



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA
APLICADO A MICROORGANISMOS EFICIENTES AUTÓCTONOS
(EMAs) PARA EL TRATAMIENTO DE RESIDUOS ORGÁNICOS PARA
EL GAD DEL CANTÓN LA CONCORDIA”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

AUTOR: NELSON LUIS MECÍAS HERRERA

TUTOR: Ph.D. ROBERT CAZAR

RIOBAMBA–ECUADOR

2015

CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL

El Tribunal de Trabajo de titulación certifica que: El trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA APLICADO A MICROORGANISMOS EFICIENTES AUTÓCTONOS (EMAs) PARA EL TRATAMIENTO DE RESIDUOS ORGÁNICOS PARA EL GAD DEL CANTÓN LA CONCORDIA”**, de responsabilidad del señor egresado Nelson Luis Mecías Herrera, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal, quedando autorizada su presentación

NOMBRE

FIRMA

FECHA

Ph.D. Robert Cazar

DIRECTOR DE TRABAJO DE
TITULACIÓN

Ing. Paola Chiluiza

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Yo, Nelson Luis Mecías Herrera, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo de titulación, y el patrimonio intelectual del trabajo de titulación, pertenece al GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO MUNICIPAL DEL CANTÓN LA CONCORDIA Y ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

Nelson Luis Mecías Herrera

C.I 172612715-0

DEDICATORIA

A mis amados padres, quienes han sido la mayor bendición en mi vida, mis amigos incondicionales, quienes me han guiado y cuidado a lo largo de toda mi vida.

A mi hermana, familiares y amigos que siempre han estado pendientes de mí sin importar la distancia, son una motivación, inspiración y felicidad.

"Alma mía, alaba al SEÑOR; que todo mi ser alabe su santo nombre" Salmos 103:1

Nelson Mecías

AGRADECIMIENTO

En primer lugar agradezco a Dios por sus bendiciones y el amor tan grande que me ha demostrado, por llenar de dichas mi vida y fortalecerme en los momentos difíciles que me permitieron llegar hasta esta tan anhelada meta.

A mis padres Wilmer y Elizabeth, quienes siempre me apoyaron y me guiaron en mi formación, por la confianza depositada en mí y sus valiosos consejos.

A mi Director de Tesis Ph.D. Robert Cazar, a mi colaboradora Ing. Paola Chiluiza, a la Ing. Katherine Quiroz, a Carlo Bertolini quienes contribuyeron con sus valiosos conocimientos y apoyo para la ejecución de la presente investigación. Al personal del laboratorio de Electrotecnia y del Laboratorio de Ciencias biológicas.

A mis amigos y colegas, quienes me brindaron su apoyo incondicional y compartieron momentos únicos en todo momento.

A todos ustedes mi más profundo agradecimiento.

Nelson Mecías Herrera

CONTENIDO

RESUMEN	x
SUMMARY	xi
INTRODUCCIÓN	1
1 MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	4
1.1 Antecedentes de investigación	4
1.2 Bases Teóricas	5
1.2.1 <i>Concepto de tecnologías a base de EMAs.</i>	5
1.2.2 <i>Compostaje</i>	5
1.2.3 <i>Microorganismos y biotransformación de la materia orgánica.</i>	6
1.2.4 <i>Ecología Microbiana del proceso de compostaje</i>	8
1.2.5 <i>Identificación Microbiana</i>	14
1.2.6 <i>Estimulación magnética</i>	21
1.2.7 <i>Calidad del compost</i>	28
2 MARCO METODOLÓGICO	32
2.1 Materiales y métodos	32
2.1.1 <i>Tipo y Diseño de Investigación</i>	32
2.1.2 <i>Unidad de Análisis</i>	32
2.1.3 <i>Población de Estudio</i>	33
2.1.4 <i>Tamaño de Muestra</i>	33
2.1.5 <i>Selección de muestra</i>	33
2.1.6 <i>Análisis e Interpretación de la Información</i>	34
2.2 Captura de microorganismos	36
2.2.1 <i>Selección del área de captura</i>	36
2.2.2 <i>Materiales</i>	36
2.2.3 <i>Procedimiento</i>	37
2.3 Detección y aislamiento de bacterias	37
2.3.1 <i>Preenriquecimiento</i>	37
2.3.2 <i>Preparación del medio diluyente</i>	37

2.3.3	<i>Siembra</i>	38
2.4	Caracterización de colonias microbianas	39
2.4.1	<i>Caracterización morfológica</i>	39
2.4.2	<i>Tinción Gram</i>	40
2.5	Análisis de bioquímico de los aislados bacterianos	40
2.5.1	<i>Prueba de la Catalasa</i>	40
2.5.2	<i>Prueba óxido fermentativa</i>	41
2.5.3	<i>Pruebas bioquímicas kit Microgen GN-ID(A+B)</i>	41
2.6	Estimulación Magnética	43
2.7	Fase de Campo	44
2.7.1	<i>Aplicación de los EMAs estimulados magnéticamente</i>	44
2.7.2	<i>Monitoreo durante el compostaje</i>	44
2.8	Calidad del compost	48
2.8.1	<i>Verificación física del proceso</i>	48
2.8.2	<i>Cromatografía de Pfeiffer</i>	48
2.8.3	<i>Análisis fisicoquímicos</i>	49
3	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	50
3.1	Caracterización microbiana	50
3.1.1	<i>Caracterización morfológica bacteriana</i>	50
3.1.2	<i>Tinción Gram</i>	52
3.1.3	<i>Análisis de pruebas bioquímicas</i>	53
3.1.4	<i>Otras especies microbianas identificadas</i>	56
3.2	Estimulación magnética	57
3.3	Tiempo de degradación	57
3.4	Viabilidad técnica y económica	67
	CONCLUSIONES	71
	RECOMENDACIONES	72
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2	Control de la Temperatura	45
Tabla 2-2	Control de la aireación.....	46
Tabla 3-2	Control del tamaño de partícula.....	46
Tabla 4-2	Control de la humedad.....	47
Tabla 5-2	Control del pH	47
Tabla 1-3	Caracterización preliminar de las cepas bacterianas aisladas.....	52
Tabla 2-3	Resultados de la prueba de catalasa.....	53
Tabla 3-3	Resultados de la prueba oxido- fermentativa.....	54
Tabla 4-3	Resultados del kit MicrogenGN-ID(A+B)	54
Tabla 5-3	Características de los microorganismos aislados.....	55
Tabla 6-3	Características de los microorganismos aislados.....	56
Tabla 7-3	Medias de pH durante los 90 días del proceso.....	60
Tabla 8-3	ANOVA seguimiento del pH durante los 90 días del proceso	61
Tabla 9-3	Medias de C:N durante los 90 días del proceso.....	61
Tabla 10-3	ANOVA seguimiento del C:N durante los 90 días del proceso.....	62
Tabla 11-3	Peso del tamizado durante los 90 días del proceso	63
Tabla 12-3	ANOVA seguimiento del peso del tamizado durante los 90 días del proceso.....	64
Tabla 13-3	Resultados de los parámetros fisicoquímicos iniciales en las tres pilas.....	66
Tabla 14-3	Resultados de los parámetros fisicoquímicos finales en las tres pilas.....	67
Tabla 15-3	Modelo de negocio.....	68
Tabla 16-3	Costos de insumos, materiales y gestión técnica	69

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1-1 Esquema general del proceso de compostaje	5
Figura 2-1 Hongo indicador de la fase mesófila II	10
Figura 3-1 Temperatura, oxígeno y pH en el proceso de compostaje.....	10
Figura 4-1 Dimensiones de una pila de compostaje para pequeño agricultor.....	12
Figura 5-1 Diferenciación de paredes celulares de bacterias Gram (+) y Gram (-)	17
Figura 6-1 Procedimiento para la tinción Gram.....	18
Figura 7-1 Comparación técnica entre las marcas de kit bioquímicos.....	19
Figura 8-1 Referencia de los substratos del kit Microgen™ GN-ID Identificación	20
Figura 9-1 Patrones de campo magnético.	22
Figura 10-1 (a) Líneas de flujo magnético (b) Campo magnético en pieza de fibra.....	23
Figura 11-1 a) Líneas de campo magnético para un solenoide. b) Patrón para un imán.	24
Figura 12-1 Vista de sección transversal de un solenoide ideal.....	26
Figura 13-1 Fenómenos biomagnéticos de acuerdo a su intensidad y frecuencia.	27
Figura 14-1 Nanopartículas magnéticas dentro de una bacteria aparecen como puntos negros.	28
Figura 15-1 Población microbiana y revelado de cromas en una pila de compostaje.	30
Figura 1-2 Fotografía aérea de la ubicación del sitio de experimentación.....	35
Figura 2-2 Ubicación de las trampas para EMAs	36
Figura 3-2 Distribución del medio diluyente y recuento inicial de microorganismos.....	38
Figura 4-2 Guía rápida del uso del kit MicrogenGN-ID(A+B) para identificación de bacterias.....	42
Figura 5-2 Prototipo de estimulación electromagnética.....	43
Figura 6-2 Rango ideal de los parámetros en el proceso de compostaje.....	45
Figura 1-3 Porcentaje de colores de las colonias bacterianas aisladas.....	50
Figura 2-3 Porcentaje de forma de las colonias bacterianas aisladas.....	51
Figura 3-3 Porcentaje de borde de las colonias bacterianas aisladas.	51
Figura 4-3 Porcentaje de relieve de las colonias bacterianas aisladas.	52
Figura 5-3 Conteo de microorganismos en las pilas de compost.....	57
Figura 6-3 Evolución de las cromas de Pfeiffer en la pila 1 (testigo).....	58
Figura 7-3 Evolución de las cromas de Pfeiffer en la pila 2.	58
Figura 8-3 Evolución de las cromas de Pfeiffer en la pila 3.	59
Figura 9-3 Monitoreo de temperatura en las pilas de compost.	60

Figura 10-3 Cantidad de residuos orgánicos degradados.....	63
Figura 11-3 Test de contraste entre los tres tratamientos.....	64
Figura 12-3 Gráfico de medias entre los tres tratamientos.	65
Figura 13 -3. Proyección de ingresos a 5 años.....	70

RESUMEN

Se evaluó la actividad de Microorganismos Eficientes Autóctonos (EMAs) estimulados magnéticamente en el proceso de compostaje de residuos orgánicos del cantón La Concordia a fin de acelerar su tiempo de obtención. Se caracterizó potenciales microorganismos degradadores de materia orgánica, para ello se realizó capturas en zonas locales de gran cobertura vegetal mediante trampas de arroz. Los microorganismos aquí impregnados fueron suspendidos en un medio basal de pre-enriquecimiento hasta conseguir cultivos microbianos puros empleando los medios de cultivo diferenciales: MacConkey, agar Trypticase de soya y agar Sabouraud con cloranfenicol. Se realizaron pruebas estandarizadas de identificación morfológica y bioquímica (MicrogenTM GN-ID). Los consorcios microbianos aislados fueron estimulados magnéticamente a 0,98 mT por el lapso de una hora con la ayuda de un solenoide. Se elaboró tres pilas de 375 kg de residuos, una pila con microorganismos estimulados magnéticamente, otra con microorganismos sin estimulación y una testigo. Fueron inoculados por aspersión a una concentración de 3×10^7 UFC/mL durante los días 10, 20 y 30. Se analizó el efecto en la eficiencia de degradación en el tratamiento de residuos sólidos orgánicos. Se realizó pruebas físicoquímicas de control de nutrientes, monitoreo de parámetros físicos y ambientales, además crecimiento microbiano y biología de la rizósfera mediante la cromatografía de Pfeiffer. Los resultados muestran que el sistema de estimulación magnética logró reducir el tiempo de degradación de los residuos orgánicos en un 50% brindando las condiciones nutricionales ideales e inocuidad sanitaria para su aplicación como enmienda de suelos, así mismo su rentabilidad técnica y económica, producen un gran ahorro al Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del Cantón La Concordia. De la investigación realizada se concluye que el sistema fue eficaz en cuanto al incremento de la actividad degradadora de los EMAs, acelerando el proceso de compostaje en residuos orgánicos.

Palabras Claves:

<SISTEMA DE ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA> <MICROORGANISMOS EFICIENTES AUTÓCTONOS> <RESIDUOS ORGÁNICOS> <COMPOSTAJE> <DESCOMPOSICIÓN MICROBIANA> <CARACTERIZACIÓN MICROBIANA>

SUMMARY

Effective Microorganism Autochthonous (EMAs) activity, magnetically stimulates in the process of composting organic waste, La Concordia canton to accelerate its turnaround time was evaluated. Potential degraders of organic matter were characterized. It was made catches in local areas of high vegetation cover through trapping rice. Here impregnated microorganisms were suspended in a basal medium until pre-enrichment employing pure microbial cultures differential culture media: MacConkey , soy agar Tripticasa, Sabouraud agar with chloramphenicol. Standardized tests of morphological and biochemical identification (Microgen TM GN-ID) were performed. The isolated microbial consortia were stimulated magnetically to 0.98 mT for a period of one hour with the help of a solenoid. Three stacks of 375 kg of waste a pile with microorganism stimulated magnetically others microorganisms without stimulation and a control was developed. They were inoculated by spraying at a concentration of 3×10^7 CFU/ml on days 10, 20 and 30. The effect on degradation efficiency of treatment of organic solid waste was analyzed. Physicochemical tests of nutrient control, monitoring physical and environmental parameters in addition microbial growth and biology of the rhizosphere by Pfeiffer chromatography was performed. The results show that the magnetic stimulation systems has reduced the time taken for degradation of organic waste by 50% provided nutrition and health safety conditions ideal for use as a soil amendment, also technical and economic profitability. They produce large Saving the Decentralized Autonomous Municipal Government of La Concordia Canton. From research conducted it concludes that the system was effective in terms of increasing the degrading activity of the EMAs, accelerating the process of composting organic waste.

Keywords:

<MAGNETIC STIMULATION SYSTEM> <EFFICIENT MICROORGANISMS AUTOCHTHONOUS> <ORGANIC WASTE> <COMPOSTING> <MICROBIAL DECOMPOSITION> <MICROBIAL CHARACTERIZATION>

INTRODUCCIÓN

Situación Problemática

El cantón La Concordia está ubicado al noroeste del país y pertenece a la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, posee aproximadamente 42.924 habitantes según censo de población y vivienda INEC 2010. Una densidad poblacional de 132,71 habitantes /km²

La falta de tratamientos de aprovechamiento de la creciente producción de desechos de carácter orgánico en el que actualmente se halla en torno 16 toneladas/día constituye un grave problema debido a los altos costos de disposición en el relleno sanitario y posible colapso, a ello se suman factores como su clima subtropical con estaciones marcadas secas y lluviosas, donde se registra una temperatura media anual entre 21°C-24°C. Los datos obtenidos en el 2010 reportan que cuenta con una humedad relativa máxima de 91%; una mínima de 64,9%; y una media de 88%.

Este cantón registra una precipitación media anual de 3.150 mm, con un promedio mensual de 234,28 mm, siendo ésta una de las zonas con mayor pluviosidad del país. Presenta una evaporación promedio anual de 1.443 mm y una luminosidad de 1050 horas anuales de sol.

Todo ello intensifica la cantidad de lixiviados, lo que podría constituir un foco de contaminación a los múltiples recursos hídricos del sector ya que actualmente no se cuenta con un correcto tratamiento de los mismos.

Formulación del Problema

La contaminación en el Cantón La Concordia se debe a la creciente producción de desechos, condiciones climáticas contraproducentes, deficiente educación ambiental, falta de técnicas de aprovechamiento de residuos orgánicos y utilización limitada de las celdas emergentes actuales. Con la presente investigación sobre la aplicación de campos magnéticos en EMAs se busca un tratamiento técnico de los residuos orgánicos.

Con ello se pretende dilucidar las siguientes dudas:

¿Qué tiempo tomará el proceso de compostaje con la aplicación de EMAs estimulados magnéticamente?

¿Cuál será la calidad del compost y qué beneficios conllevará?

Justificación

En vista de que la gran cantidad de desechos orgánicos generados en el Cantón La Concordia supone excesivos gastos para el GADMLC y que además podría constituir un gran foco de contaminación especialmente a los recursos hídrico, es urgente implementar técnicas biotecnológicas para el aprovechamiento de los mismos, la presente investigación buscar analizar la factibilidad del empleo de Microorganismos Eficientes Autónomos (EMAs) estimulados magnéticamente para acelerar la producción de abono en las instalaciones de la Estación de Transferencia “La Concordia” que es financiada por la Unión Europea, normalmente la descomposición de los desechos tarda varios meses, con la aplicación de EMAs estimulados se prevé un periodo de 8 a 12 semanas brindando rentabilidad, con el producto final en forma de abono se beneficiará a los agricultores de la zona, áreas verdes del Cantón y a la comunidad en general.

En el presente trabajo se probó el tiempo de degradación orgánica de un inoculante estimulado magnéticamente, otro sin estimulación y un testigo, el mencionado inoculante se obtuvo de un cultivo formado por una mezcla de microorganismos endógenos capturados en pilas de compostaje, lo que garantiza una mejor adaptación a esas condiciones.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la actividad de Microorganismos Eficientes Autóctonos (EMAs) estimulados magnéticamente en el proceso de compostaje con el fin de acelerar su tiempo de obtención.

Objetivos específicos

- Caracterizar microorganismos del Cantón La Concordia con posible capacidad de degradación de desechos orgánicos.
- Comprobar la mejor eficiencia en función del nivel de campo magnético conforme parámetros y rangos apropiados para un correcto desarrollo del proceso de compostaje.
- Demostrar la reducción del tiempo de compostaje con el empleo de EMAs estimulados magnéticamente.
- Determinar la viabilidad técnica y económica del proyecto a fin de implementar el proceso en la Estación de Transferencia La Concordia.

CAPITULO 1: MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1 Antecedentes de investigación

El empleo de tecnologías basadas en microorganismos eficientes (EM) surgió gracias al Dr. Teruo Higas de la universidad de Ryukus de Okinawa, Japón, quien descubrió un efecto potenciador al mezclar varios microorganismos, entre los que citamos: bacterias fototrópicas, bacterias lácticas, levaduras y hongos fermentadores. (Higa & Parr, 1994, para.6).

De igual manera investigadoras de la Universidad de Santander, lograron acelerar el proceso de compostaje de residuos post-cosecha (pulpa) del café de 150 días a tan solo 40 días esto gracias a la aplicación de microorganismos nativos. El proceso además cumplió con lineamientos contemplados en la Norma Técnica Colombiana (NTC 5167-2004) “Productos para la industria agrícola. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas de suelo” (Vásquez, et al. 2010. pp. 1-8).

El empleo de EM también resulta rentable, por ejemplo en el proyecto de estudiantes de la ESPOL sobre la elaboración de bioproductos con microorganismos para el control de las enfermedades de las plantas, se reportó una tasa de retorno del 23,98%, la misma que es mayor a la tasa del costo de capital que es de 10,80%. (Minchala & Moreira, 2007 , pp.20-155)

También científicos colombianos de la Universidad del Valle diseñaron un equipo de estimulación con campo electromagnético a microorganismos benéficos donde con la exposición de 1 hora de los microorganismos al campo electromagnético de 250 Hz en frecuencia, y 15 mT de magnitud, lograron acelerar el proceso natural de descomposición orgánica en un 49,1% de la cachaza fresca. (Zúñiga, et. al., 2011, pp.1-9)

1.2 Bases Teóricas

1.2.1 Concepto de tecnologías a base de EMAs.

Es una tecnología que promueve el empleo de microorganismos eficientes autóctonos (EMAs) para el bienestar de los seres humanos, animales y medio ambiente.

Según investigaciones la inoculación de cultivos de EMAs ayuda al proceso de descomposición de materiales orgánicos y durante el proceso de fermentación que lleva a cabo produce ácidos orgánicos, sustancias bioactivas y vitaminas que por lo general no están disponibles en suelos.

Dichos microorganismos actúan en simbiosis y la efectividad en su uso depende de condiciones óptimas para metabolizar sustratos, disponibilidad de agua y oxígeno, pH, temperatura y disponibilidad de fuentes energéticas. (Terry, et. al. 2005, p.48)

1.2.2 Compostaje

El compostaje en términos sencillos es un calentamiento espontáneo, proceso aeróbico biodegradativo sobre la fase sólida de los materiales orgánicos en condiciones controladas, que la distingue de descomposición natural o putrefacción.

Desde un punto de vista etimológico, lat. Compostaje, es una mezcla de sustratos que se biodegrada por una comunidad microbiana mixta. (Ryckeboer et al., 2003, p. 349) en la Figura 1-1 se muestra el proceso de esquema general del proceso de compostaje.

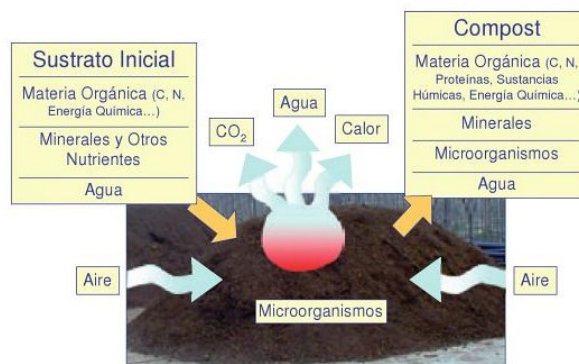
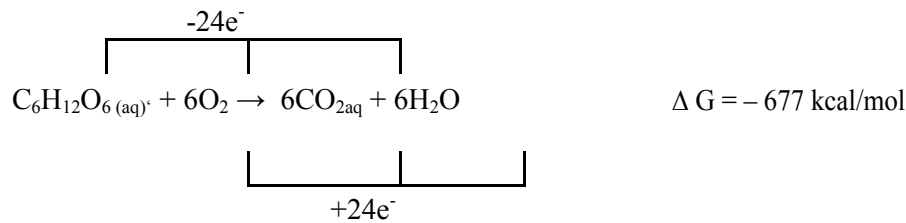


Figura 1-1 Esquema general del proceso de compostaje

Fuente: (Moreno & Mormeneo, 2007)

1.2.3. Microorganismos y biotransformación de la materia orgánica.

Durante el proceso de compostaje en presencia de oxígeno los microorganismos quimioheterótrofos toman de los sustratos orgánicos su fuente de carbono y energía a través de distintas rutas metabólicas que convergen en el ciclo de Krebs, donde se obtiene energía en forma de ATP, es por ello que se produce el llamado "calentamiento espontáneo" que se debe a la liberación de calor del metabolismo microbiano:



Ecuación 1-1 Reacción metabólica microbiana que se lleva a cabo durante el compostaje.

Fuente: (Ryckeboer et al., 2003).

Dicho calentamiento durante un proceso de compostaje se determina por el contenido de degradabilidad y la energía de los sustratos, la disponibilidad de la humedad y el oxígeno, y el modo de conservación de energía ya sea como aislamiento o debido a pérdidas convectivas.

(Ryckeboer et al., 2003, p. 350).

Dentro de la comunidad mixta microbiana conocida como Microorganismos Eficientes Autóctonos (EMAs) tenemos:

1.2.3.1. Bacterias acidolácticas

Son bacterias que producen ácido láctico partiendo de sustratos como azúcares y otros carbohidratos desarrollados por las bacterias fotosintéticas y levaduras que han actuado sobre residuos orgánicos en este caso, hay que tener en cuenta que el ácido láctico funciona como agente esterilizante fuerte sobre microorganismos no benéficos y lo que sin duda contribuye a la degradación de componentes como la lignina y la celulosa evitando efectos indeseables propios de

la materia orgánica sin el grado idóneo de descomposición. Bacterias como *Lactobacillus lactis* y *L. citreum*, parecen ser las responsables de la producción de compuestos sulfurados, hidrocarburos (metano e isoterpeno) y alcoholes. (Moreno & Mormeneo, 2007, p. 117).

1.2.3.2. Bacterias fotosintéticas

Son un grupo de microorganismos autosuficientes, sintetizan sustancias ventajosas como sustancias bioactivas, aminoácidos y azúcares tomando como punto de partida el empleo de la materia orgánica y gases perjudiciales, utilizando la luz solar y el calor del suelo como fuente de energía.

Los metabolitos generados por estas cepas microbianas son absorbidos de forma directa por vegetales y potencian el desarrollo de otros microorganismos benéficos. Así tenemos por ejemplo que en la zona de la rizósfera, las micorrizas de tipo vesicular arbuscular (VA) aumentan la solubilidad de componentes como fosfatos presentes en el suelo, por ende facilitan la asimilación de fósforo que no se encontraban disponibles para las plantas. (Higa, 1993, pp. 1-3)

1.2.3.3. Hongos fermentadores y levaduras

Investigaciones sobre la descomposición de la celulosa revelan que los colonizadores son hongos como *Rhizoctonia solani*, *Humicola spp.*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* y *Aspergillus* (Arévalo, 2002, p.52). En el proceso de compostaje los hongos emiten principalmente 1-octen-3-ol, metilfurano y dimetildisulfuro (Börjesson., 1992, pp. 2599-2605).

Las levaduras son microorganismos unicelulares con estructura intermedia entre bacterias y hongos, levaduras como *Saccharomyces spp* sintetizan sustancias antimicrobiales y otras sustancias útiles como hormonas, enzimas y vitamina muy necesarias para el desarrollo vegetal, ello a partir de aminoácidos y azúcares producidos por las bacterias fotosintéticas, material orgánico y exudados radiculares. (Higa, 1993, p.199).

1.2.3.4. Otros géneros

Las pectinas, estas son metabolizadas por bacterias anaeróbicas como *Clostridium*; las sustancias a base de proteína y almidón son asimilados por bacterias del género *Bacillus*; la hemicelulosa por actinomicetos como *Streptomyces griseus*, *S. Aureofaciens*, *S. Antibioticus*, *S. Roseochromogenus*, *Nocardia rugosa* (Bonilla, 1996, p.73)

1.2.4. Ecología Microbiana del proceso de compostaje

El proceso del compostaje depende de la ecología microbiana debido a las interrelaciones entre los microorganismos presentes en el proceso y su entorno tanto biótico (nutricionales y ambientales) como abiótico (competencia, capacidad de supervivencia).

1.2.4.1. Factores Abióticos

1.2.4.1.1. Temperatura

La variabilidad térmica a nivel geográfico, estacional o por intervención humana ha sido determinante de la diversidad de especies microbianas a nivel mundial, por lo que cada zona posee especies únicas.

La temperatura es uno de los factores ambientales más influyentes en el crecimiento microbiano, ésta afecta a su desarrollo de varias formas, como por ejemplo: al incrementar la temperatura las reacciones enzimáticas se producen más rápido por ende aumenta el desarrollo microbiano, pero cabe indicar que al sobrepasar ciertos rangos de temperatura se presentan daños en proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes celulares, paralizando sus funciones celulares, por lo que cada especie microbiana posee un rango máximo y mínimo de temperatura para subsistir. (Madigan, Martinko & Parker, 2003, p. 151).

Las temperaturas óptimas del proceso del compost oscilan entre 45 a 59 °C, se frena el crecimiento microbiano y descomposición de materia orgánica a temperaturas menores de 20°C, en cambio a temperaturas mayores de 59°C se inhibe el desarrollo de la mayoría de microorganismos.

Según lo menciona el Manual de Compostaje del Agricultor Experiencias en América Latina de la FAO, el proceso de compostaje de la materia orgánica tiene su comienzo a temperatura ambiente la misma que con el paso del tiempo y de la actividad microbiana llega a alcanzar los 65°C, para luego retomar la temperatura ambiente en la fase de maduración. Tenemos las siguientes fases de acuerdo a la temperatura:

1. Fase Mesófila:

En ésta el material orgánico de partida inicia el proceso de compostaje a temperatura ambiente, al cabo de unos días y a veces horas se logra incrementar hasta los 45°C, este aumento se debe a que los microorganismos presentes en el proceso utilizan las fuentes sencillas de C y N generando calor, aquí también se produce la descomposición de azúcares lo que produce ácidos orgánicos, llegando a producir bajas de pH (hasta cerca de 4.0 o 4.5). La duración de esta fase está en torno a los dos y ocho días.

2. Fase Termófila o de Higienización.

Al alcanzar temperaturas mayores a 45°C se produce el reemplazo de microorganismos mesófilos por microorganismos termófilos como bacterias, actinomicetos, y algunos hongos favorecen el proceso degradador de los materiales más complejas con alto contenido de celulosa y lignina, en este proceso el pH del medio se incrementa debido a que dichos microorganismos transforman el nitrógeno en amoníaco. Otro hecho importante de esta fase es que debido al calor generado elimina bacterias patógenas como: *Escherichia coli* y *Salmonella spp*, así también a 55°C se logra la supresión de agentes patógenos como helmintos, esporas y semillas de malezas, permitiendo la obtención de un producto desinfectado. El periodo de duración de esta fase va desde unos días hasta algunos meses, ello dependiendo del material orgánico de partida, condiciones climáticas y otros factores. (Román, Martínez & Pantoja, 2013, pp. 23-28)

3. Fase de Enfriamiento o Mesófila II.

Una vez consumidas principalmente la fuente de nitrógeno y de carbono, la temperatura vuelve a los 40-45°C, es aquí donde se produce la desintegración de polímeros tales como la celulosa, aquí

se visualizan ciertos hongos como los que se muestran en la (Figura 2-1). Los microorganismos mesófilos reinician su actividad al alcanzar aproximadamente 40 °C, el pH del medio desciende levemente pero por lo general permanece alcalino. Es típico que esta fase dure varias semanas y se suele confundir con la fase de maduración.



Figura 2-1 Hongo indicador de la fase mesófila II
Fuente: (Martínez, CATA-USM, 2013)

4. Fase de Maduración.

Esta última fase comprende meses a temperatura ambiente, aquí suelen producirse reacciones de condensación y polimerización de los compuestos carbonados resultantes que conllevan al establecimiento de sustancias como ácidos húmicos y fúlvicos.

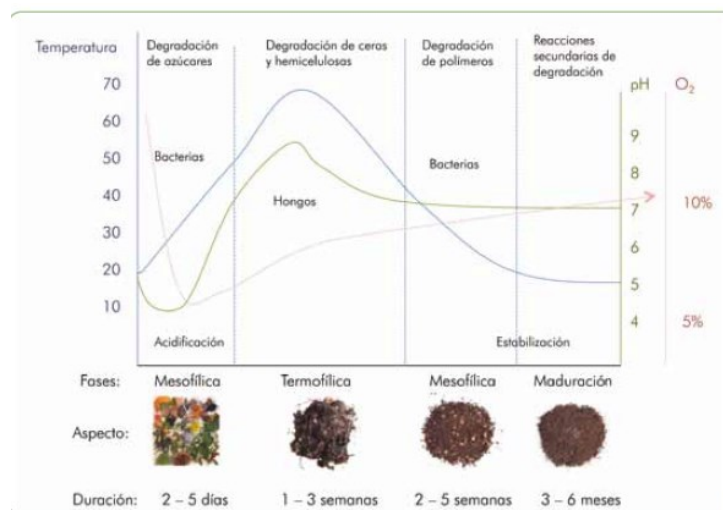


Figura 3-1 Temperatura, oxígeno y pH en el proceso de compostaje
Fuente: (Román, FAO, 2013)

1.2.4.1.2. Oxígeno

El compostaje al ser un proceso aerobio debe procurar niveles de aireación adecuados con la finalidad de permitir la respiración de los microorganismos presentes en el proceso, que a la vez liberan dióxido de carbono (CO₂) a la atmosfera. Además con ello se evita que el material orgánico se compacte o se encharque. Se tiene que las necesidades de oxígeno varían durante el proceso, siendo así la fase termofílica en la que mayor tasa de consumo se requiere. (Román, Martínez & Pantoja, 2013, pp. 25-26)

1.2.4.1.3. Tamaño de partícula

Es otro factor importante que influye sobre la actividad microbiana, ya que involucra la facilidad de acceso del sustrato, es por ello que debe tenerse considerarse que al tener partículas pequeñas se tendrá mayor área superficial específica que facilitaría el acceso al sustrato, el tamaño ideal para empezar el proceso de compostaje se encuentra entre 5 a 20 cm, así mismo este factor tiene estrecha relación con la densidad del material, aireación y retención de humedad en la pila. (Román, Martínez & Pantoja, 2013, pp. 30-31)

De la densidad de la materia orgánica parte otro punto clave como es el tamaño de la pila de compostaje, por lo general se tiene que la densidad de los residuos orgánicos de una ciudad se hallan en torno a 150 -250 kg/m³ y conforme avanza el proceso se llega a obtener una densidad mayor de alrededor de 600-700 kg/m³. Dados estos datos se recomienda dimensiones de pilas de compostaje que faciliten obtener condiciones adecuadas, por ende es aconsejable apilar residuos orgánicos a alturas comprendidas entre 1,5 y 2 metros a fin de favorecer el volteo, ancho de entre 1,5 y 3 metros. En cuanto a la longitud de la pila esta dependerá del área y del manejo. (Figura 4-1).

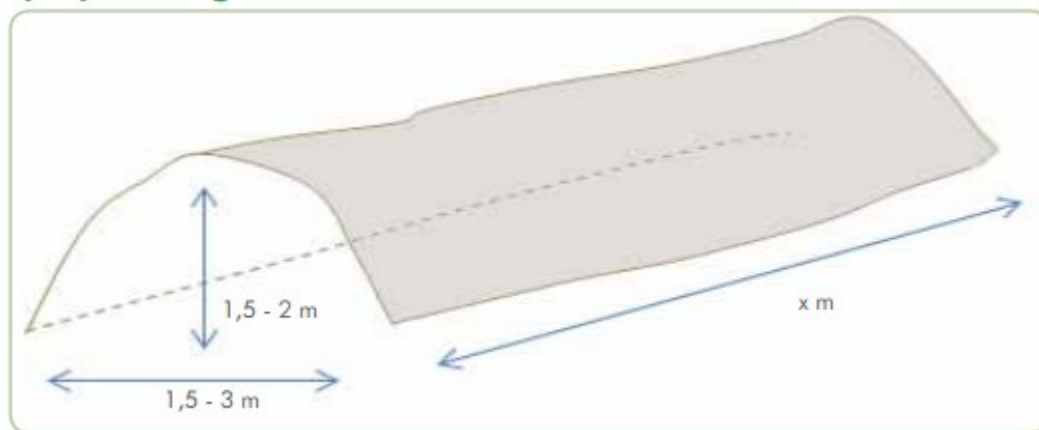


Figura 4-1 Dimensiones de una pila de compostaje para pequeño agricultor
Fuente: (Román, FAO, 2013)

1.2.4.1.4. Humedad

Este parámetro es de suma importancia ya que la presencia de agua es indispensable para cubrir las necesidades fisiológicas de los microorganismos, ya que constituye el medio de transporte de sustancias solubles que sirven de nutrientes para la microbiota y de los productos de desecho que se formaron durante el proceso. (Moreno & Mormeneo, 2007, pp. 96-97)

La importancia de la humedad radica según los estudios de Shulze (1962) en que pequeñas variaciones de humedad provocan grandes cambios de temperatura, ello tras un estudio de la variación de la cantidad de oxígeno consumido en el proceso de compostaje en un reactor cerrado. (Shulze, 1962, pp. 108-122).

El rango ideal de humedad se sitúa en torno al 55%, aunque esta varía de acuerdo al estado físico y tamaño de las partículas, se tiene que por debajo de 45% disminuye la actividad microbiana, alterando las fases de degradación generando productos inestables, por otro lado al exceder el 60% los poros del material se satura e impide la oxigenación del mismo.

1.2.4.1.5. pH

El pH varía a lo largo del proceso de compostaje y depende de los materiales de origen los rangos comunes comprende desde 4,5 hasta 8,5. Al inicio se cuenta con niveles de pH ácidos ello a causa de la formación de ácidos, en la fase termófila el pH se alcaliniza a causa de la transformación de amonio a amoníaco y finalmente se estabiliza en valores próximos al neutro.

Este parámetro es vital para el crecimiento y multiplicación de los microorganismos, cabe indicar que cada grupo microbiano tolera un rango de pH específico, se tiene que la mayor actividad microbiana se presenta al rango de pH entre 6 a 7,5, mientras que para la actividad fúngica a 5,5 a 8. Por lo que a nivel de todo el sistema se recomienda pH 5,8 a 7,2.

1.2.4.2. Factores bióticos

1.2.4.2.1. Capacidad metabólica de los microorganismos

Durante el proceso de compostaje la degradación efectuada por especies como: *Moraxella spp*, *Klebsiella ozaenae*, *Actinobacillus spp*, *Acinetobacter lwoffii*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Shewanella putrefaciens*, *Alcaligenes faecalis type 11*, *Pseudomonas stutzeri*, *Streptomyces spp*, *Aspergillus spp*, *Penicilium spp*, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans*. Se debe considerar que son parte de una población endógena (nativa) y que se hallan formando los llamados consorcios microbianos.

En base a investigaciones similares se ha logrado estimar la cantidad necesaria de microorganismos para efectuar el proceso de degradación en torno a 10^8 UFC/mL, capaces de metabolizar y mineralizar la materia orgánica proveniente de los residuos domiciliarios del Cantón. (Vásquez, López, Fuentes, & Cote, 2010, pp. 3-6).

Tenemos que en la primera etapa del proceso de compostaje inician su rol las bacterias y hongos mesófilos. Al continuar el proceso interactúan las bacterias, los hongos termófilos y los primeros actinomicetos, este consorcio es el que degrada los residuos orgánicos de forma directa por lo que son llamados compostadores de primer nivel. En cambio los actinomicetos actúan durante las etapas finales de descomposición.

1.2.4.2.2. Relación Carbono-Nitrógeno (C:N)

Es un factor indispensable a controlar en el proceso, aquí se pone de manifiesto la proporción de carbono "fijo" que proporcionará la energía y nitrógeno vital para la construcción de los componentes celulares hechos de proteínas. Si esta proporción se halla en equilibrio se garantiza un correcto desarrollo y propagación de los microorganismos. Se debe evitar altos valores ya que ello impide el desarrollo microbiano en ausencia de nutrientes adicionales, retrasando el proceso. Las

relaciones C:N bajas provocan la volatilización del NH_3 (amoníaco) con ello pérdidas de nitrógeno y malos olores. (Zhu, 2006, pp. 9-13)

Se tiene que como producto del metabolismo microbiano aeróbico en las pilas de residuos se pierden material en forma gaseosa como CO_2 y H_2O . En cambio el nitrógeno permanece prácticamente constante, pasando de los residuos a los microorganismos y/o formando NO_2^- y NO_3^- , se producen pérdidas por lixiviación o escurrimiento de los componentes solubles y material suspendido, arrastrando C y N. La relación C:N más aconsejable está en el rango de 19:1 a 30:1 (Cariello, M., et al., 2007, pp. 26-37).

1.2.4.2.3. Nutrientes

A nivel molecular las bacterias necesitan otros elementos como nutrientes para su óptimo desarrollo entre los que encontramos: fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), manganeso (Mn), zinc (Zn) y hierro (Fe), otros elementos no son tan necesarios pero forman parte de enzimas y cofactores (Moreno & Mormeneo, 2007, pp. 362-370).

Se tiene que estos nutrientes no suelen pasar por el mecanismo de difusión pasiva a través de las membranas permeables y selectivas, por ello emplean los mecanismos de transporte que involucran las proteínas transportadoras. Los procesos sintéticos del crecimiento celular no dejan de implicar por lo menos 2000 reacciones bioquímicas, muchas de las cuales involucran transformaciones de energía, otras en cambio síntesis de moléculas pequeñas tales como cofactores y coenzimas vitales para las reacciones enzimáticas. (Madigan, et al. 2003, pp. 593- 624).

1.2.5. Identificación Microbiana

1.2.5.1 Medios de cultivo

Son sustancias nutritivas, líquidas o en gel (agar) que se emplean para el cultivo de bacterias, hongos, células animales o vegetales.

Para la identificación de géneros microbianos se emplean medios de cultivo selectivos, que poseen ciertos reactivos a los que reaccionan de forma observable y además poseen sustancias que inhiben el crecimiento de otros microorganismos, lo que facilita el aislamiento de especímenes deseables.

Los medios a usar en esta investigación son:

Agar Sabouraud con cloranfenicol: es un medio de cultivo para los hongos, contiene neopeptona o polipeptona agar y glucosa, con pH final de 5,6; es el estándar medio más utilizado universalmente en micología y es la referencia internacional. La adición de cloranfenicol, alto contenido de glucosa y pH ácido inhiben el desarrollo bacteriano. (Murray, *et. al* , 2007)

Agar MacConkey: es un medio de crecimiento diferencial y selectivo, empleado para el asilamiento e identificación de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos , todos los miembros de la familia Enterobacteriaceae. Está basado en la fermentación o la falta de la fermentación de lactosa, su composición a base de peptona, sales biliares y cristal violeta (que inhiben el crecimiento de organismos Gram positivos) y un indicador de pH, lo que permite la diferenciación de lactosa - fermentación (indicado por colonias de color rosa, por ejemplo , *Escherichia coli*) y las bacterias no fermentan la lactosa (colonias incoloras , por ejemplo, *Proteus mirabilis*). (Murray, *et. al* , 2007)

Agar Trypticosa de Soya: es un medio de crecimiento para una amplia variedad de géneros bacterianos aerobios, y anaerobios facultativos y estrictos.

El medio contiene enzimas digestivas de caseína y harina de soya que proporciona aminoácidos y otras sustancias nitrogenadas, minerales y vitaminas, la peptona de soya aporta con carbohidratos, el cloruro de sodio permite el equilibrio osmótico, el fosfato dipotásico actúa como tampón para mantener el pH. (Murray, *et. al* , 2007)

El número de unidades formadoras de colonias (UFC) se calcula en base a la siguiente ecuación:

$$\frac{UFC}{g \text{ suelo seco}} = \frac{\left(NC * \frac{1}{FD} * \frac{1}{V} \right)}{P * FH}$$

Ecuación 2-1 Calculo de las unidades formadoras de colonias / gramos de suelo.

Fuente: (Fernández., 2006).

Donde:

NC= número de colonias en una caja

FD=Factor de dilución que corresponde a la dilución de donde se tomó la muestra con la que se inocula la caja (10^{-1} a 10^{-10})

V= Volumen inoculado en la caja= 0,1 ml.

P =Peso de la muestra húmeda

FH= Factor de corrección de humedad (1- (% humedad/100))

Las colonias aisladas son caracterizadas considerando los siguientes parámetros:

- forma (circular, rizoide, alargada, etc...)
- borde (entero, filamentosos, ondulado, etc...)
- relieve (papilada, rizoide, convexo, etc...)
- y color.

1.2.5.2 Tinción Gram

Debido a la facilidad con la que la luz atraviesa los cuerpos de los microorganismos haciéndolos transparentes, es posible teñir sus estructuras con compuestos orgánicos que poseen grupos cromóforos (le brindan color al anillo bencénico) y auxocromos (radicales que imparten disociación electrolítica permitiendo la fijación) unidos a anillos bencénicos siendo observable en el microscopio con el objetivo de inmersión.

Para la presente investigación se empleará la tinción diferencial de Gram, con ella se diferencian dos grupos morfológicos de bacterias: Gram (+) y Gram (-), ello en base a las diferencias en la constitución de la estructura de sus paredes celulares, cabe indicar que la pared celular de las bacterias Gram (+) es más gruesa y consiste entre un 80-90% de varias capas interconectadas de peptidoglicano (copolímero) así como ácido teicóico. Por otro lado las bacterias Gram (-) poseen una capa más delgada únicamente de peptidoglicano (10-20%), poseen una capa externa de fosfolípidos, lipopolisacáridos y lipoproteínas.

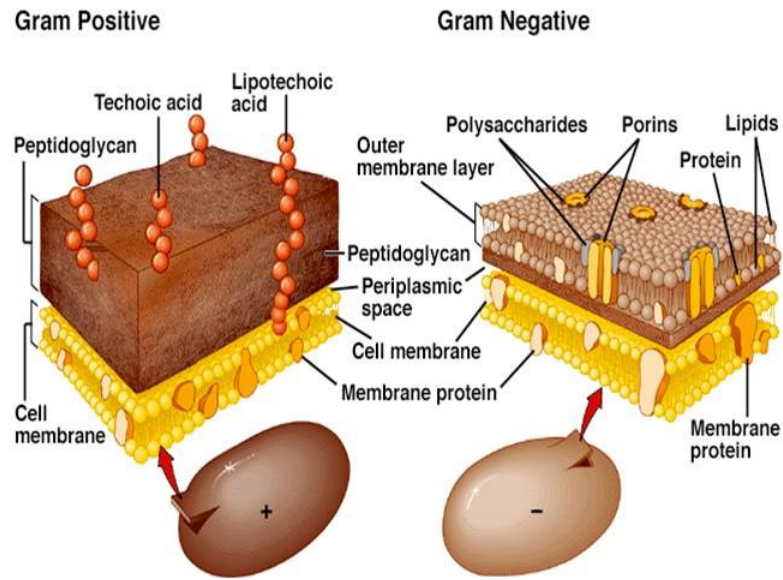


Figura 5-1 Diferenciación de paredes celulares de bacterias Gram (+) y Gram (-)
Fuente: (Khezar Hayat, Medimoon, 2013)

Previo a la tinción necesitamos realizar un frotis, es decir Cuando teñimos una bacteria requerimos hacer un frotis, es decir requerimos situar una minúscula muestra de una colonia bacteriana sobre un portaobjetos, extenderla, dejarla secar y fijarla.

Luego se tiñe el frotis con violeta cristal, solución yodada, alcohol etílico/ acetona y safranina.

Las células fijadas en el frotis son teñidas inicialmente con cristal violeta, dando un tono azul tanto para Gram (+) como (-), luego al incorporar la solución de yodo se forma un complejo insoluble al agua con el cristal violeta sin cambiar el color, posterior a ello incorporando la mezcla alcohol etílico/ acetona se logra decolorar (solubilizar) el complejo anteriormente formado en el caso de las bacterias Gram (-) pero no así con las Gram (+), ello se debe a que la delgada pared celular de las bacterias Gram (-) no logran retener el complejo cristal violeta-yodo, cabe indicar que la resistencia a la decoloración en esta fase es el punto diferencial y finalmente se pone de manifiesto el colorante de contraste en este caso la safranina.

Las bacterias Gram (-) presentan el color azul/violeta debido a la retención de yodo y cristal violeta en cambio las bacterias Gram (+) manifiestan el color rojo /rosado dada la retención de safranina.

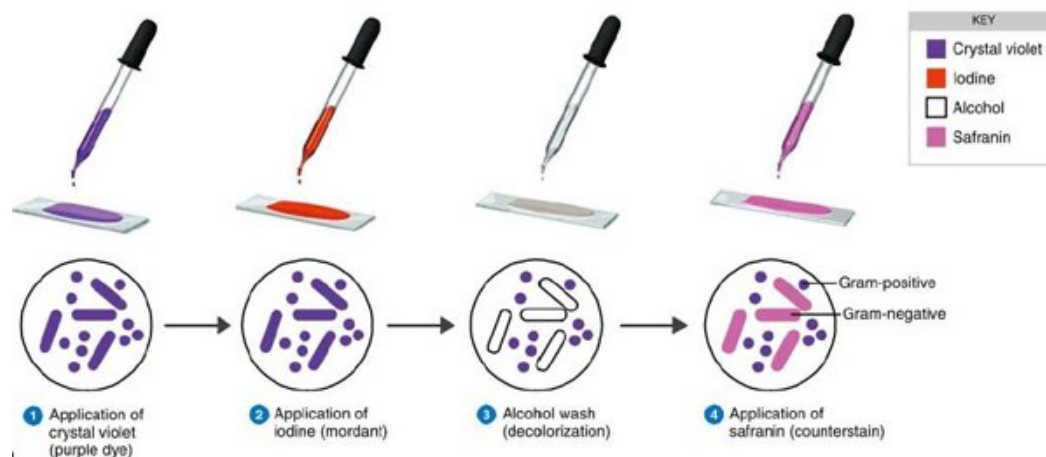


Figura 6-1 Procedimiento para la tinción Gram

Fuente: (Vivanco, Wordpress , 2015)

1.2.5.3 Identificación Bioquímica

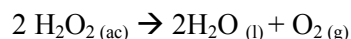
Dentro de una misma especie las cepas microbianas comparten características comunes, como por ejemplo el metabolismo.

Debemos considerar que las pruebas bioquímicas involucran la identificación de reacciones conocidas mediante el uso de distintos test químicos aplicados a las muestras microbianas. En su principio de funcionamiento abarca la determinación de la actividad de una vía metabólica a partir de un sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer incorpora o no. (Madigan, *et al.* 2003, pp. 102- 131)

La **prueba de óxido-fermentación (O/F)** permite la determinación del metabolismo energético de un hidrato de carbono o su falta de utilización, ello hace posible la identificación de las bacterias aerobias, anaerobias y facultativas.

Para ello se emplea el Medio de Hugh-Leifson con glucosa (1%) en tubos abiertos y cerrados, como resultado se tiene que las bacterias que oxidan (aerobias) crecen en el tubo abierto y evidencian debido el color amarillo en la superficie debido a la transformación de la glucosa en CO₂ y azul-verdoso en el cerrado. Por lo contrario las bacterias fermentadoras (anaerobias) viran el cultivo del tubo cerrado a amarillo, en el tubo abierto se inicia el viraje a amarillo transcurridas 24 horas. (Madigan, *et al.* 2003, pp. 102- 131)

Prueba de la Catalasa: esta prueba es muy simple y permite determinar la capacidad bacteriana al degradar el peróxido de hidrogeno, agente oxidante producto de las reacciones metabólicas oxidativas. La enzima responsable de degradar este producto se llama catalasa y es evidente en casi todos los aerobios estrictos o facultativos.



Ecuación 3-1 Reacción de la actividad enzimática de la catalasa.

Fuente: (Madigan et al., 2003).

El mercado existen muchos test bioquímicos, como los son: Biomerieux (API 10E, 20E, sistema automatizado: Vitek). Oxoid (Microbact). BD (Crystal, sistema automatizado: Phoenix) y Microgen MID-64/65. La comparación entre las marcas mencionadas se detalla a continuación:

	Microgen™ ID	API 20E	Microbact
Sin preparación previa	✓	X	✓
Facilidad de inoculación	✓	X	✓
Consistencia de inóculo	✓	X	✓
Compacto	✓	X	✓
Base de datos	✓	✓	✓
Probabilidad (probability)	✓	✓	✓
% Probabilidad (probability)	✓	✓	✓
Semejanza (likelihood)	✓	✓	X
Comentario sobre identificación	✓	✓	X
Referencias taxonómicas	✓	X	X

Figura 7-1 Comparación técnica entre las marcas de kit bioquímicos de identificación microbiana

Fuente: (Microgen Bioproducts Ltd, 2013)

Por ello se optó por el uso del kit de uso profesional Microgen GN-ID (A+B) que emplea 24 substratos bioquímicos estandarizados deshidratados en cada pocillo los mismos que se reconstituyen con una suspensión salina del organismo y cuya finalidad es identificar familias tanto del grupo Enterobacteriaceae (28 géneros) y otros bacilos no-exigentes Gram negativos (oxidasa negativos y positivos). La referencia de los substratos se detalla a continuación:

Pocillo	Reacción	Descripción	Positiva	Negativa
1	Lisina	La Lisina decarboxilasa – al azul de Bromotimol pasa de a verde/azul, indicando la producción de la amina cadaverina.	Verde / Azul	Amarillo
2	Ornitina	La Ornitina decarboxilasa – el azul de Bromotimol se mantiene azul indicando la producción de la amina putrescina.	Azul	Amarillo / Verde
3	H ₂ S	Producción de H ₂ S – el Tiosulfato se reduce a H ₂ S que reacciona con las sales de hierro produciendo un precipitado negro.	Marrón/ Negro	Color paja
4	Glucosa	Fermentación – el azul de Bromotimol cambia de azul a amarillo como resultado de la producción de ácido a partir de la fermentación de carbohidratos.	Amarillo	Azul / Verde
5	Manitol			
6	Xilosa			
7	ONPG	Hidrólisis – la hidrólisis de la ONPG por la B-galactosidasa da lugar a la producción de amarillo de orto-nitrofenol.	Amarillo	Incoloro
8	Indol	El indol se produce a partir de triptófano y da lugar a un complejo rosa / rojo cuando se añade el reactivo de Kovac's.	Rosa / Rojo	Incoloro
9	Ureasa	La hidrólisis de la urea da lugar a la formación de amoníaco que provoca un incremento de pH que hace virar el rojo de fenol de amarillo a rosa / rojo.	Rosa muy profundo	De color paja a rosa salmón pálido
10	VP	La producción de acetoina a partir de glucosa se detecta por la formación de un complejo rosa / rojo después de la adición de alfa naftol y creatina en presencia de KOH.	Rosa profundo / Rojo	Incoloro a rosa pálido
11	Citrato	La utilización de citrato (solo como fuente de carbono) da lugar a un incremento de pH que proporciona un cambio de color del azul de bromotimol de verde a azul.	Azul	Amarillo/ Verde pálido
12	TDA	El ácido Indolpirúvico se produce a partir de triptófano por la triptófano deaminasa dando un color rojo cereza cuando se añaden los iones de hierro. Los microorganismos indolo positivos pueden dar coloración marrón – en caso de resultado negativo.	Rojo cereza	Color paja
13	Gelatina	Los enzimas proteolíticos licuan la gelatina dando lugar a partículas negras que quedarán dispersadas por el pocillo.	Negro	Incoloro
14	Malonato	Cuando el malonato sódico es la única fuente de carbono se inhibe la conversión del ácido succínico a ácido fumárico. Un microorganismo incapaz de usar ese sustrato da lugar a la acumulación de ácido succínico y el microorganismo no crece. Una reacción positiva es resultado de la utilización de malonato sódico a la vez que el sulfato de amonio se utiliza como fuente de nitrógeno dando lugar a hidróxido sódico que aumentará la alcalinidad dando color azul.	Azul	Verde
15	Inositol	Fermentación – el azul de Bromotimol cambia de azul a amarillo como resultado de la producción de ácido por la fermentación de carbohidratos.	Amarillo	Azul
16	Sorbitol			
17	Ramnosa			
18	Sucrosa			
19	Lactosa			
20	Arabinosa			
21	Adonitol			
22	Rafinosa			
23	Salicina			
24	Arginina	La Arginina para a ornitina, amoníaco y CO ₂ por la acción de la arginina dihidrolasa dando lugar a un incremento del pH y a un cambio de color del azul de bromotimol de verde a azul. A las 48 horas las reacciones verdes son negativas.	Verde/ Azul azul	Amarillo Amarillo / Verde

Figura 8-1 Referencia de los sustratos del kit Microgen™ GN-ID Identificación

Fuente: (Microgen Bioproducts Ltd, 2013).

1.2.6 Estimulación magnética

El propósito esta estimulación es potenciar el desarrollo de los Microorganismos Eficientes Autónomos (EMAs), quienes degradan los residuos orgánicos e intervienen en el ciclo de toma de nutrientes.

1.2.6.1 Magnetismo

El magnetismo es una rama de la física que resulta del movimiento de los electrones en los átomos de las sustancias, es decir es una propiedad de la carga en movimiento. Su principal fue a lo largo del tiempo ha sido el mineral de hierro al que se ha dado el nombre de magnetita (Fe_3O_4). El magnetismo de los imanes se explica debido a las pequeñas corrientes eléctricas que se encuentran al interior de la materia. (Martín & Serrano, 2011, pp. 1-5)

1.2.6.2 Imanes

Los imanes artificiales son los construidos por el hombre y son de dos tipos de dos tipos: imanes permanentes e imanes temporales.

Los **imanes temporales** son los llamados electroimanes, la característica de estos es que poseen un núcleo de hierro dulce o de bajo tenor sobre el que se enrolla una bobina (componente pasivo de un circuito eléctrico) la misma que tiene forma de tubo recto (solenoides), es construida con alambre aislado de cobre o de aluminio y es sometida a una corriente continua, es aquí cuando el núcleo concentra el campo magnético producido.

Los **imanes permanentes** por su parte son construidos con acero de alto carbono tipo 1045 o más, se emplean en los parlantes de equipos de sonido y en otros equipos de uso común en las industrias y hogares.

Algo importante a considerar es que la generación de campos electromagnéticos a través de bobinas eléctricas permite obtener un campo con corriente alterna, el cual resulta significativamente mejor en relación a los campos magnéticos continuos con imanes permanentes. (Zúñiga, Cuero & Peña, 2011 , pp.1-9).

En la figura 9-1 se muestran los distintos patrones de campos magnéticos, a) Patrón del campo magnético que rodea a un imán de barra utilizando limaduras de hierro. b) Patrón de campo magnético entre polos opuestos (N–S) de dos imanes de barra. c) Patrón de campo magnético entre polos iguales (N–N) de dos imanes de barra.

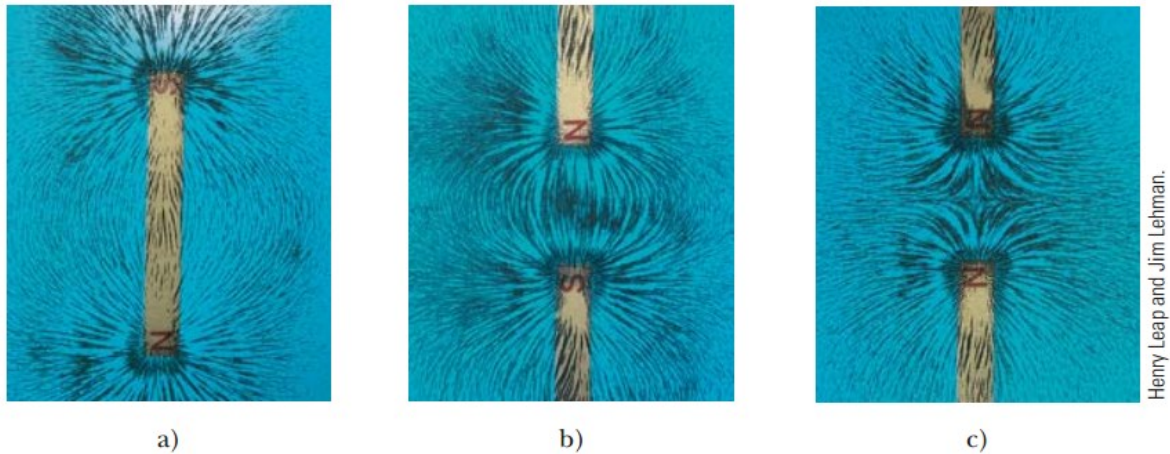


Figura 9-1 Patrones de campo magnético.

Fuente: (Henry Leapand & Jim Lehman, 2009).

1.2.6.3 Campo magnético

Un campo magnético es aquella región en donde los imanes están rodeados por un espacio en el cual se manifiestan sus efectos magnéticos. Las líneas de flujo magnético también conocidas como líneas de campo magnético son muy útiles para visualizar los campos magnéticos. La dirección de estas líneas en cualquier punto tiene la misma dirección de la fuerza magnética que actuaría sobre un polo norte imaginario aislado y colocado en ese punto. De acuerdo con esto, las líneas de flujo magnético salen del polo norte de un imán y entran en el polo sur.

En la figura 10-1a se muestran las líneas de flujo magnético, nótese que el número de líneas que salen de la carga positiva es igual al que sale de la carga negativa. En la 10-1b Fotografía capturada empleando pequeñas piezas de fibra suspendida en aceite, las cuales se alinean con el campo magnético.

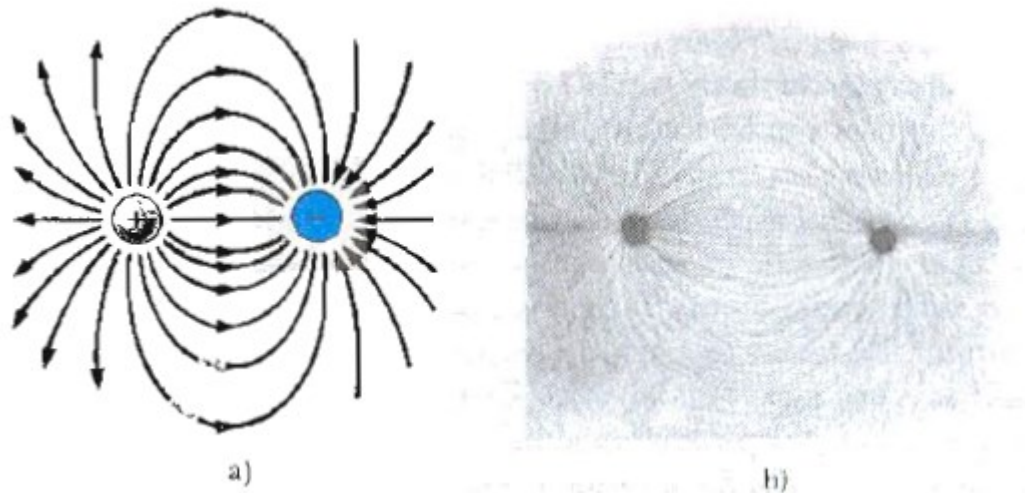


Figura 10-1 (a) Líneas de flujo magnético (b) Campo magnético en pieza de fibra.
Fuente: (Harold M, 2007).

La unidad del campo magnético, en el Sistema Internacional (S.I), es el tesla (T) mientras que en el sistema Cegesimal de Unidades (CGS) es el gauss (G) donde tenemos la conversión $1 \text{ G} = 10^{-4} \text{ T}$.

Campo magnético de un solenoide

Un solenoide no es más que un alambre largo enrollado en forma de hélice. Al contar con esta configuración, se puede generar un campo magnético razonablemente uniforme en el espacio rodeado por las vueltas del alambre (llamado interior del solenoide) cuando éste lleva una corriente. Al disponerse de vueltas muy apretadas y conocida la longitud del solenoide, nos encontramos con líneas de campo magnético como se muestra en la figura 11-1a. Esta distribución de líneas de campo es similar a la que rodea un imán de barra (véase la figura 11-1b). En consecuencia, un extremo del solenoide se comporta como polo norte del imán, y el extremo opuesto se comporta como polo sur. Conforme se incrementa la longitud del solenoide, el campo interior se vuelve más uniforme y el exterior más débil. Se obtiene un solenoide ideal, cuando las vueltas están muy apretadas y la longitud es mucho mayor que los radios de las vueltas. (Serway & Jewett, 2009, pp. 837-850).

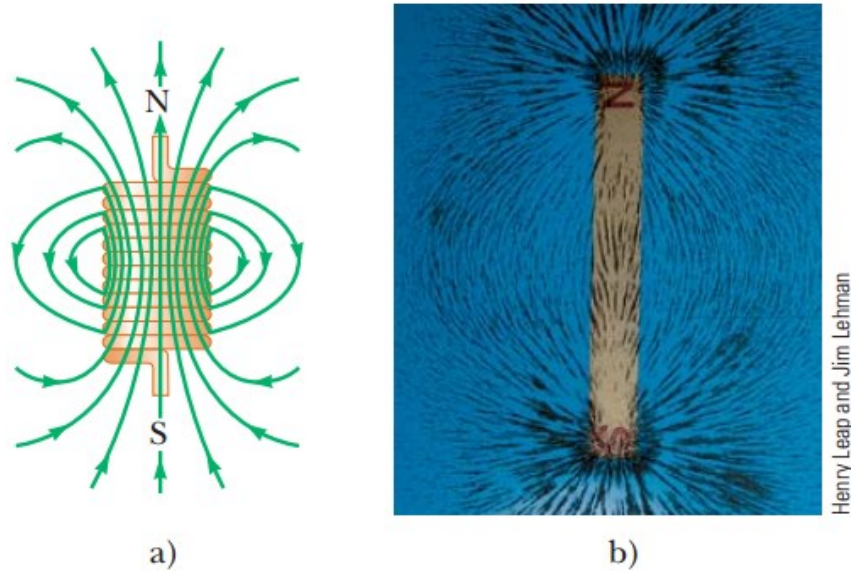


Figura 11-1 a) Líneas de campo magnético para un solenoide. b) Patrón para un imán.
 Fuente: Henry Leapand & Jim Lehman, 2009. Cengage Learning Editores

1.2.6.4 Ley de Ampere

En un solenoide ideal (vueltas muy apretadas y la longitud es mucho mayor que los radios de las vueltas) se puede emplear la ley de Ampere para obtener una expresión cuantitativa del campo magnético interior. Serway & Jewett (2009) ante la deducción de la ecuación para determinar el campo magnético en el interior de un solenoide:

Ya que el solenoide es ideal, \vec{B} en el espacio interior es uniforme y paralelo al eje, y las líneas de campo magnético en el espacio exterior forman círculos alrededor del solenoide. Los planos de estos círculos son perpendiculares a la página. Considere la trayectoria rectangular (espira 2) de longitud ℓ y ancho ω que se muestran en la figura 12-1. A esta trayectoria se le puede aplicar la ley de Ampère para evaluar la integral de $\vec{B} \cdot d\vec{s}$ en cada lado del rectángulo. La contribución a lo largo del lazo 3 es igual a cero, porque en esta región las líneas de campo magnético son perpendiculares a la trayectoria. Las contribuciones de los lazos 2 y 4 son iguales a cero, de nuevo porque \vec{B} es perpendicular a $d\vec{s}$ a lo largo de estas trayectorias, tanto en el interior como en el exterior del solenoide. El lazo 1 proporciona una contribución a la integral ya que, a lo largo de esta trayectoria, \vec{B} es uniforme y paralelo a $d\vec{s}$. La integral de la trayectoria rectangular cerrada es, debido a eso,

$$\oint \vec{B} \cdot d\vec{s} = \int \vec{B} \cdot d\vec{s} = B \int ds = B \cdot \ell$$

trayectoria 1 trayectoria 1

El lado derecho de la ley de Ampère se refiere a la corriente total I a través del área limitada por la trayectoria de integración. En este caso, la corriente total a través de la trayectoria rectangular es igual a la corriente en cada vuelta multiplicada por el número de vueltas. Si en la longitud ℓ , N es el número de vueltas, la corriente total a través del rectángulo es NI . Por tanto, la ley de Ampère aplicada a esta trayectoria da:

$$\oint \vec{B} \cdot d\vec{s} = B \cdot \ell = \mu_0 NI$$

$$B = \mu_0 \frac{N}{\ell} I = \mu_0 n I$$

Ecuación 4-1 Campo magnético en el interior de un solenoide

Fuente: (Serway & Jewett, 2009)

Dónde:

B = campo magnético (T)

$n = N/\ell$ es el número de vueltas por unidad de longitud.

μ_0 es una constante llamada permeabilidad del espacio libre = $12,56 \times 10^{-7}$ (T m /A)

$d\vec{s}$ es un vector tangente a la trayectoria elegida en cada punto

I es la corriente neta que atraviesa la superficie delimitada por la trayectoria, y será positiva o negativa según el sentido con el que atraviere a la superficie. (A)

Esta ecuación es válida sólo para los puntos cercanos al centro (es decir alejados de los extremos) de un solenoide muy largo. (pp. 848-849)

En la figura 12-1 se muestra la sección transversal de un solenoide ideal, donde el campo magnético interno es uniforme y el campo exterior es cercano a cero.

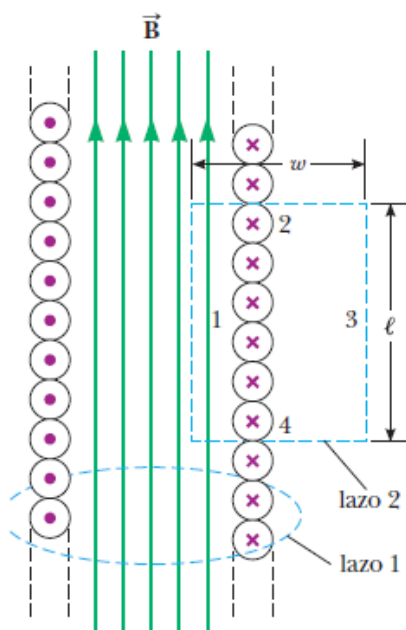


Figura 12-1 Vista de sección transversal de un solenoide ideal
 Fuente: (Serway & Jewett, 2009).

1.2.6.5 Influencia del campo magnético sobre sistemas biológicos

Con la estimulación magnética se busca potenciar el incremento de la actividad enzimática y eficiencia de los procesos relacionados con la división celular de los microorganismos benéficos. (Ghole, 1986; Osipova, 1999 citado por Bernal, et.al., 2004, pp. 27-31)

Ello se debe a que el paso de nutrientes a nivel celular es influenciado por la distribución de los iones en el medio, lo que produce diferencias de potencial entre el interior y al exterior de la membrana, por lo que la aplicación de campos magnéticos pueden ejercer efectos biológicos de estimulación tanto positiva como negativa. (Filipič, et al. 2012 citado por Recalde, 2013, pp. 9-16).

Cabe indicar que la interacción de los campos electromagnéticos de baja energía con sistemas biológicos no provoca cambios a nivel cromosómico a diferencia de las radiaciones ionizantes, lo que provoca según las investigaciones es la modificación de las propiedades eléctricas y magnéticas de dicho sistema. (Sun, 2011, pp. 16464–16472)

La ampliación de campos magnéticos sobre semillas ha demostrado excelentes resultados en cuanto a la variación de la longitud de la raíz, incremento de cantidad de nitrógeno y proteínas, como

también aumento en el número total de semillas germinadas, lo que contribuye al nivel de mejoramiento en la producción agrícola (terapia magnética vegetal). (Hincapié, Torres, & Bueno, 2010, pp. 337-341), así mismo se destaca la reducción del tiempo medio de germinación (TMG) en semillas. (Flórez, Martínez & Carbonell, 2008, pp-12-17).

Se evidencia efectos sobre sistemas biológicos sometidos a campos magnéticos superiores al campo magnético del planeta Tierra, algunos de los que se muestran en la Figura 13-1, aquí se evidencian los fenómenos biomagnéticos en diferentes intensidades y frecuencias, los que han sido ampliamente usados en modernos sistemas de diagnóstico como la Resonancia magnética, tratamientos de estimulación cerebral, ruptura de moléculas de agua, redistribución de la concentración de oxígeno disuelto en células y tejidos, influencia en la respiración celular, intervención en la llamada cortina de combustión de hidrocarburos y alcoholes, desarrollo embrionario de ranas (*Xenopus laevis*) y orientación migratoria de especies. (Ueno & Iwasaka, 2007, pp. 1-18)

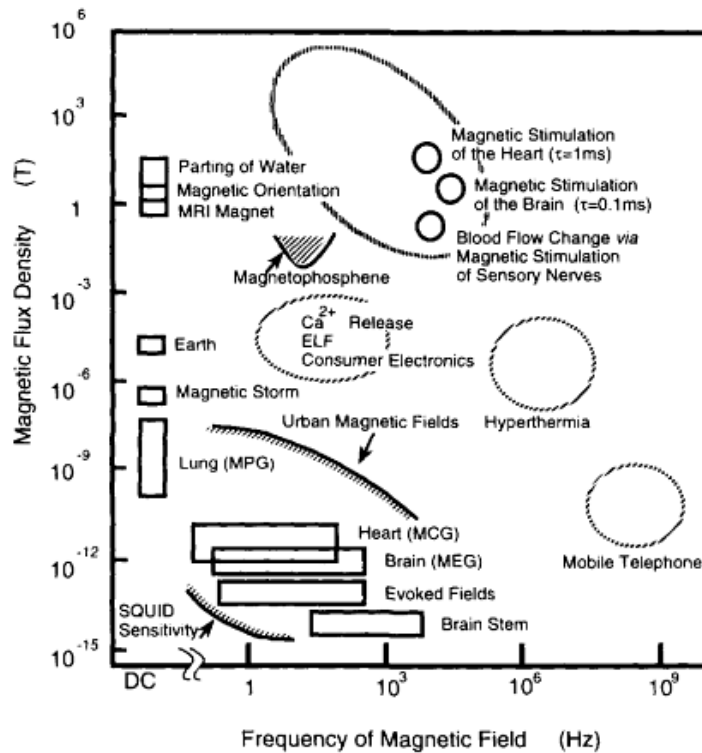


Figura 13-1 Fenómenos biomagnéticos de acuerdo a su intensidad y frecuencia.

Fuente: (Ueno, 1996)

Orientación magnética en bacterias y algas unicelulares

Este fenómeno ha sido más evidente en bacterias acuáticas y fue observado en 1975, por el microbiólogo Richard Blakemore, quien comprobó que las bacterias se movían paralelamente a las líneas de campo magnético, por ello se las denominó magnetotácticas y al fenómeno magnetotaxis. Con la aplicación de un campo magnético de 0.1 T se consiguió convertir bacterias buscadoras del norte en bacterias que nadaban hacia el sur, ello permite que las bacterias determinen la dirección de mayor profundidad del agua o del fango, actualmente se conoce que este tipo de géneros bacterianos poseen estructuras citoplasmáticas llamadas magnetosomas (magnetita envuelta en membrana biológica) dichas estructuras aparecen alineadas formando una cadena paralela al eje de movilidad de la bacteria. (Blakemore, 1975, pp. 377-379)

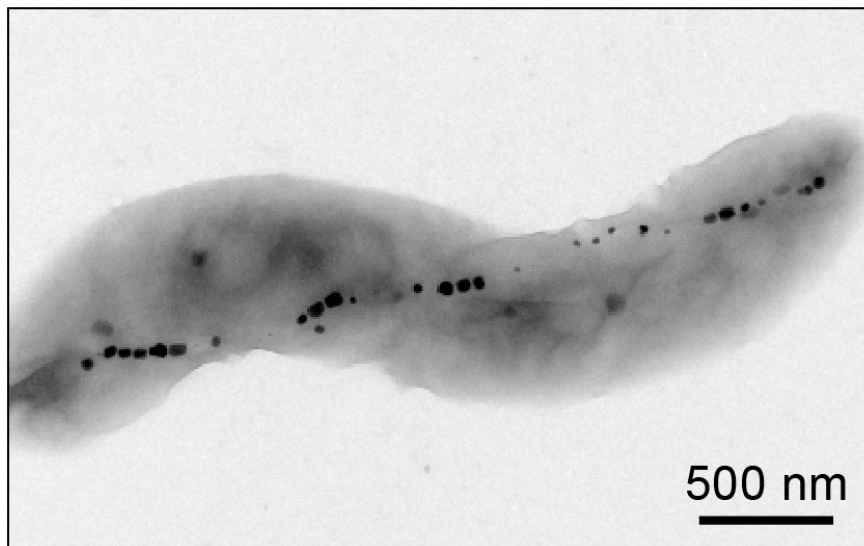


Figura 14-1 Nanopartículas magnéticas dentro de una bacteria aparecen como puntos negros.

Fuente: (Le Sage, Nature, 2013).

1.2.7. Calidad del compost

La calidad del compost es considerada a partir de las características que aporte en el tratamiento de suelo o como sustrato dentro del cuidado ambiental. Los puntos a considerar deben estar enmarcados en cuanto a: correcta higienización, aspecto y olor aceptable, mínimos niveles de

impurezas y nivel adecuado de materia orgánica estable así como de fitonutrientes. (Soliva & López, 2004, pp. 2-4)

1.2.7.1 *Biología de la rizósfera: Cromatografía de Pfeiffer*

Esta es una técnica cualitativa que nos brinda una descripción general de la salud, actividad y dirección del suelo o compostas realizadas.

En este proceso la fase estacionaria está constituida por el papel filtro, la muestra es depositada en un orificio central donde se halla un revelador (AgNO_3 95%) con la ayuda de una mecha de papel filtro asciende por capilaridad, después de unos minutos cuando el solvente finaliza el ascenso se retira el papel y se deja secar en una cámara húmeda. La muestra de suelo o de composta es disuelta con Soda cáustica (1%) que precipita las sustancias minerales y orgánicos del suelo en cualquier condición ambiental (aeróbica-anaeróbica; azufre-oxigenada u oxido-reducida) que dependiendo de su concentración varía el tono y color permitiendo con ello alta precisión en su evaluación cuali y cuantitativa. (Gordillo, et al., 2011, pp. 140-149).

Un cromatograma (como también se conoce a este resultado) posee 3 zonas de interpretación y un borde de identificación:

1) Zona Central – aquí se manifiestan las condiciones de desarrollo de la actividad microbiológica con formas desde la ausencia de la zona y colores que varían del negro al plata;

El color disminuye conforme aumenta la presencia de sustancias nitrogenadas, ya que las mismas hacen más soluble el precipitado de Ag_2O tornándolo blanco plateado con mayor tamaño e intensidad conforme aumenta la concentración de materia viva, formando el complejo *Amin Plata* $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$. (Pfeiffer, 1984, pp. 1-11)

Muestra “sin vida” + $2\text{NaOH} + 2\text{AgNO}_3 \rightarrow 2\text{NaN}_3 + 2\text{AgOH} \rightarrow \text{Ag}_2\text{O}$ **precipitado negro**

Muestra “con vida” + $2\text{NaOH} + 2\text{AgNO}_3 \rightarrow 2\text{NaN}_3 + 2\text{AgOH} + 4\text{NH}_4\text{OH} \rightarrow 2[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{OH}$ **precipitado plata**

Ecuación 5-1 Actividad biológica en la zona central del cromatograma de Pfeiffer .

Fuente: Pfeiffer, 1984.

2) Zona Intermediaria – es donde se presenta las condiciones de desarrollo mineral, su forma va desde un círculo linear (en el caso de membrana inerte) hasta total integración con las otras zonas. Los tonos varían del negro al oro y naranja. Además se tiene que tonos oscuros, negros, grises, castaños y violáceos son reacciones predominantes de sulfuros y poca oxigenación.

Constar un desarrollo integral desde el centro hasta el borde del cromatograma es indicativo de la total integración del componente mineral-vivo (minerales metabolizados), el mismo que es dotado de carga eléctrica y magnetismo, es aquí donde se evidencian una gran cantidad de minúsculas “puntas de flechas” superpuestas que van desde la zona central en dirección a la zona periférica. Entre más armonía y diversidad en esta zona e integración con las otras zonas, se evidencia alto grado de calidad y salud de la vida en la muestra. (Pinheiro, 2012, pp. 31-33)

3) Zona Externa o periférica – Es la zona de las proteínas (enzimas y vitaminas) desde la ausencia de la zona, hasta su forma, ancho y colores que varían del castaño oscuro hasta el plata.

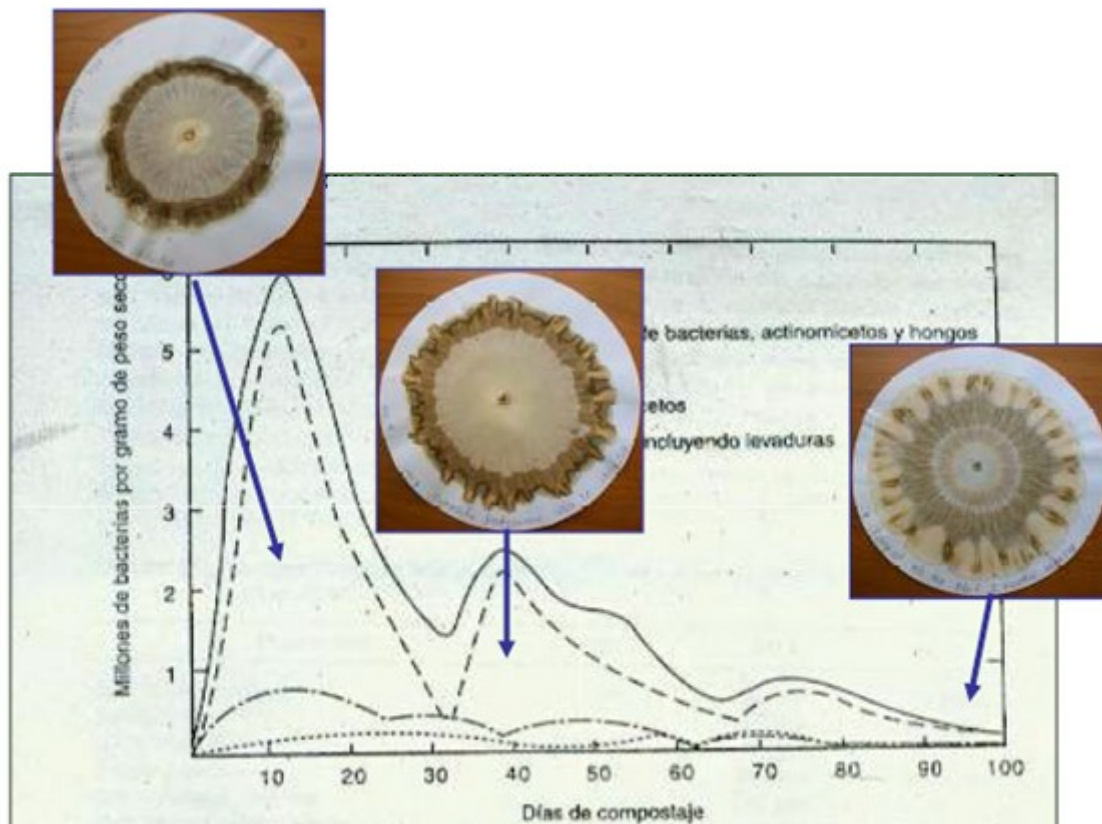


Figura 15-1 Población microbiana y revelado de cromas en una pila de compostaje.
Fuente: (Walke, R. 1975)

1.2.7.2 Análisis físico- químicos

Durante el transcurso de la investigación se deben medir parámetros físico-químicos esenciales para el desarrollo microbiano y correcta madurez del compost, los mismos que garantizan una correcta disposición al momento de aplicarlo como enmienda de suelos. Parámetros recomendados como en normas internacionales de países vecinos como Colombia NTC 5167:2011 Productos para la industria agrícola. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas de suelo, entre los que se destacan los siguientes parámetros físico-químicos: Nitrógeno; Fósforo; Potasio, Calcio, Magnesio, Hierro, Manganeseo y Zinc ; pH, humedad, además el % de materia orgánica, densidad aparente, conductividad eléctrica, % de Carbono orgánico y relación C:N. (Vásquez, López, Fuentes & Cote, 2010, pp. 1-8)

CAPITULO 2: MARCO METODOLÓGICO

2.1 Materiales y métodos

2.1.1 Tipo y Diseño de Investigación

La investigación es correlacional, ya que se busca conocer la relación o grado de asociación entre las variables independientes (géneros microbianos, nivel de campo magnético y factores ambientales) frente la variable dependiente “tiempo de degradación de los residuos orgánicos”

Se trata de un diseño experimental de un experimento puro con postprueba únicamente y grupo de control, con la siguiente simbología:

RG3	01	X1	02
RG2	01	X2	02
RG1	01	–	02

Dónde:

R Asignación al azar o aleatoria.

G Grupo de sujetos (G1, grupo 1; G2, grupo 2).

X Tratamiento, estímulo o condición experimental (presencia de algún nivel o modalidad de la variable independiente).

X1 EMAs sin estimulación magnética.

X2 EMAs estimulados magnéticamente.

0 Una medición de los sujetos de un grupo

— Ausencia de estímulo (nivel “cero” en la variable independiente). Indica que se trata de un grupo de control o testigo.

2.1.2 Unidad de Análisis

Cantidad de desechos sólidos orgánicos generados en el cantón La Concordia.

2.1.3 Población de Estudio

Las 16 ton/día de desechos sólidos orgánicos generados en el Cantón La Concordia

2.1.4 Tamaño de Muestra

Nivel de confianza= 95% $Z= 1,96$

Proporción $p=0,5$ y $q=0,5$

Población= $N= 16000$ kg de desechos

Error= $E= 0,05$ (5%)

$$n = \frac{Z^2 pq N}{N E^2 + Z^2 * pq}$$

$$n = \frac{(1,96)^2(0,5)(0,5)16000}{16000 (0,05)^2 + (1,96)^2*(0,5)(0,5)}$$

$$n = \frac{15366,4}{40,9604}$$

$$n = 375,15 \text{ kg}$$

2.1.5 Selección de muestra

La selección se la realizara bajo las recomendaciones técnicas realizadas por Botero, (2008), plasmadas en la Guía para el Manejo Integral de Residuos, al obtener una muestra mayor de 200 kg, se procede a homogenizar y realizar cuarteos hasta obtener un 10%, es decir la cantidad de desechos requerida.

El procedimiento es el siguiente:

- 1° Mezclar los residuos
- 2° Dividir la mezcla en cuatro fracciones iguales
- 3° Seleccionar dos fracciones opuestas y mezclar
- 4° Repetir el proceso alternando la selección de fracciones hasta obtener el volumen deseado

2.1.6 Análisis e Interpretación de la Información

Considerando los datos obtenidos de las variables de control pH y C:N , del peso producto del tamizaje durante el proceso de compostaje con los diferentes tratamientos aplicados, se efectuó un análisis de varianza ANOVA. Aquí se logra comprobar la diferencia significativa entre los resultados de cada tratamiento, por medio del valor F se demostró la probabilidad de aceptar o rechazar las siguientes hipótesis:

Ho: Hipótesis nula “las medias de las variables en los tratamientos son iguales”

Hi: “existe al menos una media diferente en los tratamientos”

En resumen el proceso comprende:

- 1) Tabular datos en hojas de cálculo
- 2) Realizar la prueba de homocedasticidad mediante el test de Barlett
- 3) Verificar la normalidad de los datos mediante el test de Shapiro
- 4) Si se cumplen estos datos se procede a efectuar el análisis de varianza (ANOVA)
- 5) En caso de rechazo de la hipótesis nula, identificar mediante otras pruebas estadísticas las comparaciones grupales para constatar que tratamiento difiere de los demás.

2.1.5.1 Sitio de experimentación

Se trabajó con tres pilas de compostaje de residuos sólidos urbanos provenientes de la recolección municipal, en Centro de Aprovechamientos de Desechos Sólidos del Cantón La Concordia, Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador, en las coordenadas: X: 678720 Y: 9999856 Altitud: 221 m (WGS84 UTM 17S). La zona de vida según Holdridge corresponde a Bosque Húmedo tropical, con temperaturas medias anuales que oscilan entre 21 a 24 °C.

Las pilas se ubicaron sobre una plataforma de hormigón, estas tuvieron en promedio 1,5 m³ y 375 kg de material orgánico previamente triturado de forma manual con la finalidad de obtener materiales entre 5 – 30 cm, rango ideal recomendado por la FAO, el volteo se realizó una vez por semana durante las primeras 4 semanas del proceso y luego de ello una vez por semana (Román, Martínez & Pantoja, 2013, pp. 32-56).



Figura 1-2 Fotografía aérea de la ubicación del sitio de experimentación.
Fuente: (GADM La Concordia, 2014.)

2.1.5.2 Materiales a emplear

A usarse en la pila de captura

- Machete.
- Estacas
- Tablero de apuntes
- Tarrinas
- Arroz precocido
- Nylon
- Ligas elásticas
- Cámara fotográfica
- GPS
- Melaza

A usarse en laboratorio

- Tubo de ensayos.
- Matraces erlenmeyer
- Asa de siembra
- Microscópio
- Mechero de alcohol
- Placas porta objetos.
- Medio de cultivo Sabourud con cloranfenicol, MacConkey y agar Trypticase de soya
- Balanzas de precisión
- Autoclave y estufa

- Botellas plásticas
- Herramientas manuales

- Alcohol de laboratorio
- Kit de identificación Microbiana Microgen GN-ID(A+B)

2.2 Captura de microorganismos

2.2.1 Selección del área de captura

Es recomendable colocar las trampas en zonas con gran cobertura vegetal sana y bien desarrollada de preferencia arbustos y árboles, ya que es indicativo de una excelente interacción de microorganismos-suelo. (Restrepo, 2001).

Para el ensayo se seleccionó un sitio propicio en el cantón La Concordia, en las coordenadas:

X: 678740 Y: 0000990 Altitud: 242 msnm. (WGS84 UTM 17S)

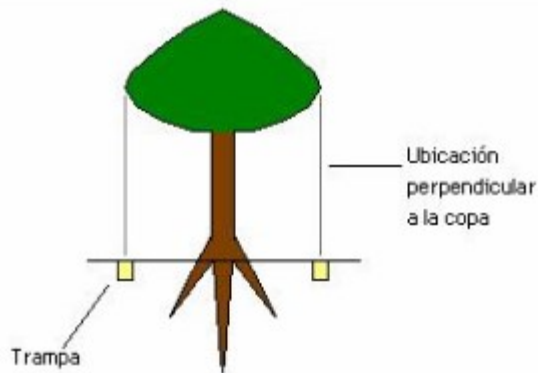


Figura 2-2 Ubicación de las trampas para EMAs
Fuente: (Restrepo, 2001, IICA).

2.2.2 Materiales

- 12 vasos desechables plásticos
- 1 kg de arroz cocinado
- 12 pedazos de tela de nylon
- 12 bandas elásticas (ligas)

2.2.3 Procedimiento

Se procedió a preparar el sustrato, que consistió en la cocción de 1 kg de arroz sin sal durante 15 minutos, hasta obtener una consistencia semiblanda; se repartió en 12 vasos plásticos desechables, se cubrieron los vasos con tela de nylon y se aseguraron con bandas elásticas, los cuales fueron colocados cerca de taludes húmedos y ubicando el nylon sobre la materia orgánica, permitiendo la colonización de los organismos en el sustrato. (Collazos, 2011, p. 85).

Después de 2 a 3 semanas se procede a desenterrar los vasos y se procede a almacenar el arroz impregnado de microorganismos descomponedores.

La muestra se procede a conservar a 4°C para realizar los respectivos análisis de identificación en el laboratorio.

2.3 Detección y aislamiento de bacterias

2.3.1 Preenriquecimiento

Las muestras fueron pre-enriquecidas en un medio basal de sales (NaCl: 0,15 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: 0,3g, K_2HPO_4 : 0,37 g, KH_2PO_4 : 0,125 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,075 g y KNO_3 : 0,3 g) al que se le adicionaron 100 g de la muestra de arroz impregnada de microorganismos. Posterior a ello se sometió a agitación continua (120 r.p.m) por el lapso de 12 días, a partir del día 7 se procedió con la siembra por agotamiento en el agar MacConkey, agar Tripticasa de soya y agar Sabouraud con cloranfenicol, para lograr el aislamiento de bacterias y hongos, a ser empleados en la aceleración de la descomposición de residuos orgánicos. (Vásquez, López, Fuentes & Cote, 2010, pp. 1-8) .

2.3.2. Preparación del medio diluyente

Se preparó agua de peptona siguiendo las especificaciones rotuladas en el envase, luego se distribuyó 9 ml en 7 tubos de ensayo y 90 ml en un matraz erlenmeyer, se sometió a esterilización por 15 minutos a 121°C.

A partir del séptimo día se miden 10 ml de la muestra en forma aséptica, con la ayuda de un mechero encendido, este volumen es transferido al matraz erlenmeyer con los 90 ml de agua de peptona. Se obtiene una dilución 1:10 (10^{-1}) (Sol. A), se realizan diluciones sucesivas, tomando 1 ml de la dilución A, y transfiriendo a un tubo conteniendo 9 ml de agua de peptona. Se obtiene una dilución 1:100 (10^{-2}) y así sucesivamente hasta la dilución 10^{-8} .

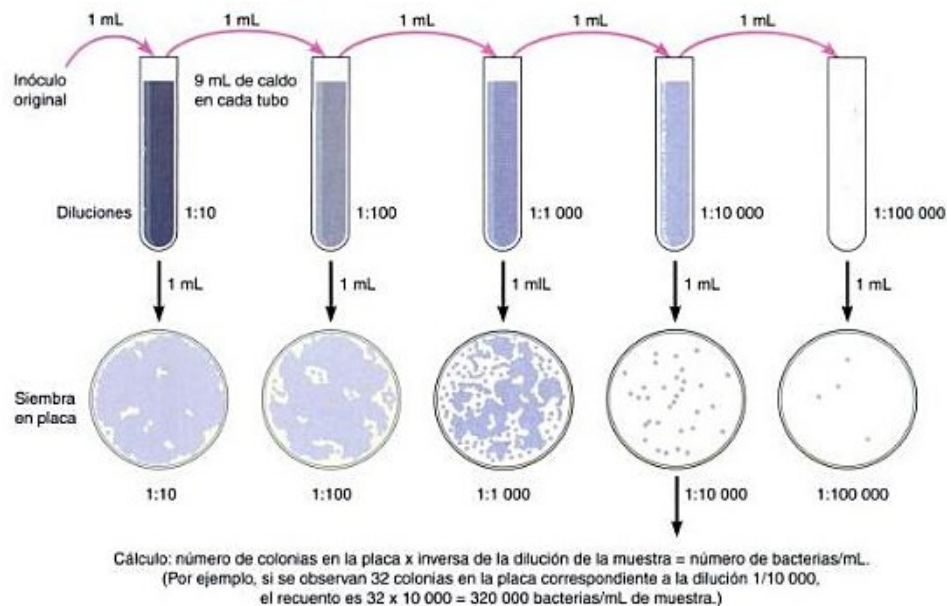


Figura 3-2 Distribución del medio diluyente y recuento inicial de microorganismos.
Fuente: (Tortora, J, 2007).

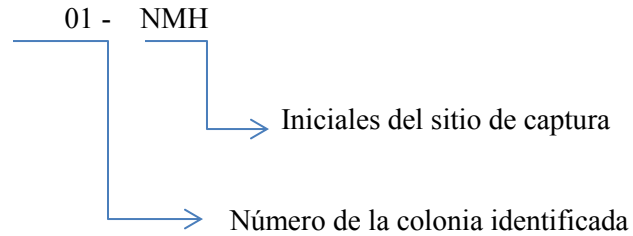
2.3.3 Siembra

Se realizaron siembras por agotamiento de 0,1 ml de cada dilución en el agar MacConkey (bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativo), agar Tripticasa de soya (aerobios, y anaerobios facultativos y estrictos), agar Sabouraud con cloranfenicol (levaduras, hongos), para lograr el aislamiento de bacterias y hongos, para luego ser utilizados en el proceso de aceleración del compostaje. Se recomienda realizar la siembra a partir de la dilución 10^{-1} a 10^{-3} para hongos, 10^{-4} a 10^{-6} en el caso de levaduras y 10^{-7} a 10^{-10} para bacterias.

La incubación se realizó por 48 horas a 37°C.

2.4 Caracterización de colonias microbianas

Se procedió a codificar las colonias obtenidas de la siguiente forma:



La codificación se realizó para las ocho cepas bacterianas capturadas con las trampas de arroz en el sitio más idóneo de la propiedad del autor Nelson Mecías Herrera (NMH).

Para el caso de las bacterias

La actividad metabólica se valoró de acuerdo al diámetro del halo de degradación contorno a cada colonia. (Madigan, Martinko & Parker, 2003, p. 151)

Se procede a contabilizar el número de las unidades formadoras de colonias en base a la Ecuación 2-1, e identificar sus características físicas (textura, forma, tamaño y color).

En el caso de hongos y levaduras

La caracterización de los hongos se realizó de mediante la comparación microscópica de especímenes frescos con ilustraciones de la guía del *Compendium of Soil Fungi* (Domsch, K et al 2007) empleando un poco de presión sobre la muestra con el cubreobjetos a fin de fraccionar ligeramente las esporas y posterior a ello se procede a observar las estructuras y poder identificarlas, este proceso se llevó a cabo con el apoyo técnico de la Ing. Norma Erazo, investigadora y especialista en identificación de hongos del Laboratorio de Ciencias Biológicas – Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH. (Schenck y Pérez, 1990, pp. 187-192)

2.4.1 Caracterización morfológica

Para identificar estas características se emplea la metodología de Murray, P (2007) y Olivas, E (2001). Cuyas principales aspectos comprenden:

- Forma: Puntiforme, circular, irregular, alargada, fusiforme, filamentosa, rizoide.

- Superficie: Lisa, rugosa, en anillos concéntricos.
- Elevación: plano, elevada, convexa, umbonada, umbilicada.
- Margen: entero, ondulado, lobulado, estrellado, filamentos.
- Color: Según sea observado por la luz reflejada o por la luz transmitida, puede ser de color blanco, amarillo, rojo ladrillo, anaranjado.

2.4.2 Tinción Gram

De acuerdo al protocolo expuesto por Parks (1997) se debe realizar lo siguiente:

- 1) Realizar un frotis: tomando un asa estéril se toma una pequeña muestra de una colonia bacteriana sobre un portaobjetos limpio e impregnado con pequeña gota de solución salina (estéril) se distribuye, dejar secar al aire y fijar pasando el portaobjetos en la flama del mechero (3 veces).
- 2) Se añadió cristal violeta durante 1 minuto, decantar y enjuagar con agua destilada.
- 3) Volcando el portaobjeto se adicionó solución lugol durante 1 minuto, decantar y enjuagar con agua destilada.
- 4) Posteriormente se lavó con alcohol por goteo continuado durante 20 segundos,
- 5) Se trató con safranina durante 1 minuto; se lavó con agua abundante, se secó al aire.
- 6) Se observó con el lente de inmersión (100x).

2.5 Análisis de bioquímico de los aislados bacterianos

2.5.1 Prueba de la Catalasa

Para esta prueba sencilla se procedió según la metodología de Madigan et al. (2003) donde se tiene el siguiente procedimiento:

- Recoger una colonia pura con la ayuda de un asa de siembra.
- Se agregó con una pipeta Pasteur una gota de H₂O₂ al 30% sobre el microorganismo sin mezclarlo con el cultivo.
- Finalmente se observó la formación inmediata de burbujas (resultado positivo).

2.5.2 Prueba óxido fermentativa

Para esta prueba se emplea el medio Hugh – Leifson según la metodología de Madigan et al. (2003) se procedió a lo siguiente:

- 1) Sembrar los microorganismos con un asa estéril en los tubos que contienen el medio mencionado.
- 2) Sellar los tubos indicados con parafina estéril, de esta manera quedaron aisladas del aire.
- 3) Incubar a 27°C durante 24 – 48 horas.

Los resultados se evidencian de la siguiente manera: si el tubo abierto da positivo (vira al amarillo por consumo de la glucosa y acidificación) y el tubo sellado da negativo (sin viraje, cercano al verde, puede ser oscuro) entonces se trata de un metabolismo oxidativo. Si ambos tubos dan positivos, corresponde a un metabolismo fermentativo típico de un organismo aerobio facultativo.

2.5.3 Pruebas bioquímicas kit MicrogenGN-ID(A+B)

La utilización de este kit abarcó el siguiente procedimiento:

- 1) Como prerrequisito se necesitó obtener organismos oxidasa positivos.
- 2) Las colonias fueron emulsificadas y bien mezcladas en 3 -5 mL de solución salina estéril 0,85 %
- 3) Se quitó la lámina adhesiva que sella los pocillos.
- 4) Se procedió añadir 3 -4 gotas (aproximadamente 100µL) de la suspensión bacteriana en cada pocillo.
- 5) Luego de inocular se reviste los pocillos 1,2 y 3 (tira GN A) y pocillos 20 y 24 (tira GN B) con 3 - 4 gotas de aceite mineral.
- 6) Se selló las tiras y se dejó en incubación a 35 - 37°C por 48 horas.
- 7) Se añadió 2 gotas del reactivo Kovac's al pocillo 8 (anotar el resultado después de 60 segundos).
- 8) Luego se añadió añadir 1 gota del reactivo VP I y 1 gota del reactivo VP II al pocillo 10 (anotar el resultados tras 15-30 minutos)
- 9) Posterior a ello se añadió 1 gota del reactivo TDA al pocillo 12 (leer después de 60 segundos).
- 10) En el caso del test de reducción de nitrato en el pocillo 7, se añadió 1 gota del reactivo Nitrato A y una gota del reactivo Nitrato B al pocillo (leer después de 60 segundos)

11) Se realizó la lectura y se anotó los resultados en las cartillas incluidas en el kit, estas cartillas vienen organizadas por tripletes (de reacciones) y han sido asignadas por valores numéricos (1, 2 o 4), la suma de estos tripletes brindan un código numérico único el mismo que es identificado con la ayuda del Software Microgen Identification System (MID-60), que genera un informe de los cinco microorganismos más parecidos en una base de datos selectiva.

MICROGEN GN ID

Guía Rápida

	GNA	GNA+B	GNA+B
OXIDASA	NEGATIVA	NEGATIVA	POSITIVA
INÓCUO	1 colonia en 3ml salina	1 colonia en 5ml salina	1 colonia en 5ml salina Añadir 1 gota de suero de caballo estétil/ml salina si se sospecha de <i>Actinobacillus</i> o <i>Pasteurella spp.</i>
INOCULACIÓN	3-4 gotas (100µl) por pocillo	3-4 gotas (100µl) por pocillo	3-4 gotas (100µl) por pocillo
REVESTIMIENTO CON ACEITE	Pocillo 1 – Lisina Pocillo 2 – Omitina Pocillo 3 – H ₂ S	Pocillo 1, 2, y 3 más Pocillo 20 – Aminosa Pocillo 24 – Arginina	Pocillo 1, 2, y 3 más Pocillo 24 – Arginina
TIEMPO DE INCUBACIÓN	18 - 24 horas	18 - 24 horas	48 horas
TEMPERATURA	35 - 37°C	35 - 37°C	35 - 37°C (25°C para <i>P. fluorescens</i>)
LECTURA INICIAL	Pocillo 8: Indol - Añadir 2 gotas del reactivo Kovac's. Leer en 2mins.	Igual que para GNA	Igual que para GNA
ADICIÓN DE REACTIVOS	Pocillo 10: VP - Añadir 1 gota del reactivo VPI y 1 gota del reactivo VPII. Leer tras 15-30mins Pocillo 12: TDA - Añadir 1 gota del reactivo TDA y leer inmediatamente.	Gelatina: Interpretar a las 24 horas Pocillo 24: Arginina - Amarillo = Negativo Verde/Azul = Positivo	Gelatina - interpretar a las 48 horas Pocillo 24: Arginina - Amarillo = Negativo Azul = Positivo
LECTURA FINAL (Opcional Microgen Software)			

Figura 4-2 Guía rápida del uso del kit MicrogenGN-ID(A+B) para identificación de bacterias.

Fuente: (MicrogenBioproductsLtd, 2013.)

2.6 Estimulación Magnética

El equipo de estimulación electromagnética empleado pertenece al Laboratorio de Electrotecnia perteneciente a la Escuela de Ingeniería en Mantenimiento de la Facultad de Mecánica de la ESPOCH, este equipo genera campos magnéticos debido a la aplicación de corriente eléctrica, está constituido de una bobina de dimensiones 11 cm x 5,5 cm que consiste en 350 vueltas de alambre y conduce una corriente de 0,0123 Amperios, cuya constante de permeabilidad relativa del núcleo de hierro es 200 T m/A con la aplicación de la ecuación 4-1 se espera determinar la magnitud del campo magnético generado por el solenoide.

$$B = \mu_0 \frac{N}{\ell} I = \mu_0 n I$$

Ecuación 4-1 Campo magnético en el interior de un solenoide

Fuente: (Serway & Jewett, 2009)



Figura 5-2 Prototipo de estimulación electromagnética
Fuente: (Mecías, N. 2015).

2.7 Fase de Campo

2.7.1 Aplicación de los EMAs estimulados magnéticamente

2.7.1.1 Obtención de solución madre de EMAs

Una vez estimulados los microorganismos se procedió a preparar la solución madre:

- Agregando los EMAs estimulados y no estimulados en 1 litro de melaza se procedió a batir por el lapso de 5 a 10 minutos.
- Se agregó 3 litros de agua fresca y limpia (libre de cloro), revolver el contenido
- Luego filtrar la mezcla para obtener 4 L de solución madre
- Se envasó para su posterior empleo.

2.7.1.2 Dilución de la solución madre

En un recipiente se añadió 18 L de agua limpia (sin cloro) se agregó 1 L de solución madre de EMAs , al recipiente se le acopló una trampa de agua para facilitar la salida de gases y se cubrió por el periodo de 5 días, la dosis a aplicar es de $1 \text{ L} / \text{m}^3$, se debe conservar la mezcla a 25-40 °C. Se aplicaron los concentrados bacterianos en los días 1, 15 y 30, el número de UFC a inocularse fue determinado por la Ecuación 2-1.

Para verificar la eficacia de la estimulación magnética se efectuó recuento unidades formadoras de colonias en tres fechas que se muestran a continuación:

Fecha 1: 01 de abril del 2015

Fecha 2: 01 de mayo del 2015

Fecha 3: 01 de junio del 2015

2.7.2 Monitoreo durante el compostaje

Para el control de los distintos parámetros del proceso de compostaje se aplicaron las recomendaciones expuestas en el Manual de Compostaje del Agricultor Experiencias en América Latina de la FAO.

Parámetro	Rango ideal al comienzo (2-5 días)	Rango ideal para compost en fase termofílica II (2-5 semanas)	Rango ideal de compost maduro (3-6 meses)
C:N	25:1 – 35:1	15/20	10:1 – 15:1
Humedad	50% - 60%	45%-55%	30% - 40%
Concentración de oxígeno	~10%	~10%	~10%
Tamaño de partícula	<25 cm	~15 cm	<1,6 cm
pH	6,5 – 8,0	6,0-8,5	6,5 – 8,5
Temperatura	45 – 60°C	45°C-Temperatura ambiente	Temperatura ambiente
Densidad	250-400 kg/m ³	<700 kg/m ³	<700 kg/m ³
Materia orgánica (Base seca)	50%-70%	>20%	>20%
Nitrógeno Total (Base seca)	2,5-3%	1-2%	~1%

Figura 6-2 Rango ideal de los parámetros a controlar en el transcurso del proceso de compostaje.
Fuente: (Roman, 2013).

2.7.2.1 Control de la temperatura

Tomando en consideración estas distintas fases es necesario que la temperatura no decaiga demasiado rápido, puesto que por regla general se tiene que en cuanto mayor sea la temperatura mayor será la velocidad de degradación y existirá mayor higienización del material. (Román, Martínez & Pantoja, 2013, p.28)

Tabla 1-2. Control de la Temperatura

Temperatura (°C)	Causas asociadas		Soluciones
Bajas Temperaturas (T° ambiente < 35°C)	Humedad insuficiente.	Las bajas temperaturas pueden darse por varios factores, como la falta de humedad, por lo que los microorganismos disminuyen la actividad metabólica y por tanto, la temperatura baja.	Humedecer el material o añadir material fresco con mayor porcentaje de humedad (restos de fruta y verduras, u otros)
	Material Insuficiente	Insuficiente material o forma de la pila inadecuada para que alcance una temperatura adecuada.	Añadir más material a la pila de compostaje.
	Déficit de nitrógeno o baja C:N.	El material tiene una alta relación C:N y por lo tanto, los microorganismos no tienen el N suficiente para generar enzimas y proteínas y disminuyen o ralentizan su actividad. La pila demora en incrementar la temperatura más de una semana	Añadir material con alto contenido en nitrógeno como estiércol.
Altas temperaturas (T ambiente >70°C)	Ventilación y humedad insuficiente	La temperatura es demasiado alta y se inhibe el proceso de descomposición. Se mantiene actividad microbiana pero no la suficiente para activar a los microorganismos mesófilos y facilitar la terminación del proceso.	Volteo y verificación de la humedad (55-60%). Adición de material con alto contenido en carbono de lenta degradación (madera, o pasto seco) para que ralente el proceso.

Fuente: (FAO, 2013)

Realizado por: Román Pilar, 2013

2.7.2.2 Control del oxígeno

A continuación se muestra las medidas a tomar en el control de la aireación:

Tabla 2-2. Control de la aireación

Porcentaje de aireación	Problema		Soluciones
<5%	Baja aireación	Insuficiente evaporación de agua, generando exceso de humedad y un ambiente de anaerobiosis	Volteo de la mezcla y/o adición de material estructurante que permita la aireación
5% - 15% Rango ideal			
>15%	Exceso de aireación Descenso de temperatura y evaporación del agua, haciendo que el proceso de descomposición se detenga por falta de agua.	Exceso de aireación Descenso de temperatura y evaporación del agua, haciendo que el proceso de descomposición se detenga por falta de agua.	Picado del material a fin de reducir el tamaño de poro y así reducir la aireación. Se debe regular la humedad, bien proporcionando agua al material o añadiendo material fresco con mayor contenido de agua (restos de fruta y verduras, césped, purines u otros)

Fuente: (FAO, 2013)

Realizado por: Román Pilar, 2013

2.7.2.3 Control del tamaño de partícula

A continuación se muestra las medidas a tomar en el control del tamaño de la partícula:

Tabla 3-2 Control del tamaño de partícula

Tamaño de las partículas (cm)	Problema		Soluciones
>30	Exceso de aireación	Los materiales de gran tamaño crean canales de aireación que hacen bajar la temperatura y desaceleran el proceso.	Picar el material hasta conseguir un tamaño medio de 10-20 cm
5 – 20 cm Rango ideal			
< 5	Compactación	Las partículas demasiado finas crean poros pequeños que se llenan de agua, facilitando la compactación del material y un flujo restringido del aire, produciéndose anaerobiosis.	Voltear y/o añadir material de tamaño mayor y volteos para homogenizar

Fuente: (FAO, 2013)

Realizado por: Román Pilar, 2013

2.7.2.4 Control de la humedad

A continuación se muestra las medidas a tomar en el control de la humedad:

Tabla 4-2 Control de la humedad

Porcentaje de humedad	Problema		Soluciones
<45% Humedad	insuficiente	Puede detener el proceso de compostaje por falta de agua para los microorganismos	Se debe regular la humedad, ya sea proporcionando agua al material o añadiendo material fresco con mayor contenido de agua (restos de fruta y verduras, césped, purines u otros)
45% - 60% Rango ideal			
>60%	Oxígeno insuficiente	Material muy húmedo, el oxígeno queda desplazado. Puede dar lugar a zonas de anaerobiosis	Volteo de la mezcla y/o adición de material con bajo contenido de humedad y con alto valor en carbono, como serrines, paja u hojas secas

Fuente: (FAO, 2013)

Realizado por: Román Pilar, 2013

2.7.2.5 Control del pH

A continuación se muestra las medidas a tomar en el control del pH:

Tabla 5-2 Control del pH

pH	Problema		Soluciones
<4,5	Exceso de ácidos orgánicos	Los materiales vegetales como restos de cocina, frutas, liberan muchos ácidos orgánicos y tienden a acidificar el medio.	Adición de material rico en nitrógeno hasta conseguir una adecuada relación C:N.
4,5 – 8,5 Rango ideal			
>8,5	Exceso de nitrógeno	Cuando hay un exceso de nitrógeno en el material de origen, con una deficiente relación C:N, asociado a humedad y altas temperaturas, se produce amoníaco alcalinizando el medio	Adición de material más seco y con mayor contenido en carbono (restos de poda, hojas secas, aserrín)

Fuente: (FAO, 2013)

Realizado por: Román Pilar, 2013

2.8 Calidad del compost

2.8.1 Verificación física del proceso.

Para la comprobación de la calidad del compost se procedió a emplear la prueba de respiración para verificar la maduración recomendada por Román (2013):

- 1) Verificar el cese de aumento de temperatura, introduciendo un instrumento metálico (machete) en el centro de la pila por 10 minutos.
- 2) Constatar un tono oscuro, olor a suelo húmedo, no mostrar exceso de humedad al realizar la prueba de puño.
- 3) Se tomó una muestra de 100 gramos de cada pila, para introducirlas en bolsas plásticas por el lapso de dos días en un lugar fresco y seco, se debe constatar la ausencia de condensación por humedad (hinchazón de la funda).
- 4) Otra técnica empleada fue el cernido (tamizaje) con el fin de verificar el grado de descomposición se pasa por una zaranda (malla metálica) de 1,6 cm de diámetro,

2.8.2 Cromatografía de Pfeiffer

Para esta técnica se necesitó:

- 1) Deshidratar la muestra de compost por 24 horas a 70°C
- 2) Moler en un mortero hasta conseguir un polvo fino y homogéneo.
- 3) Se mezcló la muestra (1,25 g) con 25 ml de una solución alcalina (NaOH al 1%) dejando decantar por 24 horas.
- 4) Se procedió agitar de forma circular 6 veces a la derecha y seguidamente 6 veces a la izquierda por 6 veces, con ello se logró una extracción completa. La agitación se realiza a:
 - tiempo 0
 - reposo
 - a los 15 minutos
 - reposo
 - a los 60 minutos
 - reposo de 4 horas
- 5) Se realiza tres discos de papel filtro, con una perforación central, a 4 y 6 cm del centro, mediante una mecha de papel filtro se impregna nitrato de plata al 95% (revelante) hasta el primer orificio

(4cm), se deja secar en cámara oscura, la misma que debe estar a una altura del suelo entre 12 a 15 cm, humedad relativa constante entre 70 y 80 % y 21-26°C de temperatura

6) Luego se corrió la segunda impregnación, es decir de la muestra extraída con NaOH, hasta el segundo orificio (6cm)

7) Se expuso el cromatograma en la cámara oscura para el revelado lento, el mismo que tardó diez días.

Esta medida se tomó al inicial y al final del proceso de compostaje

2.8.3 Análisis fisicoquímicos

Estos parámetros fueron llevados a cabo en el Laboratorio de Suelos perteneciente a la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, los parámetros a analizar fueron: Nitrógeno (Semi-micro Kjeldah); Fósforo (colorimétrico-Molibdobanadato de Amonio); Potasio, Calcio, Magnesio, Hierro, Manganeso y Zinc (Espectrofotometría de absorción atómica); pH (potenciométrico); humedad (secado a 105 °C), además el % de materia orgánica, densidad aparente, conductividad eléctrica, % de Carbono orgánico y relación C:N. Basados en la guía de Vásquez, (2010).

2.8.4 Viabilidad

La viabilidad técnica fue comparada en base a los resultados de las distintas pruebas de calidad del producto final.

En cuanto a la factibilidad económica de la futura implementación de la investigación por parte del GAD La Concordia, se procedió a desarrollar un modelo de negocios basados en la conceptualización de la necesidad de mercado frente al producto a ofrecer con la ayuda de balances económicos.

CAPITULO 3: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 Caracterización microbiana

3.1.1 Caracterización morfológica bacteriana

Las observaciones a nivel de laboratorio permitieron agrupar las colonias de microorganismos aislados en grupos taxonómicos, de acuerdo a los siguientes parámetros:

3.1.1.1 Color

El color de las colonias bacterianas es representado en la figura 1-3, como se evidencia el color predominante fue el blanco (blanquecino) con un 75%, seguido del color amarillo y gris con 12,5% respectivamente.

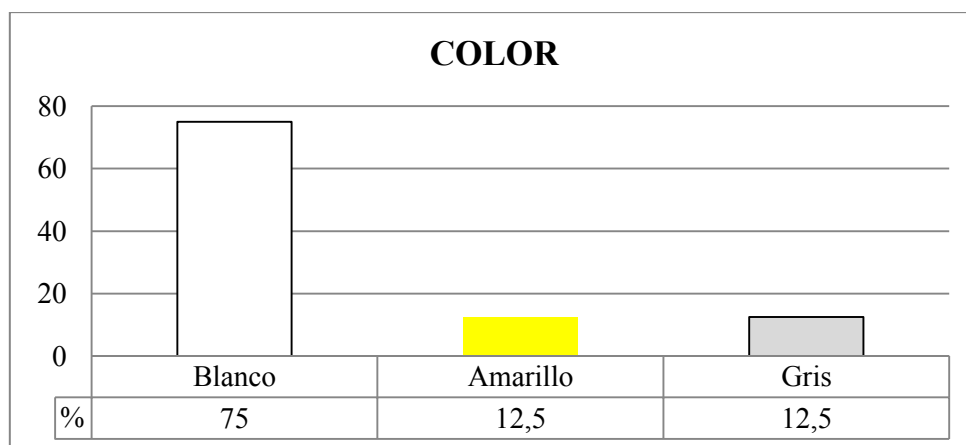


Figura 1-3 Porcentaje de colores de las colonias bacterianas aisladas.

Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

3.1.1.2 Forma

En la figura 2-3 se muestran las formas más predominantes de las colonias bacterianas aisladas, se logró evidenciar que la forma más común fue la circular con un 37,5 % en su mayor parte cocos agrupados en racimos y en cadenas, al igual que la forma alargada, seguido de un 25% correspondiente a rizoide.

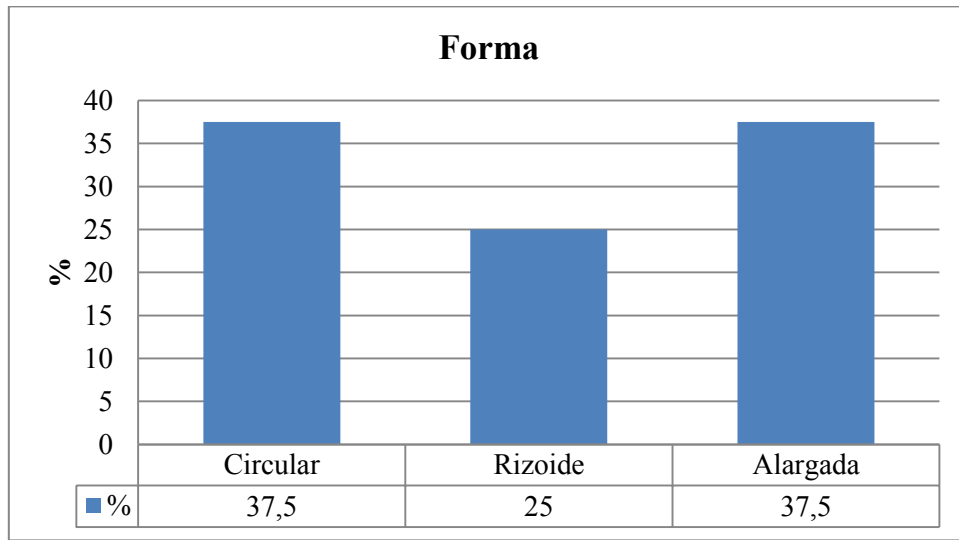


Figura 2-3 Porcentaje de forma de las colonias bacterianas aisladas.
Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

3.1.1.3 Borde

En la figura 3-3 se muestra que el borde predominante en un 50% es el entero, seguido del filamentososo y ondulado en 25% respectivamente.

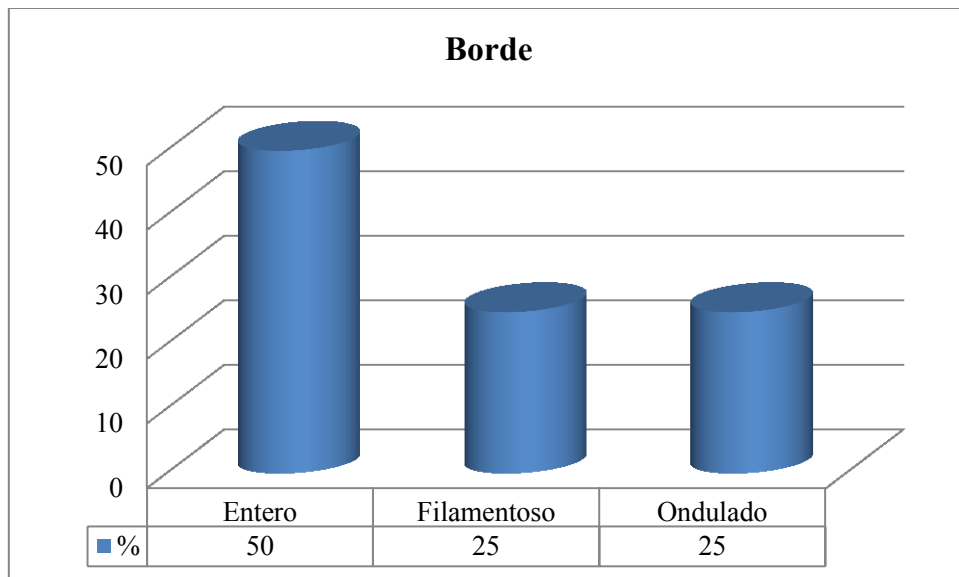


Figura 3-3 Porcentaje de borde de las colonias bacterianas aisladas.
Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

3.1.1.4 *Relieve*

En la figura 4-3 se presentan los resultados de la captura microbiana en donde el relieve predominante es el convexo con 75%, seguido del papilado y rizoide con 12,5 % por igual.

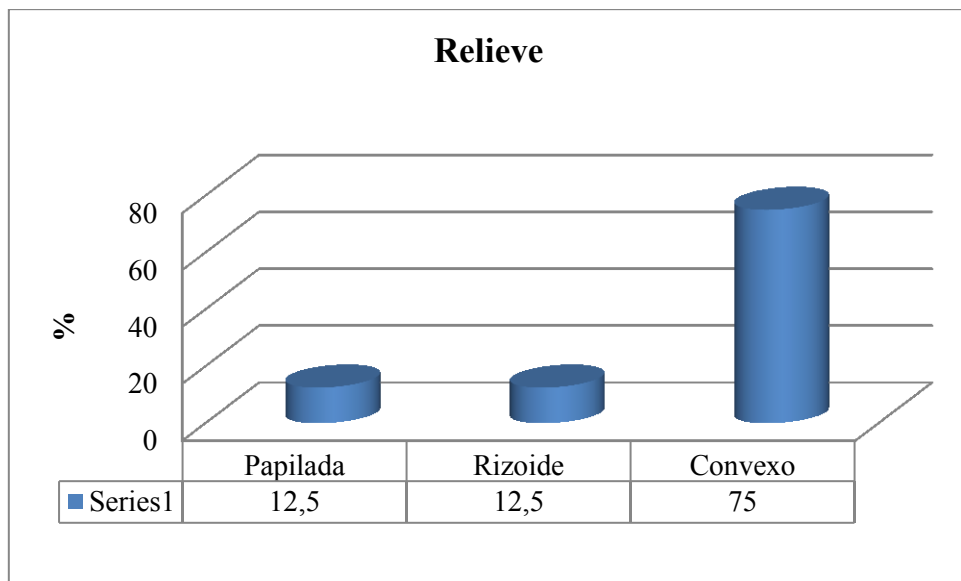


Figura 4-3 Porcentaje de relieve de las colonias bacterianas aisladas.

Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

3.1.2 *Tinción Gram*

Las ocho cepas bacterianas aisladas reportaron ser 100% Gram negativas, en la tabla 1-3 se presentan los resultados de las cepas codificadas.

Tabla 1-3. Caracterización preliminar de las cepas bacterianas aisladas.

Bacteria	Color	Forma	Borde	Relieve	Tinción
01-NMH	Gris	circular	entero	convexo	Gram (-)
02-NMH	Blanco	alargada	entero	convexo	Gram (-)
03-NMH	Blanco	circular	ondulado	rizoide	Gram (-)
04-NMH	Blanco	circular	entero	convexo	Gram (-)
05-NMH	Amarillo	alargada	ondulado	convexo	Gram (-)
06-NMH	Blanco	alargada	entero	convexo	Gram (-)
07-NMH	Blanco	rizoide	filamentoso	convexo	Gram (-)
08-NMH	Blanco	rizoide	filamentoso	papilada	Gram (-)

Realizado por: Nelson Mecias

Con estos datos se presume que las cepas estudiadas pertenecen a familia Enterobacteriaceae, en investigaciones similares de caracterización realizadas en el Ecuador, en zonas de características similares se encontró en torno a 33% de bacterias Gram negativas, las cuales poseen características similares a las encontradas en la presente investigación. (Enríquez et.al, 2010, pp.1-9)

3.1.3 Análisis de pruebas bioquímicas

3.1.3.1 Prueba de catalasa

Mediante esta prueba se evidenció que las ocho especies bacterianas reaccionaron positivas a la degradación de peróxido de hidrógeno.

Tabla 2-3. Resultados de la prueba de catalasa.

Bacteria	Prueba de catalasa
01-NMH	+
02-NMH	+
03-NMH	+
04-NMH	+
05-NMH	+ (leve)
06-NMH	+
07-NMH	+
08-NMH	+

Realizado por: Nelson Mecias

3.1.3.2 Prueba Oxido-fermentativa

En esta investigación se evidenciaron que la mayoría de las cepas microbianas resultaron oxidasas positivas (75%) lo que indica que trabajan en condiciones aerobias, mientras que el restante resultó oxidasa negativa (25%) es decir fermentan la materia orgánica, en la siguiente tabla 3-3 se presentan los resultados:

Tabla 3-3. Resultados de la prueba oxido- fermentativa

Bacteria	Prueba oxido-fermentativa
01-NMH	+
02-NMH	-
03-NMH	+
04-NMH	-
05-NMH	+
06-NMH	+
07-NMH	+
08-NMH	+

Realizado por: Nelson Mecias

3.1.3.3 Kit de pruebas bioquímicas *MicrogenGN-ID(A+B)*

Con la ayuda del kit se logró confirmar de qué especie microbiana se trataba cada especie bacteriana aislada.

Tabla 4-3. Resultados del kit *MicrogenGN-ID(A+B)*

Bacteria	Especie microbiana
01-NMH	<i>Moraxella spp.</i>
02-NMH	<i>Klebsiella ozaenae</i>
03-NMH	<i>Actinobacillus spp.</i>
04-NMH	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
05-NMH	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
06-NMH	<i>Shewanella putrefaciens</i>
07-NMH	<i>Alcaligenes faecalis type 11</i>
08-NMH	<i>Pseudomonas stutzeri</i>

Realizado por: Nelson Mecias

Los microorganismos identificados mediante esta serie de pruebas son de vital importancia en procesos biotecnológicos referentes al cuidado ambiental. A continuación se enlistan algunas de las propiedades de cada uno de ellos:

Tabla 5-3. Características de los microorganismos aislados

Especie microbiana	Importancia
<i>Moraxella spp.</i>	Investigaciones demuestran la eficacia de <i>Moraxella spp.</i> , como una cepa útil para bioconversión de residuos sólidos orgánicos, ello en comparación con <i>Cellulomonas spp.</i> y <i>Planococcus spp.</i> . (Barman & otros, 2011, pp. 1-7)
<i>Klebsiella ozaenae</i>	Ensayos demostraron que esta especie reveló la presencia nitrilasa (EC 3.5.51) siendo capaz de convertir 0.05% de bromoxinil (herbicida) ácido 3,5-dibromo-4-hidroxibenzoico y emplear el amoníaco liberado como única fuente de nitrógeno. (McBride, Kenny & Stalker, 1986, pp. 325 -330)
<i>Actinobacillus spp.</i>	Capaz de fermentar los hidratos de carbono (sin producción de gas) y de reducir los nitratos, se adaptan a temperaturas altas durante el proceso de compostaje. (Saggu & Shrivastava , 2013 , pp.33-41)
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Esta bacteria ha sido emplea en la biodegradación, lixiviación y eliminación de varios residuos orgánicos e inorgánicos artificiales peligrosos, así mismo en la producción de bioproductos importantes. (Abdel, 2003, pp. 1-3)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Es un excelente fermentador de lactosa, glucosa, maltosa, inositol y sorbitol. No todos son patógenos para los humanos. (Vasanthakumari, 2007, p. 275)
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Estudios ha revelado la capacidad reductora de metal, tales como hierro, manganeso y otros elementos en agua dulce estacionalmente anóxicas. (DiChristina & DeLong, 1993, pp. 4152-4160)
<i>Alcaligenes faecalis type 11</i>	Las propiedades de esta bacteria han demostrado promover la biodegradación de hidrocarburos de petróleo ya que produce biotensoactivos. (Bharali, , Konwar, & Thakur, 2001, pp.682-690.)
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Esta especie es una excelente fijadora de nitrógeno, también al tener la capacidad de metabolizar una amplia gama de sustratos han sido aplicable en la biorremediación y tratamiento de aguas residuales. (Grüntzig, Nold , Zhou & Tiedje, 2001, pp. 760-768)
<i>Streptomyces spp.</i> *	Tiene una amplia capacidad de hidrolizar compuestos como la quitina, celulosa, hemicelulosas y proteínas, en el proceso de compostaje son los encargados de brindar el olor característico a tierra, así mismo tienen la capacidad de biodegradar poliésteres microbianos como polihidroxicanoatos. (Yashchukgia & Miyazaki , 2007, pp.21-29.)

* esta cepa es catalogada como un actinomiceto y fue identificada morfológicamente , su estructura encaja dentro de las especies bacterianas identificadas.

Realizado por: Nelson Mecías

3.1.4 Otras especies microbianas identificadas

Con la ayuda del Compendium of Soil Fungi (Domsch, K et al 2007) se logró identificar las siguientes especies fúngicas y levaduras:

Tabla 6-3. Características de los microorganismos aislados

Especie	Características	Importancia
<i>Aspergillus spp.</i>	-Hongo filamentoso -Color verde oliváceo a verde amarillento -Micelio blanco con conidios -Textura lanosa	Descompone desechos orgánicos complejos, produce proteasa alcalina empleada como agente depilante. (Malathi & Chakraborty, 1991, pp. 712-716)
<i>Penicillium spp.</i>	- Hongo -Tono verde a blanco	Esta especie es ampliamente usada como potencial remediador frente a derrames de petróleo. (Ijah & Anta, 2003, pp 89-95)
<i>Aspergillus niger</i>	-Hongo -Color negro o marrón muy oscuro. - Reproducción asexual.	Este hongo es ubicuo debido a su gran facilidad de colonizar sustratos. Investigaciones demuestran que junto a <i>Penicillium spp.</i> poseen un gran potencial bioabsorción de plomo y cobre. (Kumar, 2004, pp 480-490)
<i>Aureobasidium pullulans</i>	- Levadura - Color negro - Epífita de origen natural	Se caracteriza por producir amilasa, proteasa, lipasa, celulasa, xilanasa, mananasa, transferasas, pululano, sideróforos, entre otras enzimas, siendo de vital importancia en procesos de degradación de sustratos, remediación ambiental y control biológico. (Chi, et al., 2009, pp. 793–804.)

Realizado por: Nelson Mecías.

Como se constata estas especies microbianas desempeñan un gran rol en la mineralización, biodegradación y saneamiento de la calidad del compost.

3.2 Estimulación magnética

La intensidad de campo magnético empleado por el prototipo empleado dio resultado la producción de un campo magnético de 9,83 miliTesla (mT) lo que equivale a 98,3 Gauss (G), el mismo que fue aplicado por el lapso de 1 hora.

Este rango de estimulación y su eficacia se verificaron con el recuento de número de microorganismos presentes en los tres tratamientos (pilas), cabe indicar que el recuento inicial corresponde al inóculo aplicado por aspersión con una concentración de 3×10^7 UFC/mL en las pilas 2 y 3.

Se realizó un recuento del número de unidades formadoras de colonias en las fechas, que se muestran a continuación.

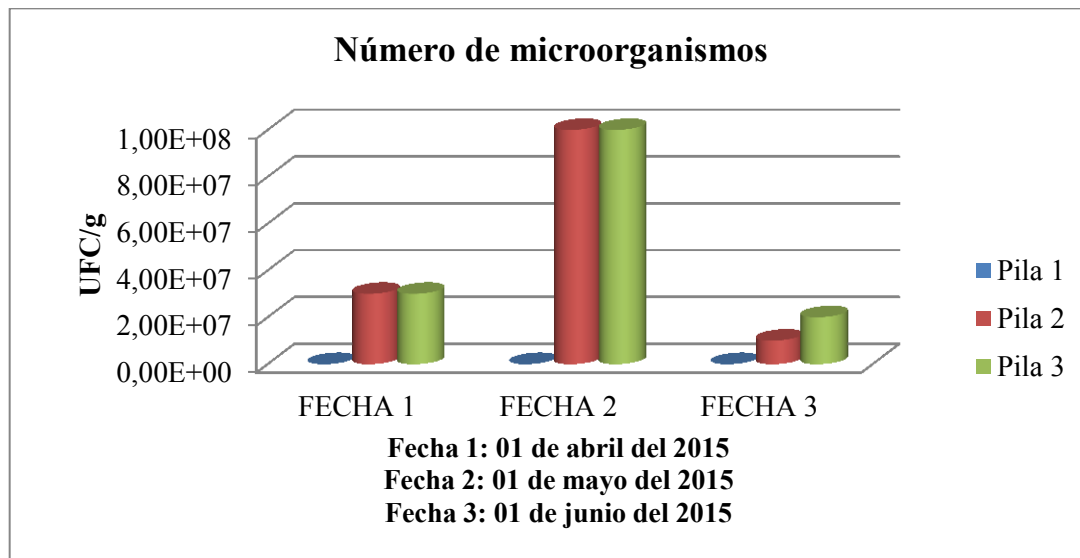


Figura 5-3 Conteo de microorganismos en las pilas de compost.

Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

3.3 Tiempo de degradación

Cromatografía de Pfeiffer como medio de control

Esta prueba cualitativa evidenció la gran diferencia entre la actividad mineral – biológica presente entre las pilas 1 (Figura 6-3) y las Pilas 2 (Figura 7-3) y 3 (Figura 8-3) con EMAs sin estimulación y estimulados respectivamente, como se muestra las pilas 2 y 3 no poseen diferencias significativas entre sí, ya que ambas al presentar amplias ramificaciones y vinculación entre capas demuestran un

excelente grado de disponibilidad de nutrientes , ello gracias a la interacción entre la fracción biológica y la mineral.

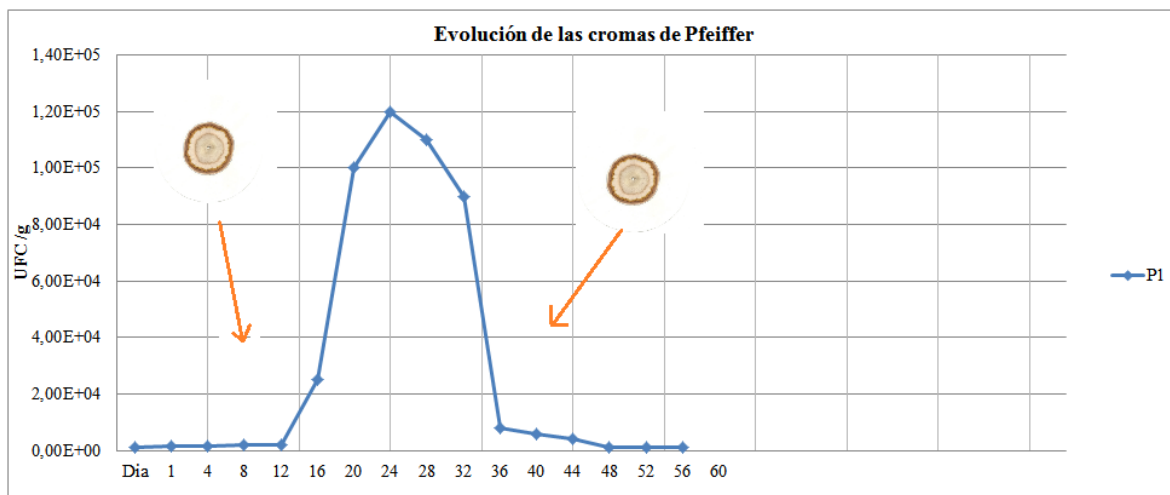


Figura 6-3 Evolución de las cromas de Pfeiffer en la pila 1 (testigo).

Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

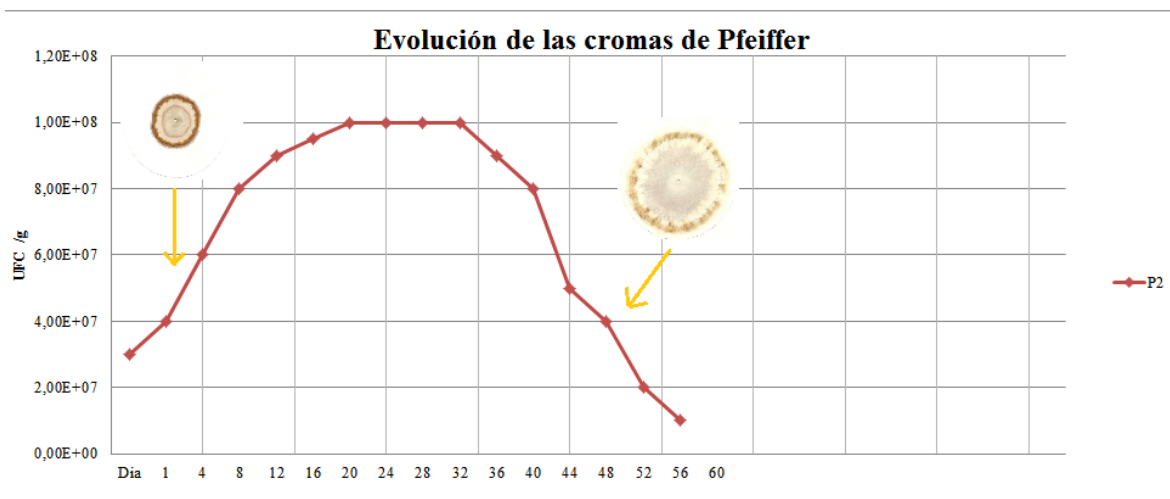


Figura 7-3 Evolución de las cromas de Pfeiffer en la pila 2.

Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

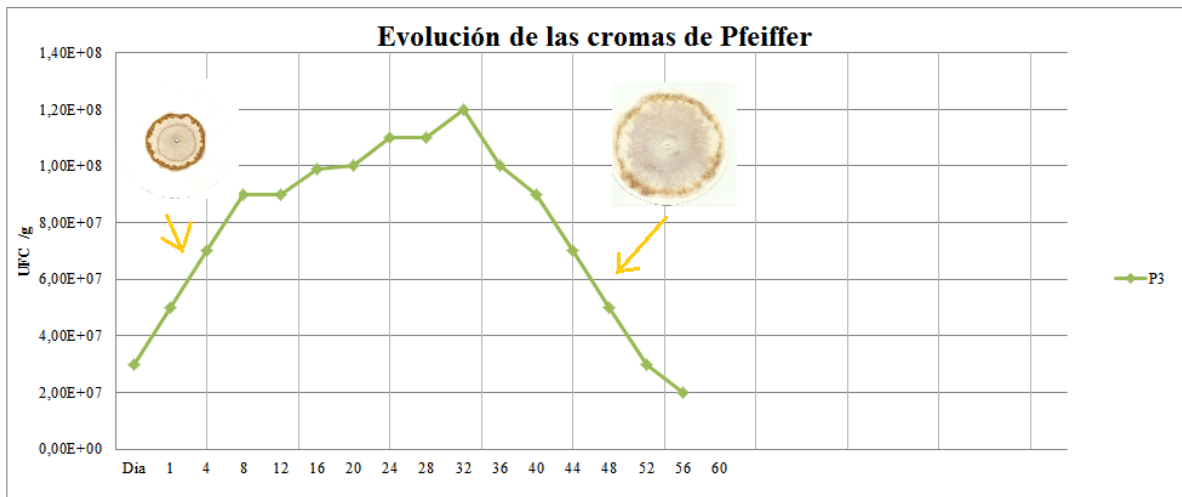


Figura 8-3 Evolución de las cromas de Pfeiffer en la pila 3.

Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

Control de la temperatura

Como se muestra en la figura 9-3 los resultados la variación de la temperatura ha sido similar entre los tratamientos en la pila 2 y pilas 3, se ha manifestado disminución de temperatura, ello causa de la menor presencia de microorganismos descomponedores, también se evidencian las marcadas fases térmicas del proceso, al inicio temperatura ambiente, al cabo de tres días se constató un aumento gradual propio de la fase termofílica (higienización) la misma que se mantuvo hasta mediados del mes de mayo, de allí en adelante la temperatura decrece hasta alcanzar la temperatura ambiente indicativo del cese del proceso.

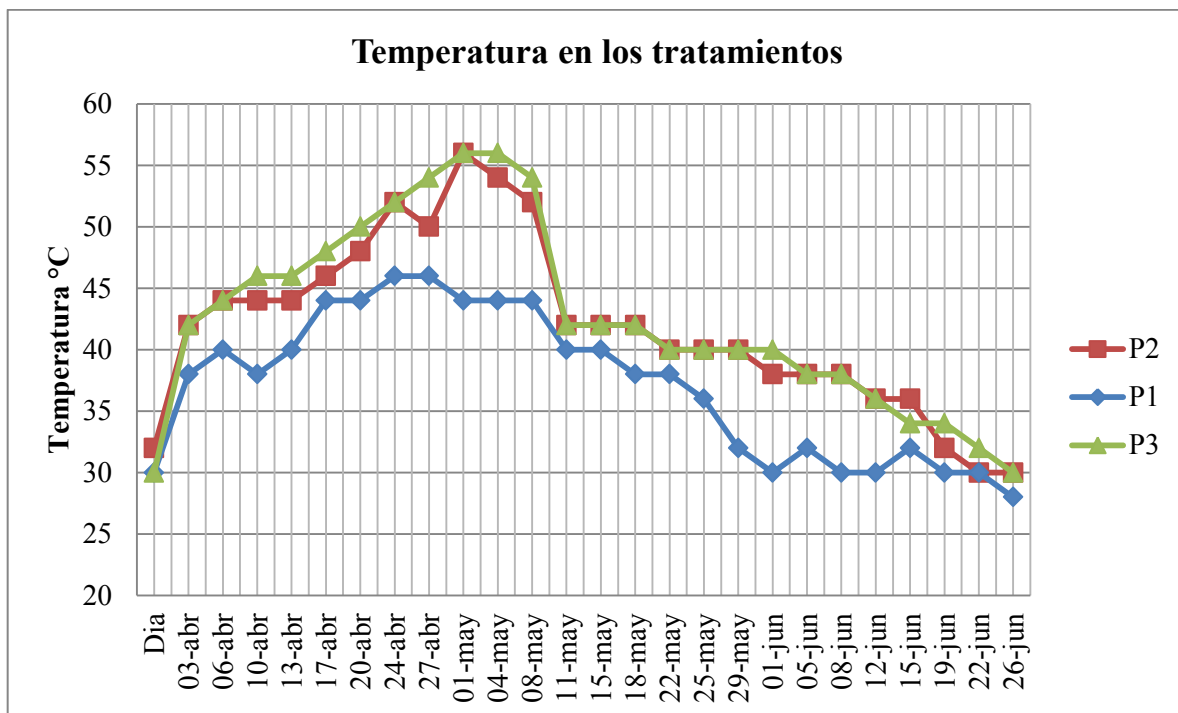


Figura 9-3 Monitoreo de temperatura en las pilas de compost.

Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

Control del pH

En el transcurso del proceso de monitoreo los cambios de pH teniendo como se muestra en la figura 7-3. Cabe indicar que los valores finales se hallan dentro de los rangos permitidos por la norma Colombiana 5167 de calidad de enmiendas y abonos, el proceso arranco pH ligeramente ácidos, los mismos que se acidificaron un poco debido a la producción de ácidos orgánicos, hasta luego estabilizarse cercano al neutro a los 60 días debido a la formación de NH_3 , para finalmente alcanzar valores alcalinos, indicativo del cese de la actividad degradadora.

Tabla 7-3 Medias de pH durante los 90 días del proceso

Tratamientos	Tiempo 0	30	60	90
P1	6,3	6,5	7	8,02
P2	6,7	5,6	7,1	8,2
P3	6,6	5,1	7,87	8,1

[P1 testigo; P2 EMAs sin estimulacion; P3 EMAs estimulados]

Realizado por: Nelson Mecias

Con los datos obtenidos se obtuvo el siguiente análisis de varianza (al 95 % de confianza):

Tabla 8-3 ANOVA seguimiento del pH durante los 90 días del proceso

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,006316667	2	0,003158333	0,0026	0,997	4,256
Dentro de los grupos	10,941975	9	1,215775			
Total	10,94829167	11				

Realizado por: Nelson Mecias

Se acepta la hipótesis nula, no existen diferencias significativas entre las medias de los 3 tratamientos en el transcurso del proceso, ello a que en las pilas 2 y 3 se evidenció el cese de la descomposición en cambio en la pila 1 se deba posiblemente a la baja actividad microbiana en el lapso de tiempo estudiado.

Control de la relación C/N

Este parámetro fue analizado durante el lapso de los 90 días de monitoreo, mostrando un leve cambio en cuanto a la disponibilidad de nutrientes en la pila 1 (testigo) en comparación con los demás tratamientos, aquí se muestra que la mejor relación se halla en la pila con estimulación magnética lo que demuestra un grado descomposición más alto que en las demás pilas.

Tabla 9-3 Medias de C:N durante los 90 días del proceso

Tratamientos	Tiempo 0	30	60	90
P1	0,7	0,9	2	2,8
P2	0,63	1,4	3,2	4,3
P3	0,8	1,7	5,1	6

[P1 testigo; P2 EMAs sin estimulación; P3 EMAs estimulados]

Realizado por: Nelson Mecias

Con los datos obtenidos se obtuvo el siguiente análisis de varianza al 95 % de confianza :

Tabla 10-3 ANOVA seguimiento del C:N durante los 90 días del proceso

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	6,516816667	2	3,258408	0,959	0,419	4,257
Dentro de los grupos	30,581675	9	3,3979639			
Total	37,09849167	11				

Realizado por: Nelson Mecias

Se acepta la hipótesis nula, no existen diferencias significativas entre las medias de los 3 tratamientos en el transcurso del proceso, pese que a simple vista de evidencia la variación en cuanto al resultado final de la relación C:N, estadísticamente no se evidencia un cambio significativo entre dicho valor en las tres pilas.

Tamizado como medio de verificación final

En la tabla 11-3 se muestra los pesos finales de la materia orgánica descompuesta que fueron dispuestos para el tratamiento (375 kg), por regla general se tiene que el contenido de agua en los residuos fluctúa entre los 70 – 80%, es así que al final del proceso se esperaba obtener unos 97,5 kg (26% del volumen total) es así que a los tres meses del proceso por medio del tamizado del producto final de cada pila se logró constatar que la pila más eficiente en cuanto al volumen esperado fue la pila 3 (EMAs con estimulación magnética) ya que se obtuvo 85 kg (87,18%) , seguida de la pila 2 (EMAs) con 77 kg (78,97%) y finalmente la pila 1 (testigo) con 34 kg (34,87%). Lo que nos demuestra que el proceso acelera la descomposición de los residuos orgánicos en por lo menos de la mitad del tiempo esperado por el proceso natural.

Tabla 11-3 Peso en kilogramos del producto tamizado durante los 90 días del proceso

Tratamientos	15	30	60	90
P1	3	6	11	34
P2	21	41	62	77
P3	27	48	70	85

[P1 testigo; P2 EMAs sin estimulacion; P3 EMAs estimulados]

Realizado por: Nelson Mecias

La cantidad final de residuos degradados y tamizados revela un incremento significativo (aprox. el doble) por parte de las pilas 2 y 3 frente a cantidad final obtenida en la pila 1. Esto debido a la actividad microbiana presente en los tratamientos de las pilas 2 y 3.

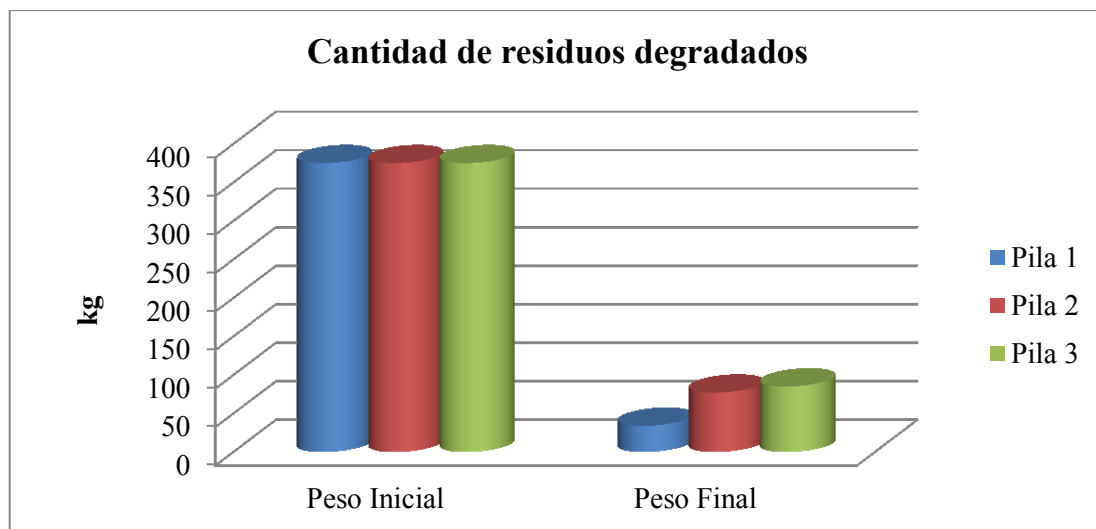


Figura 10-3 Cantidad de residuos orgánicos degradados.

Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

Con los datos obtenidos en la tabla 11-3 se procedió a realizar el análisis de varianza constatando lo expuesto en la tabla 12-3

Tabla 12-3 ANOVA seguimiento del peso del tamizado durante los 90 días del proceso

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	4452,166667	2	2226,083333	4,637	0,0413	4,257
Dentro de los grupos	4320,75	9	480,0833333			
Total	8772,916667	11				

Realizado por: Nelson Mecias

Se rechaza la hipótesis nula, existen diferencias significativas entre las medias de los 3 tratamientos en el transcurso del proceso. Al evidenciar que al menos una de la medias es diferente de las demás se procedió a realizar los siguientes test:

Se realizó el test de contrastes en donde se evidencia que el Tratamiento A (P1) es el de mayor variabilidad en relación a los tratamientos B y C que son más homogéneos.

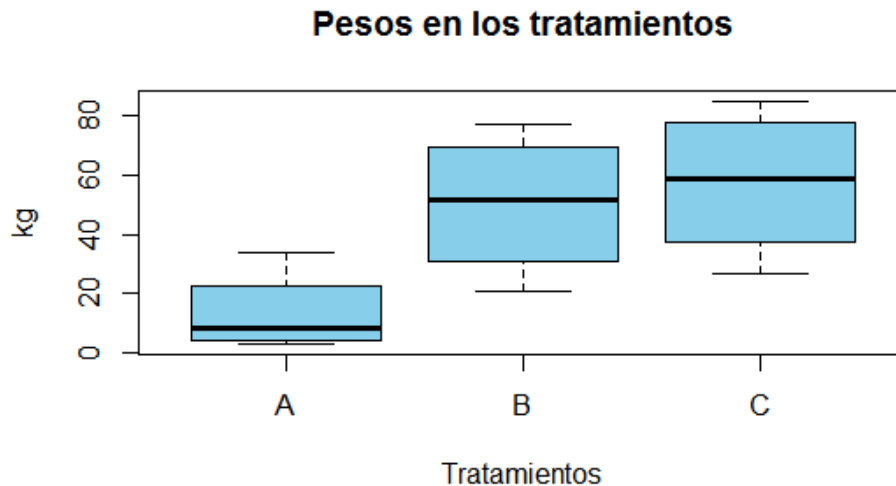


Figura 11-3 Test de contraste entre los tres tratamientos.

Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

Se procedió a realizar el gráfico de medias, afín de constatar que tratamiento es el difiere de los otros, se constató que la comparación entre tratamientos que más difiere es la del peso de la pila 3 y la pila 1 (C-A).

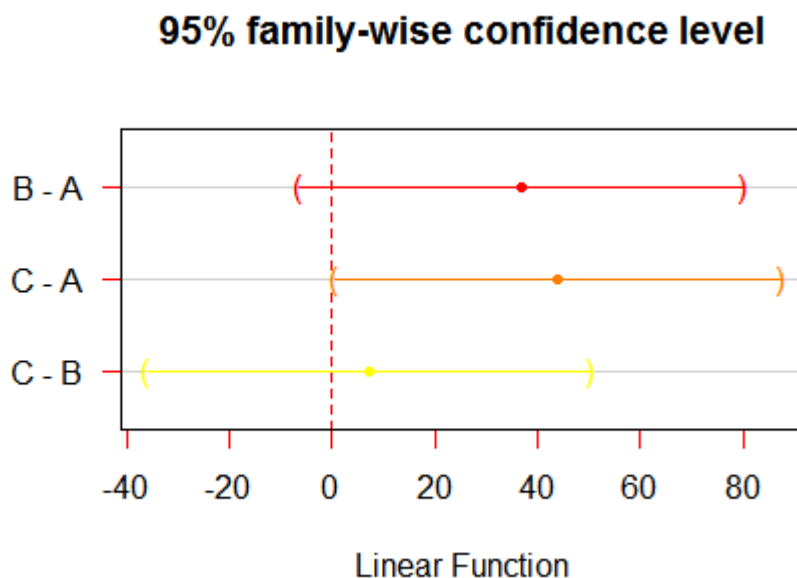


Figura 12-3 Gráfico de medias entre los tres tratamientos.
Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

A continuación se muestran los análisis de laboratorio realizados tanto al inicio como al final de proceso en donde se evidencia la gran evolución del proceso, la mayoría de mayoría de parámetros cumplen con los rangos establecidos por la norma 5167 para la calidad de enmiendas de suelo y abonos, cabe indicar que en el caso de la pila 1 se evidencian parámetros muy bajos como el caso de la cantidad de calcio, % de carbono orgánico lo mismo que es indicativo de la inmadurez del proceso en este tratamiento.

Tabla 13-3 Resultados de los parámetros fisicoquímicos iniciales en las tres pilas

Parámetro	Pila 1	Pila 2	Pila 3	Sustrato orgánico (Norma 5167)
pH	6,3	6,7	6,6	<9
Materia Orgánica (%)	1,2	1,1	1,4	
Densidad aparente (g/cm ³)	1,1	1,2	1,0	<0,6
Conductibilidad eléctrica (mS)	4,3	5,1	7,9	
Humedad (%)	65,67	63,05	63,24	≤ 40
Carbono orgánico (%)	0,70	0,63	0,81	>15
Relación C:N	0,70	0,30	0,62	<20
Nitrógeno (%)	1,0	2,1	1,3	1,15 -1,5
Fosforo (%)	0,20	0,13	0,15	>0,5
Potasio (%)	0,98	0,87	0,80	>1,5
Calcio (%)	1,2	0,8	0,75	>9
Magnesio (%)	0,65	0,57	0,71	>0,75
Manganeso (ppm)	2,1	3,2	1,9	
Zinc (ppm)	3,5	2,7	3,1	
Hierro (ppm)	6,3	6,7	6,6	

Realizado por: Nelson Mecias

Tabla 14-3 Resultados de los parámetros fisicoquímicos finales en las tres pilas.

Parámetro	Pila 1	Pila 2	Pila 3	Sustrato orgánico (Norma 5167)
pH	8,01	8,21	8,08	<9
Materia Orgánica (%)	7,5	7,3	7,3	
Densidad aparente (g/cm ³)	1,1	1,2	1	<0,6
Conductibilidad eléctrica (mS)	4,3	5,1	7,9	
Humedad (%)	37,9	38	49,6	≤ 40
Carbono orgánico (%)	4,4	14,3	14,2	>15
Relación C:N	2,8	4,3	6	<20
Nitrógeno (%)	1,54	0,98	0,7	1,15 -1,5
Fosforo (%)	0,28	0,45	0,51	>0,5
Potasio (%)	1,1	1	1,3	>1,5
Calcio (%)	1,8	12	10	>9
Magnesio (%)	0,85	0,75	1	>0,75
Manganeso (ppm)	2,3	3,1	2,1	
Zinc (ppm)	3,7	2,9	3,5	
Hierro (ppm)	2,8	3,9	4,8	

Realizado por: Nelson Mecias

3.4 Viabilidad técnica y económica

El proyecto de investigación demostró cumplir con los lineamientos, condiciones técnicas y operativas para acortar el tiempo de producción de compost a partir residuos orgánicos.

A su vez la técnica empleada reduce costos significativos en cuanto al costo actual que el GAD La Concordia viene empleando para el manejo de los residuos orgánicos, de los cuales no obtiene ningún retorno económico. En la tabla 15-3 de muestra el modelo de negocio CANVAS que plantea en lenguaje sencillo el beneficio a obtener frente a las demandas de mercado actual.

Tabla 15-3 Modelo de negocio CANVAS

<i>Problemas</i>	<i>Solución</i>	<i>Proposición única de mercado</i>	<i>Ventaja diferencial</i>	<i>Segmentos de clientes</i>
<p>Exceso de desechos orgánicos.</p> <p>Poca disponibilidad de tiempo y espacio para tratamiento.</p> <p>Falta de aprovechamiento de los residuos orgánicos.</p>	<p>Tratar los desechos de una forma eficiente</p> <p>Optimizar tiempos de tratamiento con Microorganismos Eficientes Autóctonos (EMAs)</p> <p>Aprovechar los residuos mediante técnicas como compostaje , bioles , etc..</p>	<p>Este consorcio de EMAs busca optimizar tiempo de tratamiento de residuos orgánicos que en la actualidad son un grave problema ambiental y económico, esta técnica amigable con el ambiente se busca reducir tiempos de degradación de residuos y obtener productos que contribuyan al mejoramiento de suelos.</p>	<p>Sin duda la estimulación magnética a EMAs en una zona equinoccial lo que sin duda potenciaría su poder degradador de residuos.</p> <p>Al ser una zona de alta biodiversidad se encuentran microorganismos con potencial uso.</p>	<p>GAD municipales y provinciales del país.</p> <p>Industrias agroindustriales</p> <p>Fincas y plantaciones.</p>
<i>Métricas clave</i>	<i>Estructuras de costes</i>		<i>Flujos de ingreso</i>	
<p>Intensidad adecuada para estimular los EMAs</p> <p>Consortio microbiano más eficiente</p> <p>Tiempo de degradación</p>	<p>En total el proyecto requeriría unos \$300 aproximadamente para la construcción del prototipo de estimulación, el proceso de investigación minuciosa costó \$1613 y la puesta en marcha con un capital semilla requerirá cerca de unos \$18000/año.</p>		<p>El consorcio de EMAs estimulados tendría costo accesible y proyectaría una tasa de retorno de alrededor del 24%, la misma que sería mayor a la tasa del costo de capital que estaría en torno al 11%.</p> <p>El costo del empleo de fertilizantes químicos esta en torno a los \$20/ ha, con esta técnica natural prevé \$12/ha.</p> <p>El GAD La Concordia actualmente tiene un gasto aproximado de \$31/Tonelada sin retorno alguno. Con el empleo de estos microorganismos se prevé una venta de acondicionador de suelo producto del compost en torno a los \$200/Tonelada, generando un amplio margen de rentabilidad.</p>	

Realizado por: Nelson Mecias

A continuación en la tabla 16-3 de muestran los gastos de inversión para la investigación del proceso lo mismo que servirá de punto de partida para proyectar el posible margen de recuperación de la inversión.

Tabla 16-3 Costos de insumos, materiales y gestión técnica

Descripción	Precio
Talento humano	200,00
Reactivos de laboratorio	371,89
Kit Microgen ID	560,00
Análisis de laboratorio	285,60
Movilización	56,00
Imprevistos	140,00
TOTAL	1.613,49

Realizado por: Nelson Mecias

De acuerdo a los gastos realizados se el consorcio microbiano le costará al municipio \$12/L con este volumen se podrá tratar 1 m³ a lo largo del periodo. Como resultado se obtiene que el GAD podría vender el abono obtenido en torno a \$200/Ton, lo que frente a los gastos de inversión constituye un negocio rentable que generaría unos \$300.000 al finalizar el año de producción, lo que sin duda contribuirá a cubrir los gastos de recolección, pagos administrativos y otros. En el anexo G se muestran el flujo de caja proyectado a un año.

En la figura 13-3 se muestra la proyección de las ganancias por el empleo de la tecnología a 5 años, como se evidencia la ganancias en ese lapso alcanzaría aproximadamente \$1'560.240 fondos que se podrían emplear en el mantenimiento de la planta de reciclaje, adquisición de maquinarias, campañas de concienciación, gastos de la instalación, etc...

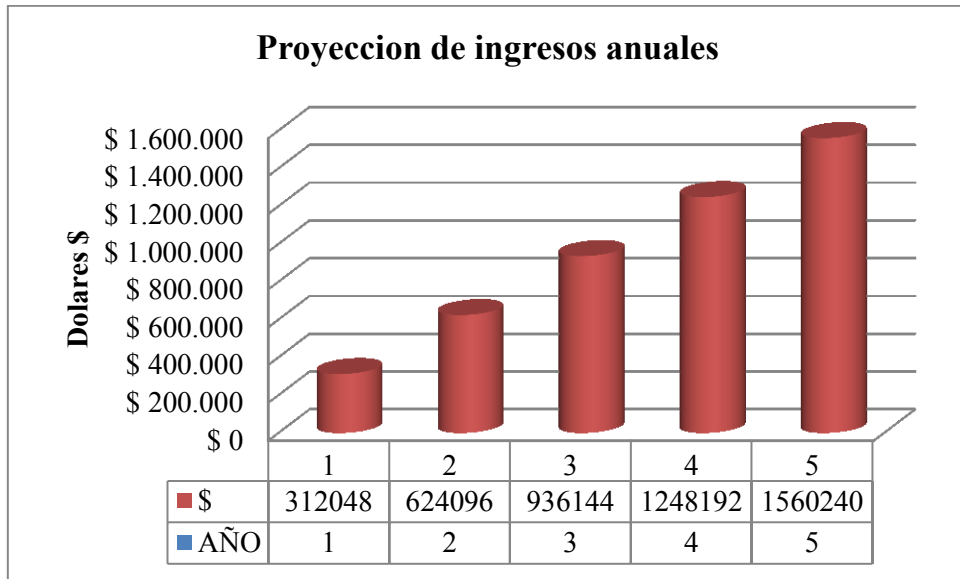


Figura 13 -3. Proyección de ingresos a 5 años

Fuente: Realizado por: Nelson, M. 2015.

CONCLUSIONES

Esta investigación evaluó un sistema de estimulación magnética aplicado a Microorganismos Eficientes Autóctonos (EMAs) para el tratamiento de residuos orgánicos para el GAD del Cantón La Concordia, la eficacia del sistema bioestimulador fue demostrada al conseguir una disminución del 50% en el tiempo requerido para la obtención de compost, lo que demuestra que a más de optimizar el tiempo de producción, garantiza la calidad del producto final (NTC 5167, 2004) y produce rentabilidad en su empleo.

La caracterización de microorganismos de la zona mediante el uso de pruebas morfológicas y bioquímicas estandarizadas permitió reconocer la presencia de especies con potencial capacidad de degradación de los constituyentes de la materia orgánica como: *Moraxella spp*, *Klebsiella ozaenae*, *Actinobacillus spp*, *Acinetobacter lwoffii*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Shewanella putrefaciens*, *Alcaligenes faecalis type 11*, *Pseudomonas stutzeri*, *Streptomyces spp*, *Aspergillus spp*, *Penicillium spp*, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans*.

La magnitud de campo magnético aplicado a los EMAs mediante el uso de un solenoide con bobina de dimensiones 11 cm x 5,5 cm, 350 vueltas de alambre y con la conducción de una corriente de 0,0123 Amperios permitió obtener un campo magnético de 9,83 miliTesla (mT) que fue ideal para incrementar la actividad metabólica y reproductiva de los microorganismos sometidos al mismo.

El tiempo de compostaje se llevó a cabo en 3 meses, en comparación a los 6 meses que toma el proceso natural (FAO, 2013), esto se comprobó mediante el análisis de los resultados del monitoreo de variables como pH, temperatura, humedad, macro y micronutrientes, C:N, cantidad de producto final, cromatografía de Pfeiffer, entre otros que permitieron comprobar la idoneidad del producto final en las pilas 2 y 3 en contraste a la pila 1 que no se encontró en el nivel de madurez requerido.

La viabilidad técnica y económica de la investigación fue determinada con el empleo de análisis costo-beneficio reflejado en la proyección del flujo de caja anual, demostrando que al implementar esta técnica en la Estación de Transferencia La Concordia a más de reducir el tiempo y espacio para la obtención de compost se generarían importantes ingresos en el orden de \$300.000 al año por el expendio del producto final, contribuyendo al cuidado ambiental y a la rentabilidad del proceso.

RECOMENDACIONES

Demostrada experimentalmente la factibilidad del proceso se sugiere a la Dirección encargada de la Estación de Transferencia La Concordia implementar el sistema de estimulación magnética aplicado a EMAs ya que ello trae una serie de beneficios tanto operativos como económicos.

Se recomienda capacitar al personal a cargo de la operación de la Estación de Transferencia La Concordia a fin de que puedan poner en marcha la aplicación de esta técnica amigable y rentable para el ambiente.

La inocuidad en el proceso requiere la instalación de un laboratorio piloto en las instalaciones donde se desarrolla el compostaje.

BIBLIOGRAFÍA

ABDEL, D. “Acinetobacter: environmental and biotechnological applications”. *African Journal of Biotechnology*. [en línea], 2003, (Kenya) 2(4), pp. 1-3. [Consulta: 04 julio 2015]. ISSN 1684-5315.

Disponible en:

<http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/14828>

ARÉVALO, L. Degradación de residuos de cosecha de caña de azúcar.[en línea]. Cali-Colombia Biblioteca Digital del Sector Agroindustrial de la Caña de Azúcar de Colombia, 2002.

[Consulta: 04 abril 2015]. Disponible en:

<http://bibliotecadigital.cenicana.org:8080/handle/item/3562>

BARMAN, D; et. al. “Isolation of Cellulytic Bacterial Strains from Soil for Effective and Efficient Bioconversion of Solid Waste”. *Life Sciences and Medicine Research*, [en línea], 2011, (India) 2011(25) , pp. 1-7. [Consulta: 04 julio 2015]. Disponible en:

http://astonjournals.com/manuscripts/Vol2011/LSMR-25_Vol2011.pdf

BHARALI, P., KONWAR, B., & THAKUR, A. “Crude biosurfactant from thermophilic *Alcaligenes faecalis*: Feasibility in petro-spill bioremediation”. *Internation Biodeterioration & Biodegradation* [en línea], 2001. (India) 65(5), pp. 682-690. [Consulta: 04 julio 2015].

ISSN: 0964-8305. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.04.001>

BERNAL, J ; et.al. “Influencia de imanes permanentes en la variación de la materia orgánica y la actividad microbiana de tres enmiendas orgánicas”. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente* [en línea], 2004. (Colombia) 1(2), pp. 27-31. [Consulta: 05 abril 2015]. ISSN: 1692-9918.

Disponible en:

<http://www.redalyc.org/pdf/2311/231117829005.pdf>

BLAKEMORE, R. “Magnetotactic Bacteria”. *Science, New Series* [en línea], 1975 (United State of America) 190 (4212), pp. 377-379. [Consulta: 05 abril 2015]. DOI:10.1126/science.170679. .

Disponible en:

<http://www.calpoly.edu/~rfrankel/RPBSscience75.pdf>

BONILLA, C. Notas Preliminares sobre Biología del Suelo.[en línea]. Palmira-Colombia. Impreso Universitario Universidad Nacional de Colombia, 1996. [Consulta: 04 abril 2015]. Disponible en: <http://www.uneditorial.net/uflip/El-suelo-los-organismos-que-lo-habitan/index.html#/1/>

BÖRJESSON, T., STOLLMAN, U. & SCHNURER, J. “Volatile metabolites produced by six fungal species compared with other indicators of fungal growth on cereal grains”. *Appl. Environ. Microbiol* [en línea], 1992 (United State of America) 58 (48), pp. 2299-2605. [Consulta: 05 abril 2015]. PMCID: PMC195827. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC195827/>

BOTERO, E; et. al. Guía para el Manejo Integral de Residuos.[en línea]. Aburrá-Colombia. Área Metropolitana del Valle de Aburrá, 2008. [Consulta: 04 abril 2015]. Disponible en: <http://www.metropol.gov.co/Residuos/Documents/Cartillas/inst%20educativas.pdf>

CARIELLO, M., et al. “Inoculante de microorganismos endógenos para acelerar el proceso compostaje de residuos sólidos urbanos ”. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal* [en línea], 2007 (Argentina) 7 (3), pp. 26-37. [Consulta: 05 abril 2015].ISSN 0718-2791. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-27912007000300003>

COLLAZOS, A.. *Proceso de certificación de la unidad productiva de café especial la sultana de la universidad del Cauca, Municipio de Timbío. Colombia* (tesis de pregrado). Universidad del Cauca, Colombia. 2011, p. 85.

CHI, Z., WANG, F.; et. al. “Bioproducts from *Aureobasidium pullulans*, a biotechnologically important yeast”. *Applied microbiology and biotechnology* [en línea], 2009 (China) 82 (5), pp. . 793–804. [Consulta: 05 julio 2015]. DOI:10.1007/s00253-009-1882-2. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00253-009-1882-2>

DICHRISTINA, T. & DELONG, E. “Design and application of rRNA-targeted oligonucleotide probes for the dissimilatory iron- and manganese-reducing bacterium *Shewanella putrefaciens*”. *Appl. Environ. Microbiol.* [en línea], 1993 (United State of America) 59(12) , pp. 4152-4160. [Consulta: 05 julio 2015]. PMCID: PMC195879. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC195879/?page=1>

DOMSCH, K., GAMS, W. & ANDERSON, A. *Compendium of Soil Fungi*. 2^a ed. Alemania: IHW-Verlag, Eching, 2007, pp. 90-120.

ENRIQUEZ, J., VIERA, J., MENDOZA, F. “*Caracterización preliminar de aislamiento de Microorganismos, mediante la técnica de E.M., a nivel de comunidades vegetales en dos zonas de vida ecológicamente diferentes*” (tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador 2010, pp.1-9

FLÓREZ, M., MARTÍNEZ, E. & CARBONELL, M. “Germination of grass seeds subjected to stationary magnetic field” *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*, [en línea], 2008. (Colombia). 2008(7), pp. 12-17. [Consulta: 08 abril 2015] Disponible en:
<http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/xmlui/handle/10893/2607>

GORDILLO, F. et al. “Producción y evaluación del proceso de compostaje a partir de desechos agroindustriales de *Saccharum officinarum* (caña de azúcar)”. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, [en línea], 2011. (Argentina) 37(2) ,pp. 140-149 [Consulta: 08 abril 2015], ISSN 0325-8718. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86421189006>

GRÜNTZIG, V., NOLD, S.; et. al, J. “*Pseudomonas stutzeri* Nitrite Reductase Gene Abundance in Environmental Samples Measured by Real-Time PCR”. *Appl. Environ. Microbiol.* [en línea], 2001. (United State of America) 67(2), pp. 760-768. [Consulta: 07 julio 2015], PMID:PMC92645. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11157241>

HIGA, T. & PARR, J. Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment.[en línea], (Japan). International Nature Farming Research Center, 1994. Disponible en: <http://www.agriton.nl/higa.html>

HINCAPIÉ, E., TORRES, J. & BUENO, L. “Efecto del campo magnético sobre la germinación de la *Leucaena leucocephala*”. *Scientia et Technica* . [en línea], 2010. (Colombia) 16(44), pp. 337-341. [Consulta: 17 abril 2015]. ISSN 0122-1701. Disponible en:
<http://revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/view/1861>

IJAH, U. & ANTA, S. “The Potential Use of Chicken-Drop Micro-Organisms for Oil Spill Remediation”. *The Environmentalis*. [en línea], 2003. (Nigeria), 23(1), pp 89-95. [Consulta: 17 abril 2015]. ISSN 1573-2991. Disponible en:

<http://link.springer.com/article/10.1023/A%3A1022947727324#page-1>

INEC. *VII Censo de Población y VI de Vivienda. Instituto Nacional de Estadística y Censos*

KUMAR, A. *Environmental contamination & bioreclamation*, APH Publishing Corporation, New Delhi-110 002, 2004, pp 480-490.

MADIGAN, M., MARTINKO, J. & PARKER, J. *Brock: Biología de los microorganismos*. 10^a ed. Madrid: Prentice Hall, 2003, pp. 151-624

MALATHI, S. & CHAKRABORTY, R. “ Production of Alkaline Protease by a New *Aspergillus flavus* Isolate under Solid-Substrate Fermentation Conditions for Use as a Depilation Agent “ *Appl. Environ. Microbiol.* [en línea], 1991. (India) 57 (3), pp. 712-716. [Consulta: 17 abril 2015]. PMID: PMC182784. Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC182784/>

MARTÍN, T. & SERRANO, A. *Magnetismo: Conceptos básicos*. [en línea]. Madrid– España: Universidad Politécnica de Madrid, 2011. [Consulta: 20 abril 2015]. Disponible en:

http://acer.forestales.upm.es/basicas/udfisica/asignaturas/fisica/magnet/magnet_portada.html

McBRIDE, K., KENNY, J. & STALKER, D. “Metabolism of the herbicide bromoxynil by *Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae*”. *Appl Environ Microbiol.* . [en línea], 1986. (United State of America) 52(2),pp. 325-30. [Consulta: 05 julio 2015]. PMID: PMC203524. Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3530133>

MINCHALA, T. & MOREIRA, V. *Proyecto de inversión para la elaboración de bioproductos con microorganismos para el control de las enfermedades de las plantas*. (tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador. 2007, pp.20-37.

MORENO, J. & MORMENEO, S. *Compostaje : Factores que afectan el proceso de compostaje* Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 2007, pp. 95-104.

MURRAY, P., BARON, E; et.al. *Manual of clinical microbiology*, Washington, D.C: 9ª ed. American Society for Microbiology, 2007, pp.12-17.

NTC 5167-2011. *Productos para la industria agrícola. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas de suelo.*

OLIVAS, E. *Manual de prácticas. Microbiología I, II y Parasitología: Programas de Medicina.* Chihuahua –México: Universidad Autónoma de Ciudad Juárez , 2011, pp. 13-34.

PARKS, L. *Handbook of Microbiological Medium*, E.E.U.U: CRC Press Inc, 1997, pp 20-30.

PFEIFFER, E. (1984). *Chromatography Applied to Quality Testing.* Wyoming, RI- United State of America: Bio-Dynamic Literature, 02898 ISBN 0-938250-21-3, 1984, pp. 1-11

PINHEIRO, S. *Cartilla de la cromatografía de Pfeiffer, salud de la tierra e inocuidad de los alimentos*, Volver a la Tierra: Grupo de Reflexión Rural, 2012, pp. 1-62.

RECALDE, C., ECHEVERRÍA, M. & CASTRO, R. “Descomposición de materia orgánica con microorganismos benéficos magnetizados”. *Información tecnológica*, [en línea], 2013. (Ecuador) 24(6), pp. 9-16. [Consulta: 12 junio 2015]. ISSN 0718-0764 Disponible en:

http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642013000600003&script=sci_arttext

RESTREPO, J. *Elaboración de Abonos Orgánicos Fermentados y Biofertilizantes Foliareos*, [en línea], 2001, IICA. [Consulta: 04 abril 2015]. Disponible en:

<http://es.slideshare.net/agriculturaorganica2013/abonos-organicos-fermentados-jairo-restrepo-rivera>

ROMÁN, P., MARTÍNEZ, M & PANTOJA, A. *Manual de Compostaje del Agricultor Experiencias en América Latina de la FAO.* Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Santiago de Chile, 2013, pp. 21-91.

SAGGU, G. & SHRIVASTAVA, D. “Study on Thermophiles Reveals The Presence Of *Actinobacillus Lignieresii* In Cattle Compost” *Int J Appl Sci Biotechnol.* [en línea], 2013. (India) 1(2), pp. 33-41. ISSN: 2091-2609. [Consulta: 02 julio 2015]. ISSN 2091-2609 Disponible en: http://ijasbt.org/vol_1/saggu_and_shrivastava_IJASBT_1%282%29.pdf

SCHENCK, N. & PÉREZ, Y. *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi.* 3^a Ed. Synergistic Publications. Gainesville, 1990, pp. 187-192.

SERWAY, R. & JEWETT, J. (2009). *Física para ciencias e ingeniería con Física Moderna: Electricidad y Magnetismo.* 7^a ed. México, D.F: Cengage Learning Editores, S.A. de C.V. pp. 641-884

SHULZE, K. “Continuous Thermophilic Composting”. *Appl Microbiol.* [en línea], 1962 (United State of America) 10(2), pp. 108–122.. [Consulta: 19 abril 2015]. PMID: PMC1057822. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1057822/>

SOLIVA, M. & LÓPEZ, M. *Calidad del compost: Influencia del tipo de materiales tratados y de las condiciones del proceso.* Barcelona-España: Escola Superior d’Agricultura de Barcelona. UPC, 2004, pp.1-20.

SUN, P., et.al. “Increase in cortical pyramidal cell excitability accompanies depression-like behavior in mice: a transcranial magnetic stimulation study.” *J. Neurosci,* [en línea], 2011 (Japan) 31(45), pp. 16464–16472. [Consulta: 22 abril 2015]. PMID: 22072696. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22072696>

TERRY, E., LEYVA, A. & HERNÁNDEZ, A. “Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill)” *Revista Colombiana de Biotecnología,* [en línea], 2005 (Colombia) 7 (2), pp.47-54. [Consulta: 22 abril 2015]. ISSN: 1909-8758. Disponible en: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/498>

UENO, S. & IWASAKA, M. *Biological Effects of Magnetic and Electromagnetic Fields*. New York – USA: *Plenum Press*, 2007, pp 1-18.

VASANTHAKUMARI, R. *Textbook of Microbiology: Vibrio parahaemolyticus*. Janpath, New Delhi: BI Publications Pvt Ltd, 54, 110001, 2007, p. 275

VÁSQUEZ, C.; et. al. “Aceleración del proceso de compostaje de residuos post-cosecha (pulpa) del café con la aplicación de microorganismos nativos.” *Revista CENIC. Ciencias Biológicas* [en línea], 2010 (Cuba) , 41(1), pp.1-8. [Consulta: 22 abril 2015]. ISSN: 0253-5688. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181220509002>

YASHCHUKGÍA, O. & MIYAZAKI, S. “Propiedades morfológicas de los esporóforos y esporas de *Streptomyces sp.*” *Revista Argentina de Microbiología*. [en línea] , 2007 (Argentina) 39(20), pp. 21-29. ISSN 0325-754. [Consulta: 12 julio 2015]. ISSN 1851-7617. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-75412007000100006&script=sci_arttext

ZHU, N. 2006. Effect of low initial C/N ratio on aerobic composting of swine manure with rice straw. *Bioresource Technology*, [en línea] 2006 (China) 98(1), pp. 9-13. [Consulta: 22 mayo 2015]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2005.12.003>

ZÚÑIGA, O., CUERO R., PEÑA, J. “Estimulación con campo electromagnético variable de microorganismos benéficos aplicados a la cachaza para mejorar su uso como biofertilizante”. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, , [en línea] 2011 (Colombia) 9(2), pp. 150-158. [Consulta: 22 mayo 2015]. ISSN 1692-3561. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v9n2/v9n2a17>

ANEXOS

ANEXO A Captura de Microorganismos Eficientes Autóctonos (EMAs)



Fotografía N°1 Trampas de arroz



Fotografía N°2 Colocación de trampas

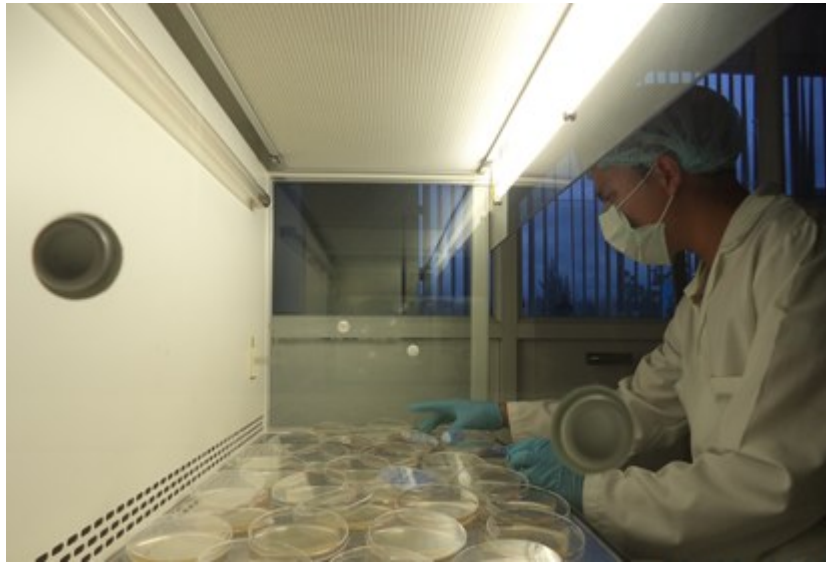


Fotografía N°3 Cosecha de EMAs

ANEXO B Aislamiento y detección de los EMAs



Fotografía N°4 Preenriquecimiento de la cosecha de EMAs

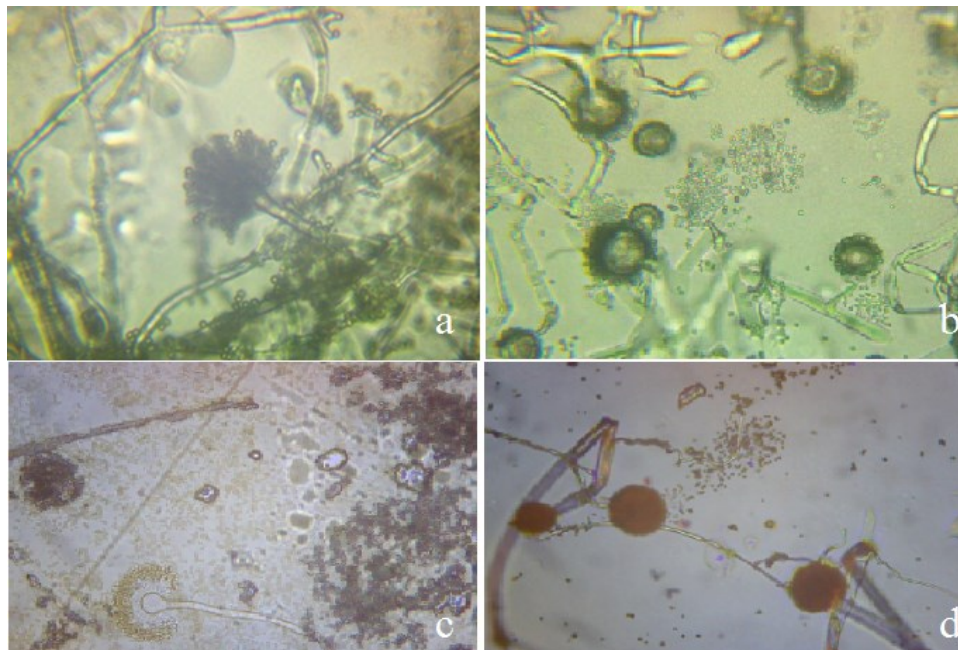


Fotografía N°5 Preparación de medios de cultivo microbiano



Fotografía N°6 Cultivos microbianos

ANEXO C Caracterización microbiana



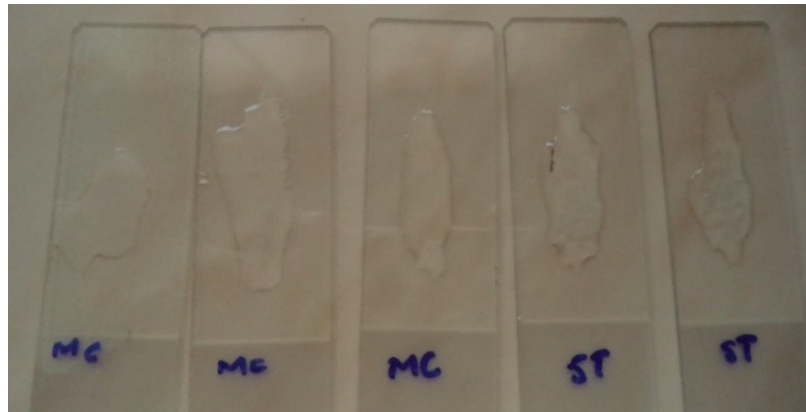
Fotografía N°7 Caracterización morfológica de hongos a) *Aspergillus spp.*
b) *Penicillium spp.* c) *Aspergillus spp.* d) *Aspergillus niger*



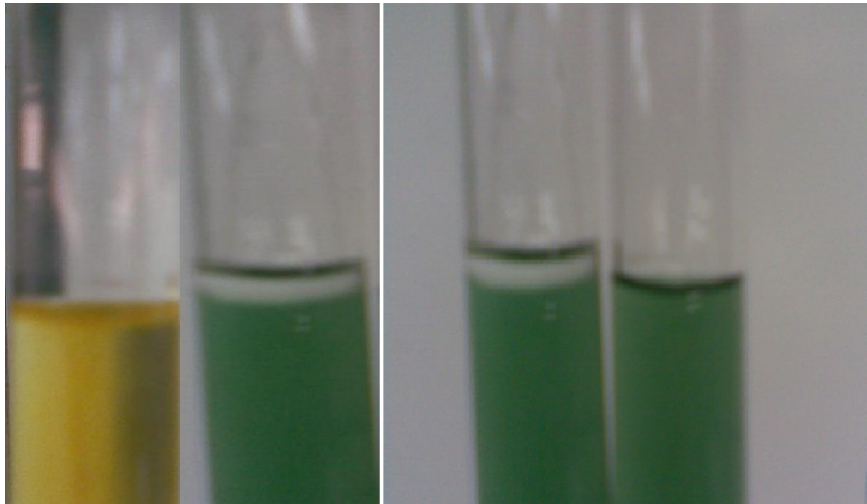
Fotografía N°8 Caracterización morfológica de bacterias



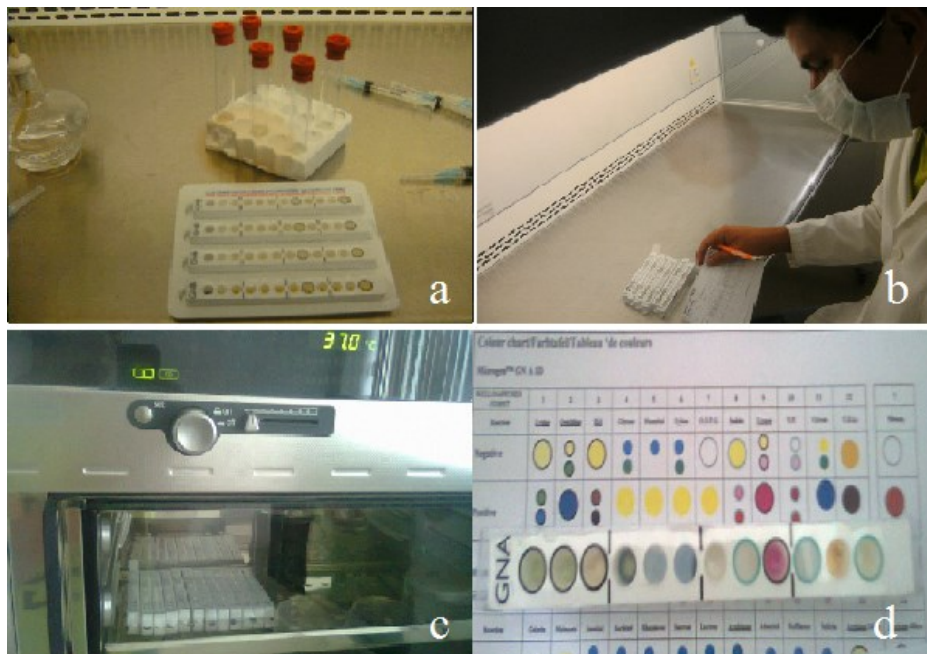
Fotografía N°9 Tinción Gram



Fotografía N° 10 Prueba de Catalasa



Fotografía N° 11 Prueba oxido fermentativa



Fotografía N° 12 Microgen GN-ID: a) inoculación de la colonia; b) adición de reactivos complementarios; c) incubación; d) lectura final

Microgen GNA + B Oxidase Positive

Specimen Details

Lab Ref.: 01-NMH
Name: Nelson Mecias Herrer
Specimen Type: Trampa de arroz
Source (ward/location): La Concordia

Date: 16/03/2015

Results Entry

Octal Code: 540100410

+ OXI Oxidase	- MOT Motility	+ NIT Nitrate Reduction
+ LYS Lysine Decarboxylase	- ORN Ornithine Decarboxyl	- H2S H2S Production
- GLU Acid from Glucose	- MAN Acid from Mannitol	- XYL Acid from Xylose
- ONP ONPG	- IND Indole	+ UR Urea Hydrolysis
- VP Voges Proskauer	- CIT Citrate Utilization	- TDA Tryptophan Deaminase
- GEL Gelatin Liquefaction	- MAL Malonate Inhibition	- INO Acid from Inositol
+ SOR Acid from Sorbitol	- RHA Acid from Rhamnose	- SUC Acid from Sucrose
- LAC Acid from Lactose	- ARA Acid from Arabinose	+ ADO Acid from Adonitol
- RAF Acid from Raffinose	- SAL Acid from Salicin	- ARG Arginine Dihydrolase

Identification Analysis

	<i>Moraxella</i> spp.	<i>Actinobacillus</i> spp.	<i>Ps.stutzeri</i>	<i>A.faecalis</i> type 11	<i>W.zooheicum</i>
Select ID Choice	Yes	No	No	No	No
Probability	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000
Percent Probability	87.67%	12.19%	0.1%	0.03%	<0.01%
Likelihood	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Human Isolate	Yes	Yes	Yes	No	Yes
Tests against					
Test 1	SOR (0.1%)	LYS (0.1%)	MOT (99.9%)	UR (0.1%)	NIT (0.1%)
Test 2	ADO (0.1%)	ADO (0.1%)	SOR (0.1%)	SOR (0.1%)	LYS (0.1%)
Test 3	UR (9%)	SOR (5%)	ADO (0.1%)	ADO (0.1%)	SOR (0.1%)
Additional Tests	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Oxidation of Glucose	0.1%	0.1%	99.9%	0.1%	0.1%
Ferment of Glucose	0.1%	99.9%	0.1%	0.1%	0.1%
Growth on MacConkey	70%	82%	99.9%	99.9%	0.1%
Growth at 42C	24%	15%	69%	75%	0.1%
Growth on SS Agar	0.1%	0.1%	54%	78%	0.1%
Additional Comments				2	10
	2 Previously A.faecalis. Usually isolated from the environment				
	10 Previously CDC group IIj, occasionally isolated from animal bites				

Identification Comments

Acceptable Identification of *Moraxella* spp.
 The strain is not typical (multiple tests are against), although it is well separated from other suggested identification choices
 ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.

Fotografía N° 13 Microgen GN-ID Diagnóstico de la colonia 01-NMH

Microgen GNA

Specimen Details

Lab Ref.: O2-NMH
Name: Nelson Mecias
Specimen Type: Trampa de arroz
Source (ward/location): La Concordia

Date: 16/03/2015

Results Entry

Octal Code: 4610

+ LYS	Lysine Decarboxylase	- ORN	Ornithine Decarboxylase	- H2S	H2S Production
+ GLU	Acid from Glucose	+ MAN	Acid from Mannitol	- XYL	Acid from Xylose
- ONP	ONPG	- IND	Indole	+ UR	Urea Hydrolysis
- VP	Voges Proskauer	- CIT	Citrate Utilization	- TDA	Tryptophan Deaminase

Identification Analysis

	<i>K.ozanae</i>	<i>E.coli-inactive</i>	<i>S.Typhi</i>	<i>A.lwoffii</i>	<i>S.Pullorum</i>
Select ID Choice	Yes	No	No	No	No
Probability	1/3,704	1/10,420	1/190,483	1/1,400,050	1/2,016,072
Percent Probability	72.16%	25.65%	1.4%	0.19%	0.13%
Likelihood	0.1%	0.07%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Human Isolate	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Tests against					
Test 1	XYL (95%)	UR (1%)	UR (0.1%)	MAN (0.1%)	UR (0.1%)
Test 2	UR (10%)	IND (80%)	H2S (97%)	UR (3%)	ORN (95%)
Test 3	ONP (80%)		XYL (82%)	GLU (6%)	H2S (90%)
Additional Tests					
	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Acid from Arabinose	98%	85%	2%	0.1%	99.9%
Acid from Adonitol	97%	3%	0.1%	0.1%	0.1%
Acid from Sorbitol	65%	75%	99%	0.1%	10%
Acid from Maltose	95%	80%	97%	0%	5%
Additional Comments					
		7	11	2	11
2	Glucose negative, non haemolytic Acinetobacter sp, perform nitrate(-) and motility(-)				
7	Previously the Alkalscens Dispar (ADO) Group				
11	Salmonella cannot be fully identified using biochemistry alone. Perform Polyvalent 'O' and 'H' slide agglutination to confirm, and serotype				

Identification Comments

Doubtful Identification of *Klebsiella ozaenae*
 The strain is not typical (multiple tests are against), and it is moderately well separated from other suggested identification choices
 ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.

Fotografia N° 14 Microgen GN-ID Diagnóstico de la colonia 02-NMH

Microgen ID**Microgen GNA + B Oxidase Positive****Specimen Details**

Lab Ref.: 03-NMH
Name: Nelson Mecias
Specimen Type: Trampa de arroz
Source (ward/location): La Concordia

Date: 16/03/2015**Results Entry****Octal Code:** 546100000

+ OXI	Oxidase	- MOT	Motility	+ NIT	Nitrate Reduction
+ LYS	Lysine Decarboxylase	- ORN	Ornithine Decarboxyl	- H2S	H2S Production
+ GLU	Acid from Glucose	+ MAN	Acid from Mannitol	- XYL	Acid from Xylose
- ONP	ONPG	- IND	Indole	+ UR	Urea Hydrolysis
- VP	Voges Proskauer	- CIT	Citrate Utilization	- TDA	Tryptophan Deaminase
- GEL	Gelatin Liquefaction	- MAL	Malonate Inhibition	- INO	Acid from Inositol
- SOR	Acid from Sorbitol	- RHA	Acid from Rhamnose	- SUC	Acid from Sucrose
- LAC	Acid from Lactose	- ARA	Acid from Arabinose	- ADO	Acid from Adonitol
- RAF	Acid from Raffinose	- SAL	Acid from Salicin	- ARG	Arginine Dihydrolase

Identification Analysis

	<i>Actinobacillus spp.</i>	<i>Ps.stutzeri</i>	<i>V.parahaemolyticus</i>	<i>P.multocida</i>	<i>Moraxella spp.</i>
Select ID Choice	Yes	No	No	No	No
Probability	1/364,913	1/3,331,866	1/9,614,016	1/41,506,037	< 1/100,000,000
Percent Probability	86.25%	9.45%	3.27%	0.76%	0.18%
Likelihood	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Human Isolate	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Tests against					
Test 1	LYS (0.1%)	MOT (99.9%)	UR (0.1%)	LYS (1%)	GLU (0.1%)
Test 2	ONP (78%)	UR (17%)	MOT (99%)	UR (3%)	MAN (0.1%)
Test 3		GLU (18%)		IND (90%)	UR (9%)
Additional Tests	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Growth in 6% NaCl	5%	80%	99.9%	2%	8%
Ferment of Glucose	99.9%	0.1%	99.9%	99.9%	0.1%
Growth in 0% NaCl	89%	96%	0.1%	68%	43%
Growth on MacConkey	82%	99.9%	99.9%	2%	70%

Additional Comments**Identification Comments**

Acceptable Identification of *Actinobacillus spp.*
 The strain is not typical (multiple tests are against), although it is well separated from other suggested identification choices
 ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.

Fotografía N° 15 Microgen GN-ID Diagnóstico de la colonia 03-NMH

Microgen ID**Microgen GNA****Specimen Details**

Lab Ref.: 04-NMH
Name: Nelson Mecias
Specimen Type: Trampa de arroz
Source (ward/location): La Concordia

Date: 16/03/2015**Results Entry****Octal Code:** 4010

+ LYS	Lysine Decarboxylase	- ORN	Ornithine Decarboxylase	- H2S	H2S Production
- GLU	Acid from Glucose	- MAN	Acid from Mannitol	- XYL	Acid from Xylose
- ONP	ONPG	- IND	Indole	+ UR	Urea Hydrolysis
- VP	Voges Proskauer	- CIT	Citrate Utilization	- TDA	Tryptophan Deaminase

Identification Analysis

	<i>A.lwoffii</i>	<i>A.haemolyticus</i>	<i>E.coli-inactive</i>	<i>M.morganii</i>	<i>A.baumannii</i>
Select ID Choice	Yes	No	No	No	No
Probability	1/89	1/92	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000
Percent Probability	50.81%	49.19%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Likelihood	2.06%	2.06%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Human Isolate	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Tests against					
Test 1	UR (3%)	UR (3%)	GLU (99.9%)	GLU (99.9%)	GLU (99.9%)
Test 2			UR (1%)	IND (99%)	CIT (99.9%)
Test 3			MAN (93%)	ORN (97%)	XYL (97%)
Additional Tests	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Acid from Arabinose	0.1%	0.1%	85%	0.1%	87%
Motility (37C)	0.1%	0.1%	5%	95%	0.1%
Malonate Utilization	0.1%	0.1%	0.1%	4%	98%

Additional Comments	2	3	7	9	1
1	Previously <i>A.calcoaceticus</i> , perform nitrate(-) and motility(-).				
2	Glucose negative, non haemolytic <i>Acinetobacter</i> sp, perform nitrate(-) and motility(-)				
3	Glucose negative, haemolytic <i>Acinetobacter</i> sp, perform nitrate(-) and motility(-)				
7	Previously the <i>Alkalscens Dispar</i> (ADO) Group				
9	Previously <i>Proteus morganii</i>				
#	Isolate is GLUCOSE NEGATIVE - it is recommended that you check that it is not OXIDASE POSITIVE				

Identification Comments

Inconclusive Identification of *Acinetobacter lwoffii*
 The strain is not typical (one or more tests may be against), and it is poorly separated from other suggested identification choices
 ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.
 Isolate is GLUCOSE NEGATIVE - it is recommended that you check that it is not OXIDASE POSITIVE

Fotografía N° 16 Microgen GN-ID Diagnóstico de la colonia 04-NMH

Microgen ID**Microgen GNA + B Oxidase Positive****Specimen Details**

Lab Ref.: 05-NMH
Name: Nelson Mecias
Specimen Type: Trampa de arroz
Source (ward/location): La Concordia

Date: 16/03/2015**Results Entry****Octal Code:** 542004400

+ OXI	Oxidase	- MOT	Motility	+ NIT	Nitrate Reduction
+ LYS	Lysine Decarboxylase	- ORN	Ornithine Decarboxyl	- H2S	H2S Production
- GLU	Acid from Glucose	+ MAN	Acid from Mannitol	- XYL	Acid from Xylose
- ONP	ONPG	- IND	Indole	- UR	Urea Hydrolysis
- VP	Voges Proskauer	- CIT	Citrate Utilization	- TDA	Tryptophan Deaminase
+ GEL	Gelatin Liquefaction	- MAL	Malonate Inhibition	- INO	Acid from Inositol
+ SOR	Acid from Sorbitol	- RHA	Acid from Rhamnose	- SUC	Acid from Sucrose
- LAC	Acid from Lactose	- ARA	Acid from Arabinose	- ADO	Acid from Adonitol
- RAF	Acid from Raffinose	- SAL	Acid from Salicin	- ARG	Arginine Dihydrolase

Identification Analysis

	<i>V.parahaemolyticus</i>	<i>Moraxella spp.</i>	<i>V.alginolyticus</i>	<i>Ps.stutzeri</i>	<i>Ps.fluorescens-25</i>
Select ID Choice	Yes	No	No	No	No
Probability	1/31,464,053	1/73,956,572	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000
Percent Probability	68.95%	29.34%	0.98%	0.45%	0.24%
Likelihood	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Human Isolate	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Tests against					
Test 1	SOR (0.1%)	MAN (0.1%)	MOT (99.9%)	MOT (99.9%)	CIT (99.9%)
Test 2	MOT (99%)	SOR (0.1%)	SOR (0.1%)	SOR (0.1%)	MOT (94%)
Test 3	GLU (80%)	GEL (19%)	MAN (20%)	GEL (3%)	SOR (7%)
Additional Tests	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Oxidation of Glucose	0.1%	0.1%	0.1%	99.9%	99.9%
Growth in 6% NaCl	99.9%	8%	99.9%	80%	43%
Growth on Cetrimide	0%	0%	0%	0.1%	89%
Esculin Hydrolysis	10%	0.1%	34%	0.1%	0.1%
Growth on SS Agar	94%	0.1%	77%	54%	96%
Additional Comments					

Identification Comments

Unacceptable Identification of *Vibrio parahaemolyticus*
 The strain is not typical (multiple tests are against), and it is moderately well separated from other suggested identification choices
 ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.

Fotografía N° 17 Microgen GN-ID Diagnóstico de la colonia 05-NMH

Microgen ID**Microgen GNA + B Oxidase Positive****Specimen Details**

Lab Ref.: 06-NMH
Name: Nelson Mecias
Specimen Type: Trampa de arroz
Source (ward/location): La Concordia

Date: 16/03/2015**Results Entry****Octal Code:** 750100000

+ OXI	Oxidase	+ MOT	Motility	+ NIT	Nitrate Reduction
+ LYS	Lysine Decarboxylase	- ORN	Ornithine Decarboxyl	+ H2S	H2S Production
- GLU	Acid from Glucose	- MAN	Acid from Mannitol	- XYL	Acid from Xylose
- ONP	ONPG	- IND	Indole	+ UR	Urea Hydrolysis
- VP	Voges Proskauer	- CIT	Citrate Utilization	- TDA	Tryptophan Deaminase
- GEL	Gelatin Liquefaction	- MAL	Malonate Inhibition	- INO	Acid from Inositol
- SOR	Acid from Sorbitol	- RHA	Acid from Rhamnose	- SUC	Acid from Sucrose
- LAC	Acid from Lactose	- ARA	Acid from Arabinose	- ADO	Acid from Adonitol
- RAF	Acid from Raffinose	- SAL	Acid from Salicin	- ARG	Arginine Dihydrolase

Identification Analysis

	<i>S.putrefaciens</i>	<i>Ps.stutzeri</i>	<i>A.xylosoxidans</i>	<i>A.faecalis type 11</i>	<i>Moraxella spp.</i>
Select ID Choice	Yes	No	No	No	No
Probability	1/799	1/160,548	1/5,772,025	1/46,961,186	< 1/100,000,000
Percent Probability	99.49%	0.49%	0.01%	<0.01%	<0.01%
Likelihood	0.39%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Human Isolate	No	Yes	Yes	No	Yes
Tests against					
Test 1	ORN (80%)	H2S (0.1%)	H2S (0.1%)	H2S (0.1%)	MOT (0.1%)
Test 2	UR (20%)	UR (17%)	UR (0.1%)	UR (0.1%)	H2S (0.1%)
Test 3	CIT (80%)		CIT (80%)		UR (9%)
Additional Tests	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Oxidation of Glucose	0.1%	99.9%	0.1%	0.1%	0.1%
Growth on MacConkey	99.9%	99.9%	99.9%	99.9%	70%
Growth on SS Agar	46%	54%	98%	78%	0.1%
Growth in 0% NaCl	50%	96%	99.9%	99.9%	43%
Growth on Cetrimide	0.1%	0.1%	23%	12%	0%
Additional Comments	6		1	2	
	1	Previously Alcaligenes xylosoxidans. Microbiol Immunol (1998) 42: 429 - 438			
	2	Previously A.faecalis. Usually isolated from the environment			
	6	Previously A/Ps.putrefaciens			

Identification Comments

Acceptable Identification of *Shewanella putrefaciens*
 The strain is not typical (multiple tests are against), although it is well separated from other suggested identification choices
 ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.

Fotografía N° 18 Microgen GN-ID Diagnóstico de la colonia 06-NMH

Microgen ID**Microgen GNA + B Oxidase Positive****Specimen Details**

Lab Ref.: 07-NMH
Name: Nelson Mecias
Specimen Type: Trampa de arroz
Source (ward/location): La Concordia

Date: 16/03/2015**Results Entry****Octal Code:** 650200400

+ OXI	Oxidase	+ MOT	Motility	- NIT	Nitrate Reduction
+ LYS	Lysine Decarboxylase	- ORN	Ornithine Decarboxyl	+ H2S	H2S Production
- GLU	Acid from Glucose	- MAN	Acid from Mannitol	- XYL	Acid from Xylose
- ONP	ONPG	+ IND	Indole	- UR	Urea Hydrolysis
- VP	Voges Proskauer	- CIT	Citrate Utilization	- TDA	Tryptophan Deaminase
- GEL	Gelatin Liquefaction	- MAL	Malonate Inhibition	- INO	Acid from Inositol
+ SOR	Acid from Sorbitol	- RHA	Acid from Rhamnose	- SUC	Acid from Sucrose
- LAC	Acid from Lactose	- ARA	Acid from Arabinose	- ADO	Acid from Adonitol
- RAF	Acid from Raffinose	- SAL	Acid from Salicin	- ARG	Arginine Dihydrolase

Identification Analysis

	<i>A.faecalis</i> type 11	<i>Ps.fluorescens</i> -35	<i>Ps.stutzeri</i>	<i>S.putrefaciens</i>	<i>F.breve</i>
Select ID Choice	Yes	No	No	No	No
Probability	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000
Percent Probability	48.41%	16.98%	10.82%	7.61%	6.93%
Likelihood	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Human Isolate	No	Yes	Yes	No	No
Tests against					
Test 1	H2S (0.1%)	H2S (0.1%)	H2S (0.1%)	NIT (99.9%)	LYS (0.1%)
Test 2	IND (0.1%)	IND (0.1%)	IND (0.1%)	IND (0.1%)	H2S (0.1%)
Test 3	SOR (0.1%)	SOR (0.1%)	SOR (0.1%)	SOR (0.1%)	SOR (0.1%)
Additional Tests	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Oxidation of Glucose	0.1%	99.9%	99.9%	0.1%	99.9%
Growth on Cetrimide	12%	80%	0.1%	0.1%	0%
Growth in 0% NaCl	99.9%	99%	96%	50%	99.9%
Growth in 6% NaCl	54%	43%	80%	50%	0.1%
Additional Comments	2			6	
	2 Previously <i>A.faecalis</i> . Usually isolated from the environment				
	6 Previously <i>A/Ps.putrefaciens</i>				

Identification Comments

Unacceptable Identification of *Alcaligenes faecalis* type 11
 The strain is not typical (multiple tests are against), and it is poorly separated from other suggested identification choices
 ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.

Fotografía N° 19 Microgen GN-ID Diagnóstico de la colonia 07-NMH

Microgen ID**Microgen GNA + B Oxidase Positive****Specimen Details**

Lab Ref.: 08-NMH
Name: Nelson Mecias
Specimen Type: Trampa de arroz
Source (ward/location): La Concordia

Date: 16/03/2015**Results Entry****Octal Code:** 640104400

+ OXI	Oxidase	+ MOT	Motility	- NIT	Nitrate Reduction
+ LYS	Lysine Decarboxylase	- ORN	Ornithine Decarboxyl	- H2S	H2S Production
- GLU	Acid from Glucose	- MAN	Acid from Mannitol	- XYL	Acid from Xylose
- ONP	ONPG	- IND	Indole	+ UR	Urea Hydrolysis
- VP	Voges Proskauer	- CIT	Citrate Utilization	- TDA	Tryptophan Deaminase
+ GEL	Gelatin Liquefaction	- MAL	Malonate Inhibition	- INO	Acid from Inositol
+ SOR	Acid from Sorbitol	- RHA	Acid from Rhamnose	- SUC	Acid from Sucrose
- LAC	Acid from Lactose	- ARA	Acid from Arabinose	- ADO	Acid from Adonitol
- RAF	Acid from Raffinose	- SAL	Acid from Salicin	- ARG	Arginine Dihydrolase

Identification Analysis

	<i>Ps.stutzeri</i>	<i>F.odoratum</i>	<i>B.diminuta</i>	<i>Ps.fluorescens-25</i>	<i>Moraxella spp.</i>
Select ID Choice	Yes	No	No	No	No
Probability	1/22,130,274	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000
Percent Probability	81.43%	12.58%	1.59%	1.39%	1.3%
Likelihood	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
Human Isolate	Yes	No	No	Yes	Yes
Tests against					
Test 1	SOR (0.1%)	LYS (0.1%)	LYS (0.1%)	CIT (99.9%)	MOT (0.1%)
Test 2	GEL (3%)	SOR (0.1%)	UR (0.1%)	UR (7%)	SOR (0.1%)
Test 3	UR (17%)	MOT (3%)	SOR (0.1%)	SOR (7%)	UR (9%)
Additional Tests	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Oxidation of Glucose	99.9%	0.1%	0.1%	99.9%	0.1%
Growth on MacConkey	99.9%	91%	97%	99.9%	70%
Growth on Cetrimide	0.1%	0%	0.1%	89%	0%
Growth on SS Agar	54%	30%	1%	96%	0.1%
Growth in 0% NaCl	96%	99.9%	99.9%	99%	43%
Additional Comments			13		

13 Int. J. Syst. Bacteriol. (1994) 44:499 - 5104

Identification Comments

Acceptable Identification of *Pseudomonas stutzeri*
 The strain is not typical (multiple tests are against), although it is well separated from other suggested identification choices
 ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.

Fotografía N° 20 Microgen GN-ID Diagnóstico de la colonia 08-NMH

ANEXO D Estimulación Magnética



Fotografía N° 21 Montaje del prototipo (solenoides) de estimulación magnética.



Fotografía N° 22 Estimulación magnética. A) Bobina; B) EMAs suspendidos en melaza; C) Núcleo ferromagnético; D) Gausímetro; E) F) Multímetros; G) Generador de corriente.



Fotografía N° 23 Control de parámetros de estimulación.

ANEXO E Fase de Campo



Fotografía N° 24 Solución Madre de EMAs



Fotografía N° 25 Recepción de residuos orgánicos



Fotografía N° 26 Peso de los residuos sólidos orgánicos



Fotografía N° 27 Apilamiento de los residuos orgánicos.



Fotografía N° 28 Inoculación por aspersión de EMAs.



Fotografía N° 29 Control de humedad en las pilas.



Fotografía N° 30 Monitoreo de temperatura en las pilas.

ANEXO F Calidad del compost



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
DEPARTAMENTO DE SUELOS



Nombre del Propietario: Nelson Mecías Herrera
Remite:
Ubicación: ESTACIÓN DE TRANSFERENCIA LA CONCORDIA

LA CONCORDIA
Cantón

Fecha de ingreso: 01/03/2015
Fecha de salida: 28/04/2015
SANTO DOMINGO
Provincia

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DEL ANALISIS QUIMICO DE MATERIAL ORGÁNICO

Identificación	pH	% M.O	gr/cm ³		mS		%		Relación		%					ppm		
			D.A	Cond. Eléct.	Humedad	C.Org	C:N	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn	Fe			
P1	6.3 L. Ac	1.2	1.1	4.3 SALINO	65.67	0.70	0.70 B	1.0	0.20	0.98	1.2	0.65	2.1	3.5	2.6			
P2	6.7 N	1.1	1.2	5.1 SALINO	63.05	0.63	0.30 B	2.1	0.13	0.87	0.8	0.57	3.2	2.7	3.5			
P3	6.6 N	1.4	1.0	7.9 SALINO	63.24	0.81	0.62 B	1.3	0.15	0.80	0.75	0.71	1.9	3.1	4.6			

CODIGO	
N: Neutro	A: alto
S: Suficiente	M: medio
L.Ac. Lig. ácido	B: bajo

Ing. José Arcos Y.
DIRECTOR DPTO DE SUELOS



Ing. Elizabeth Pachacama
TECNICO DE LABORATORIO

Dirección: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Panamericana Sur Km 17.5, Facultad de Recursos Naturales, Teléfono 2998220 Extensión 418
*Apoyando a la producción sana, rentable y amigable con la naturaleza

Fotografía N° 31 Resultados de análisis físico-químicos iniciales



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
DEPARTAMENTO DE SUELOS



Nombre del Propietario: Nelson Mecías Herrera
Remite:
Ubicación: ESTACIÓN DE TRANSFERENCIA LA CONCORDIA

LA CONCORDIA
Cantón

Fecha de ingreso: 01/06/2015
Fecha de salida: 10/06/2015
SANTO DOMINGO
Provincia

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DEL ANALISIS QUIMICO DE MATERIAL ORGÁNICO

Identificación	pH	% M.O	gr/cm ³		mS		%		Relación		%					ppm		
			D.A	Cond. Eléct.	Humedad	C.Org	C:N	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn	Fe			
P1	8.01 Alc	7.5	1.1	4.3 SALINO	37.9	4.4	2.8	1.54	0.28	1.1	1.8	0.85	2.3	3.7	2.8			
P2	8.21 Alc	7.3	1.2	5.1 SALINO	38.0	4.3	4.3	0.98	0.45	1.0	1.2	0.75	3.1	2.9	3.9			
P3	8.08 Alc	7.3	1.0	7.9 SALINO	49.6	4.2	6.0	0.70	0.51	1.3	1.0	1.0	2.1	3.5	4.8			

CODIGO	
N: Neutro	A: alto
S: Suficiente	M: medio
L.Ac. Lig. ácido	B: bajo

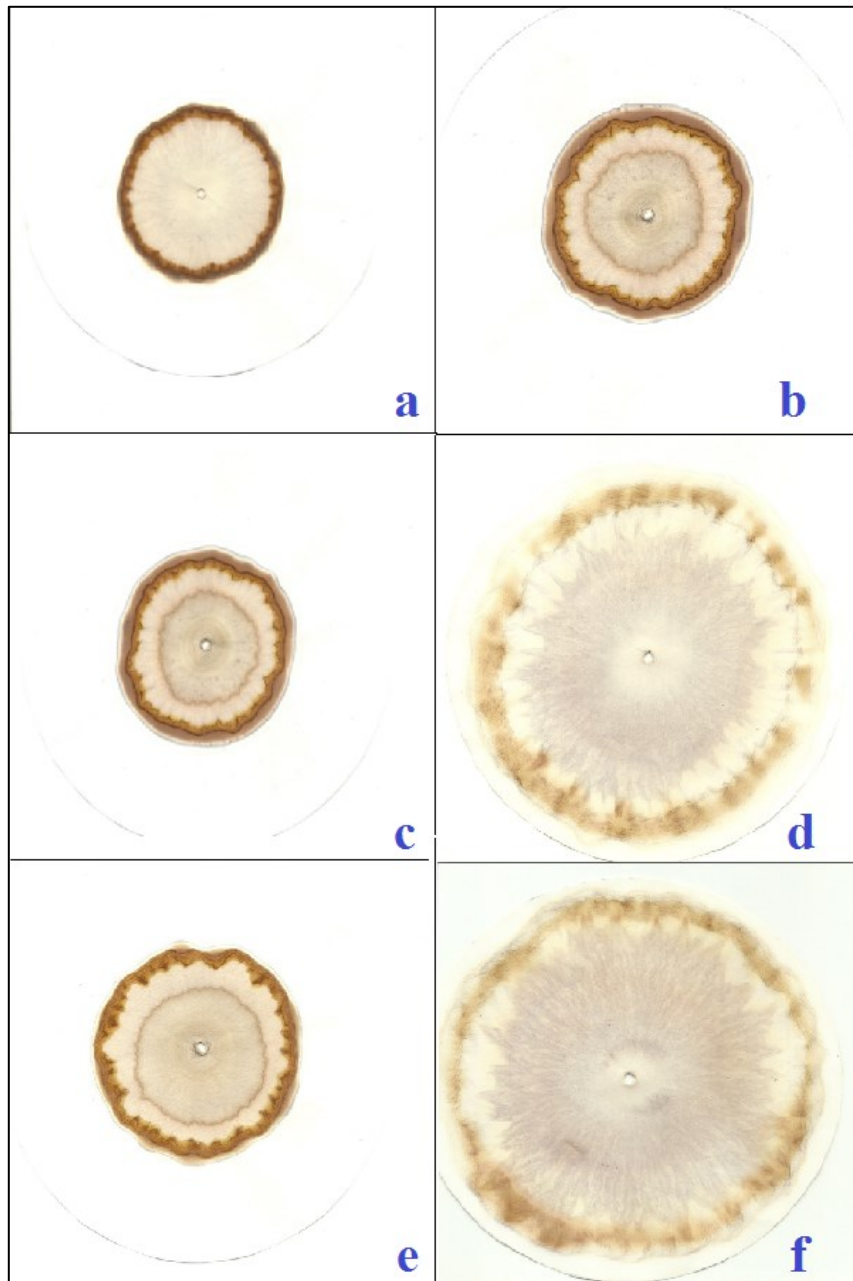
Ing. José Arcos Y.
DIRECTOR DPTO DE SUELOS



Ing. Elizabeth Pachacama
TECNICO DE LABORATORIO

Dirección: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Panamericana Sur Km 17.5, Facultad de Recursos Naturales, Teléfono 2998220 Extensión 418
*Apoyando a la producción sana, rentable y amigable con la naturaleza

Fotografía N° 32 Resultados de análisis físico-químicos finales



Fotografía N° 33 Cromatografía de Pfeiffer: a) inicial y b) final de la Pila 1 ; c) inicial d) final de la pila 2; e) inicial d) final de la pila 3.



Fotografía N° 33 Tamizado del producto final

