

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA



TÍTULO DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Estabilización de lodos residuales en el camal Municipal de la Zona 1 provincia de Imbabura a través de un tratamiento biológico para su aprovechamiento como fertilizante orgánico.

PLAN DE TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERO/A EN INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

AUTOR/A:

**BRITO MEDINA NATHALY KATHERINE
MORENO BAQUE MARCOS JEFFERSON**

DIRECTOR:

MSc. SALAZAR TORRES SANTIAGO MAURICIO

**Ibarra – Ecuador
2023**



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES
UNIVERSIDAD ACREDITADA RESOLUCIÓN Nro. 001-073-CEAACES-2013-13
Ibarra-Ecuador

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES**

**CERTIFICACIÓN TRIBUNAL TUTOR TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Ibarra, 07 febrero del 2023

Para los fines consiguientes, una vez revisado el documento en formato digital el trabajo de titulación: "ESTABILIZACIÓN DE LODOS RESIDUALES EN EL CAMAL MUNICIPAL DE LA ZONA I PROVINCIA DE IMBABURA A TRAVÉS DE UN TRATAMIENTO BIOLÓGICO PARA SU APROVECHAMIENTO COMO FERTILIZANTE ORGANICO", de autoría de la señorita Nathaly Katherine Brito Medina y el señor Marcos Jefferson Moreno Baque, estudiantes de la Carrera de **INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA** el tribunal tutor **CERTIFICAMOS** que la autora o autores ha procedido a incorporar en su trabajo de titulación las observaciones y sugerencia realizadas por este tribunal.

Atentamente,

TRIBUNAL TUTOR

FIRMA

MSc. Santiago Salazar
DIRECTOR TRABAJO TITULACIÓN

MSc. Santiago Zarate
MIEMBRO TRIBUNAL TUTOR TRABAJO DE TITULACIÓN

MSc. Carla Sandoval
MIEMBRO TRIBUNAL TUTOR TRABAJO DE TITULACIÓN



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1722294293		
APELLIDOS Y NOMBRES:	BRITO MEDINA NATHALY KATHERINE		
DIRECCIÓN:	QUITO, LA MERCED, CESAR ENRIQUE BALSECA		
EMAIL:	nkbritom@utn.edu.ec		
TELÉFONO FIJO:	-----	TELÉFONO MÓVIL:	0995477273

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1718477803		
APELLIDOS Y NOMBRES:	MORENO BAQUE MARCOS JEFFERSON		
DIRECCIÓN:	SANTO DOMINGO, RECINTO SAN MIGUEL, VÍA PUERTO LIMÓN		
EMAIL:	mimorenob@utn.edu.ec		
TELÉFONO FIJO:	-----	TELÉFONO MÓVIL:	0983101474

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	ESTABILIZACIÓN DE LODOS RESIDUALES DEL CAMAL MUNICIPAL DE LA ZONA 1, PROVINCIA DE IMBABURA, A TRAVÉS DE UN TRATAMIENTO BIOLÓGICO PARA SU APROVECHAMIENTO COMO FERTILIZANTE ORGÁNICO.
AUTOR (ES):	BRITO KATHERINE, MORENO MARCOS
FECHA: DD/MM/AAAA	2/02/2023
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	INGENIERIA EN BIOTECNOLOGÍA
ASESOR /DIRECTOR:	ING. SANTIAGO SALAZAR, MSc.

2. CONSTANCIAS

Los autor(es) manifiesta(n) que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es (son) el (los) titular (es) de los derechos patrimoniales, por lo que asume(n) la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá(n) en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 15 días del mes de febrero de 2023

LOS AUTORES:



Brito Medina Nathaly Katherine
C.I: 1722294293



Moreno Baque Marcos Jefferson
C.I: 1718477803

ÍNDICE DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN.....	15
1.1	Antecedentes	15
1.2	Planteamiento del Problema	18
1.3	Justificación.....	19
1.4	Pregunta directriz.....	20
1.5	Objetivos de Investigación	20
1.5.1	Objetivo General	20
1.5.2	Objetivos específicos.....	20
2	MARCO TEÓRICO.....	21
2.1	Faenamiento en camales municipales	21
2.1.1	El camal municipal de Ibarra	21
2.2	Lodos Residuales	23
2.2.1	Tipos de Lodos Residuales.....	23
2.2.2	Composición de los lodos residuales de Camales Municipales.....	24
2.2.3	Microbiología de los Lodos Residuales	25
2.2.4	Bacterias Anaerobias.....	27
2.3	Tratamientos Biológicos para la Estabilización de los Lodos Primarios Residuales	28
2.3.1	Compostaje	28
2.3.2	Digestión Aerobia Termofílica	28
2.3.3	Digestión Aerobia	29
2.3.4	Digestión Anaerobia Termofílica.....	29
2.3.5	Digestión Anaerobia Mesófila	29
2.3.6	Digestión Anaerobia	29
2.4	Inóculo.....	33
2.4.1	Inoculantes Bacterianos	34
2.4.2	Inoculantes Fúngicos	34
2.4.3	Inoculantes Mixtos	34
2.5	Biorreactores.....	35
2.5.1	Reactor Batch Agitado.....	35
2.6	Biofertilizantes	36
2.6.1	Tipos de Biofertilizantes	36
2.6.2	Fitotoxicidad de los biofertilizantes	37
2.7	Cultivos de Importancia Socio Económica y Social en el Ecuador	38
2.7.1	Generalidades	38

2.7.2	Cultivo de cebada	38
3	METODOLOGÍA	40
3.1	Descripción del Área de Estudio.....	40
3.2	Ubicación geográfica del área de estudio	40
3.3	Estructura general de la fase experimental	40
3.4	Diseño y Construcción de los Reactores	41
3.4.1	Reactor MKT.....	41
3.4.2	Descripción de los Reactores Anaerobios.	43
3.5	Muestreo y Obtención de la Muestra	44
3.6	Estabilización de los lodos.....	44
3.6.1	Pretratamiento Térmico.....	44
1.1.1	Digestión Anaerobia	45
3.7	Análisis del Lodo primario de la trampa de grasas.	45
3.7.1	Análisis Microbiológicos del Lodo Residual.....	45
3.8	Análisis Físicoquímicos	46
3.8.1	Ensayos de las Propiedades Físicoquímicas del Lodo Residual	47
3.9	Bioensayo de Toxicidad en Semillas.....	51
3.10	Bioensayo para Evaluar la Influencia del Fertilizante Orgánico.	52
3.11	Análisis Estadístico	53
3.11.1	Reducción de la carga microbiana de los tratamientos anaerobios.	53
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
4.1	Diseño del biorreactor.....	56
4.2	Análisis Microbiológicos del Lodo Residual.....	59
4.3	Pretratamiento Térmico.....	59
4.4	Digestión anaerobia	59
4.5	Caracterización del Lodo Residual.....	64
4.5.1	Análisis Físicoquímicos del Lodo Residual	64
4.6	Bioensayo de Toxicidad en Semillas.....	72
4.7	Bioensayo de toxicidad en suelo	74
4.8	Características morfológicas de las plántulas	75
5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	80
5.1	Conclusiones.....	80
5.2	Recomendaciones	81
6	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Pretratamiento y tratamiento primario de la Planta de Tratamiento de la empresa EPFYPROCAI.....	22
Figura 2. Tratamiento secundario de la PTAR de la empresa EPFYPROCAI.....	22
Figura 3. Esquema General del Proceso Bioquímico de la Digestión Anaerobia.....	30
Figura 4. Ubicación geográfica del área de estudio.....	40
Figura 5. Diagrama del procedimiento de las fases experimentales.....	41
Figura 6. Gráfica de diluciones seriadas para la cuantificación de Salmonella/Shigella (A), Coliformes fecales (B) y E. coli (C).....	46
Figura 7. Diseño de los reactores anaerobios MK1, MK2 y MK3.....	58
Figura 8. Diseño del Reactor Térmico MKT (11L) con sus partes.	58
Figura 9. Evaluación del crecimiento microbiológico de patógenos a 30°C.	62
Figura 10. Evaluación del fertilizante orgánico.	73
Figura 11. Porcentaje de germinación del fertilizante orgánico	75
Figura 12. Evaluación de la acumulación de biomasa fresca (A), materia seca (B) en los tratamientos (MK2T2, MK3T3).....	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características físicas de los lodos residuales de acuerdo con su clasificación.	24
Tabla 2. Caracterización y composición de lodos residuales.	24
Tabla 3. Reacciones del metabolismo de las bacterias acetogénicas.....	31
Tabla 4. Producción de metano a partir de diferentes sustratos.....	32
Tabla 5. Especificaciones del Reactor Térmico MKT.....	42
Tabla 6. Especificaciones de los reactores anaerobios MK1, MK2 y MK3.....	43
Tabla 7. Descripción de los tratamientos empleados en el proceso de digestión anaerobia de los lodos primarios.	45
Tabla 8. Concentración de fertilizante orgánico y suelo.	53
Tabla 9. Descripción de tratamientos para la evaluación de la fitotoxicidad del fertilizante orgánico in vitro.	53
Tabla 10. Descripción de tratamientos para la evaluación del fertilizante orgánico en suelo.	55
Tabla 11. Crecimiento de indicadores microbiológicos de la calidad del lodo en la muestra control S/R (lodo sin tratamiento) a 50°C.....	60
Tabla 12. Análisis fisicoquímicos en el lodo inicial (S/R) y estabilizado (MK3T3) Lote 1	64
Tabla 13. Análisis fisicoquímicos en el lodo inicial (S/R) y estabilizado (MK3T3) Lote 2.	68
Tabla 14. Análisis físicos del suelo seco.....	70
Tabla 15. Contenido de macro y micronutrientes en mg/kg de suelo seco.	71
Tabla 16. Características morfológicas de las plántulas de cebada (Hordeum vulgare).	76
Tabla 17. Características morfológicas de las plántulas de cebada (Hordeum vulgare).	76

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis microbiológicos del lodo residual primario del Camal Municipal de Ibarra.	96
Anexo 2. Extracción de lípidos del lodo residual primario.	96
Anexo 3. Resultados de los análisis microbiológicos del lodo estabilizado.	97
Anexo 4. Secado y pulverización del lodo estabilizado.	97
Anexo 5. Preparación de extractos acuosos (lodo estabilizado /agua estéril).	98
Anexo 6. Ensayos de fitotoxicidad en semillas de cebada in vitro.	98
Anexo 7. Medición de la longitud de las plántulas de cebada desarrolladas in vitro....	99
Anexo 8. Germinación de semillas de cebada en invernadero.	99

AGRADECIMIENTO

Un trabajo de investigación es siempre fruto de ideas, proyectos y esfuerzos previos en este caso mi más sincero agradecimiento a mi padre Diego Brito y mi madre Irene Medina, con cuyo apoyo estaré siempre en deuda, y me han motivado durante todos estos años a ser una gran profesional y ser humano.

A mis hermanos Melany, Juan y Mateo que siempre estuvieron dispuestos a darme una mano cuando lo necesité y me acompañaron durante toda esta trayectoria.

Asimismo, agradezco a Dayana Armas y Jorge Hernández por su apoyo personal y humano, con quienes he compartido proyectos e ilusiones durante estos años.

Un agradecimiento a mi tía Mónica Medina por sus palabras de aliento y apoyo incondicional a lo largo de la carrera.

A mis amigos ya que sin su apoyo este trabajo nunca se habría escrito y, por eso, este trabajo es también el suyo. A todos, muchas gracias.

Agradezco especialmente a la Universidad Técnica del Norte y a la carrera de Ingeniería en Biotecnología, al cuerpo docente por todo el conocimiento impartido que me ayudó a cumplir mis objetivos a nivel de formación académica.

Deseo expresar mi agradecimiento al director de esta tesis, Msc. Santiago Salazar y asesores Msc. Santiago Zarate y Msc. Karla Sandoval, por el apoyo que han brindado a este trabajo, por el respeto a mis sugerencias e ideas y por la dirección y el rigor que ha facilitado a las mismas.

Pero, sobre todo, gracias a Dios porque siempre le deberé mis triunfos.

Katherine Brito

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por permitirme crecer en un hogar, por darme vida, por darme sabiduría y entendimiento, por darme fuerza en los peores momentos, por darme salud y seguridad, por cada amanecer que ha pasado y que pasarán, y sobre todo por la meta cumplida de ser un profesional.

A mi tutor y asesores

Ustedes formaron parte importante de mi formación académica con sus aportes profesionales que los caracterizan. Por sus múltiples palabras de aliento, por inculcar la cultura científica, por estar allí cuando mis horas de trabajo se hacían confusas. Mis más sinceros agradecimientos.

A los docentes

“Sus palabras fueron sabias, sus conocimientos rigurosos y precisos, a ustedes mis profesores queridos, les debo mis conocimientos. Donde quiera que vaya, los llevaré conmigo en mí transitar profesional. Su semilla de conocimientos germinó en el alma y el espíritu. Gracias por su paciencia, por compartir sus conocimientos de manera profesional e invaluable, por su dedicación perseverancia y tolerancia.”

A mis padres

“Ustedes que han sido el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, quienes, desde mi momento de vida, estuvieron siempre a mi lado en los días y noches más difíciles durante mis horas de estudio. Siempre han sido y siempre serán mis mejores guías de vida. Hoy cuando concluyo mis estudios de tercer nivel, les dedico a ustedes este logro amado padres Hugo Moreno y Magali Baque, como una meta más conquistada. Orgulloso del esfuerzo de mis padres que han realizado durante toda su vida, para permitirme llegar a ser un profesional, y tener este momento tan importante.

Gracias por ser quienes son y por creer en mí”

Marcos Moreno

RESUMEN

Los lodos primarios procedentes del Camal Municipal de Ibarra son un subproducto del faenamiento animal. La falta de una legislación adecuada en el Ecuador afecta la disposición final de estos residuos, mismos que sin un tratamiento previo pueden afectar paulatinamente el medio ambiente y la salud pública, debido a su elevado porcentaje de materia orgánica putrescible, y microorganismos patógenos. La aplicación de tratamientos biológicos y químicos para la estabilización de lodos residuales constituyen una alternativa para su aprovechamiento como materia prima en la agricultura. En esta investigación se obtuvo un fertilizante orgánico a partir del lodo generado en la piscina de trampa de grasas de la empresa EPYPROCAI (Camal Municipal Ibarra) y se determinó el efecto del fertilizante en el porcentaje de germinación de semillas de *Hordeum vulgare* (cebada). Se trataron las muestras del lodo residual mediante digestión anaerobia a 30°C y 50°C variando las concentraciones del inóculo de los diferentes tratamientos. Para la cuantificación de patógenos se utilizó el método de recuento en placa con los medios selectivos para *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* y coliformes totales. Los parámetros físicos, macronutrientes y micronutrientes se analizaron mediante ensayos fisicoquímicos; el potencial de producción de metano se cuantificó mediante el principio de desplazamiento volumétrico utilizando una solución alcalina. Se evaluó la influencia del lodo estabilizado en cebada mediante un ensayo de fitotoxicidad en semillas e índice de germinación en suelo. En los tratamientos MK1T1 (lodo + inóculo 100 cc), MK2T2 (lodo + inóculo 130 cc), y MK3T3 (lodo + inóculo 150 cc) a 50°C, se controló de manera eficaz el crecimiento bacteriano de los patógenos de interés, sin embargo, en el control de los microorganismos patógenos a 30°C se evidenció que hubo una reducción parcial de *Salmonella* y *Shigella* en los tratamientos MK1T1 y MK2T2, además, el tratamiento MK3T3 fue efectivo en la reducción de *E.coli*, cabe destacar que ninguno de los tratamientos fue eficiente en la eliminación de coliformes fecales. La mayor cantidad de metano producida durante la digestión anaerobia pertenece al tratamiento MK3T3 a 50°C, los valores del contenido de materia orgánica y la relación C/N permanecieron altos al finalizar el proceso de degradación de la materia orgánica por lo que cumple con los niveles adecuados para un fertilizante de buena calidad, en la evaluación del fertilizante orgánico el ensayo de fitotoxicidad MK2N1 obtuvo el mayor porcentaje de germinación (96,67%) e índice de la tasa de germinación, mientras que el ensayo MK2N3 tuvo el menor índice de germinación (50%), y no se observó diferencias estadísticamente significativas del índice de vigorosidad de las plántulas evaluadas. Se estudiaron características morfológicas cuantitativas de las plántulas de cebada, las variables longitud de la raíz y altura de la

planta presentaron diferencias significativas siendo el tratamiento MK2T2L2 superior en las variables mencionadas al resto de tratamientos.

Palabras clave: lodo residual, patógenos, digestión anaerobia, fertilizante, cebada.

ABSTRACT

The primary sludge from the Ibarra Municipal Camal is a by-product of animal slaughter. The lack of adequate legislation in Ecuador affects the final disposal of this waste, which without prior treatment can gradually affect the environment and public health, due to its high percentage of putrescible organic matter and pathogenic microorganisms. The application of biological and chemical treatments for the stabilization of residual sludge constitutes an alternative for its use as a raw material in agriculture. In this investigation, an organic fertilizer was obtained from the sludge generated in the grease trap pool of the company EPYPROCAI (Camal Municipal Ibarra) and the effect of the fertilizer on the germination percentage of *Hordeum vulgare* (barley) seeds was determined. The residual sludge samples were treated by anaerobic digestion at 30°C and 50°C, varying the inoculum concentrations of the different treatments. For the quantification of pathogens, the plate count method was used with selective media for *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* and total coliforms. The physical parameters, macronutrients and micronutrients were analyzed through physicochemical tests; methane production potential was quantified by the principle of volumetric displacement using an alkaline solution. The influence of the stabilized sludge on barley was evaluated through a phytotoxicity test on seeds and germination index in soil. In the treatments MK1T1 (sludge + 100 cc inoculum), MK2T2 (sludge + 130 cc inoculum), and MK3T3 (sludge + 150 cc inoculum) at 50°C, the bacterial growth of the pathogens of interest was effectively controlled, without However, in the control of pathogenic microorganisms at 30°C, it was evidenced that there was a partial reduction of *Salmonella* and *Shigella* in the MK1T1 and MK2T2 treatments, in addition, the MK3T3 treatment was effective in reducing *E.coli*, it should be noted that none of the treatments was efficient in the elimination of fecal coliforms. The largest amount of methane produced during anaerobic digestion belongs to the MK3T3 treatment at 50°C, the values of organic matter content and the C/N ratio remained high at the end of the organic matter degradation process, so it meets the requirements adequate levels for a good quality fertilizer, in the evaluation of organic fertilizer the MK2N1 phytotoxicity test obtained the highest germination percentage (96.67%) and germination rate index, while the MK2N3 trial had the lowest germination index (50%), and no statistically significant differences were observed in the vigor index of the evaluated seedlings. Quantitative morphological characteristics of the barley seedlings were studied, the variables root length and height of the plant presented

significant differences, the MK2T2L2 treatment being superior in the aforementioned variables to the rest of the treatments.

Keywords: sewage sludge, pathogens, anaerobic digestion, fertilizer, barley.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La actividad a nivel industrial para la obtención de productos cárnicos produce grandes cantidades de aguas residuales de mataderos, que están clasificados como uno de los efluentes más perjudiciales para el medio ambiente, debido a la contaminación y desoxigenación de fuentes de agua, estas aguas residuales generan un impacto negativo debido a la alta concentración de materia orgánica y patógenos acumulados por la cantidad de animales sacrificados (Achparaki et al., 2012).

De modo que, la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de los mataderos, generan subproductos de valor durante los procesos de depuración, dando como resultado lodos residuales primarios y secundarios (Muñoz, 2000), estos efluentes suelen contener altos niveles de materia orgánica constituidos principalmente de rumen, heces, grasa, manteca de cerdo alimentos no digeridos, sangre, orina, carne disuelta y proteínas solubles (Mutairi et al., 2004).

Por consiguiente, los métodos de tratamientos para aguas residuales de matadero son comparables a los utilizados en los tratamientos de aguas residuales municipales e incluyen tratamiento primario, secundario y terciario. Los principales métodos se pueden dividir en cuatro categorías principales tratamiento fisicoquímico, tratamiento biológico, AOP (procesos de oxidación avanzados) y procesos combinados (Achparaki et al., 2012).

Además, existen tratamientos modernos tales como la tecnología de ósmosis inversa, la flotación por aire disuelto (DAF) y lodos activados de lecho fijo integrado (IFAS) que se encuentran entre las tecnologías que pueden producir efluentes tratados de alta calidad (Baker et al., 2021).

La Empresa Pública Municipal de Faenamiento y Productos Cárnicos de la ciudad de Ibarra brinda servicios en, prestación de espacios físicos para comercialización de ganado en pie, faenamiento de ganado mayor y menor, control sanitario, y comercialización de subproductos cárnicos, contribuyendo a la salud y seguridad alimentaria de la comunidad, con responsabilidad social y ambiental (EPFYPROCAI, 2020).

De modo que, dentro de los procesos de faenamiento se producen aguas residuales, que tienen un tratamiento biológico previo para remover los niveles de

contaminantes, antes de su disposición final al sistema de alcantarillado público. En este proceso se da la formación de lodos primarios en la piscina de trampa de grasas del matadero, un tipo de residuo apto para la digestión anaerobia con potencial en la producción de metano (Abe et al., 2011).

Por otra parte, los lodos de depuradora, dado el elevado volumen que se genera de ellos y su origen totalmente antropogénico, pueden ser considerados como un subproducto de la actividad humana. Dependiendo del tipo de tratamiento que se haya realizado en las aguas residuales de partida, es posible obtener lodos con propiedades y características distintas, lo que aumenta la variabilidad de lodos existentes (Saghir & Hajjar, 2022). Sin embargo, independientemente del origen de los lodos, todos se caracterizan por unos elevados contenidos de agua, materia orgánica putrescible, macro y micro nutrientes (Ciéslik et al., 2015).

En consecuencia, actualmente los lodos son utilizados como fertilizante para cultivos después de someterse a procesos de estabilización (Oliveira et al., 2018). No obstante, el contenido de materia orgánica actúa como un acondicionador que mejora la retención e infiltración del agua, mejorando las propiedades y la microbiota del suelo (EPA, 2018). Sin embargo, dentro de los lodos residuales existe gran proliferación de diferentes tipos de microorganismos patógenos, siendo necesaria una depuración microbiológica (Fransen et al., 1996).

Por consiguiente, la estabilización de lodos consiste en reducir la presencia de patógenos, eliminar malos olores y reducir o eliminar su potencial de putrefacción, para lo cual son utilizados tratamientos químicos, biológicos o bioquímicos, como son los procesos de hidrólisis enzimática o los procesos fermentativos (Burgess & Pletschke, 2008). Una correcta gestión y estabilización es indispensable para que el uso de lodos residuales sea una práctica sostenible en la agricultura (Seleiman et al., 2020).

Asimismo, existen varios métodos para estabilizar los desechos orgánicos procedentes de los lodos residuales de las PTAR, los tratamientos de digestión aerobia, digestión anaerobia, procesos fisicoquímicos, compostaje y vermicompostaje son los procedimientos más utilizados (Semblante et al., 2015). Además, los procesos de incineración, pirolisis y gasificación son métodos influenciados por energía térmica para reducir los grandes volúmenes de estos desechos orgánicos (Chin et al., 2021).

De hecho, el tratamiento anaerobio de fangos, reporta una alta eficiencia basada en la biodegradación de la materia orgánica en ausencia de oxígeno molecular, que transforma la mezcla de lodos primarios y secundarios, convirtiéndolos, principalmente en biomasa reducida, metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) (Castillo et al., 2003).

El tratamiento anaerobio da como resultado menor cantidad de lodos residuales, y la energía se produce en forma de biogás, que puede utilizarse para calefacción y producción de electricidad (Davidsson et al., 2008).

Además, dentro de las tecnologías comúnmente utilizadas para la digestión anaerobia se encuentra el reactor tipo batch (discontinuo), este sistema es utilizado para procesos a escala de laboratorio. Este tipo de reactor crea las condiciones necesarias para un proceso de fermentación por lo que ha sido utilizado en la codigestión de lodos de trampa de grasa y lodos de depuradora en reactores piloto de 2 litros (Davidsson et al., 2008). Por otra parte, no posee entradas ni salidas ya que la cantidad a reaccionar es cargada directamente al reactor y se espera un período determinado de tiempo (Bonilla et al., 2017).

Por consiguiente, a través de los años los lodos residuales se han empleado de forma convencional como materia prima para la elaboración de fertilizantes y bioestimulantes orgánicos, debido a que la materia orgánica se compone principalmente de proteínas, carbohidratos, grasas y nutrientes (Hidaka et al., 2015).

Por esta razón, la aplicación agrícola al suelo es la vía principal para el uso beneficioso del lodo mediante el reciclaje de nutrientes. Para este proceso de estabilización la destrucción de sólidos volátiles (VS), la demanda química de oxígeno (DQO), así como la producción de biogás, son los indicadores clave del rendimiento del proceso de digestión de lodos (Tezel et al., 2011).

Por consiguiente, las prácticas agrícolas modernas han afectado gradualmente la calidad del suelo en términos de estructura y equilibrio biológico. De modo que, los fertilizantes orgánicos son una alternativa menos invasiva para el medio ambiente que permite aprovechar la materia orgánica originada como subproducto de los procesos de faenamiento.

Asimismo, el propósito del uso del lodo en la agricultura es la utilización de nutrientes como el fósforo y el nitrógeno para fertilizar el suelo, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA), estima que la mitad de los fangos o lodos residuales producidos en Estados Unidos, es esparcida en los terrenos aplicado como fertilizante (Carvajal & Carmona, 2015).

Por lo tanto, se debe garantizar la ejecución de una normativa aplicable a la gestión de lodos, que asegure la protección de la salud humana y el medio ambiente, por otra parte en el Ecuador la gestión de lodos residuales provenientes de los procesos fisicoquímicos y biológicos de las plantas de tratamiento de aguas residuales es escaso (Hazra, 2016).

1.2 Planteamiento del Problema

El incremento del uso de fertilizantes a nivel mundial ha incrementado año tras año, las prácticas agrícolas modernas paulatinamente han causado impactos negativos en el ambiente, como la degradación de la fertilidad y el equilibrio biológico del suelo. La aplicación de fertilizantes químicos tiene desventajas como lixiviación, contaminación de recursos hídricos, destrucción de microorganismos benéficos, susceptibilidad de los cultivos a enfermedades, además la degradación de la estructura del suelo (Llive, 2016).

En el Ecuador los niveles de consumo de fertilizantes son de 313,6 kg/Ha de tierra cultivable; lo cual es relativamente elevado a escala mundial si se compara con países colindantes, se observa que solo Colombia alcanza cifras superiores, para el año 2018 el consumo asciende a 386,8 Kg/Ha (Banco Mundial, 2022). Además, Ecuador es un país netamente dependiente de la importación de fertilizantes; para poder suplir la demanda interna de macronutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio (ICEX, 2017), asimismo, la producción y distribución de fertilizantes en el Ecuador está limitada a pequeñas localidades o comunidades (Llive, 2016); todo esto genera un riesgo potencial en un sector fundamental para la economía como es el agrícola.

Existen alternativas ecológicas y sustentables como: bioles, biofertilizantes, fertilizantes orgánicos verdes y fertilizantes elaborados con lodos residuales estabilizados (Vaneekhaute et al., 2013). Sin embargo, en relación a la implementación agrícola de fertilizantes elaborados con lodos crudos o no estabilizados; se constituyen como un foco de contaminación ambiental (Hazra, 2016); debido a que, al descomponerse sin un tratamiento previo, emanan malos olores, contaminan ecosistemas de agua y suelo con metales pesados. Además, constituyen un vector de enfermedades que ponen en riesgo la salud humana; debido a la alta carga de materia orgánica que permite el desarrollo de microorganismos patógenos como virus, bacterias y parásitos, siendo un factor de riesgo biológico inminente (Savin et al., 2020).

En la actualidad en la PTAR del Camal Municipal de Ibarra (EP-FYPROCAI) provincia de Imbabura, genera un volumen diario de agua residuales procedentes de las actividades de faenamiento; la prolongada acumulación de los biosólidos de estos efluentes produce altos volúmenes de lodos residuales, que no son estabilizados por ningún tratamiento químico o biológico; además, no se han propuesto alternativas viables para su disposición final.

Debido a los impactos de la contaminación ambiental, es necesario que los lodos residuales primarios del Camal Municipal de Ibarra (EP-FYPROCAI); reciban un tratamiento previo, antes de su disposición final; ya que constituyen un atractivo para vectores como roedores, moscas, mosquitos etc. La estabilización de los lodos residuales es importante para evitar problemas de salud en la población circundante; ya presentan un elevado contenido de virus adheridos a las partículas biosólidas, procedentes de las heces de animales infectados; los lodos residuales crudos son un factor de riesgo elevado (Hazra, 2016).

Asimismo, la aplicación de estos desechos orgánicos sin tratamiento al suelo; promueve la propagación de virus entéricos, adenovirus y rotavirus (Gholipour et al., 2022); por consiguiente, una ineficiente gestión de la disposición final y descarga de los lodos residuales; provoca una contaminación masiva en ecosistemas terrestres y superficies, además, infecta ecosistemas acuáticos como aguas superficiales y subterráneas (Wear et al., 2021). Es por ello, que se requiere estudiar alternativas sostenibles para el tratamiento de estos biosólidos.

1.3 Justificación

Es fundamental la certificación de la calidad de lodos residuales en relación con: los límites de contaminantes, nivel de reducción de patógenos alcanzado, nivel de reducción de atracción de vectores y concentraciones de nitrógeno. La liberación de compuestos nitrogenados en fertilizantes a base de lodos residuales, es menor que la generada por fertilizantes químicos, reduciendo el impacto ambiental de lixiviación por nitrógeno, por lo que representa una alternativa viable de reciclaje (Moreno et al., 2017). El desarrollo de tecnologías destinadas a la producción masiva de productos alimenticios basadas en compuestos sintéticos conlleva a una agricultura insostenible para las futuras generaciones (Laurin et al., 2006).

La elevada carga orgánica que poseen los lodos de matadero, constituyen la materia prima adecuada para el desarrollo de fertilizantes orgánicos, estudios realizados por Wevers, (2019), determinaron que es factible la elaboración de fertilizantes mediante un tratamiento biológico anaerobio en un biorreactor, por lo tanto, la reutilización de lodos para la producción de abonos orgánicos, contribuyen con un cambio en la matriz productiva del país y la producción agrícola nacional, fomentando una agricultura sostenible.

Los productos de origen orgánico en la agricultura previenen el deterioro del ambiente, causada por el uso de agroquímicos, también, mejora la calidad del suelo manteniendo la biodiversidad de microorganismos benéficos, porosidad y reduce la erosión del suelo (Y. Jiang et al., 2022). Además, estos biosólidos cuentan con nutrientes necesarios para el proceso de crecimiento de cultivos (Torres et al., 2005). Por ello la aplicación de los fertilizantes orgánicos es una opción viable y prometedora que tiene el fin de sustituir de manera parcial el uso de fertilizantes químicos, que en la actualidad han ganado popularidad entre los productores de alimentos de primera necesidad (Armenta et al., 2010).

El reciclaje y aplicación de lodos residuales en la agricultura, reincorpora los nutrientes que fueron extraídos por los diferentes cultivos incrementado la materia orgánica y la capacidad de intercambio catiónico del suelo (Seleiman et al., 2020). La finalidad del presente estudio es la estabilización de los lodos primarios residuales generados en el camal municipal de Ibarra mediante un tratamiento biológico para la generación de un fertilizante. Un producto de valor agregado como una alternativa ecológica, que pretende aumentar la calidad de productos agrícolas, minimizar el tiempo de cultivo y reducir costos.

1.4 Pregunta directriz

El tratamiento térmico y biológico de los lodos del Camal optimizarán el proceso de fermentación anaerobia y disminuirá los organismos patógenos presentes en el lodo residual.

1.5 Objetivos de Investigación

1.5.1 Objetivo General

Estabilizar los lodos residuales del camal municipal de Ibarra a través de un proceso biológico para reducir la carga microbiológica y su posterior aprovechamiento como fertilizante orgánico.

1.5.2 Objetivos específicos

- Construir un reactor anaerobio tipo batch a escala de laboratorio para el tratamiento de lodos residuales.
- Evaluar la reducción de la carga patogénica del lodo residual a través de un tratamiento térmico y biológico.
- Determinar la influencia del fertilizante orgánico en plántulas de la familia poaceae.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Faenamiento en camales municipales

Los camales municipales son instituciones administradas por los gobiernos autónomos descentralizados (GAD) de cada provincia, son responsables de prestar servicios en: prestación de espacios físicos para la comercialización de ganado en pie, comercialización de subproductos cárnicos, y principalmente el faenamiento de animales de consumo.

El faenamiento corresponde a un proceso ordenado sanitariamente para el sacrificio de animales bovinos, caprinos, porcinos etc. Antes del proceso de faenamiento, los animales son revisados y examinados mediante un examen veterinario, con el objetivo de evaluar las condiciones de sanidad o enfermedad del animal. Todo este proceso técnico ayuda a la obtención de productos cárnicos de calidad en condiciones que aseguren la inocuidad alimentaria para el consumo humano (EMRAQ-EP, 2020).

2.1.1 *El camal municipal de Ibarra*

La Empresa Pública de Faenamiento y Productos Cárnicos de Ibarra (EP-FYPROCAI) brinda servicios de faenamiento de bovinos, caprinos y porcinos, actualmente el camal produce un volumen diario de 73m³ de aguas residuales procedentes del proceso de faenamiento. Por tanto, se generan alrededor de 600 kilos de lodos primarios al mes en la piscina de trampa de grasas, estos biosólidos no son estabilizados ni se han propuesto alternativas para su reutilización o disposición final.

Dichos residuos, son una fuente de gran cantidad de microorganismos patógenos como virus bacterias y parásitos siendo un riesgo biológico en el medio ambiente (Fransen et al., 1996).

2.1.1.1 *Aguas Residuales EPYPROCAI.*

La empresa EPYPROCAI genera un caudal de agua residual aproximado de 73m³/día, con una demanda química de oxígeno de 4400 mg/L y una demanda biológica de oxígeno de 2200mg/L aproximadamente. Con la finalidad de dar un tratamiento al agua fue instalado un sistema de lodos activados. La planta inicia con el ingreso del agua mediante una bomba de 3 Hp, caudal que es dirigido hacia la criba, sistema encargado de retirar los sólidos del agua obteniendo una reducción de la carga y permitiendo la dosificación de un floculante, esto permite el ingreso del agua a la piscina

de trampa de grasas la cual permite la sedimentación de los sólidos disueltos floculados en forma de lodo (MINICONS, 2019).

2.1.1.2 Descripción de la PTAR.

La planta de tratamiento de la empresa EPFYPROCAI está dividida en dos etapas explicadas en la figura 1 y 2.

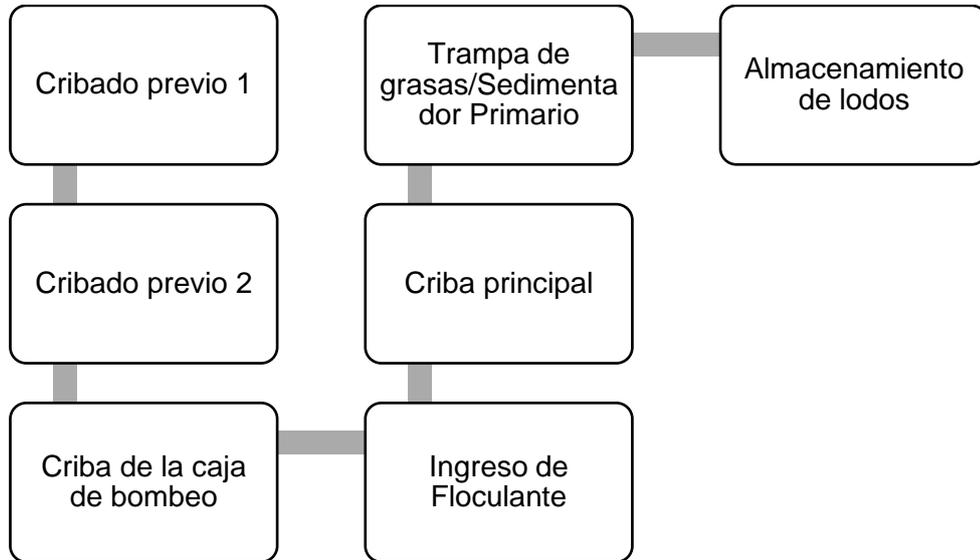


Figura 1. Pretratamiento y tratamiento primario de la Planta de Tratamiento de la empresa EPFYPROCAI. Procedente de: MINICONS, (2019).

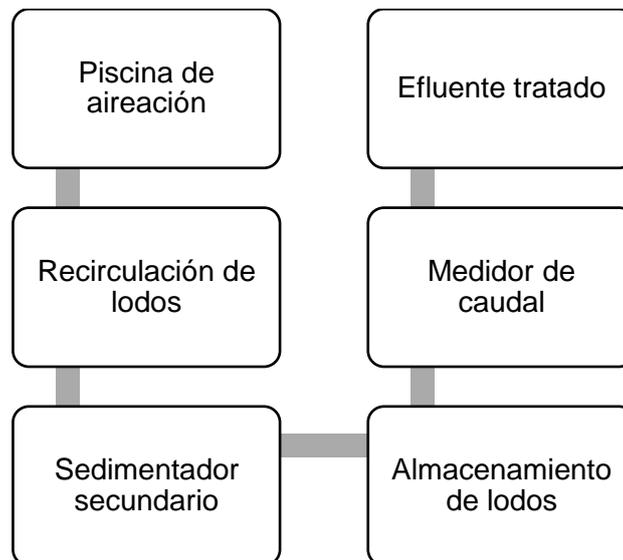


Figura 2. Tratamiento secundario de la PTAR de la empresa EPFYPROCAI. Procedente de: MINICONS, (2019).

2.2 Lodos Residuales

Los lodos residuales constituyen una mezcla sólida, semisólida o líquida proveniente del tratamiento de efluentes que han sido afectados negativamente por influencia antropogénica. Están constituidos por microorganismos que remueven la materia orgánica del agua residual que emplean como alimento (Andreoli et al., 2001). Sin embargo, su composición varía en función de las características iniciales del agua residual, la acumulación de sólidos en los lodos residuales conlleva la acumulación de compuestos orgánicos e inorgánicos como metales, nutrientes, contaminantes orgánicos y patógenos (Fransen et al., 1996).

2.2.1 Tipos de Lodos Residuales

Existen diferentes clasificaciones de los lodos residuales, los grupos más conocidos son: lodos crudos, lodos primarios, lodos secundarios, lodos activados, lodos digeridos y lodos mixtos. Se conoce como lodos crudos a aquellos que no son tratados ni estabilizados, se obtienen directamente de la planta de aguas residuales; otro grupo son los lodos primarios, se generan mediante un proceso de sedimentación de los afluentes, están compuestos principalmente por arena, grasas, sólidos inorgánicos y orgánicos.

Los lodos secundarios son aquellos restantes del tratamiento biológico, producto del consumo de la biomasa en exceso, el contenido de estos lodos son partículas no hidrolizables y biomasa del metabolismo celular; los lodos activados se da como resultado de la interacción de varios microorganismos, se presenta en forma de flóculos de biomasa durante el tratamiento biológico, además, están compuestos por microorganismos aeróbicos y anaeróbicos como bacterias, arqueas, hongos y protistas (Shchegolkova et al., 2016). Los lodos digeridos, son producto de la digestión anaerobia, contienen grandes cantidades de gas, olor nulo o leve pero no desagradable, el contenido de materia orgánica esta entre un 45%-60%; finalmente, los lodos mixtos que constituyen como la mezcla de lodos primarios y secundarios, presentan características de ambos tipos de lodos (Canziani & Spinosa, 2019).

Desde el punto de vista de su contenido microbiológico, se pueden clasificar a los lodos en: clase A, que cumplen con los requerimientos de reducción de atracción de vectores, no tienen concentraciones detectables de patógenos, y en clase B que aún presentan niveles detectables de patógenos, tienen restricción al público (Fransen et al., 1996).

2.2.2 Composición de los lodos residuales de Camales Municipales

Los lodos primarios producidos por el faenamiento de animales contienen una gran cantidad de materia orgánica que se compone principalmente de proteínas, carbohidratos y grasas, debido a la aglomeración de desechos como tejido animal, sangre, estiércol y rumen. Los tratamientos efectuados en las PTAR afectan directamente en las propiedades y viabilidad de los biosólidos (Amador et al., 2015). Estos residuos son un recurso valioso, ya que puede estabilizarse y convertirse en fertilizantes ricos en nutrientes (Oliveira et al., 2018). La descripción de las principales características físicas que presentan los lodos residuales se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1.

Características físicas de los lodos residuales de acuerdo con su clasificación.

Lodo	Descripción
Lodo primario	Color gris, lodo grasiento, olor fétido, altamente fermentable.
Lodo secundario	Color marrón oscuro, olor inofensivo, parcialmente estabilizados, fácil de digerir.
Lodo digerido	Color marrón oscuro o negro, olor a caucho quemado o alquitrán, contenido de gas.

Procedente de: Oropeza, (2006).

Por otro lado, el contenido de los principales componentes como macromoléculas, macronutrientes, micronutrientes y patógenos en los lodos residuales se describen en la Tabla 2.

Tabla 2.

Caracterización y composición de lodos residuales.

Parámetros	Lodos Primarios	Lodos Secundarios (mezcla)	Lodos Digeridos
pH	5.5-6.5	6.5-7.5	6.8-7.6
Contenido de agua (%)	92-96	97.5-98	94-97
SSV (%SS)	70-80	80-90	55-65
Grasas (%SS)	12-14	3-5	4-12
Proteínas (%SS)	4-14	20-30	10-20
Carbohidratos (%SS)	8-10	6-8	5-8
Nitrógeno (%SS)	2-5	1-6	3-7

Fósforo (%SS)	0.5-1.5	1.5-2.5	0.5-1.5
Bacterias patógenas (NMP/100ml)	103 -105	100-1000	10-100
Metales pesados (%SS) (Zn, Cu, Pb)	- 0.2-2	- 0.2-2	- 0.2-2

Procedente de: Oropeza,(2006).

2.2.3 Microbiología de los Lodos Residuales

El estudio de Temiotan et al., (2016), en la evaluación del perfil bacteriano de aguas residuales de matadero utilizando medios diferenciales y selectivos, muestra resultados que identifican la presencia de *Escherichia sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Salmonella sp.*, *Streptococcus sp.* y *Serratia sp.* En la investigación de Shchegolkova et al., (2016), se realizó la secuenciación del gen 16S rRNA de la biocenosis de microorganismos de aguas residuales municipales, de mataderos y de refinerías, para lo cual cada planta de tratamiento (PTAR) demostró un patrón taxonómico único, la mayoría de los microorganismos patógenos (*Streptococcus*, *Trichococcus*, etc.) que están abundantemente representados en las aguas residuales, disminuyeron significativamente en la biocenosis de todas las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR), a excepción de las aguas residuales del matadero.

Se ha realizado la identificación de bacterias filamentosas en EDAR industriales siendo las Alphaproteobacterias las más representativas (Rodríguez et al., 2008). Las bacterias filamentosas consumen principalmente carbohidratos y secretan muchas exoenzimas, como por ejemplo: Quitinasa, glucuronidasa y galactosidasa (Shchegolkova et al., 2016).

Un estudio realizado por Shchegolkova et al., (2016) durante un periodo de dos años, refleja que género *Acinetobacter* es el más abundante en tres tipos de aguas residuales: aguas domésticas, de matadero y de una refinería. Además, se encontraron otros géneros predominantes como: *Acidaminococcus*, *Cloacibacterim* y *Megasphaera*. En aguas residuales de mataderos, el lodo activado de la PTAR demostró un aumento de 30 a 100 veces en el contenido relativo de *Flavobacteriaceae*, asimismo, se reflejó una disminución de 50 a 500 veces en las familias bacterianas *Caldilineaceae*, *Nitrospiraceae* y *Planctomycetaceae*, en comparación con la PTAR de aguas domésticas y de refinería.

2.2.3.1 Microorganismos Patógenos.

2.2.3.1.1 Coliformes Fecales.

Son un conjunto de microorganismos coliformes procedentes de materia fecal, estos patógenos pueden causar enfermedades en el tracto gastrointestinal, las coliformes fecales se denominan termo tolerantes por su capacidad de desarrollarse en temperaturas de 40 a 45°C, los ambientes con una alta carga orgánica como lodos residuales son aptos para su proliferación (Méndez ., 2008).

2.2.3.1.2 Escherichia coli.

E.coli, es una bacteria perteneciente a la familia Enterobactereaceae, es un patógeno que se transmite por el consumo de alimentos y agua contaminados, puede causar infecciones de forma extraintestinal como gastrointestinal (Maza et al., 2020). Acorde a varios análisis este patógeno está presente en aguas y lodos residuales de origen orgánico (Straub et al., 2020).

2.2.3.1.3 Salmonella.

La *Salmonella*, es un bacilo gramnegativo, pertenece a la familia de las Enterobactereaceae, es uno de principales patógenos causantes de infecciones en humanos y animales, ocupa el segundo lugar en lugar en enfermedades transmitidas por alimentos contaminados (Maza et al., 2020). La presencia de este patógeno esta evidenciada en los lodos residuales de origen orgánico (Straub et al., 2020).

2.2.3.1.4 Shigella.

Es una bacteria gram negativa que es causante de infecciones, es muy parecida a *E.coli* con la diferencia que este patógeno puede infectar el epitelio intestinal (Maza et al., 2020). Este microorganismo se puede desarrollar en los lodos residuales de origen orgánico (Straub et al., 2020).

2.2.3.1.5 Huevos de Helmintos.

Se ha corroborado la presencia de huevos de helmintos viables tanto en las aguas residuales como en los lodos residuales, en valores superiores a 1 huevo de helminto viable/L de agua y mayor a 1 en 2g/ST en muestras de lodos o biosólidos, lo que se considera como riesgo potencial para la salud pública por la OMS y alerta sobre la posible presencia de estos huevos de helmintos en los alimentos que han sido regados con estas aguas o que han estado en contacto con los lodos provenientes de las plantas de tratamiento (Ortiz et al., 2012).

2.2.4 Bacterias Anaerobias

Las bacterias anaerobias metabolizan materia orgánica y la transforman en metano y dióxido de carbono. Producen su propia energía digiriendo sustancias que carecen de oxígeno, generalmente emplean la ruta de la fermentación de partículas orgánicas, pero también usan reacciones químicas en compuestos inorgánicos (Corrales et al., 2015).

2.2.4.1 Bacterias Hidrolíticas Fermentativas.

La hidrólisis es el paso que limita la velocidad en la digestión anaeróbica de sustratos sólidos, estas bacterias degradan las sustancias orgánicas complejas (carbohidratos, proteínas y grasas) transformándolas en ácidos orgánicos (acético, propiónico y butírico), hidrógeno y dióxido de carbono (Y. Li et al., 2010). El proceso ocurre principalmente a través de la actividad de las enzimas extracelulares secretadas por bacterias hidrolíticas unidas a sustratos poliméricos, sin embargo, las bacterias hidrolíticas no obtienen ninguna energía de esta reacción. Por tanto, los mismos organismos realizan las siguientes etapas de la acidogénesis, absorbiendo y fermentando los productos hidrolizados (Sträuber ., 2012).

2.2.4.2 Bacterias Metanogénicas.

Son sensibles a las variaciones de temperatura, pueden desarrollarse en el rango mesofílico (15-40°C) o bien en el rango termofílico (55-65°C). Son capaces de transformar los productos de otros anaerobios (CO₂, H₂, acetato y formiato) en metano y CO₂ (Y. Li et al., 2010). Existen dos tipos, las bacterias metanogénicas acetoclásticas que usan ácido acético para la producción de biogás (Sträuber et al., 2012; Torres et al., 2007) y las bacterias metanogénicas hidrogenotróficas que utilizan el hidrógeno como donante de electrones y el dióxido de carbono como aceptor para formar metano (Conrad, 2018). Se ha encontrado en diferentes estudios realizados en aguas residuales de mataderos porcinos y avícolas, que gran cantidad de biogás/ metano generado se observó en familias bacterianas como: Porphyromonadaceae, Tissierellaceae, Methanospirillum y Methanobacteriaceae (Granada ., 2018).

2.2.4.3 Bacterias Nitrato-Reductoras.

Es este proceso metabólico, las bacterias utilizan el nitrato como aceptor final de electrones en condiciones anaerobias, generando como producto final nitrógeno molecular N₂ (Wannapawn ., 2018). Los principales géneros de bacterias desnitrificantes en lodos de matadero son *Pseudomonas* y *Alcaligenes* (Kundu ., 2011).

2.2.4.4 Bacterias Sulfato Reductoras.

Producen sulfuros, se encuentran en compuestos orgánicos ricos en azufre, compiten por el hidrógeno y acetatos con las bacterias metanogénicas produciendo ácido sulfhídrico (H₂S) (Dai ., 2017). Los microorganismos más comunes que efectúan la reducción de compuestos sulfurados presentes en lodos residuales de mataderos son los géneros *Desulfomicrobium* y *Desulforibrio* (Yan ., 2018).

2.3 Tratamientos Biológicos para la Estabilización de los Lodos Primarios Residuales

Estos procedimientos utilizan diferentes tipos de microorganismos, que emplean una serie de reacciones metabólicas capaces de degradar los residuos orgánicos, reduciendo el volumen de los efluentes. Es importante destacar que, para la estabilización de lodos residuales los tratamientos biológicos son los más eficaces en la remoción de nutrientes, además, fomentan la disminución de patógenos dañinos para la salud humana (Arthurson, 2008). El objetivo principal de estos tratamientos consiste generalmente en la coagulación de los sólidos suspendidos para lograr la estabilización de la materia orgánica (Alam et al., 2007).

2.3.1 Compostaje

Se basa en la estabilización de la materia orgánica mediante la biodegradación a temperaturas entre 50 a 70°C, obteniendo como resultado un producto final tipo humus libre de microorganismos patógenos, las condiciones de este proceso pueden ser aerobias y anaerobias, el 20 o 30% de los sólidos volátiles se transforman en CO₂ y agua, el compostaje en hileras abiertas es la tecnología convencional utilizada para la producción de compost. Dado que la generación de compuestos olorosos es inevitable, dichas instalaciones deben construirse a grandes distancias de las propiedades vecinas y considerar los vientos predominantes en la zona. (Torres et al., 2007).

2.3.2 Digestión Aerobia Termofílica

Consiste en acortar los tiempos de eliminación de la materia orgánica biodegradable por lo general este proceso se lleva a cabo en un periodo de tiempo de tres a cuatro días, es una mejora al sistema aerobio convencional mediante aplicación externa de temperatura y la autorregulación térmica proporcionada por el calor desprendido en la oxidación microbiana, los reactores utilizados en la digestión anaerobia termofílica pueden mantenerse en temperaturas de 55 hasta 65°C (Metcalf & Eddy, 2016).

2.3.3 Digestión Aerobia

Es un proceso realizado en presencia de oxígeno, los microorganismos empleados en este proceso consumen todos los nutrientes disponibles en los lodos hasta entrar en fase endógena metabolizando su propio protoplasma. Este mecanismo es afectado por condiciones ambientales externas que influyen directamente sobre el rendimiento y consiste en la oxidación de la materia orgánica biodegradable en dióxido de carbono, agua y amoníaco (Metcalf & Eddy, 2016).

2.3.4 Digestión Anaerobia Termofílica

Estudios previos han señalado la importancia de la implementación de métodos de estabilización de lodos que reduzcan significativamente los niveles de patógenos, este tipo de digestión anaerobia se lleva a cabo gracias a la acción de bacterias termófilas que actúan en un rango de temperatura comprendido de 49 a 57°C, la velocidad de reacción se eleva con la temperatura hasta llegar a un límite, por otro lado, ofrece una mayor producción de metano, un rendimiento más rápido y una mejor inactivación de patógenos (Appels et al., 2008).

2.3.5 Digestión Anaerobia Mesófila

Los microorganismos comúnmente usados son las bacterias mesófitas que actúan en un intervalo de 30 hasta 42°C (Tezel ., 2011). La mayoría de los digestores de alta velocidad se operan en el rango mesofílico (Cheunbarn & Pagilla, 2000).

2.3.6 Digestión Anaerobia

Proceso que se realiza en ausencia de oxígeno, consiste en la descomposición de la materia orgánica presente en lodos residuales, transformando biológicamente el contenido orgánico en metano y dióxido de carbono. La digestión anaerobia es uno de los procesos de estabilización más extendidos, la eficiencia en el proceso de degradación anaeróbica depende de: pH, temperatura, concentración y disponibilidad de sustrato o nutrientes, métodos de alimentación del sustrato, y sedimentación (Appels et al., 2008).

El proceso de fermentación involucra una serie de reacciones metabólicas para el proceso de degradación anaerobia (Figura 2.), estos procesos metabólicos se dividen en varias etapas hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Corrales et al., 2015).

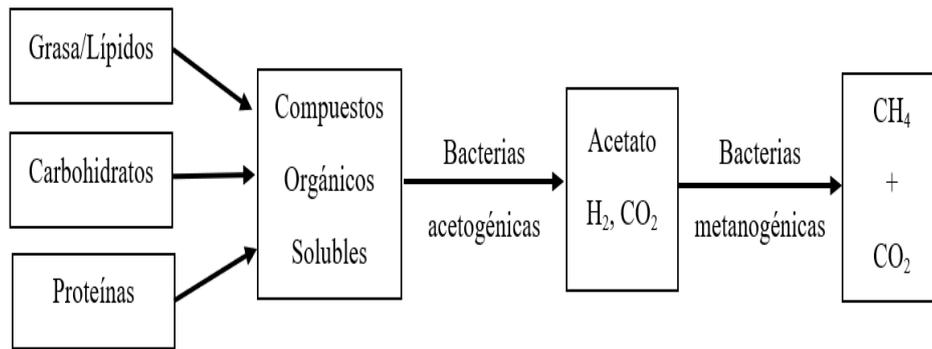


Figura 3. Esquema General del Proceso Bioquímico de la Digestión Anaerobia Adaptado de: Achinas & Willem, (2016).

2.3.6.1.1 Hidrólisis.

La hidrólisis es la primera etapa de la digestión anaerobia, involucra enzimas para la transformación de materiales orgánicos solubles y componentes más grandes de masa molecular como lípidos, polisacáridos, proteínas, grasas, y ácidos nucleicos (Parra, 2015). El procesado de lodos mediante hidrólisis enzimática conduce a la disminución del tamaño molecular del componente proteico soluble, tanto los péptidos como los aminoácidos libres son mucho más biodisponibles para los microorganismos que las proteínas de partida, favoreciendo su crecimiento y actividad. El tratamiento térmico tiene como efecto la solubilización de parte de la materia orgánica y la desnaturalización de las proteínas al facilitar la digestión del componente proteico de los lodos por parte de las enzimas proteolíticas (Tejada et al., 2018).

La hidrólisis de carbohidratos puede provocarse con un ácido mineral diluido o ser catalizado por una enzima. Los ácidos grasos de cadena larga, en altas concentraciones provenientes de la hidrólisis de lípidos pueden inhibir los procesos de acetogénesis y metanogénesis. Sin embargo, debido al alto contenido energético, este tipo de residuos es adecuado para la digestión anaeróbica (Méndez et al., 2017).

2.3.6.1.2 Acidogénesis.

En esta etapa diferentes microorganismos fermentan las moléculas orgánicas solubles producidas en fase de hidrólisis en compuestos que pueden ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas como ácido acético, ácido fórmico e H_2 , también, en compuestos orgánicos más reducidos como ácido láctico, etanol, ácido propiónico, ácido butírico y ácido valerato que pueden ser oxidados directamente por bacterias acetogénicas a sustratos que puedan utilizar las metanogénicas (Buenrostro., 2000). La fermentación acidogénica facilita y determina las velocidades y el

rendimiento de los pasos metabólicos posteriores, es decir, acetogénesis y metanogénesis (Corrales et al., 2015).

2.3.6.1.3 Acetogénesis.

La fase acetogénica se caracteriza por degradación bacteriana de compuestos como el ácido valerato, butirato, propionato y algunos aminoácidos (Tabla 3), que necesitan ser transformados en productos más sencillos para el metabolismo de bacterias metanogénicas como son el acetato e hidrógeno (Stams, 1994).

Tabla 3.

Reacciones del metabolismo de las bacterias acetogénicas.

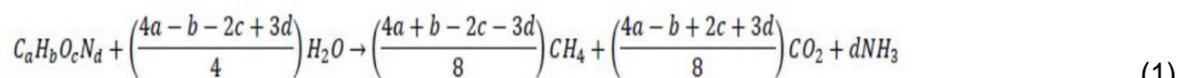
Reacciones para la obtención de acetato	ΔG° (kJ)
Etanol y láctico	
$\text{Etanol} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato}^{-1} + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+9.6
$\text{Lactato}^{-1} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato}^{-1} + \text{H}^+ + 2\text{H}_2 + \text{HCO}_3^{-}$	+4.2
Ácidos grasos	
$\text{Acetato}^{-1} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + 4\text{H}_2 + 2\text{HCO}_3^{-}$	+104.6
$\text{Propionato}^{-1} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato}^{-1} + \text{H}^+ + 3\text{H}_2 + \text{HCO}_3^{-}$	+76.1
$\text{Butirato}^{-1} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{Acetato}^{-1} + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+48.1
$\text{Valerato}^{-1} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{Acetato}^{-1} + 2\text{H}^+ + 4\text{H}_2$	+96.2
Aminoácidos	
$\text{Alanina}^{-1} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato}^{-1} + \text{HCO}_3^{-} + \text{NH}_4^+ + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+7.5
$\text{Aspartato}^{-1} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato}^{-1} + \text{HCO}_3^{-} + \text{NH}_4^+ + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	-14.0
$\text{Leucina}^{-1} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Isovalerato}^{-1} + \text{HCO}_3^{-} + \text{NH}_4^+ + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+4.2
$\text{Glutamato}^{-1} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Propionato}^{-1} + 2\text{HCO}_3^{-} + \text{NH}_4^+ + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	-5.8
$\text{Glutamato}^{-1} + 7\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato}^{-1} + \text{HCO}_3^{-} + \text{NH}_4^+ + 3\text{H}^+ + 5\text{H}_2$	+70.3

Procedente de: Stams, (1994).

2.3.6.1.4 Metanogénesis.

El resultado final del ciclo de la digestión anaerobia es biogás que se compone principalmente de metano, dióxido de carbono y otros componentes, los microorganismos metanogénicos pueden ser considerados como los más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación de los compuestos metabolizados por los anteriores grupos de bacterias (Sträuber et al., 2012). Si se conoce la composición química elemental de la materia orgánica de entrada (Tabla 4) se puede estimar la

cantidad de metano producido en la estequiometria de la reacción a través del modelo de Buswell, las variables calculadas están definidas por la ecuación 1, que representa una reacción redox balanceada en la cual los productos de la digestión anaerobia son metano, dióxido de carbono y amoníaco Crespo ., (2016).



Donde a, b, c y d son los coeficientes estequiométricos de las moléculas biodegradables. En este análisis se asume que todos los electrones donados son exclusivamente empleados para la energía metabólica, por lo que la síntesis celular no se toma en cuenta.

Tabla 4.

Producción de metano a partir de diferentes sustratos.

Sustrato	Reacción
Carbohidratos	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 3CO_2 + 3CH_4$
Grasas	$C_{12}H_{24}O_6 + 3H_2O \rightarrow 5.4CO_2 + 5.7CH_4$
Proteínas	$C_{13}H_{25}O_7N_3S + 6H_2O \rightarrow 6.5CO_2 + 6.5CH_4 + 3NH_3 + H_2S$
Acetato	$Acetato + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^- + H^+$

Procedente de: Stams, (1994).

2.3.6.2 Factores que Influyen en el Proceso de Digestión Anaerobia.

Para llevar a cabo procesos biológicos, es preciso mantener las condiciones óptimas para el progreso de las reacciones metabólicas correspondientes, para mejorar las condiciones de desarrollo de los microorganismos encargados de interactuar con la materia orgánica para la biodegradación de esta es necesario controlar parámetros físicos y químicos. Los principales parámetros para efectuar el proceso de digestión anaerobia son: la temperatura del sistema, el grado de acidez (pH) y la relación C/N de los residuos orgánicos (Acosta & Obaya, 2005).

2.3.6.2.1 pH.

La velocidad de crecimiento de las bacterias anaerobias está estrictamente regulada por los cambios de pH ya que regulariza las proporciones de sustancias inhibitoras. Niveles de pH entre 7 y 8 permiten una mayor reducción de DQO, altos contenidos de sustancias orgánicas forman ácidos grasos volátiles que reducen el pH del medio y por ende la actividad metanogénica, además el pH regula el comportamiento del nitrógeno amoniacal, pues en medios alcalinos la forma ionizada cambia y libera amoníaco o su forma no ionizada resultando en inhibición de bacterias metanogénicas (Acosta & Obaya, 2005).

2.3.6.2.2 Temperatura.

La temperatura es un factor fundamental que determina la eficiencia del proceso, un aumento de la temperatura bajo los estándares óptimos de crecimiento de los microorganismos en un sistema anaerobio causa un aumento considerable en la velocidad de reacción con la que se lleva a cabo el proceso biológico, un incremento que sobrepase los valores óptimos o los límites de tolerancia trae como consecuencia la disminución de la eficiencia de la digestión anaerobia o muerte de los microorganismos presentes en el proceso (Acosta & Obaya, 2005).

2.3.6.2.3 Relación C/N.

En todo proceso de tratamiento biológico se requiere que los microorganismos reciban los elementos necesarios para su alimentación y reproducción, la cantidad y la calidad del metano generado dependerá de la composición de la materia prima, una relación C/N superior a 35:1 retrasará el proceso de fermentación debido al bajo desarrollo de los microorganismos por la falta de nitrógeno, si el nitrógeno contenido en el lodo está en exceso puede producirse mucho amoníaco lo cual puede inhibir el proceso fermentativo, una relación C/N óptima de los componentes de la materia orgánica para el proceso anaerobio es de 30:1 hasta 20:1 (FAO, 2011).

2.4 Inóculo

Son un conjunto de microorganismos puros o combinados en un estado de latencia, las cepas que conforman los inóculos son seleccionadas y aisladas. Su aplicación y uso esta expandido en actividades agrícolas, industria de alimentos y control biológico (Mould et al., 2005). La elaboración de los inóculos microbianos comienza con el aislamiento de los microorganismos de interés, estos son trasladados a un medio nutritivo de mayor volumen he incubados durante un periodo de tiempo. Se

siguen varios parámetros que cumplan las necesidades nutricionales y ambientales óptimas para la proliferación de la cepa (Mould et al., 2005).

2.4.1 Inoculantes Bacterianos

Es una formulación que contiene una o más cepas bacterianas beneficiosas, los efectos deseados del inoculante sobre el crecimiento de las plantas pueden incluir la fijación de nitrógeno en las leguminosas, el biocontrol de principalmente enfermedades transmitidas por el suelo, la mejora de la absorción de minerales, la meteorización de los minerales del suelo y efectos nutricionales u hormonales (Bashan, 1998).

2.4.2 Inoculantes Fúngicos

Los microorganismos aplicados a las plantas pueden tener una doble función de agente de biocontrol y de bioestimulante, y el efecto agrícola pretendido será fundamental en su categorización regulatoria, los productos a base de hongos que se aplican a las plantas para promover la eficiencia nutricional, la tolerancia al estrés, el rendimiento de los cultivos y la calidad del producto se incluyen en el concepto de bioestimulantes. Las principales limitaciones para su uso son la dificultad técnica para propagar AMF (hongos micorrízicos arbusculares) a gran escala, debido a su carácter biotrófico, y más fundamentalmente, la falta de comprensión de los determinantes de las especificidades del huésped y la dinámica poblacional de comunidades de micorrizas en agroecosistemas, distintas de las especies de micorrizas, pueden vivir al menos parte de su ciclo de vida lejos de la planta, colonizar raíces y, como se demostró recientemente, transferir nutrientes a sus anfitriones, utilizando mecanismos poco conocidos (Du Jardin, 2015).

2.4.3 Inoculantes Mixtos

Es una tecnología con creciente aplicación, con el objetivo de promover el crecimiento de las plantas mediante la combinación de distintos mecanismos de diferentes microorganismos, en la actualidad, el uso de inoculantes microbianos en la agricultura está extendido a nivel mundial para diferentes cultivos y con diferentes microorganismos, los desafíos se basan en la producción de inoculantes microbianos para una gama más amplia de cultivos y la expansión del área inoculada en todo el mundo, además de la búsqueda de soluciones microbianas innovadoras en áreas sujetas a episodios crecientes de estrés ambiental (Santos et al., 2019).

2.4.3.1 Soil Bacter.

Soil bacter es un inoculante comercial mixto de la marca Bioagropec compuesto de bacterias ácido lácticas, bacterias fototróficas, levaduras, hongos de fermentación y

Bacillus subtilis especializados en el proceso de biodegradación de residuos de origen orgánico, como carbohidratos, proteínas y grasas incrementando la velocidad de descomposición de la materia orgánica sin causar influencias negativas en dicha descomposición. Este producto tiene una concentración de 1×10^9 UFC del consorcio microbiano por cada ml de producto.

2.5 Biorreactores

Dentro de la rama de la biotecnología, se aplica el concepto de biorreactores o fermentadores, son contenedores que simulan las condiciones ambientales propicias para el desarrollo de hongos o bacterias, cuyo modo de operación varía dependiendo de los requerimientos de propagación de cada microorganismo, los principales modos de operación son: por lotes (Batch), por lotes alimentados (fed-batch) y continuo. Todo esto con el objetivo de obtener un producto de interés, desarrollado a partir de reacciones metabólicas, (Rosales, 2019).

Por lotes, es el modo de operación más simple del biorreactor, se caracteriza por tener un flujo nulo de entrada y salida durante el periodo de ejecución, de modo que se agregan los elementos requeridos para la totalidad del proceso al comienzo de la fermentación (Worstell, 2015). Por lotes alimentados, es una versión modificada de un modo por lotes, el proceso comienza como una fase por lotes, donde la cantidad de nutrientes disponibles baja a medida que la biomasa aumenta, cuando el nivel del sustrato se convierte en un factor limitante, se suministra un flujo de nutrientes que prolonga el tiempo de fermentación, esto determina la tasa del crecimiento del microorganismo (Worstell, 2015).

Finalmente, el modo de operación continuo se caracteriza por tener un flujo de entrada y de salida simultáneos. El sustrato se suministra continuamente al sistema, los nutrientes no consumidos junto con la biomasa generada salen del sistema a una velocidad constante, este proceso de alimentación y salida constante en un momento determinado alcanza un estado estacionario (Kresnowati & Chen, 2011).

2.5.1 Reactor Batch Agitado

El reactor tipo batch, es un contenedor donde ocurren una serie de reacciones y procesos químicos o biológicos, no tiene entradas, ni salidas, en este tipo de reactor se suministra el sustrato al inicio y se espera hasta que la reacción finalice durante un periodo de tiempo, además, el sistema trabaja en un estado no estacionario donde la composición cambia con el tiempo (abil & Amro, 2016). Usualmente se emplean en

operaciones a pequeña escala, ya que su construcción tiene un grado de complejidad menor en comparación con otros tipos de reactores (Nabil & Amro, 2016).

En este tipo de reactores, un mayor tiempo de retención de sólidos (SRT), refleja una remoción superior de sólidos volátiles (Hidaka et al., 2015). El tiempo de retención hidráulica y de sólidos es un parámetro fundamental en el diseño de reactores, ya que tiene influencia directa sobre la eficiencia del tratamiento (Benedetti ., 2011).

El funcionamiento del reactor depende del diseño y de los procesos biológicos, así como también, los mecanismos de agitación son parte fundamental en la eficiencia del sistema. La homogenización es una parte vital en los procesos de degradación de la materia orgánica, una correcta distribución de los microorganismos reduce la cantidad de espacios muertos y el tiempo de retención de sólidos dentro del reactor. Además, es importante la intensidad con la cual se realiza la mezcla de los sustratos, factor que depende de la viscosidad de la naturaleza del fluido (Quinchía ., 2015).

Para llevar a cabo la homogenización de la mezcla de un reactor se pueden emplear componentes mecánicos para la agitación de los sustratos tales como turbinas, hélices, paletas, mezcladores estáticos etc. El uso de estos mecanismos depende de las condiciones de operación del reactor y las especificaciones de la herramienta mecánica proporcionadas por el fabricante (Metcalf & Eddy, 2016).

2.6 Biofertilizantes

Los biofertilizantes son compuestos que contienen microorganismos benéficos, mismos que participan en la degradación de la materia orgánica y la disponibilidad de los macronutrientes principales como nitrógeno, fósforo y azufre (N, P, S). Facilitan la expansión del sistema de raíces y una mejor germinación de las semillas promoviendo el aumento de la producción de los cultivos (Chen, 2006). Mejoran la productividad por área en un tiempo relativamente corto, contribuyen a mitigar la contaminación del suelo y el agua, aumentan la fertilidad del suelo y promueven el antagonismo y el control biológico de los organismos fitopatógenos (Chirinos ., 2006).

2.6.1 Tipos de Biofertilizantes

2.6.1.1 Biofertilizantes Microbianos.

Los grupos de microbios utilizados en la preparación de biofertilizantes microbianos son bacterias hongos y cianobacterias la mayoría de las cuales tienen una relación simbiótica con las plantas, los tipos importantes de fertilizantes microbianos, basados en su naturaleza y función, son las que aportan nitrógeno y fósforo (Thomas &

Singh, 2019). El *Trichoderma spp.* es un ejemplo de este tipo de biofertilizantes (Grageda ., 2012).

2.6.1.2 Biofertilizantes Micorrízicos.

Son biofertilizantes movilizadores de fósforo o absorbentes de fosfato. Los hongos micorrízicos forman simbiosis mutualistas funcionales obligatorias o facultativas con más que el 80% de todas las plantas terrestres, en las que el hongo depende del huésped para la fotosíntesis y la energía , a cambio, proporciona una gran cantidad de beneficios a su huésped, Además, se sabe que los hongos micorrízicos mejoran la calidad del suelo, la aireación del suelo, el agua dinámica y tolerancia a metales pesados y sequía de las plantas y hacer que las plantas sean menos susceptibles a patógenos de raíces o herbívoros (Restrepo ., 2017).

2.6.1.3 Biofertilizante de Compost

El compost es un material turbio, quebradizo y en descomposición que forma una red alimenticia simbiótica dentro del suelo, que contiene alrededor del 2 % (p/p) de nitrógeno, fósforo y potasio, junto con microorganismos, lombrices de tierra y escarabajos coprófagos. Otro tipo de compost (vermicompost), contiene capullos de lombrices, excrementos, microorganismos (como bacterias, actinomicetos, hongos) y diferentes materias orgánicas, que aportan nitrógeno, fósforo, potasio y varios micronutrientes, y recicla eficientemente desechos animales, residuos agrícolas e industriales (Thomas & Singh, 2019).

2.6.2 Fitotoxicidad de los biofertilizantes

La fitotoxicidad es considerada como una influencia negativa, que altera la germinación de las semillas o produce inhibición del crecimiento vegetal, todo esto causado por sustancias específicas de origen químico u orgánico, que afectan directamente el ambiente de desarrollo de las plantas (Blok et al., 2008). La aplicación de un producto de origen orgánico inestable conlleva una serie de problemas, es decir, el efecto adverso de este tipo de productos es la proliferación de microorganismos patógenos y dificultades con la absorción de nutrientes disponibles en el suelo, los bioensayos con plantas sensibles son una alternativa para determinar los efectos de un compuesto, mediante la observación de la inhibición, retardo en la germinación y la longitud de la radícula (Rivero ., 2015).

Los ensayos de fitotoxicidad permiten analizar el porcentaje de toxicidad de sustancias a través del uso de semillas, además, se han adaptado para el análisis de compuestos orgánicos, biosólidos, efluentes y agua, con la finalidad de garantizar de

evitar efectos negativos en el medio ambiente, esta técnica es económicamente viable y fácil de realizar, asimismo, refleja resultados confiables y verídicos (Mendes et al., 2021).

2.7 Cultivos de Importancia Socio Económica y Social en el Ecuador

2.7.1 Generalidades

La actividad agrícola es uno de los principales motores de la economía ecuatoriana, la superficie cultivable destinada para el sector agrario del país supera las 5,3 millones de hectáreas (INEC, 2019), los cultivos más representativos son la caña de azúcar, el banano y palma africana con hectáreas plantadas superiores al millón, no obstante los cultivos de arroz, papas, maíz, otros granos y plantaciones de ciclo corto que forman parte del consumo nacional cuenta con menos de un millón de hectáreas cultivadas (MAG, 2019).

En cuanto a las principales problemáticas que actualmente enfrentan los agricultores a nivel local y nacional, se destacan los altos costos de importación de insumos agrícolas y maquinaria, además, la fertilización deficiente de los cultivos, debido a una distribución excesiva o escasa de fertilizantes, sin realizar un análisis previo de los componentes del suelo y los requerimientos nutricionales del grano, esto refleja un aumento de la contaminación ambiental por un mal uso de fertilizantes (Lema ., 2016).

Además, el nitrógeno es la principal limitante en la producción de cebada, ya que facilita la asimilación de otros nutrientes como el potasio y aporta un incremento de la biomasa vegetal que es un factor indispensable para la calidad del grano y la producción por hectárea (Orcellet et al., 2015).

2.7.2 Cultivo de cebada

La cebada (*Hordeum vulgare*) es uno de los cultivos más emblemáticos de la sierra ecuatoriana entre los 2500 a 3000 msnm, este grano cuenta con 48,000 hectáreas cultivadas a nivel nacional, la provincia de Chimborazo tiene la mayor cantidad de superficie con plantaciones de cebada seguida de la provincia de Cotopaxi (Falconí ., 2010).

El principal uso de este cereal es el consumo interno en la dieta diaria de los ciudadanos, asimismo, para la industria cervecera local y nacional, el Ministerio del Ambiente y Ganadería (MAG) y Cervecería Nacional (CN) tienen un plan en conjunto con pequeños y medianos agricultores de diferentes provincias de la sierra ecuatoriana

con el fin de mejorar la calidad y producción de cebada, respaldando una participación directa de la comercialización de este cultivo con la comunidad agrícola y la industria local (MAG, 2009).

3 METODOLOGÍA

3.1 Descripción del Área de Estudio

El desarrollo del presente estudio se realizó en las instalaciones de la Empresa Pública Municipal de Faenamiento y Productos Cárnicos de la ciudad de Ibarra (EP-FYPROCAI). El área se encuentra ubicada en la provincia de Imbabura, cantón Ibarra, parroquia Priorato, calle Obispo Jesús Yerovi y Luis Ulpiano de la Torre, a 609 metros del Colegio Universitario, como se detalla en la Figura 4.

3.2 Ubicación geográfica del área de estudio



Figura 4. Ubicación geográfica del área de estudio.

3.3 Estructura general de la fase experimental

La presente investigación se desarrolló en cuatro fases consecutivas: diseño y construcción de los reactores, análisis del lodo primario de la trampa de grasas, estabilización del lodo residual y evaluación del fertilizante orgánico como se detalla en la figura 5. La construcción de los reactores se realizó tomando en cuenta un sistema hermético, térmico y automático, para establecer las condiciones que favorezcan el

proceso de degradación de la materia orgánica; el análisis del lodo primario sin tratamiento (inicial), que contempló el muestreo, análisis microbiológicos y caracterización de las propiedades fisicoquímicas de los lodos obtenidos de la piscina de trampa de grasas; la estabilización de los lodos a través de un tratamiento biológico, mediante un proceso de fermentación anaerobia en un reactor tipo Bach bajo condiciones controladas de temperatura y homogenización.

Finalmente, los estudios de fitotoxicidad y ensayos del lodo estabilizado aplicados en suelo abarcan el impacto en la germinación y desarrollo vegetal de *Hordeum vulgare* (cebada).

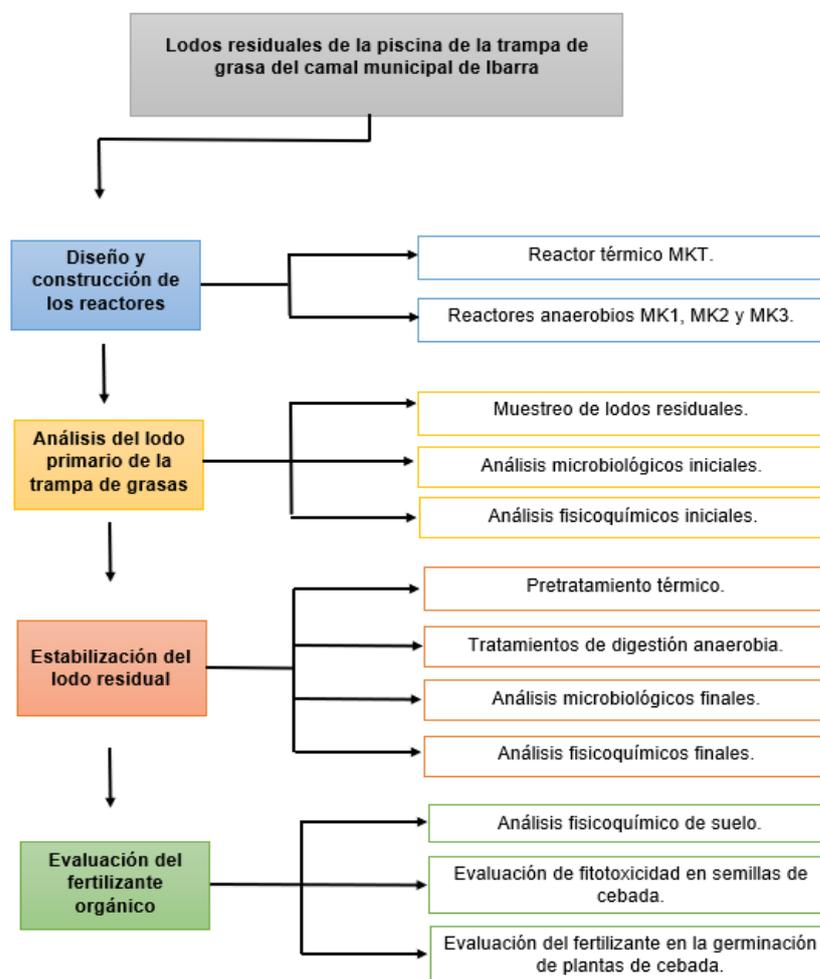


Figura 5. Diagrama del procedimiento de las fases experimentales.

3.4 Diseño y Construcción de los Reactores

3.4.1 Reactor MKT

El reactor denominado MKT, se construyó a escala experimental, como pretratamiento para disminuir la población de los patógenos de estudio, presentes en el

lodo residual. Además, para promover el proceso de hidrólisis de la materia orgánica, el reactor trabajó bajo un modo de operación tipo batch. El reactor es de aluminio, ya que es un material con gran resistencia a la corrosión frente al ambiente y un buen conductor de calor, es de forma cilíndrica para evitar puntos muertos en los cuales no existe un adecuado contacto entre fases, asimismo, favorece la velocidad de reacción que se efectúa dentro del sistema.

El reactor consta de una tapa hermética que evita la pérdida de calor, la temperatura dentro del sistema se obtuvo a través de una niquelina eléctrica en la base del reactor, regulado mediante un controlador digital para mantener una temperatura constante de 60°C (Wang et al., 2014), además, este se encuentra conectado a una termocupla que se adaptó en un capuchón elaborado de cobre, el cual fue instalado en la tapa del reactor. Asimismo, se instaló un manómetro para verificar la presión generada por la evaporación de líquidos; una llave de paso que se conecta a un filtro de carbón activado, con el objetivo de evitar los malos olores de la salida de gases.

Se escogió un volumen total de 11 litros, ya que para el diseño de plantas experimentales se usan reactores con una capacidad de 5 a 20 litros. Para el volumen útil del reactor se tomó en cuenta un volumen extra de seguridad, que consiste en aumentar un 20% al volumen total del reactor (plot3, tabla 5), la altura total del reactor se calculó utilizando las fórmulas descritas en la Tabla 5.

Tabla 5.

Especificaciones del Reactor Térmico MKT.

Parámetros	Formulas	Variables	Valores
Volumen del reactor	-	Vr: volumen del reactor	11 L
Altura inicial del reactor	$L_{ci} = \frac{4 \times V_{ci}}{\pi \times Di^2}$	Lci = longitud inicial del cilindro Vci = volumen del cilindro (11 L) Di = Diámetro del cilindro (18 cm)	35cm
Volumen de seguridad	$V_s = 0.2 \times V_r$	Vr: volumen del reactor Vs: volumen de seguridad	2.2L
Altura de seguridad del reactor	$L_{cs} = \frac{4 \times V_{cs}}{\pi \times Di^2}$	Lcs = longitud de seguridad del cilindro Vcs = volumen de seguridad del cilindro (2.2 L) Di = Diámetro del cilindro (18 cm)	4cm
Volumen útil del reactor	$V_u = V_r - V_s$	Vr: volumen del reactor	8.8L

Vs: volumen de seguridad

Adaptado de: API, (2020).

3.4.2 Descripción de los Reactores Anaerobios.

Los reactores denominados MK1, MK2 y MK3, son reactores anaerobios tipo batch a escala experimental, se diseñaron como tratamiento para la degradación de la materia orgánica del lodo residual, asimismo, para disminuir de manera eficiente la población de los patógenos de interés. Además, son de material de aluminio, con forma cilíndrica, tapa hermética, con una capacidad total de 6 litros, volumen útil de 4.8 litros y un volumen de seguridad de 1.2 litros. Los reactores cuentan con un sistema de calentamiento automático, regulado por un controlador digital de temperatura tal como se describió en el reactor MKT, las especificaciones se detallan en la Tabla 6. Los reactores mantuvieron una temperatura constante de 55°C durante 37 días de digestión anaerobia, y 30°C por 21 días ambos ensayos se realizaron por duplicado.

Tabla 6.

Especificaciones de los reactores anaerobios MK1, MK2 y MK3.

Parámetros	Formulas	Variables	Valores
Volumen del reactor	-	Vr: volumen del reactor	6 L
Altura inicial del reactor	$Lci = \frac{4 \times Vci}{\pi \times Di^2}$	Lci = longitud inicial del cilindro Vci = volumen del cilindro (6 L) Di = Diámetro del cilindro (17 cm)	22cm
Volumen de seguridad	$Vs = 0.2 \times Vr$	Vr: volumen del reactor (6L) Vs: volumen de seguridad	1.2L
Altura de seguridad del reactor	$Lcs = \frac{4 \times Vcs}{\pi \times Di^2}$	Lcs = longitud de seguridad del cilindro (17) Vcs = volumen de seguridad del cilindro (1.2 L) Di = Diámetro del cilindro (17 cm)	4cm
Altura total del reactor	$Lct = Lci + Lcs$	Lct: longitud total del cilindro del reactor Lci = longitud del cilindro (22cm) Lcs = longitud del cilindro (4cm)	26cm
Volumen útil del reactor	$Vu = Vr - Vs$	Vr: volumen del reactor Vs: volumen de seguridad	4.8L

Adaptada de: API, (2020).

El sistema de agitación de los reactores consta de dos componentes fundamentales, el motor de agitación y el rodete (o impulsor), estos se encuentran sujetos a la tapa del reactor, la paleta de homogenización se encuentra centrada

mediante tornillos, para que el eje no se atasque con la tapa del reactor. Dicho motor está controlado por un dispositivo (arduino), el cual mantiene la homogenización de la mezcla de forma intermitente, con eventos o ciclos de operación de 15 minutos prendido y 30 minutos apagado a 3rpm.

Para la agitación del sistema, se buscó minimizar puntos muertos dentro del reactor, es decir, puntos en los cuales ciertas partes del lodo no se pongan en contacto con el resto, para la selección del tipo de impulsor, se tomó en cuenta que la altura del líquido del recipiente, que debe ser de magnitud aproximada del diámetro del mismo. Además, un factor fundamental en el diseño de un recipiente agitado es la potencia requerida para mover el agitador, donde el consumo de potencia está en función del Reynolds particular del sistema y del número de potencia (Bridgeman, 2012).

Los reactores incluyen una manguera conectada desde la tapa del reactor hacia un recipiente tipo marlotte, con hidróxido de sodio al 5% para la salida de gases, además, este recipiente está conectado a una probeta para medir el desplazamiento de la solución, y así obtener la medida de la producción de metano. Finalmente, en los reactores se instaló una llave soldada en la parte inferior del reactor, para la toma de muestras que evita el ingreso de sustancias extrañas o contaminantes al reactor.

3.5 Muestreo y Obtención de la Muestra

Se procedió a realizar un muestreo aleatorio, dividiendo la piscina de la trampa de grasa del camal municipal en ocho cuadrantes, a continuación, se seleccionaron 5 cuadrantes al azar y se recolectaron 3 muestras puntuales (un litro de cada muestra) procedentes de los cuadrantes mencionados a diferentes profundidades: superficial (4 cm de profundidad), intermedio (20 cm de profundidad), inferior (50 cm de profundidad). Posteriormente se homogenizó las submuestras para obtener una muestra compuesta (Zagal, 2007).

3.6 Estabilización de los lodos

3.6.1 Pretratamiento Térmico

Para fomentar la hidrólisis de la materia orgánica presente en el lodo residual del camal municipal y mejorar el proceso de digestión anaerobia se empleó un pretratamiento térmico, se colocaron 8,8 litros del lodo primario en el reactor MKT a 60°C, durante un tiempo de retención de sólidos (SRT) de una hora.

1.1.1 Digestión Anaerobia

Para la estabilización del lodo primario se implementaron tres tratamientos, se añadieron 4,8 Litros del lodo primario en cada uno de los reactores anaerobios, adicionando un inóculo comercial en las concentraciones que se detalla en la Tabla 7.

Tabla 7.

Descripción de los tratamientos empleados en el proceso de digestión anaerobia de los lodos primarios.

Tratamiento	Reactor	Concentración	Temperatura	SRT
MK1T1	MK1	100 cc + 4.8L lodo primario		
MK2T2	MK2	130 cc+4.8L lodo primario	30°C	21d
MK3T3	MK3	150 cc+4.8L lodo primario		
MK1T1	MK1	100 cc + 4.8L lodo primario		
MK2T2	MK2	130 cc+4.8L lodo primario	55°C	37d
MK3T3	MK3	150 cc+4.8L lodo primario		

3.7 Análisis del Lodo primario de la trampa de grasas.

3.7.1 Análisis Microbiológicos del Lodo Residual

Se realizaron los análisis microbiológicos al inicio y final del pretratamiento térmico (60°C) y del tratamiento biológico (30 y 55°C) respectivamente, para esto se procedió a recolectar dos submuestras procedentes de la mezcla homogénea, estas se recolectaron en frascos estériles, se etiquetaron y trasladaron para realizar los análisis microbiológicos de *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*, y Coliformes totales en medios selectivos. Asimismo, se utilizó el método de recuento en placas para determinar el número de UFC/g del lodo en estudio, partiendo desde las diluciones seriadas hasta la siembra en placas de agar mediante la técnica de extensión superficial como se muestra en la Figura 6.

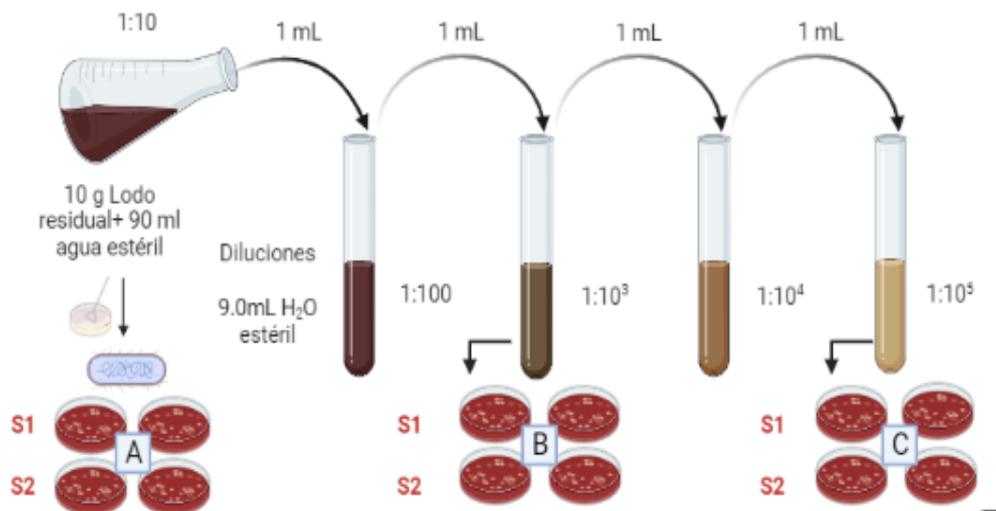


Figura 6. Gráfica de diluciones seriadas para la cuantificación de *Salmonella/Shigella* (A), Coliformes fecales (B) y *E. coli* (C).

3.7.1.1 Cuantificación de carga microbiana de Coliformes totales, *Salmonella*, *Shigella* y *E. coli*.

Se usaron los siguientes medios de cultivo para evidenciar la presencia de los patógenos de interés: EMB Agar con eosina y azul de metileno, Agar MacConkey y SS Agar específicos para *E. coli*, coliformes totales, *Salmonella* y *Shigella* respectivamente. Se dispensaron 0.25ml de cada una de las siguientes concentraciones por caja: coliformes fecales 10⁻⁵, *Salmonella* y *Shigella* 10⁻², *E. coli* 10⁻⁷. Seguido se extendió el contenido uniformemente empleando la técnica de extensión superficial con un asa de Digralsky. Posteriormente se incubaron a 35°C durante un periodo de 48h, finalmente, se procedió a realizar la cuantificación de los patógenos mediante la técnica de conteo en placa.

3.8 Análisis Fisicoquímicos

Para los análisis fisicoquímicos, se enviaron 500g de las muestras de los lodos primarios y digeridos, tomadas en condiciones estériles, al laboratorio AgarProjekt ubicado en la ciudad de Quito. Los análisis realizados fueron; carbono, materia orgánica, relación C/N, nitrógeno total, nitratos, amonio, fósforo, potasio, magnesio, calcio, sodio, hierro, manganeso, cobre, zinc, boro.

Además, se realizaron varios análisis fisicoquímicos de humedad, lípidos, fosfatos, proteína, nitritos, nitratos, amonio y potasio, para determinar la composición de

los lodos residuales pertenecientes a la piscina de trampa de grasas del camal municipal de Ibarra. Los procedimientos para cada análisis realizado se describen a continuación.

3.8.1 Ensayos de las Propiedades Fisicoquímicas del Lodo Residual

3.8.1.1 Humedad.

Para la determinación de la humedad del lodo residual, se realizó un pesaje inicial de la muestra, posteriormente se realizó un secado en la estufa a 105°C hasta obtener un pesado constante. La fracción remanente corresponde al contenido de sólidos totales y la fracción que se evapora al contenido de agua (Gómez & Arcos, 2007). Para el cálculo se utilizó la siguiente ecuación:

$$\%H = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \quad (2)$$

P_i = peso inicial de la muestra

P_f = peso final de la muestra

3.8.1.2 Lípidos.

Se aplicó un método de gravimetría, inicialmente se colocó 200 ml de muestra fresca en el embudo de separación, seguido se utilizó 50 ml de hexano un solvente orgánico que extrae la grasa, seguido se agitó el embudo de separación y se dejó reposar 10 minutos. Se crearon dos fases, después se procedió a extraer en un vaso precipitado la fase de hexano y grasa, posteriormente se llevó a baño María hasta la evaporación del hexano, luego se realizó una desecación durante 10 minutos, la diferencia entre el peso final y el peso inicial del vaso precipitado representa la cantidad de grasa en la muestra. Además, se realizó el mismo procedimiento con 5g de muestra seca en 100 ml de agua destilada (Y. García et al., 2016).

3.8.1.3 Determinación de Proteína.

El método utilizado para este parámetro fue el de KJHELDAL, para el proceso de digestión se utilizó 2g de lodo pulverizado, se colocaron las muestras en tubos de ensayo con una pastilla catalizadora, se adicionó 12 ml de ácido sulfúrico y 3,3 ml de peróxido de hidrogeno. Posteriormente se llevó al digestor el nitrógeno orgánico total, mediante esta digestión la muestra se convierte en sulfato de amonio. Seguido se dejó enfriar la mezcla digerida, luego se introdujeron 50ml de agua destilada y 50ml de

hidróxido de sodio al 35%. Para el proceso de destilación se colocó el matraz erlenmeyer en posición para recolectar con 50 ml de ácido bórico al 4% y 10 gotas de indicador rojo tashiro. Una vez terminado se procedió a titular con 0,02% N HCL hasta que haya un ligero cambio de coloración (Rubio et al., 2002). Las variables calculadas en la tabla están definidas por las siguientes ecuaciones:

$$\%N = \left(\frac{G.N.0,014}{g} \right) * 100 \quad (3)$$

$$\%P = \% N * 6,25 \quad (4)$$

3.8.1.4 Nitritos.

Para la determinación de este componente se utilizó el test de cuantificación de nitritos, perteneciente a la casa comercial Spectroquant, primero se pesó 10g de lodo residual, posteriormente se filtró la muestra en 200ml de agua destilada y se homogenizó en el agitador magnético, la técnica consiste en pipetear en un tubo de ensayo 5 ml de la muestra preparada, acto seguido se añade una micro cucharada del reactivo NO_2^{-1} , se agita vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente. Después se deja en reposo 10 minutos ya que es el tiempo de reacción, finalmente se introduce la muestra en la cubeta de reacción y se mide en el fotómetro.

3.8.1.5 Nitratos.

Para la determinación de este componente, se utilizó el test de cuantificación de nitratos de la casa comercial Spectroquant, inicialmente se pesó 10g de lodo luego se filtró la muestra en 200ml de agua destilada y se homogenizó en el agitador magnético, la técnica consiste en introducir en un tubo de ensayo una micro cucharada rasa del reactivo NO_3^{-1} , después añadir con una pipeta 5ml del reactivo NO_3^{-2} y agitar vigorosamente durante 1 minuto hasta que el reactivo se haya disuelto completamente. Posteriormente verter 1,5ml de la muestra preparada muy lenta y cuidadosamente mediante la pipeta sobre el reactivo en la pared interna del tubo de ensayo mantenido inclinado, mezclar inmediatamente y dejar en reposo la solución de reacción caliente durante 10 minutos.

3.8.1.6 Test Fosfatos.

Para la determinación de este compuesto, se utilizó el test de cuantificación de fosfatos perteneciente a la casa comercial Spectroquant, se procedió a pesar 10g de lodo residual, se filtró la muestra en 200 ml de agua destilada y se homogenizó en el agitador magnético. La técnica consiste en pipetear 8ml de agua destilada en un tubo de ensayo, posteriormente se añadió con una pipeta 0,5ml de la muestra preparada y se mezcló, luego se agregó 0,5 ml del reactivo PO_4^{-1} con una pipeta, después se añade una dosis de reactivo PO_4^{-2} y se agita vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente, luego se dejó en reposo 5 minutos para luego introducir la muestra de medición en una cubeta de 10mm y medir en el fotómetro.

3.8.1.7 Test Amonio.

Para la determinación de este componente se utilizó el test de cuantificación de amonio perteneciente a la casa comercial Spectroquant, primero se pesó 10g de lodo posteriormente se filtró la muestra en 200ml de agua destilada y se homogenizó con un agitador magnético, la técnica consiste en pipetear en un tubo de ensayo 5 ml de la muestra preparada. Asimismo, con ayuda de una pipeta se agregó 0,60ml del reactivo NH_4^{-1} sobre el preparado, seguido se añadió una micro cucharada del reactivo NH_4^{-2} , se agitó vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente, finalmente se dejó reposar la mezcla 5 minutos para luego introducir la muestra de medición en la cubeta y analizarla en un fotómetro.

3.8.1.8 Test Potasio.

Para la determinación de este componente se utilizó el test de cuantificación de potasio de la casa comercial Spectroquant, se procedió a pesar 10g del lodo, posteriormente se filtró la muestra en 200 ml de agua destilada, se homogenizó en el agitador magnético, la técnica consiste en pipetear en una cubeta de reacción 2 ml la muestra preparada y mezclar, después se añadió 6 gotas del reactivo K-1K y se mezcló, luego se agregó una micro cucharada del reactivo K-2K que se disuelve por agitación firmemente cerrada, finalmente se dejó en reposo 5 minutos y se midió la muestra en el fotómetro.

3.8.1.9 Materia Seca.

El método AOAC 930.04, consiste en calcular del porcentaje en agua de una muestra debido a la pérdida en peso generada por un proceso de calentamiento bajo condiciones normalizadas (AOAC, 1990).

3.8.1.10 Materia Orgánica L.O.I.

El método AOAC 967.05 / DIN 19684-3, se basa en la pérdida de peso por ignición (Loss On Ignition L.O.I), las muestras se secan a 105°C durante un periodo de 3h, luego se enfrían en una desecadora, posteriormente son calcinadas a diferentes temperaturas: 350, 430 y 600°C durante 2h en un horno o mufla, después las muestras son enfriadas en un desecador y pesadas con el objetivo de estimar la materia orgánica del suelo o algún tipo de materia prima (Barrezuela ., 2020), (AOAC, 1990).

3.8.1.11 Carbono.

El método AOAC 967.05, sirve para cuantificar la cantidad de átomos de carbono pertenecientes a una o varias muestras de origen orgánico. Se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$\%de\ carbono = 100 - (\%humedad + \%ceniza) \quad (AOAC, 1990). \quad (5)$$

3.8.1.12 Nitrógeno Total Kjeldahl (N-Total).

El método AOAC 978.04, se fundamenta en la extracción del contenido de nitrógeno mediante reacciones químicas, es una digestión ácida de los compuestos nitrogenados, estos compuestos son transformados a sulfato de amonio mediante un proceso de mineralización con ácido sulfúrico y algunos catalizadores, la digestión se realiza a 420°C y se requiere de un tiempo estimado de 10 horas, se agrega hidróxido de sodio a la mezcla para generar amoniaco, posterior se destila y se titula para determinar el contenido de nitrógeno en la muestra (Lanza et al., 2016), (AOAC, 1990).

3.8.1.13 Fósforo.

El método SM 4500-P C, es considerado como una prueba bioquímica para determinar la concentración de potasio en una muestra orgánica e inorgánica, se realiza una digestión de la muestra que puede ayudar a determinar el nitrógeno total como fósforo total, dentro del proceso se puede observar un gran cambio del pH, en la etapa inicial es alcalino y en la fase final es ácido, finalmente los compuestos nitrogenados se oxidan a nitrato y los compuestos de fósforo a ortofosfato (Public Health Association, 1992).

3.8.1.14 Potasio.

El método SM 3500-K B, es considerado para determinar la concentración de potasio en una muestra orgánica e inorgánica, las porciones traza de potasio se pueden determinar mediante la lectura de un fotómetro con una longitud de onda de 766,5 nm, es apropiado tomar en cuenta parámetros de análisis sodio fotométricos debido que se asemejan a los estándares del potasio (INTI, 2017).

3.8.1.15 Magnesio, Calcio, Hierro, Manganeso, Cobre y Zinc.

El método AOAC 975.03, es utilizado para medir diversos tipos de elementos que están disponibles en ínfimas cantidades en suelos o fertilizantes tales como Mg, Ca, Fe, Mn, Cu y Zn, estos componentes se cuantifican mediante el empleo de la espectrofotometría de absorción atómica, cabe recalcar que cada elemento tiene sus respectivos parámetros operativos (AOAC, 1990).

3.8.1.16 Sodio.

El método SM 3500-Na B, es considerado para determinar la concentración de sodio en una muestra orgánica e inorgánica, las cantidades de sodio se pueden determinar mediante la lectura de un fotómetro de lectura directa o estándar con una longitud de onda de 766,5 nm (INTI, 2017).

3.8.1.17 Boro.

El método AOAC 982.01, se utiliza para determinar las concentraciones de boro en materias primas o suelos, mediante un proceso de disolución de la muestra en agua y ácido, es requerido la eliminación de otros componentes empleando hidróxido de sodio, seguido a esto es mezclado con azometina-H como marcador fluorescente, finalmente, es analizado en un espectrofotómetro para su cuantificación (Sánchez & Cabrera, 2003), (AOAC, 1990).

3.9 Bioensayo de Toxicidad en Semillas

Para la evaluación de la toxicidad del fertilizante orgánico obtenido después de los tratamientos anaerobios (MK1T1, MK2T2 y MK3T3); se realizó un ensayo de germinación en semillas de cebada, siguiendo el protocolo descrito por Varnero et al., (2007). Una vez seco el lodo estabilizado; se procedió a realizar un extracto acuoso del fertilizante orgánico, con la finalidad de comprobar su influencia sobre las semillas; para ello se realizó una dilución de tres muestras del fertilizante orgánico en agua destilada, en una relación 0.5/5; 1/5 y 1.5/5 fertilizante/agua destilada (v/v).

Se procedió a extraer 10ml de cada extracto acuoso y colocarlos en cajas petri, que contenían una base de papel filtro con 10 semillas de cebada (*Hordeum vulgare*); estos ensayos se compararon con un testigo de agua destilada por cada dilución; todos los tratamientos y el control se incubaron 20°C, en condiciones de oscuridad y humedad al 75 %, durante un periodo de 7 días. Finalmente, se calcularon los índices de germinación (GRI); índice de vigor de las plántulas (SVI) y porcentaje de germinación (G%), con las fórmulas que se detallan a continuación:

$$GRI = \frac{\% \text{ de germinación}}{N^{\circ} \text{ de días del ensayo}} \quad (6)$$

$$SVI = \frac{\text{Elongación de la radícula en el extracto}}{\text{elongación de la radícula en el control}} \quad (7)$$

$$G\% = \frac{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas}}{N^{\circ} \text{ de semillas totales}} \times 100g \quad (8)$$

Si el resultado del índice de germinación es inferior al 50% significa que el extracto tuvo una influencia negativa sobre el crecimiento de las semillas. Sin embargo, si el resultado supera el 80%, significa que hubo una influencia positiva sobre el desarrollo de las semillas (Celis et al., 2007).

Las semillas de cebada (*Hordeum vulgare*) utilizadas en los ensayos de fitotoxicidad y germinación en suelo, son semillas certificadas de la estación experimental Santa Catalina, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

3.10 Bioensayo para Evaluar la Influencia del Fertilizante Orgánico.

Para el desarrollo de este ensayo se debe tomar en cuenta el tipo de suelo en el cual se pueda realizar la germinación; para el cultivo de esta semilla (*Hordeum vulgare*), los tipos de suelo más adecuados son desde el arenoso hasta el franco arcilloso (Guzmán et al., 2015). Para la evaluación de la influencia del fertilizante orgánico en el desarrollo de plantas de cebada; se realizó la siembra de estas semillas en cubetas de siembra, dentro de las instalaciones de un invernadero local; Las concentraciones del porcentaje del fertilizante orgánico utilizado durante el ensayo se detallan en la Tabla 8. Además, se empleó un control positivo conformado por un fertilizante químico y un control negativo provisto de suelo esterilizado, todo este proceso se desarrolló bajo condiciones ambientales de luz y temperatura en un periodo de tiempo de 21 días (Y.

García et al., 2016). Al finalizar el bioensayo; se procedió con el conteo del número de hojas, tamaño de hojas, medición de la altura total de la planta, longitud del tallo, diámetro del tallo y la longitud de la raíz principal, para esto se utilizó una cinta métrica. Asimismo, se registró el peso fresco de las plantas con una balanza electrónica; finalmente, para obtener el peso seco, las plántulas de cebada se secaron en una estufa a 100°C durante 12 horas.

Tabla 8.

Concentración de fertilizante orgánico y suelo.

% Concentración	Cantidad de fertilizante orgánico	Cantidad de Suelo
X1= 25%	20g	60g
X2=50%	40g	40g
X3=75%	60g	20g

Adaptado de: Celis Hidalgo et al., (2007).

3.11 Análisis Estadístico

3.11.1 Reducción de la carga microbiana de los tratamientos anaerobios.

Se evaluó el efecto del factor de los tratamientos (MK1T1= inóculo 100 cc, MK2T2=inóculo 130 cc y MK3T3= inóculo 150 cc) en la estabilización de los lodos residuales frente al testigo (lodo inicial). Considerando 3 tratamientos con 2 repeticiones, dando un total de 6 unidades experimentales. Los resultados experimentales fueron sometidos a un análisis de varianza Anova utilizando el programa Infostat, las medias fueron evaluadas con la prueba de Tukey con una probabilidad del 5%.

En el tercer ensayo se evaluó el efecto del factor semilla de cebada y el factor dilución del fertilizante orgánico ($b_1=0.5/5$, $b_2=1/5$ y $b_3=1.5/5$); en la germinación de las plántulas frente a un tratamiento testigo como se observa en la tabla 9. Considerando 3 tratamientos y 1 testigo, dando un total de 30 unidades experimentales.

Tabla 9.

Descripción de tratamientos para la evaluación de la fitotoxicidad del fertilizante orgánico in vitro.

Tratamiento	Código	Descripción
C -	a1	Semillas de cebada + agua destilada (control -)
MK1T1N1	a1b1	Semillas de cebada + dilución lodo (0.5/5)
MK1T1N2	a1b2	Semillas de cebada + dilución lodo (1/5)
MK1T1N3	a1b3	Semillas de cebada + dilución lodo (1.5/5)
MK2T2N1	a1b1	Semillas de cebada + dilución lodo (0.5/5)
MK2T2N2	a1b2	Semillas de cebada + dilución lodo (1/5)
MK2T2N3	a1b3	Semillas de cebada + dilución lodo (1.5/5)
MK3T3N1	a1b1	Semillas de cebada + dilución lodo (0.5/5)
MK3T3N2	a1b2	Semillas de cebada + dilución lodo (1/5)
MK3T3N3	a1b3	Semillas de cebada + dilución lodo (1.5/5)

Además, se realizó la evaluación del fertilizante en suelo para determinar el efecto del factor a (semilla de cebada); el factor b fertilizante orgánico (b3=25%, b4=50% y b5=75%) y el factor c (suelo estéril) frente a dos testigos (C- y C2+), como se describe en la Tabla 10; los factores dan un total de 3 tratamientos con 8 repeticiones, dando un total de 40 unidades experimentales.

Los resultados experimentales para cada variable fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y las medias fueron evaluadas con la prueba de Tukey con una probabilidad del 5%.

Tabla 10.

Descripción de tratamientos para la evaluación del fertilizante orgánico en suelo.

Tratamiento	Código	Descripción
C-	a1c1	Semilla de cebada + suelo estéril (control -)
C2+	a1b2c1	Semilla de cebada + Fertilizante comercial químico + suelo estéril (control +)
MK2T2L1	a1b3c1	Semilla de cebada + fertilizante orgánico (25%) + suelo estéril
MK2T2L2	a1b4c1	Semilla de cebada + fertilizante orgánico (50%) + suelo estéril
MK2T2L3	a1b5c1	Semilla de cebada + fertilizante orgánico (75%) + suelo estéril
MK3T3L1	a1b6c1	Semilla de cebada + fertilizante orgánico (25%) + suelo estéril
MK3T3L2	a1b7c1	Semilla de cebada + fertilizante orgánico (50%) + suelo estéril
MK3T3L3	a1b8c1	Semilla de cebada + fertilizante orgánico (75%) + suelo estéril

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Diseño del biorreactor

En este capítulo presentaremos los resultados del análisis de los datos obtenidos en nuestra experimentación. Estos resultados mostrarán el diseño del biorreactor (figura 7 y 8), y su aporte en el proceso de estabilización de los lodos residuales. Además, la influencia de los tratamientos en la reducción de los patógenos de interés, así como los resultados de fitotoxicidad del fertilizante, destacando las variables que han influido significativamente en la germinación de las semillas de cebada.

El diseño de los biorreactores se basó en los requerimientos específicos del experimento, para llevar a cabo los tratamientos anaerobios del lodo residual, se construyeron tres reactores (6 L) para los respectivos tratamientos (MK1T1, MK2T2, y MK3T3). Mismos que trabajaron con una capacidad inferior al volumen máximo del recipiente en un 20% (1.2 L), ya que estudios previos recalcan la importancia de un factor de seguridad por nivel de llenado, lo que significa que el reactor debe trabajar a un volumen máximo del 80% de su capacidad máxima (4.8 L) como lo indica Floger, (2001).

Además, se construyó un reactor térmico MKT (8.8L), donde se consideraron aspectos fundamentales descritos en bibliografía, como la hermeticidad para mantener la temperatura y presión dentro del reactor. Un sistema de salida de gases a través de un canal que desemboca en un filtro de carbón activado y un medidor de presión.

Dando como resultado un sistema funcional, para llevar a cabo un tratamiento térmico de lodos residuales. Dicho proceso se recomienda debido a que, facilita la hidrólisis térmica de los componentes orgánicos presentes en la materia orgánica, en sus componentes básicos a causa de la acción de altas temperaturas, esta reacción se produce a través de la presencia de agua o humedad, lo que facilita la ruptura de los enlaces químicos en los compuestos orgánicos y su posterior descomposición (Xue et al., 2015).

En los reactores MK1, MK2 y MK3 (6L), se consideraron aspectos importantes descritos en bibliografía, como un sistema automatizado de homogenización mediante un microcontrolador (arduino), conectado a un impulsor de flujo radial (turbina simple de pala) ya que según Bridgeman, (2012) una mezcla efectiva constituye un sistema adecuado de dispersión y contacto entre la biomasa activa y el sustrato.

Además, el uso de un mezclador ayuda a mejorar la eficiencia de los procesos anaerobios; ya que garantiza el contacto entre el sustrato y las bacterias degradadoras de la materia orgánica; de igual forma, asegura la transferencia de masa y de calor dentro del biorreactor (Ma et al., 2018). Por lo tanto, optimiza la biodegradación de la materia orgánica al permitir que los microorganismos tengan acceso a una fuente uniforme de nutrientes y materia orgánica.

Por otra parte, se implementó temperatura constante a través de un controlador digital, ya que, en la fermentación de la materia orgánica, favorece el dominio de las reacciones metanogénicas, acelerando el proceso de digestión anaerobia como menciona Kim et al., (2011). Asimismo, la temperatura es importante en la digestión anaerobia ya que influye en la velocidad y eficiencia de las reacciones químicas que ocurren durante el proceso.

Además, la mayoría de los microorganismos que participan en la digestión anaerobia tienen un rango de temperatura en el que pueden sobrevivir y prosperar. Por lo tanto, la temperatura es un factor crítico en la digestión, ya que puede afectar significativamente la actividad de las enzimas y en consecuencia la tasa de hidrólisis.

Así mismo, los ácidos grasos volátiles producidos en las fases de acidogénesis y acetogénesis se consideran intermediarios importantes en el proceso metanogénico. Sin embargo, el resultado más estudiado con respecto a la influencia de la temperatura en la producción de ácidos grasos volátiles es que la temperatura tiene poco efecto en la distribución de especies de ácidos grasos volátiles ya que depende de su termotolerancia o termosensibilidad (Xue et al., 2015).

Por otra parte, se incorporó un sistema de salida de gases con medición de metano. Debido a que es un indicador de la eficiencia de la digestión anaerobia y puede ser utilizado para optimizar el proceso, sin embargo, la producción de metano puede ser mayor o menor dependiendo de las condiciones específicas del sistema como la composición, y las condiciones operacionales.

En las Figuras 7 y 8 se muestran los aspectos básicos del diseño y estructura final de los biorreactores discontinuos, el uso de un reactor tipo batch en la digestión anaerobia, se debe a que este tipo de reactor permite controlar y ajustar con mayor precisión las condiciones de operación tales como temperatura, pH y tiempo de retención para la digestión microbiana.

Así mismo, el modo de operación para un reactor tipo batch según Bonilla et al., (2017) debe cumplir con características principales como son las siguientes: las

reacciones se llevan a cabo en un sistema cerrado, los reactantes (lodo residual + inóculo) son cargados al inicio de la operación, y la mezcla reactiva se descarga a un mismo tiempo, después que se han completado las reacciones químicas dentro del sistema.

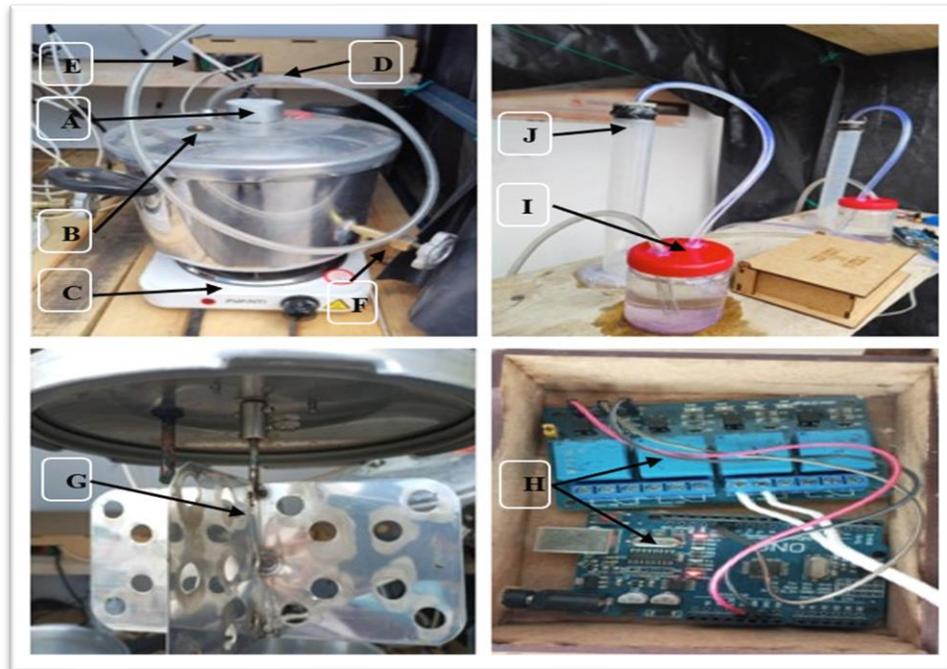


Figura 7. Diseño de los reactores anaerobios MK1, MK2 y MK3 (6L): motor (A), termocupla (B), niquelina (C), manguera (D), controlador digital de temperatura (E), llave de paso (F), paleta de homogenización (G), microcontrolador arduino (H), frasco tipo marioette (I) y una probeta (J).

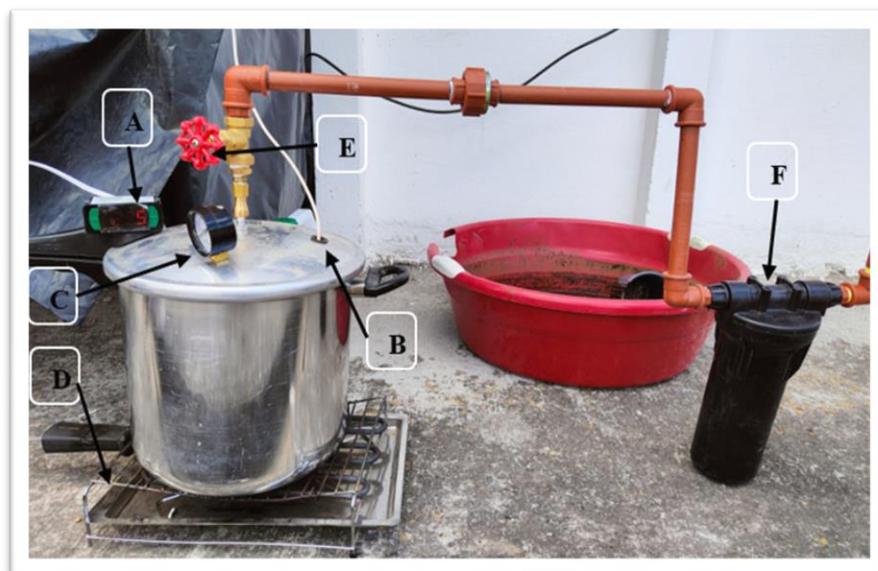


Figura 8. Diseño del Reactor Térmico MKT (11L) con sus partes: controlador de temperatura (A), termocupla (B), manómetro (C), niquelina (D), llave de paso (E), filtro de carbón activado (F).

4.2 Análisis Microbiológicos del Lodo Residual

4.3 Pretratamiento Térmico

Se realizó el pretratamiento térmico a 60°C, un método adecuado para lodos residuales; que mejora la eficiencia de la digestión anaeróbica como lo menciona Li et al., (2022). Sin embargo, al finalizar el proceso termófilo, se realizaron los análisis microbiológicos y no hubo crecimiento de los patógenos evaluados, por lo que el pretratamiento térmico fue descartado del estudio, debido a que el objetivo de la investigación fue evaluar la reducción de patógenos a través de la digestión anaerobia.

Por consiguiente, los efectos del pretratamiento térmico dependen de la temperatura y el tiempo de retención del tratamiento (1 h) (Xue et al., 2015), con respecto a los efectos de la hidrólisis térmica sobre la solubilización de los principales compuestos orgánicos del lodo, así como el desempeño del potencial bioquímico en la producción de metano.

En el estudio de Llenque Díaz et al., (2018) se reportó que a 60° C, *Salmonella* es destruida a los 4.3 minutos, esto se debe a que el calor afecta los microorganismos desnaturalizando las proteínas intracelulares e impidiendo la síntesis de nuevas proteínas. Carlos & Rhode,(2013) manifiestan que la carga microbiana de *E.coli* a 60°C disminuyó considerablemente hasta alcanzar la muerte, resultados similares fueron reportados por Atenodoro et al., (2015) donde al exponer estos microorganismos a temperaturas de 60°C o más, las concentraciones finales se redujeron a niveles por debajo de los límites de detección.

4.4 Digestión anaerobia

En los tratamientos (MK1T1, MK2T2 y MK3T3) a 55°C, el rendimiento máximo de metano (CH₄) en el lote 1 fue de 33 ml, 26 ml, y 41 ml respectivamente; mientras que, los valores obtenidos en lote 2 por cada tratamiento fueron de 63 ml, 58 ml, y 130 ml, durante la fase de digestión anaerobia. En base a la producción de metano, se determinó un tiempo de retención de sólidos de 37 días, debido a que este puede ser un indicador útil para estimar la duración de la digestión anaerobia.

Además, la tasa de producción de metano se relaciona directamente con la velocidad de digestión anaerobia, sin embargo, el tiempo de duración de la digestión anaerobia depende de varios factores incluyendo la cantidad y tipo de materia orgánica presente, la disponibilidad de nutrientes, la temperatura y el pH (Qi et al., 2022).

Por otra parte, debido a las condiciones de temperatura constante en los reactores (55°C); no se encontró crecimiento de los patógenos evaluados, esto se debe a que la pared celular de *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* y coliformes fecales es susceptible a temperaturas termófilas. Además, el factor de la temperatura favorece la hidrólisis de materiales orgánicos en sustancias orgánicas solubles; como ácidos grasos volátiles de cadena corta, que de manera indirecta se convierten en sustancias inhibitoras, ya que reducen los niveles de pH como lo menciona Y. Jiang et al., (2020).

Resultados similares han sido obtenidos por Jiang et al., (2003) donde se demostró que *E. coli* fue indetectable después de 7 a 14 días de compostaje en un biorreactor a una temperatura exterior de 50°C, además, en el estudio de Gannoun et al., (2009) el proceso termofílico fue eficiente en la reducción de coliformes totales y *Salmonella* fue indetectable. Los resultados de los análisis microbiológicos del lodo estabilizado del presente estudio cumplen con los requisitos específicos de pureza microbiológica de biofertilizantes según el MAGAP, (2013), donde determina que la *Salmonella* debe estar ausente en una muestra de 25 g del producto formulado y *Escherichia coli* debe ser <1000 número más probable por gramo de producto elaborado.

Por otra parte, en la muestra control S/R (lodo sin tratamiento) se reporta crecimiento para los tres grupos microbianos como se detalla en la tabla 11.

Tabla 11.

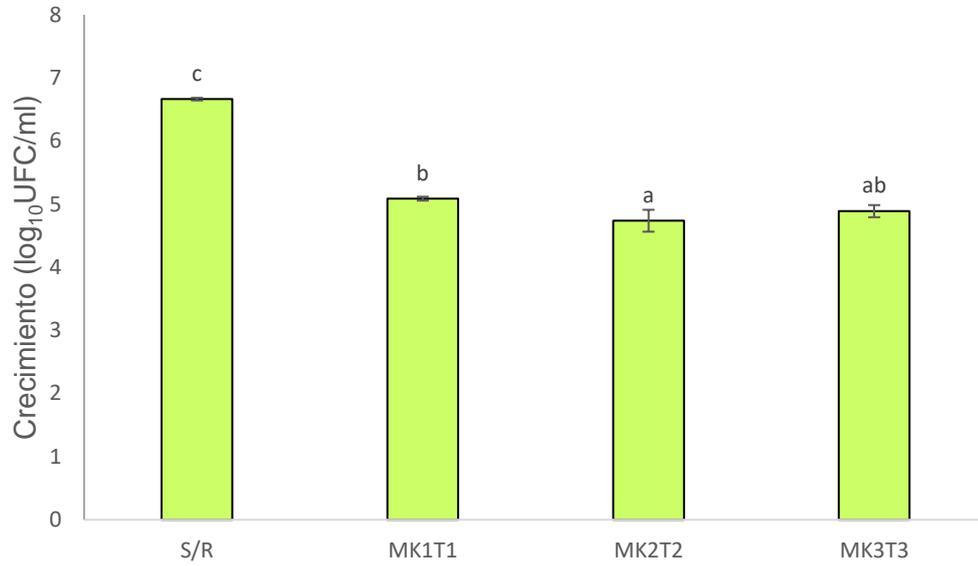
Crecimiento de indicadores microbiológicos de la calidad del lodo en la muestra control S/R (lodo sin tratamiento) a 50°C.

Grupo microbiano/especie	Medio de cultivo	Crecimiento	Crecimiento
		(log UFC/g) Lote 1	(log UFC/g) Lote 2
<i>Salmonella/Shigella</i>	<i>Salmonella/Shigella</i> Agar	6.68± 0.51	5.07± 0.06
<i>E. coli</i>	E.M.B Agar con Eosina y Azul de Metileno	11.11± 0.06	6.52± 0.02
Coliformes totales	Agar MacConkey	9.12 ± 0.06	7.32± 0.02

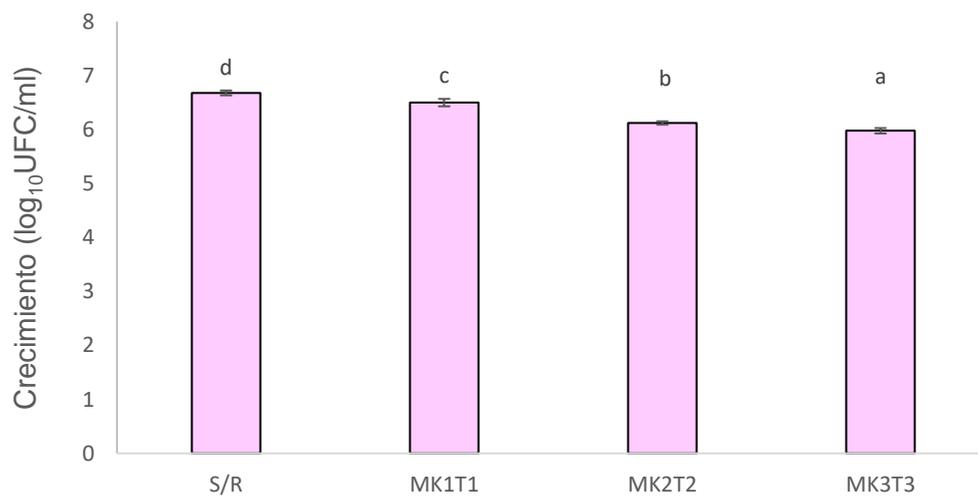
Una vez concluido el tiempo de la digestión anaerobia a 30°C se procedió a cesar las actividades de los reactores, y a través de los análisis microbiológicos se analizó la

reducción de los patógenos con el objetivo de medir la influencia de los tratamientos sobre los microorganismos evaluados como se observa en la Figura 9.

A



B



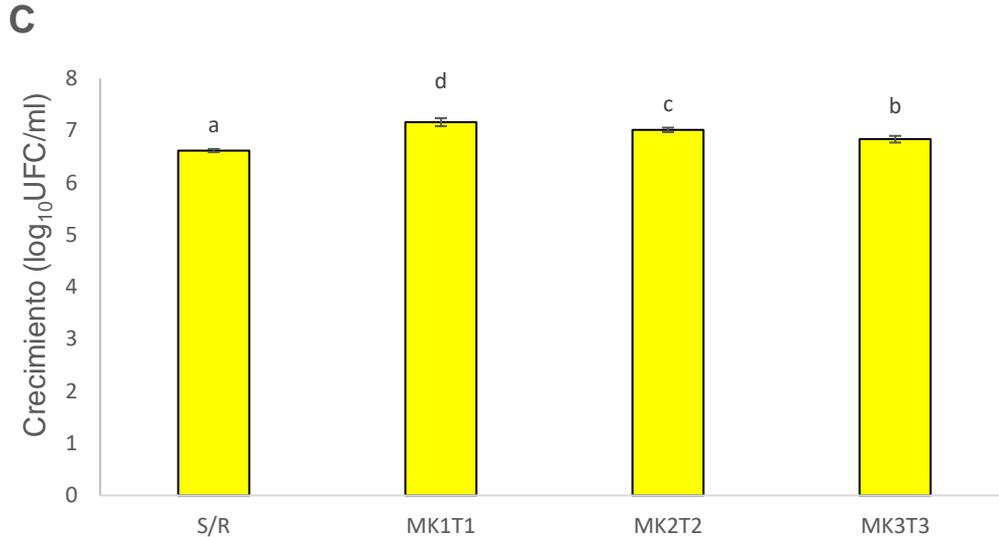


Figura 9. Evaluación del crecimiento microbiológico de patógenos a 30°C: *Salmonella*, *Shigella* (A), *E. coli* (B), Coliformes totales (C) en diferentes concentraciones del inóculo Soil bacter: MK1T1, MK2T2 y MK3T3. Las cepas usadas como control (S/R) fueron aisladas directamente de la muestra inicial del lodo residual (lodo sin tratamiento). Grupos de medias que son estadísticamente diferentes entre sí ($p < 0.05$), están indicados con letras distintas.

Al evaluar el crecimiento de los patógenos *Salmonella* y *Shigella* (Figura 5, sección A) en los reactores anaerobios a condiciones mesófilas (30°C); se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($F=312.97$; $gl=12$; $P= 0.0001$), esto implica que la reducción de la población patógena evaluada, varía según el tratamiento aplicado.

El tratamiento MK2T2 (4.8 L de lodo + inóculo 130 cc) obtuvo la mayor reducción bacteriana; esto puede ser debido a un efecto antimicrobiano por la cantidad de AGV (ácidos grasos volátiles) que se producen durante las fase acidogénica, Y. Jiang et al., (2018) menciona que la eliminación de *Salmonella* y *Shigella* en un proceso anaerobio mesófilo, depende en gran medida a estos compuestos, debido a que a una mayor concentración de AGV los valores de pH disminuyen. Por otra parte, el tratamiento MK1T1 (4.8L de lodo + inóculo 100 cc) obtuvo la menor reducción de patógenos; y todos los tratamientos presentaron concentraciones de los patógenos evaluados inferiores al control (S/R).

En relación al crecimiento de *E. coli* (Figura 5, sección B) en condiciones mesófilas (30°C); se encontraron diferencias significativas en la reducción del patógeno entre tratamientos ($F=166.88$; $gl=12$; $P= 0.0001$). El tratamiento MK3T3 (4.8L de lodo + inóculo 150 cc), presentó la mayor reducción bacteriana; por otra parte, el tratamiento MK1T1 obtuvo la menor reducción del patógeno, todos los tratamientos fueron

estadísticamente inferiores al control (S/R). A pesar de que la temperatura óptima de crecimiento de *E. coli* es de 37°C, algunas pueden proliferar a temperaturas que oscilan entre 7°C y 50°C por lo que existe la supervivencia de estas bacterias patógenas en el digestor anaerobio.

En el estudio de Liu et al., (2014), se determinó que la reducción de patógenos en el proceso de digestión anaerobia mesófila (35°C) con un tiempo de retención de 20 días fue de 60.8%, 39.74%, y 35.29% para *E.coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella spp.* respectivamente; por lo que la inactivación de patógenos en la digestión mesofílica reflejó un desempeño más deficiente que la digestión termofílica.

En la presente investigación a 30°C, se obtuvo una reducción de *Salmonella* y *Shigella* del 23.68%, 28,92% y 26,64%; mientras que para *E. coli*, se redujo el 2.69%, 8,34% y 10.5% para los tratamientos MK1T1, MK2T2, y MK3T3 respectivamente; esto varía debido a que la carga bacteriana difiere según el origen y composición del lodo residual, además la tolerancia a la temperatura varía entre diferentes cepas, pero en general, *Salmonella* y *Shigella* pueden sobrevivir a temperatura mesófilas.

Así mismo, los microorganismos gramnegativos como *Salmonella*, *Shigella* y *E. coli* poseen una membrana externa compuesta de peptidoglicano; que ofrece poca protección a la estructura celular de la bacteria de factores de estrés ambientales (Y. Jiang et al., 2020). Debido a que las condiciones mesófilas no generan el estrés suficiente para romper la pared celular bacteriana, se considera un tratamiento ineficiente.

Respecto a Coliformes Totales (Figura 5, sección C); se encontraron diferencias significativas entre los tres tratamientos aplicados ($F=68.30$; $gl=12$; $P= 0.0001$), siendo el tratamiento MK1T1, el que presentó el mayor crecimiento bacteriano entre los tratamientos y fue superior al control (S/R) en 8.22%.

Contrariamente a lo esperado, en este ensayo no se determinó una reducción de coliformes totales, estos resultados son consistentes con la investigación de Liu et al., (2014), el cual menciona que la temperatura de 30 a 40°C es la temperatura óptima para el crecimiento de bacterias entéricas. Otras investigaciones reportan que la digestión anaeróbica mesófila destruye parcialmente los patógenos como lo menciona Gannoun et al., (2009); por otra parte en el estudio de Song et al., (2004), el porcentaje de desactivación de coliformes totales en un digestor mesófilo (35°C) con un tiempo de retención de 70 días fue de 66.7%.

4.5 Caracterización del Lodo Residual

4.5.1 Análisis Físicoquímicos del Lodo Residual.

Los resultados de los parámetros físicos y químicos de las muestras del lodo inicial (S/R) y el lodo estabilizado del Lote 1 después del tratamiento MK3T3, se observan en la tabla 12.

Tabla 12.

Análisis físicoquímicos en el lodo inicial (S/R) y estabilizado (MK3T3) Lote 1

Parámetros	Unidades	Valores óptimos de un fertilizante orgánico	Lodo inicial	Lodo estabilizado
Materia seca	g/kg	50-70	682	103
Humedad	g/kg	30-50	318	897
Densidad	g/L	-	261	1175
Densidad aparente	g/L	> 200	178	1121
pH	-	7-8,5	7,6	5,9
Conductividad	mS/cm	> 4	3.27	4,47
Materia orgánica	g/kg	> 650	902	831
Carbono (C)	g/kg	> 380	524	483
C/N	g/kg	10:1 hasta 20:1	16:1	19:1
Nitrógeno total (N)	g/kg	> 20	33,6	24.8
Nitrato (NO ₃)	g/kg	-	0.026	0.023
Amonio (NH ₄)	g/kg	-	1,089	0.077
Fosforo (P)	g/kg	> 2	4	3.30
Potasio (K)	g/kg	> 15	1.1	1.60
Magnesio (Mg)	g/kg	> 2	1.5	1
Calcio (Ca)	g/kg	> 15	12.9	8.40
Sodio (Na)	g/kg	> 2	1.60	1.10
Hierro (Fe)	g/kg	-	12.3	1.66
Manganeso (Mn)	g/kg	-	0.199	0.11
Cobre (Cu)	g/kg	-	0.041	0.10
Zinc (Zn)	g/kg	-	0.166	0.10
Boro (B)	g/kg	-	0.025	0.02

El valor de la materia seca entre el lodo inicial y el lodo estabilizado disminuyó en 84% y aumentó en 914 g/L en cuanto a su densidad; este resultado no concuerda con la investigación realizada por Bergstrand, (2022), donde detalla que los valores de densidad de un fertilizante de origen animal, disminuyen acorde a la pérdida de carbono y agua durante un proceso anaerobio. Sin embargo, un valor de densidad alto en un fertilizante orgánico indica una mayor concentración de nutrientes, además, aporta estabilidad a la estructura del abono; por otra parte, una densidad muy baja es indicador de componentes ligeros y volátiles, generando una dispersión y evaporación de los nutrientes, complicando su aplicación en el suelo como lo menciona Singh, (2016).

Además, hubo un aumento del 45% en la conductividad del biofertilizante orgánico (lodo estabilizado); cabe destacar que el incremento de la conductividad se relaciona directamente con el aumento de la densidad del abono orgánico; según Karato & Wang, (2013), los valores de conductividad se incrementan a medida que la concentración de minerales o nutrientes aumenta, y se relaciona con la concentración de sustancias ionizadas que esta contenga.

Con respecto a la materia orgánica, se obtuvo un valor de 902 g/kg del lodo inicial, sin embargo, el contenido de materia orgánica se mantuvo elevado después del tratamiento de estabilización MK3T3 (831g/kg), dando como resultado un consumo del 7.87%. Estos resultados pueden atribuirse al porcentaje de lignina presente en el rumen y heces de animales herbívoros, debido a que estos compuestos orgánicos no pueden ser hidrolizados por las bacterias FAO,(2011).

Asimismo, hay varios factores que pueden contribuir a la baja biodegradabilidad de lodos en procesos de digestión anaerobia, tales como un pH inadecuado, que afectará las distintas etapas de la digestión anaerobia ya que en cada una de ellas intervienen microorganismos que involucran enzimas, mediadoras de la transformación de materiales orgánicos solubles siendo la hidrólisis la etapa limitante de la digestión anaerobia. Además, los lodos pueden contener materiales poco biodegradables como fibras, lignina, celulosa y cenizas, así como la presencia de compuestos tóxicos que pueden inhibir la actividad de las bacterias y reducir la biodegradabilidad (Temiotan et al., 2016).

El contenido de nutrientes de los lodos varía notablemente según la fuente de las aguas residuales y su tratamiento, así como el tratamiento de los lodos, en los resultados fisicoquímicos de macronutrientes del lodo inicial (S/R) se obtuvo una concentración de nitrógeno total de 33.6 g/kg, una cantidad de potasio de 1.1 g/kg y un valor relativamente bajo de fósforo 4g/kg. Estos resultados tienen concordancia con el

estudio realizado por Seleiman et al., (2020), donde indica que el contenido de nitrógeno orgánico e inorgánico en lodos residuales puede llegar hasta 51g/kg de materia seca (MS); en cuanto al fósforo orgánico e inorgánico hasta 28 g/kg, asimismo, el contenido de potasio debe ser menor a 5g/kg MS, esto se debe a que por su alta solubilidad se disuelven principalmente en las aguas residuales, y no se depositan en los lodos residuales, lo que explica la baja cantidad obtenida en el lodo residual (S/R).

Al observar los resultados del consumo del carbono (C) y el nitrógeno (N) dentro del proceso de digestión anaerobia, se consumió 41 g/kg (7.82%) y 8.8 g/kg (26%) respectivamente. Por cada g/kg consumido de N las bacterias consumieron 5g/kg de C, esto puede atribuirse a que en general los microorganismos anaerobios utilizan el carbono de 25 a 30 veces más rápido que el nitrógeno como lo menciona Khanal et al., (2019).

Por consiguiente, los compuestos orgánicos que no pueden ser degradados por los microorganismos presentes en el sistema, pueden incluir polímeros sintéticos, lignina y celulosa. Así mismo, la ruta metabólica que una bacteria utiliza para consumir carbono depende de la disponibilidad de los compuestos orgánicos (FAO,2011).

Además, el nitrógeno amoniacal es uno de los agentes limitantes debido a que inhibe el desarrollo de bacterias metanogénicas, para un proceso eficiente de digestión anaerobia es necesaria una cantidad mínima en el sistema de 0.05 g/kg y un límite < 3 g/kg (Metcalf & Eddy, 2016), en la presente investigación se obtuvo 1.089 g/kg de NH₄ en el lodo inicial (SR), lo que indica que está dentro del rango permisible para la degradación de la materia orgánica.

Así mismo, el lodo digerido presentó un valor de 0.077 g/kg de NH₄, dando lugar a una reducción de 1.012g/kg de NH₄ durante el proceso de digestión, la disminución de este compuesto se debe a que el amonio reacciona con CO₂ para formar carbonato de amonio (NH₄HCO₃) con la finalidad de aumentar la alcalinidad durante la etapa acidogénica, manteniendo un equilibrio en el sistema (Varnero, 2011a).

Además, otro compuesto nitrogenado producido durante el proceso de la degradación de la materia orgánica son los nitratos (NO₃) (Varnero, 2011b), los valores de NO₃ antes y después del proceso de digestión del lodo residual (SR) fueron de 0,026 g/kg y 0,023 g/kg respectivamente, la disminución de este factor implica su uso como aceptor de electrones (nitrificación), en los procesos de respiración bacteriana en un ambiente anóxico (López et al., 2017).

Asimismo, uno de los factores clave para la fermentación anaerobia es la relación C/N que tiene la materia prima, este parámetro aumentó en el transcurso de la digestión, de 16/1 en el lodo inicial (SR) a 19/1 en el lodo estabilizado. Sin embargo, después de un tratamiento anaerobio la relación C/N baja en comparación a la composición inicial de la materia prima (FAO, 2011).

En este proceso los microorganismos utilizan la materia orgánica como fuente de energía y carbono, y liberan nitrógeno en forma de amoníaco. Como resultado, la relación C/N (carbono/nitrógeno) aumenta ya que la proporción de nitrógeno disminuye y la proporción de carbono aumenta en el lodo residual (López et al., 2017).

Por otra parte, se determinó que existe un alto consumo de hierro en la digestión anaerobia, al obtener un valor final de 1.66 g/kg con respecto al valor inicial del lodo 12,3 g/kg; este resultado se debe a que en condiciones anóxicas o de poco oxígeno y pH neutro, durante la fase de hidrólisis, el hierro (Fe^{2+}) es empleado como un donador de electrones, favoreciendo el crecimiento celular de las bacterias anaerobias autótrofas (ferrooxidantes) (Corrales et al., 2015).

Además, (Cano, 2014), reportó que el hierro alimenta el sistema anaerobio optimizando la producción de metano, ya que incrementa la conversión de acetato a metano haciendo posible una alta actividad metanogénica, debido a que dentro de los micronutrientes considerados esenciales para los procesos anaerobios se destacan el Hierro, el Cobalto, el Níquel y el Zinc. Además, el hierro tiene un papel fundamental en el transporte de electrones.

En cuanto a, los resultados de los parámetros físicos y químicos del lote 2, referentes a las muestras del lodo inicial (S/R) y el lodo estabilizado después del tratamiento MK3T3, se observan en la tabla 13.

Tabla 13.

Análisis fisicoquímicos en el lodo inicial (S/R) y estabilizado (MK3T3) Lote 2.

Parámetros	Unidades	Valores óptimos de un fertilizante orgánico	Lodo inicial	Lodo estabilizado
Materia seca	g/kg	50-70	387	113
Humedad	g/kg	30-50	613	887
Densidad	g/L	-	417	1029
Densidad aparente	g/L	> 200	126	114
pH	-	7-8,5	6,7	6,7
Conductividad	mS/cm	> 4	4,15	5,92
Materia orgánica	g/kg	> 650	800	761
Carbono (C)	g/kg	> 380	465	442
C/N	g/kg	10:1 hasta 20:1	13:1	19:1
Nitrógeno total (N)	g/kg	> 20	36,8	23
Nitrato (NO ₃)	g/kg	-	0.1	0.6
Amonio (NH ₄)	g/kg	-	0.9	0.014
Fosforo (P)	g/kg	> 2	3.2	3.4
Potasio (K)	g/kg	> 15	1.2	1.7
Magnesio (Mg)	g/kg	> 2	2.7	1.3
Calcio (Ca)	g/kg	> 15	12.6	10.8
Sodio (Na)	g/kg	> 2	2	1.7
Hierro (Fe)	g/kg	-	2.2	2.44
Manganeso (Mn)	g/kg	-	0.117	0.097
Cobre (Cu)	g/kg	-	0.0296	0.18
Zinc (Zn)	g/kg	-	0.13	0.14
Boro (B)	g/kg	-	0.0398	0.0332

El valor de la materia seca entre el lodo inicial (387g/kg) y el lodo estabilizado (113 g/kg) disminuyó en 71% (274 g/kg), debido a que en la digestión anaerobia se reduce el volumen del lodo y se consume agua en el proceso metabólico de los microorganismos. Con respecto a su densidad aumentó en 612 g/kg, esto debido a la biomasa microbiana producida, además la producción de biogás en el proceso anaerobio puede aumentar la densidad total de los lodos (Salangsang et al., 2022). Asimismo, hubo un aumento del 42.65% (1.77 mS/cm) en la conductividad del biofertilizante orgánico (lodo estabilizado).

Por otra parte, la aplicación de fertilizantes incrementa el valor de la conductividad eléctrica del suelo, lo cual influye directamente ya que afecta la absorción de nutrientes por las plantas (C. García et al., 2019). Por lo tanto, si se encuentra por encima del valor óptimo para el cultivo la planta, tendrá que esforzarse en mayor medida para la extracción de nutrientes, esto conlleva a un gasto adicional de energía, que influirá negativamente en el rendimiento productivo del cultivo. Los resultados indican un valor final de 5.92 mS/cm que está dentro del rango de tolerancia del cultivo de cebada cuyo límite es 8 mS/cm (Orcellet et al., 2015).

El consumo de materia orgánica fue de 39 g/kg (4.9%), con un valor inicial de 800g/kg, sin embargo, la proporción de materia orgánica en el lodo digerido se mantiene elevada (761g/kg), la reducción de este parámetro fue inferior al Lote 1 en un 3%. Asimismo, el consumo del carbono en el sistema anaerobio fue inferior con respecto al lote1 (41g/kg), con un valor de consumo de 23g/kg (4.95%), a pesar de que el modo de operación en el biorreactor es el mismo, la composición bacteriana y fisicoquímica del lodo residual, varía según el número de lotes de animales faenadas.

Asimismo, la carga microbiológica depende de la composición de los desechos orgánicos, la temperatura, la acidez y la concentración de nutrientes, estos factores afectan la tasa de crecimiento y la diversidad de bacterias presentes en el lodo, lo que a su vez afecta su capacidad para ser tratados eficientemente los desechos, como lo menciona Seleiman et al., (2020).

Las cantidades de N y P presente en el lodo estabilizado fueron de 23 g/kg y 3,4 g/kg respectivamente, estos valores se encuentran dentro de los rangos adecuados para un compost de buena calidad, ya que generalmente se consideran valores de nitrógeno > 20 g/kg y fósforo > 2g/kg como óptimos.

Los parámetros, NH_4 se redujo hasta 0.014 g/kg, debido a que estos compuestos son empleados en la respiración celular de bacterias desnitrificantes como en procesos de equilibrio de pH en condiciones anóxicas, al final del proceso se obtuvo 0.6 g/kg de NO_3 , la presencia de aceptores de electrones como NO_3^- y SO_4^{2-} indica que grupos de bacterias tales como desnitrificantes y reductores de sulfato estarán presentes en el reactor anaerobio

Algunos metales como Zn, Ni, Cu, Mn, Se y Fe son micronutrientes esenciales para las plantas ya que se requieren en pequeñas cantidades de 1 a 200 ppm, dependiendo del metal y la especie de planta, para su desarrollo normal, sin embargo, en altas concentraciones pueden afectar la viabilidad y las funciones celulares (A.

García, 2015) en el presente estudio los valores no están dentro del rango toxico para el cultivo de cebada.

Con respecto al contenido total de lípidos en la muestra seca (0,01196 g/g) del lodo inicial (S/R) fue superior en relación al de la muestra fresca (0,00306 g/g), según (Palatsi et al., 2010), la ruta degradativa de los lípidos hidrolizados a ácidos grasos de cadena larga (AGCL) ha sido descrita como la principal etapa limitante en el proceso de digestión anaerobia.

4.2.2.1. Análisis Físicoquímicos del suelo.

En la tabla 14, se muestran los resultados de los análisis fisicoquímicos del suelo, empleado en la segunda fase de germinación de las plántulas de cebada.

Tabla 14.

Análisis físicos del suelo seco.

Parámetro	Unidad	Resultado
Textura	%	Franca limosa
Fracción de Partículas	%	Arena 24%, Limo 59%, Arcilla 17%
pH en KCL	-	5.4
pH en H2O	-	5.9
Conductividad	mS/cm	0.21

El análisis de la tierra muestra que tiene un pH ácido, sin embargo, las plantas cultivadas en general presentan su mejor desarrollo en valores cercanos a la neutralidad, ya que en estas condiciones los elementos nutritivos están más fácilmente disponibles.

Con respecto, a la conductividad, cada cultivo es capaz de sobrevivir dentro de diferentes rangos de concentración, dependiendo del tipo de sales que contiene el suelo, por lo general los valores de conductividad para un buen desarrollo de las plantas son < 0.500 ms/cm, por lo tanto, la tierra analizada se encuentra dentro del rango.

Los valores de los análisis del contenido de macro y micronutrientes de la muestra de suelo se detallan en la tabla 15.

Tabla 15.*Contenido de macro y micronutrientes en mg/kg de suelo seco.*

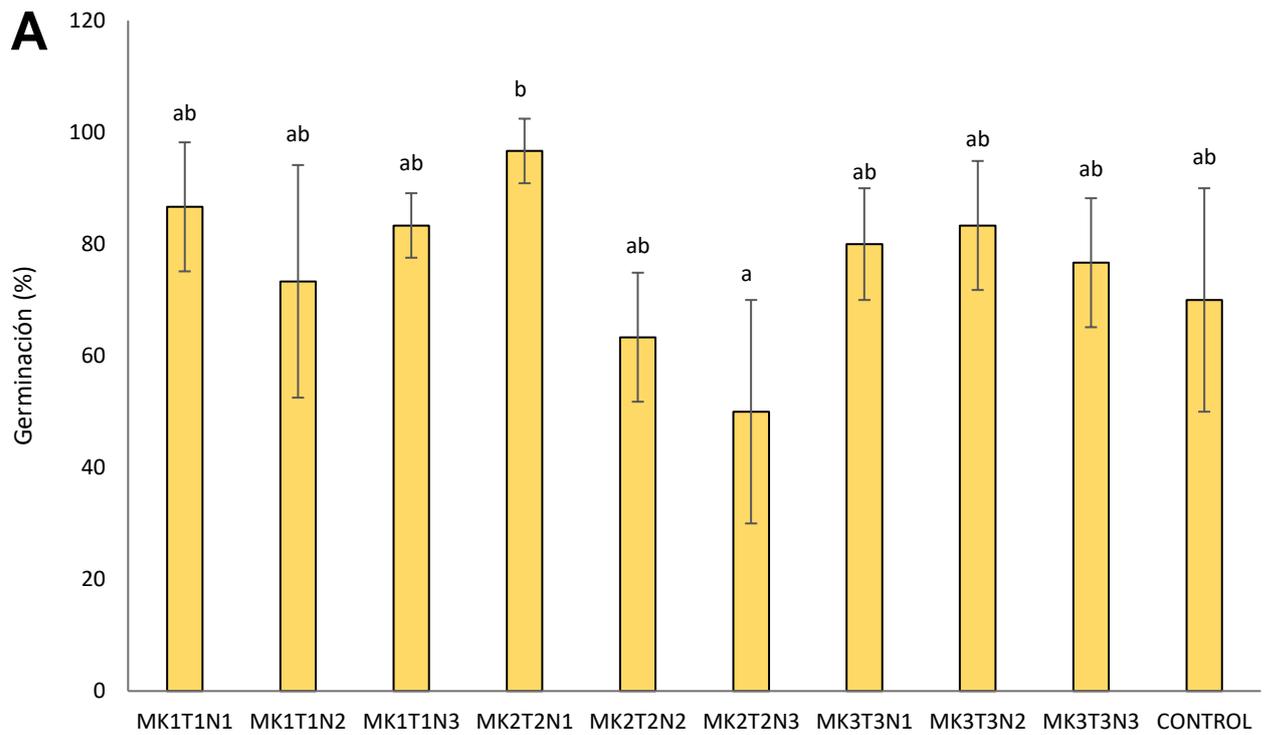
Elemento	Unidad	Cantidad
Materia Orgánica	%	10,800
C/N	/	(19/1)
Nitrato (NO ₃)	g/kg	0.0168
amonio (NH ₄)	g/kg	0.0075
fósforo (P)	g/kg	0.0619
potasio (K)	g/kg	0.2370
magnesio (Mg)	g/kg	0.2500
calcio (Ca)	g/kg	0.4410
sodio (Na)	g/kg	0.0155
azufre (S)	g/kg	0.0095
hierro (Fe)	g/kg	0.4160
manganeso (Mn)	g/kg	0.1100
cobre (Cu)	g/kg	0.0057
zinc (Zn)	g/kg	0.0106
boro (B)	g/kg	0.00026
Cloruro (Cl ⁻)	g/kg	0.01790
Sales totales	g/kg	0.17800

Se determinó los macro y micronutrientes del suelo, ya que es importante para ajustar la concentración de la fertilización en base a los requerimientos nutricionales del cultivo, puesto que una sobredosis de fertilizante N, P, K o S conduce a la contaminación del suelo y al envenenamiento de las plantas. Mientras que las aplicaciones insuficientes de fertilizantes no pueden satisfacer las necesidades de crecimiento de las plantas, lo que conduce a una disminución del rendimiento y la calidad debido a la desnutrición.

Se obtuvo 0.0168 g/kg de NO₃, el cual es directamente asimilable por las plantas, la cantidad de materia orgánica del suelo, N, P y K están dentro de los niveles óptimos para el cultivo intensivo de cebada de acuerdo a los valores reportados en la bibliografía (hasta 0.04 g/kg de N; > 0.3 g/kg de P; hasta 0.24 g/kg de K), con respecto a una tierra de buena calidad, es decir tiene el contenido de nutrientes primarios para las plantas (Pan et al., 2021).

4.6 Bioensayo de Toxicidad en Semillas

En la figura 10, se presentan los resultados obtenidos del porcentaje de germinación (%G), el índice de tasa de germinación (GRI), y el índice de vigorosidad de la plántula (SVI), para cada uno de los tratamientos evaluados a 55°C, en el ensayo de toxicidad en semillas de cebada certificadas (INIAP-Cañicapa 2003).



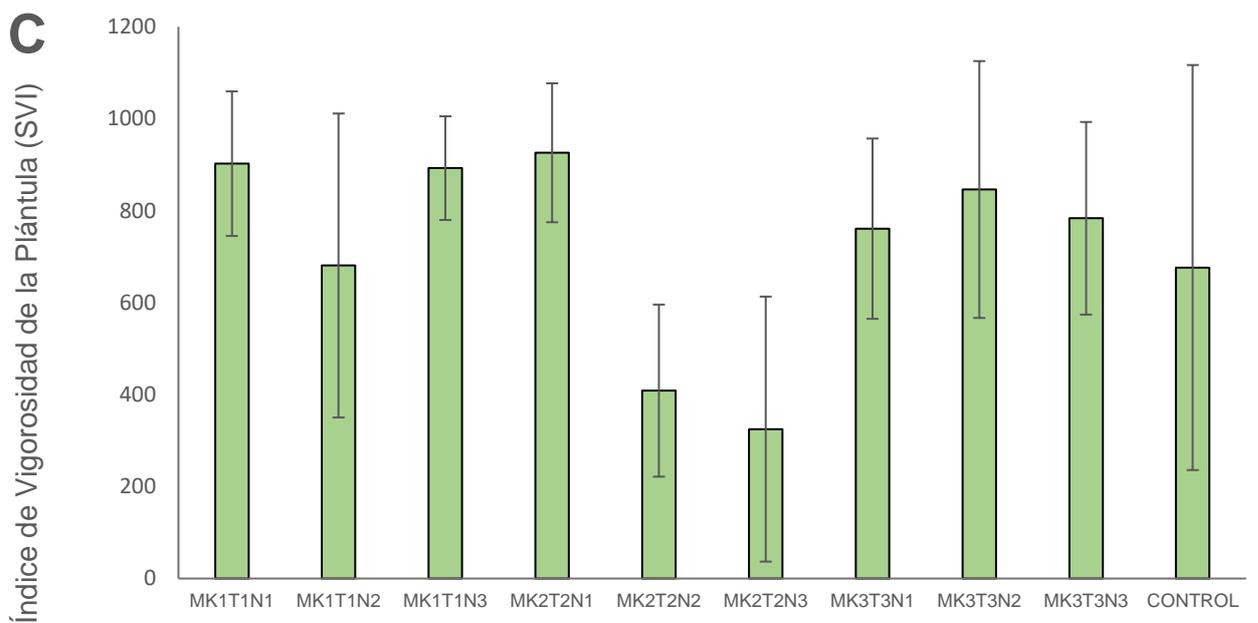
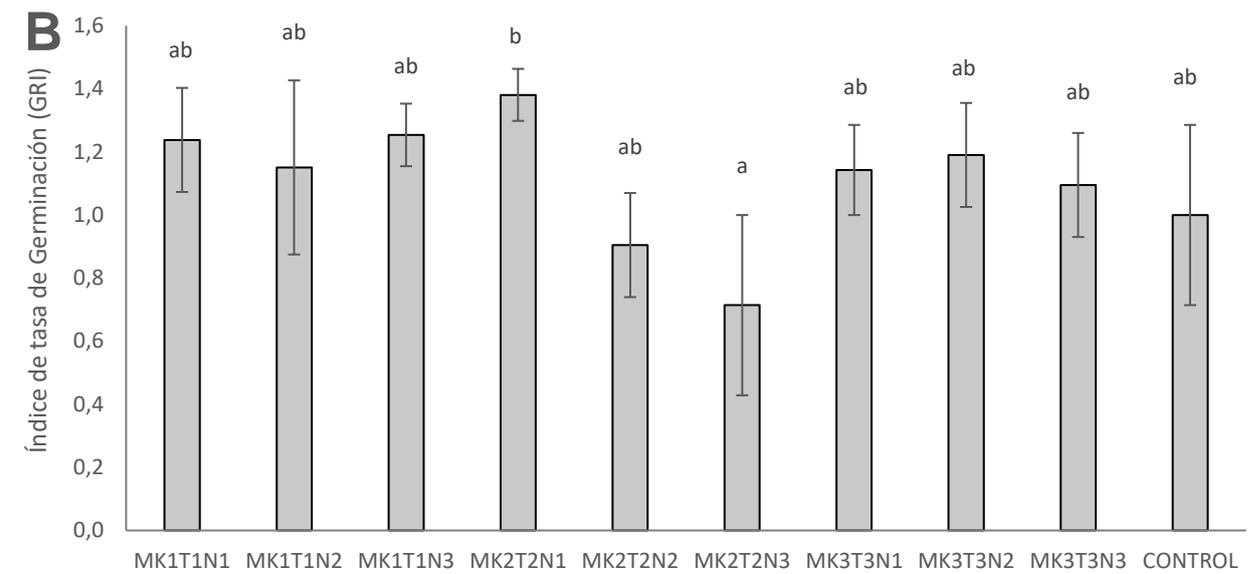


Figura 10. Evaluación del fertilizante orgánico: Porcentaje de germinación (A), Índice de la tasa de germinación (B), Índice de vigorosidad de la plántula (C) por cada tratamiento del lodo residual (MK1T1, MK2T2, MK3T3) en diferentes concentraciones del extracto acuoso: N1(0.5ml lodo/ 5ml agua), N2(1ml lodo/ 5ml agua), N3(1.5ml lodo/ 5ml agua). Las semillas usadas como control fueron germinadas con agua estéril. Grupos de medias que son estadísticamente diferentes entre sí ($p < 0.05$), están indicados con letras distintas.

El análisis estadístico muestra que en la (Figura 10, sección A), existe una diferencia significativa entre los ensayos aplicados a las semillas, para la variable porcentaje de germinación ($F=2.66$; $gl=9$; $P= 0.0328$), es decir que varía dependiendo de la concentración aplicada en cada tratamiento. Siendo el ensayo MK2T2N1 el que presentó el mayor porcentaje de germinación con respecto a MK2T2N3, por lo que existen diferencias estadísticamente significativas entre sí.

Sin embargo, los resultados obtenidos en los ensayos MK1T1N1, MK1T1N2 MK1T1N3, MK2T2N1, MK2T2N2, MK3T3N1, MK3T3N2, MK3T3N3 y el control; presentan valores similares en cuanto al porcentaje de germinación, no obstante, en ningún ensayo se evidenció la inhibición de la germinación de las semillas, debido a que los porcentajes son superiores al 50%.

Por otra parte, el periodo de germinación y los primeros días de desarrollo de la plántula, son una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos, ocurren numerosos procesos fisiológicos en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir, alterando la supervivencia y el desarrollo normal de la planta (Benedetto & Tognetti, 2016).

Asimismo, el estudio realizado por Mieczyslaw(2010), donde se utilizaron lodos de depuradora para determinar la fitotoxicidad en semillas de maíz, bajo condiciones controladas de oscuridad a 20°C, las dosis de extractos acuosos del lodo residual (10-15%), reflejaron una influencia positiva sobre el crecimiento de las plántulas, al igual que en el presente estudio, los resultados muestran que las dosis de los lodos de depuradora añadidos no afecta negativamente el número de semillas germinadas.

Respecto al índice de la tasa de germinación (Figura 6, sección B), se observaron diferencias significativas ($F=2.83$; $gl=12$; $P= 0,0252$). El ensayo MK2T2N1 obtuvo un valor superior de (GRI) con respecto al ensayo MK2T2N3, mientras que este último obtuvo el menor porcentaje de (GRI) con respecto a todos los ensayos.

Por otra parte, en la variable índice de vigorosidad de la plántula (Figura 6, sección C), no se observaron diferencias significativas entre los ensayos aplicados ($F=1.99$; $gl=9$; $P= 0.0958$), es decir que no hay diferencias en el conjunto de propiedades, que determinan la actividad y desempeño en el crecimiento favorable de lotes de semilla.

4.7 Bioensayo de toxicidad en suelo

En la figura 11, se presentan los resultados obtenidos del porcentaje de germinación (%G) de los ensayos realizados en suelo, empleando los lodos

estabilizados procedentes de los tratamientos MK2T2 Y MK3T3 y semillas de cebada variedad (INIAP-Cañicapa 2003).

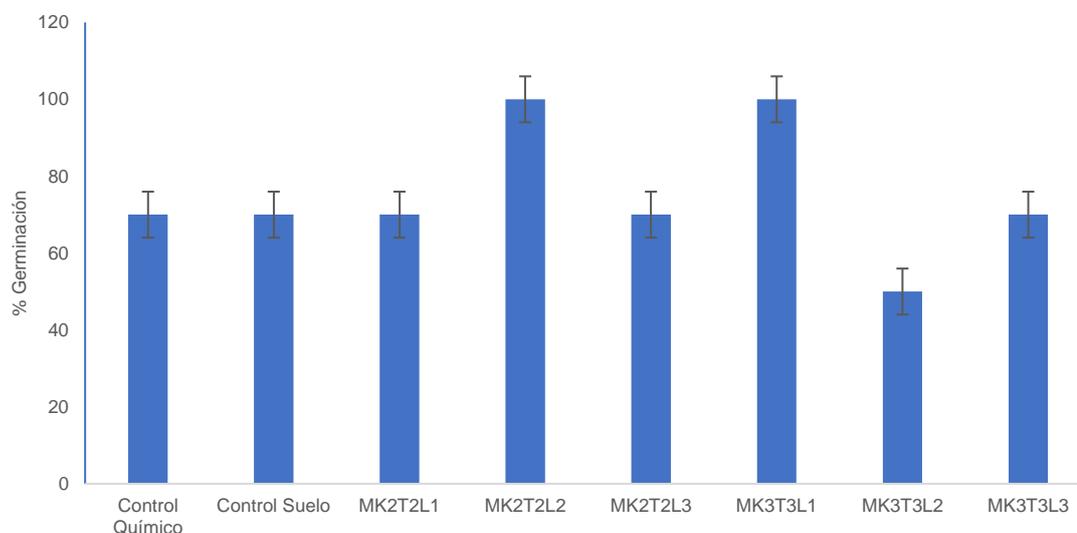


Figura 11. Porcentaje de germinación del fertilizante orgánico (MK2T2, MK3T3) en suelo, en diferentes concentraciones: L1 (25% lodo,75% suelo), L2 (50% lodo, 50% suelo), L3 (75% lodo, 25 % suelo).

El ensayo de germinación de las semillas de cebada en suelo mostró los porcentajes más altos para los tratamientos MK2T2L2 (Reactor MK2, 50% lodo, 50% suelo) y MK3T3L1(Reactor MK3, 25% lodo, 75% suelo), esto debido a que los lodos estabilizados son una buena fuente de nutrientes para las plantas, y las concentraciones aplicadas no presentaron niveles de fitotoxicidad en la germinación. Además, el abono orgánico provee nutrientes esenciales para el desarrollo de las plantas, como nitrógeno, fósforo y potasio. La aplicación de abonos orgánicos mejora la estructura y aireación del suelo, así como la retención del agua, como lo menciona Hazra, (2016).

4.8 Características morfológicas de las plántulas

Con relación a los resultados de las características fisiológicas de las plántulas de cebada, se mostraron ciertas diferencias morfológicas entre los diferentes tratamientos como se muestra en las tablas 16 y 17.

Tabla 16.*Características morfológicas de las plántulas de cebada (Hordeum vulgare).*

Tratamientos	Altura Total (cm)	Longitud Tallo (cm)	Diámetro Tallo (mm)
MK2T2L1	68.16 ± 28.00 ^{ab}	18.94 ± 8.70	0.29 ± 0.12
MK2T2L2	83.71 ± 15.50 ^b	21.11 ± 4.03	0.33 ± 0.07
MK2T2L3	75.86 ± 34.09 ^{ab}	20.24 ± 10.69	0.30 ± 0.14
MK3T3L1	59.96 ± 12.36 ^{ab}	15.26 ± 2.68	0.29 ± 0.04
MK3T3L2	39.63 ± 12.92 ^a	10.18 ± 8.66	0.20 ± 0.17
MK3T3L3	50.79 ± 23.07 ^{ab}	15.63 ± 6.84	0.28 ± 0.12
Control Suelo	56.76 ± 23.04 ^{ab}	13.73 ± 5.62	0.36 ± 0.16
Control Químico	55.25 ± 22.61 ^{ab}	16.00 ± 6.71	0.26 ± 0.11

Tabla 17.*Características morfológicas de las plántulas de cebada (Hordeum vulgare).*

Tratamientos	Raíz (cm)	Número de hojas	Longitud Hojas (cm)
MK2T2L1	24.15 ± 11.63 ^{ab}	5 ± 2	18.68 ± 7.73
MK2T2L2	35.53 ± 8.66 ^b	6 ± 1	19.71 ± 3.32
MK2T2L3	26.26 ± 14.33 ^{ab}	6 ± 3	19.10 ± 9.09
MK3T3L1	24.35 ± 10.86 ^{ab}	4 ± 1	18.91 ± 3.26
MK3T3L2	15.74 ± 17.04 ^a	3 ± 2	10.29 ± 8.74
MK3T3L3	16.75 ± 8.68 ^a	3 ± 1	14.74 ± 6.31
Control Suelo	13.69 ± 6.63 ^a	5 ± 2	18.19 ± 7.55
Control Químico	11.06 ± 4.52 ^a	4 ± 2	19.21 ± 7.83

El análisis de la varianza para las variables altura del tallo, diámetro del tallo, número de hojas, longitud de hojas de las plántulas resultó no significativo ($p > 0.05$), no obstante, en las variables de altura total de la planta ($F=2.40$; $gl=7$; $P= 0.0323$) y longitud de la raíz ($F=4.34$; $gl=7$; $P= 0.0007$); se observaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, siendo el tratamiento MK2T2L2 (Reactor MK2, lodo 50%, suelo 50%) el que mostró las medidas más altas en altura de la plántula y longitud de raíces.

Como lo menciona Du Jardin, (2015), la inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo de las plantas se presenta como un parámetro de evaluación de efectos biológicos en plantas. En la presente investigación las plántulas desarrollaron raíces y posteriormente la parte aérea debido a que los abonos orgánicos pueden mejorar la estructura del suelo, facilitando así el crecimiento de las raíces (Bergstrand, 2022).

Por otra parte, que el tratamiento MK3T3L2 (Reactor MK3, lodo 50%, suelo 50%) fue el que presentó las medias más bajas tanto en la variable de altura total de la planta como en la longitud de la raíz, esto puede deberse a una mala compactación del lodo y la tierra lo que se evidenció en la reducción del crecimiento de la raíz y la planta en general como lo menciona Afanador, (2017).

Se ha desarrollado investigaciones similares en plantas de la familia poaceae analizando las variables morfológicas de la planta, sin embargo, las plantas sujetas a estudio se encuentran en etapas de espigamiento o de cosecha, no existen estudios exclusivamente en plántulas que se enfoquen en la medición de estas variables como lo menciona Mieczyslaw (2010).

Los resultados de la acumulación de la biomasa fresca y materia seca de las plántulas de cebada por tratamiento se muestran en la figura 12.

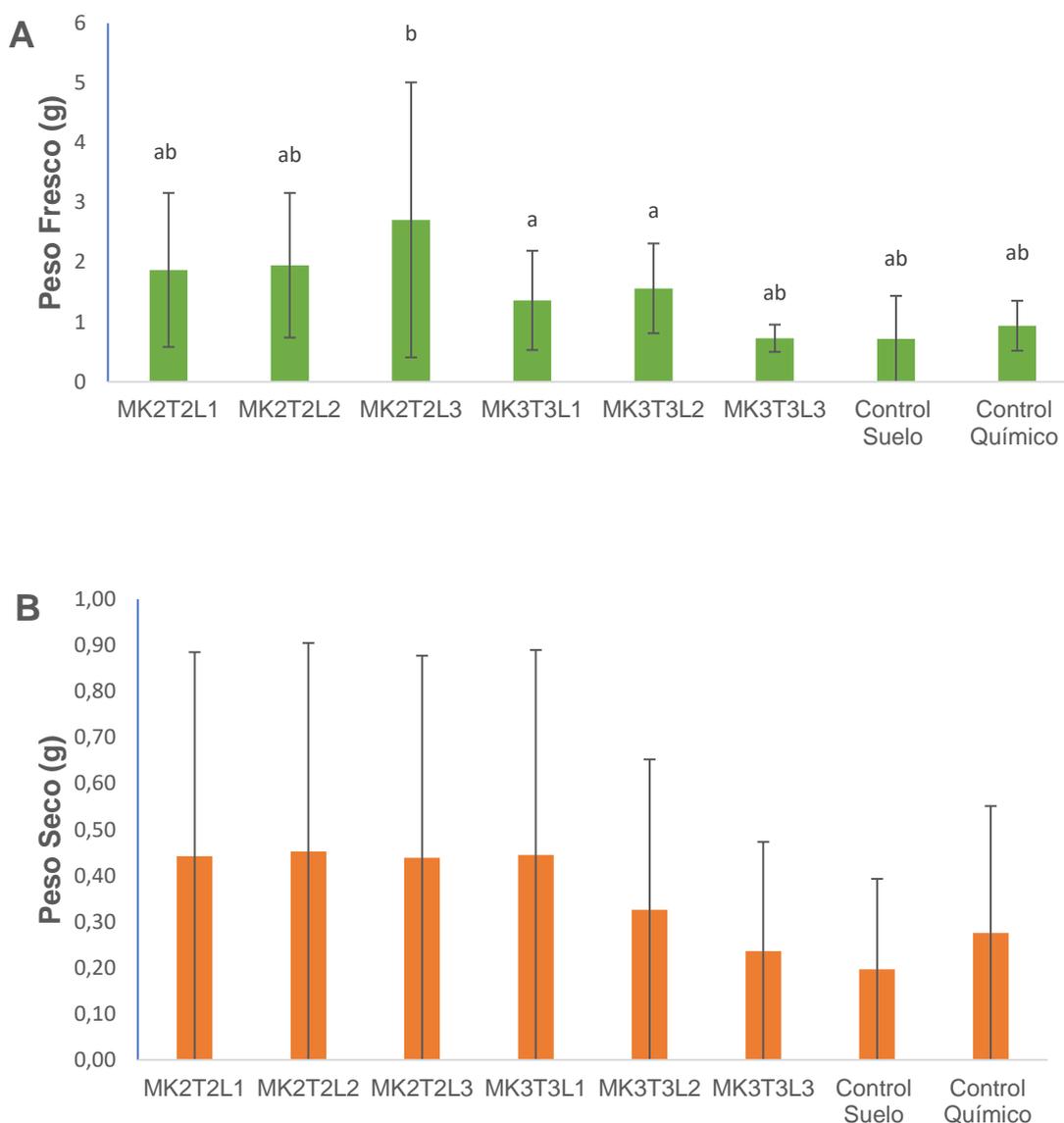


Figura 12. Evaluación de la acumulación de biomasa fresca (A), materia seca (B) en los tratamientos (MK2T2, MK3T3) a diferentes concentraciones: L1 (25% lodo, 75% suelo), L2 (50% lodo, 50% suelo), y L3 (75% lodo, 25 % suelo).

En los resultados de la variable peso fresco (Figura 12, sección A) se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($F=2.94$; $gl=7$; $P= 0.0108$), los valores máximos de biomasa fresca se observaron en el tratamiento MK2T2L3, mientras que el tratamiento MK3T3L2 obtuvo el valor mínimo. Sin embargo, el peso fresco es una medida despreciable en plantas jóvenes, debido a que el tejido foliar está compuesto en su mayoría por agua (Bänziger et al., 2016).

El crecimiento de una planta puede ser cuantificado al analizar el incremento de sus dimensiones en tallo, hojas y raíz, por lo tanto, la relación entre el fertilizante y las plantas es importante para medir el impacto en su desarrollo. La variable más utilizada para medir el porcentaje de biomasa de un organismo vegetal es el peso seco, este factor permite analizar importantes aspectos de la fisiología vegetal, como el estimar la cantidad de carbono total en las plantas, en pocas palabras es un análisis de crecimiento, rendimiento, fijación y partición del carbono (Benedetto & Tognetti, 2016).

La estimación del porcentaje de biomasa varía según el estado de madurez de la planta, ya que se desarrollan estructuras fibrosas como las ligninas y las hemicelulosas, cuyo contenido de humedad es bajo (Bänziger et al., 2016). En la presente investigación no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($F=2.83$; $gl=7$ $P= 0.0134$) en relación a materia seca (Figura 12, sección B)

Sin embargo, en la mayoría de las investigaciones que tienen como objetivo medir la influencia de un fertilizante, las plantas se evalúan desde el periodo de germinación hasta la fase de cosecha (Benedetto & Tognetti, 2016); mientras que en la presente investigación se trabajó con plántulas de 21 días, ya que el análisis se enfocó en la germinación y los ensayos de fitotoxicidad con el lodo residual.

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Se construyeron tres reactores anaerobios tipo Batch (4.8 L) de material metálico, resistentes a la corrosión provocada por fluctuaciones de pH y a condiciones ambientales. Además, mediante el sistema automático se mantuvieron de condiciones de temperatura y agitación durante el proceso de digestión, mejorando la calidad del producto final.

La temperatura para la eliminación de *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* y Coliformes totales en los tres tratamientos (MK1T1, MK2T2 y MK3T3) del lodo residual fue de 55°C, con un tiempo de retención de 37 días. Por otro lado, en los tratamientos mesófilos a 30°C, el tratamiento MK2T2 fue el más efectivo en la reducción de *Salmonella/Shigella*, con respecto a *E. coli* el tratamiento que presentó la mayor disminución de este patógeno fue el MK3T3, sin embargo, en cuanto a Coliformes Totales ningún tratamiento fue efectivo y las condiciones promovieron su proliferación.

No se pudo evidenciar actividad hidrolítica representativa, por parte de las concentraciones del inoculante comercial (100cc, 130cc, 150cc) en los tratamientos MK1, MK2 y MK3 respectivamente, debido al bajo porcentaje de carbono consumido durante la digestión anaerobia, evidenciado en los análisis fisicoquímicos de los lodos estabilizados.

Las concentraciones de los extractos acuosos (N1, N2, N3) del lodo estabilizado, pertenecientes a los tratamientos MK1T1, MK2T2 Y MK3T3 no presentaron fitotoxicidad respecto al índice de germinación in vitro, siendo los ensayos MK1T1N1, MK1T1N3, MK2T2N1, MK3T3N2 los que obtuvieron una influencia positiva del fertilizante al presentar un porcentaje de germinación superior al 80%.

Las concentraciones evaluadas (L1, L2, L3) del lodo estabilizado (fertilizante) en los ensayos en suelo no evidenciaron una influencia negativa en la germinación de cebada, al obtener un índice de germinación mayor al 50% en todos los tratamientos. Asimismo, los resultados de la longitud de raíz y altura total de la plántula del tratamiento MK2T2L2 (MK2, 50% lodo, 50% suelo), obtuvieron la media más alta y fueron superiores al control negativo y al control químico.

Se logró estabilizar el lodo residual primario del Camal Municipal de Ibarra, ya que se redujo la presencia de patógenos, malos olores, así como el potencial de putrefacción, lo que garantiza la seguridad para su uso en la agricultura.

5.2 Recomendaciones

Añadir un sistema de medición digital de pH, con el objetivo de monitorear y corregir los desbalances de pH, que pueden ser ocasionados por la acumulación de compuestos ácidos o alcalinos, producidos durante las etapas de la digestión anaerobia.

Implementar un pretratamiento enzimático o biológico, que ayude a hidrolizar la materia orgánica compleja contenida en los lodos primarios, con la finalidad de aumentar la disponibilidad del sustrato para las bacterias que llevan a cabo la digestión anaerobia.

Construir un reactor batch anaerobio a escala piloto, que contemple un sistema de calentamiento y salida de gases, dentro de las instalaciones del Camal Municipal de Ibarra, para el tratamiento de los lodos primarios, con el objetivo de reutilizar los nutrientes y la materia orgánica contenida en el lodo residual.

Incluir el análisis de huevos de helmintos, ya que son de gran importancia en salud pública, además, agregar la evaluación de la presencia de metales pesados, para garantizar una mayor calidad sanitaria de fertilizantes orgánicos, procedentes de lodos residuales.

Mantener un ambiente de incubación idóneo en la germinadora según las especificaciones ambientales de cada semilla, ya que los parámetros como el porcentaje de humedad y temperatura influyen en el proceso de germinación.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe, N., Tang, Y. Q., Iwamura, M., Ohta, H., Morimura, S., & Kida, K. (2011). Development of an efficient process for the treatment of residual sludge discharged from an anaerobic digester in a sewage treatment plant. *Bioresource Technology*, 102(17), 7641–7644. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.05.030>
- Achparaki, M., Thessalonikeos, E., Tsoukali, H., Mastrogianni, O., Zaggelidou, E., Chatzinikolaou, F., Vasilliades, N., Raikos, N., Isabirye, M., Raju, D. V. ., Kitutu, M., Yemeline, V., Deckers, J., & J. Poesen Additional. (2012). Slaughterhouse Wastewater: Treatment, Management and Resource Recovery. *Intech*, 13.
- Acosta, Y., & Obaya, C. (2005). *Digestión anaerobia, aspectos teoricos*.
- Afanador, L. (2017). *Biofertilizantes: conceptos, beneficios y aplicación en Colombia*. <https://www.researchgate.net/publication/331454557>
- Alam, M., Muyibi, S., & Jamal, P. (2007). *Biological treatment of sewage treatment plant sludge by pure bacterial culture with optimum process conditions in a stirred tank bioreactor*. *Journal of Environmental Science and Health*.
- Amador, A., Veliz, E., & Bataller, M. (2015). Tratamiento de lodos, generalidades y aplicaciones. In *Revista CENIC Ciencias Químicas* (Vol. 46).
- AOAC. (1990). *Official Methods of analysis, AOAC* (H. Kenneth (ed.); 15th ed., Vol. 1).
- API. (2020). Protección de sobrellenado de tanques de almacenamiento en instalaciones petrolíferas, Norma ANSI/API 2350-2012, Quinta edición, septiembre de 2020. *American Petroleum Institute*, 5.
- Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J., & Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(6), 755–781. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2008.06.002>
- Armenta, D., García, C., Camacho, R., Apodaca, Á., Montoya, G., Ximhai, L., & Ximhai, R. (2010). *BIOFERTILIZANTES EN EL DESARROLLO AGRÍCOLA DE MÉXICO*. 6, 51–56.
- Arthurson, V. (2008). Proper sanitization of sewage sludge: A critical issue for a sustainable society. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(17), 5267–5275. <https://doi.org/10.1128/AEM.00438-08>
- Atenodoro, J., Ruíz, J., Alvarado, A., Martínez, A., Martínez, S., & Méndez, J. (2015).

- Mejoramiento de la degradabilidad anaerobia y parámetros cinéticos de la inactivación de patógenos de lodos residuales usando pre- y post tratamiento termico parte 2. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12(3), 505–511.
- Baker, B. R., Mohamed, R., Al-Gheethi, A., & Aziz, H. A. (2021). Advanced technologies for poultry slaughterhouse wastewater treatment: A systematic review. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 42(6), 880–899. <https://doi.org/10.1080/01932691.2020.1721007>
- Banco Mundial. (2022). *Consumo de fertilizantes (kilogramos por hectárea de tierras cultivables) - Ecuador | Data*. Grupo Banco Mundial. <https://datos.bancomundial.org/indicador/AG.CON.FERT.ZS?locations=EC>
- Bänziger, M., Edmeades, G. O., & Bolaños, J. (2016). Relación entre el peso fresco y el peso seco del rastrojo de maíz en diferentes estados fenológicos del cultivo. *Agronomía Mesoamericana*, 8(1), 20. <https://doi.org/10.15517/am.v8i1.24719>
- Barrezueta, S., Cervantez, A., Ullauri-, M., Barrera, J., & Condoy, A. (2020). Evaluación Del Método De Ignición Para Determinar Materia Orgánica En Suelos De La Provincia El Oro-Ecuador. *FAVE Sección Ciencias Agrarias*, 19(2), 25–36. <https://doi.org/10.14409/fa.v19i2.9747>
- Bashan, Y. (1998). Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances*, 16(4), 729–770. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(98\)00003-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(98)00003-2)
- Benedetti, P., Airasca, A., & Fiotto, S. (2011). *Determinación del tiempo de retención en un reactor anaeróbico para optimizar la generación de biogás a partir de la digestión de barros activados residuales*. 15, 55–62.
- Benedetto, D., & Tognetti, J. (2016). Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos. *Scielo*, 42(1900), 258–282. <http://www.scielo.org.ar/pdf/ria/v42n3/v42n3a07.pdf>
- Bergstrand, K. J. (2022). Organic fertilizers in greenhouse production systems – a review. *Scientia Horticulturae*, 295(December 2021). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110855>
- Blok, C., De Kreij, C., Baas, R., & Wever, G. (2008). ANALYTICAL METHODS USED IN SOILLESS CULTIVATION. *Soilless Culture: Theory and Practice*, 245–289. <https://doi.org/10.1016/B978-044452975-6.50009-5>
- Bonilla, S., Valdiviezo Rogel, C., Bombilla Abarca, L., & Mosquera Solís, A. (2017).

Diseño De Un Reactor Discontínuo.

- Bridgeman, J. (2012). Computational fluid dynamics modelling of sewage sludge mixing in an anaerobic digester. *Advances in Engineering Software*, 44(1), 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.advengsoft.2011.05.037>
- Buenrostro, O., Cram, S., Bernache, G., & Bocco, G. (2000). *La digestión anaerobia como alternativa de tratamiento a los residuos sólidos orgánicos generados en los mercados municipales.*
- Burgess, J. E., & Pletschke, B. I. (2008). Hydrolytic enzymes in sewage sludge treatment: A mini-review. *Water SA*, 34(3), 343–349. <https://doi.org/10.4314/wsa.v34i3.180627>
- Cano, P. (2014). *Efecto de la suplementación de hierro y níquel en la digestión anaerobia de las aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca.*
- Canziani, R., & Spinosa, L. (2019). Sludge from wastewater treatment plants. In *Industrial and Municipal Sludge: Emerging Concerns and Scope for Resource Recovery*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815907-1.00001-5>
- Carlos, J., & Rhode, A. (2013). *ESCHERICHIA COLI , STAPHYLOCOCCUS.*
- Carvajal, J., & Carmona, C. (2015). Benefits and limitations of biofertilization in agricultural practices. *ResearchGate*, 1–8.
- Castillo, É., Cristancho, E., & Arellano, V. (2003). A study of operational conditions for anaerobic digestion of solid urban waste. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 2, 11–22.
- Celis, J., Sandoval, M., & Briones, M. (2007). Organic wastes phytotoxicity bioassays on lettuce and annual ryegrass conducted in a degraded Alfisol soil. In *J. Soil Sc. Plant Nutr* (Vol. 7, Issue 3).
- Chen, J. (2006). THE COMBINED USE OF CHEMICAL AND ORGANIC FERTILIZERS AND/OR BIOFERTILIZER FOR CROP GROWTH AND SOIL FERTILITY Jen-Hshuan Chen? Department of Soil and Environmental Sciences, National Chung Hsing University, Taiwan, R.O.C. *International Workshop on Sustained Management, October*, 1–11.
- Cheunbarn, T., & Pagilla, K. (2000). AEROBIC THERMOPHILIC AND ANAEROBIC MESOPHILIC TREATMENT OF SLUDGE. *JOURNAL OF ENVIRONMENTAL ENGINEERING*, 1(January 1997), 0–4.

- Chin, S. L., Worapon, K., Jun, W. L., Lam, M. K., Ho, Y. C., Ho, C. D., Ntwampe, S. K. O., Mohamad, M., & Usman, A. (2021). Stabilization of heavy metals loaded sewage sludge: Reviewing conventional to state-of-the-art thermal treatments in achieving energy sustainability. *Chemosphere*, 277, 130310. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130310>
- Chirinos, J., Leal, Á., & Montilla, J. (2006). *Uso de Insumos Biológicos como Alternativa para la Agricultura Sostenible en la Zona Sur del Estado Anzoátegui*.
- Ciéslik, B. M., Namiesnik, J., & Konieczka, P. (2015). Review of sewage sludge management: Standards, regulations and analytical methods. *Journal of Cleaner Production*, 90, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.11.031>
- Conrad, R. (2018). *Importance of hydrogenotrophic, acetoclastic and methylotrophic methanogenesis for methane production in terrestrial, aquatic and other anoxic environments: A mini review*. Soil Science Society of China.
- Corrales, L., Antonilez, D., Bohórquez, J., & Corredor, M. (2015). *Vista de Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta* | Nova. <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/nova/article/view/1717/1970>
- Crespo, J., Pagés, J., & Reyes, I. (2016). *El modelo de Buswell . Aplicación y comparación . Principales factores que ISSN 1900 - 6241 Ricardo José Baquerizo Crespo , Jhosané Pagés Díaz y Ileana Pereda Reyes El modelo de Buswell . Aplicación y comparación . Principales factores que influyen en su. March 2017*.
- Dai, X., Hu, C., Zhang, D., Dai, L., & Duan, N. (2017). Impact of a high ammonia-ammonium-pH system on methane-producing archaea and sulfate-reducing bacteria in mesophilic anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 245(July), 598–605. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.208>
- Davidsson, Å., Lövestedt, C., la Cour Jansen, J., Gruvberger, C., & Aspegren, H. (2008). Co-digestion of grease trap sludge and sewage sludge. *Waste Management*, 28(6), 986–992. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.03.024>
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- EMRAQ-EP. (2020). *Proceso de faenamiento - Empresa Publica Metropolitana de Rastro Quito. Distrito Metropolitano de Quito*.

- <http://www.epmrq.gob.ec/index.php/servicios/faenamiento/faenamiento-bovinos>
- EPA. (2018). *EPA unable to assess the impact of hundreds of unregulated pollutants in land-applied biosolids on human health and the environment*. Office of Inspector General, United States Environmental Protection Agency. 19, Report No. 19-P-0002.
- EPFYPROCAI. (2020). *Inicio*.
- Falconí, E., Garófalo, J., Llangarí, P., & Espinoza, M. (2010). INIAP -Estación Experimental Santa Catalina. *Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria*. <http://181.112.143.123/bitstream/41000/2827/1/iniapsc322est.pdf>
- FAO. (2011). *Manual de biogás*.
- Floger, S. H. (2001). *Elementos de Ingeniería de las Reacciones Químicas*.
- Fransen, N. G., Van Den Elzen, A. M. G., Urlings, B. A. P., & Bijker, P. G. H. (1996). Pathogenic micro-organisms in slaughterhouse sludge - A survey. *International Journal of Food Microbiology*, 33(2–3), 245–256. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)01160-9](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)01160-9)
- Gannoun, H., Bouallagui, H., Okbi, A., Sayadi, S., & Hamdi, M. (2009). Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of biologically pretreated abattoir wastewaters in an upflow anaerobic filter. *Journal of Hazardous Materials*, 170(1), 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.04.111>
- García, A. (2015). Análisis preliminar de la fitotoxicidad del material particulado sedimentable de la zona urbana de Cuenca. *Maskana*, 6(1), 95–105. <https://doi.org/10.18537/mskn.06.01.08>
- García, C., Arozarena, N., Martínez, F., Hernández, M., Pascual, J., & Santana, D. (2019). Obtención de compost mediante la biotransformación de residuos de mercados agropecuarios. *Obtaining Compost from Agricultural Waste Markets Biotransformation.*, 40(2), 1–32. <https://bibliotecavirtual.unad.edu.co/login?url=https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=zbh&AN=141974283&lang=es&site=ehost-live>
- García, Y., Soto, G., Tafur, V., & Simbaña, A. (2016). *EFFECTO DE UN FERTILIZANTE ORGÁNICO MICROALGAL EN LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE ALBAHACA (Ocimum basilicum L.)*. Scielo. <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v12n1/v12n1a14.pdf>

- Gholipour, S., Ghalhari, M. R., Nikaeen, M., Rabbani, D., Pakzad, P., & Miranzadeh, M. B. (2022). Occurrence of viruses in sewage sludge: A systematic review. *Science of the Total Environment*, 824. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.153886>
- Gómez, M., & Arcos, S. (2007). Correlation of Soils Moisture Determination Through Drying in Oven and Microwaves. *Revista de La Construcción*, 6. <https://www.redalyc.org/pdf/1276/127619409003.pdf>
- Grageda, O., Díaz, A., Peña, J. J., & Vera, J. A. (2012). Impact of biofertilizers in agriculture. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6), 1261–1274. <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v3n6/v3n6a15.pdf>
- Granada, C. E., Hasan, C., Marder, M., Konrad, O., Vargas, L. K., Passaglia, L. M. P., Giongo, A., de Oliveira, R. R., Pereira, L. de M., de Jesus Trindade, F., & Sperotto, R. A. (2018). Biogas from slaughterhouse wastewater anaerobic digestion is driven by the archaeal family Methanobacteriaceae and bacterial families Porphyromonadaceae and Tissierellaceae. *Renewable Energy*, 118, 840–846. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.11.077>
- Guzmán, A., Gusqui, R., Morán, N., & Inoue, H. (2015). *Proyecto de Desarrollo Rural Integral Sostenible en la Provincia de Chimborazo “Minga Sumak Kawsay” Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia Chimborazo*.
- Hazra, G. (2016). Different Types of Eco-Friendly Fertilizers: An Overview. *Sustainability in Environment*, 1(1), 54. <https://doi.org/10.22158/se.v1n1p54>
- Hidaka, T., Sawahara, H., Togari, T., & Tsumori, J. (2015). Anaerobic Digestion of Sewage Sludge with High Solid Content and Its Use as Fertilizer. *Journal of Water and Environment Technology*, 13(5), 349–358. <https://doi.org/10.2965/jwet.2015.349>
- ICEX. (2017). *Fertilizantes en Ecuador*. 1–11.
- INEC. (2019). *Seis cultivos con mayor producción en Ecuador*. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/2018-seis-cultivos-con-mayor-produccion-en-ecuador/>
- INTI. (2017). Parámetros básicos en aguas residuales. In *Instituto Nacional de Tecnología Industrial*. <https://www.inti.gob.ar/assets/uploads/interlaboratorios/2017-AguasParametrosBasicos.pdf>
- Jiang, X., Morgan, J., & Doyle, M. P. (2003). Fate of Escherichia coli O157:H7 during

- composting of bovine manure in a laboratory-scale bioreactor. *Journal of Food Protection*, 66(1), 25–30. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.1.25>
- Jiang, Y., Dennehy, C., Lawlor, P. G., Hu, Z., Zhan, X., & Gardiner, G. E. (2018). Science of the Total Environment Inactivation of enteric indicator bacteria and system stability during dry co-digestion of food waste and pig manure ☆. *Science of the Total Environment*, 612, 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.214>
- Jiang, Y., Li, K., Chen, S., Fu, X., Feng, S., & Zhuang, Z. (2022). A sustainable agricultural supply chain considering substituting organic manure for chemical fertilizer. *Sustainable Production and Consumption*, 29, 432–446. <https://doi.org/10.1016/J.SPC.2021.10.025>
- Jiang, Y., Xie, S. H., Dennehy, C., Lawlor, P. G., Hu, Z. H., Wu, G. X., Zhan, X. M., & Gardiner, G. E. (2020). Inactivation of pathogens in anaerobic digestion systems for converting biowastes to bioenergy: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 120(December 2019). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109654>
- Karato, S. I., & Wang, D. (2013). Electrical Conductivity of Minerals and Rocks. *Physics and Chemistry of the Deep Earth*, 145–182. <https://doi.org/10.1002/9781118529492.ch5>
- Khanal, S. K., Nindhia, T. G. T., & Nitayavardhana, S. (2019). Biogas from wastes: Processes and applications. In *Sustainable Resource Recovery and Zero Waste Approaches*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64200-4.00011-6>
- Kresnowati, P., & Chen, X. D. (2011). Continuous Operation. *Comprehensive Biotechnology, Second Edition*, 2, 527–535. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00110-0>
- Kundu, P., Pramanik, A., Mitra, S., Choudhury, J., Mukherjee, J., & Mukherjee, S. (2011). *Heterotrophic nitrification by Achromobacter xylosoxidans S18 isolated from a small-scale slaughterhouse wastewater | SpringerLink*.
- Lanza, G., Chirrión, P., & Gómez, C. (2016). Comparación entre el método kjeldahl tradicional y el método dumas automatizado (n cube) para la determinación de proteínas en distintas clases de alimentos. *SABER*, 28(2). <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=427749623006>
- Laurin, M., Llosá, M., González, V., & Porcuna, J. (2006). *EL PAPEL DE LA AGRICULTURA ECOLÓGICA EN LA DISMINUCIÓN DEL USO DE FERTILIZANTES Y PRODUCTOS FITOSANITARIOS QUÍMICOS*.

- Lema, A., Basantes, E., & Pantoja, J. (2016). Producción de cebada (*Hordeum vulgare* L.) con urea normal y polimerizada en Pintag, Quito, Ecuador. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 97. <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.22705>
- Li, X., Xiao, X., Liu, Y., Fang, G., Wang, P., & Zou, D. (2022). Analysis of organic matter conversion behavior and kinetics during thermal hydrolysis of sludge and its anaerobic digestion performance. *Journal of Environmental Management*, 305(December 2021), 114408. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.114408>
- Li, Y., Park, S., & Zhu, J. (2010). *Digestión anaeróbica de estado sólido para la producción de metano a partir de desechos orgánicos - ScienceDirect*. Renewable and Sustainable Energy Reviews.
- Liu, H., Fu, B., Wang, Y., Liu, H., Chen, Y., & Jiang, Q. (2014). Balancing energy production and pathogen removal during temperature phased anaerobic digestion of sewage sludge. *Fresenius Environmental Bulletin*, 23(7 A), 1643–1649.
- Llenque Díaz, L. A., Quintana díaz, A., Cueva, E. E. V. De, & Segura-vega, N. A. M. R. M. (2018). Cinética de inactivación térmica de Salmonella sp. en jugo de fresa, *Fragaria* sp. *Revista Rebiol*, 37(2), 36–43.
- Llive, F. (2016). *Vista de Vulnerabilidad y dependencia internacional de fertilizantes en el Ecuador*.
- López, C., Buitrón, G., García, H., & Cervantes, F. (2017a). Tratamiento biológico de aguas residuales: Principios, modelación y diseño. In *IWA Publishing* (Issue 377). <https://doi.org/10.17345/9788484241027>
- López, C., Buitrón, G., García, H., & Cervantes, F. (2017b). Tratamiento biológico de aguas residuales: Principios, modelación y diseño. In *IWA Publishing* (Issue 377). <https://doi.org/10.17345/9788484241027>
- Ma, S., Ma, H., Hu, H., & Ren, H. (2018). Effect of mixing intensity on hydrolysis and acidification of sewage sludge in twostage anaerobic digestion: Characteristics of dissolved organic matter and the key microorganisms. *Water Research*. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.10.058>
- MAG. (2009). *Convenio de fomento a la producción de cebada beneficiará a cuatro mil agricultores – Ministerio de Agricultura y Ganadería*. Ministerio de Agricultura y Ganadería. <https://www.agricultura.gob.ec/convenio-de-fomento-a-la-produccion-de-cebada-beneficiara-a-cuatro-mil-agricultores/>
- MAG. (2019, September 9). *Agricultura, la base de la economía y la alimentación*. .

Ministerio de Agricultura y Ganadería. <https://www.agricultura.gob.ec/agricultura-la-base-de-la-economia-y-la-alimentacion/>

MAGAP. (2013). *Agencia Ecuatoriana De Aseguramiento De La Calidad Del Agro - Agrocalidad*. 1–17.

Maza, L., Pezzlo, M., Bittencourt, C., & Peterson, E. (2020). *Escherichia, Shigella and Salmonella*.

Mendes, P. M., Ribeiro, J. A., Martins, G. A., Lucia, T., Araujo, T. R., Fuentes-Guevara, M. D., Corrêa, L. B., & Corrêa, É. K. (2021). Phytotoxicity test in check: Proposition of methodology for comparison of different method adaptations usually used worldwide. *Journal of Environmental Management*, 291(April). <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112698>

Méndez, González, C., Alvarado, L., Alvarado, K., & Martínez, D. (2008). SUPERVIVENCIA DE BACTERIAS FECALES EN LODOS RESIDUALES DESHIDRATADOS TRATADOS CON AMONIACO FECAL BACTERIA SURVIVAL IN AMMONIA-TREATED WASTEWATER DEWATERED SLUDGES. In *Revista Mexicana de Ingeniería Química* (Vol. 7, Issue 3).

Méndez, R., Le Bihan, Y., Béline, F., & Lessard, P. (2017). Long chain fatty acids (LCFA) evolution for inhibition forecasting during anaerobic treatment of lipid-rich wastes: Case of milk-fed veal slaughterhouse waste. *Waste Management*, 67, 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.05.028>

Metcalf, & Eddy. (2016). *Ingeniería de Aguas Residuales. Volimen1: Tratamiento, Vertido y Reutilización*.

Mieczyslaw, G. (2010). *Physiological activity of energy plants fertilized with sewage sludge and usefulness of the Phytotoxkit test in practice PHYTOTOXKIT TEST IN GROWTH ASSESSMENT OF CORN*. June 2014.

Moreno, T., Graziella, M., Elena, B., Maurizio, Q., Giovambattista, S., Enrico, M., Angelo, I., & Lamberto, D. R. (2017). Agro-Industry Sludge as a Potential Organic Fertilizer for Prompt Nitrogen Release. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 48(9), 999–1007. <https://doi.org/10.1080/00103624.2017.1323084>

Mould, F. L., Kliem, K. E., Morgan, R., & Mauricio, R. M. (2005). In vitro microbial inoculum: A review of its function and properties. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124 Pa, 31–50. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.028>

Muñoz, D. (2000). *Sistema de tratamiento de aguas residuales de matadero para una*

población menor 2000 habitantes.

- Mutairi, N. Z., Hamoda, M. F., & Ghusain, I. (2004). Coagulant selection and sludge conditioning in a slaughterhouse wastewater treatment plant. *Bioresource Technology*, 95(2), 115–119. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.02.017>
- Nabil, N. A., & Amro, A. E. B. (2016). Anaerobic Co-Digestion of Wastewater Activated Sludge and Rice Straw in Batch and Semi Continuous Modes. *Journal of Fundamentals of Renewable Energy and Applications*, 06(02). <https://doi.org/10.4172/2090-4541.1000204>
- Oliveira, J. J., Dalmazo, G. O., Morselli, T. B. G. A., de Oliveira, V. F. da S., Corrêa, L. B., Nora, L., & Corrêa, É. K. (2018). Composted slaughterhouse sludge as a substitute for chemical fertilizers in the cultures of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and radish (*Raphanus sativus* L.). *Food Science and Technology*, 38(1), 91–97. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.00717>
- Orcellet, J. M., Ignacio, N., Calvo, R., & Rozas, H. S. (2015). Eficiencia De Uso De Nitrógeno En Cebada En El Sudeste Bonaerense: *ResearchGate*, June. https://www.researchgate.net/publication/317533626_EFICIENCIA_DE_USO_DE_NITROGENO_EN_CEBADA_EN_EL_SUDESTE_BONAERENSE_EFECTO_DE_APLICACIONES_DIVIDIDAS
- Oropeza, N. (2006). Lodos residuales: estabilización y manejo. In *Caos Conciencia* (Vol. 1).
- Ortiz, C., López, M. C., & Rivas, F. A. (2012). Prevalencia de helmintos en la planta de aguas residuales del municipio El Rosal, Cundinamarca. *Revista de Salud Pública*, 14(2), 296–304. <https://doi.org/10.1590/s0124-00642012000200010>
- Palatsi, J., Rodríguez-Abalde, Á., Fernández, B., & Flotats, X. (2010). Digestión anaerobia de subproductos de la industria cárnica. *Jornadas de La Red Española de Compostaje. Burgos, 1-3 de Junio 2010*, 1–3.
- Pan, X., Lv, J., Dyck, M., & He, H. (2021). Bibliometric analysis of soil nutrient research between 1992 and 2020. *Agriculture (Switzerland)*, 11(3), 1–12. <https://doi.org/10.3390/agriculture11030223>
- Parra, R. (2015). Anaerobic digestión: biotechnological mechanisms in waste water treatments and their application in food industry. In *Producción + Limpia* (Vol. 10, Issue 2).
- Public Health Association, A. (1992). *APHA Method 4500-P: Standard Methods for the*

- Qi, C., Zhang, Y., Jia, S., Wang, R., Han, Y., Luo, W., Li, G., & Li, Y. (2022). Effects of digestion duration on energy efficiency, compost quality, and carbon flow during solid state anaerobic digestion and composting hybrid process. *Science of The Total Environment*, 811, 151363. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.151363>
- Quinchía, Y., Pérez, J., Doria, G., & Sánchez, Y. (2015). Parámetros de calidad de producción de biogás a partir de pulpa de café. *Dk*, 53(9). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Restrepo, S., Pineda, E., & Ríos, L. (2017). Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: Una revisión sistemática. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(2), 335–351. https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num2_art:635
- Rivero, G., Galizio, R., Mugnolo, A., Lett, S., & Mestelan, L. (2015). *Comparación de bioensayos con especies hortícolas para la evaluación de la madurez de compost derivados de residuos sólidos municipales*. 5–13.
- Rodríguez, E., Isac, L., Fernández, N., Zornoza, A., & Mas, M. (2008). Identificación de bacterias filamentosas en EDAR industriales. *Tecnología Del Agua*, 28(303), 56–64.
- Rosales, C. (2019). *Vista de Los bioprocesos en la biotecnología: uso de biorreactores para la producción y el escalamiento de productos de interés comercial*. Tecnología En Marcha. https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/4626/4232
- Rubio, M., Compañó, R., & Casals, I. (2002). Comparison of the Kjeldahl method and a combustion method for total nitrogen determination in animal feed. *Talanta*, 57(5), 1019–1026. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(02\)00136-4](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00136-4)
- Saghir, A., & Hajjar, S. (2022). Biological Treatment of Slaughterhouse Wastewater using Up flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) - anoxic-aerobic system. *Scientific African*, 16, e01236. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2022.e01236>
- Salangsang, M. C. D., Sekine, M., Akizuki, S., Sakai, H. D., Kurosawa, N., & Toda, T. (2022). Effect of carbon to nitrogen ratio of food waste and short resting period on microbial accumulation during anaerobic digestion. *Biomass and Bioenergy*, 162, 106481. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2022.106481>
- Sánchez, E., & Cabrera, F. (2003). determinación de boro total por espectrofotometría .

Revista de Química San Marcos, 2.
https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/publicaciones/ing_quimica/vol5_n2/a08.pdf

Santos, M. S., Nogueira, M. A., & Hungria, M. (2019). Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. *AMB Express*, 9(1).
<https://doi.org/10.1186/s13568-019-0932-0>

Savin, M., Bierbaum, G., Hammerl, J., Heinemann, C., Parcina, M., Sib, E., Voigt, A., & Kreyenschmidt, J. (2020). *Antibiotic-resistant bacteria and antimicrobial residues in wastewater and process water from German pig slaughterhouses and their receiving municipal wastewater treatment plants.*

Seleiman, M. F., Santanen, A., & Mäkelä, P. S. A. (2020). Recycling sludge on cropland as fertilizer – Advantages and risks. *Resources, Conservation and Recycling*, 155(July 2019), 104647. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104647>

Semblante, G., Hai, F., Huang, X., Ball, A., Price, W., & Nghiem, L. (2015). Trace organic contaminants in biosolids: Impact of conventional wastewater and sludge processing technologies and emerging alternatives. In *Journal of Hazardous Materials* (Vol. 300, pp. 1–17). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.06.037>

Shchegolkova, N. M., Krasnov, G. S., Belova, A. A., Dmitriev, A. A., Kharitonov, S. L., Klimina, K. M., Melnikova, N. V., & Kudryavtseva, A. V. (2016). Microbial community structure of activated sludge in treatment plants with different wastewater compositions. *Frontiers in Microbiology*, 7(FEB), 1–15.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00090>

Singh, R. P. (2016). *Organic Fertilizers: Types, Production and Environmental Impact Complimentary Contributor Copy* (Issue July 2012).
https://www.researchgate.net/publication/274896698_Organic_Fertilizers_Types_Production_and_Environmental_Impact

Song, Y. C., Kwon, S. J., & Woo, J. H. (2004). Mesophilic and thermophilic temperature co-phase anaerobic digestion compared with single-stage mesophilic- and thermophilic digestion of sewage sludge. *Water Research*, 38(7), 1653–1662.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.12.019>

Stams, A. (1994). *Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic*

environments.

- Straub, T., Pepper, I., & Gerba, C. (2020). *Hazards from Pathogenic Microorganisms in Land-Disposed Sewage Sludge* | SpringerLink.
- Sträuber, H., Schröder, M., & Kleinstüber, S. (2012). Metabolic and microbial community dynamics during the hydrolytic and acidogenic fermentation in a leach-bed process. *Energy, Sustainability and Society*, 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/2192-0567-2-13>
- Tejada, M., Rodríguez-Morgado, B., Paneque, P., & Parrado, J. (2018). Effects of foliar fertilization of a biostimulant obtained from chicken feathers on maize yield. *European Journal of Agronomy*, 96(March), 54–59. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.03.003>
- Temiotan, E., Kubeyinje, B., & Ikechukwu, L. (2016). Evaluation of bacterial profile and biodegradation potential of abattoir wastewater. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 10(2), 50–57. <https://doi.org/10.5897/ajest2015.1945>
- Tezel, U., Tandukar, M., & Pavlostathis, S. G. (2011). Anaerobic Biotreatment of Municipal Sewage Sludge. In *Comprehensive Biotechnology, Second Edition* (Second Edi, Vol. 6, Issue 1). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00329-9>
- Thomas, L., & Singh, I. (2019). *Microbial Biofertilizers: Types and Applications*. 1–19. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18933-4_1
- Torres, P., Escobar, J., & Pérez, V. (2005). *Influencia del material de enmienda en el compostaje de lodos de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales-PTAR*. 25(2), 54–61. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=64325208>
- Torres, P., Pérez, A., Escobar, J. C., Uribe, I. E., & Imery, R. (2007). Compostaje de biosólidos de plantas de tratamiento de aguas residuales. *Engenharia Agrícola*, 27(1), 267–275. <https://doi.org/10.1590/s0100-69162007000100021>
- Vaneekhaute, C., Meers, E., Michels, E., Buysse, J., & Tack, F. (2013). Ecological and economic benefits of the application of bio-based mineral fertilizers in modern agriculture. *Biomass and Bioenergy*, 49, 239–248. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.12.036>
- Varnero, M. T. (2011a). Manual de biogás. FAO. <https://www.fao.org/3/as400s/as400s.pdf>

- Varnero, M. T. (2011b). Manual de biogás. *FAO*.
- Wang, F., Hidaka, T., Tsutomu, U., & Tsumori, J. (2014). *Thermophilic anaerobic digestion of sewage sludge with high solids content*. *Water Science & Technology*.
- Wannapawn, W., Chalermchai, R., & Eldon, R. (2018). *Comparison of sulphide and nitrate removal from synthetic wastewater by pure and mixed cultures of nitrate-reducing, sulphide-oxidizing bacteria* - *ScienceDirect*. *Bioresource Technology*.
- Wear, S. L., Acuña, V., McDonald, R., & Font, C. (2021). Sewage pollution, declining ecosystem health, and cross-sector collaboration. *Biological Conservation*, 255. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2021.109010>
- Wevers, J. W. (2019). Chapter 23. *Notes on the Greek Text of Deuteronomy*, 364–376. <https://doi.org/10.2307/j.ctvfrxqp9.27>
- Worstell, J. (2015). Scaling Batch Reactors. *Batch and Semi-Batch Reactors*, 31–49. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801305-2.00003-5>
- Xue, Y., Liu, H., Chen, S., Dichtl, N., Dai, X., & Li, N. (2015). Effects of thermal hydrolysis on organic matter solubilization and anaerobic digestion of high solid sludge. *Chemical Engineering Journal*, 264, 174–180. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.11.005>
- Yan, L., Ye, J., Zhang, P., Xu, D., Wu, Y., Liu, J., Zhang, H., Fang, W., Wang, B., & Zeng, G. (2018). *Hydrogen sulfide formation control and microbial competition in batch anaerobic digestion of slaughterhouse wastewater sludge*. *Bioresource Technology*.
- Zagal, S. Y. (2007). SUELOS Y LODOS Universidad de Concepción Facultad de de Agronomía Chillán . Elaborado con la participación de la Comisión de Normalización y Acreditación de la Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo por encargo del Servicio Agrícola y Ganadero . *Ciencia Del Suelo*.

ANEXOS



Anexo 1. Análisis microbiológicos del lodo residual primario del Camal Municipal de Ibarra.



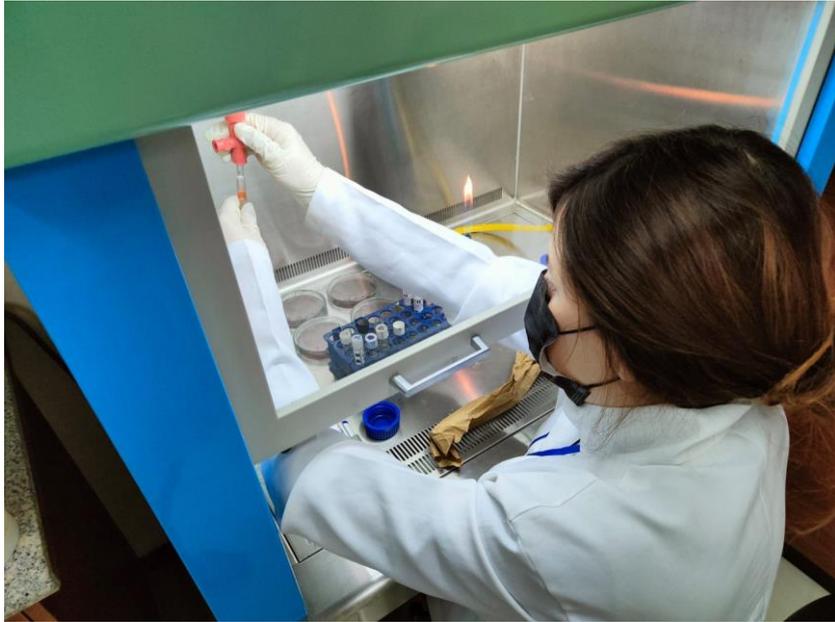
Anexo 2. Extracción de lípidos del lodo residual primario.



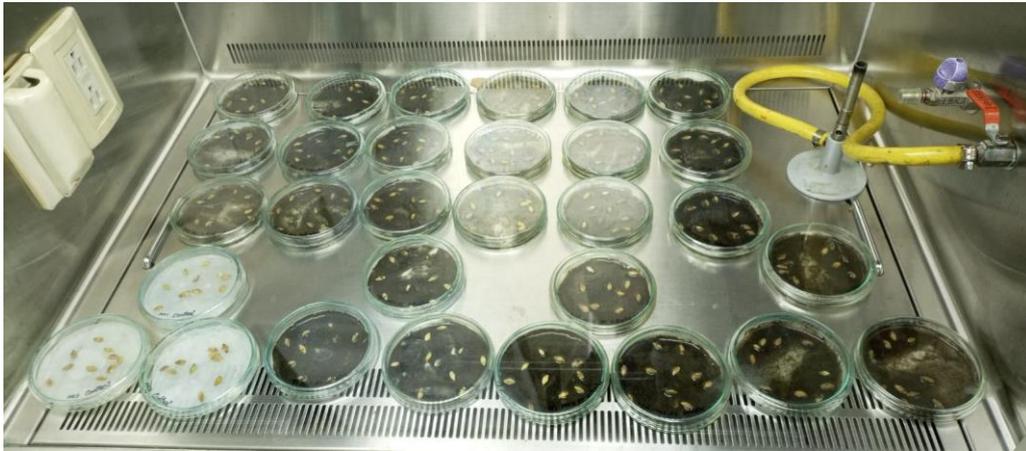
Anexo 3. Resultados de los análisis microbiológicos del lodo estabilizado.



Anexo 4. Secado y pulverización del lodo estabilizado.



Anexo 5. Preparación de extractos acuosos (lodo estabilizado /agua estéril).



Anexo 6. Ensayos de fitotoxicidad en semillas de cebada in vitro.



Anexo 7. Medición de la longitud de las plántulas de cebada desarrolladas in vitro.



Anexo 8. Germinación de semillas de cebada en invernadero.