



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**FORMULACIÓN DE UN COCTEL MICROBIANO A PARTIR DE  
*Lactobacillus plantarum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Streptomyces  
albus*, *Aspergillus oryzae*, COMO POSIBLE REDUCTOR DE LOS  
OLORES GENERADOS POR LA DESCOMPOSICIÓN DE  
RESIDUOS ORGÁNICOS.**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

Para obtener el grado académico de:

**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**AUTORES: CANDO TAYUPANDA NOEMI DEL PILAR**

**GAGÑAY RUIZ CRISTIAN GEOVANNY**

**TUTORA: ING. CRISTINA GABRIELA CALDERÓN TAPIA MSc.**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2018**

**©2018, Noemi del Pilar Cando Tayupanda, Gagnay Ruiz Cristian Geovanny**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS**

El Tribunal de Trabajo de Titulación Certifica que: El Trabajo de Investigación: “**FORMULACIÓN DE UN COCTEL MICROBIANO A PARTIR DE *Lactobacillus plantarum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Streptomyces albus*, *Aspergillus oryzae*, COMO POSIBLE REDUCTOR DE LOS OLORES GENERADOS POR LA DESCOMPOSICIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS**”, de responsabilidad de los señores Noemi del Pilar Cando Tayupanda y Cristian Geovanny Gagnay Ruiz, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizado su presentación.

**NOMBRE**

**FIRMA**

**FECHA**

Ing. Cristina Calderón Tapia

**DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN** -----

Ing. Rafaela Pacurucu Reyes

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL** -----

Nosotros, Noemi del Pilar Cando Tayupanda y Cristian Geovanny Gagñay Ruiz, declaramos que el presente trabajó es de nuestra autoría y que los resultados de los mismos son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados. El patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Noemi del Pilar Cando Tayupanda

Cristian Geovanny Gagñay Ruiz

## DEDICATORIA

Principalmente a Dios quien me dio salud, fortaleza para no derrumbarme a medio camino, paz en cada angustia y me levantó en cada caída, pero sobre todo gracias por brindarme sabiduría e inteligencia para culminar mi carrera.

A mi padre que siempre me estuvo dándome consejos para no rendirme y esforzarme cada día más, a mi madre y hermano quienes cada día se esforzaron más para poder apoyarme económicamente, quienes se sacaron el pan de la boca para darnos el estudio a mí y a mis hermanos, sobre todo por la confianza que depositaron en mi desde la escuela, colegio, universidad y en cada paso que di.

A mi esposo e hijo quienes siempre me dieron un abrazo, un beso, un te amo y aliento cuando más lo necesitaba, a mi esposo por siempre creer en mis capacidades, por motivarme a seguir y ayudarme económicamente para culminar mi carrera, a mi hijo por hacer de mis días los más felices y ser el pilar fundamental de mi vida y de mis éxitos.

*Noemi del Pilar Cando Tayupanda*

Dedico principalmente a Dios por haberme dado la vida, cuidado y guiado para así poder cumplir con mis metas. A mis padres Teofilo G. y Maria R. quienes con sacrificio y esfuerzo han luchado incansablemente y me han apoyado siempre durante mi formación como profesional, además por su paciencia y ayuda en todo momento que se me ha presentado un obstáculo durante mi vida. A mis hermanos quienes son mi fuente de felicidad y lucha diaria. A una de las personas a quien mas admiro y amo, Yojaira Sh. por impulsarme a ser cada dia mejor persona, siendo mi motivación infinita. A mi compañera y amiga Noemi C. con quien pude compartir momentos de trabajo en el proyecto.

*Cristian Geovanny Gagñay Ruiz*

## AGRADECIMIENTO

A cada uno de mis profesores quienes nos brindaron de sus conocimientos, desde primero hasta decimo semestre, por la paciencia que tuvieron para hacernos entender cada una de las clases y siempre estarse actualizando con información para siempre darnos lo mejor.

A nuestra tutora de tesis Ing. Cristina Calderón, que desde el primer día estuvo dispuesta a apoyarnos, por el voto de confianza que tuvo por nosotros como sus tutorados, por ayudarnos a solucionar inconvenientes que se nos presentó en la investigación, quien siempre tuvo tiempo para corregirnos y sacarnos de cualquier duda que tuvimos.

A Rafaela Pacurucu miembro designado por la Unidad de Titulación, quien nos ayudó a ver y corregir nuestras falencias, quien nos motivó a empaparnos mucho más sobre la investigación, quien siempre nos dio criterios buenos para mejorar nuestra investigación.

A mis compañeros y amigos con quienes compartimos grandes retos, desvelos, aventuras, con quienes se convirtieron en mi segunda familia y se podía reír a carcajadas y llorar sin parar cuando se presentaba la ocasión, por el apoyo, motivación que siempre existió.

*Noemi del Pilar Cando Tayupanda*

*Cristian Geovanny Gagñay Ruiz*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS.....	3
CAPITULO I.....	4
1 <b>MARCO TEÓRICO</b> .....	4
1.1 <b>Antecedentes de la investigación</b> .....	4
1.1.1 <i>Generación de residuos sólidos</i> .....	4
1.1.2 <i>Microorganismos Eficientes (ME) como agentes de descomposición de la materia orgánica</i> .....	4
1.2 <b>Marco Conceptual</b> .....	6
1.2.1 <i>Residuos Sólidos</i> .....	6
1.2.2 <i>Descomposición de los residuos orgánicos</i> .....	7
1.2.3 <i>Contaminación odorífera</i> .....	7
1.2.4 <i>Características del olor</i> .....	7
1.2.5 <i>Reducción de olores</i> .....	8
1.2.6 <i>Microorganismos eficientes (ME)</i> .....	8
1.2.7 <i>Control microbiano</i> .....	15
1.2.8 <i>Antagonismo Microbiano</i> .....	15
1.2.9 <i>Tinción Microbiana</i> .....	16
1.2.10 <i>Cámara de Neubauer</i> .....	17
1.2.11 <i>Lixiviados</i> .....	17
1.2.12 <i>Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)</i> .....	17
1.2.13 <i>Demanda Química de Oxígeno (DQO)</i> .....	18
1.2.14 <i>Turbidez</i> .....	18

1.2.15	<i>Conductividad</i> .....	18
1.2.16	<i>pH</i> .....	18
CAPITULO II	.....	19
2	<b>METODOLOGÍA</b> .....	19
2.1	<b>Metodología de la Investigación</b> .....	19
2.1.1	<i>Tipo y Diseño de Investigación</i> .....	19
2.1.2	<i>Población de Estudio</i> .....	20
2.1.3	<i>Técnicas de Recolección de Datos</i> .....	20
2.2	<b>Parte experimental</b> .....	21
2.2.1	<i>Lugar de la Investigación</i> .....	21
2.2.2	<i>Preparación de medios de cultivo</i> .....	21
2.2.3	<i>Adquisición de las cepas microbianas</i> .....	23
2.2.4	<i>Resiembra de las cepas microbianas</i> .....	24
2.2.5	<i>Prueba de antagonismo</i> .....	25
2.2.6	<i>Recolección de los residuos orgánicos</i> .....	26
2.2.7	<i>Cocteles microbianos</i> .....	27
2.2.8	<i>Evaluación odorífera</i> .....	33
2.2.9	<i>Medición del pH, temperatura y humedad</i> .....	35
2.2.10	<i>Análisis de lixiviados</i> .....	35
CAPITULO III	.....	40
3	<b>MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	40
3.1	<b>Comprobación de la pureza de las cepas</b> .....	40
3.2	<b>Prueba de antagonismo</b> .....	41
3.3	<b>Preparación de los inóculos microbianos</b> .....	45
3.3.1	<i>Conteo de los inóculos microbianos</i> .....	45
3.4	<b>Valoración del crecimiento de las cepas en los cocteles</b> .....	46

<b>3.5</b>	<b>Evaluación de la posible reducción de olores.....</b>	<b>47</b>
<b>3.5.1</b>	<b><i>Prueba piloto</i>.....</b>	<b>47</b>
<b>3.5.2</b>	<b><i>Prueba final</i>.....</b>	<b>48</b>
<b>3.6</b>	<b>Resultado de pH, temperatura y humedad.....</b>	<b>57</b>
<b>3.7</b>	<b>Análisis de lixiviados .....</b>	<b>62</b>
<b>3.8</b>	<b>Análisis del coctel con mejores resultados .....</b>	<b>64</b>
	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>66</b>
	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>67</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1.</b> <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	10
<b>Figura 2-1.</b> <i>Rhodopseudomonas palustris</i> .....	12
<b>Figura 3-1.</b> <i>Streptomyces albus</i> .....	13
<b>Figura 4-1.</b> <i>Aspergillus oryzae</i> .....	14
<b>Figura 1-2.</b> Laboratorio de biología molecular genética y microbiología.....	21
<b>Figura 2-2.</b> Plantilla para la prueba de antagonismo.....	26
<b>Figura 3-2.</b> Conteo de esporas.....	30
<b>Figura 1-3.</b> Cepas puras observadas al microscopio: A) <i>Lactobacillus plantarum</i> , B) <i>Rhodopseudomonas palustris</i> , C) <i>Streptomyces albus</i> , D) <i>Aspergillus oryzae</i> .....	40
<b>Figura 2-3.</b> Contaminación de la colonia <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	41
<b>Figura 3-3.</b> Crecimiento de las cepas microbianas en cocteles microbianos .....	46

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

<b>Fotografía 1-2.</b> Cepas microbianas; a) <i>Lactobacillus plantarum</i> , b) <i>Rhodopseudomona palustris</i> , c) <i>Streptomyces albus</i> , d) <i>Aspergillus oryzae</i> .....	23
<b>Fotografía 2-2.</b> Homogenización de los residuos orgánicos .....	27
<b>Fotografía 3-2.</b> Preparación de las suspensiones y diluciones de esporas .....	29
<b>Fotografía 4-2.</b> Preparación de los cocteles microbianos .....	31
<b>Fotografía 5-2.</b> Evaluación del crecimiento de las cepas en los cocteles .....	32
<b>Fotografía 6-2.</b> Aplicación de los cocteles.....	33
<b>Fotografía 7-2.</b> Evaluación de la posible reducción de los olores .....	34
<b>Fotografía 8-2.</b> Medición de la DBO5 por gasometría .....	36
<b>Fotografía 9-2.</b> Medición de DQO por volumetría .....	37
<b>Fotografía 10-2.</b> Medición del color en un fotómetro.....	39
<b>Fotografía 1-3.</b> Repeticiones del enfrentamiento antagónico de las 4 cepas microbianas.....	43

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3.</b> Homogeneidad de olor, prueba piloto.....	48
<b>Gráfico 2-3.</b> Homogeneidad de olor, prueba final.....	49
<b>Gráfico 3-3.</b> Variación del olor en los días de evaluación del Tratamiento 1 .....	50
<b>Gráfico 4-3.</b> Variación del olor en los días de evaluación del Tratamiento 2 .....	51
<b>Gráfico 5-3.</b> Variación del olor en los días de evaluación del Tratamiento 3 .....	52
<b>Gráfico 6-3.</b> Variación del olor en los días de evaluación del Tratamiento 4 .....	53
<b>Gráfico 7-3.</b> Variación del olor en los días de evaluación del Control .....	54
<b>Gráfico 8-3.</b> Histograma de los cocteles microbianos.....	56
<b>Gráfico 9-3.</b> Variación de la temperatura, humedad y pH durante los días de evaluación odorífera del Tratamiento 1.....	59
<b>Gráfico 10-3.</b> Variación de la temperatura, humedad y pH durante los días de evaluación odorífera del Tratamiento 2.....	59
<b>Gráfico 11-3.</b> Variación de la temperatura, humedad y pH durante los días de evaluación odorífera del Tratamiento 3.....	60
<b>Gráfico 12-3.</b> Variación de la temperatura, humedad y pH durante los días de evaluación odorífera del Tratamiento 4.....	60
<b>Gráfico 13-3.</b> Variación de la temperatura, humedad y pH durante los días de evaluación odorífera del Control.....	61

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-2.</b> Diseño de los tratamientos .....	19
<b>Tabla 2-2.</b> Componentes de los medios utilizados .....	22
<b>Tabla 3-2.</b> Escala de fuerza relativa de olores.....	35
<b>Tabla 1-3.</b> Resultado de la prueba de antagonismo entre las cuatro cepas microbianas. ....	42
<b>Tabla 2-3.</b> Escala de capacidad antagónica, utilizada por Ezziyyani, 2004 .....	44
<b>Tabla 3-3.</b> Concentración de células por mililitro.....	45
<b>Tabla 4-3.</b> Evaluación odorífera del Tratamiento 1 .....	50
<b>Tabla 5-3.</b> Evaluación odorífera del Tratamiento 2 .....	51
<b>Tabla 6-3.</b> Evaluación odorífera del Tratamiento 3 .....	52
<b>Tabla 7-3.</b> Evaluación odorífera del Tratamiento 4 .....	53
<b>Tabla 8-3.</b> Evaluación odorífera del Control.....	54
<b>Tabla 9-3.</b> Prueba de Chi-cuadrado de Pearson .....	55
<b>Tabla 10-3.</b> Parámetros medidos durante la prueba final.....	58
<b>Tabla 11-3.</b> Parámetros evaluados, de los lixiviados del tratamiento 4 y control .....	62

## RESUMEN

En esta investigación se analizó el potencial de reducción de olores generados por la descomposición de la materia orgánica procedente de mercado, utilizando: *Lactobacillus plantarum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Streptomyces albus*, *Aspergillus oryzae*. Los microorganismos eficientes (ME) son un cultivo tecnológico inocuo que agrupa a microorganismos benéficos existentes en la naturaleza, que pueden ser aerobios y anaerobios. A partir de la evaluación antagónica entre las cepas microbianas se midió el índice de inhibición (I) y se prepararon inóculos microbianos que fueron sometidos a un conteo en la cámara de Neubauer. El diseño experimental consistió en 5 tratamientos, incluyendo el control, y 3 repeticiones de los mismos; se elaboraron 4 diferentes cocteles al 5% del inóculo microbiano, 5% de melaza y 90% de agua. Se inocularon 5 mL de cada coctel en recipientes de 5 L de capacidad con residuos orgánicos durante 3 días, midiéndose parámetros como temperatura, pH y humedad. La evaluación odorífera fue desarrollada por 40 personas durante 4 días, bajo la escala de ASHRAE. De acuerdo al análisis estadístico, existen diferencias significativas en la eficiencia de los cocteles; siendo el coctel con mejores resultados el cuarto, conformado por las 4 cepas en concentraciones de  $1 \times 10^7$  UFC y esporas por mililitro, melaza y agua destilada, obteniéndose una escala de “sin olor” al octavo día del ensayo. Además, se realizó el análisis físico químico de los lixiviados de este tratamiento, evidenciándose parámetros con valores inferiores a los arrojados por los lixiviados de la muestra control. Se podría realizar pruebas piloto en una estación de transferencia de residuos orgánicos, utilizando el coctel 4.

**PALABRAS CLAVE:** <BIOTECNOLOGÍA>, <MICROBIOLOGÍA>, <MICROORGANISMOS EFICIENTES (ME)>, <COCTELES MICROBIANOS>, <NIVEL DE OLOR>, <RESIDUOS ORGÁNICOS>, <ESCALA DE ASHRAE>

## ABSTRACT

In this research, the potential for reduction of odors generated by the decomposition of organic matter from the market was analyzed, using: *Lactobacillus plantarum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Streptomyces albus*, *Aspergillus oryzae*. The efficient microorganisms (ME) are an environmentally friendly technological crop that groups together beneficial microorganisms existing in nature, which can be aerobic and anaerobic. From the antagonistic assessment between the microbial strains, the inhibition index (I) was measured and microbial inoculants were prepared and subjected to a count in the Neubauer chamber. The experimental design consisted of 5 treatments, including control, and 3 repetitions of the same ones thereof; 4 different cocktails were elaborated with 5% of the microbial inoculants, 5% of molasses and 90% of water. 5 mL of each cocktail was inoculated in 5 L capacity containers with organic waste for 3 days, measuring parameters such as temperature, pH and moisture. The odoriferous evaluation was developed by 40 people during 4 days, under the ASHRAE scale. According to the statistical analysis, there are significant differences in the efficiency of the cocktails; being the cocktail with the best results the fourth, formed by the 4 strains in concentrations of  $1 \times 10^7$  CFU and spores per milliliter, molasses and distilled water, obtaining an "odorless" scale on the eighth day of the trial. In addition, the physical-chemical analysis of the leachates of this treatment was carried out, evidencing parameters with values lower than those shown by the leachates of the control sample. You could carry out pilot tests in an organic waste transfer station, using the cocktail 4.

**KEYWORDS:** <BIOTECHNOLOGY>, <MICROBIOLOGY>, <EFFICIENT MICROORGANISMS (ME)>, <MICROBIAL COCKTAILS>, <ODOR LEVEL>, <ORGANIC WASTE>, <ASHRAE SCALE>

## INTRODUCCIÓN

En nuestra sociedad los residuos son considerados uno de los problemas ambientales más grandes, afectando directamente al medio ambiente, ya sea en la calidad del aire, por los gases que genera su descomposición, al agua cuando los residuos se vierten en ella o son arrastrados por la lluvia o al suelo al arrojar los desechos al mismo (UNMDP, 2016). En todo el mundo el principal origen de contaminación ambiental son los residuos orgánicos generados en la agricultura, industria, en la crianza de animales y desechos de municipios, (Higa & Parr, 1994).

Según el INEC, en el 2014, en el Ecuador se recogieron aproximadamente 11.203,24 Tn/d de residuos sólidos, del total de residuos sólidos (2014, p. 15). Según la Agencia Pública de Noticias del Ecuador y Sudamérica, mencionan que “Cerca del 50% de residuos sólidos que se produce en Ecuador proviene de Quito y Guayaquil y de estos el 62% corresponde a residuos orgánicos; el 25%, a inorgánicos que pueden reutilizar o reciclar; y el 13%, residuos que no se pueden aprovechar” (Agencia Pública de Noticias del Ecuador y Sudamérica, 2015). De acuerdo al INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos) del 2010, la ciudad de Riobamba cuenta con una población de 225,741 habitantes, los mismos que generan un promedio de 100 Tn/d de residuos sólidos, (Jara, 2014, pp. 4, 20).

Estudios realizados en otros países, afirman que la contaminación odorífera ha aumentado al pasar los años; un caso es España, afectando al 25 % de su población, (Fernandez, 2014). De acuerdo al INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización) en nuestro país el 26,76% de los hogares afirman tener algún tipo de molestia ocasionado por los malos olores.

Existen un sinnúmero de sustancias que generan los residuos orgánicos tras su fermentación, estos son; hidrógeno sulfurado y otros derivados del azufre, acetaldehído, tolueno, fenol, ácido acético, mercaptanos, aminas, amoníaco, etc. (AMBIENTUM, 2015). El inadecuado manejo y almacenamiento de los residuos sólidos genera condiciones idóneas para la producción de enfermedades y plagas, afectando y poniendo en riesgo principalmente la salud de los encargados de manipular y acomodar, al momento de recolectarlos para su disposición final, (Bernache, 2006).

La contaminación odorífera es una problemática que ha tenido un impacto negativo desde hace varios años hasta la actualidad, en la Ciudad de Riobamba los contenedores de basura de mercados son una fuente continua de malos olores y contaminación, afectando de forma adversa al mercado y a las personas que lo frecuentan, el mismo que requiere ser atendido prioritariamente.

La formulación del coctel microbiano está basada en el descubrimiento del Doctor Japonés Teruo Higa, donde, las bacterias fotosintéticas, bacterias ácido lácticas, levaduras, hongos, actinomicetos y otros son microorganismos eficientes, que puede coexistir sin ningún problema, (Ramirez, 2006, p. 9).

En la investigación se buscó reducir los malos olores generados por la descomposición de los residuos orgánicos, utilizando cuatro cepas: *Lactobacillus plantarum*, *Rhodopseudomona palustris*, *Streptomyces albus*, *Aspergillus oryzae*, éstas se eligieron ya que, según Ramirez, “consumen las sustancias que causan la putrefacción, malos olores y enfermedades, eliminando la mayoría de microorganismos patógenos por medio de la exclusión competitiva” (Ramirez, 2006, p. 20).

Los microorganismos eficientes han sido utilizados en varias áreas, como en la agricultura para mejorar el crecimiento de las plantas, en la ganadería, medio ambiente (tratamiento de aguas residuales y residuos sólidos), para el hogar, entre otros, (Banco Internacional de Desarrollo, 2009).

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Formular un coctel microbiano a partir de las cepas *Lactobacillus plantarum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Streptomyces albus*, *Aspergillus oryzae*, como un posible reductor de olores generados por la descomposición de residuos orgánicos.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar la actividad simbiótica de las cepas microbianas obtenidas.
- Formular los cocteles microbianos.
- Evaluar la posible reducción de olor en función de los cocteles formulados.
- Analizar y comparar parámetros de lixiviados entre el mejor tratamiento y un control.

## CAPITULO I

### 1 MARCO TEÓRICO

#### 1.1 Antecedentes de la investigación

##### 1.1.1 *Generación de residuos sólidos*

Los residuos orgánicos son los que se producen en mayor porcentaje en comparación a los demás residuos sólidos urbanos, la acumulación de estos residuos en los tachos de basura por un tiempo prolongado generan putrefacción, emanando así olores desagradables al ambiente. En la actualidad, la generación de residuos sólidos a nivel mundial se considera uno de los mayores problemas de contaminación ambiental, en el año 2012 nuestro país generaba aproximadamente 406,8 Kg per cápita al año, lo que sería la mitad de los residuos generados en Estados Unidos. Sin embargo, a comparación con los países de América del Sur, Ecuador se encuentra detrás de Chile, Brasil, Perú y Colombia, posiblemente por la extensión de nuestro país, (INEC, 2014, p. 6).

Ardila et al. (2015), menciona que los seres humanos generan cada vez más residuos orgánicos, situación que ha permitido investigar tecnologías eficientes para producir una rápida descomposición y así evitar la presencia de seres portadores de enfermedades; del mismo modo evitar la emisión de alcoholes, cetonas, ésteres, anhídrido carbónico, amoniaco, metano, ácido sulfhídrico, benceno y otros causantes de la emisión de olores nauseabundos.

##### 1.1.2 *Microorganismos Eficientes (ME) como agentes de descomposición de la materia orgánica*

Los microorganismos son uno de los principales causantes de la descomposición de la materia orgánica, pero existe un grupo denominado microorganismos eficientes (ME), que está conformado por varias bacterias, hongos y actinomicetos, que en conjunto ayudan acelerar

descomposición y disminuir la generación de olores. Éstas son muy empleadas en la agricultura, favoreciendo al crecimiento de las plantas, (Ramirez, 2006). Los principales microorganismos eficientes son, bacterias fotosintéticas (*Rhodospseudomona palustris*), bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus plantarum*), levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*), actinomicetos (*Streptomyces albus*), hongos fermentativos (*Aspergillus oryzae*).

Según el Banco Internacional del Desarrollo (2009), los ME ayudan a que la materia orgánica se descomponga por la vía de fermentación y no por la común que es la putrefacción, además, su uso es muy seguro ya que no tiene riesgos de intoxicación. La Federación Europea de Biotecnología incluye a dichos microorganismos dentro del Grupo 1; que corresponde a organismos no patógenos, es decir, no son peligrosos para el hombre, los animales, las plantas y el medio ambiente.

Existen investigaciones que corroboran que los ME ayudan a disminuir olores de diferentes tipos; como es el caso de la investigación de Raut, (2007), citado por Cruz (2010), donde evidenciaron la disminución de los olores en el manejo de corrales para aves, mediante el control microbiano efectuado con microorganismos productores de fermentación, que evitaron la formación de gases olorosos.

En otra investigación se emplea ME en residuos orgánicos de cocina, obteniendo buenos resultados; en condiciones anaerobias, los olores fueron aceptables, con ausencia de insectos y una reducción de humedad; en condiciones aerobias se tuvo presencia de larvas, moscas e insectos, además de humedades elevadas, pero existió disminución de olores, no obstante, mostraron mayor descomposición de la materia orgánica en comparación con los tratamientos en anaerobiosis, (Cruz, 2010, p. 57).

## **1.2 Marco Conceptual**

### **1.2.1 Residuos Sólidos**

Son aquellos materiales o restos que no tienen ningún valor económico para el usuario, pero si un valor comercial para su recuperación e incorporación al ciclo de vida de la materia, existen dos tipos de residuos: orgánicos e inorgánicos, (INEC, 2014, p. 6).

#### **1.2.1.1 Residuos Sólidos Orgánicos**

Los residuos sólidos orgánicos son biodegradables, por lo que se los puede reutilizar como materia prima para generar abonos mediante compostaje, estos residuos se componen de: cáscaras de frutas, restos de comida, restos vegetales de origen domiciliario y/o jardín, etc.

INEC (2014), afirma que los beneficios de reciclar los residuos orgánicos son:

- Obtener un abono para las plantas de alta calidad, libre de productos químicos.
- Devolver al suelo materia orgánica, enriqueciéndolo con el abono producido.
- Reducir la cantidad de basura que se dirigen a los vertederos.

#### **1.2.1.2 Residuos Sólidos Inorgánicos**

Son aquellos materiales que no tienen un origen biológico, es decir, que no provienen directamente de un organismo vivo, más bien, del medio industrial, además, cumplen con ciclos de degradabilidad muy largos, entre los más conocidos tenemos botellas, plásticos, cartón, vidrio, etc, (INEC, 2014).

### **1.2.2 *Descomposición de los residuos orgánicos***

Los residuos orgánicos se componen principalmente de carbono, hidrogeno, oxígeno y nitrógeno, con pequeñas cantidades de fósforo, azufre, potasio, y otros elementos traza. La descomposición es generada por microorganismos que crecen en presencia y ausencia oxígeno; los microorganismos aerobios utilizan el oxígeno y compuestos de carbono para estimular su crecimiento, generando gases como el dióxido de carbono y olores que aporta a la contaminación odorífera, (Barrett, 2017, pp. 1-2).

### **1.2.3 *Contaminación odorífera***

La norma UNE-EN 13725: 2004 “Calidad del aire. Determinación de la concentración de olor por olfatometría dinámica”; define al olor como, la propiedad organoléptica perceptible por el órgano olfativo cuando aspira sustancias volátiles; el olor es una reacción sensorial de determinadas células situadas en la cavidad nasal, (Centro Nacional de la Información de la Calidad, s.f, p. 1).

Los malos olores causados por actividades tales como: explotaciones de ganado, actividades industriales, depuradoras, vertederos, etc., son considerados como un tipo de contaminación ambiental, aunque los olores no lleguen a ser tóxicos, pueden llegar a provocar malestar, molestias respiratorias, alteraciones psicológicas, entre otras. Al ser los olores un factor para la aceptación o rechazo, la población puede llegar a percibir los olores como un peligro para la salud, ocasionando niveles de descontento tan negativas como cualquier otro problema ambiental, (Asociacion Española para la Calidad, 2017).

### **1.2.4 *Características del olor***

El método propuesto por la American Society of Heating, Refrigerating and Air Conditioning Engineers (ASHRAE), permite establecer la fuerza relativa de un olor Berenguer (1999), indica que un olor presenta cuatro características que permiten su definición y medida:

1. Intensidad: Fuerza de la sensación percibida.
2. Calidad: Carácter diferenciador y grado de parecido de un olor.
3. Aceptabilidad: Grado de gusto o disgusto de una sensación de olor.
4. Umbral de olor: Concentración mínima de un estímulo odorífero capaz de provocar una respuesta.

### **1.2.5 Reducción de olores**

La materia orgánica produce olor cuando se descompone por la vía de la putrefacción, cuando se aplica los ME empieza a predominar la descomposición de la vía fermentativa que disminuirá o eliminará el olor debido a que segregan ácidos orgánicos, enzimas, antioxidantes y quelatos metálicos. El amoníaco (responsable del olor característico de los procesos de descomposición orgánica), sustancia alcalina débil, que es neutralizada por dichos ácidos; las enzimas y los antioxidantes, en acción sinérgica, tienen un efecto amortiguador que reduce el olor; los quelatos metálicos, reaccionan con sustancias olorosas de manera instantánea, convirtiéndolas en inodoras, (Webmaster, 2009).

### **1.2.6 Microorganismos eficientes (ME)**

En la investigación del doctor profesor Teruo Higa de la Facultad de Agricultura de la Universidad de Ryukyus-Okiwana (Japón), recogió 2000 especies de microorganismos; excluyendo los dañinos, logró encontrar 80 microorganismos beneficiosos para los seres humanos, hizo varias combinaciones entre ellas, hasta que en 1982 presentó de manera formal a los ME, (Ramirez, 2006, p. 16).

La tecnología de los microorganismos eficientes fue introducida al mundo, en una Conferencia Internacional llevada a cabo en Tailandia en 1989, por un programa de investigación emprendida por 13 países de Asia del Pacífico. Los ME han sido utilizados tanto en animales como en seres humanos, siendo aprobado en varios e importantes países, entre ellos Estados Unidos, cuyo Departamento de Agricultura incluyó a los ME dentro de la categoría G.R.A.S.

(Generally recognized as safe); así también la United States Food and Drug incluyó dentro de la categoría “food grade” (aptos para uso alimentario), (Ramirez, 2006, p. 21).

Los ME son un cultivo tecnológico que incluye diversas especies de microorganismos benéficos aerobios y anaerobios, que desempeñan funciones favorables para la salud del ecosistemas y seres vivos, actúan de manera complementaria unos con otros al entrar en contacto con la materia orgánica, generan un campo de resonancia que ordena dicha materia segregando sustancias beneficiosas como, ácidos orgánicos antioxidantes, vitaminas y minerales. El principal resultado es que, los ME limpian el medio de elementos tóxicos y gérmenes patógenos, convirtiendo así los residuos en antioxidantes saludables para el organismo y ecosistemas, (Microorganismos Eficientes, 2013).

Prescott et al. (2002), define al crecimiento microbiano como el aumento de sus componentes celulares, que puede tener como resultado un incremento del número de su población; la disponibilidad de agua, pH, temperatura, concentración de oxígeno, presión atmosférica y otros factores ambientales influyen sobre el crecimiento microbiano. Muchos microorganismos especialmente las bacterias han conseguido adaptarse en condiciones ambientales extremas.

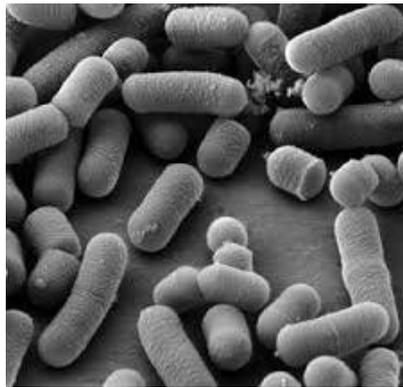
#### ***1.2.6.1 Principales microorganismos***

Ramirez (2006), afirma que los microorganismos que componen la tecnología de los ME son:

1. Bacterias del ácido láctico (*Lactobacillus plantarum*).
2. Bacterias Fotosintéticas (*Rhodopseudomonas palustris*).
3. Levaduras (*Saccharomices cerevisiae*).
4. Actinomicetos (*Streptomyces albus*).
5. Hongos de fermentación (*Aspergillus oryzae*).

#### **1.2.6.1.1 *Lactobacillus plantarum***

Es una bacteria Gram positiva, de forma bacilar o cocoide, no patogénica, aerotolerante; emplea azúcares y carbohidratos producidos por las bacterias fotosintéticas para sintetizar ácido láctico, acetato, etanol, CO<sub>2</sub> y otros, además de sustancias antimicrobianas como; peróxido de hidrógeno y bacteriocinas; esta última es de naturaleza peptídica que tienen como blanco destruir la membrana celular de los patógenos, (Zapata, et al., 2009, p. 76). Según Yang (2000), citado por, Ramírez (2005), el ácido láctico es un potente esterilizador que interactúa con las membranas celulares y generan acidificación intracelular y desnaturalización de las proteínas, eliminando así a los microorganismos patógenos (generadores de la putrefacción), además, estimulan la fermentación de materiales como la celulosa y lignina, ayudando a acelerar la descomposición de los residuos orgánicos vegetales, (Ballesteros, et al., 2016, p. 2).



**Figura 1-1.** *Lactobacillus plantarum*

**Fuente:** (Keith, 2016)

#### **1.2.6.1.2 *Rhodospseudomonas palustris***

Es una bacteria no sulfúrica de color púrpura en forma de bastón, Gram negativa, crece en ausencia o presencia de oxígeno, se encuentra abundantemente en la naturaleza como: en desechos porcinos, agua de estanques, sedimentos costeros marinos, materia orgánica en descomposición y excrementos de lombrices. Posee un metabolismo muy versátil para la obtención de energía, como es; fotoautótrofo (energía de la luz y carbono de CO<sub>2</sub>), fotoheterótrofo (energía de la luz y carbono de compuestos orgánicos), quimioheterótrofo

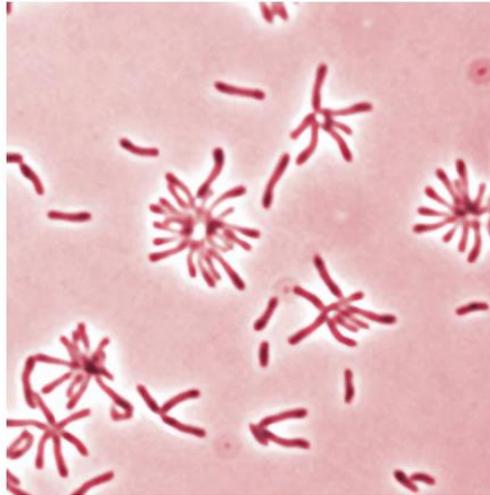
(carbono y energía de compuestos orgánicos) y quimioautótrofo (energía de compuestos inorgánicos y carbono de CO<sub>2</sub>), (Larimer, et al., 2004). Pueden emplear el hidrógeno, el sulfuro de hidrógeno o el azufre como dadores de hidrógeno, (Schlegel, 1997).

En el 2004 se consiguió secuenciar el genoma de la cepa, se encontró que es capaz de procesar y analizar algunos componentes de su entorno, para detectar fluctuaciones en los niveles de carbono, nitrógeno, oxígeno y luz; además, tienen complejos que recolectan luz y centros de reacción fotosintética similares a los de las plantas verdes, (González, 2017).

Capaz de metabolizar lignina y algunos ácidos resultantes de la degradación de residuos vegetales, metabolizando CO<sub>2</sub> en material celular; la fijación de CO<sub>2</sub> se da mediante la enzima ruBisCO y el ciclo de Calvin-Bassham. Es el único entre las bacterias fotótrofas púrpuras en codificar nitrogenasa que contiene vanadio que cataliza la producción de aproximadamente el triple de hidrógeno, además de amonio, que las nitrogenasas que contienen molibdeno, (González, 2017), (Larimer, et al., 2004).

*R. palustris* tiene la capacidad de desarrollarse anaeróbicamente en la luz como aeróbicamente en la oscuridad, siempre y cuando tenga a su disposición un sustrato orgánico; en condiciones anaeróbicas en la oscuridad puede obtenerse alguna cantidad de energía, aunque no permite el crecimiento, dando como productos finales: anhídrido carbónico, acetato, propionato y sulfuro de hidrogeno, (Schlegel, 1997, pp. 423,424).

Elaboran su propio alimento a partir de compuestos orgánicos e inorgánicos como: H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub>, hidrocarburos, ácidos orgánicos, sintetizando azúcares de cadenas simples (glucosa), enzimas (Amilasas, Hidrolasas, Proteasas) y sustancias bioactivas como: Aminoácidos (Metionina, Leucina y Lisina), Hormonas (AIA, AG) y Ácidos nucleicos; además, degradan y remueven compuestos tóxicos como: putrescinas, cadaverinas, mercaptanos y fenoles. Los azúcares de cadena simple son utilizados por otros macroorganismos benéficos, entre estos los Lactobacillus y Actinomycetos, ayudando a incrementar la población microbiana, (Estación Experimental Agropecuaria para la Introducción de Tecnologías Apropriadas de Japón, 2013, pp. 3,4).



**Figura 2-1.** *Rhodospirillum rubrum*

Fuente: (González, 2017)

#### 1.2.6.1.3 *Streptomyces albus*

Pertenecen al grupo de los actinomicetos aerobios, Gram positivo, forman filamentos ramificados que producen esporas de cocoide en forma terminal, las colonias jóvenes son grises y tienen una superficie lisa, las colonias grandes y antiguas son de color blanco y tienen una superficie aterciopelada (debido a la formación de esporas); las colonias se adhieren a la superficie del agar y son extremadamente resistentes en consistencia, (Department of Veterinary Disease Biology, 2011).

Los *Streptomyces albus*, generan sustancias antimicrobianas (antibióticos) a partir de aminoácidos y azúcares producidas por las bacterias fotosintéticas y la materia orgánica; *R. palustris* y *S. albus* coexisten aumentando juntas la actividad microbiana, (Ballesteros, et al., 2016, p. 2), el consumo de la glucosa se da por el glicólisis.

La salinomicina es un antibiótico generado por esta bacteria, que a bajas concentraciones mata a los microorganismos patógenos mediante la inhibición de la actividad ATPasa y la fosforilación oxidativa, esta acción se genera en la fase sexual del ciclo del patógeno, (Zavala, 2017, pp. 14,15).

Según Tiquia (2002), este actinomiceto es muy importante por su capacidad enzimática para hidrolizar sustancias orgánicas complejas (celulosa, pectina, lignina, etc.). Ésta especie es capaz de liberar enzimas como la ligninoperoxidasa, la cual da inicio a la biodegradación de la lignina, generando una acción de despolimerización oxidativa; puede sintetizar una de las 3 enzimas (endo- $\beta$ -1,4-glucanasa; exo- $\beta$ -1,4-celobiohidrolasa; y  $\beta$ -glucosidasa) involucradas en la degradación de la celulosa, (Paillié, 2012, p. 9).



**Figura 3-1.** *Streptomyces albus*

**Fuente:** (Department of Veterinary Disease Biology, 2011)

#### ***1.2.6.1.4 Aspergillus oryzae***

Es un hongo filamentoso, en forma de vesícula redonda con cadenas conoidales extendidas a manera de hebras blancas y esponjosas; es importante para los procesos de fermentación debido a su capacidad de secretar grandes cantidades de enzimas degradantes, que ayudan a hidrolizar macromoléculas como el almidón, dextrinas, y proteínas, transformándoles en carbohidratos más simple, péptidos o aminoácidos, (Sánchez, 2017). Producen cadenas de esporas en forma de cabezas radiantes, variando de color verde amarillento a marrón oliva, (Tarek, et al., 2010, p. 1171).

*Aspergillus oryzae*, actúa rápidamente en la descomposición y fragmentación de los residuos orgánicos, con ayuda de sus micelios vegetativos y aéreos, para producir alcohol, esterres y sustancias antimicrobianas, generando la desodorización, previene la aparición de insectos perjudiciales y gusanos. Según, Farrel y Jones, 2009, citado por (Camacho, et al., 2014, p. 292), A.

*oryzae* y *S. albus* son los que más participan en el proceso de descomposición por su capacidad de degradar residuos de plantas y animales (celulosa, quitina y pectina).

La enzima  $\alpha$ -amilasa es producida por *A. oryzae*, son sintetizadas al inicio del proceso metabólico (0-18 horas), permitiendo la disponibilidad de alimento para el hongo; esta enzima realiza una hidrólisis en la cadena lineal de las macromoléculas del almidón, obteniendo maltosa y glucosa. La proteasa es otra enzima producida por este hongo, es generada en una segunda fase (18-48 horas), cuando el microorganismo ya crecido y haya consumido los carbohidratos presentes en el cultivo; son capaces de hidrolizar enlaces peptídicos de las proteínas generando aminoácidos y/o péptidos sencillos, (Sánchez, 2017).

Después de las 50 horas *A. oryzae* genera metabolitos secundarios como: Kojico, ácido ciclopiazónico, Maltorizina, ácido 3-Nitropropiónico, sin embargo, Environmental Protection Agency (EPA), considera que no producen micotoxinas a niveles significativos para los animales y personas, (Sánchez, 2017). Los metabolitos secundarios pueden ser tóxicos para los patógenos suprimiendo las vías metabólicas de los mismos.



**Figura 4-1.** *Aspergillus oryzae*

Fuente: (AGROTEKNO LAB, 2012)

### **1.2.7 Control microbiano**

Por agentes físicos:

El calor y otros agentes físicos se suelen utilizar para esterilizar objetos, los cuatro agentes más empleados son calor, bajas temperaturas, filtración y radiación. Desde tiempos de los griegos el fuego y el agua en ebullición fueron utilizados para esterilizar y desinfectar, en la actualidad se puede aplicar el calor en húmedo o seco; el calor húmedo destruye rápidamente los virus, las bacterias y hongos, (Prescott, et al., 2002, p. 149).

Por agentes químicos:

Se usan con más frecuencia en la desinfección y antisepsia, se toman en cuenta factores como la clase de los microorganismos, potencial presente, la concentración y naturaleza del desinfectante y la duración del tratamiento. Algunos agentes químicos que se utilizan para el control de los microorganismos; compuestos fenólicos, alcoholes, halógenos, aldehídos y otros, (Prescott, et al., 2002, pp. 155-159).

### **1.2.8 Antagonismo Microbiano**

Es una relación negativa, puesto que se da una inhibición o muerte de un microorganismo por acción del otro, este tipo de relación se ha utilizado como agente de biocontrol, (Pérez, et al., 2014, p. 53).

Pérez et al. (2014, p. 55), mencionan que para evaluar el antagonismo existen métodos como: inhibición simultánea, difusión en agar, detección con sensi-disco, doble capa.

## **1.2.9 Tinción Microbiana**

### **1.2.9.1 Tinción Gram**

Fue desarrollada por el médico Danés Christian Gram en 1884, es ampliamente utilizado en bacteriología, es un método de tinción diferencial que se basa en las características de la pared celular de las bacterias y divide a las bacterias en dos clases: Gram negativas y Gram positivas, (Prescott, et al., 2002, p. 29).

#### **1.2.9.1.1 Bacterias Gram positivas**

La pared celular está constituida por una capa gruesa de peptidoglicanos, no cuentan con una membrana celular. Retienen el cristal violeta después de la decoloración y aparecen de color azul intenso (purpura), (López, et al., 2014, p. 16).

#### **1.2.9.1.2 Bacterias Gram negativas**

Están compuestas por una capa fina de peptidoglicanos y una membrana celular externa, cuyo componente estructural son los lipopolisacáridos. No son capaces de retener el cristal violeta después de la decoloración y son teñidas de color rojo con safranina, (López, et al., 2014, p. 16).

### **1.2.9.2 Tinción con azul de lactofenol**

El reactivo Azul de Lactofenol actúa como aclarante por la acción combinada del fenol y el ácido láctico, la elevada concentración de fenol hace que las enzimas hidrolíticas se inactiven evitando así la lisis celular; mientras que el colorante azul de metileno se une a la quitina de la pared celular de los hongos quedando teñidas de azul oscuro, (Química Clínica Aplicada S.fdg, 2015).

### **1.2.10 *Cámara de Neubauer***

Es un aparato de precisión, hecha de vidrio especial, utilizado para contar células o partículas, está constituida por una placa gruesa en forma de portaobjetos de 30 x 70 mm y 4 mm de grosor, la posición central está dividida en 3 partes; en la posición central se encuentra grabada una retícula rectangular, en caso de las cámaras dobles; existen dos zonas de conteo una superior y una inferior al eje longitudinal de la cámara. Cada retícula de conteo mide 3 mm x 3 mm de lado, la misma que esta subdividida en 9 cuadros de 1 mm de lado cada uno, (Moreno, 2004, p. 1).

Bastidas (s.f.), afirma que para realizar el conteo se tomara en cuenta 5 cuadros grandes de la cámara (2 superiores, 2 inferiores y uno central), además, menciona que existe una convención por la cual si las células tocan el límite superior o limite izquierdo del cuadro deben contabilizarse, pero no se contabilizan si tocan el límite inferior o limite derecho.

### **1.2.11 *Lixiviados***

Es el líquido que se filtra a través de los residuos sólidos en descomposición, por medio de procesos de fermentación que ocurren en el interior de los residuos, los lixiviados están compuestos por un alto contenido de materia orgánica, sales orgánicas e inorgánicas, nitrógeno, metales pesados, otros, (Bataller, et al., 2007).

### **1.2.12 *Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)***

Es la cantidad de oxígeno requerida por microorganismos para degradar la materia orgánica en forma biológica, representa la cantidad de materia orgánica biodegradable y la cantidad de miligramos de oxígeno disuelto por cada litro de agua, que se utiliza conforme se consumen los desechos orgánicos por acción de las bacterias en el agua. La DBO<sub>5</sub> se determina en un periodo de 5 días, manteniendo la muestra a 20 °C, midiendo el proceso de reducción de oxígeno disuelto, (Lopez & Mendoza, 2004).

### **1.2.13 *Demanda Química de Oxígeno (DQO)***

Es la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar químicamente toda la materia orgánica que se encuentra en una muestra, con una solución de dicromato potásico o permanganato potásico; se expresa en miligramos de oxígeno diatómico por litro ( $\text{mg O}_2/\text{L}$ ), (IMAGUA Water Technologies S.L., 2018).

### **1.2.14 *Turbidez***

Es la medida de la cantidad de partículas en suspensión (10 nm a 0,1 mm de diámetro) presentes en una muestra, por lo que pierde su transparencia; la medición se realiza mediante el método nefelométrico y se expresa en unidades de turbidez nefelométricas (UTN), (González, 2011).

### **1.2.15 *Conductividad***

Es una medida de la propiedad que poseen las soluciones acuosas para conducir la corriente eléctrica, la misma que depende de la presencia de iones; la conductividad es el inverso de la resistencia, que se expresa en micromho por centímetro ( $\mu\text{mho}/\text{cm}$ ), equivalente a microsiemens por centímetro ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) o milisiemens por centímetro ( $\text{mS}/\text{cm}$ ), (Suarez, 2006, p. 2).

### **1.2.16 *pH***

Es un parámetro que mide los iones hidronio presentes en el agua, se expresa en escala de 0-14, los valores menores a 7 indican soluciones ácidas, los valores mayores a 7 indican soluciones alcalinas y valores iguales a 7 indican soluciones neutras, (Gonzales, 2011).

## CAPITULO II

### 2 METODOLOGÍA

#### 2.1 Metodología de la Investigación

##### 2.1.1 Tipo y Diseño de Investigación

Es de tipo experimental, debido a que se evaluó la posible reducción de olor generado por la descomposición de los residuos orgánicos procedentes de mercados, mediante la formulación de 4 cocteles microbianos. La concentración de las 4 cepas microbianas empleadas en el coctel se basó en las propiedades de las mismas, según datos bibliográficos.

**Tabla 1-2.** Diseño de los tratamientos

CEPAS TRATAMIENTO	<i>R. palustris</i> UFC/MI	<i>L. plantarum</i> UFC/mL	<i>A. oryzae</i> esporas/mL	<i>S. albus</i> esporas/mL
Tratamiento 1 (T1)	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$
Tratamiento 2 (T2)	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^5$
Tratamiento 3 (T3)	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^7$
Tratamiento 4 (T4)	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^7$
Control (T5)	-	-	-	-

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2017

El diseño de los tratamientos se elaboró, basándose en las propiedades y funciones que cumple cada microorganismo dentro del consorcio microbiano eficiente, según datos bibliográficos: (Arias, 2010) y (Ramirez, 2006).

En el T1 la concentración de las cuatro cepas fue de  $1 \times 10^5$  UFC/mL y esporas/mL, tomando en cuenta las concentraciones utilizadas en la elaboración del producto EM1, (Ficha Técnica de EM-1, 2015, p. 2). En T2 la concentración de la bacteria fotosintética, bacteria ácido láctico y el hongo fue de  $1 \times 10^7$  UFC/mL y esporas/ mL, mientras que para el actinomiceto fue de  $1 \times 10^5$  esporas/mL. En el T3 la concentración de la bacteria fotosintética, actinomiceto y ácido láctica fue de  $10^7$  UFC/mL, esporas/mL, mientras que para el hongo fue de  $10^5$  esporas/ mL. En T4, la concentración de las cuatro cepas fue de  $10^7$  UFC/mL y/o esporas/ mL.

Se realizaron tres repeticiones de los 5 tratamientos; los cocteles se prepararon, con melaza, agua destilada e inóculos microbianos. Para cada tacho de basura la dosis que se utilizó fue de 5 mL; cada tacho contuvo residuos orgánicos de mercado, que se calculó en base al volumen del tacho de basura (5L) y densidad suelta de los residuos, que es de 200 kg/m<sup>3</sup> (Sakurai, 2000).

### **2.1.2 Población de Estudio**

La población de estudio fue de 4 cocteles microbianos a partir de: *Lactobacillus plantarum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Streptomyces albus*, *Aspergillus oryzae*, a diferentes concentraciones, los cuales se probó en tachos con residuos orgánicos (1 kg) procedentes de mercado.

### **2.1.3 Técnicas de Recolección de Datos**

Para la evaluación de la eficiencia de los cocteles, se realizaron pruebas odoríferas empleando la técnica propuesta por la American Society of Heating, Refrigerating and Air Conditioning Engineers (ASHRAE) (Berenguer, 1999).

## 2.2 Parte experimental

### 2.2.1 Lugar de la Investigación

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Biología Molecular-Genética y Microbiología, que se encuentra ubicada en la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### 2.2.1.1 Coordenadas

Latitud: 1°39'18.74"S

Longitud: 78°40'44.12"O

Elevación: 2821



**Figura 1-2.** Laboratorio de biología molecular genética y microbiología

**Fuente:** (Google Earth, 2018)

### 2.2.2 Preparación de medios de cultivo

Durante el proceso de investigación se prepararon los siguientes medios de cultivo; PDA (potato dextrose agar) “Titan Media”, MRS (Man, Rogosa y Sharpe) “Titan Media”, YPD (Yeast Peptone Dextrose) “Titan Media”, agar nutritivo “BD Difco™”, TSB (Tryptic Soy Broth) “BD

Difco <sup>TM</sup>. El agar se diluyó en agua destilada, de acuerdo a las instrucciones del fabricante, posteriormente se procedió a autoclavar a condiciones de: 1 atmosfera de presión, 121° C de temperatura, por 30 minutos (Sanz, 2011, p. 18), en la siguiente tabla se detallan los componentes e instrucciones para la preparación de los medios de cultivo utilizados.

**Tabla 2-1.** Componentes de los medios utilizados

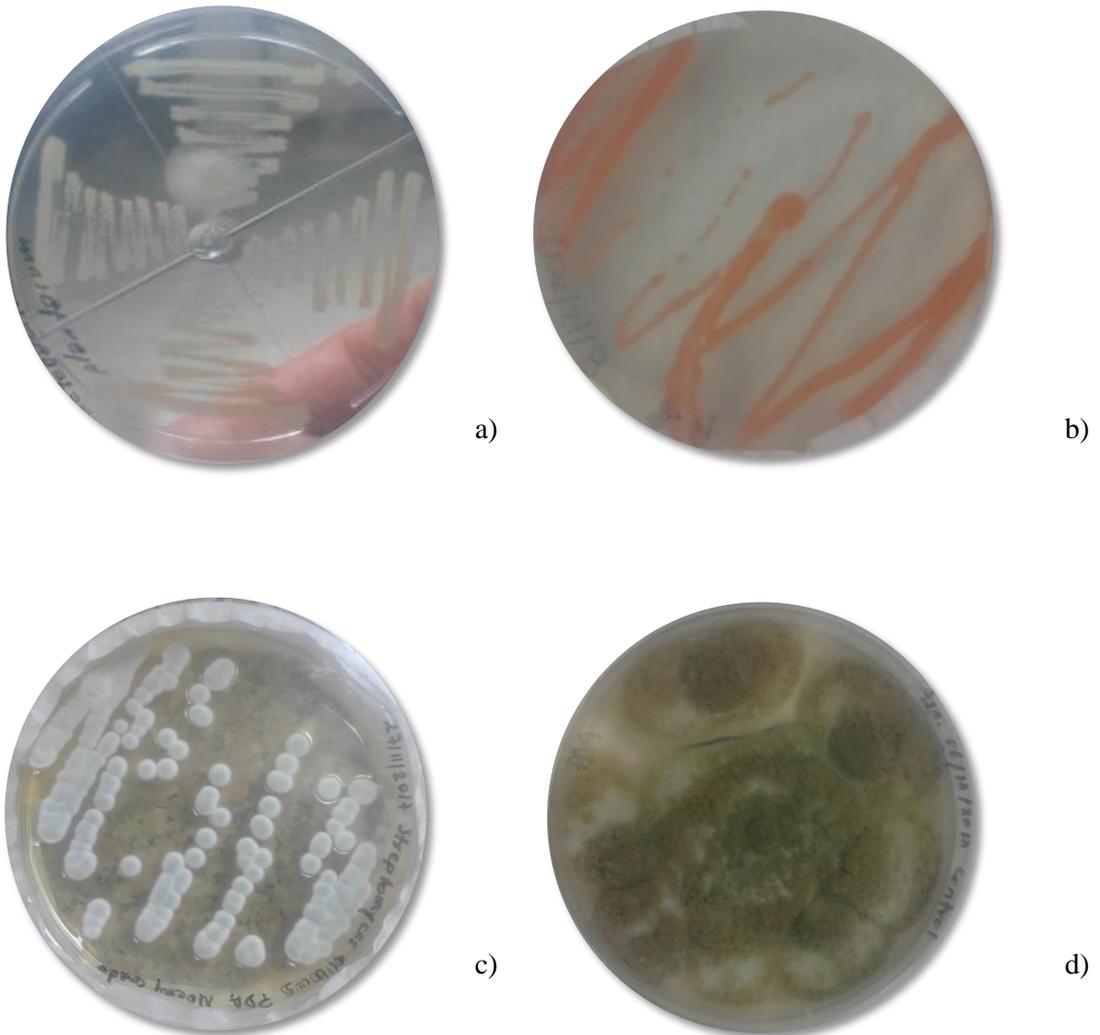
Medios	Formula en gramos por litro		Instrucciones del fabricante
PDA	Infusión de papa	4	Suspender 39 gramos en un litro de agua destilada.
	Dextrosa	20	
	Agar	15	
MRS	Proteosa peptona N° 3	10	Suspender 64 gramos en un litro de agua destilada
	Extracto de carne	8	
	Extracto de levadura	4	
	Glucosa	20	
	Monoleato de sorbitán	1 mL	
	Fosfato dipotásico	2	
	Acetato de sodio	5	
	Citrato de amonio	2	
	Sulfato de magnesio	0,2	
	Sulfato de manganeso	0,05	
	Agar	13	
Agar nutriente	Pluripeptona	5	Suspender 31 gramos en un litro de agua destilada
	Extracto de carne	3	
	Cloruro de sodio	8	
	Agar	15	
Caldo TSB	Triptefina	17	Suspender 30 gramos en un litro de agua destilada.
	Peptona de soya	3	
	Cloruro de sodio	5	
	Fosfato dipotásico	2,5	
	Glucosa	2,5	
YPD	Extracto de levadura	10	Suspender 65 gramos en un litro de agua destilada
	Peptona	20	
	Dextrosa	20	
	Agar	15	

**Fuente:** Laboratorio de Microbiología Clínica, ESPOCH, 2018

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

### 2.2.3 Adquisición de las cepas microbianas

Las cepas microbianas; *Lactobacillus plantarum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Streptomyces albus*, *Aspergillus oryzae*, se adquirieron en el Laboratories Plantsphere, ubicado en la ciudad de Quito, en el anexo E se adjunta la certificación de las cepas adquiridas.



**Fotografía 2-1.** Cepas microbianas; a) *Lactobacillus plantarum*, b) *Rhodopseudomona palustris*, c) *Streptomyces albus*, d) *Aspergillus oryzae*.

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2017

#### **2.2.4 Resiembra de las cepas microbianas**

Se realizó con el objetivo de preservar y evitar el envejecimiento de las cepas microbianas de:

- a) *A. oryzae*, se sembró en medio PDA por punción, en un cuarto específicamente para la manipulación de hongos previamente esterilizado.
- b) *L. plantarum* se sembró en medio MRS, de forma masiva, dentro de una cámara de flujo Laminar ESCO, además, cada cepa se sembró en caldo TSB.
- c) *R. palustris* y *S. albus* en medio PDA, siguiendo el mismo procedimiento de *L. plantarum*.

A las bacterias se incubaron por 24 horas, al hongo por 5 días y al actinomiceto por 7 días, a una temperatura de 28 °C en una incubadora Memmert, posteriormente fueron guardadas en refrigeración (Refrigeradora DUREX), para su uso durante la investigación, este proceso de resiembra se lo realizó una vez al mes.

##### **2.2.4.1 Comprobación de la pureza de las cepas**

Se realizaron pruebas de pureza de las cepas, después de la adquisición, previo a las pruebas de antagonismo y antes de la preparación de los cocteles microbianos, mediante tinción azul de lactofenol para el hongo y tinción Gram para las bacterias.

##### **Tinción de Lactofenol**

Se colocó una gota de azul de lactofenol en un portaobjetos, con un pedazo de cinta adhesiva de aproximadamente 3 centímetros de largo, se recogió con cuidado una pequeña muestra de *A. oryzae* y se colocó sobre la gota de azul de lactofenol evitando que se forme una burbuja, posteriormente se observó al microscopio con los lentes de 40X y 100X (Ceron, et al., 2014, p. 12).

## Tinción Gram

La tinción se llevó a cabo por triplicado, para: *L. plantarum*, *R. palustris*, *S. albus*; con un asa de siembra se recogió una pequeña cantidad de muestra, posteriormente se extendió sobre el porta objetos y se fijó la muestra, flameando. Para la tinción se adicionó los reactivos en el siguiente orden: cristal violeta (1 minuto), Lugol (3 minuto), alcohol cetona (20 segundos) y safranina (1 minuto)), (Madigan, et al., 2004, pp. 58-59), pasado el tiempo de cada reactivo se lavó con agua destilada, se dejó secar y se observó al microscopio con el lente de 100x.

### 2.2.5 Prueba de antagonismo

Se realizó un enfrentamiento entre las cuatro cepas microbianas (*Lactobacillus plantarum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Streptomyces albus*, *Aspergillus oryzae*).

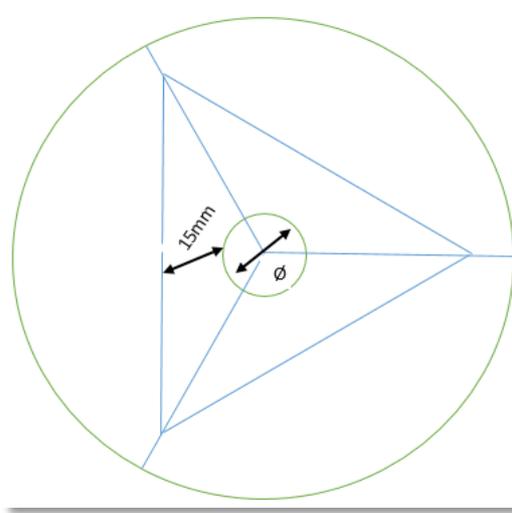
Esta prueba se basó en la metodología propuesta por Zamora *et al* (2005), citado por Valenzuela (2014), donde se prepararon suspensiones microbianas en concentraciones de aproximadamente  $1 \times 10^5$  UFC/mL, en solución salina para *L. plantarum* y *R. palustris*; y en tween 80 al 0,1% para el *S. albus*. Se tomó discos de 5mm de diámetro de *A. oryzae*, utilizando sacabocados estériles.

Para el enfrentamiento entre las cepas se usaron cajas con medio PDA; las cajas se dividieron en tres partes iguales, en el centro se colocaron los discos, a 15 mm del centro se realizaron 3 estrías de los inóculos bacterianos, como se indica en la figura 2-3; se las incubó por 7 días a 28 °C. Se realizaron tres ensayos del efecto antagonista y 3 testigos solo con el hongo, (Valenzuela, 2014).

Se midió el diámetro del hongo, tanto del efecto antagonista como del testigo, para conocer el índice de inhibición ante las otras cepas y se utilizó la siguiente fórmula, citado por Valenzuela (2014, p. 26):

$$I = [(C-T) / C] \times 100$$

En donde, C es el radio del testigo, T es el radio del ensayo.



**Figura 2-2.** Plantilla para la prueba de antagonismo

**Fuente:** Valenzuela (2014, p. 26)

### **2.2.6** *Recolección de los residuos orgánicos*

Los residuos orgánicos se recolectaron en mercados de la Ciudad de Riobamba (San Alfonso y Santa Rosa), residuos como: cascaras de legumbres (haba, frejol y arveja), hojas de verduras (nabo, lechuga, coliflor, brócoli, otros), frutas (manzana, papaya, pera, otros), no se recogió frutos cítricos, cebolla, ni hierbas olorosas. Se los extendió sobre una funda plástica para pedacearlos y obtener una mezcla homogénea de los residuos; en una balanza CAMRY se pesó por tacho, 1 Kg de residuos orgánicos.



**Fotografía 2-2.** Homogenización de los residuos orgánicos

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

## 2.2.7 Cocteles microbianos

### 2.2.7.1 Volumen del coctel microbiano

Ambiem Ltda, sugiere la aplicación de 0.5 a 1 litros de ME por m<sup>3</sup> o tonelada de material orgánico. Para conocer la dosis del coctel por tratamiento se realizó una relación con el volumen del recipiente utilizado (5 litros de capacidad) (Ambiem Ltda, s.f., p. 4).

$$X = \frac{1L ME * 5L recipiente}{1000L}$$

$$X = 0.005L \sim 5ml$$

La dosis de aplicación para cada tacho fue de 5 mL; se prepararon 100 mL de cada coctel, en base al número de días de aplicación (3), repeticiones de cada tratamiento (3) y además de un volumen adicional.

El coctel contuvo: 5% de melaza (5 mL), 5% de inóculos microbianos (5 mL) y 90% de agua destilada (90 mL) (Banco Internacional de Desarrollo, 2009); el volumen de cada inóculo que se colocaron en el coctel microbiano fue de 1,25 mL.

### 2.2.7.2 Preparación de los inóculos microbianos

Se prepararon suspensiones microbianas a diferentes concentraciones, según los tratamientos planteados en la tabla 1-2, en esta tabla se aumentó la concentración de los inóculos microbianos con el fin de mantener la concentración requerida de  $10^4$  y  $10^6$ , después de disolverlos en agua y melaza, para conocer la concentración final de los inóculos microbianos a preparar se utilizó la siguiente fórmula, (Chirinos & Delgado, 2013).

$$C1*V1=C2*V2$$

En donde:

C1: Concentración inicial del inóculo

V1: Volumen inicial de cada inóculo

C2: Concentración final en el coctel

V2: Volumen final o total del coctel

a) Conteo de esporas

#### Suspensión de esporas

Se sembraron cepas de *A. oryzae* y *S. albus*, en tubos inclinados con medio PDA y se incubaron a 28°C por 5 -7 días.

Para preparar el Tween 80 al 0.1% se realizó una dilución al 10% de la fórmula comercial y se autoclavó por 30 minutos, seguido se diluyó 1 mL de la dilución anterior y se llevó a 100 mL en un balón de aforamiento y se esterilizó en la autoclave SPA FGDEGARI, (Cañedo & Ames, 2004, pp. 29-31). En un tubo con presencia de crecimiento de las cepas, se añadió 4 mL del Tween 80 al

0.1%, para liberar a las esporas se agitó vigorosamente y la suspensión se pasó a otro tubo de ensayo estéril, (Cañedo & Ames, 2004, pp. 29-31).

Para realizar el recuento se efectuaron diluciones sucesivas de cada suspensión hasta la dilución  $10^{-5}$  (Sanz, 2011); previo a las diluciones y conteo, se agitaron la suspensión de esporas en un vortex Turbo Mixer UNICO durante 5 minutos.

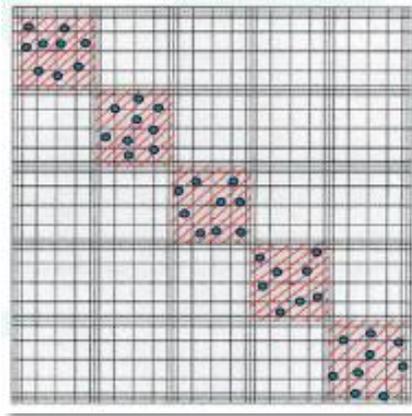


**Fotografía 3-2.** Preparación de las suspensiones y diluciones de esporas

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

Para el recuento se basó en el manual “Cámara thoma y Neubauer improved para el recuento de levaduras (TIRAJE)”. La limpieza de la cámara de Neubauer se lo hizo con detergente, agua destilada, alcohol al 96% y se secó con papel suave. Se colocó la muestra en la cámara de Neubauer por capilaridad, posteriormente se lo llevó al microscopio para el conteo, al presenciarse burbujas de aire en la cámara, se repitió el procedimiento desde la limpieza de la cámara, (Gabsystem, s.f., pp. 1-5).

El conteo de las esporas se realizó en la cámara de Neubauer, en 5 cuadros medianos de 16 cuadros pequeños cada uno, como se muestra la figura 6-2 y se sacó la media aritmética, (Gabsystem, s.f., pp. 1-5).



**Figura 3-2.** Conteo de esporas

**Fuente:** (Gabsystem, s.f.)

Para obtener datos más certeros, se realizaron tres conteos de las mismas diluciones, posteriormente se sacó un promedio y se calculó la concentración de esporas por mililitro de cada dilución, mediante la siguiente ecuación;

$$C_{bac}: \frac{N^{\circ} \text{ prom de bacterias}}{\text{Volumen de celda}}$$

En donde, el volumen de celda es de  $4 \times 10^{-6} \text{ cm}^3$ . (Rodríguez & Guanilo, 2006).

Luego de haber realizado el conteo y haber encontrado la concentración requerida, los inóculos se los guardó en refrigeración, hasta la preparación de los cocteles.

b) Conteo de colonias bacterianas

Se raspó una caja Petri con cultivo de *L. plantarum* y *R. palustris*, se diluyeron en 10 mL de solución salina, para homogenizar la dilución se agitó en un vortex durante 5 minutos, posteriormente se realizaron diluciones sucesivas hasta llegar a la dilución  $10^{-5}$ , (Sanz, 2011).

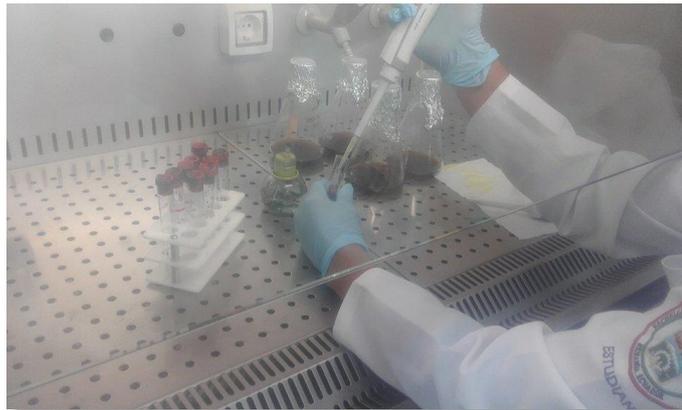
Para el conteo; se tomó 1 mL de las diluciones y se colocó en otro tubo previamente lavado y seco, agregando 2 gotas de lugol con el fin de fijar las bacterias, (Arredondo & Voltolina, 2014), con una pipeta Pasteur se llenó la cámara de Neubauer por capilaridad y se realizó el conteo de 5 cuadros medianos. Para los cálculos se utilizó la siguiente fórmula:

$$C_{bac}: \frac{N^{\circ} \text{ prom de bacterias}}{\text{Volumen de celda}}$$

En donde, el volumen de celda es de  $4 \times 10^{-6} \text{ cm}^3$ . (Rodríguez & Guanilo, 2006).

### 2.2.7.3 Preparación de los cocteles microbianos

La melaza se esterilizó en la autoclave, con el fin de eliminar cualquier presencia de microorganismos que se encontraran en el mismo y pudieran afectar en los resultados de la investigación. Para preparar cada coctel se emplearon 4 Erlenmeyer estériles de 250 mL, en el que se colocaron la melaza, inóculos microbianos y agua destilada, según las medidas ya establecidas anteriormente.



**Fotografía 4-2.** Preparación de los cocteles microbianos

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

Para la adaptación de las cepas a una nueva fuente de alimento (melaza), los cocteles se las incubaron a 28 °C por 24 horas, pasado el tiempo se midieron el pH de los cocteles, dando valores de cuatro; Ramirez (2006), afirma que el valor del pH de la solución de ME debe ser menor a 3.8, pero se encontraron cercanos a este valor, (Ramirez, 2006, p. 23).

#### 2.2.7.4 *Valoración del crecimiento de las cepas en el coctel*

En cajas con PDA se sembraron 1 mL de cada coctel y se las incubaron por 5 días para observar la presencia o ausencia de las 4 cepas microbianas, esto se realizó antes de la primera aplicación de los cocteles y al terminar la prueba.



**Fotografía 5-2.** Evaluación del crecimiento de las cepas en los cocteles

**Fuente:** Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018

#### 2.2.7.5 *Aplicación de los cocteles microbianos*

La aplicación de los cocteles se realizó 3 veces por semana, según lo sugerido por el Banco Internacional de Desarrollo (2009, p. 16), durante la prueba piloto y la final. Se tomó 5 mL del coctel y se diluyó en 18 mL de agua destilada, (Ambiem Ltda, s.f., p. 4), con la ayuda de un aspersor se roció en las paredes del contenedor y sobre los residuos orgánicos, logrando con esto una

buena distribución de los microorganismos en los residuos, esto se realizó durante la prueba piloto.

Después de cada aplicación los aspersores se lavaron con detergente, con abundante agua del grifo, con alcohol al 96% y se enjuago con agua destilada, con el fin de desinfectar el recipiente.



**Fotografía 6-2.** Aplicación de los cocteles

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018

### **2.2.8** *Evaluación odorífera.*

La forma de determinar mezclas de sustancias de olores ofensivos, puede desarrollarse mediante procesos analíticos (instrumental) o sensoriales (olfato humano), en la presente investigación se utilizó el procedimiento sensorial, (Vallejo, 2014, p. 12).

Se seleccionó un grupo estudiantil heterogéneo conformado por 40 personas, con disponibilidad de tiempo, buena salud, buenos hábitos y el compromiso para aportar en la investigación (Puerta, 2009, p. 9).

Se realizó una prueba piloto con el fin de validar el procedimiento y la escala de calificación de la evaluación, la misma duró 8 días; los cocteles se aplicaron en 3 ocasiones (1, 4 y 6 día) y los estudiantes empezaron a evaluar desde el quinto hasta el último día. Se efectuó una prueba final de 8 días, los cocteles se aplicaron en los días 1, 3 y 6, pero la evaluación odorífera se inició al segundo día y duró 96 horas, además, se midieron tres parámetros importantes como temperatura, pH y humedad durante el proceso; En esta prueba la dosis del coctel (5 mL) se diluyo en 10 mL de agua destilada.

Para estimar el tiempo de efecto del coctel empleado en los residuos orgánicos, las mediciones se realizaron durante 4 días. En el primer día que se colocaron los residuos, los estudiantes verificaron si el nivel de olor fue similar en todos los tachos con residuos.



**Fotografía 7-2.** Evaluación de la posible reducción de los olores

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018

Se evaluó la fuerza relativa de un olor, utilizando la escala propuesta por la American Society of Heating Refrigerating and Air Conditioning Engineers (ASHRAE).

**Tabla 3-2.**Escala de fuerza relativa de olores

VALOR	SIGNIFICADO
0	Sin olor
1	Olor ligero
2	Olor moderado
3	Olor fuerte

**Fuente:** (Berenguer, 1999, p. 2).

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

### **2.2.9** *Medición del pH, temperatura y humedad*

Estos parámetros se midieron en el primero, tercero, sexto y octavo día de la evaluación, en cada uno de los tratamientos y sus repeticiones; la humedad se midió con un higrómetro, el pH con tiras de pH y la temperatura con un termómetro.

### **2.2.10** *Análisis de lixiviados*

Se recolectaron 200 mL de los lixiviados del coctel con mayor eficiencia (T4) como se puede apreciar en los resultados y del control, en recipientes estériles previamente etiquetados, para realizar análisis físicos y químicos. Se analizaron parámetros como; DBO<sub>5</sub>, DQO, turbiedad, color, conductividad y pH, de cada parámetro se realizaron 3 mediciones; con el fin de determinar si el tratamiento cuatro ayudó a reducir los valores de estos parámetros en comparación con el control. Estos análisis se realizaron en el laboratorio de Calidad del Agua de la Facultad de Ciencias, de la ESPOCH, con asesoramiento del Técnico Docente del mismo.

#### **2.2.10.1** *DBO<sub>5</sub>*

Se realizó por el método gasométrico; se efectuó una dilución con un factor de dilución de 10, la dilución (100 mL) se pasó a un frasco ámbar oscuro, se adicionó 2 mL de nutrientes (nitrógeno, fósforo, fierro, calcio, magnesio, etc.), una barra magnética y se colocó en un

Digestor de DBO Hach BODTrak™ 11 por 5 días, posteriormente se realizó la lectura de los resultados en mg/L, (INGELAB, s.f., p. 2).



**Fotografía 8-2.** Medición de la DBO5 por gasometría

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

### **2.2.10.2 DQO**

Las medidas de los reactivos utilizados fueron la quinta parte de las enunciadas en la metodología empleada.

Se efectuó por el método volumétrico, para esto se hizo una dilución con factor de dilución de 200; en un balón redondo se adicionó 5 mL de Dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ), 15 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) concentrado, 0,2 gramos de sulfato de plata ( $Ag_2SO_4$ ) y se dejó enfriar a temperatura ambiente, posteriormente se colocó 10 mL de la muestra, perlas de ebullición y se colocó en el sistema de reflujo por 2 horas (Arias, 2003, p. 93).

Pasado las 2 horas, se lavaron los tubos refrigerantes con 20 mL de agua destilada dejando caer en los mismos balones y se los enfrió; se adicionó 5 gotas de Ferroina, tornándose de un color verde y se tituló con FAS (Sulfato Ferroso Amoniacal), hasta dar un viraje de color a rojo ladrillo, se anotó el volumen de FAS utilizado para cambiar el color, (Arias, 2003, p. 94). Se

realizaron mediciones de un blanco, para el cual se utilizó el mismo procedimiento descrito, pero en vez de muestra se colocó 10 mL agua destilada.

Para obtener los resultados en mg/L se utilizó la siguiente fórmula: (Arias, 2003, p. 94).

$$\frac{mg}{L} COD: \frac{(A - B) * C * 8000}{D}$$

Dónde:

A= mL del FAS utilizado en titulación del blanco.

B= mL del FAS utilizado en titulación de la muestra.

C= Normalidad del FAS (0,25 N)

D= mL de la muestra.



**Fotografías 9-2.** Medición de DQO por volumetría

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018

### **2.2.10.3 Turbiedad**

En la medición de este parámetro, se utilizó una dilución con un factor de 10, tanto del coctel como del control, para esto se empleó el Turbidímetro Hach RATIO/XR a una escala de 1-2000, en unidades de NTU; se calibró el equipo utilizando agua destilada, luego se colocó la muestra en la celda y se la limpio antes de colocarlo en el turbidímetro (Carpio, 2007); se utilizó la siguiente fórmula para obtener los resultados;

$$\text{Lectura } f \text{ (NTU)}: \text{Lectura } i \text{ (NTU)} * F.D$$

La lectura *i* (NTU), es la indicada en el equipo y F.D, es el factor de dilución, (Carpio, 2007, p. 8).

### **2.2.10.4 Color**

Se evaluó el color aparente para la cual se prepararon diluciones con un factor de 200, éstas, se midieron en un Fotómetro DR 2800, a una longitud de onda de 465 nm, en unidades de platino cobalto (PtCo). En un principio se calibró el equipo utilizando agua destilada y posteriormente se midieron las muestras, para obtener los resultados se utilizó la siguiente fórmula;

$$\text{Unidades de color Pt - Co: } A * FD$$

Dónde:

A: refiere al color estimado de la muestra en el equipo y FD: es el factor de dilución de la muestra, (Aguilar, 2001, p. 9).



**Fotografía 10-2.** Medición del color en un fotómetro

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

#### ***2.2.10.5 Conductividad y Ph***

Mediante el multiparámetro Consort C562, se midieron las muestras de los lixiviados a temperatura ambiente; la conductividad se midió en unidades de microsiemens.

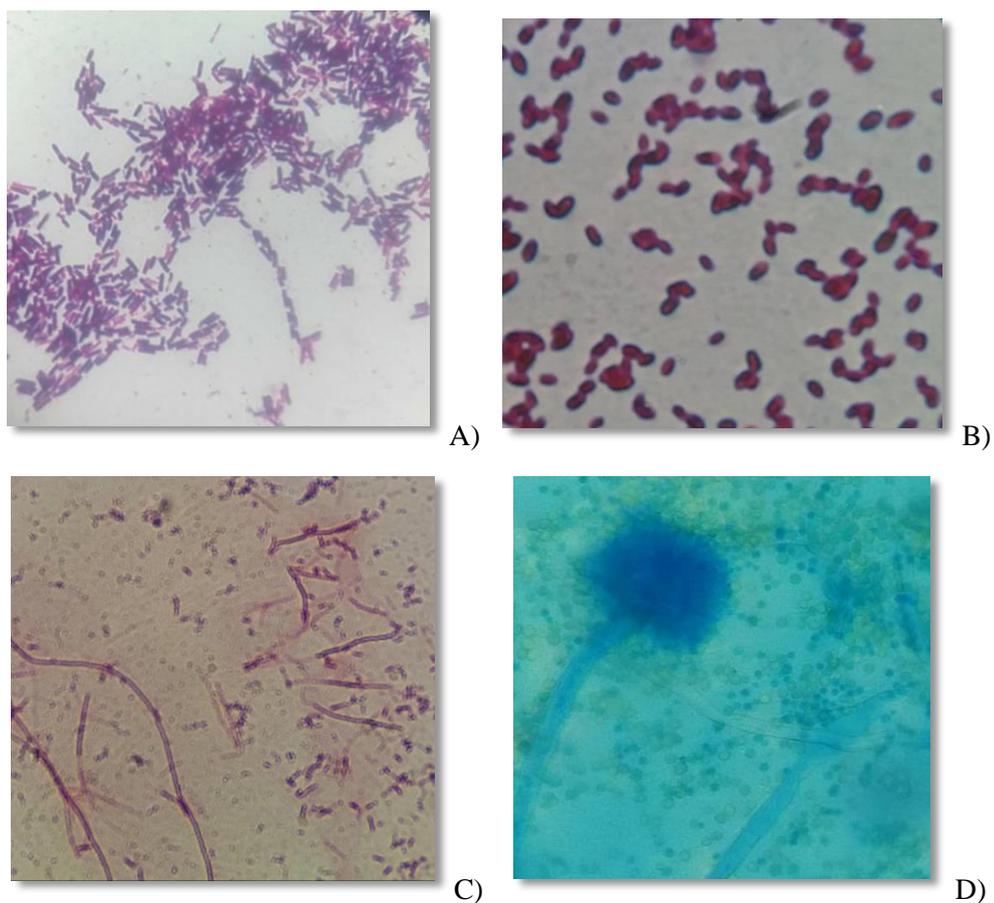
Antes y después de cada medición se lavaron los electrodos con agua destilada y se secaron con papel de cocina, para remover cualquier tipo de sustancia. Primero se homogenizó la muestra, luego se introdujeron los electrodos en cada una de ellas y se anotó los valores dictados en el equipo. (Alvarez, 2014, pp. 3-20).

## CAPITULO III

### 3 MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Comprobación de la pureza de las cepas

La comprobación de la pureza de las cepas se llevó a cabo para descartar la contaminación de las mismas, mediante Tinción Gram y tinción azul de lactofenol.

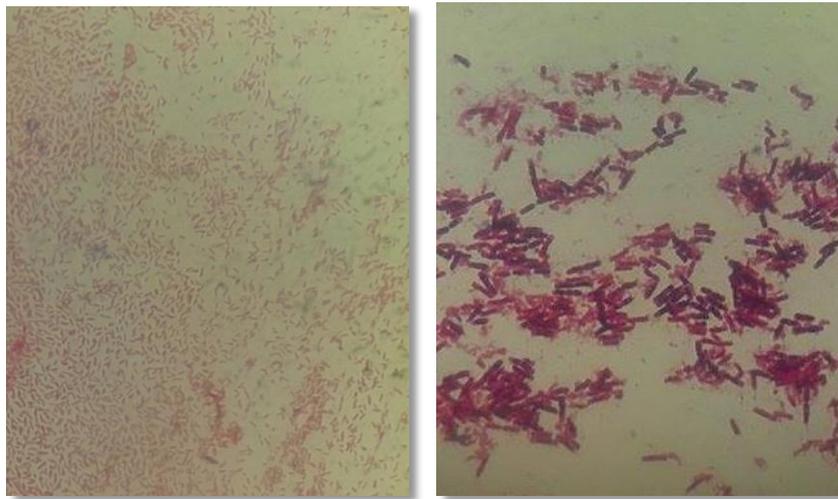


**Figura 1-3.** Cepas puras observadas al microscopio: A) *Lactobacillus plantarum*, B) *Rhodopseudomona palustris*, C) *Streptomyces albus*, D) *Aspergillus oryzae*.

**Fuente:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

Figura 1-3, mediante visualización microscópica se observaron la pureza de las cepas adquiridas al Laboratories Plantsphere.

Durante el proceso de investigación se hicieron varias resiembras de las cepas; por lo que, se estuvieron realizando en varias ocasiones pruebas de tinción Gram y tinción azul de lactofenol, para verificar su pureza.



**Figura 2-3.** Contaminación de la colonia *Lactobacillus plantarum*

**Fuente:** Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018

Figura 2-3, mediante visualización microscópica se evidenció que la cepa de *Lactobacillus plantarum* presentó contaminación; por tanto, se realizó un proceso de purificación mediante aislamiento por agotamiento; una vez aislada, se cercioró la pureza de la cepa.

### 3.2 Prueba de antagonismo

Se hizo un enfrentamiento de las 4 cepas, para observar y analizar el comportamiento de las mismas, a continuación, se puede apreciar los resultados:

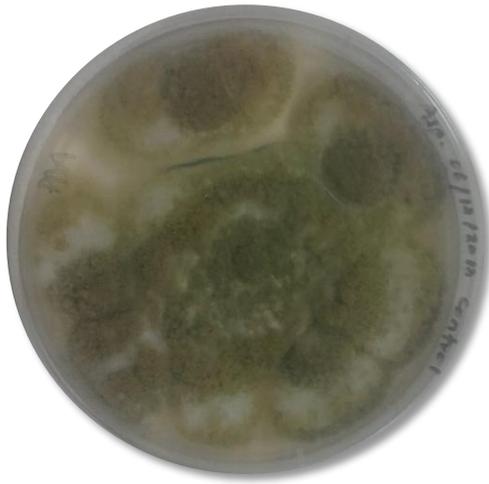
**Tabla 1-3.** Resultado de la prueba de antagonismo entre las cuatro cepas microbianas.

<b>Medición (Día)</b>	<b>Repetición</b>	<b>∅ (cm) Ensayo</b>	<b>∅ (cm) Control</b>	<b>Índice de inhibición %</b>
7	1.1	4,8	5	4
7	1.2	4,7	5,1	7,8
7	1.3	4,9	5,3	7,5
<b>Promedio</b>	--	4,8	5,1	5,9

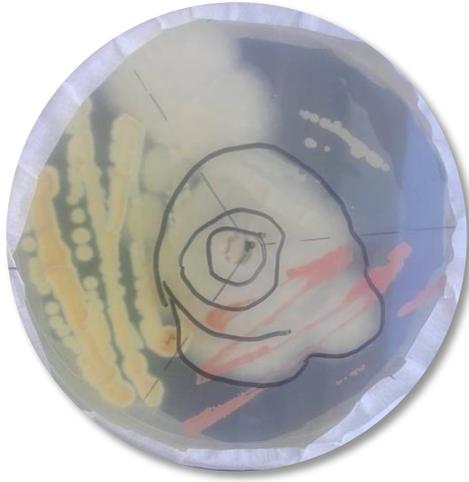
**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagliay. 2018

En la Tabla 1-3, la primera columna muestra el día de la medición (séptimo día), la segunda columna indica las repeticiones realizadas en el ensayo, la tercera columna el diámetro del ensayo y el promedio del mismo, la cuarta columna indica el diámetro del control y su promedio, la quinta columna presenta el índice de inhibición y el promedio que presento esta evaluación. La repetición 1.1, presentó un índice de inhibición de 4%; la repetición 1.2, un índice de inhibición de 7,8%; la repetición 1.3, un índice de 7,5% de inhibición, el índice de inhibición promedio fue de 5,9%, esto se realizó entre los promedios del diámetro del ensayo y control.

En la siguiente figura se puede visualizar la prueba de antagonismo y los controles.



1.1)



1.2)



1.3)

**Fotografía 1-3.** Repeticiones del enfrentamiento antagonico de las 4 cepas microbianas

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

En la Figura 1-3 se puede observar que, en las tres repeticiones realizadas las cuatro cepas microbianas presentaron una buena relación entre sí; aunque el hongo invade pequeñas partes de las colonias de las otras cepas, estas siguieron intactas; además, no existieron ninguna formación de halos de inhibición entre las 4 cepas, de igual manera se pudieron apreciar en las cajas de control que tienen crecimientos abundantes.

Para analizar el grado de antagonismo se basó en la siguiente tabla:

**Tabla 2-3.** Escala de capacidad antagónica, utilizada por Ezziyyani, 2004

Grado	Capacidad Antagónica	Potencial Biocontrolador
0	Ninguna invasión de la superficie de la cepa patógena	Muy malo
1	$\frac{1}{4}$ Invasión de la superficie de la cepa patógena	Malo
2	$\frac{1}{2}$ Invasión de la superficie de la patógena	Deficiente
3	Total, invasión de la superficie de la cepa patógena	Bueno
4	Total, invasión de la superficie de la cepa patógena esporulación sobre ella	Muy bueno

Fuente: (Astorga, et al., 2014).

Según la tabla 2-3, el grado antagónico de *Aspergillus oryzae* sería cercano a 1, es decir, tiene un potencial biocontrolador malo; en la Figura 3-3 se aprecia que el hongo invade a las demás cepas, pero no las inhibe, más bien tuvieron una buena relación entre las 4, por ende, fueron buenas candidatas para formar parte de los cocteles.

Las bacterias ácido lácticas, bacterias fotosintéticas, streptomyces, hongos fermentativos y otros tipos de microorganismos, son compatibles entre sí y pueden coexistir en un cultivo mixto (Higa & Parr, 1994, p. 6).

### 3.3 Preparación de los inóculos microbianos

Se prepararon inóculos microbianos, estos inóculos concentrados fueron diluidos en los cocteles hasta la concentración requerida, como se muestra en la Tabla 1-2.

#### 3.3.1 Conteo de los inóculos microbianos

Se prepararon suspensiones y diluciones de *A. oryzae*, *S. albus*, *L. plantarum* y *R. palustris* con 3 repeticiones de cada uno, posteriormente se realizó el conteo, obteniendo valores confiables como se muestra en la siguiente tabla de resultados:

**Tabla 3-1.** Concentración de células por mililitro.

Cepa microbiana	Dilución	Conteo 1	Conteo 2	Conteo 3	Conteo Total (Conteo promedio/5)	UFC/mL
<i>L. plantarum</i>	10 <sup>-1</sup>	1492	1495	1494	298,7	7,46x10 <sup>7</sup>
	10 <sup>-3</sup>	16	16	15	3,1	7,83x10 <sup>5</sup>
<i>R. palustris</i>	10 <sup>-1</sup>	1007	1005	1007	201,3	5,03x10 <sup>7</sup>
	10 <sup>-3</sup>	18	19	20	3,8	9,50x10 <sup>5</sup>
Cepa microbiana	Dilución	Conteo 1	Conteo 2	Conteo 3	Conteo Total (Conteo promedio/5)	Esporas/mL
<i>S. albus</i>	10 <sup>-1</sup>	279	281	282	56,1	1,40x10 <sup>7</sup>
	10 <sup>-3</sup>	12	11	11	2,3	5,67x10 <sup>5</sup>
<i>A. oryzae</i>	10 <sup>-1</sup>	235	232	236	46,9	1,17x10 <sup>7</sup>
	10 <sup>-3</sup>	12	12	11	2,3	5,83x10 <sup>5</sup>

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

Datos	
Volumen cuadro mediano	4x10 <sup>-6</sup>
Número de cuadros contados	5

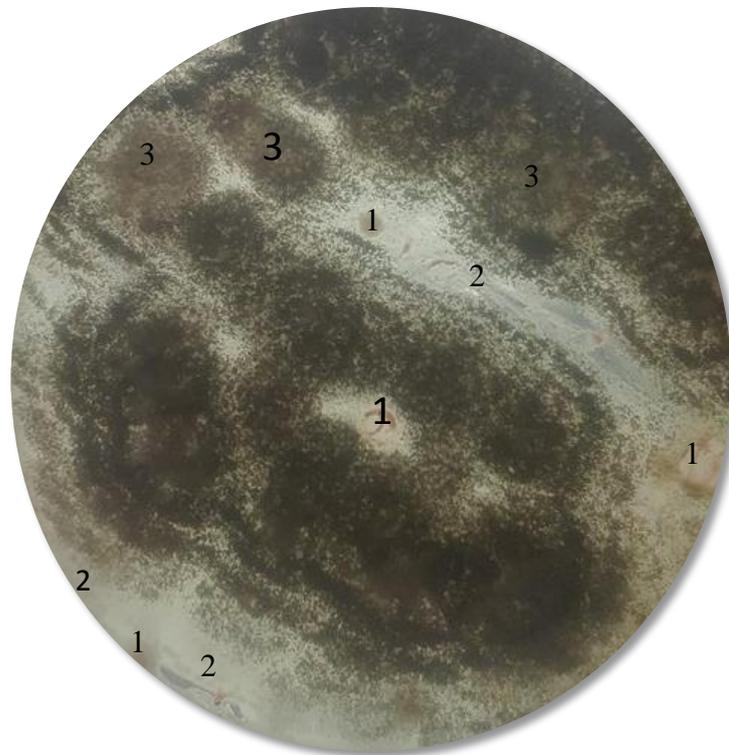
Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

No se logró llegar a las concentraciones exactas de los inóculos ( $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^7$ ), pero se llegó a un estimado del mismo; de las diluciones realizadas ( $10^{-1}$  hasta  $10^{-5}$ ), las diluciones  $10^{-1}$  y  $10^{-3}$  fueron los valores más cercanos a los valores buscados.

Se hizo un conteo directo de las diluciones en una cámara de Neubauer; según (Prescott, et al., 2002, pp. 124-125), la manera de realizar el conteo de células microbianas por mililitro es por recuento directo, pues, en la cámara de Neubauer el conteo es fácil, económico y muy rápido, además, se aprecia la morfología y el tamaño de los microorganismos.

### 3.4 Valoración del crecimiento de las cepas en los cocteles

La valoración se efectuó antes de su aplicación y posterior a la prueba; las 4 cepas microbianas se desarrollaron bien, sin problemas de antagonismo ni inhibición.



**Figura 3-3.** Crecimiento de las cepas microbianas en cocteles microbianos

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

En la Figura 3-3, se muestra la valoración después de haber terminado las pruebas; debido a que no se puede apreciar correctamente el crecimiento de las cepas, se colocó números para distinguir el crecimiento de las mismas; el número 1 indica el crecimiento de *R. palustris*, el número 2 indica el crecimiento de *L. plantarum*, el número 3 indica a *S. albus* y teniendo un crecimiento abundante de *A. oryzae*.

En los cocteles, la melaza fue la fuente principal de nutrientes para las cepas microbianas; en una investigación realizada por Cruz (2010), se determinó que la melaza y semolina son óptimas para el desarrollo de los ME.

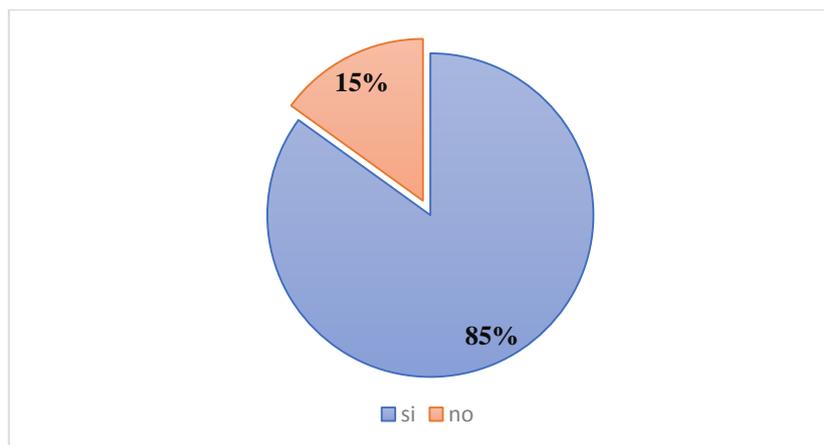
### **3.5 Evaluación de la posible reducción de olores**

40 estudiantes realizaron el proceso de evaluación de los resultados de los cocteles, mediante un procedimiento y esquema de calificación (escala ASHRAE), que se pueden apreciar en los anexos F y G, respectivamente.

#### **3.5.1 Prueba piloto**

##### **3.5.1.1 Homogeneidad del olor**

En el día 1, los estudiantes evaluaron la homogeneidad de olor en los tachos con residuos orgánicos, con la calificación de “sí” cuando se olfateo un olor homogéneo en todos los tachos y “no” cuando no se olfateo un olor homogéneo en todos los tachos, como se muestra en el Grafico 1-3.



**Gráfico 1-3.** Homogeneidad de olor, prueba piloto

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

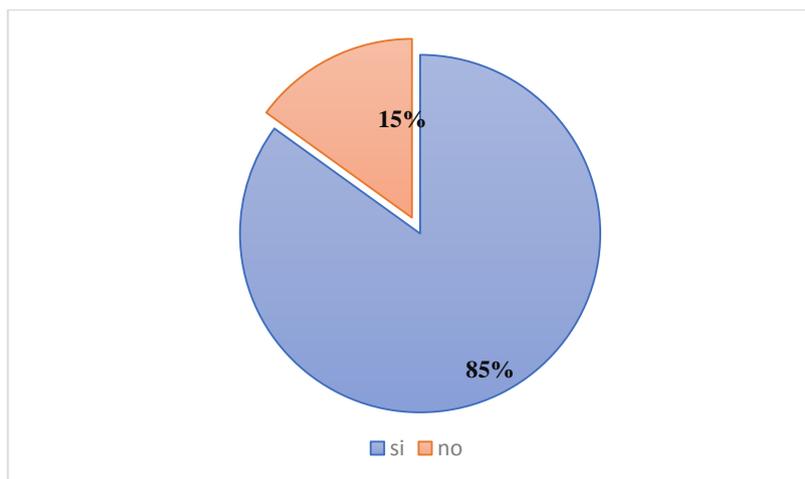
De los 40 estudiantes, el 85% (34) aseveraron que el olor fue homogéneo en todos los tachos, es decir que el olor fue similar, mientras que, el 15% (6) mencionaron que existió algo de diferencia en los olores de los tachos con residuos orgánicos, pero estos fueron mínimos. Los datos obtenidos en la evaluación de la disminución del olor generado por la descomposición de los residuos orgánicos se visualizan en el anexo A.

### 3.5.2 *Prueba final*

Se evaluó del 24 al 31 de enero del presente año, de acuerdo al INHAMI la temperatura media en esta semana fue de 14 °C; según lo expuesto por (Amo, et al., 2008, p. 9), las evaluaciones odoríferas deberían realizarse en tiempos que registren altas temperaturas, ya que es ahí cuando se da una mayor generación de vapores de los compuestos volátiles responsables del olor. Mientras que la temperatura durante la prueba piloto fue de 12,5°C, siendo esta menor; por lo que los datos para el análisis se tomaron de la última evaluación.

#### 3.5.2.1 *Homogeneidad del olor*

En la prueba final se realizó una nueva evaluación con los mismos 40 estudiantes, utilizando la calificación de “sí” cuando se olfateo un olor homogéneo en todos los tachos y “no” cuando no se olfateo un olor homogéneo, como se muestra en el Gráfico 2-3.



**Gráfico 2-3.** Homogeneidad de olor, prueba final

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018

De los 40 estudiantes, el 85% (34) aseveraron que el olor fue homogéneo o similar en todos los tachos, mientras que, el 15% (6) mencionaron que existió diferencia de olores en los tachos, siendo esta mínima; la tabla de resultados general se observa en el Anexo B.

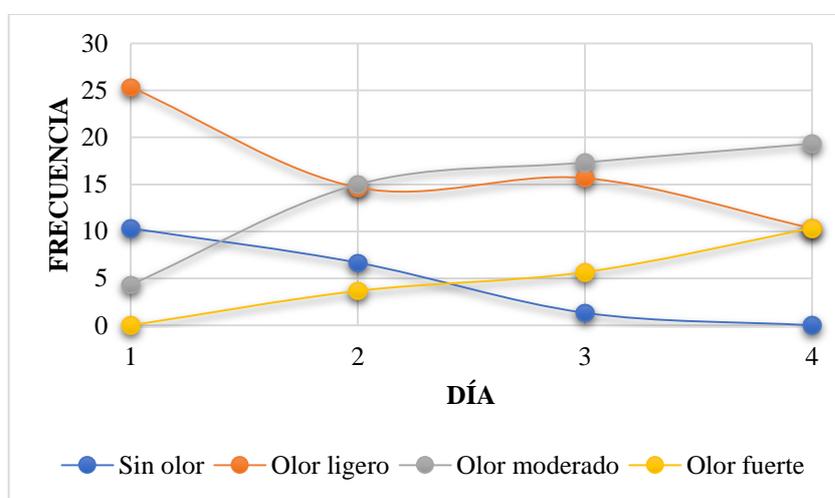
### 3.5.2.2 *Análisis de cada coctel*

En la evaluación odorífera, se analizó la escala de olor de cada tratamiento en frecuencia, en respuesta a la aplicación de los cocteles, durante 4 días. De los 5 tratamientos se sacó la frecuencia de cada escala de olor, por día y por repetición; la frecuencia hace referencia a la cantidad de estudiantes que mencionaron una misma calificación de acuerdo a la escala ASHRAE, posteriormente se sacó un promedio de la frecuencia entre las tres repeticiones, como se muestran en las siguientes tablas.

**Tabla 4-3.** Evaluación odorífera del Tratamiento 1

TRATAMIENTO 1				
DÍA	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
ESCALA DE OLOR				
Sin olor	10	7	1	0
Olor ligero	25	15	16	10
Olor moderado	4	15	17	19
Olor fuerte	0	4	6	10
Total	40	40	40	40

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018



**Gráfico 3-1.** Variación del olor en los días de evaluación del Tratamiento 1

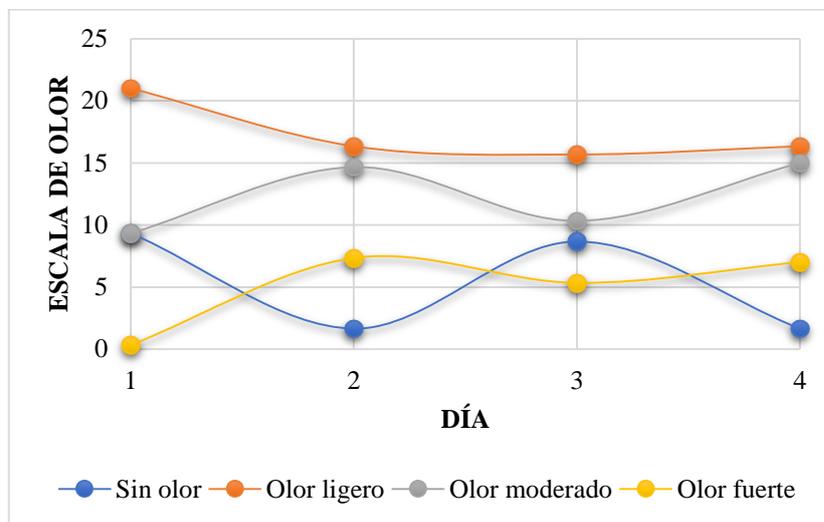
Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018

La escala “sin olor” empezó con una frecuencia de 10, durante el segundo y tercer día disminuyó de 7 a 1, hasta que el cuarto día se redujo a 0, es decir, ningún estudiante menciono al cuarto día la calificación “sin olor”. El “olor ligero” disminuyó su frecuencia de 25 a 15, al tercer día aumentó a 16 y nuevamente descendió a 10. El “olor moderado” tuvo una frecuencia de 4 en el primer día de evaluación, pero este creció hasta el cuarto día de 15 a 17, terminando en una frecuencia de 19. En el primer día ningún estudiante mencionó la calificación de “olor fuerte”, mientras que, en el segundo, tercero y cuarto día aumentó constantemente de 4, a 6 y terminó en 10, muy similar al “olor moderado”.

**Tabla 5-3.** Evaluación odorífera del Tratamiento 2

TRATAMIENTO 2				
DÍA	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
<b>ESCALA DE OLOR</b>				
Sin olor	9	2	9	2
Olor ligero	21	16	16	16
Olor moderado	9	15	10	15
Olor fuerte	0	7	5	7
Total	40	40	40	40

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018



**Gráfico 4-3.** Variación del olor en los días de evaluación del Tratamiento 2

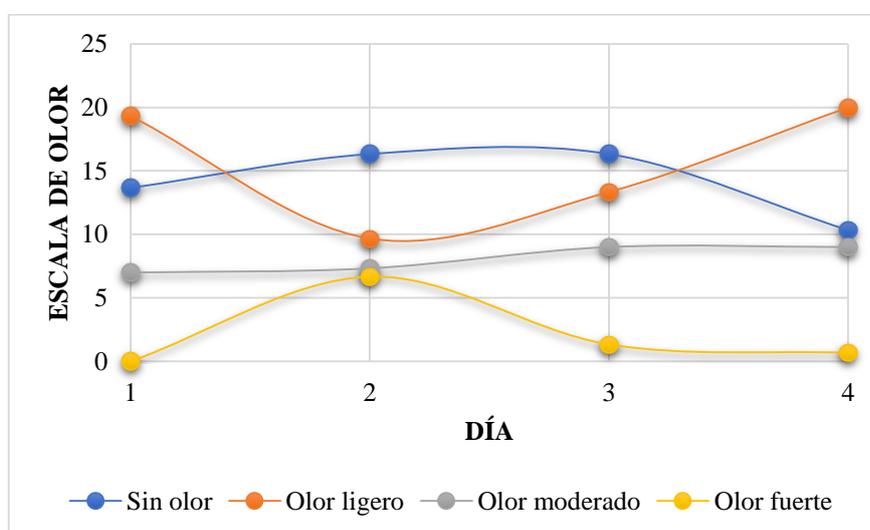
Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

La escala “sin olor” en el primer y tercer día tuvo una frecuencia de 9, en el segundo y cuarto día permaneció con una frecuencia de 2. El “olor ligero” tuvo una frecuencia de 21, se redujo hasta 16 y se mantuvo con esta misma frecuencia hasta el cuarto día. El “olor moderado”, la frecuencia aumentó y disminuyó durante los 4 días de evaluación, pues el primer día empezó con 9, incrementó a 15, se redujo nuevamente a 10 y terminó en 15. El “olor fuerte” es similar al “olor moderado”, comenzó con 0, se incrementó a 7, disminuyó a 5 y en el cuarto día creció o través a 7.

**Tabla 6-3.** Evaluación odorífera del Tratamiento 3

TRATAMIENTO 3				
DÍA	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
ESCALA DE OLOR				
Sin olor	14	16	16	10
Olor ligero	19	10	13	20
Olor moderado	7	7	9	9
Olor fuerte	0	7	1	1
Total	40	40	40	40

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018



**Gráfico 5-3.** Variación del olor en los días de evaluación del Tratamiento 3

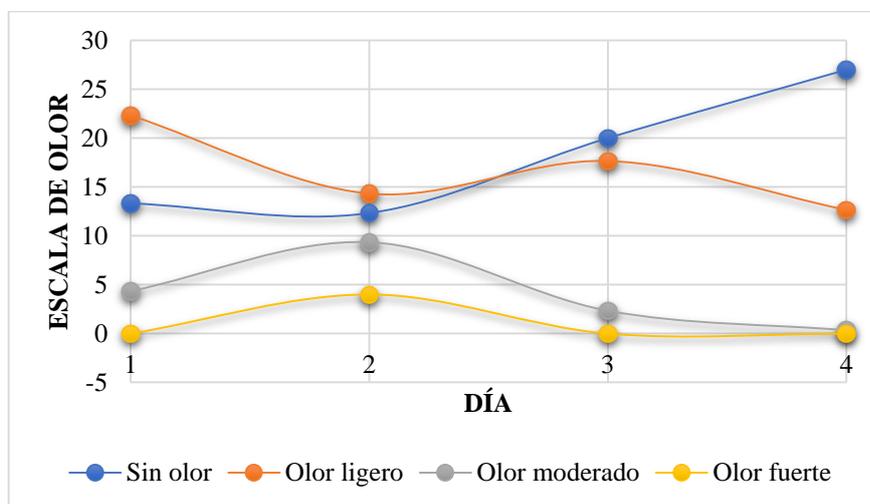
Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

La calificación “sin olor”, en el primer día tiene una frecuencia de 14, durante el tercer y cuarto día aumenta y se mantiene en 16, al cuarto día disminuye a una frecuencia de 10. “Olor ligero”, el primer día tiene una frecuencia alta de 19, se reduce durante el segundo y tercer día a 10, 13, al cabo del cuarto día incrementa a una frecuencia de 20. “Olor moderado”, la frecuencia se mantiene durante el primer y segundo día en 7, al tercer día aumenta y se mantuvo hasta el cuarto día en 9. El “olor fuerte”, al inicio comienza en una frecuencia de 0, al segundo día sube a 7, pero al tercero y cuarto día disminuyo a una frecuencia de 1.

**Tabla 7-3.** Evaluación odorífera del Tratamiento 4

TRATAMIENTO 4				
DÍA	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
ESCALA DE OLOR				
Sin olor	13	12	20	27
Olor ligero	22	14	18	13
Olor moderado	4	9	2	0
Olor fuerte	0	4	0	0
Total	40	40	40	40

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018



**Gráfico 6-3.** Variación del olor en los días de evaluación del Tratamiento 4

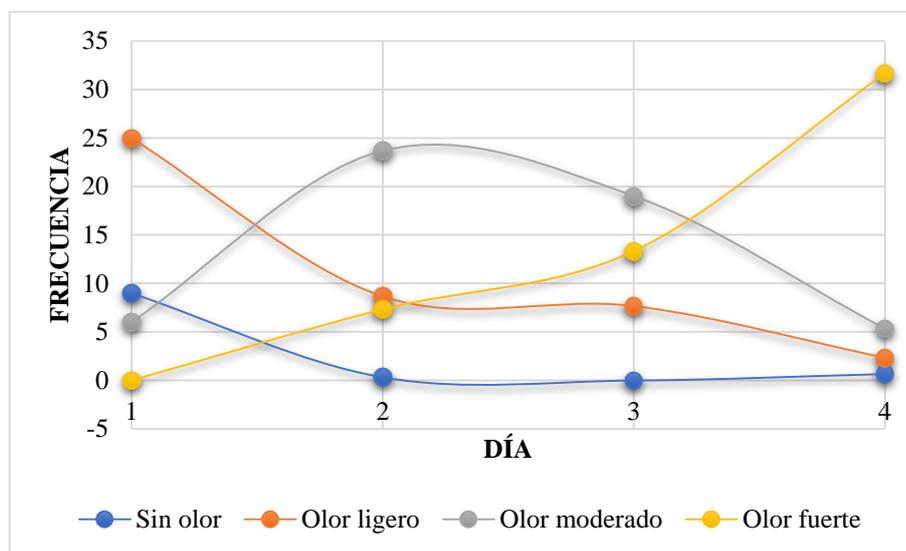
Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018

“Sin olor”, durante el primer día la frecuencia fue de 13, este disminuyó al segundo día a 12, pero siguió aumentando nuevamente durante el tercer y cuarto día de 20 a 27. “Olor ligero”, tuvo una frecuencia de 22 en el primer día, siendo la más alta calificación, al cabo del segundo día decreció a 14, se elevó nuevamente a una frecuencia de 18 y terminó con 13 al cuarto día. El “olor moderado”, empezó con una frecuencia de 4, luego pasó a 9, se redujo a 2 y terminó con 0, es decir, ningún estudiante mencionó al “olor moderado” al cuarto día. “Olor fuerte” empezó con una frecuencia de 0, pasó a 4 al segundo día, pero disminuyó y se mantuvo hasta el cuarto día en una frecuencia de 0.

**Tabla 8-3.** Evaluación odorífera del Control

CONTROL				
DÍA \ ESCALA DE OLOR	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
Sin olor	9	0	0	1
Olor ligero	25	9	8	2
Olor moderado	6	24	19	5
Olor fuerte	0	7	13	32
Total	40	40	40	40

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018



**Gráfico 7-3.** Variación del olor en los días de evaluación del Control

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018

“Sin olor”, el primer día tuvo una frecuencia de 9, esta disminuyó y se mantuvo hasta el tercer día en 0, pero al cuarto día solo aumentó a una frecuencia de 1. El “olor ligero”, hasta el cuarto día va disminuyendo la frecuencia empezando en 25, luego pasó a 9, seguido de 8 y terminó en 2. “Olor moderado”, empezó con 6 de frecuencia, incrementó a 24 al segundo día, pero se redujo otra vez a 19 y terminó en 5. El “olor fuerte” aumentó periódicamente la frecuencia hasta el cuarto día, de 0, pasando a 7, seguido de 13 y terminando en 32.

En los gráficos 3-3, 4-3, 5-3, 6-3, 7-3, en el eje de las “X” se encuentra los días que se evaluaron y en el eje de las “Y” la frecuencia; siendo el color azul el “sin olor”, anaranjado el “olor

ligero”, gris el “olor moderado”, mientras que el amarillo es el “olor fuerte”. Se puede apreciar como varía la escala de olores según la calificación de los estudiantes. De acuerdo a lo observado el tratamiento fue mejor, pues al pasar los días hubo un incremento en la escala de sin olor, y una disminución en la escala de olor fuerte.

### 3.5.2.3 Análisis estadísticos

#### Tabulación

Los datos que se recolectaron en la investigación son de tipo cualitativos, además, son variables politómicas, por lo que se aplicó la prueba chi-cuadrado de Pearson (Pruebas no paramétricas) para el análisis estadístico de los datos obtenidos, para conocer si existe diferencias entre los cocteles.

**Tabla 9-3.** Prueba de Chi-cuadrado de Pearson

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	Gl	Sig. asintótica (2 caros)
Chi-cuadrado de Pearson	557,105 <sup>a</sup>	12	,000
Razón de verosimilitud	554,639	12	,000
Asociación lineal por lineal	1,488	1	,223
N de casos válidos	2400		

a. 0 casillas (,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 62,80.

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

#### Planteamiento de hipótesis:

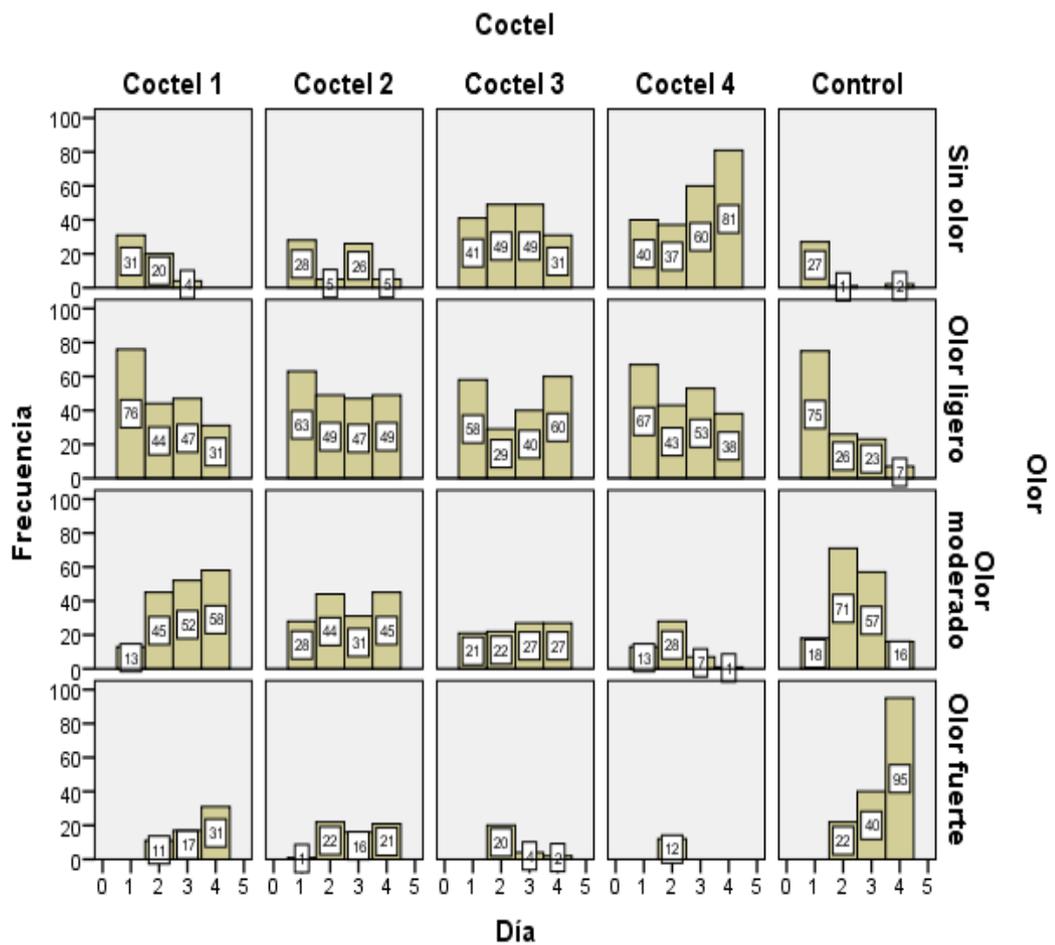
**Ho.** No existen diferencias en el nivel de olor, por efecto de la aplicación de los cocteles. P mayor o igual a 0,05.

**Hi.** Existen diferencias en el nivel de olor, por efecto de la aplicación de los cocteles. P menor a 0,0

**Decisión:**

Como  $P=0$ , entonces se desecha  $H_0$ , es decir, si existe diferencias en el nivel de olor, por efecto de la aplicación de los cocteles.

En la siguiente figura se realiza un análisis de histogramas de los 4 cocteles y el control, dándole validez a los gráficos realizados anteriormente.



**Gráfico 8-3.** Histograma de los cocteles microbianos

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

El gráfico 8-3, muestra 5 columnas de los 4 cocteles y control, presenta 4 filas con la escala de olores; en el eje de las “X” se halla los días que se realizaron las mediciones del olor que son 4 días; en la “Y” a la frecuencia, la frecuencia es la cantidad de datos que se obtuvieron, siendo 120 datos, en estos datos incluye las repeticiones que se hicieron de cada tratamiento. Los datos que se aprecian en las barras del histograma corresponden a los 120 datos obtenidos.

En el primer día, el olor predominante en la escala de olores en el coctel 1, (T1) es el “olor ligero” con una frecuencia de 76 datos, mientras que, al cuarto día el olor predominante es moderado con una frecuencia de 58 datos.

En el coctel 2, (T2) durante el primer día la categoría predominante es el “olor ligero” con una frecuencia de 63 datos, al cuarto día se encuentra a la par entre el “olor ligero” y “olor moderado” con frecuencias de 49 y 45 datos respectivamente.

En el coctel 3, (T3) en la primera medición la categoría predominante es el “olor ligero”, con una frecuencia de 58 datos, al cuarto día presentó un “olor ligero” con una frecuencia de 60 datos.

En el coctel 4, (T1) en el primer día de medición predomina la categoría de “olor ligero” con una frecuencia de 67 datos, mientras que, al cuarto día predominó la escala “sin olor” con una frecuencia de 81 datos.

En el control, el primer día presentó un “olor ligero” con una frecuencia de 75 datos, mientras que al cuarto día de medición sobresalió el “olor fuerte” con una frecuencia de 95 datos.

### **3.6 Resultado de pH, temperatura y humedad**

Son parámetros de control que se midieron durante el proceso de descomposición de los residuos orgánicos procedentes de mercado, tras la aplicación de los 4 tratamientos.

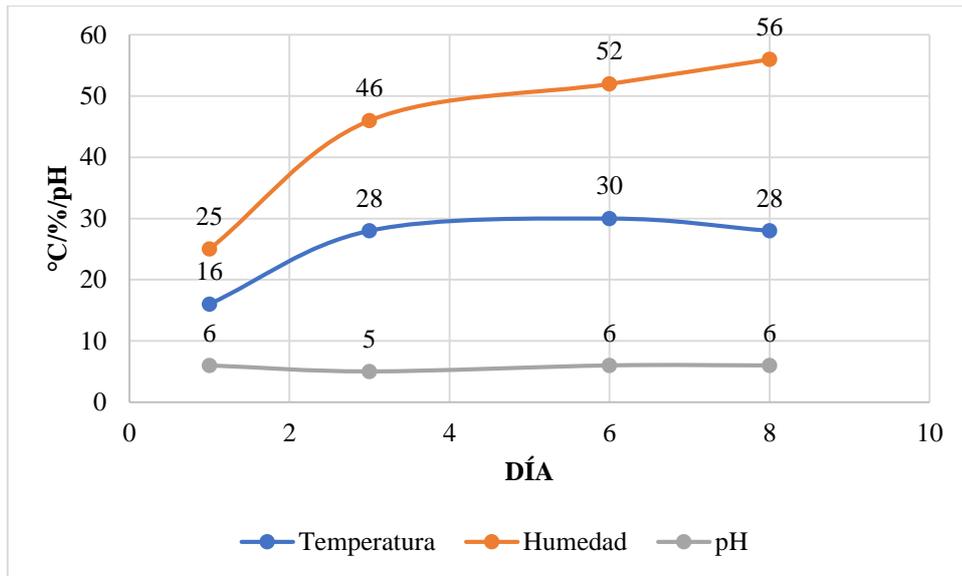
**Tabla 10-3.** Parámetros medidos durante la prueba final

Tratamiento	Día	Temperatura °C	Humedad %	pH
Tratamiento 1	1	16	25	6
	3	28	46	5
	6	30	52	6
	8	28	56	6
Tratamiento 2	1	16	26	6
	3	27	46	5
	6	28	52	6
	8	27	54	6
Tratamiento 3	1	16	24	6
	3	30	49	5
	6	31	55	5
	8	29	69	6
Tratamiento 4	1	16	25	6
	3	31	50	5
	6	33	58	5
	8	30	70	6
Control	1	16	24	6
	3	18	27	6
	6	20	35	5
	8	23	42	5

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagñay. 2018

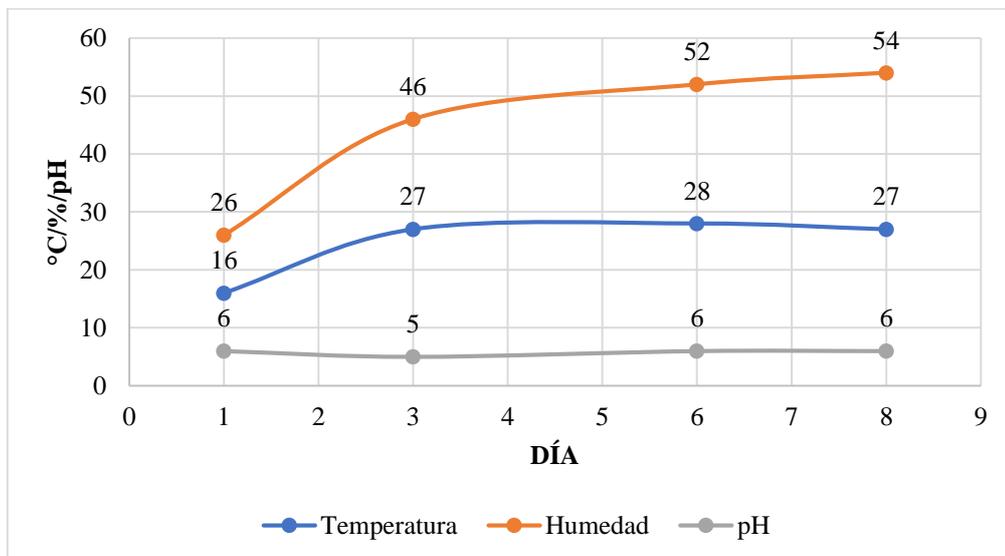
En la tabla 10-3, muestra los valores de los 3 parámetros; en la primera columna se encuentran los tratamientos, en la segunda columna los días de medición, mientras que, en la tercera, cuarta y quinta columna se hallan la temperatura (°C), humedad (%) y pH, respectivamente.

Las siguientes gráficas presentan la variación de cada parámetro por 8 días y cada tratamiento.



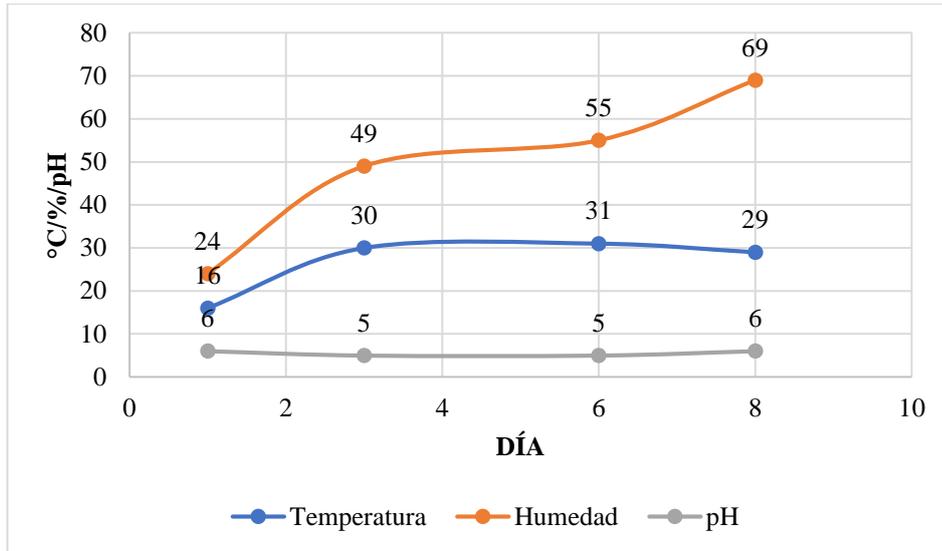
**Gráfico 9-3.** Variación de la temperatura, humedad y pH durante los días de evaluación odorífera del Tratamiento 1

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018



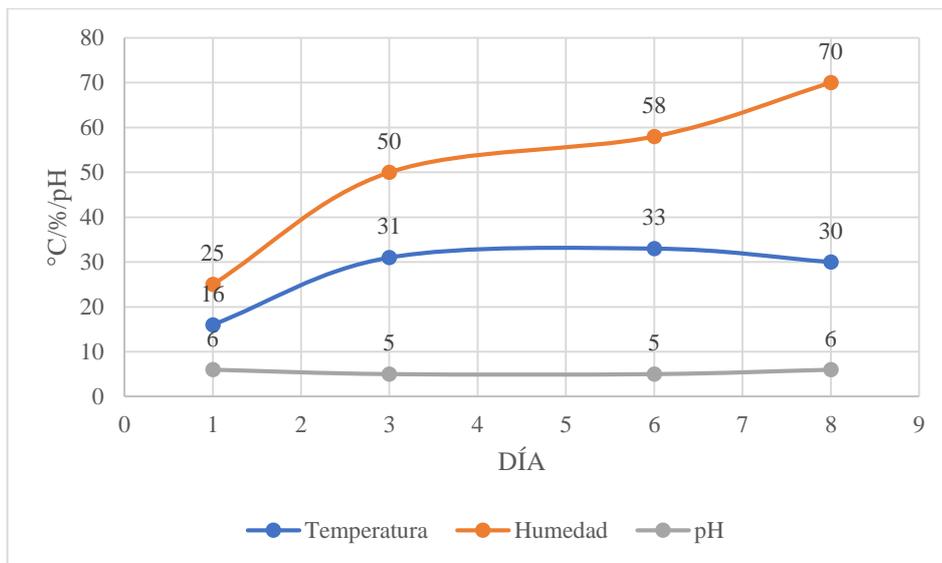
**Gráfico 10-3.** Variación de la temperatura, humedad y pH durante los días de evaluación odorífera del Tratamiento 2

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018



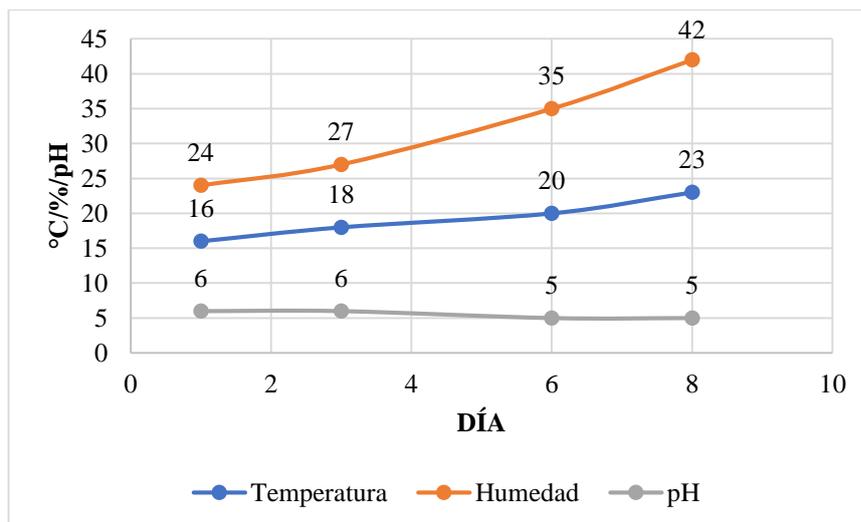
**Gráfico 11-3.** Variación de la temperatura, humedad y pH durante los días de evaluación odorífera del Tratamiento 3

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018



**Gráfico 12-3.** Variación de la temperatura, humedad y pH durante los días de evaluación odorífera del Tratamiento 4

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018



**Gráfico 13-3.** Variación de la temperatura, humedad y pH durante los días de evaluación odorífera del Control

**Realizado por:** Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

Los Gráficos a partir de la 9-3 hasta el 13-3, presentan: en el eje de las “X” los días de medición de los parámetros, en el eje de las “Y” los valores de temperatura, humedad y pH. Las líneas de color azul refieren a la temperatura, las líneas de color naranja a la humedad y de color plomo al pH, en cada tratamiento.

En los 4 tratamientos la temperatura sube desde el primero hasta el sexto día, al octavo día disminuyó, aun así, presentaron una temperatura dentro del rango óptimo; las cuatro cepas son mesófilas y se desarrollan de mejor manera a temperaturas que van entre 20 °C y 45 °C, (Barrett, 2017, p. 2), al sexto día el tratamiento 4 tuvo una mejor temperatura que los otros tratamientos que fue de 33 °C.

La humedad creció constantemente en los 4 tratamiento, posiblemente por la adición de los cocteles (líquido) y la actividad de los ME, el tratamiento 4 al tercer día ya se encontraba en una humedad ideal (50%) para la biodegradación; la humedad es un parámetro importante en el crecimiento de los microorganismos, la óptima está entre el 50-70%, cuando se encuentra por debajo de 50% afecta a su metabolismo, mientras que por encima del 70% disminuye la transferencia de oxígeno, formando condiciones de anaerobiosis, (APROLAB, 2007, p. 16), por lo que se cree que en los últimos días pudo estar generándose condiciones de anaerobiosis.

El pH se mantuvo entre 6 y 5; el pH es un condicionante en el desarrollo y actividad de los microorganismos, prefieren cercanos al neutro, entre 6-7,5, (Tortosa, 2013).

En el control, los valores de humedad y temperatura incrementaron de una forma lenta, llegando a tener al octavo día una humedad de 42% y temperatura de 23 °C, siendo estos valores cercanos al ideal para la biodegradación de los residuos orgánico, el pH se mantuvo entre 6 y 5.

### 3.7 Análisis de lixiviados

Se hizo una comparación de los parámetros de lixiviados, entre el tratamiento cuatro (mejores resultados en comparación con los demás cocteles) y el control, además, de verificar la presencia y participación de los ME en la disminución del olor generado por la descomposición de los residuos orgánicos.

**Tabla 11-3.** Parámetros evaluados, de los lixiviados del tratamiento 4 y control

N°	Muestra	Conduc. eléctrica (ms/cm)	pH	Turbiedad (NTU)	Color (PtCo)	DBO <sub>5</sub> mg/L	DQO mg/L
1	Control	3,59	6,38	8440	58000	8210	52000
2		3,72	6,41	8500	57000	8300	56000
3		3,94	6,58	7960	24400	8510	52000
<b>Promedio</b>		<b>3,75</b>	<b>6,46</b>	<b>8300</b>	<b>46467</b>	<b>8340</b>	<b>53333</b>
1	T4	1,77	7,15	5550	36800	7650	28000
2		1,75	7,13	5640	36400	7690	40000
3		1,93	7,16	2450	23600	7550	24000
<b>Promedio</b>		<b>1,82</b>	<b>7,15</b>	<b>4547</b>	<b>32267</b>	<b>7630</b>	<b>30667</b>

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

La tabla 11-3 presenta los valores de Conductividad, pH, temperatura, turbiedad, color, DBO<sub>5</sub> y DQO, tanto del control como del tratamiento 4. La conductividad puede ser mayor en el lixiviado cuando se da una pérdida de nutrientes durante la descomposición de los residuos, además, se puede dar una pérdida de nutrientes por volatilización, (Baltodano & Sotomayor, 2002, p. 31), la conductividad del T4 y del control son muy altos, pero T4 tiene una conductividad

promedio de 1,82 ms/cm, menor que el control, pudo ser debido a que la temperatura fue un poco más alta que la del control y se pudo dar una volatilización y una posible degradación de estos nutrientes por los ME.

El pH promedio del tratamiento 4 tiene un valor de 7,15, mientras que el pH promedio del control es de 6,45. Entre la temperatura y pH existe una relación, cuando la temperatura es elevada el pH disminuye por la producción de ácidos orgánicos, pero si la temperatura disminuye el pH aumenta por la mineralización de compuestos nitrogenados, (Tortosa, 2013).

La generación de lixiviados produce gran cantidad de partículas sólidas (disueltas y suspendidas), afectando tanto a la turbiedad como al color, en el aumento de sus valores, (Lopez & Mendoza, 2004), la turbiedad y el color en el T4 tiene 3753 NTU y 14200 PtCo menos que el control, respectivamente. La DBO<sub>5</sub> y DQO, muestran la magnitud de la contaminación del lixiviado, tiene 710 mg/L y 22666 menos que el control, respectivamente, los valores se encuentran dentro del rango estipulado por TCHOBANOGLOUS et al. (2000).

En el T4, los valores de conductividad, turbiedad, color, DBO<sub>5</sub> y DQO disminuyeron respecto al control, por acción de los ME, esto significa que efectivamente estos microorganismos ayudaron a disminuir el olor durante la descomposición de los residuos orgánicos, además, de reducir la carga contaminante del lixiviado. En una investigación realizada por Alvarado (2016) lograron reducir valores de DBO<sub>5</sub> de 8350 mg/L a 1310 mg/L y DQO de 15400 mg/L a 4004 mg/L de los lixiviados de un relleno sanitario de la Ciudad de Tena, tan solo con una aplicación de ME.

Los lixiviados del T4 se podría utilizar como un biofertilizante ya que contiene ME. En una investigación se realizó biol como fertilizante de pasto, utilizando los lixiviados de origen vegetal y otros aditivos, dando buenos resultados aún incluso cuando los parámetros de DBO<sub>5</sub> y DQO fueron muy altos, de 20250 mg/L y 28301 mg/L, respectivamente (Montesinos, 2013, p. 30), los parámetros de lixiviados de la investigación son altos, pero se podría emplear esta opción ya que los lixiviados generados son de origen vegetal.

### 3.8 Análisis del coctel con mejores resultados

Según el análisis estadístico de datos, el tratamiento 4 resultó ser el más eficiente; pues este tratamiento presento mayor concentración de UFC y esporas por mililitro; según Zeng et al (2009) citado por (Camacho, et al., 2014, p. 292), los ME puede acelerar el proceso de descomposición de los residuos aumentando el número de microorganismos, por adición artificial de los mismos. El número de microorganismos pueden llegar a elevar aún más al cabo de una semana, a expensas de los materiales fácilmente degradados (Naranjo, 2013, p. 28), de modo que, al acelerar el proceso de descomposición de los residuos, posiblemente se podría acelerar el proceso de reducción del olor generado por el mismo.

La materia orgánica utilizada en la investigación, es de tipo vegetal y contienen sustancias fotoquímicas (sustancias fenólicas, sustancias terpénicas, sustancias azufradas y sustancias nitrogenadas), (Buelga & Barberán, 2001). Según, Suquilada (1996), citado por (Naranjo, 2013), en la primera semana de descomposición de la materia orgánica se emiten olores intensos ocasionados por el exceso de materiales nitrogenados, debido a que se descomponen fácilmente.

El tratamiento 4 empezó con una temperatura de 16 °C, una humedad del 25% y un pH de 6, por la adición del coctel y la misma actividad de *L. plantarum*, *R. palustris*, *S. albus* y *A. oryzae*, del tercero al sexto día se generó un aumento de la temperatura y humedad, manteniéndose dentro del rango óptimo de humedad de 50-70%, el agua es requerida para desarrollar sus funciones metabólicas, además, sirve como vehículo de transporte de nutrientes y productos de desecho, mientras que el pH se redujo a 5 (APROLAB, 2007, p. 16), gracias a los compuestos orgánicos y enzimas sintetizadas por los ME se pudo dar una rápida descomposición de los residuos orgánicos, así como también una posible eliminación de microorganismos patógenos gracias a los componentes antimicrobianos sintetizados por los ME. La disminución del olor desagradable se da gracias a que los microorganismos (*R. palustris*) utilizan como fuente de alimento al H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub>.

Según Cruz (2010, p. 25), la degradación de los residuos orgánicos mediante ME no presentan de fase termófila, pues la descomposición se da por la acción de microorganismos mesófilos. Al octavo día de medición la temperatura empezó a disminuir de 33 a 30 °C y la humedad aumento

hasta 70%, este proceso empezó a entorpecerse debido al incremento de la humedad, generando condiciones de anaerobiosis, (APROLAB, 2007, p. 16), entonces se originan malos olores y el proceso de degradación se retarda. En la fase exponencial de la curva de crecimiento pudo haber existido un desequilibrio en el crecimiento de los ME, debido al cambio del medio nutricional de la melaza a los residuos orgánicos, (Prescott, et al., 2002, pp. 120-121).

En el control, posiblemente existió microorganismos nativos en los residuos orgánicos, mismos que realizaron los procesos de putrefacción, ya que durante la evaluación odorífera los olores emanados fueron más intensos mientras pasaban los días, además, existió presencia de moscas y gusanos; al cuarto día de la evaluación el “olor fuerte” fue el predominante con una frecuencia de 95 datos, como se muestra en el gráfico 3-12. En la tabla 10-3, la temperatura y humedad no alcanzaron los valores óptimos para darse una adecuada biodegradación, llegando hasta un máximo de 23 °C y 42% respectivamente, mientras que el pH en los primeros días permaneció en 6 y al sexto día disminuyó a 5.

El T4 mostró una leve reducción de olor, durante los días de evaluación se mantuvo una calificación de “olor ligero” y “sin olor” al finalizar la prueba. Existen investigaciones donde emplean ME para la reducción de olores, obteniendo buenos resultados como podemos mencionar a: Rivera, 2011 citado por (Soriano, 2016, p. 3), que realizó un compost de residuos de melaza y estiércol de animal mediante el método convencional, en el que la reducción del olor empieza al tercer mes, mientras con la aplicación de ME desde el inicio y hasta el final del proceso no se dio ningún tipo de olor desagradable; y (Cruz, 2010), realiza el tratamiento de desechos de cocina utilizando ME, quien menciona que en todos los tratamientos que se aplicaron ME, mostraron una buena reducción de olores hasta los 21 días.

## CONCLUSIONES

La co-existencia de los Microorganismos Eficaces ayudo a reducir los olores generados por la descomposición de la materia orgánica; esto puede ser debido a la interacción entre *Lactobacillus plantarum*, *Streptomyces albus* y *Aspergillus oryzae* quienes utilizan los aminoácidos y carbohidratos presentes en la materia organica y generados por *Rhodopseudomana palustris* para elaborar su propio alimento a partir de H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub> y ácidos orgánicos generados por *L. plantarum*. Los ME síntesisan sustancias antimicrobianas que eliminan patógenos, en nuestro caso por ejemplo: la bibliografía reporta que *L. plantarum* sintetiza peróxido de hidrogeno, bacterocinas y ácido láctico los cuales destruyen la membrana celular de los patógenos, del mismo modo, estimula la descomposición de la materia orgánica por medio de la fermentación de celulosa y lignina; *S. albus* sintetiza la salinomicina, que actúa sobre patógenos, además, sintetiza ligninoperoxidasa que ayuda a la degradación de la lignina; *A. oryzae* sintetiza la  $\alpha$ -amilasa, que hidroliza el almidón, también genera la maltorizina, que suprime las vías metabólicas de los patógenos.

Tras haber realizado una prueba de antagonismo en el laboratorio, se determinó que; *L. plantarum*, *R. palustris*, *S. albus* y *A. oryzae* tienen una buena relación entre sí, y fueron potenciales candidatas para la formulación de los cocteles microbianos, empleados en la reducción de olores generados por la descomposición de la materia organica.

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante la evaluación odorífera y según el análisis estadístico utilizando la prueba de Chi-cuadrado de Pearson, se estableció al tratamiento 4 como el más eficiente, ya que al cuarto día de evaluación domino la escala “sin olor” con una frecuencia de 81, mientras que la escala “olor fuerte” fue mínima, esto también se puede notar en la reducción de los valores de parámetros de: conductividad, turbiedad, color, DBO<sub>5</sub> y DQO, donde, los valores de los parámetros medidos del lixiviado del tratamiento 4 son bajos a comparación con los de control, esto se da gracias a la acción de los microorganismos eficientes presentes en el tratamiento 4, obteniendo así resultados positivos, pero no muy viable para aplicar en contenedores, pues los residuos orgánicos de mercado no pasan más de dos días en los contenedores y el tratamiento redujo el olor al sexto día de haber aplicado el coctel.

## **RECOMENDACIONES**

Realizar pruebas a escala piloto, es decir, en contenedores grandes de residuos orgánicos presentes en los mercados de la Ciudad de Riobamba, determinando así la eficiencia y validez del tratamiento a esta escala.

Para la evaluación odorífera se deben emplear grupos amplios de personas y con una lata capacidad o sensibilidad olfativa, pues, ayudaran a obtener valores más confiables y a validar los resultados obtenidos.

Se podría realizar pruebas piloto con el bioformulado en una estación de transferencia de residuos orgánicos previamente clasificados, donde los mismos son almacenados antes de ser transportados a rellenos sanitarios.

## BIBLIOGRAFÍA

**Agencia Pública de Noticias del Ecuador y Sudamérica.** *Cerca del 50% de residuos sólidos que se produce en Ecuador proviene de Quito y Guayaquil (Audio).* [En línea]. Ecuador: Andes, 2015. [Consulta: 24 Marzo 2017]. Disponible en: <https://www.andes.info.ec/es/noticias/sociedad/17/cerca-50-residuos-solidos-produce-ecuador-proviene-quito-guayaquil-audio>

**Aguilar, Miguel.** *Análisis de agua - determinación de color platino cobalto en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba (cancela a la nmx-aa-045-1981).* [En línea]. Estados Unidos Mexicanos, 2001. [Consulta: 13 Marzo 2018]. Disponible en: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/aa045-01.pdf>

**Alvarado, Natali.** *Tratamiento de lixiviados del relleno sanitario del cantón tena provincia de napo mediante reaccion fenton y microorganismos eficientes (Tesis) (Tercer nivel).* [En línea] Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 2016. [Consulta: 8 Mayo 2018]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/6310/1/236T0252.pdf>.

**Alvarez, Rommel.** *Instructivo de uso del multiparamétrico wtw, modelo multi 340i y medición de muestras.* [En línea]. 2014. [Consulta: 18 Marzo 2018]. Disponible en: [http://biorem.univie.ac.at/fileadmin/user\\_upload/p\\_biorem/education/research/protocols/INSTRUCTIVO\\_DE\\_USO\\_DEL\\_MULTIPARAM%20TRICO.pdf](http://biorem.univie.ac.at/fileadmin/user_upload/p_biorem/education/research/protocols/INSTRUCTIVO_DE_USO_DEL_MULTIPARAM%20TRICO.pdf)

**AMBIEM Ltda.** *Tecnología EM en la Ganadería.* [En línea]. s.f. [Consulta: 18 Mayo 2018]. Disponible en: [http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base\\_datos/em\\_en\\_ganaderia.pdf](http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base_datos/em_en_ganaderia.pdf)

**AMBIENTUM.** *Degradación de la basura.* [En línea] 2015. [Consulta: 18 Noviembre 2016]. Disponible en: [http://www.ambientum.com/enciclopedia\\_medioambiental/suelos/olores\\_en\\_la\\_fermentacion.asp](http://www.ambientum.com/enciclopedia_medioambiental/suelos/olores_en_la_fermentacion.asp)

**Amo, Antonio, et al.** *Contaminación Ambiental por Olores*. [En línea]. Murcia: 2008. [Consulta: 7 Mayo 2018]. Disponible en: [https://www.carm.es/web/integra.srvlets.Blob?ARCHIVO=Contaminacion%20Ambiental%20por%20Olores%20%28I%29%20-%202035499.pdf&TABLA=ARCHIVOS&CAMPOCLAVE=IDARCHIVO&VALORCLAVE=35499&CAMPOIMAGEN=ARCHIVO&IDTIPO=60&RASTRO=c250\\$m4633,4644.978-84-691-7466-1](https://www.carm.es/web/integra.srvlets.Blob?ARCHIVO=Contaminacion%20Ambiental%20por%20Olores%20%28I%29%20-%202035499.pdf&TABLA=ARCHIVOS&CAMPOCLAVE=IDARCHIVO&VALORCLAVE=35499&CAMPOIMAGEN=ARCHIVO&IDTIPO=60&RASTRO=c250$m4633,4644.978-84-691-7466-1).

**APROLAB.** *Manual para la producción de compost con microorganismos eficaces*. [En línea]. Perú: 2007. [Consulta: 27 Abril 2018]. Disponible en: [http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base\\_datos/manual\\_para\\_elaboracion\\_de\\_compost.pdf](http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base_datos/manual_para_elaboracion_de_compost.pdf).

**Ardila, Jeyme, et al.** "Descomposición de residuos orgánicos en pacas: aspectos físico-químicos, biológicos, ambientales y sanitarios\*". *scielo* [en línea], 2015, 10(2), pp. 38-52. [Consulta: 2 Marzo 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/pml/v10n2/v10n2a05.pdf>

**Arias, Arnol.** "Microorganismos eficientes y su beneficio para la agricultura y el medio ambiente". *Journal de Ciencia e Ingeniería* [en línea], 2010, (Colombia) 2(2), pp. 42-45. [Consulta: 13 Marzo 2018]. Disponible en: <https://jci.uniautonomo.edu.co/2010/2010-7.pdf>

**Arias, Francisco.** *Manual de técnicas analíticas para la determinación de parámetros físico-químicos y contaminantes marinos (aguas, sedimentos y orgánicos)*. DQO. [En línea]. Santa Marta: INVEMAR, 2003. [Consulta: 21 Marzo 2018]. Disponible en: <http://www.invemar.org.co/redcostera1/invemar/docs/7010manualTecnicasanaliticas.pdf>

**Arredondo, Bertha, & Voltalina, Domenico.** *Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento*. [En línea]. México: 2014. [Consulta: 17 Marzo 2018]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/253237563\\_CONCENTRACION\\_RECUESTO\\_CELULAR\\_Y\\_TASA\\_DE\\_CRECIMIENTO](https://www.researchgate.net/publication/253237563_CONCENTRACION_RECUESTO_CELULAR_Y_TASA_DE_CRECIMIENTO)

**Asociación Española para la Calidad.** *Contaminación Olorífera*. [En línea]. España: 2017. [Consulta: 2 Marzo 2018]. Disponible en: <https://www.aec.es/web/guest/centro-conocimiento/contaminacion-olorifera>

**Astorga, Karina, et al.** "Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo". *Tecnología en marcha* [en línea], 2014, (Costa Rica) 27(2), pp. 82-91. [Consulta: 2 Abril 2018]. Disponible en: [http://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec\\_marcha/article/view/1929/1755](http://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/1929/1755)

**Ballesteros, Anderledis, et al.** *Aislamiento de un consorcio microbiano útil que facilite la obtención de un mejorador de suelos*. [En línea]. Colombia: 2016. [Consulta: 8 Mayo 2018]. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/6711/63144H493.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**Baltodano, Mauricio, & Sotomayor, Felipe.** Evaluación de manejo de desechos orgánicos domésticos en la earth (Tesis) (Tercer nivel). [En línea]. Universidad EARTH. Guacimo, Costa Rica. 2002. [Consulta: 8 Mayo 2018]. Disponible en: [http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base\\_datos/manejo\\_desechos\\_domesticos.pdf](http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base_datos/manejo_desechos_domesticos.pdf)

**Banco Internacional de Desarrollo.** *Manual práctico de uso de EM (Microorganismos Eficientes)*. [En línea]. Uruguay: OISCA, 2009. [Consulta: 2 Marzo 2017]. Disponible en: [http://www.emuruguay.org/images/Manual\\_Practico\\_Uso\\_EM\\_OISCA\\_BID.pdf](http://www.emuruguay.org/images/Manual_Practico_Uso_EM_OISCA_BID.pdf)

**Barrett, Julia.** *¡Tu Basura, el Tesoro de la Naturaleza!*. [En línea]. 2017. [Consulta: 2 Marzo 2018]. Disponible en: <https://www.acs.org/content/dam/acsorg/education/resources/highschool/chemmatters/issues/2017-2018/October%202017/cm-Oct2017-compost%20spanish%20translated.pdf>

**Bastidas, Oscar.** *Conteo Celular con Hematocitómetro. Uso Elemental del Hematocitómetro.* [En línea]. Celeromics, s.f. [Consulta: 20 Marzo 2018]. Disponible en: <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf>

**Bataller, Mayra, et al.** *Lixiviados de vertederos de residuos sólidos urbanos.* [En línea]. Cuba: Centro de Investigaciones del Ozono, 2007. [Consulta: 21 Marzo 2018]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Maria\\_Espinosa\\_Llorens/publication/303677305\\_Lixiviados\\_de\\_Vertederos\\_de\\_Residuos\\_Solidos\\_Urbanos\\_Monografia/links/574c862208aec98852696909/Lixiviados-de-Vertederos-de-Residuos-Solidos-Urbanos-Monografia.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Maria_Espinosa_Llorens/publication/303677305_Lixiviados_de_Vertederos_de_Residuos_Solidos_Urbanos_Monografia/links/574c862208aec98852696909/Lixiviados-de-Vertederos-de-Residuos-Solidos-Urbanos-Monografia.pdf)

**Berenguer, José.** *NTP 358: Olores: un factor de calidad y confort en ambientes interiores.* [En línea]. España: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 1999. [Consulta: 2 Marzo 2017]. Disponible en: [http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/301a400/ntp\\_358.pdf](http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/301a400/ntp_358.pdf)

**Bernache, Gerardo.** *Cuando la basura nos alcance: el impacto de la degradación ambiental* [en línea]. 1ra Ed. México: CIESAS, 2006. [Consulta: 24 Abril 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=bL3Pn7PcFxoC&pg=PA112&lpg=PA112&dq=microorganismos+patogenos+de+la+basura&source=bl&ots=sc-BGyxeup&sig=LAZHVbz1seGvdswyisaTU7Xrgk&hl=es&sa=X&sqi=2&ved=0ahUKEwjQ0MmhssHTAhUG7SYKHWa5CtUQ6AEIIDA#v=onepage&q=microorganismos>

**Buelga, Celestino, & Barberán, Francisco.** *Sustancias fitoquímicas de frutas y hortalizas, su posible papel benéfico para la salud. (Tesis) (Tercer nivel).* [En línea]. Universidad de Salamanca. Murcia, España. 2001. [Consulta: 27 Abril 2018]. Disponible en: <http://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/108217-Sustancias-fitoquimicas-de-frutas-y-hortalizas-su-posible-papel-beneficioso-para-la-salud.html>

**Camacho, Alejandro, et al.** "Potencial de algunos microorganismos en el compostaje de residuos sólidos". *scielo* [en línea], 2014, (México) 32(4), pp. 291-300. [Consulta: 12 Abril 2018].

2018]. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-57792014000400291](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792014000400291)

**Cañedo, Verónica et al.** *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. [En línea]. Perú: Centro Internacional de la papa, 2004. [Consulta: 24 Octubre 2017]. Disponible en: <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>

**Carpio, Tania.** *Turbiedad por Nefelometría (Metodo B)*. [En línea]. Colombia: IDEAM, 2007. [Consulta: 13 Marzo 2018]. Disponible en: <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/Turbiedad+por+Nefelometr%C3%ADa..pdf/fc92342e-8bba-4098-9310-56461c6a6dbc>

**Centro Nacional de la Información de la Calidad.** *Contaminación Olorífera*. [En línea]. AEC, s.f. [Consulta: 2 Marzo 2018]. Disponible en: [https://www.aec.es/c/document\\_library/get\\_file?uuid=3527643c-0525-42fd-9943-1c881254e44f&groupId=10128](https://www.aec.es/c/document_library/get_file?uuid=3527643c-0525-42fd-9943-1c881254e44f&groupId=10128)

**Ceron, Guillermo, et al.** "Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología". *Medigraphic* [en línea], 2014, (Mexico) 3(1), pp. 10-18. [Consulta: 18 Abril 2018]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/invdiss/ir-2014/ir141b.pdf>

**Chirinos, Michelle, & Delgado, Lisette.** *Fundamentos de PCR en tiempo real y sus aplicaciones clínicas*. [En línea]. CDX Molecular, 2013. [Consulta: 18 Mayo 2018]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/283090326\\_Guia\\_practica\\_Fundamentos\\_de\\_la\\_PCR\\_en\\_tiempo\\_real\\_y\\_sus\\_aplicaciones\\_clinicas](https://www.researchgate.net/publication/283090326_Guia_practica_Fundamentos_de_la_PCR_en_tiempo_real_y_sus_aplicaciones_clinicas)

**Cruz, Nathalie.** Aprovechamiento y manejo de desechos orgánicos de cocina utilizando microorganismos eficientes de montaña (ME) aislados de dos bosques secundarios de Costa Rica (Tesis) (Tercer nivel). [En línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 2010. [Consulta: 2 Marzo 2017]. Disponible en:

[http://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/2867/Informe\\_final.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/2867/Informe_final.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

**Department of Veterinary Disease Biology.** *Streptomyces albus*. [En línea]. University of Copenhagen, 2011. [Consulta: 18 Marzo 2018]. Disponible en: [http://atlas.sund.ku.dk/microatlas/food/bacteria/Streptomyces\\_albus/](http://atlas.sund.ku.dk/microatlas/food/bacteria/Streptomyces_albus/)

**Estación Experimental Agropecuaria para la Introducción de Tecnologías Apropriadas de Japón.** *Microorganismos Eficaces™ (EM™)*. [En línea]. Uruguay: 2013. [Consulta: 11 Julio 2018]. Disponible en: [http://www.emuruguay.org/PDF/Microorganismos\\_Eficaces\\_EM\\_Presentacion\\_breve.pdf](http://www.emuruguay.org/PDF/Microorganismos_Eficaces_EM_Presentacion_breve.pdf)

**Tiquia, S.** "Evolution of extracellular enzyme activities during manure composting.". *Journal of Applied Microbiology* [en línea], 2002, (Estados Unidos) Vol 92, 2002, pp. 764-775. [Consulta: 30 Mayo 2018]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1365-2672.2002.01582.x>

**Fernandez, Alex.** *Contaminación por malos olores, un problema en aumento*. [En línea]. Fundación EROSKI, 2014. [Consulta: 9 Noviembre 2016]. Disponible en: [http://www.consumer.es/web/es/medio\\_ambiente/urbano/2014/01/02/219012.php](http://www.consumer.es/web/es/medio_ambiente/urbano/2014/01/02/219012.php)

**Ficha Técnica de EM-1.** *Microorganismos eficientes*. [En línea]. 2015. [Consulta: 18 Mayo 2018]. Disponible en: <https://archive.org/details/80177626MicroorganismosEficientes>

**GABSYSTEM.** *Cámara Thoma y Neubauer Improved para el recuento de Levaduras (tiraje)*. [En línea]. s.f. [Consulta: 24 Noviembre 2017]. Disponible en: [http://shop.gabsystem.com/data/descargas/Camara%20Thoma%20Neubauer\\_SP.pdf](http://shop.gabsystem.com/data/descargas/Camara%20Thoma%20Neubauer_SP.pdf)

**Gonzales, Carmen.** *EL PH*. [En línea]. 2011. [Consulta: 21 Marzo 2018]. Disponible en: <http://academic.uprm.edu/gonzalezc/HTMLobj-862/maguaph.pdf>

**Gonzales, Carmen.** *La turbidez*. [En línea]. 2011. [Consulta: 21 Marzo 2018]. Disponible en: <http://academic.uprm.edu/gonzalezc/HTMLobj-859/maguaturbidez.pdf>

**González, Nieves.** *Rhodopseudomonas palustris*. [En línea]. 2017. [Consulta: 17 Marzo 2018]. Disponible en: <http://losporquesdelanaturaleza.com/rhodopseudomonas-palustris/>

**Higa, Teruo, & Parr, James.** *Beneficial and Effective Microorganisms for a Sustainable Agriculture and Environment*. [En línea]. Japón. International Nature Farming Research Center, 1994. [Consulta: 18 Mayo 2018]. Disponible en: [http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base\\_datos/em\\_for\\_sustainable\\_agriculture\\_environment.pdf](http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base_datos/em_for_sustainable_agriculture_environment.pdf)

**Imagua Water Technologies S.L.** *DBO y DQO*. [En línea]. España: 2018. [Consulta: 21 Marzo 2018]. Disponible en: <http://www.imagua.es/pages/index/dbo-y-dqo>

**INEC.** *Estadística de Información Ambiental Económica en Gobiernos Autónomos Descentralizados Municipales*. [En línea]. Ecuador: 2014. [Consulta: 24 Marzo 2017]. Disponible en: [http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas\\_Ambientales/Municipios\\_ConsProvinciales\\_2014/Municipios-2014/201412\\_GADS%20MunicipalesDocumentoTecnicoDeResultados.pdf](http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Municipios_ConsProvinciales_2014/Municipios-2014/201412_GADS%20MunicipalesDocumentoTecnicoDeResultados.pdf)

**INEC.** *Módulo de Información Ambiental en Hogares*. [En línea]. Ecuador: 2014. [Consulta: 2 Marzo 2018]. Disponible en: [http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas\\_Ambientales/Hogares\\_2014/Documento\\_tecnico\\_Modulo\\_Ambiental\\_Hogares\\_2014.pdf](http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Hogares_2014/Documento_tecnico_Modulo_Ambiental_Hogares_2014.pdf).

**Ingelab.** *DBO Logic, Manual de Instrucciones*. [En línea]. s.f. [Consulta: 18 Marzo 2018]. Disponible en: [http://www.ingelab.com.ar/pdf/DBO/DBO\\_Manual\\_Usuario.pdf](http://www.ingelab.com.ar/pdf/DBO/DBO_Manual_Usuario.pdf)

**Jara, Janneth.** *Manejo y Caracterización de Residuos Sólidos Urbanos de la Provincia de Chimborazo Ecuador y su Potencial Uso en la Agricultura* (Tesis) (Maestría). [En línea]. Escuela Superior Politécnica de Orihuela. Riobamba, Ecuador. 2014. [Consulta: 24 Julio 2018]. Disponible en: <http://dspace.umh.es/bitstream/11000/2003/1/TFM%20Jara%20Samaniego%2C%20Janneth.pdf>

**Larimer, Frank, et al.** "Complete genome sequence of the metabolically versatile photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas palustris*". *Nature Biotechnololy* [en línea], 2004, Vol. 22(1), pp. 55-61. [Consulta: 17 Marzo 2018]. ISSN 1546-1696. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nbt923.pdf>

**Lopez, Valentina, & Mendoza, Patricia.** Estudio de la calidad del lixiviado del relleno sanitario la Esmeralda y su respuesta bajo tratamiento en filtro anaerobio piloto de flujo ascendente (Tesis) (Tercer Nivel). [En línea]. Universidad Nacional de Colombia. Manizales, Colombia. 2004. [Consulta: 8 Mayo 2018]. Disponible en: [http://www.bdigital.unal.edu.co/1059/1/patriciamentozasalgado.2004\\_.pdf](http://www.bdigital.unal.edu.co/1059/1/patriciamentozasalgado.2004_.pdf)

**Madigan, Michael, et al.** *Brock. Biología de los Microorganismos*. 10ma Ed. Madrid: Pearson Prentice Hall, 2004. pp. 58-59

**Microorganismos Eficientes.** *Qué es la Tecnología de los Microorganismos Eficientes*. [En línea]. 2013. [Consulta: 17 Marzo 2018]. Disponible en: <https://microorganismoseficientes.wordpress.com/2013/04/10/tecnologia-de-los-microorganismos-eficientes/>

**Montesinos, Dayal.** Uso de lixiviado procedente de material orgánico de residuos de mercados para la elaboración de biol y su evaluación como fertilizante para pasto (Tesis) (Maestría). [En línea]. Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador. 2013. [Consulta: 8 Mayo 2018]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4706/1/TESIS.pdf>

**Moreno, Rebeca.** *Recuento en cámara de Neubauer (u otro tipo de cámara).* [En línea]. 2004. [Consulta: 20 Marzo 2018]. Disponible en: <http://webs.ucm.es/info/inmuno/arearest/pro/protocol/recuento.pdf>

**Naranjo, Edgar.** Aplicación de microorganismos para acelerar la transformación de desechos orgánicos en compost (Tesis) (Tercer Nivel). [En línea]. Universidad Técnica de Ambato. Ambato, Ecuador. 2013. [Consulta: 24 Abril 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/5310/1/Tesis-52%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20173.pdf>

**Paillié, Maria.** Determinación de la actividad celulolítica, ligninolítica y amilolítica de actinobacterias aisladas de suelo rizosférico de trébol blanco (*trifolium repens*) (Tesis) (Tercer nivel). [En línea]. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 2012. [Consulta: 10 Julio 2018]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/11781/PailieJimenezMariaElisa2012.pdf?sequence=1>.

**Pérez, Rocio, et al.** "Antagonismo microbiano asociado a cepas bacterianas provenientes de jitomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) y maíz (*Zea Mays*)". *Revista Iberoamericana de Ciencias* [En línea], 2014, (México) 1(3), pp. 53-60. [Consulta: 18 Marzo 2018]. ISSN 2334-2501. Disponible en: <http://www.reibci.org/publicados/2014/agosto/3300118.pdf>

**Prescott, Lansing, et al.** *Microbiología.* 5ta Ed. España : McGraw-Hill Interamericana, 2002.

**Puerta, Gloria.** *Los catadores de café. Avances técnicos.* [En línea]. Colombia: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 2009. [Consulta: 4 Abril 2018]. Disponible en: <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/367/1/avt0381.pdf>

**Química Clínica Aplicada.** *Azul de Lactofenol para tinción de estructuras fúngicas.* [En línea]. Cromakit, 2015. [Consulta: 19 Marzo 2018]. Disponible en: <http://www.cromakit.es/pdfs/inserts/994970.pdf>

**Ramírez, María.** Actividad inhibitoria de cepas de bacterias ácido lácticas frente a bacterias patógenas y deterioradoras de alimentos (Tesis) (Tercer nivel). [En línea]. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México. 2005. [Consulta: 17 Abril 2018]. Disponible en: <https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/10600/Actividad%20inhibitoria%20de%20cepas%20de%20bacterias.pdf;sequence=1>.

**Ramirez, Mauricio.** Tecnología de Microorganismos Efectivos (EM) aplicada a la agricultura y medio ambiente sostenible (Tesis) (Tercer nivel). [En línea]. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia. 2006. [Consulta: 19 Marzo 2017]

**Rodríguez, Diler, et al.** Recuperación de oro y plata usando el pre-tratamiento de los relaves mediante bioxidación bacteriana con el uso del Thiobacillus ferrooxidans en un bioreactor airlift en función del tiempo y porcentaje de sólidos (Tesis) (Tercer nivel). [En línea]. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. 2006. [Consulta: 9 Marzo 2018]. Disponible en: [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9147/GuaniloJimenez\\_M%20-%20RodriguezAlvarado\\_D.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9147/GuaniloJimenez_M%20-%20RodriguezAlvarado_D.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**Sakurai, Kunitoshi.** *Método sencillo del análisis de residuos sólidos.* [En línea]. CEPIS, 2000. [Consulta: 9 Febrero 2018]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/eswww/proyecto/repidisc/publica/hdt/hdt017.html>

**Sánchez, Samuel.** *Protocolo de fermentación para producción de Koji.* [En línea]. BculinaryLab. 2017. [Consulta: 18 Marzo 2018]. Disponible en: <http://www.bculinarylab.com/tag/aspergillus-oryzae/>

**Sanz, Susana.** *Prácticas de Microbiología.* [En línea]. 2011. [Consulta: 17 Marzo 2018]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/libro/100835.pdf>.

**Schlegel, Hans.** *Microbiología General* [en línea]. 7ma Ed. Barcelona : Omega, S.A, 1997. [Consulta: 2 Julio 2018]. Disponible en: <https://biolprocariotas.files.wordpress.com/2010/03/microbiologia-general.pdf>

**Soriano, Jakelin.** Tiempo y calidad del compost con aplicación de tres dosis de "Microorganismos Eficaces"-concepción (Tesis) (Tercer nivel). [En línea]. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo, Perú. 2016. [Consulta: 21 Octubre 2017]. Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/3487/Soriano%20Vilcahuman.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**Suarez, Doris.** *Conductividad electrica por el método.* [En línea]. Colombia: IDEAM, 2006. [Consulta: 21 Marzo 2018]. Disponible en: <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/Conductividad+El%C3%A9ctrica.pdf/f25e2275-39b2-4381-8a35-97c23d7e8af4>

**Tarek, Elbashiti, et al.** "Isolation and Identification of *Aspergillus oryzae* and the Production of Soy Sauce with New Aroma.". *Pakistan Journal of Nutrition* [en línea], 2010, (Palestina) 9(12), pp. 1171-1175. [Consulta: 18 Marzo 2018]. ISSN 1680-5194. Disponible en: <http://site.iugaza.edu.ps/tbashiti/files/2010/02/fin18381.pdf>

**Tchobanoglous, George, et al.** *Gestión integral de residuos solidos.* España : Mc Graw Hill, 2000.

**Tortosa, Germán.** *El pH durante el compostaje.* [En línea]. Compostando Ciencia Lab, 2013. [Citado el: 30 de Abril de 2018.] <http://www.compostandociencia.com/2013/11/ph-en-el-compostaje-html/>

**UNMDP.** *La basura: consecuencias ambientales y desafíos.* [En línea]. Universidad Nacional de Mar del Plata, 2016. [Consulta: 22 Marzo 2018]. Disponible en: <https://eco.mdp.edu.ar/institucional/eco-enlaces/1611-la-basura-consecuencias-ambientales-y-desafios>

**Valenzuela, Caren.** Evaluación de la capacidad antagónica de bacterias promotoras de crecimiento vegetal frente a tres aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hansen (Tesis) (Tercer nivel). [En línea]. Universidad Católica de Manizales. Manizales, Colombia. 2014. [Consulta: 20 Octubre 2017]. Disponible en: <http://repositorio.ucm.edu.co:8080/jspui/bitstream/handle/10839/928/Karen%20Tatiana%20Valenzuela%20Ospina.pdf?sequence=1>.

**Vallejo, Gabriel.** *Protocolo para el monitoreo, control y vigilancia de olores ofensivos.* [En línea]. Colombia: 2014. [Consulta: 4 Abril 2018]. Disponible en: [http://www.minambiente.gov.co/images/AsuntosambientalesySectorialyUrbana/pdf/emisiones\\_atmosfericas\\_contaminantes/Resoluci%C3%B3n\\_2087\\_de\\_2014\\_-\\_Protocolo\\_Olores\\_Ofensivos.pdf](http://www.minambiente.gov.co/images/AsuntosambientalesySectorialyUrbana/pdf/emisiones_atmosfericas_contaminantes/Resoluci%C3%B3n_2087_de_2014_-_Protocolo_Olores_Ofensivos.pdf)

**WEBMASTER.** *Microorganismos Eficientes (ME).* [En línea]. 2009. [Consulta: 2 Marzo 2018]. Disponible en: [http://www.laganaderia.org/15/index.php?option=com\\_content&view=article&id=114:microorganismos-eficientes&catid=1:timas&Itemid=41](http://www.laganaderia.org/15/index.php?option=com_content&view=article&id=114:microorganismos-eficientes&catid=1:timas&Itemid=41)

**Zapata, Sandra, et al.** "Aislamiento de *Lactobacillus plantarum* LPBM10 y caracterización parcial de su bacteriocina". *scielo* [en línea], 2009, (Colombia) 16(1), pp. 75-82. [Consulta: 17 Marzo 2018]. ISSN 0121-4004. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n1/v16n1a09.pdf>

**Zavala, Casandra.** Efectos de la suplementación con salinomicina y nicarbazina sobre los parámetros productivos en pollos de engorde (Tesis) (Tercer nivel). [En línea]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 2017. [Consulta: 10 Julio 2018]. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6423/Zavala\\_dc.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6423/Zavala_dc.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

# ANEXOS

ANEXO A: Tabla general de datos de la prueba piloto

Estudiantes	CONTROL				COCTEL 1				COCTEL 2				COCTEL 3				COCTEL 4																																														
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4																																											
E1	1	2	2	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	3	3	3	1	2	1																										
E2	1	2	2	1	2	2	2	2	3	2	3	1	1	2	1	3	2	2	3	3	1	2	3	1	1	2	1	1	2	1	1	2	2	1	1	0	1	1	1	1	2	2	1	1	1	0																	
E3	2	3	2	3	1	2	2	2	3	2	3	2	1	2	3	2	1	3	2	1	3	2	2	3	3	2	1	3	2	1	2	1	1	3	2	1	2	2	3	2	1	1	3	2	2	2	2	1	1														
E4	1	3	1	3	3	2	2	3	3	2	3	2	3	2	2	1	3	3	1	3	2	1	1	1	1	1	3	2	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0															
E5	2	1	1	2	3	2	3	3	3	2	2	3	1	1	1	2	2	3	2	2	3	1	1	2	1	2	3	2	2	3	2	2	1	1	2	1	1	1	2	2	1	2	1	1	3	1	1	2	1	1	3	2	1	2	1	1							
E6	1	3	3	2	3	2	2	2	3	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	1	1	2	2	1	2	1	1	3	2	1	2	2	2	2	1	0	1	2	2	2	1	2	1	2	1	2	3	1	2	1										
E7	3	3	1	1	2	2	2	3	2	2	3	3	2	2	1	3	3	1	2	3	1	2	3	1	1	3	1	1	1	1	1	2	1	2	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	2	1	1	2	1	1	1	0											
E8	2	3	2	1	2	1	1	2	3	1	3	2	2	3	1	3	3	2	2	3	1	1	1	2	2	3	1	1	1	1	3	1	0	1	2	2	2	2	1	1	2	2	2	3	1	2	2	3	3	2	1	1	1	3	2	2	1	1	0				
E9	3	3	3	2	3	3	2	3	3	3	3	2	2	1	2	2	1	1	1	2	3	1	2	3	2	3	2	2	2	1	1	2	3	2	2	2	2	2	2	3	1	2	1	2	2	2	2	2	3	2	3	2	0	1	2	2	2	1	1	1	0		
E10	1	3	2	3	3	3	2	3	3	1	3	2	2	2	3	2	3	2	2	2	2	1	2	2	1	2	3	2	2	2	1	2	2	2	2	2	3	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1	2	3	2	1	2	1	1	1	1	0			
E11	3	3	1	2	3	2	3	3	3	3	2	3	1	2	3	2	3	1	2	3	3	2	2	1	3	3	3	1	2	1	1	2	1	1	2	2	3	2	1	1	0	2	2	1	2	2	2	1	1	1	0	2	3	2	0	3	1	1	0				
E12	1	1	0	2	3	2	3	3	3	2	3	2	1	2	3	3	2	3	3	2	2	3	1	2	3	3	2	2	3	1	2	2	2	2	2	1	1	0	2	2	3	2	1	2	1	1	2	0	0	2	2	2	3	1	1	3	1	1	1				
E13	1	1	1	1	3	2	2	3	3	2	3	2	0	1	2	2	3	3	2	1	3	2	2	1	0	1	2	1	2	1	1	2	2	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	2	2	1	2	2	1	0	1	1	2	1	2	1	1	2	0	0			
E14	1	2	2	2	3	3	3	3	3	2	3	3	1	2	3	2	3	3	2	2	3	2	2	2	1	1	3	3	2	2	1	1	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	2	2	2	1	0	2	1	1	2	2	2	3	2	1	2	1	1		
E15	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2	2	3	1	2	1	3	2	2	1	1	2	1	1	2	3	2	2	2	1	2	3	1	2	2	2	2	2	2	2	1	2	3	1	1	3	1	2	2	2	1	1	0	1	3	1	0	1	1	0	0			
E16	1	2	2	1	2	1	2	3	3	1	3	2	2	2	1	2	3	2	1	3	1	2	1	2	2	3	1	1	2	0	2	2	0	1	1	2	1	0	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0	1	1	1	1	2	2	1	1	1	0				
E17	1	2	1	1	1	2	1	2	3	2	3	2	3	1	2	3	1	3	3	1	3	3	0	1	3	1	1	2	1	3	2	0	3	2	1	0	1	0	2	1	3	2	2	2	2	2	1	0	1	2	1	2	2	3	3	1	1	2					
E18	1	1	1	1	2	3	2	2	3	3	3	3	2	2	2	1	3	3	1	3	3	2	3	3	0	2	3	1	2	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	3	2	2	2	1	2	2	2	0	1	1	2	3	1	0	2	3	1	1			
E19	2	2	1	2	2	2	3	3	3	3	3	2	1	3	3	2	3	3	2	2	3	1	3	2	2	2	3	2	2	3	2	2	2	1	2	2	2	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	1	2	1	1	1				
E20	1	2	2	1	2	1	1	3	3	1	3	2	1	0	2	1	2	2	1	2	3	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	2	2	1	2	1	0	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	2	1	0	1	1	1	1	2	1	2	1	0	0

E21	1	3	2	2	3	3	2	3	3	2	3	3	1	2	3	1	3	3	2	2	3	2	2	1	2	3	1	2	2	1	2	3	1	1	2	1	2	2	3	2	3	2	3	3	2	2	1	1	3	3	2	2	3	2	2	3	1	2	2							
E22	2	1	2	3	2	2	3	3	2	2	3	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	3	3	3	2	1	3	2	1	2	2	1	1	1	2	3	3	1	3	2	1	2	2	1	1	2	2	3	2	2	3	2	1	1	2					
E23	1	2	2	2	2	1	3	3	1	3	3	3	1	2	3	2	2	3	2	1	3	1	3	3	3	2	3	3	2	2	1	1	2	1	2	2	1	2	2	2	2	2	3	1	3	2	1	1	3	2	1	2	1	2	2	1	2	2	0							
E24	3	3	1	3	3	2	2	3	3	3	3	3	2	2	3	2	2	2	1	2	2	2	2	3	2	1	2	1	1	2	2	2	1	3	1	1	2	2	2	2	1	3	2	2	2	1	1	0	1	2	1	0	3	1	2	2	1	0								
E25	1	2	2	2	3	2	2	3	3	2	3	2	2	2	3	2	3	3	2	3	3	1	3	3	0	1	3	1	2	2	1	2	3	1	2	1	1	1	1	1	2	1	2	2	3	2	2	2	1	0	2	2	2	2	1	3	3	1	1	2						
E26	1	2	2	2	2	1	2	3	3	2	3	2	1	3	3	3	3	3	2	1	3	1	3	2	2	2	3	1	1	2	1	1	2	1	1	2	2	2	1	0	1	1	2	3	2	1	1	2	1	2	1	2	1	1	2	2	2	2	2							
E27	1	2	2	1	3	1	2	3	3	3	3	3	2	3	3	2	2	2	1	3	3	1	2	2	1	2	3	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	3	2	1	2	3	2	1	3	2	1	2	2	2	2	1	2	1	1	1	1	0	0						
E28	2	2	2	3	1	3	2	3	3	2	3	3	1	2	3	1	1	3	2	2	2	1	3	3	2	1	3	1	2	2	1	1	1	2	1	1	2	1	1	2	2	1	2	1	1	0	2	1	2	3	1	2	2	2	1	1	2	1	1							
E29	1	1	2	1	2	1	1	2	2	3	3	2	0	2	2	0	2	3	1	2	2	1	3	2	1	1	2	1	1	1	1	2	2	1	2	2	1	2	0	0	1	1	1	1	2	2	1	2	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	1					
E30	1	2	2	3	3	2	2	3	3	3	3	2	3	1	3	2	3	2	3	1	3	2	1	3	3	2	3	3	1	2	1	2	1	2	1	3	1	2	3	2	3	2	1	1	2	3	3	2	3	2	1	2	1	1	3	1	2	1	1							
E31	1	2	2	1	3	1	2	3	3	1	3	2	3	1	2	3	2	2	2	1	2	2	0	1	3	0	2	1	0	2	2	2	1	2	1	0	1	1	0	2	1	1	1	2	1	2	1	0	1	2	1	2	2	1	1	2	1	1								
E32	1	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	2	1	2	1	2	3	1	2	2	2	2	1	2	2	3	3	3	2	2	3	1	1	2	3	2	2	2	2	3	2	1	2	1							
E33	1	2	3	1	3	1	3	3	3	2	3	2	2	3	3	1	3	3	2	2	3	1	3	2	1	2	3	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1	2	2	1	2	1	1	1	2	2	1	3	1	1	3	1	1	2	1	2	1						
E34	1	3	2	3	2	2	3	3	3	2	3	3	2	3	3	1	3	3	2	2	3	2	2	2	1	2	3	2	1	2	1	2	3	2	1	2	1	2	3	2	1	2	2	1	2	2	2	1	1	2	1	2	0	2	2	2	3	2	1	1	1	2	1	1	2	1
E35	2	3	1	2	3	3	3	3	2	2	3	3	1	3	3	2	2	1	2	2	2	1	3	3	0	1	2	2	2	2	1	1	1	2	1	1	1	0	1	2	3	3	2	3	1	1	2	1	2	1	1	2	2	3	1	1	1	2	1	1						
E36	2	2	3	1	3	1	2	1	3	1	3	2	2	2	3	1	3	3	3	2	2	1	1	2	2	1	2	1	1	1	1	2	2	1	2	1	3	3	3	1	1	2	2	1	3	2	2	1	2	2	3	1	1	1	2	3	1	1	0	0						
E37	2	3	3	2	3	2	2	3	2	3	2	3	1	2	1	2	2	3	2	2	3	2	1	3	1	3	1	1	2	1	1	2	3	1	2	2	1	2	2	1	2	2	2	3	2	1	2	2	2	2	2	2	2	1	3	2	2	3	2	0	1					
E38	2	3	2	1	3	3	2	3	3	3	3	2	1	3	3	1	3	3	2	2	3	1	2	2	1	2	2	2	2	1	2	3	2	1	2	1	2	3	1	3	2	3	3	1	2	2	1	0	2	3	3	2	2	2	2	2	2	2	3	2						
E39	1	2	1	1	3	1	1	2	3	1	3	2	1	2	3	1	2	3	2	2	3	1	2	2	0	1	3	1	1	1	1	2	1	2	1	1	0	0	1	1	2	2	2	1	2	1	2	2	1	0	1	1	1	1	1	2	3	2	1	1	0					
E40	2	2	2	2	3	3	2	3	2	2	2	3	2	3	2	2	3	3	2	2	2	2	3	2	1	2	3	2	2	2	1	2	2	1	2	2	1	1	3	3	2	3	2	1	1	2	1	3	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	1	1						

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

La tabla indica los resultados de la evaluación de los 40 estudiantes durante 4 días, donde se detalla la valoración de cada estudiante en cada uno de los 4 cocteles y control evaluados, los valores de la evaluación están comprendidos entre 0-3, siendo 0= sin olor, 1=olor ligero, 2=olor moderado, 3=olor fuerte. Dichos datos se obtuvieron mediante el olfato de los estudiantes evaluados, el número de estudiantes está representado por E1 hasta E40.

**ANEXO B:** Tabla general de datos de la prueba final

ESTUDIANTES	COCTEL 1				COCTEL 2				COCTEL 3				COCTEL 4				CONTROL																																													
	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4																																										
E1	0	1	1	0	3	1	2	1	2	3	1	2	1	1	1	2	3	1	1	0	1	2	1	1	0	0	1	0	0	3	0	1	1	2	1	2	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	2	2	1	1	1	2	3	3	3		
E2	1	1	2	3	2	2	1	3	2	3	1	2	2	1	1	1	1	2	1	2	1	2	3	3	2	1	0	1	1	1	2	2	2	2	3	2	2	0	0	0	0	1	0	2	1	2	3	3	2	3	3	3	2	3	3							
E3	0	1	1	1	2	1	0	2	2	3	3	1	0	1	1	2	1	2	3	1	1	1	2	2	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	3	2	3	2	2	1	1	2	3	
E4	1	2	2	1	2	1	3	2	3	2	3	2	2	3	2	1	3	1	2	3	1	2	1	1	1	1	2	0	0	3	2	2	2	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	2	1	2	2	1	2	2	3	3	3			
E5	1	1	1	0	1	0	0	1	2	1	1	2	1	2	2	1	1	3	3	2	2	2	1	1	1	2	1	0	2	0	0	1	1	1	1	2	2	2	1	1	1	1	1	0	1	0	0	2	2	1	2	2	1	2	2	1	3	2	3			
E6	0	0	1	2	1	1	2	2	1	2	3	2	1	1	0	2	3	3	3	1	1	1	1	1	0	0	1	2	3	2	0	0	2	0	0	1	0	0	0	3	2	2	1	2	1	0	1	0	0	0	1	2	3	2	2	2	1	3	3	3		
E7	1	0	0	1	1	1	1	1	1	3	3	1	0	1	1	1	3	0	0	0	0	2	3	3	0	0	0	0	1	2	0	0	1	2	1	2	0	0	0	2	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	2	2	2	2	1	2	3			
E8	1	2	1	0	2	0	1	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	2	1	2	1	0	0	2	1	1	1	2	2	1	2	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	2	1	1	2	1	1	2	2	3	3	2	3		
E9	1	1	1	2	2	3	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	3	2	2	2	1	1	2	2	1	2	1	3	2	3	2	2	2	1	1	1	2	2	2	2	3	2	1	2	1	1	1	0	2	2	1	3	3	2	3	3	3	3	3	3		
E10	1	2	1	0	2	1	3	3	2	2	2	2	1	2	1	1	3	1	2	2	0	3	1	1	1	1	0	0	0	3	2	2	1	0	1	2	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	2	2	1	3	2	2	3	3	3		
E11	2	2	2	2	3	2	3	3	3	3	3	3	2	2	2	3	3	3	3	3	2	3	3	3	2	1	1	3	2	2	2	1	1	1	1	2	2	1	2	3	2	2	1	0	1	0	2	1	2	3	3	3	3	3	1	3	2	3				
E12	1	2	1	0	3	2	2	3	2	1	3	2	1	1	2	2	3	2	2	1	2	3	3	2	2	2	0	0	3	0	0	2	0	1	2	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	2	1	1	2	2	3	3	3	2	2	3		
E13	2	1	1	0	2	2	1	2	2	2	3	3	1	1	2	2	3	1	1	0	1	2	2	1	2	1	1	0	0	3	0	1	2	1	1	2	2	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2	2	1	2	2	3	0	3	3		
E14	1	1	1	1	1	1	1	2	2	3	1	2	1	1	1	0	1	0	1	1	1	2	3	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	2	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	
E15	2	1	1	3	2	1	2	2	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	3	1	2	2	1	1	1	0	1	0	3	2	3	1	1	2	0	0	1	1	1	2	2	3	3	3	3	2	3	3	3		
E16	0	0	1	1	2	3	1	3	2	2	2	2	1	1	1	0	2	0	1	0	0	2	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3	2	2	2	3	3	3	3
E17	0	1	1	1	2	2	2	3	2	2	3	2	1	0	0	2	3	1	2	3	1	3	3	2	1	1	0	0	3	0	1	2	0	0	2	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	2	2	1	3	2	3	3	3	3			
E18	0	0	0	1	1	2	1	3	2	2	2	1	0	1	0	1	2	1	2	1	2	2	1	1	0	0	0	3	1	1	1	0	0	0	3	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	1	3	2	2	



E3 8	0	1	1	1	2	1	1	2	1	3	1	1	1	2	2	2	1	1	2	1	1	2	2	2	0	0	1	1	1	1	0	1	1	3	1	2	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	2	2	1	2	2	2	3	3	3	
E3 9	0	1	1	1	2	1	3	1	2	2	3	2	1	1	1	2	3	1	1	1	1	2	1	0	0	0	1	0	0	2	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	2	2	2	1	1	1	3	3	3	
E4 0	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	2	2	1	1	2	3	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1	1	1	1	0	1	1	1	2	2	2	2	3	2	2	3	3	2

Realizado por: Noemi Cando, Cristian Gagnay. 2018

La tabla muestra 6 columnas, la primera representa a los 40 estudiantes que realizaron la prueba, enumerados desde E1 hasta E40, las siguientes cinco columnas son de los 4 cocteles aplicados y el control, cada uno esta subdividido en los días de la evaluación que fueron 4 días y cada día tiene tres repeticiones por tratamiento, en la matriz se encuentra la calificación de cada estudiante según la escala de olores propuesta por ASHRAE.

**ANEXO C: Factura**

**Dr. Falconi Borja**  
**LABORATORIOS**  
Dr. Nat. Science Ing. Carlos Junio Falconi Borja

AUTORIZACIÓN S.R.L. N° 112066740  
FECHA DE AUTORIZACIÓN: 03/Mayo/2017  
OBLIGADO A LLEVAR CONTABILIDAD

**FACTURA**  
COMERCIAL NEGOCIABLE  
R.U.C. 0601299878001

N° 002 - 001      0004285

MATRIZ: PASAJE N-75 B LOTE 3 Y GONZALO CORREA ESCOBAR • TEL.: (593 2) 346 0157 • CEL. (593 9) 99796977

<p>CLIENTE : <b>NOEMI DEL PILAR CANDO TAYUPANDA</b> R.U.C. / C.I. : <b>.1500903925</b> DIRECCIÓN : <b>RIOBAMBA</b> TELÉFONOS : <b>.0999921294</b> Email : <b>LUGAR DE EMISION QUITO</b></p>	<p>FECHA / ORDEN DE INGRESO : <b>06.07.2017</b> FECHA / EMISIÓN : <b>06.07.2017</b> FECHA / VCTO. : <b>06.07.2017</b> CIUDAD / PROV. : <b>06.07.2017</b></p>
---	--

CÓDIGO	PRODUCTO	CANTIDAD	DSCTO.	P.UNITARIO	TOTAL
	CEPAS DE LACTOBACILLUS PLATARUM	1	5%	80,00	80,00
	RHODOPSEUDOMONAS PALUSTRIS	1	5%	120,00	120,00
	STREPTOMYCES ALBUS	1	5%	80,00	80,00
	ASPERGILLUS ORYZAE	1	5%	80,00	80,00

**SON: TRESCIENTOS OCHENTA Y TRES CON 04/100 USD**

<b>FORMA DE PAGO:</b>	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;"><b>SUBTOTAL</b></td> <td style="width: 50%; text-align: right;">360,00</td> </tr> <tr> <td><b>DSCTO.</b></td> <td style="text-align: right;">18,00</td> </tr> <tr> <td><b>COSTOS ENVIO/OTROS</b></td> <td style="text-align: right;">0,00</td> </tr> <tr> <td><b>IVA</b></td> <td style="text-align: right;">41,04</td> </tr> <tr> <td><b>TOTAL A PAGAR USD</b></td> <td style="text-align: right;"><b>383,04</b></td> </tr> </table>	<b>SUBTOTAL</b>	360,00	<b>DSCTO.</b>	18,00	<b>COSTOS ENVIO/OTROS</b>	0,00	<b>IVA</b>	41,04	<b>TOTAL A PAGAR USD</b>	<b>383,04</b>
<b>SUBTOTAL</b>	360,00										
<b>DSCTO.</b>	18,00										
<b>COSTOS ENVIO/OTROS</b>	0,00										
<b>IVA</b>	41,04										
<b>TOTAL A PAGAR USD</b>	<b>383,04</b>										

EFFECTIVO  DINERO ELECTRÓNICO  T. CRÉDITO/DEBITO  CRÉDITO  OTRO

**PAGARE A LA ORDEN**

Debo y pagaré a la orden de **CARLOS JUNIO FALCONI BORJA** la cantidad de **\$383,04 (TRESCIENTOS OCHENTA Y TRES CON 04/100)** Valor que corresponde a la factura que antecede que podrá ser pagadera hasta el plazo máximo de ..... días, a partir de la presente fecha. Vencido este plazo me comprometo a pagar el máximo interés anual vigente, hasta la cancelación de la deuda.

Las partes convienen que en caso de cualquier controversia que derive de este documento, así como en caso de incumplimiento con el pago, se someten a la resolución de un Tribunal de Arbitraje de la Cámara de Comercio de Quito, que se sujetará a lo dispuesto en la Ley de Arbitraje y Mediación; al Reglamento del Centro de Arbitraje y Mediación de la Cámara de Comercio de Quito, las partes renuncian jurisdicción ordinaria, se obligan a acatar el laudo que expida el Tribunal Arbitral y se comprometen a no interponer ningún tipo de recurso en contra del laudo arbitral. El arbitraje será en derecho y el Tribunal estará integrado por un árbitro. El Tribunal arbitral estará facultado para dictar medidas cautelares y solicitar, para la ejecución de dichas medidas, el auxilio de los funcionarios públicos, judiciales, policiales y administrativos, sin necesidad de recurrir a juez ordinario alguno.

Recibo Conforme

**ACEPTO CONFORME**

Nombre: \_\_\_\_\_

C.I. \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

LA MERCADERIA VAJIA POR CUENTA Y RIESGO DEL CLIENTE

**NO SE ACEPTAN DEVOLUCIONES**

Entregue Conforme

Nombre: Carlos Falconi

C.I.: 0601299878001

Fecha: 06 07 2017

**ORIGINAL ADQUIRIENTE**

**Nota:**

Factura de la adquisición de las cepas microbianas

**Elaborado por:**

Noemi Cando, Cristian Gagnay; 2018

**ANEXO D:** Acta de entrega



**ACTA DE ENTREGA – RECEPCION CEPAS**

Quito, 15 de Septiembre del 2017

Yo, **NOEMI DEL PILAR CANDO TAYUPANDA**, Cl. 150090392-5 hago la recepción de:

Microorganismo	Código de colección de laboratorio	Origen, sustrato
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	PSL 40460	Sustratos orgánicos, productos lácteos.
<i>Aspergillus oryzae</i>	PSL 50127	Semilla de arroz
<i>Lactobacillus plantarum</i>	PSL 40215	Probióticos
<i>Streptomyces albus</i>	PSL 40123	Materia orgánica.

El uso de estos microorganismos son objeto de tesis de grado en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), de la Sta. NOEMI DEL PILAR CANDO TAYUPANDA, con la cedula de identidad C.I. 150090392-5. El tema que tratara es: TITULO DE TESIS: FORMULACION DE COCTEL MICROBIANO A PARTIR DE *Lactobacillus plantarum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Streptomyces albus*, *Aspergillus Oryzae*, COMO POSIBLE REDUCTOR DE OLORES GENERADOS POR LA DESCOMPOSICION DE DESECHOS ORGANICOS.

RECIBE:

Noemi Cando

C.I. 150090392-5

ENTREGA

Andrés Cárdenas

**Nota:**

Acta de entrega de las cepas microbianas

**Elaborado por:**

Noemi Cando, Cristian Gagñay; 2018

ANEXO E: Certificación de las cepas



# Plantsphere Laboratories

Quito, 15.9.2017

## CERTIFICADO

Por medio de la presente, certificamos que las cepas descritas abajo:

Microorganismo	Código de colección de laboratorio	Origen, sustrato
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	PSL 40460	Sustratos orgánicos, productos lácteos.
<i>Aspergillus oryzae</i>	PSL 50127	Semilla de arroz
<i>Lactobacillus plantarum</i>	PSL 40215	Probióticos
<i>Streptomyces albus</i>	PSL 40123	Materia orgánica.

El uso de estos microorganismos son objeto de tesis de grado en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), de la Sta. NOEMI DEL PILAR CANDO TAYUPANDA, con la cedula de identidad C.I. 150090392-5. El tema que tratara es: TITULO DE TESIS: FORMULACION DE COCTEL MICROBIANO A PARTIR DE *Lactobacillus plantarum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Streptomyces Albus*, *Aspergillus Oryzae*, COMO POSIBLE REDUCTOR DE OLORES GENERADOS POR LA DESCOMPOSICION DE DESECHOS ORGANICOS.

  
Dr. Carlos Falconi Borja PhD.  
BIONIKA-LABORATORIOS  
0999796977-0988087239-6023531  
www.bdki.eu



**Nota:**

Certificación de las cepas microbianas adquiridas en el  
Laboratories Plantsphere

**Elaborado por:**

Noemi Cando, Cristian Gagñay; 2018

**ANEXO F: Procedimiento**



**ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**



**PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR EL OLOR GENERADO POR LA MATERIA  
ORGÁNICA, UTILIZANDO EL OLFATO**

1. Si se encuentra cansado/a o agitado/a, esperar unos minutos para realizar la evaluación.
2. En el caso de presentar gripe o algún malestar de nariz no podrá realizar la evaluación.
3. Leer y entender la técnica propuesta por la American Society of Heating, Refrigerating and Air Conditioning Engineers (ASHRAE) que permite evaluar el olor. Se encuentra en la hoja de calificación.
4. Primero se le pasara los tachos con materia orgánica de control, seguidos de los tachos en los que se aplicaron el coctel 1, coctel 2, coctel 3 y posteriormente del coctel 4. De cada uno son tres repeticiones.
5. Levantar la tapa del tacho, acercarse al tacho y percibir el olor que genera la materia orgánica.
6. Colocar la calificación que usted crea pertinente según lo percibido, tomando en cuenta el código escrito en el tacho y la hoja de calificación.
7. Esperar unos segundos, percibir el aire fresco del ambiente y los granos de café que se les proporcionará, esto se realiza después de cada evaluación que realice.
8. Proceder a percibir el siguiente tacho con materia orgánica.
9. En el caso que no esté seguro de la calificación, proceder a percibir nuevamente, para evitar datos erróneos.
10. Una vez que termine de percibir el olor que genera la descomposición de la materia orgánica que se encuentran en los tachos, firmar al final de la columna.

**NOTA**

- Ante cualquier inquietud, pregunte a los encargados.
- Evite colocarse demasiado perfume, para que no interfiera en el proceso de la evaluación.
- Tome el tiempo que crea necesario para realizar la evaluación.

<b>Nota:</b>	<b>Elaborado por:</b>
Procedimiento para la evaluación de los resultados	Noemi Cando, Cristian Gagnay; 2018




Lugar y Fecha:

Tesistas responsables:

Noemi Cando

Cristian Gagñay

<b>Nota:</b>	<b>Elaborado por:</b>
Hoja para la calificación en la evaluación de los resultados.	Noemi Cando, Cristian Gagñay; 2018

## ANEXO H: Preparación del coctel microbiano

a)



b)



c)



**Nota:**

- a) Dilución de la melaza en agua destilada
- b) Adición de los inóculos microbianos al coctel
- c) Coctel microbiano incubado por 24 horas

**Elaborado por:**

Noemi Cando, Cristian Gagnay; 2018

**ANEXO I: Preparación de los residuos orgánicos**

<p>a)</p> 	<p>b)</p> 	<p>c)</p> 
<p><b>Nota:</b></p>	<p><b>Elaborado por:</b></p>	
<p>a) Mezcla de los residuos orgánicos b) Pesaje de los residuos orgánicos c) Tachos con residuos orgánicos</p>	<p>Noemi Cando, Cristian Gagnay; 2018</p>	

**ANEXO J:** Evaluación de la posible reducción de olores generado por la descomposición de la materia orgánica

a) 	b) 	c) 
<b>Nota:</b>	<b>Elaborado por:</b>	
a) Lectura del procedimiento para la evaluación. b) Evaluación de la posible reducción de olor generado por la descomposición de los residuos orgánicos. c) Residuos orgánicos después de acabar con la evaluación.	Noemi Cando, Cristian Gagñay; 2018	