0.0431	0.0507	0.0469	0.0539	0.0424	0.1560	0.0000
			20	0.0373	0.0361	0.0495	0.0864	0.1171	0.0022	0.0000
		8	10	0.0099	0.0176	0.0150	0.0016	0.0201	0.0086	0.0000
			15	0.0692	0.0520	0.0456	0.0654	0.0724	0.0711	0.0000
			20	0.0845	0.0718	0.0794	0.0654	0.0673	0.0788	0.0000
		9	10	0.1285	0.1279	0.1311	0.1375	0.1311	0.1675	0.0000
			15	0.1585	0.1585	0.1764	0.2121	0.2000	0.1694	0.0000
			20	0.2376	0.2166	0.2415	0.1930	0.2421	0.2459	0.0000
II	30	7	10	0.0000	0.0310	0.0303	0.0463	0.0380	0.0463	0.0000
			15	0.0622	0.0437	0.1158	0.0941	0.0692	0.1560	0.0000
			20	0.0743	0.0750	0.0775	0.1126	0.0482	0.0584	0.0000
		8	10	0.2357	0.0998	0.1037	0.1343	0.1030	0.1394	0.0000
			15	0.1254	0.1732	0.1860	0.2166	0.1879	0.1738	0.0000
			20	0.2045	0.1196	0.2166	0.1962	0.2076	0.1860	0.0000
		9	10	0.3091	0.3142	0.3671	0.3110	0.3021	0.3008	0.0000
			15	0.2517	0.2848	0.2529	0.2510	0.3582	0.3703	0.0000
			20	0.2676	0.2689	0.3614	0.2861	0.2587	0.2555	0.0000
III	35	7	10	0.0000	0.0380	0.0801	0.0297	0.0392	0.0341	0.0000
			15	0.0654	0.0469	0.1190	0.0979	0.0475	0.1560	0.0000
			20	0.0782	0.0788	0.0813	0.1171	0.0526	0.0635	0.0000
		8	10	0.2383	0.1024	0.1075	0.1381	0.1069	0.1439	0.0000
			15	0.1285	0.1770	0.1904	0.2204	0.1930	0.1789	0.0000
			20	0.2083	0.1241	0.2217	0.1942	0.2127	0.1923	0.0000
		9	10	0.3116	0.3212	0.3748	0.3174	0.3097	0.3097	0.0000
			15	0.2580	0.2887	0.2542	0.2548	0.2587	0.2555	0.0000
			20	0.3365	0.3639	0.3671	0.2918	0.3697	0.3805	0.0000
IV	40	7	10	0.0000	0.0354	0.0201	0.0271	0.0367	0.0316	0.0000
			15	0.0635	0.0443	0.0654	0.0954	0.0450	0.1560	0.0000
			20	0.0762	0.0762	0.0807	0.1139	0.0495	0.0603	0.0000
		8	10	0.0947	0.0998	0.1018	0.1317	0.1005	0.1362	0.0000
			15	0.1260	0.1330	0.1069	0.2204	0.1592	0.1770	0.0000
			20	0.1764	0.1579	0.2025	0.1490	0.1751	0.1758	0.0000
		9	10	0.2759	0.2370	0.2127	0.2963	0.3033	0.3129	0.0000
			15	0.3193	0.3008	0.2778	0.2848	0.2867	0.2912	0.0000
			20	0.3339	0.3607	0.3646	0.2893	0.3665	0.3780	0.0000

Anexo 19. Resultados de la concentración de proteínas (mg/mL) con el método de Bradford, en el día 10 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Etap	Parámetro			Cepa 1			Cepa 2			Control
	Temperatura (°C)	pH	Sustrato (mg/mL)	Tratamiento I			Tratamiento II			Blanco
				Repeticiones			Repeticiones			
				A	B	C	A	B	C	
I	Amb	7	10	0.1266	0.1911	0.1936	0.1955	0.1509	0.1343	0.0000
			15	0.1726	0.1930	0.1700	0.2536	0.2319	0.2459	0.0000
			20	0.1821	0.2121	0.2051	0.1713	0.1917	0.0973	0.0000
		8	10	0.1719	0.1853	0.1840	0.1439	0.1981	0.1541	0.0000
			15	0.2185	0.2255	0.2906	0.2574	0.2638	0.1354	0.0000
			20	0.2804	0.2402	0.2485	0.3046	0.2274	0.2472	0.0000
		9	10	0.3154	0.3333	0.3301	0.2918	0.2797	0.2995	0.0000
			15	0.3442	0.3123	0.3390	0.3550	0.3620	0.3384	0.0000
			20	0.3550	0.3792	0.3875	0.3792	0.4028	0.3888	0.0000
			20	0.3550	0.3792	0.3875	0.3792	0.4028	0.3888	0.0000
II	30	7	10	0.2593	0.1273	0.1196	0.1592	0.1604	0.1840	0.0000
			15	0.2376	0.2568	0.2236	0.2612	0.2293	0.2446	0.0000
			20	0.2561	0.2702	0.2466	0.2523	0.1930	0.2504	0.0000
		8	10	0.4520	0.2453	0.2663	0.2619	0.2338	0.2332	0.0000
			15	0.1815	0.4290	0.3773	0.3601	0.3569	0.1948	0.0000
			20	0.2855	0.3040	0.3014	0.2765	0.2217	0.2517	0.0000
		9	10	0.3135	0.2874	0.3378	0.3161	0.3537	0.3429	0.0000
			15	0.3493	0.3154	0.3339	0.3614	0.3531	0.3014	0.0000
			20	0.4067	0.3996	0.3741	0.4079	0.3760	0.4252	0.0000
			20	0.4067	0.3996	0.3741	0.4079	0.3760	0.4252	0.0000
III	35	7	10	0.2619	0.1305	0.1234	0.1624	0.1643	0.1885	0.0000
			15	0.2408	0.2606	0.2281	0.2651	0.2338	0.2497	0.0000
			20	0.2600	0.2740	0.2517	0.2568	0.1981	0.2561	0.0000
		8	10	0.2472	0.2485	0.2702	0.2651	0.2363	0.2376	0.0000
			15	0.1815	0.3078	0.3065	0.2804	0.2268	0.1118	0.0000
			20	0.2899	0.3097	0.3818	0.3646	0.3614	0.3180	0.0000
		9	10	0.3161	0.2906	0.3416	0.2555	0.3575	0.3486	0.0000
			15	0.3524	0.3186	0.3384	0.3652	0.3575	0.3065	0.0000
			20	0.4156	0.4092	0.3831	0.4175	0.3863	0.4360	0.0000
			20	0.4156	0.4092	0.3831	0.4175	0.3863	0.4360	0.0000
IV	40	7	10	0.1955	0.1279	0.1209	0.1515	0.1617	0.1860	0.0000
			15	0.2376	0.2580	0.2249	0.2625	0.2312	0.2472	0.0000
			20	0.2574	0.2714	0.2491	0.2542	0.1955	0.2536	0.0000
		8	10	0.2440	0.2459	0.2676	0.2625	0.2338	0.2351	0.0000
			15	0.1789	0.3052	0.3103	0.2778	0.2242	0.1102	0.0000
			20	0.2874	0.3072	0.3792	0.3620	0.3588	0.3154	0.0000
		9	10	0.3135	0.2880	0.3390	0.3167	0.3550	0.3461	0.0000
			15	0.3499	0.3161	0.3359	0.3626	0.3550	0.3040	0.0000
			20	0.4130	0.4067	0.3805	0.4150	0.3837	0.4335	0.0000
			20	0.4130	0.4067	0.3805	0.4150	0.3837	0.4335	0.0000

Anexo 20. Resultados de la concentración de aminoácidos (mg/mL) con el método de Ninhidrina, en el día 1 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Etap	Parámetro			Cepa 1			Cepa 2			Control
	Temperatura (°C)	pH	Sustrato (mg/mL)	Tratamiento I			Tratamiento II			Blanco
				Repeticiones			Repeticiones			
				A	B	C	A	B	C	
I	Amb	7	10	0.0322	0.0572	0.0406	0.0572	0.0239	0.0406	0.0000
			15	0.0822	0.0989	0.0989	0.0822	0.0656	0.0739	0.0000
			20	0.1155	0.1322	0.0989	0.1155	0.0822	0.4571	0.0000
		8	10	0.1072	0.0989	0.1155	0.0906	0.0989	0.0656	0.0000
			15	0.1322	0.1489	0.1655	0.1739	0.1655	0.1322	0.0000
			20	0.1655	0.1739	0.1572	0.1905	0.1739	0.1905	0.0000
		9	10	0.1655	0.1322	0.1572	0.1489	0.1405	0.1572	0.0000
			15	0.1655	0.1489	0.1739	0.1655	0.1655	0.1739	0.0000
			20	0.2155	0.2155	0.2239	0.2488	0.1572	0.2572	0.0000
II	30	7	10	0.0656	0.0906	0.0739	0.0906	0.0572	0.0739	0.0000
			15	0.1155	0.1322	0.1322	0.1155	0.0989	0.1072	0.0000
			20	0.1489	0.1655	0.1322	0.1489	0.1155	0.4905	0.0000
		8	10	0.1405	0.1322	0.1489	0.1239	0.1322	0.0989	0.0000
			15	0.1655	0.1822	0.1989	0.2072	0.1989	0.1655	0.0000
			20	0.1989	0.2072	0.1905	0.2239	0.2072	0.2239	0.0000
		9	10	0.1989	0.1655	0.1905	0.1822	0.1739	0.1905	0.0000
			15	0.1989	0.1822	0.2072	0.1989	0.1989	0.2072	0.0000
			20	0.2488	0.2488	0.2572	0.2822	0.1905	0.2905	0.0000
III	35	7	10	0.1405	0.1239	0.1155	0.1072	0.1239	0.1405	0.0000
			15	0.1822	0.1822	0.1655	0.1489	0.1572	0.1655	0.0000
			20	0.2155	0.1822	0.1989	0.1655	0.5404	0.1989	0.0000
		8	10	0.1822	0.1989	0.1905	0.1822	0.1489	0.1739	0.0000
			15	0.2322	0.2488	0.2155	0.2488	0.2155	0.2572	0.0000
			20	0.2572	0.2405	0.2488	0.2572	0.2738	0.2738	0.0000
		9	10	0.2155	0.2405	0.2488	0.2239	0.2405	0.2322	0.0000
			15	0.2322	0.2572	0.2488	0.2488	0.2572	0.2488	0.0000
			20	0.2988	0.3155	0.2988	0.2488	0.3405	0.3322	0.0000
IV	40	7	10	0.0989	0.0906	0.1155	0.0989	0.1155	0.0822	0.0000
			15	0.1572	0.1405	0.1572	0.1322	0.1405	0.1239	0.0000
			20	0.1572	0.1739	0.1905	0.5155	0.1739	0.1405	0.0000
		8	10	0.1739	0.1655	0.1572	0.1239	0.1489	0.1572	0.0000
			15	0.2239	0.1905	0.2072	0.1905	0.2322	0.2239	0.0000
			20	0.2155	0.2239	0.2322	0.2488	0.2488	0.2322	0.0000
		9	10	0.2155	0.2239	0.1905	0.2155	0.2072	0.1989	0.0000
			15	0.2322	0.2239	0.2072	0.2322	0.2239	0.2239	0.0000
			20	0.2905	0.2738	0.2738	0.3238	0.3072	0.2155	0.0000

Anexo 21. Resultados de la concentración de aminoácidos (mg/mL) con el método de Ninhidrina, en el día 10 a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Etap	Parámetro			Cepa 1			Cepa 2			Control
	Temperatura (°C)	pH	Sustrato (mg/mL)	Tratamiento I			Tratamiento II			Blanco
				Repeticiones			Repeticiones			
				A	B	C	A	B	C	
I	Amb	7	10	0.1155	0.1405	0.1239	0.1405	0.1072	0.1239	0.0000
			15	0.1655	0.1822	0.1822	0.1655	0.1489	0.1572	0.0000
			20	0.1989	0.2155	0.1822	0.1989	0.1655	0.5404	0.0000
		8	10	0.1905	0.1822	0.1989	0.1739	0.1822	0.1489	0.0000
			15	0.2155	0.2322	0.2488	0.2572	0.2488	0.2155	0.0000
			20	0.2488	0.2572	0.2405	0.2738	0.2572	0.2738	0.0000
		9	10	0.2488	0.2155	0.2405	0.2322	0.2239	0.2405	0.0000
			15	0.2488	0.2322	0.2572	0.2488	0.2488	0.2572	0.0000
			20	0.2988	0.2988	0.3072	0.3322	0.2405	0.4238	0.0000
II	30	7	10	0.1489	0.1739	0.1572	0.1405	0.1739	0.1572	0.0000
			15	0.1989	0.2155	0.2155	0.1822	0.1989	0.1905	0.0000
			20	0.2322	0.2488	0.2155	0.1989	0.2322	0.5738	0.0000
		8	10	0.2239	0.2155	0.2322	0.2155	0.2072	0.1822	0.0000
			15	0.2488	0.2655	0.2822	0.2822	0.2905	0.2488	0.0000
			20	0.2822	0.2905	0.2738	0.2905	0.3072	0.3072	0.0000
		9	10	0.2822	0.2488	0.2738	0.2572	0.2655	0.2738	0.0000
			15	0.2822	0.2655	0.2905	0.2822	0.2822	0.2905	0.0000
			20	0.3322	0.3322	0.3405	0.2738	0.3655	0.4571	0.0000
III	35	7	10	0.2239	0.2072	0.1989	0.1905	0.2072	0.2239	0.0000
			15	0.2655	0.2655	0.2488	0.2322	0.2405	0.2488	0.0000
			20	0.2988	0.2655	0.2822	0.2488	0.6238	0.2822	0.0000
		8	10	0.2655	0.2822	0.2738	0.2655	0.2322	0.2572	0.0000
			15	0.3155	0.3322	0.2988	0.3322	0.2988	0.3405	0.0000
			20	0.3405	0.3238	0.3322	0.3405	0.3572	0.3572	0.0000
		9	10	0.2988	0.3238	0.3322	0.3072	0.3238	0.3155	0.0000
			15	0.3155	0.3405	0.3322	0.3322	0.3405	0.3322	0.0000
			20	0.3822	0.3905	0.3905	0.3322	0.5071	0.4155	0.0000
IV	40	7	10	0.1822	0.1739	0.1989	0.1822	0.1989	0.1655	0.0000
			15	0.2405	0.2239	0.2405	0.2155	0.2239	0.2072	0.0000
			20	0.2405	0.2572	0.2738	0.5988	0.2572	0.2239	0.0000
		8	10	0.2572	0.2488	0.2405	0.2072	0.2322	0.2405	0.0000
			15	0.3072	0.2738	0.2905	0.2738	0.3155	0.3072	0.0000
			20	0.2988	0.3072	0.3155	0.3322	0.3322	0.3155	0.0000
		9	10	0.2988	0.3072	0.2738	0.2988	0.2905	0.2822	0.0000
			15	0.3155	0.3072	0.2905	0.3155	0.3072	0.3072	0.0000
			20	0.3822	0.3488	0.3572	0.4905	0.3905	0.2988	0.0000

Anexo 22. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de las concentraciones de proteínas (mg/mL) a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	71	1.1198	0.015772	9.35	0.000
Error	144	0.2428	0.001686		
Total	215	1.3626			

Anexo 23. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de las concentraciones de proteínas (mg/mL) a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Cepa 2 35 9 20	3	0.4133	A
Cepa 2 40 9 20	3	0.4107	A
Cepa 2 30 9 20	3	0.4030	A B
Cepa 1 35 9 20	3	0.40262	A B C
Cepa 1 40 9 20	3	0.40007	A B C D
Cepa 1 30 9 20	3	0.39348	A B C D E
Cepa 2 Ambiente 9 20	3	0.39029	A B C D E F
Cepa 1 Ambiente 9 20	3	0.37392	A B C D E F G
Cepa 2 Ambiente 9 15	3	0.35181	A B C D E F G H
Cepa 2 35 8 20	3	0.3480	A B C D E F G H I
Cepa 2 40 8 20	3	0.3454	A B C D E F G H I J
Cepa 2 35 9 15	3	0.3431	A B C D E F G H I J
Cepa 2 40 9 15	3	0.3405	A B C D E F G H I J K
Cepa 2 40 9 10	3	0.3393	A B C D E F G H I J K
Cepa 2 30 9 15	3	0.3386	A B C D E F G H I J K
Cepa 2 30 9 10	3	0.3376	A B C D E F G H I J K
Cepa 1 35 9 15	3	0.33650	A B C D E F G H I J K
Cepa 1 40 9 15	3	0.33394	A B C D E F G H I J K
Cepa 1 30 9 15	3	0.33288	A B C D E F G H I J K
Cepa 1 Ambiente 9 15	3	0.33182	A B C D E F G H I J K
Cepa 1 30 8 15	3	0.3293	A B C D E F G H I J K
Cepa 1 35 8 20	3	0.3271	A B C D E F G H I J K
Cepa 1 Ambiente 9 10	3	0.32629	A B C D E F G H I J K
Cepa 1 40 8 20	3	0.3246	A B C D E F G H I J K
Cepa 1 30 8 10	3	0.3212	A B C D E F G H I J K L
Cepa 2 35 9 10	3	0.3205	A B C D E F G H I J K L
Cepa 1 35 9 10	3	0.3161	A B C D E F G H I J K L

Continúa en la siguiente hoja

Cepa 1 40 9 10	3 0.3135	A B C D E F G H I J K L M
Cepa 1 30 9 10	3 0.3129	A B C D E F G H I J K L M N
Cepa 2 30 8 15	3 0.3039	A B C D E F G H I J K L M N O
Cepa 1 30 8 20	3 0.29695	A B C D E F G H I J K L M N O P
Cepa 2 Ambiente 9 10	3 0.29036	A B C D E F G H I J K L M N O P Q
Cepa 1 35 8 15	3 0.2653	B C D E F G H I J K L M N O P Q
Cepa 1 40 8 15	3 0.2648	B C D E F G H I J K L M N O P Q
Cepa 1 35 7 20	3 0.26186	B C D E F G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 Ambiente 8 20	3 0.2597	C D E F G H I J K L M N O P Q
Cepa 1 40 7 20	3 0.25931	D E F G H I J K L M N O P Q
Cepa 1 30 7 20	3 0.25761	D E F G H I J K L M N O P Q
Cepa 1 Ambiente 8 20	3 0.2563	E F G H I J K L M N O P Q
Cepa 1 35 8 10	3 0.25527	E F G H I J K L M N O P Q
Cepa 1 40 8 10	3 0.25251	E F G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 30 8 20	3 0.2500	F G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 35 7 15	3 0.24953	F G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 40 7 15	3 0.24698	G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 35 8 10	3 0.24634	G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 30 7 15	3 0.24507	G H I J K L M N O P Q
Cepa 1 Ambiente 8 15	3 0.2449	G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 Ambiente 7 15	3 0.24379	G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 40 8 10	3 0.24379	G H I J K L M N O P Q
Cepa 1 35 7 15	3 0.24315	G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 30 8 10	3 0.24294	G H I J K L M N O P Q
Cepa 1 40 7 15	3 0.24018	G H I J K L M N O P Q
Cepa 1 30 7 15	3 0.23933	G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 35 7 20	3 0.2370	G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 40 7 20	3 0.2344	G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 30 7 20	3 0.2319	G H I J K L M N O P Q
Cepa 2 Ambiente 8 15	3 0.2189	H I J K L M N O P Q
Cepa 2 35 8 15	3 0.2063	I J K L M N O P Q
Cepa 2 40 8 15	3 0.2041	J K L M N O P Q
Cepa 1 Ambiente 7 20	3 0.19978	K L M N O P Q

Continúa en la siguiente hoja

Cepa 1 Ambiente 8 10	3 0.18043	L M N O P Q
Cepa 1 Ambiente 7 15	3 0.17852	L M N O P Q
Cepa 1 35 7 10	3 0.1719	M N O P Q
Cepa 2 35 7 10	3 0.17171	M N O P Q
Cepa 1 Ambiente 7 10	3 0.1704	N O P Q
Cepa 1 30 7 10	3 0.1687	O P Q
Cepa 2 30 7 10	3 0.16788	O P Q
Cepa 2 40 7 10	3 0.1664	O P Q
Cepa 2 Ambiente 8 10	3 0.1653	O P Q
Cepa 2 Ambiente 7 10	3 0.1602	P Q
Cepa 2 Ambiente 7 20	3 0.1534	Q
Cepa 1 40 7 10	3 0.1481	Q

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 24. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de las concentraciones de aminoácidos (mg/mL) a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	71	0.8816	0.012417	5.13	0.000
Error	144	0.3488	0.002422		
Total	215	1.2304			

Anexo 25. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de las concentraciones de aminoácidos (mg/mL) a diferentes condiciones, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Cepa 2 35 9 20	3	0.4183	A
Cepa 2 40 9 20	3	0.3933	A B
Cepa 1 35 9 20	3	0.38770	A B
Cepa 2 30 9 20	3	0.3655	A B C
Cepa 1 40 9 20	3	0.3627	A B C
Cepa 2 40 7 20	3	0.360	A B C D
Cepa 2 35 8 20	3	0.35160	A B C D E
Cepa 2 35 9 15	3	0.33494	A B C D E F
Cepa 2 30 7 20	3	0.335	A B C D E F
Cepa 1 30 9 20	3	0.33494	A B C D E F
Cepa 2 Ambiente 9 20	3	0.3322	A B C D E F
Cepa 1 35 8 20	3	0.33216	A B C D E F
Cepa 1 35 9 15	3	0.32938	A B C D E F G
Cepa 2 40 8 20	3	0.32661	A B C D E F G H
Cepa 2 35 8 15	3	0.3238	A B C D E F G H
Cepa 1 35 9 10	3	0.3183	A B C D E F G H
Cepa 2 35 9 10	3	0.31550	A B C D E F G H
Cepa 1 35 8 15	3	0.31550	A B C D E F G H
Cepa 2 40 9 15	3	0.30995	A B C D E F G H
Cepa 1 40 8 20	3	0.30717	A B C D E F G H
Cepa 1 40 9 15	3	0.30439	A B C D E F G H
Cepa 1 Ambiente 9 20	3	0.30161	A B C D E F G H
Cepa 2 Ambiente 7 20	3	0.302	A B C D E F G H
Cepa 2 30 8 20	3	0.30161	A B C D E F G H
Cepa 2 40 8 15	3	0.2988	A B C D E F G H
Cepa 1 40 9 10	3	0.2933	A B C D E F G H I
Cepa 2 40 9 10	3	0.29051	A B C D E F G H I

Continúa en la siguiente hoja

Cepa 1 40 8 15	3	0.29051	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 30 9 15	3	0.28495	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 35 7 20	3	0.28217	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 30 8 20	3	0.28217	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 30 9 15	3	0.27940	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 30 8 15	3	0.2738	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 35 8 10	3	0.27384	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 30 9 10	3	0.2683	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 Ambiente 8 20	3	0.26829	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 35 7 20	3	0.2683	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 30 9 10	3	0.26551	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 30 8 15	3	0.26551	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 35 7 15	3	0.25996	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 40 7 20	3	0.25718	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 Ambiente 9 15	3	0.25163	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 35 8 10	3	0.2516	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 Ambiente 8 20	3	0.24885	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 40 8 10	3	0.24885	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 Ambiente 9 15	3	0.24607		B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 Ambiente 8 15	3	0.2405		B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 35 7 15	3	0.24052		B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 Ambiente 9 10	3	0.2350		B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 40 7 15	3	0.23496		B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 Ambiente 9 10	3	0.23219		B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 Ambiente 8 15	3	0.23219		B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 30 7 20	3	0.23219		B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 40 8 10	3	0.2266		B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 30 8 10	3	0.22385		B	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 40 7 15	3	0.21552			C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 35 7 10	3	0.20997			C	D	E	F	G	H	I
Cepa 1 30 7 15	3	0.20997			C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 35 7 10	3	0.20719			C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 30 8 10	3	0.2016			C	D	E	F	G	H	I

Continúa en la siguiente hoja

Cepa 1 Ambiente 7 20	3	0.19886	C	D	E	F	G	H	I
Cepa 2 30 7 15	3	0.19053		D	E	F	G	H	I
Cepa 1 Ambiente 8 10	3	0.19053		D	E	F	G	H	I
Cepa 1 40 7 10	3	0.18497			E	F	G	H	I
Cepa 2 40 7 10	3	0.18220			E	F	G	H	I
Cepa 1 Ambiente 7 15	3	0.17664				F	G	H	I
Cepa 2 Ambiente 8 10	3	0.1683				F	G	H	I
Cepa 1 30 7 10	3	0.15998					G	H	I
Cepa 2 Ambiente 7 15	3	0.15720						H	I
Cepa 2 30 7 10	3	0.15720						H	I
Cepa 1 Ambiente 7 10	3	0.12666							I
Cepa 2 Ambiente 7 10	3	0.12388							I

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 26. Resultados de la medición de absorbancias (Abs) de biomasa, proteínas y aminoácidos en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Día	Parámetro	Cepa 1			Cepa 2			Control
		1	2	3	1	2	3	1
0	Biomasa	0.118	0.120	0.110	0.109	0.111	0.093	0.000
	Proteína	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000
	Aminoácidos	0.001	0.000	0.001	0.000	0.001	0.001	0.000
1	Biomasa	0.126	0.167	0.133	0.171	0.121	0.154	0.000
	Proteína	0.218	0.234	0.216	0.237	0.250	0.244	0.000
	Aminoácidos	0.031	0.029	0.028	0.036	0.034	0.031	0.000
2	Biomasa	0.149	0.230	0.137	0.209	0.274	0.207	0.000
	Proteína	0.260	0.215	0.182	0.207	0.211	0.203	0.000
	Aminoácidos	0.032	0.029	0.035	0.041	0.043	0.038	0.000
3	Biomasa	0.172	0.246	0.290	0.365	0.322	0.334	0.000
	Proteína	0.292	0.287	0.281	0.312	0.291	0.320	0.000
	Aminoácidos	0.041	0.038	0.039	0.042	0.045	0.040	0.000
4	Biomasa	0.227	0.308	0.364	0.378	0.395	0.423	0.000
	Proteína	0.360	0.333	0.347	0.352	0.351	0.372	0.000
	Aminoácidos	0.045	0.044	0.040	0.045	0.047	0.046	0.000
5	Biomasa	0.304	0.347	0.422	0.460	0.466	0.534	0.000
	Proteína	0.447	0.387	0.406	0.472	0.495	0.438	0.001
	Aminoácidos	0.047	0.048	0.045	0.048	0.045	0.049	0.000
6	Biomasa	0.408	0.445	0.518	0.456	0.572	0.612	0.000
	Proteína	0.473	0.442	0.450	0.505	0.521	0.512	0.001
	Aminoácidos	0.049	0.048	0.047	0.050	0.048	0.050	0.002
7	Biomasa	0.511	0.542	0.613	0.451	0.678	0.690	0.000
	Proteína	0.499	0.496	0.493	0.538	0.546	0.585	0.002
	Aminoácidos	0.050	0.049	0.049	0.052	0.050	0.052	0.001
8	Biomasa	0.574	0.591	0.691	0.509	0.692	0.714	0.003
	Proteína	0.521	0.530	0.549	0.569	0.575	0.597	0.001
	Aminoácidos	0.055	0.050	0.049	0.056	0.052	0.053	0.002
9	Biomasa	0.636	0.640	0.769	0.567	0.705	0.737	0.001
	Proteína	0.542	0.563	0.604	0.600	0.604	0.608	0.002
	Aminoácidos	0.058	0.060	0.057	0.063	0.059	0.061	0.000
10	Biomasa	0.676	0.705	0.805	0.683	0.783	0.793	0.001
	Proteína	0.584	0.582	0.608	0.600	0.636	0.650	0.002
	Aminoácidos	0.063	0.062	0.060	0.062	0.064	0.068	0.000
11	Biomasa	0.715	0.769	0.841	0.798	0.861	0.848	0.003
	Proteína	0.625	0.600	0.611	0.600	0.674	0.693	0.001
	Aminoácidos	0.065	0.066	0.059	0.068	0.069	0.067	0.000

Continúa en la siguiente hoja

	Biomasa	0.699	0.857	0.875	0.807	0.951	0.921	0.002
	Proteína	0.598	0.635	0.640	0.664	0.715	0.694	0.000
12	Aminoácidos	0.069	0.071	0.067	0.072	0.070	0.072	0.002
	Biomasa	0.786	0.859	0.899	0.856	0.938	0.929	0.001
	Proteína	0.652	0.659	0.628	0.682	0.753	0.701	0.003
13	Aminoácidos	0.075	0.072	0.073	0.076	0.077	0.076	0.001
	Biomasa	0.932	0.905	0.911	0.879	0.984	0.997	0.002
	Proteína	0.703	0.701	0.638	0.674	0.763	0.758	0.000
14	Aminoácidos	0.073	0.076	0.073	0.075	0.078	0.082	0.003
	Biomasa	1.054	0.962	0.928	0.900	1.008	1.071	0.000
	Proteína	0.759	0.712	0.639	0.692	0.801	0.800	0.002
15	Aminoácidos	0.078	0.081	0.083	0.085	0.081	0.080	0.003
	Biomasa	1.259	1.201	1.223	1.159	1.256	1.309	0.001
	Proteína	0.751	0.728	0.752	0.743	0.748	0.788	0.003
16	Aminoácidos	0.086	0.081	0.085	0.088	0.085	0.089	0.001
	Biomasa	1.264	1.243	1.236	1.162	1.283	1.373	0.002
	Proteína	0.742	0.739	0.753	0.756	0.774	0.794	0.001
17	Aminoácidos	0.092	0.091	0.089	0.094	0.091	0.092	0.002
	Biomasa	1.324	1.310	1.259	1.165	1.287	1.382	0.003
	Proteína	0.756	0.741	0.764	0.750	0.781	0.802	0.001
18	Aminoácidos	0.092	0.095	0.094	0.097	0.096	0.096	0.001
	Biomasa	1.401	1.327	1.303	1.200	1.395	1.456	0.004
	Proteína	0.793	0.755	0.749	0.743	0.788	0.829	0.002
19	Aminoácidos	0.098	0.100	0.101	0.103	0.105	0.104	0.004
	Biomasa	1.572	1.437	1.414	1.397	1.037	1.560	0.001
	Proteína	0.818	0.751	0.789	0.736	0.801	0.839	0.002
20	Aminoácidos	0.108	0.105	0.106	0.108	0.110	0.109	0.001
	Biomasa	1.468	1.439	1.454	1.560	1.547	1.630	0.004
	Proteína	0.818	0.803	0.757	0.752	0.840	0.851	0.003
21	Aminoácidos	0.110	0.114	0.116	0.113	0.119	0.114	0.001
	Biomasa	1.712	1.756	1.806	1.758	1.908	1.880	0.002
	Proteína	0.826	0.845	0.778	0.849	0.854	0.877	0.003
22	Aminoácidos	0.112	0.117	0.119	0.119	0.120	0.118	0.001
	Biomasa	1.881	1.863	1.875	1.901	1.870	1.995	0.001
	Proteína	0.814	0.796	0.805	0.818	0.795	0.808	0.002
23	Aminoácidos	0.116	0.120	0.124	0.123	0.124	0.123	0.001

Anexo 27. Resultados de las concentraciones de biomasa, proteínas y aminoácidos (mg/mL) en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato, para la evaluación de los parámetros óptimos de degradación de queratina. Ayacucho – 2024.

Día	Parámetro	Cepa 1			Cepa 2			Control
		1	2	3	1	2	3	1
0	Biomasa	0.0333	0.0342	0.0296	0.0295	0.0306	0.0204	0.0000
	Proteína	0.0019	0.0020	0.0020	0.0018	0.0023	0.0019	0.0000
	Aminoácidos	0.0003	0.0002	0.0003	0.0002	0.0003	0.0003	0.0000
1	Biomasa	0.0369	0.0557	0.0402	0.0645	0.0361	0.0548	0.0000
	Proteína	0.1062	0.1164	0.1049	0.1183	0.1266	0.1228	0.0000
	Aminoácidos	0.2055	0.1889	0.1805	0.2372	0.2205	0.2016	0.0000
2	Biomasa	0.0475	0.0846	0.0420	0.0858	0.1224	0.0846	0.0000
	Proteína	0.1330	0.1043	0.0833	0.0992	0.1018	0.0967	0.0000
	Aminoácidos	0.2139	0.1889	0.2388	0.2888	0.3055	0.2638	0.0000
3	Biomasa	0.0580	0.0920	0.1121	0.1736	0.1494	0.1562	0.0000
	Proteína	0.1534	0.1502	0.1464	0.1662	0.1528	0.1713	0.0000
	Aminoácidos	0.2988	0.2738	0.2822	0.3072	0.3322	0.2905	0.0000
4	Biomasa	0.0833	0.1204	0.1461	0.1810	0.1905	0.2063	0.0000
	Proteína	0.1968	0.1796	0.1885	0.1917	0.1911	0.2045	0.0000
	Aminoácidos	0.3122	0.3038	0.2805	0.3122	0.3288	0.3205	0.0000
5	Biomasa	0.1186	0.1383	0.1727	0.1901	0.1928	0.2240	0.0000
	Proteína	0.2523	0.2140	0.2261	0.2682	0.2829	0.2466	0.0010
	Aminoácidos	0.3288	0.3372	0.3122	0.3372	0.3122	0.3455	0.0000
6	Biomasa	0.1663	0.1832	0.2167	0.1883	0.2415	0.2598	0.0000
	Proteína	0.2689	0.2491	0.2542	0.2893	0.2995	0.2938	0.0005
	Aminoácidos	0.3455	0.3372	0.3388	0.3538	0.3472	0.3538	0.0010
7	Biomasa	0.2135	0.2277	0.2603	0.1860	0.2901	0.2956	0.0000
	Proteína	0.2855	0.2836	0.2816	0.3103	0.3154	0.3403	0.0010
	Aminoácidos	0.3538	0.3455	0.3549	0.3705	0.3538	0.3705	0.0050
8	Biomasa	0.2424	0.2502	0.2960	0.2126	0.2965	0.3066	0.0015
	Proteína	0.2995	0.3052	0.3174	0.3301	0.3339	0.3480	0.0005
	Aminoácidos	0.4155	0.3738	0.3655	0.3738	0.3905	0.3988	0.0005
9	Biomasa	0.2708	0.2726	0.3318	0.2392	0.3024	0.3171	0.0005
	Proteína	0.3129	0.3263	0.3524	0.3499	0.3524	0.3550	0.0010
	Aminoácidos	0.4155	0.3905	0.3822	0.3988	0.3905	0.3822	0.0000
10	Biomasa	0.2891	0.3024	0.3483	0.2924	0.3382	0.3428	0.0005
	Proteína	0.3397	0.3384	0.3550	0.3499	0.3729	0.3818	0.0010
	Aminoácidos	0.4155	0.4071	0.3988	0.4071	0.3988	0.4071	0.0000
11	Biomasa	0.3070	0.3318	0.3648	0.3451	0.3740	0.3680	0.0015
	Proteína	0.3658	0.3499	0.3569	0.3499	0.3971	0.4092	0.0010
	Aminoácidos	0.4321	0.4238	0.4071	0.4155	0.4238	0.4321	0.0000

Continúa en la siguiente hoja

12	Biomasa	0.2997	0.3721	0.3804	0.3492	0.4152	0.4015	0.0010
	Proteína	0.3486	0.3722	0.3754	0.3907	0.4232	0.4099	0.0000
	Aminoácidos	0.4488	0.4405	0.4571	0.4571	0.4655	0.4488	0.0012
13	Biomasa	0.3396	0.3731	0.3914	0.3717	0.4093	0.4052	0.0006
	Proteína	0.3831	0.3875	0.3678	0.4022	0.4475	0.4143	0.0015
	Aminoácidos	0.4655	0.4571	0.4738	0.4738	0.4905	0.4738	0.0005
14	Biomasa	0.4065	0.3942	0.3969	0.3822	0.4304	0.4363	0.0016
	Proteína	0.4156	0.4143	0.3741	0.3971	0.4539	0.4507	0.0000
	Aminoácidos	0.4738	0.4821	0.4738	0.4905	0.4988	0.4821	0.0016
15	Biomasa	0.4625	0.4203	0.4047	0.3919	0.4414	0.4703	0.0000
	Proteína	0.4513	0.4213	0.3748	0.4086	0.4781	0.4775	0.0010
	Aminoácidos	0.4905	0.4988	0.4905	0.5071	0.5155	0.4988	0.0012
16	Biomasa	0.5565	0.5299	0.5400	0.5106	0.5551	0.5794	0.0005
	Proteína	0.4462	0.4315	0.4468	0.4411	0.4443	0.4698	0.0015
	Aminoácidos	0.5071	0.5238	0.5238	0.5321	0.5404	0.5238	0.0005
17	Biomasa	0.5588	0.5491	0.5459	0.5120	0.5675	0.6088	0.0010
	Proteína	0.4405	0.4386	0.4475	0.4494	0.4609	0.4736	0.0005
	Aminoácidos	0.5321	0.5404	0.5404	0.5571	0.5571	0.5738	0.0010
18	Biomasa	0.5863	0.5799	0.5565	0.5134	0.5693	0.6129	0.0015
	Proteína	0.4494	0.4398	0.4545	0.4456	0.4653	0.4787	0.0005
	Aminoácidos	0.5571	0.5488	0.5654	0.5821	0.5904	0.5821	0.0007
19	Biomasa	0.6216	0.5877	0.5767	0.5294	0.6188	0.6468	0.0020
	Proteína	0.4730	0.4488	0.4449	0.4411	0.4698	0.4960	0.0009
	Aminoácidos	0.5821	0.5738	0.5654	0.5821	0.5988	0.6238	0.0002
20	Biomasa	0.7000	0.6381	0.6276	0.6198	0.4547	0.6945	0.0005
	Proteína	0.4889	0.4462	0.4705	0.4366	0.4781	0.5023	0.0010
	Aminoácidos	0.6071	0.6154	0.5821	0.6071	0.6238	0.6321	0.0005
21	Biomasa	0.6523	0.6390	0.6459	0.6945	0.6885	0.7266	0.0014
	Proteína	0.4889	0.4794	0.4500	0.4468	0.5030	0.5100	0.0015
	Aminoácidos	0.6071	0.6238	0.6154	0.6154	0.6321	0.6488	0.0005
22	Biomasa	0.7642	0.7844	0.8073	0.7853	0.8541	0.8412	0.0001
	Proteína	0.4941	0.5062	0.4634	0.5087	0.5119	0.5266	0.0015
	Aminoácidos	0.6071	0.6154	0.6071	0.6404	0.6238	0.6321	0.0010
23	Biomasa	0.8417	0.8334	0.8389	0.8509	0.8366	0.8940	0.0010
	Proteína	0.4864	0.4749	0.4807	0.4889	0.4743	0.4826	0.0010
	Aminoácidos	0.6321	0.6404	0.6238	0.6488	0.6404	0.6654	0.0005

Anexo 28. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la biomasa (mg/mL) de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	47	7.5431	0.160492	131.74	0.000
Error	96	0.1170	0.001218		
Total	143	7.6601			

Anexo 29. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biomasa (mg/mL) de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Cepa 2 Día 23 Biomasa	3	0.8605	A
Cepa 1 Día 23 Biomasa	3	0.83802	A
Cepa 2 Día 22 Biomasa	3	0.8269	A
Cepa 1 Día 22 Biomasa	3	0.7853	A B
Cepa 2 Día 21 Biomasa	3	0.7032	B C
Cepa 1 Día 20 Biomasa	3	0.6552	C D
Cepa 1 Día 21 Biomasa	3	0.64574	C D
Cepa 2 Día 19 Biomasa	3	0.5984	C D
Cepa 1 Día 19 Biomasa	3	0.5953	C D
Cepa 2 Día 20 Biomasa	3	0.5896	C D
Cepa 1 Día 18 Biomasa	3	0.57421	D
Cepa 2 Día 18 Biomasa	3	0.5652	D
Cepa 2 Día 17 Biomasa	3	0.5627	D
Cepa 1 Día 17 Biomasa	3	0.55128	D E
Cepa 2 Día 16 Biomasa	3	0.5484	D E
Cepa 1 Día 16 Biomasa	3	0.54211	D E F
Cepa 2 Día 15 Biomasa	3	0.4345	E F G
Cepa 1 Día 15 Biomasa	3	0.4292	F G H
Cepa 2 Día 14 Biomasa	3	0.4163	G H
Cepa 1 Día 14 Biomasa	3	0.39919	G H I
Cepa 2 Día 13 Biomasa	3	0.3954	G H I
Cepa 2 Día 12 Biomasa	3	0.3886	G H I J
Cepa 1 Día 13 Biomasa	3	0.3680	G H I J K
Cepa 2 Día 11 Biomasa	3	0.36236	G H I J K
Cepa 1 Día 12 Biomasa	3	0.3507	G H I J K L
Cepa 1 Día 11 Biomasa	3	0.3345	G H I J K L M
Cepa 2 Día 10 Biomasa	3	0.3245	G H I J K L M
Cepa 1 Día 10 Biomasa	3	0.3133	H I J K L M N
Cepa 1 Día 9 Biomasa	3	0.2917	I J K L M N O
Cepa 2 Día 9 Biomasa	3	0.2862	I J K L M N O
Cepa 2 Día 8 Biomasa	3	0.2719	J K L M N O P
Cepa 1 Día 8 Biomasa	3	0.2629	K L M N O P
Cepa 2 Día 7 Biomasa	3	0.2572	K L M N O P Q
Cepa 1 Día 7 Biomasa	3	0.2338	L M N O P Q
Cepa 2 Día 6 Biomasa	3	0.2298	M N O P Q R
Cepa 2 Día 5 Biomasa	3	0.2023	N O P Q R S
Cepa 2 Día 4 Biomasa	3	0.19259	O P Q R S
Cepa 1 Día 6 Biomasa	3	0.1887	O P Q R S
Cepa 2 Día 3 Biomasa	3	0.15974	P Q R S T
Cepa 1 Día 5 Biomasa	3	0.1432	Q R S T
Cepa 1 Día 4 Biomasa	3	0.1166	R S T
Cepa 2 Día 2 Biomasa	3	0.0976	S T

Continúa en la siguiente hoja

Cepa 1 Día 3 Biomasa	3	0.0874	S	T
Cepa 1 Día 2 Biomasa	3	0.0580		T
Cepa 2 Día 1 Biomasa	3	0.05179		T
Cepa 1 Día 1 Biomasa	3	0.04428		T
Cepa 1 Día 0 Biomasa	3	0.03236		
Cepa 2 Día 0 Biomasa	3	0.02682		

Anexo 30. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de proteínas (mg/mL) de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	47	2.70692	0.057594	178.83	0.000
Error	96	0.03092	0.000322		
Total	143	2.73783			

Anexo 31. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de las concentraciones de proteínas (mg/mL) de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Cepa 2 Día 22 Proteínas	3	0.51574	A
Cepa 1 Día 22 Proteínas	3	0.4879	A B
Cepa 2 Día 21 Proteínas	3	0.4866	A B
Cepa 2 Día 23 Proteínas	3	0.48193	A B
Cepa 1 Día 23 Proteínas	3	0.48066	A B C
Cepa 1 Día 21 Proteínas	3	0.4728	A B C D
Cepa 2 Día 20 Proteínas	3	0.4724	A B C D
Cepa 2 Día 19 Proteínas	3	0.4690	A B C D
Cepa 1 Día 20 Proteínas	3	0.4685	A B C D
Cepa 2 Día 18 Proteínas	3	0.46322	A B C D E
Cepa 2 Día 17 Proteínas	3	0.46131	A B C D E F
Cepa 1 Día 19 Proteínas	3	0.45557	A B C D E F
Cepa 2 Día 15 Proteínas	3	0.4547	B C D E F
Cepa 2 Día 16 Proteínas	3	0.45174	B C D E F
Cepa 1 Día 18 Proteínas	3	0.44791	B C D E F
Cepa 1 Día 17 Proteínas	3	0.44217	B C D E F G
Cepa 1 Día 16 Proteínas	3	0.44153	B C D E F G
Cepa 2 Día 14 Proteínas	3	0.4339	B C D E F G H
Cepa 2 Día 13 Proteínas	3	0.4213	C D E F G H I
Cepa 1 Día 15 Proteínas	3	0.4158	D E F G H I J
Cepa 2 Día 12 Proteínas	3	0.40794	E F G H I J K
Cepa 1 Día 14 Proteínas	3	0.4013	F G H I J K L
Cepa 2 Día 11 Proteínas	3	0.3854	G H I J K L M
Cepa 1 Día 13 Proteínas	3	0.37945	H I J K L M N
Cepa 2 Día 10 Proteínas	3	0.36818	I J K L M N
Cepa 1 Día 12 Proteínas	3	0.36541	I J K L M N O
Cepa 1 Día 11 Proteínas	3	0.35755	J K L M N O
Cepa 2 Día 9 Proteínas	3	0.35244	K L M N O P
Cepa 1 Día 10 Proteínas	3	0.34436	L M N O P
Cepa 2 Día 8 Proteínas	3	0.33735	M N O P Q
Cepa 1 Día 9 Proteínas	3	0.3305	M N O P Q
Cepa 2 Día 7 Proteínas	3	0.32204	N O P Q R
Cepa 1 Día 8 Proteínas	3	0.30737	O P Q R S
Cepa 2 Día 6 Proteínas	3	0.29418	P Q R S
Cepa 1 Día 7 Proteínas	3	0.28355	Q R S
Cepa 2 Día 5 Proteínas	3	0.2659	R S
Cepa 1 Día 6 Proteínas	3	0.25740	S
Cepa 1 Día 5 Proteínas	3	0.2308	
Cepa 2 Día 4 Proteínas	3	0.19574	
Cepa 1 Día 4 Proteínas	3	0.18830	
Cepa 2 Día 3 Proteínas	3	0.16342	

Continúa en la siguiente hoja

Cepa 1 Día 3 Proteínas	3	0.15002
Cepa 2 Día 1 Proteínas	3	0.12259
Cepa 1 Día 1 Proteínas	3	0.10920
Cepa 1 Día 2 Proteínas	3	0.1069
Cepa 2 Día 2 Proteínas	3	0.09921
Cepa 2 Día 0 Proteínas	3	0.002005
Cepa 1 Día 0 Proteínas	3	0.001987

Anexo 32. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de aminoácidos (mg/mL) de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	47	3.35308	0.071342	477.44	0.000
Error	96	0.01434	0.000149		
Total	143	3.36743			

Anexo 33. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de las concentraciones de aminoácidos (mg/mL) de las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Cepa 2 Día 23 Aminoácidos	3	0.65153	A
Cepa 2 Día 22 Aminoácidos	3	0.63209	A B
Cepa 2 Día 21 Aminoácidos	3	0.63209	A B
Cepa 1 Día 23 Aminoácidos	3	0.63209	A B
Cepa 2 Día 20 Aminoácidos	3	0.62098	A B C
Cepa 1 Día 21 Aminoácidos	3	0.61543	A B C
Cepa 1 Día 22 Aminoácidos	3	0.60987	B C D
Cepa 2 Día 19 Aminoácidos	3	0.6015	B C D E
Cepa 1 Día 20 Aminoácidos	3	0.6015	B C D E
Cepa 2 Día 18 Aminoácidos	3	0.58488	C D E F
Cepa 1 Día 19 Aminoácidos	3	0.57377	D E F G
Cepa 2 Día 17 Aminoácidos	3	0.56266	E F G H
Cepa 1 Día 18 Aminoácidos	3	0.55711	F G H I
Cepa 1 Día 17 Aminoácidos	3	0.53767	G H I J
Cepa 2 Día 16 Aminoácidos	3	0.53211	H I J K
Cepa 1 Día 16 Aminoácidos	3	0.51823	I J K L
Cepa 2 Día 15 Aminoácidos	3	0.50712	J K L M
Cepa 1 Día 15 Aminoácidos	3	0.49324	K L M N
Cepa 2 Día 14 Aminoácidos	3	0.49046	L M N
Cepa 2 Día 13 Aminoácidos	3	0.47935	L M N O
Cepa 1 Día 14 Aminoácidos	3	0.47657	M N O
Cepa 1 Día 13 Aminoácidos	3	0.46546	N O
Cepa 2 Día 12 Aminoácidos	3	0.45713	N O P
Cepa 1 Día 12 Aminoácidos	3	0.44880	O P
Cepa 2 Día 11 Aminoácidos	3	0.42381	P Q
Cepa 1 Día 11 Aminoácidos	3	0.42103	P Q
Cepa 1 Día 10 Aminoácidos	3	0.40714	Q
Cepa 2 Día 10 Aminoácidos	3	0.40437	Q R
Cepa 1 Día 9 Aminoácidos	3	0.3960	Q R
Cepa 2 Día 9 Aminoácidos	3	0.39048	Q R S
Cepa 2 Día 8 Aminoácidos	3	0.38770	Q R S
Cepa 1 Día 8 Aminoácidos	3	0.3849	Q R S
Cepa 2 Día 7 Aminoácidos	3	0.36493	R S
Cepa 2 Día 6 Aminoácidos	3	0.35160	S
Cepa 1 Día 7 Aminoácidos	3	0.35139	S
Cepa 1 Día 6 Aminoácidos	3	0.34049	
Cepa 2 Día 5 Aminoácidos	3	0.3316	
Cepa 1 Día 5 Aminoácidos	3	0.32605	
Cepa 2 Día 4 Aminoácidos	3	0.32049	
Cepa 2 Día 3 Aminoácidos	3	0.3099	
Cepa 1 Día 4 Aminoácidos	3	0.29883	

Continua en la siguiente hoja

Cepa 2 Día 2 Aminoácidos	3	0.2861
Cepa 1 Día 3 Aminoácidos	3	0.28495
Cepa 2 Día 1 Aminoácidos	3	0.2197
Cepa 1 Día 2 Aminoácidos	3	0.2139
Cepa 1 Día 1 Aminoácidos	3	0.19164
Cepa 1 Día 0 Aminoácidos	3	0.000288
Cepa 2 Día 0 Aminoácidos	3	0.000287

Anexo 34. Prueba de análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de biomasa, proteínas y aminoácidos (mg/mL) entre las dos cepas bacterianas nativas C1 y C2 en 23 días de incubación a 35 °C, pH 9 y 20 mg/mL de sustrato. Ayacucho – 2024.

Análisis de Varianza - Biomasa

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	1	0.00764	0.007640	0.14	0.714
Error	46	2.58864	0.056275		
Total	47	2.59628			

Análisis de Varianza - Proteínas

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	1	0.005233	0.005233	0.27	0.607
Error	46	0.897072	0.019502		
Total	47	0.902305			

Análisis de Varianza - Aminoácidos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	1	0.00328	0.003276	0.14	0.715
Error	46	1.11442	0.024226		
Total	47	1.11769			

Anexo 35. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
PROBLEMA GENERAL - ¿Cuáles serán las condiciones óptimas de temperatura, pH, concentración de sustrato y tiempo, de dos cepas bacterianas nativas, en la capacidad queratinolítica. Ayacucho. 2023-2024?	OBJETIVO GENERAL Evaluar las condiciones óptimas de dos cepas bacterianas nativas, en la capacidad queratinolítica. Ayacucho. 2023-2024 OBJETIVOS ESPECIFICOS - Determinar la temperatura (°C) óptima de dos cepas bacterianas nativas en la capacidad queratinolítica. Ayacucho 2023-2024 - Determinar el potencial de hidrógeno (pH) óptimo de dos cepas bacterianas nativas en la capacidad queratinolítica. Ayacucho 2023-2024 - Determinar la concentración de sustrato [S] óptimo de dos cepas bacterianas nativas en la capacidad queratinolítica. Ayacucho 2023-2024 - Determinar el tiempo (horas) óptimo de dos cepas bacterianas nativas en la capacidad queratinolítica. Ayacucho 2023-2024.	Teorías y enfoques - Composición estructural de la pluma - Usos de la pluma de pollo - Microorganismos productores de queratinasas - Mecanismo de degradación de la queratina en las plumas - Optimización enzimática - Aplicaciones biotecnológicas de las enzimas queratinolíticas Marco conceptual - Plumas - Proteínas - Proteína fibrosa - Enzimas microbianas - Proteasas - Queratinasas - Temperatura óptima - pH óptimo	HIPOTESIS GENERAL Las dos cepas de bacterias nativas producen enzimas con poseen la capacidad queratinolítica a diferentes condiciones; tal como temperatura a 35 – 40 °C, pH a 8 – 9, concentración de sustrato a 20 g/L y tiempo 24 – 120 horas.	VARIABLE a. Independiente: Condiciones de cultivo - Temperatura (°C) - Potencial de hidrogeno (pH) - Concentración de sustrato [S] - Tiempo - Cepas bacterianas nativas b. Dependiente - Capacidad queratinolitica	TIPO DE INVESTIGACIÓN - Experimental – Aplicativa NIVEL DE INVESTIGACIÓN - Experimental DISEÑO - Experimental - Transversal MÉTODO - Estadística descriptiva MUESTREO - Población y muestra Por el tipo de investigación no se puede definir la población tampoco la muestra.

**UNSCH****FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS**

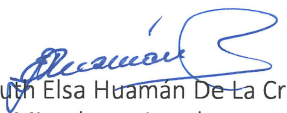
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Bach. Gary Heynar COTRADO CANDIA
RESOLUCIÓN DECANAL N° 480-2024-UNSCH-FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día jueves veintiuno de noviembre del año dos mil veinticuatro; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, participando como presidente el Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista, Mg. Ruth Elsa Huamán De La Cruz (miembro – jurado), el Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi (miembro – jurado), Mg. Sonia Haydeé Palomino Felices (miembro – jurado), Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez (miembro – asesor) actuando como secretaria docente encargada la Blga. Rosana Luzia Ventura Caverro con memorando N° 357-2024-UNSCH(IN)-FCB de fecha diecinueve de noviembre de dos mil veinticuatro, para presenciar la sustentación de tesis titulada: **Optimización de la capacidad queratinolítica de dos cepas bacterianas nativas. Ayacucho 2023**, presentado por el Bach. Gary Heynar COTRADO CANDIA. El presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó a la secretaria docente dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto académico, luego de ello dispuso el inicio del acto de sustentación, indicando al sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Culminada la exposición, el presidente invitó a cada uno de los Miembros del Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas al sustentante. Culminada esta etapa, el presidente invitó a la sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones; cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

Miembros del Jurado Evaluador	Exposición	Respuesta/preguntas	Promedio
Mg. Ruth Elsa Huamán De La Cruz	18	18	18
Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi	19	18	19
Mg. Sonia Haydeé Palomino Felices	18	18	18
PROMEDIO			18

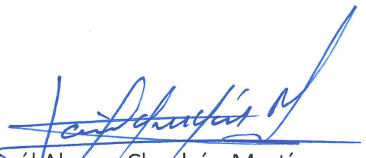
El sustentante alcanzó el promedio de 18 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso del sustentante y el público al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga dando a conocer los resultados e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las seis de la tarde con cuatro minutos; firmando al pie del presente en señal de conformidad.


Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista
Presidente


Mg. Ruth Elsa Huamán De La Cruz
Miembro – Jurado


Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi
Miembro – Jurado


Mg. Sonia Haydeé Palomino Felices
Miembro- Jurado


Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez
Miembro – Asesor


Blga. Rosana Luzia Ventura Caverro
Secretario docente (e)



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA - ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

Nº 91-2024-FCB-D

Yo, FIDEL RODOLFO MUJICA LENGUA, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Optimización de la capacidad queratinolítica de dos cepas bacterianas nativas. Ayacucho, 2023**, por GARY HEYNAR COTRADO CANDIA; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 14%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario Nº 039-2021-UNSCH-CU.

En consecuencia, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 08 de diciembre de 2024.


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela Profesional de Biología
Dr. Fidel R. Mujica Lengua
DIRECTOR

Optimización de la capacidad queratinolítica de dos cepas bacterianas nativas. Ayacucho, 2023

por Gary Heynar Cotrado Candia

Fecha de entrega: 08-dic-2024 06:55a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2544762839

Nombre del archivo: COTRADO-CANDIA-Gary-Heynar-pregrado_Tesis-2024_TURNITIN.pdf (752.83K)

Total de palabras: 11233

Total de caracteres: 53815

Optimización de la capacidad queratinolítica de dos cepas bacterianas nativas. Ayacucho, 2023

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%	14%	1%	10%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	7%
2	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	3%
3	repositorioinstitucional.buap.mx Fuente de Internet	2%
4	"Rol de triptófano y tirosina en las modificaciones oxidativas de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa inducidas por radicales peroxilo y anión radical carbonato", Pontificia Universidad Catolica de Chile, 2022 Publicación	1%
5	Reina Alexandra Cerezo, Catalina de los Ángeles Enríquez. "Software de control de asistencia por reconocimiento facial, para Dependencias del Gobierno", Revista Ecuatoriana de Derecho y Administración, 2024 Publicación	<1%

6	repositorio.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
7	digibug.ugr.es Fuente de Internet	<1 %
8	repositorio.elpoli.edu.co Fuente de Internet	<1 %
9	scielo.conicyt.cl Fuente de Internet	<1 %
10	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo