Mendoza, 18 de diciembre de 2009.

- **INFORME CORRESPONDIENTE A REGISTRO DE CADENA DE CUSTODIA:** RCC 328 – T
- **SOLICITANTE:** **NEGOCIOS GLOBALES S.A.**
- **TELÉFONO:** **0261 – 154542817**
- **CUIT** **30 – 71032400 – 6**
- **DOMICILIO:** **Guardia Vieja 2260 – Vistalba – LUJÁN DE CUYO – Prov. de MENDOZA, ARGENTINA.**
- **SERVICIO SOLICITADO:** **Verificar:**

a) En una muestra (Nº 1) de uno de sus productos, comercializado como absorbente de hidrocarburos con la marca CRUNCH OIL, verificar que el producto CRUNCH OIL no inhibe el crecimiento microbiano natural a concentraciones de 400 g por litro.

b) En otra muestra (Nº2) del producto CRUNCH OIL después de su empleo como absorbente de hidrocarburos, comprobar la absorción de hidrocarburos totales a una relación de "1 parte de CRUNCH OIL: 4 partes de hidrocarburos".

A la concentración del producto tal cual de 375 g por litro de agua, estudiar su biodegradabildad en medio líquido.

- **MUESTRAS PRESENTADAS POR:** Señor Juan BERNAOLA
- **IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS:** Muestras **Nº 1** y **Nº 2**
- **EXTRAÍDAS:** 30/10/2009
- **FECHA Y HORA DE LA RECEPCIÓN:** 02/11/2009; 18.15 horas
- **FECHAS DE PROCESAMIENTO:**
- **La muestra Nº 1 fue procesada del 02/11/2009 al 09/11/2009.**
- **La muestra Nº 2 fue procesada entre los días 09/11/2009 y 19/11/2009.**
- **FECHA PROBABLE DE ENTREGA DEL INFORME FINAL:** 21/12/2009

Centro Universitario – Casilla de Correo 405 – CP:5500 – Mendoza
República. Argentina.
Tel.: 0054-261-4494137 - Fax 0054-0261-4380120.-

INFORME

SOLICITANTE: NEGOCIOS GLOBALES S.A. - RCC 358 T - 17/12/2009

METODOLOGÍA Y RESULTADOS OBTENIDOS

- **MUESTRA Nº 1.**

Se Utilizaron 2 Erlenmeyer de 250 ml:

1.- En el primero se colocaron 16 g de **CRUNCH OIL**, envueltos en doble gasa y sumergidos sin tocar el fondo del frasco, en 40 ml de agua adicionada de sales y glucosa, a una concentración de 50g/l , a modo de medio de cultivo ***no estéril*** para ***Saccharomyces cerevisiae*** .

Esta cantidad de **CRUNCH OIL** equivale a 400 g de producto por litro.

2.- En otro Erlenmeyer sólo se colocaron los 40 ml del medio de cultivo no estéril y con la misma concentración de glucosa.

Los 2 Erlenmeyer se inocularon con 1 g de levadura de panadería prensada comercial y se los cultivó con agitación magnética a temperatura ambiente.

A las 96 horas se filtró a través membrana ***MILLIPORE Type HC*** de 0,45 µm el contenido de los 2 Erlenmeyer y se determinaron los Sólidos Suspendidos Totales por secado a 110 ºC.

Los SST obtenidos, considerados una medida de la biomasa seca, fueron:

- Para el frasco Nº 1: la biomasa seca equivalente a 19.9 g por litro.
- Para el frasco Nº 2: 15,1 g por litro.

Diferencia relativa = [(19,9, – 15,1)/19,9] *100=

= **24 %**

En el frasco Nº 1 se obtuvo un 24 % más de biomasa.

El aumento de biomasa en el frasco Nº 1 debe atribuirse a que una fracción de CRUNCH OIL puede ser hidrolizada y metabolizada por el cultivo de un consorcio bacterias – levaduras.

Asumiendo un rendimiento en biomasa del 50 % para esa fracción:

19,6g/l – 15,1 g/l = 4,5g/l

4,5g/l* 2 = fracción metabolizable de **CRUNCH OIL** = 9g/l de **CRUNCH OIL**

[(16 – 9)/16] *100 = 43,8 %

Centro Universitario – Casilla de Correo 405 – CP. 5500 – Mendoza
República. Argentina.
Tel.: 0054-261-4494137 - Fax 0054-0261-4380120.-

INFORME

SOLICITANTE: NEGOCIOS GLOBALES S.A. - RCC 358 T - 17/12/2009

De lo que puede deducirse que:

CONCLUSIONES

- **CRUNCHOIL no inhibe el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*, microorganismo banal e incapaz normalmente de crecer en presencia de substancias tóxicas.**
- **Una fracción de CRUNCH OIL estimada del orden del 43,8 % es fácilmente biodegradable en 96 horas.**
- **Es improbable que CRUNCH OIL afecte el crecimiento microbiano en el ambiente natural, por lo que debe descartarse su presencia en el mismo como un contaminante.**
- **Esta conclusión es extensiva tanto a ambientes sólidos (como suelos) o líquidos (cuerpos de agua dulce o marina).**

Centro Universitario – Casilla de Correo 405 – CP. 5500 – Mendoza
República. Argentina.
Tel.: 0054-261-4494137 - Fax 0054-0261-4380120.-

INFORME

SOLICITANTE: NEGOCIOS GLOBALES S.A. - RCC 358 T - 17/12/2009

- **MUESTRA Nº 2.**

Se pesaron 50 g de la muestra Nº 2 y se realizó bajo campana la extracción de los hidrocarburos absorbidos con éter sulfúrico.

De la muestra no se eliminó la eventual humedad por el riesgo de eliminar hidrocarburos volátiles.

El éter sulfúrico con los hidrocarburos lixiviados se filtró a través de membrana de microfibra de vidrio ***WHATMAN GFF Cat. Nº 1825 – 047.***

Después de evaporar el solvente, el peso del extracto obtenido fue igual a 39,7 g.

Se concluye que **CRUNCH OIL** absorbe hidrocarburos en una proporción:

[(50 -39,7) /50]*100= 20,6

100 – 20,6 = 79,4

79,4 /20,6 = 3.85

CONCLUSIÓN

- **CRUNCH OIL después de su uso específico absorbe 3.85 partes de hidrocarburos por parte.**
- **es decir, 79,4 % del peso total del CRUNCH OIL después de ser usado como absorbente de hidrocarburos corresponden a esos hidrocarburos.**

Se colocaron 50 g de la Muestra Nº 2 en una envoltura de doble gasa, y sumergidos sin tocar el fondo del frasco, en 40 ml de agua adicionada de sales a modo de cultivo ***no estéril*** para microorganismos seleccionados para la degradación de hidrocarburos, entre los que se encuentran especies del género ***Pseudomonas*** y ***Alcaligenes***.

Estos microorganismos se cultivaron con agitación magnética, .a temperatura ambiente, durante 120 horas

Las fuentes de carbono y energía de los microorganismos estuvieron integradas por los hidrocarburos absorbidos por **CRUNCH OIL** y su fracción metabolizable en 120 horas.

Luego se procedió a la determinación de los sólidos suspendidos totales como una medida de la biomasa seca total por filtración a través de membrana MILLIPORE de 0,45 µm.

Los SST obtenidos fueron:

Centro Universitario – Casilla de Correo 405 – CP. 5500 – Mendoza
República. Argentina.
Tel.: 0054-261-4494137 - Fax 0054-0261-4380120.-

INFORME

SOLICITANTE: NEGOCIOS GLOBALES S.A. - RCC 358 T - 17/12/2009

SST= 27,3 gramos

Para un rendimiento teórico del 100 % en biomasa por peso de hidrocarburos metabolizados, el peso de los hidrocarburos degradados sería igual a los 27,3 g.

Por lo tanto en 120 horas la fracción teórica degradada de hidrocarburos totales fue:
(27,3/39,7) * 100 = 69 %

El **CRUNCHOIL** se separó de la gasa y se secó durante 48 horas a 44,5 ºC.
Luego se extrajeron con éter sulfúrico los hidrocarburos residuales obteniendo un valor de 11,8 g.
El error en la determinación de los hidrocarburos residuales totales es del 5 % ya que:
(39,7 – 27,3) g = 12,4 g
100 - (11,8/12,4)*100 = 100 - 95 = 5

CONCLUSIONES

- **En medio líquido y en 120 horas se degrada el 69% de los hidrocarburos totales absorbidos por CRUNCH OIL.**
- **Se podrían utilizar los microorganismos obtenidos al final de este tratamiento líquido como inóculo para llevar a cabo la biorremediación de suelos o líquidos contaminados con hidrocarburos.**

Centro Universitario – Casilla de Correo 405 – CP. 5500 – Mendoza
República. Argentina.
Tel.: 0054-261-4494137 - Fax 0054-0261-4380120.-

INFORME

SOLICITANTE: NEGOCIOS GLOBALES S.A. - RCC 358 T - 17/12/2009

NOTAS

- Este informe no puede ser reproducido sin autorización escrita del Laboratorio responsable.
- Los resultados obtenidos corresponden a los determinados sobre las muestras en el estado en que las mismas ingresaron al Laboratorio responsable.
- El Laboratorio responsable no se hace cargo de la metodología de extracción de las muestras.

EQUIPOS UTILIZADOS

- Balanza gravimétrica.
- Peachímetro.
- Estufa de cultivo.

Se encuentran calibrados.
Otros

- Equipo de filtración por membrana.
- Estufa de secado.

Centro Universitario – Casilla de Correo 405 – CP. 5500 – Mendoza - República. Argentina.
Tel.: 0054-261-4494137 - Fax 0054-0261-4380120.-

Centro Universitario – Casilla de Correo 405 – CP. 5500 – Mendoza
República. Argentina.
Tel.: 0054-261-4494137 - Fax 0054-0261-4380120.-

INFORME

SOLICITANTE: NEGOCIOS GLOBALES S.A. - RCC 358 T - 17/12/2009

- **III. <u>ESTERILIZACIÓN DURANTE 10 MINUTOS A 121ºC.</u>**

En autoclave automático **VARIOKLAV** se sometieron dos muestras de **CRUNCH OIL** al proceso de esterilización requerido de 10 minutos a 121ºC :

1. Una en bolsa de papel Kraft (madera)
2. Una en bolsa plástica esterilizable ***BIOHAZARD.***

Después del tratamiento térmico el producto de los dos envases presentó una leve variación de aspecto.

Se ensayaron las dos muestras así esterilizadas como absorbente de aceite SAE Normal 40 en seco y del mismo aceite como capa superficial del agua de un vaso de precipitación de 200 ml.

En ambas no se observó alteración alguna de las propiedades como absorbente de hidrocarburos del producto **CRUNCH OIL**.

<u>CONCLUSIONES:</u>

- **CRUNCH OIL puede ser sometido al baremo de esterilización con vapor húmedo "10 minutos a 121ºC" sin que se alteren sus propiedades como absorbente de hidrocarburos.**
- **Esto podría posibilitar el empleo de CRUNCH OIL como absorbente de grasa, aceite, u otros fluidos a ensayar por el agente que presenta las muestras, en ambientes que requieran del empleo de un producto estéril, por ejemplo en la industria alimentaria o en ambientes hospitalarios.**

Centro Universitario – Casilla de Correo 405 – CP. 5500 – Mendoza - República. Argentina.
Tel.: 0054-261-4494137 - Fax 0054-0261-4380120.-

Centro Universitario – Casilla de Correo 405 – CP. 5500 – Mendoza
República. Argentina.
Tel.: 0054-261-4494137 - Fax 0054-0261-4380120.-

INFORME

SOLICITANTE: NEGOCIOS GLOBALES S.A. - RCC 358 T - 17/12/2009

Universidad Nacional de Cuyo
Facultad de Ingeniería
Dirección de Estudios Tecnológicos e Investigaciones
Laboratorio de BIOTECNOLOGÍA

INFORME

SOLICITANTE: NEGOCIOS GLOBALES S.A. - RCC 358 T - 17/12/2009

LABORATORIO RESPONSABLE

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA certificado bajo NORMA ISO 9001:2008 por DET NORSKE VERITAS para la "IMPLEMENTACIÓN DE TÉCNICAS Y ENSAYOS DE BIOTECNOLOGÍA APLICADA A EFLUENTES INDUSTRIALES, AGUAS TERMALES, LÍQUIDOS Y SUELOS CONTAMINADOS Y AGUA PARA CONSUMO HUMANO" bajo Certificado Nº 68175-2009-AQ-ARG-OAA.

Responsable: Ing. Quím. Jorge Fuentes Berazategui

Teléfono: 4494137 – Interno 2141.

- **Responsable de Laboratorio y/o persona autorizada. Aclaración y/o sello:**

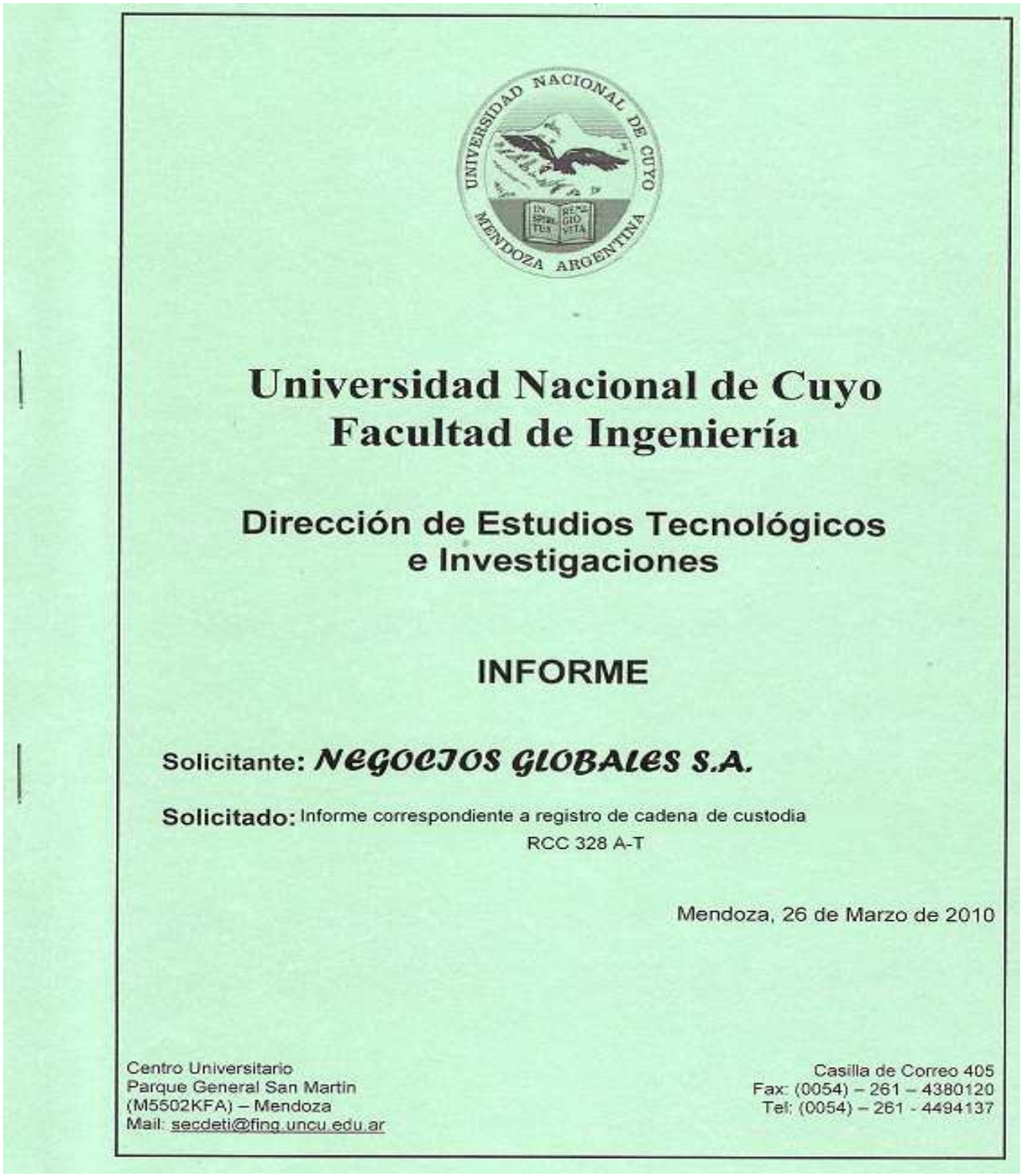
Ing. Jorge Fuentes - Berazategui
Cátedra y Laboratorio
de BIOTECNOLOGIA
Facultad de Ingeniería - U.N. de Cuyo

Lic. JOSE A. CANTERO
DTOR. INSTITUTO DE PROCESOS
FACULTAD DE INGENIERIA
U.N.Cuyo

Centro Universitario – Casilla de Correo 405 – CP. 5500 – Mendoza
República. Argentina.
Tel.: 0054-261-4494137 - Fax 0054-0261-4380120.-

INFORME

SOLICITANTE: NEGOCIOS GLOBALES S.A. - RCC 358 T - 17/12/2009



Universidad Nacional de Cuyo
Facultad de Ingeniería

Dirección de Estudios Tecnológicos e Investigaciones

INFORME

Solicitante: ***NEGOCIOS GLOBALES S.A.***

Solicitado: Informe correspondiente a registro de cadena de custodia RCC 328 A-T

Mendoza, 26 de Marzo de 2010

Centro Universitario
Parque General San Martin
(M5502KFA) – Mendoza
Mail: secdeti@fing.uncu.edu.ar

Casilla de Correo 405
Fax: (0054) – 261 – 4380120
Tel: (0054) – 261 - 4494137