



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y LA
CONSTRUCCIÓN**

CARRERA DE GEOGRÁFICA Y DEL MEDIO AMBIENTE

TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL

TÍTULO DE MAGISTER EN SISTEMAS DE GESTIÓN

AMBIENTAL

TEMA: ANÁLISIS DE LA CALIDAD DEL ABONO ORGÁNICO

PRODUCIDO POR EL GAD DE BAÑOS A TRAVÉS DE

PRUEBAS FISICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS

MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE

***Salmonella sp., Shigella sp. y Escherichia coli*, EN BASE A**

NORMATIVA INTERNACIONAL, CON EL FIN DE SUGERIR

PARÁMETROS DE CONTROL EN ECUADOR.

AUTOR: Lcdo. Serpa García Jaime Armando

DIRECTORA: Koch Kaiser Alma, MSc.

SANGOLQUÍ

2016



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y CONSTRUCCIÓN
CARRERA DE GEOGRÁFICA Y DEL MEDIO AMBIENTE

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, “ANÁLISIS DE LA CALIDAD DEL ABONO ORGÁNICO PRODUCIDO POR EL GAD DE BAÑOS A TRAVÉS DE PRUEBAS FISICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella* sp., *Shigella* sp. Y *Escherichia coli*, EN BASE A NORMATIVA INTERNACIONAL, CON EL FIN DE SUGERIR PARÁMETROS DE CONTROL EN ECUADOR” realizado por el señor LCDO. *JAIME ARMANDO SERPA GARCÍA*, ha sido revisado en su totalidad y analizado por el software anti-plagio, el mismo cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, por lo tanto me permito acreditarlo y autorizar al señor LCDO. *JAIME ARMANDO SERPA GARCÍA* para que lo sustente públicamente para la obtención del título de Magister en Sistemas de Gestión Ambiental.

Sangolquí, 27 de enero del 2016.

Alma Koch Kaiser

Alma Koch Kaiser, MSc.

DIRECTORA



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y CONSTRUCCIÓN
CARRERA DE GEOGRÁFICA Y DEL MEDIO AMBIENTE

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, JAIME ARMANDO SERPA GARCÍA, con cédula de identidad N° 0101943314, declaro que este trabajo de titulación “ANÁLISIS DE LA CALIDAD DEL ABONO ORGÁNICO PRODUCIDO POR EL GAD DE BAÑOS A TRAVÉS DE PRUEBAS FISICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella* sp., *Shigella* sp. Y *Escherichia coli*, EN BASE A NORMATIVA INTERNACIONAL, CON EL FIN DE SUGERIR PARÁMETROS DE CONTROL EN ECUADOR” ha sido desarrollado considerando los métodos de investigación existentes, así como también se ha respetado los derechos intelectuales de terceros considerándose en las citas bibliográficas.

Consecuentemente declaro que este trabajo es de mi autoría, en virtud de ello me declaro responsable del contenido, veracidad y alcance de la investigación mencionada.

Sangolquí, 27 de enero del 2016

JAIME ARMANDO SERPA GARCIA

C.C. 0101943314



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y CONSTRUCCIÓN
CARRERA DE GEOGRÁFICA Y DEL MEDIO AMBIENTE**

AUTORIZACIÓN

Yo, JAIME ARMANDO SERPA GARCÍA, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar en la biblioteca Virtual de la institución el presente trabajo de titulación “ANÁLISIS DE LA CALIDAD DEL ABONO ORGÁNICO PRODUCIDO POR EL GAD DE BAÑOS A TRAVÉS DE PRUEBAS FISICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella* sp., *Shigella* sp. Y *Escherichia coli*, EN BASE A NORMATIVA INTERNACIONAL, CON EL FIN DE SUGERIR PARÁMETROS DE CONTROL EN ECUADOR” cuyo contenido, ideas y criterios son de mi autoría y responsabilidad.

Sangolquí, 27 de enero del 2016.

A handwritten signature in blue ink is positioned above a horizontal dashed line. The signature is stylized and appears to read 'Jaime Armando Serpa Garcia'.

JAIME ARMANDO SERPA GARCIA

C.C. 0101943314

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a mi esposa, mis queridos hijos y a toda mi familia, por su apoyo permanente e incondicional en la realización de la presente tesis y su paciencia en los momentos difíciles. De manera especial quiero dedicar este logro a la memoria de mis queridos padres que ya partieron al más allá, por su ejemplo de cuidado a la naturaleza, la práctica permanente de principios y valores; y expresar a todos que en esta vida con esfuerzo y dedicación si se puede cumplir los retos que uno se propone en la vida.

Jaime Armando Serpa García.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE, a su Maestría en Sistemas de Gestión Ambiental, al laboratorio de Microbiología de la Carrera de Ingeniería en Biotecnología, directivos, profesores, directora de tesis, a AGROCALIDAD, por las facilidades prestadas para la consecución de este trabajo.

Jaime Armando Serpa García.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN	1
1.1. Formulación del problema	1
1.2. Justificación del problema	2
1.3. Objetivos de la investigación	3
1.3.1. Objetivo General	3
1.3.2. Objetivos Específicos	3
1.4. Marco Teórico.....	4
1.4.1. Abonos orgánicos.....	4
1.4.2. Hipótesis.....	14
CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS	15
2.1 Participantes	15
2.2 Zona de estudio	15
2.2.1 Trabajo de campo.....	15
2.2.2 Trabajo de laboratorio.....	15
2.3 Periodo de tiempo de investigación	16
2.4 Recolección de muestras.....	16
2.5 Evaluación del proceso de compostaje, cambios e infraestructura.....	17
2.6 Fase de Laboratorio.....	19
2.6.1 Análisis Microbiológicos	19
2.6.2 Aislamiento e identificación de Salmonella sp.....	19
2.6.3 Pre-enriquecimiento	19
2.6.4 Enriquecimiento selectivo.....	20
2.6.5 Aislamiento primario en medios selectivos y diferenciales.....	20
2.6.6 Selección y purificación de las colonias confirmativas	20
2.6.7 Identificación mediante batería bioquímica.....	20
2.6.8 Aislamiento e identificación de Shigella sp.....	21
2.6.9 Pre-enriquecimiento	21
2.6.10 Enriquecimiento selectivo.....	21

2.6.11	Aislamiento primario en medios selectivos y diferenciales.....	21
2.6.12	Selección y purificación de las colonias sospechosas	21
2.6.13	Identificación bioquímica	22
2.6.14	Aislamiento e identificación de Echerichia coli y coliformes	22
2.6.15	Pre-enriquecimiento.....	22
2.6.16	Aislamiento primario en medios selectivos y diferenciales.....	22
2.6.17	Selección y purificación de las colonias confirmativas	22
2.6.18	Identificación bioquímica	23
2.7	Identificación bioquímica y confirmación con pruebas API	23
2.8	Análisis fisicoquímicos.....	23
2.9	Análisis de muestras de suelo	24
2.9.1	Preparación de las muestras	24
2.9.2	Determinación de las características fisicoquímicas de los abonos orgánicos	24
2.9.3	Características físicas.....	24
CAPÍTULO 3 RESULTADOS		26
3.1	Evaluación del proceso de compostaje, cambios e infraestructura.....	26
3.2	Fase de Laboratorio.....	27
3.2.1	Análisis microbiológicos	27
3.3	Análisis confirmativo.....	29
3.4	Análisis fisicoquímico	30
3.5	Resultados de las características fisicoquímicas del compost	30
CAPÍTULO 4 DISCUSIÓN.....		32
CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES.....		37
CAPÍTULO 6 RECOMENDACIONES		38
BIBLIOGRAFÍA		39
ANEXOS		44

ÍNDICE TABLAS

Tabla 1	Número de muestras elementales de fertilizantes.....	17
Tabla 2	Análisis microbiológico y límites permisibles según la EPA 503.....	29
Tabla 3	Características fisicoquímicas del abono orgánico del GAD de Baños de Agua Santa.....	30

ÍNDICE CUADROS

Cuadro 1	Determinación fisicoquímica de la muestra de abono orgánico del GAD Baños de Agua Santa; procedimientos estandarizados por los Laboratorios de suelos de Agrolidad.....	25
----------	---	----

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1	Muestreo para el análisis microbiológico y fisicoquímico del abono orgánico.....	17
Figura 2	Compostaje del GAD de Baños de Agua Santa -Tungurahua.....	18
Figura 3	Proceso de compostaje del GAD de Baños de Agua Santa -Tungurahua. .	18
Figura 4	Cambio físicos del compost del GAD de Baños de Agua Santa - Tungurahua.....	18
Figura 5	Infraestructura del proceso de compostaje del GAD de Baños de Agua Santa -Tungurahua.....	19
Figura 6	Preparación de las muestras de los abonos orgánicos del GAD Baños de Agua Santa para análisis fisicoquímicos.....	24
Figura 7	Tinción Gram: bacilos Gram negativos (100x).....	28
Figura 8	a) <i>E. coli</i> , b) <i>Shigella</i> y c) <i>Salmonella</i> , en medios de cultivo selectivo y diferencial.....	28
Figura 9	Pruebas bioquímicas realizadas a las colonias presuntivas aisladas del abono orgánico: <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> y <i>E. coli</i>	28
Figura 10	Prueba confirmativas API para bacterias entéricas.....	29

RESUMEN

En el Ecuador en cada GAD tiene un promedio de producción de basura de 4 ton/año, y el 61% es materia orgánica que puede ser transformado en compost. 55 de 221 GADs como agua de Santa han desarrollado proyectos de manejo de desechos sólidos en el Marco del Programa Nacional PNGIDS ECUADOR. El objetivo de esta evaluación fue evaluar la calidad del compost y el proceso de producción del compost a través de trabajo in situ y análisis de laboratorio microbiológico y fisicoquímico. Se consideraron procedimientos nacionales e internacionales así como normativa, estándar métodos, RELEASE, INEN Y EPA. Para procesar las muestras y comparar resultados. Debido a que Ecuador no cuenta con su propia normativa, este estudio, junto con otros diez ayudará a desarrollar reglas para un proceso de compost estandarizado así como el producto final. La evaluación in situ mostro que el GAD de Baños de agua Santa debe mejorar su infraestructura física y sus condiciones técnicas. Los resultados en laboratorio reportaron ausencia de *Salmonella* sp., y *Shigella* sp. y presencia de *Escherichia coli*; el compost cumplió con la Normativa Internacional EPA 503. Los parámetros fisicoquímicos del compost se encontraron dentro de los rangos permisibles de madurez y estabilidad. Los niveles de metales pesados también se ubicaron dentro de los límites válidos establecidos por la EPA 503 (EPA, 2013).

PALABRAS CLAVE

- COMPOSTAJE
- INFRAESTRUCTURA FÍSICA
- METALES PESADOS
- PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS Y FISICOQUÍMICOS
- LÍMITES LEGALES PERMISIBLES EN ECUADOR.

ABSTRACT

In Ecuador, the waste production average of the autonomous governments (GADs) is about four tons/year and 61% of it is organic matter which can be transformed into compost. Fifty five of 221 GADs, such as Baños de Agua Santa (Tungurahua), have developed solid waste management projects under the National Program PNGIDS ECUADOR.

The aim of this research was to evaluate both compost and compost production process quality through In situ work and laboratory analysis, microbiological and physicochemical. There were considered national and international procedures as well as normative, such as Standard Methods, RELEASE, INEN and EPA in order to process the samples and to compare the results.

Since Ecuador doesn't have an own normative, this study joined with another 10 will help to develop rules for a standardized compost process and for the final product too.

In situ evaluation showed GAD Baños de Agua Santa must improve its physical infrastructure and technical conditions.

Results demonstrate GAD Baños de Agua Santa compost accomplished all the EPA limit values for *Salmonella* and *Shigella* presence as well as for physicochemical conditions, including heavy metals. It was identified *Escherichia coli* which probably contaminated the compost out from manipulation and external environment.

This study showed that the Ecuadorian conditions of producing compost can be related to international normative in the process of stablishing a national one.

KEY WORDS

- COMPOST
- PHYSICAL INFRASTRUCTURE
- HEAVY METALS
- MICROBIOLOGICAL AND PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS
- ECUADORIAN ORGANIC AMENDMENTS NORMATIVE.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Formulación del problema

El uso de abonos orgánicos de diversos orígenes, y en especial el compost que se obtiene a partir de residuos sólidos urbanos (Puerta, s.f), requiere de evaluación fisicoquímica y microbiológica de acuerdo a normas nacionales e internacionales (Costa, García, & Hernández, 1991). Los abonos orgánicos producidos por los municipios en el proceso de compostaje pueden ocasionar daño si son aplicados como acondicionadores de suelos debido a la presencia de materiales inertes, emisión de malos olores, salinidad elevada, toxicidad por contaminantes orgánicos y metales pesados, inmadurez del proceso y presencia de microorganismos patógenos para el ser humano (Gómez, Gonzales, & Chiroles, 2004).

Al utilizar los abonos y enmiendas orgánicas que no han llevado a cabo un proceso de compostaje adecuado, se contaminan los suelos con microorganismos patógenos para el ser humano y se desencadenan problemas a futuro en la agricultura (FAO, 2013). “Las temperaturas altas en el compostaje permiten realizar un proceso de sanitación o pasteurización eliminando los agentes patógenos siempre y cuando el proceso de compostaje cumpla con todos los requerimientos ambientales para su madurez” (Gómez R. , 2004).

El uso de los de abonos orgánicos de diversos orígenes, y en especial el compost que se obtiene a partir de residuos sólidos urbanos (Cereijo, Ferro, Villar, & Mato, 2007), requiere una evaluación fisicoquímica de sus contenidos y metales pesados. “Los metales pesados pueden acumularse en el suelo, sustratos y en las plantas; alteran su equilibrio biológico, afectan el rendimiento de los cultivos y la salud animal, inclusive la del hombre” (Rodríguez M. , 2010).

El Ecuador carece de legislación reguladora de la producción y uso de abonos orgánicos por lo que la investigación implementará una línea base de datos complementaria a otros GADs para establecer políticas y normativas ambientales.

1.2. Justificación del problema

Cada ciudad del Ecuador enfrenta la creciente generación de residuos orgánicos sólidos urbanos, con un índice per cápita de 0.73 kilogramos de basura diaria por habitante, lo que representa aproximadamente cuatro millones de toneladas anuales. Más del 60 % son residuos orgánicos (FONAG, 2013), que pueden ser reciclados como abonos orgánicos y así, reducir el impacto ambiental negativo, mejorar suelos agrícolas u ornamentales, proporcionar nutrición biológica a los cultivos y mejorar el paisaje.

El Ministerio del Ambiente Ecuador (MAE-PNGIDS, s.f), dentro del Programa Nacional para la Gestión Integral de Desechos Sólidos, mantiene proyectos de aprovechamiento de residuos sólidos urbanos en 55 GADs (Gobiernos Autónomos Descentralizados) mediante la elaboración de abonos orgánicos (lombricultura, takakura, bocashi, biol, bioabono y compost).

Al carecer de una normativa ambiental ecuatoriana para la regulación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de los abonos, se afectaría la calidad del suelo en donde se apliquen, la calidad de las plantas alimenticias y la salud humana por contaminación con metales pesados en el suelo, materias inertes, elementos químicos en exceso y bacterias causantes de enfermedades humanas.

Por otro lado, se desencadenarían problemas en sanidad e inocuidad ambiental (FAO, 2013). Esto se evitará con la creación de una legislación propia ecuatoriana fundamentada en el conocimiento científico *In situ* de las condiciones de los procesos de compostaje llevados a cabo en el país y del producto obtenido.

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo General

Analizar la calidad del abono orgánico producido por el GAD de Baños a través de pruebas fisicoquímicas y microbiológicas mediante la determinación de la presencia de *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *Escherichia coli*, en base a normativa internacional con el fin de sugerir parámetros de control en Ecuador.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Evaluar In situ el proceso de compostaje llevado a cabo por el GAD de Baños, Tungurahua.
- Evaluar la infraestructura de compostaje del GAD de Baños.
- Tomar muestras mediante un método estandarizado de abono orgánico de la planta de Baños.
- Analizar las propiedades fisicoquímicas del abono orgánico de Baños.
- Identificar la presencia o ausencia de bacterias patógenas (*Salmonella* sp., *Shigella* sp., y *Escherichia coli*), en los abonos orgánicos, mediante técnicas microbiológicas dependientes de cultivo en base a las normas INEN .
- Analizar y comparar los resultados con los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos establecidos por la legislación ambiental internacional sobre la calidad de abonos orgánicos.
- Sugerir parámetros de control en base a los resultados obtenidos en Ecuador y a la normativa internacional.

1.4. Marco Teórico

1.4.1. Abonos orgánicos

Los abonos orgánicos son una forma de reciclaje de nutrientes en el sistema agropecuario, incluyen todo material de origen orgánico (Abad, 1998), utilizado para la fertilización de cultivos o como mejoradores de suelos (Soto M. , 2003). “Un abono orgánico contiene materiales animales o vegetales usados para mejorar las condiciones del suelo, como nutrientes y población microbiana benéfica activa” (Pirque, s.f).

Los abonos orgánicos favorecen la aireación y oxigenación del suelo, promoviendo una mayor actividad radicular y facilitando la dinámica de microorganismos aerobios (Cuesta, 2002). Son, además, “una fuente de energía para los microorganismos y hacen que se multipliquen rápidamente” (Kolmas & Vásquez, 1996).

“Los abonos orgánicos se han utilizado a través de los años como mejoradores y fertilizadores de suelos” (Brechelt, 2004). En un inicio, se aplicó desechos de cosechas, rastrojos y residuos animales directamente en el suelo de cultivos. Con el tiempo se mejoraron los procesos de compostaje (Noriega & Altamirano, 1993) y se desarrolló la producción del humus de lombriz, común actualmente (Agrolanzarote, 2013).

“Los principales y más conocidos abonos orgánicos son el compost, bocashi y lombricompost o lombrihumus, gallinaza y otros desechos animales y vegetales frescos, como la pulpa del café” (Soto & Melendez, 2004).

Los abonos orgánicos ejercen efectos beneficiosos sobre el suelo en sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas; captan mayor cantidad de radiaciones solares por su color oscuro, con aumento de la temperatura lo que le

permite absorber más fácilmente los nutrientes y mejorar tanto su estructura como textura, los suelos arcillosos se vuelven más ligeros y los arenosos más compactos.

(Dalzell, Biddlestone, Gray, & Thurairajan, 1991)

Por otro lado, regulan la velocidad de infiltración del agua, disminuyendo la erosión producida por el escurrimiento superficial (Yanque, 2014), mejoran la permeabilidad del suelo al influir en el drenaje y aireación, aumentan la retención de agua en el suelo cuando llueve, contribuyen a recuperar el uso de agua para riego por la mayor absorción del terreno, y disminuyen la erosión ya sea por efectos del agua o del viento. (FONAG, 2013)

Los abonos orgánicos incrementan el poder de absorción del suelo y reducen las oscilaciones de pH, mejoran la capacidad de intercambio catiónico y conductividad eléctrica, recuperando la fertilidad (Yanque, 2014) y mantienen los micro y macro elementos alrededor del sistema radical de las plantas (Peña , 2002).

Los microorganismos benéficos pueden producir sustancias inhibitoras de patógenos y activadoras de crecimiento, incrementando considerablemente la reproducción de bacterias y hongos beneficiosos, tanto para degradar la materia orgánica del suelo como para favorecer el desarrollo de las. (FONAG, 2010)

Los abonos orgánicos constituyen una fuente de energía para los microorganismos. Su calidad y cantidad pueden cambiar las propiedades biológicas, incrementando la diversidad y la actividad microbiológica del suelo (Alvarez, 2006). El compostaje constituye un ecosistema en el que diversas poblaciones microbianas como bacterias, hongos y actinomicetos, degradan secuencialmente la materia orgánica en presencia del oxígeno dando como resultado un producto estable humificador junto con gases, agua, calor y residuos del metabolismo microbiano. (Díaz, Jiménez, Cabrera, & De Bertoldi, 2004) Los microorganismos constituyen un factor determinante en el proceso de formación del suelo mediante la transformación de compuestos orgánicos y minerales, e influyen en el contenido y movilidad de los

macro y micro elementos, así como en su balance y asimilación por las plantas (Martinez, 2003).

El proceso de compostaje depende de la acción de varios microorganismos aerobios (Haug, 1993). Consta de etapas secuenciales: primera mesófila (10-40°C), termófila (40-75°C) y segunda mesófila (10-40°C), que actúan de manera sucesiva descomponiendo la materia orgánica original (Nakasaki, Nag, & Karita, 2005). Durante la evolución del proceso se produce una sucesión natural de poblaciones microbianas que difieren en sus características nutricionales (químico heterótrofos y químico autótrofos), entre los que se establecen efectos sintróficos y nutrición cruzada (OPS, s.f).

A lo largo del proceso de compostaje, la temperatura varía en el tiempo ocurriendo diferentes fases (Sundberg, 2005). La fase de latencia y crecimiento es la etapa inicial en la que los microorganismos se adaptan al medio, se multiplican y colonizan los residuos (primera mesófila). Durante los primeros días ocurre la degradación microbiana de los elementos más fácilmente biodegradables (primera mesófila), se calienta la pila de los residuos y se observa la emanación de vapor de agua en la parte superior de la materia vegetal (termófila). La actividad metabólica de todos los microorganismos eleva la temperatura hasta 75°C; los azúcares y aminoácidos son degradados por los géneros bacterianos extremófilos *Bacillus* y *Thermus*, así como también por bacterias mesofílicas; el pH disminuye desde 7.0 hasta 5.5-6.0, debido a la descomposición de lípidos y glúcidos en ácidos pirúvicos, y de proteínas en aminoácidos, favoreciendo la aparición de hongos mesofílicos (segunda mesófila) tolerantes a las variaciones del pH y humedad (Trautmann & Olynciw, 2000). En la etapa termófila, las poblaciones de bacterias y hongos mesofílicos mueren o permanecen en estado de dormancia mientras que las bacterias termofílicas, actinomicetos y hongos termofílicos (Golueke, 1977), llevan a cabo la degradación de polímeros y hemicelulosa, produciendo más calor que los mesófilos (Mora, 2013). La degradación de los ácidos hace que el pH aumente, desde 5.5 hasta 7.5 (Sundberg, C.; Smars, S.; Jonsson, H., 2004) y permanecerá relativamente constante hasta el final. El color del compost se vuelve más oscuro paulatinamente y

el olor original empieza a ser sustituido por olor a tierra. Aquí empieza la esterilización del compost debido a las altas temperaturas. La mayoría de las semillas y patógenos como *Escherichia coli* y *Salmonella* mueren al estar sometidos durante varios días a temperaturas superiores a 55°C. (Leblanc, Cerrato, Miranda, & Valle, 2007)

La relación carbono nitrógeno debe estar alrededor de 30/1; en caso de aumentar, la actividad biológica disminuye. Si el nitrógeno está en proporciones altas, se agota rápidamente el oxígeno, y se pierde el exceso en forma de amoníaco, tóxico para los microorganismos. La relación carbono nitrógeno es decisiva en la fase termófila, ya que el carbono aportará la energía a los microorganismos. El nitrógeno es esencial para la síntesis de nuevas moléculas como proteínas y ácidos nucleicos (Mora, 2013).

Es necesario entre un 40 y 60% de humedad ya que el agua reparte los nutrientes por el material (C, N, P, K, B, Ca, Mg, Na, entre otros) y debe ventilarse sin exceso, sobre todo en las tres primeras etapas, porque al igual que el sol, el aire seca la pila y altera el proceso de descomposición.

En la etapa mesófila de enfriamiento (segunda mesófila), los nutrientes y la energía escasean y la actividad de los microorganismos termofílicos decae.

La temperatura en la pila desciende desde 75°C hasta temperatura ambiente. Ocurre, entonces, la degradación de celulosa y lignina por bacterias y hongos (*Aspergillus* y *Mucor*). Reaparecen los microorganismos mesofílicos que dominarán el proceso hasta que toda la energía sea utilizada (Mora, 2013). En la fase de maduración se estabiliza y polimeriza el humus a temperatura ambiente, desciende el consumo de oxígeno y desaparece la fitotoxicidad. Se produce la madurez y el enfriamiento del compostaje después de tres a seis meses según las condiciones atmosféricas. (Pérez, Céspedes, & Nuñez, s.f)

El control a establecer en el proceso de compostaje se refiere a parámetros de seguimiento que han de ser medidos y seguidos durante todo su desarrollo (Lasaridi, y otros, 2006), así como a los parámetros relativos a la naturaleza del sustrato que han de ser medidos y adecuados a los valores correctos, fundamentalmente a su inicio (Madejón, Díaz, López, & Cabrera, 2001) y que son factores que condicionan el éxito del compostaje.

Las condiciones de temperatura juegan un papel importante debido a su aumento que es el síntoma más claro de la actividad microbiana, por lo que han sido consideradas como las variables decisivas en el control del compostaje (Liang, Das, & McClendon, 2003) debido a que se da una relación directa entre la temperatura y la magnitud de la degradación de la materia orgánica. Pequeñas variaciones de temperatura afectan más a la actividad microbiana que pequeños cambios de la humedad, pH o relación C/N desestabilizando el proceso.

El agua es indispensable para el metabolismo microbiano, transporta los nutrientes solubles y los desechos. El compostaje es un proceso biológico de descomposición de la materia orgánica. Se considera que la humedad de los materiales es la variable más importante y ha sido calificada como criterio de decisión para la optimización del proceso (Madejón, Díaz, López, & Cabrera, 2001).

La humedad óptima para el crecimiento microbiano está entre el 50 y 70%; la actividad biológica decrece mucho cuando la humedad se encuentra por debajo del 30%. Por encima del 70%, el agua desplaza al aire en los espacios libres entre las partículas, reduciendo la transferencia de oxígeno y produciéndose anaerobiosis, entonces se generan malos olores y disminuye la velocidad de degradación. El exceso de humedad puede ser reducido con mayor aireación. (Haug, R., 1993)

La dinámica de los microorganismos está directamente relacionada con el pH, evolucionando durante las tres fases del compostaje. En la fase primera mesófila ocurre una disminución del pH debido a la acción de los microorganismos sobre la materia orgánica más lábil al liberarse ácidos orgánicos. En la fase termófila se

produce una progresiva alcalinización del medio debido a la pérdida de los ácidos orgánicos y a la generación de amoníaco procedente de la descomposición de las proteínas. (Sánchez, Roing, Paredes, & Bernal, 2001)

En la fase de maduración (segunda mesófila), el pH tiende a la neutralidad debido a la formación de compuestos húmicos que tienen propiedades tampón (Suler & Finstein, 1977). Se mantiene la relación entre los cambios de pH y la aireación de la mezcla, concluyendo que un compostaje con la aireación adecuada conduce a productos finales con un pH entre 7 y 8. Valores más bajos de pH son indicadores de fenómenos anaeróbicos y de inmadurez del abono orgánico. Si el pH se mantiene por encima de 7,5 durante el proceso es síntoma de una buena descomposición.

La presencia de oxígeno es fundamental porque los microorganismos son aerobios. La parte más externa de la pila de compostaje contiene entre 18-20% de oxígeno, y en el interior, el contenido de oxígeno va disminuyendo, mientras que el de dióxido de carbono va aumentando, a una profundidad mayor a 60 cm, el contenido de oxígeno es de 0,5 y 2% (Ekinci, Keener, & Elwell, 2004). Una aireación insuficiente provoca la sustitución de los microorganismos aerobios por anaerobios, con el consiguiente retardo en la descomposición, la aparición de ácido sulfhídrico y malos olores. (Bidlingmaier, 1996)

Entre más pequeño sea el tamaño de las partículas del material, más fácil resulta el ataque de los microorganismos y el aumento de la velocidad del proceso. El tamaño inicial de las partículas que componen la masa a compostar es una variable para la optimización del proceso, ya que cuanto mayor sea la superficie expuesta al ataque microbiano por unidad de masa, más rápida y completa será la reacción. (Haug, 1993)

Si el tamaño de partícula es muy pequeño provoca una gran superficie de contacto para el ataque microbiano, también se reduce el espacio entre partículas y se incrementan las fuerzas de fricción, lo que limita la difusión de oxígeno al interior y de dióxido de carbono al exterior, disminuye la reproducción microbiana que termina

en colapso microbiano al ser imposible la aireación por convección natural. (Haug, 1993)

Por otra parte, un producto muy fino no es aconsejable por riesgos de compactación. Las dimensiones consideradas óptimas son distintas según los criterios de diferentes autores, varían entre 1 y 5 cm (Haug, 1993), entre 2 y 5 cm (Kiehl, 1985), o entre 2,5 y 2,7 cm (Tchobanogolus, Treisen, & Vigil, 1994).

Para un compostaje eficiente, en el que se aproveche y retenga la mayor parte del carbono y del nitrógeno, la relación C/N del material de partida debe ser la adecuada. Los microorganismos utilizan generalmente 30 partes de carbono por cada una de nitrógeno; por esta razón se considera que el intervalo de C/N teóricamente óptimo para el compostaje de un producto es de 25-35/1. (Jhorar, Phogat, & Malik, 1991)

La relación C/N es un importante factor que influye en la velocidad del proceso y en la pérdida de amonio durante el compostaje. Si la relación C/N es mayor a 40/1, la actividad biológica disminuye y los microorganismos deben oxidar el exceso de carbono con la consiguiente ralentización del proceso, debido a la deficiente disponibilidad de nitrógeno para la síntesis proteica de los microorganismos. (Kaas, 1996)

Con el fin de eliminar el exceso de carbono (en forma de dióxido de carbono), es necesaria la aparición sucesiva de diversas especies microbianas. Al morir microorganismos, el nitrógeno contenido en su biomasa se recicla y la relación C/N tiende a disminuir. (García C. , 2001)

Por otra parte, el fósforo es el nutriente más importante, tras el C y el N. Debe estar presente en cantidades suficientes para que el proceso se lleve a cabo con eficacia. Una buena relación entre los principales nutrientes provoca una adecuada capacidad para la proliferación microbiana, así como el tener nutrientes principales en cantidades óptimas y estar en formas disponibles para la síntesis microbiana. (Singh & Amberger, 1990)

Los nutrientes poseen las características químicas necesarias en su composición elemental como son carbono, nitrógeno y fósforo, que son macronutrientes fundamentales para el desarrollo microbiano. El carbono es necesario en la síntesis celular para la formación del protoplasma, así como lípidos, grasas y carbohidratos; durante el metabolismo se oxida para producir energía y anhídrido carbónico; es el elemento que debe estar presente en mayor cantidad puesto que constituye el 50% de las células de los microorganismos y el 25% del anhídrido carbónico que se desprende en la respiración. (Tierra, s.f)

El nitrógeno es un elemento esencial para la reproducción celular debido a la naturaleza proteica del protoplasma y composición de ácidos nucleicos; se ha demostrado que la calidad de un compost como fertilizante está directamente relacionada con su contenido de nitrógeno. El fósforo desempeña un papel fundamental en la formación de compuestos celulares ricos en energía, siendo necesario para el metabolismo microbiano. (Vansintjan & Vega, 1992)

Los microorganismos sólo pueden aprovechar compuestos simples, por lo que las moléculas más complejas se rompen en otras más sencillas como las proteínas en aminoácidos y estos en amoníaco, para poder ser asimiladas (Castaldi, Alberti, & Melis, 2005). “La utilidad de los compostajes en la agricultura dependerá de la disponibilidad de los elementos nutritivos que posean” (Kiehl, 1985).

La calidad agronómica del compost estará en relación a su contenido de materia orgánica (Kiehl, 1985). Durante el compostaje, la materia orgánica tiende a disminuir debido a su mineralización y a la consiguiente pérdida de carbono en forma de CO₂ (20% del peso de la masa compostada) según (Zucconi & De Bertoldi, 1987). La reducción de materia orgánica transcurre en dos etapas: en la primera se produce un rápido decrecimiento de los carbohidratos, con la producción de compuestos simples; algunos de los cuales se reagrupan para formar moléculas complejas dando lugar a compuestos húmicos. En la segunda etapa, una vez consumidos los compuestos lábiles, otros materiales más resistentes como las ligninas se van degradando

lentamente en compuestos húmicos (Tomati, Madejon, & Galli, 2000), generalmente este último cambio no finaliza durante el tiempo que dura el compostaje.

Algunos compuestos procedentes de la materia orgánica son utilizados por los microorganismos para formar sus tejidos y otros son transformados en dióxido carbónico y agua. Los materiales formados tienen propiedades diferentes a los originales, confiriéndole a la masa características físicas y químicas distintas (Haug, 1993). La velocidad de transformación de materia orgánica depende de su naturaleza física y química, de los microorganismos que intervienen y de las condiciones fisicoquímicas del proceso humedad, aireación, temperatura y pH (Michel, Pecchia, & Rogot, 2004).

La conductividad eléctrica (CE) de un compost depende de la naturaleza y composición del material inicial, principalmente por su concentración de sales y, en menor grado, por la presencia de iones amonio o nitrato formados durante el (Sánchez, Roing, Paredes, & Bernal, 2001). La CE tiende a aumentar durante el proceso de compostaje debido a la mineralización de la materia orgánica, que produce un aumento de la concentración de nutrientes. Un exceso de salinidad en la solución del suelo dificulta la absorción del agua por las raíces de las plantas. A veces ocurre un descenso de la CE durante el proceso, lo que puede deberse a fenómenos de lixiviación, debidos al aumento de humedad.

Los abonos orgánicos son utilizados para mejorar y fertilizar los suelos agrícolas (Paneque & Calaña, 2004). “La calidad de las enmiendas orgánicas se evalúan a través de las propiedades físicas, químicas y biológicas” (Castaldi, Alberti, & Melis, 2005). Según (Leblanc, Cerrato, Miranda, & Valle, 2007), “la calidad de los abonos orgánicos se determina a partir de su contenido nutricional y de su capacidad de proveer nutrientes a un cultivo” (Ruíz, Russian, & Tua, 2007). Para analizar la calidad de los biosólidos, la Normativa EPA, 2003, ha regulado a los residuos sólidos biológicos, su uso y disposición, bajo el Code of Federal Regulations (CFR): 40 CFR, parte 503. La Norma EPA 503 Biosólidos, determina los niveles de patógenos permitidos, según la clasificación del abono: Clase A, Salmonella (< 3

UFC/g), coliformes fecales ($<1 \times 10^3$ UFC/g), Virus entéricos (<1 PFU/g) y Huevos viables de helmintos (<1); Clase B, coliformes fecales (2×10^6 UFC/g).

La aplicación de compostaje puede representar un riesgo de contaminación por microorganismos patógenos si la fase termófila no se desarrolla adecuadamente. En caso de que el compost se elabore con la fracción orgánica, es posible encontrar derivados de animales o cadáveres, restos vegetales y residuos de alimentos, donde previo al compostaje proliferan este tipo de microorganismos (Soto & Melendez, 2004). Debido a su presencia, el compostaje puede ocasionar problemas de salud, de tal manera que los individuos que laboran en plantas de compostaje se encuentran en riesgo de adquirir enfermedades o presentar molestias por los polvos orgánicos con esporas y microbios. Entre los posibles padecimientos están alergias, inflamación de vías respiratorias, asma ocupacional y bronquitis crónica, conjuntivitis, además de infecciones por virus, bacterias, hongos y protozoarios. (Moreno, 2008)

La mayor parte de los microorganismos patógenos prefieren temperaturas por debajo de los 42°C ya que normalmente viven a la temperatura corporal del ser humano y animales o temperatura ambiente en plantas. La mayor parte morirán si se exponen durante un tiempo a condiciones más severas que las de su ambiente habitual. (Trivierge & Seito, 2005)

“La vigilancia y control es de vital importancia para evitar microorganismos dañinos en el compost. El tratamiento realizado al compost para su aplicación como biofertilizante va dirigido a destruir las bacterias patógenas y mantener condiciones desfavorables para su crecimiento” (Gómez, Gonzales, & Chiroles, 2004).

El tiempo y la temperatura necesarios para eliminar o reducir los peligros microbianos en el compost u otras materias orgánicas varían según el clima de la región y las prácticas concretas de gestión ambiental aplicadas en cada caso (FAO, 2013), planteó que los organismos patógenos pueden sobrevivir hasta 60 días en el compost. Algunas de las bacterias dañinas que pueden estar en el compost son: *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Yersinia* sp., *Vibrio cholera*, *Campylobacter jejuni*,

Escherichia coli y coliformes fecales que provocan enfermedades como salmonelosis, gastroenteritis, fiebre tifoidea, disentería bacilar, cólera, infecciones intestinales. Además, pueden estar presentes Virus Entéricos, Hepatitis A, Enterovirus, Virus poliomeilitis Cocksackie; hongos infecciosos; parásitos protistas, *Cryptosporidium* *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Balantidium coli*, *Toxoplasma gondii*; parásitos gusanos, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Taenia solium*, entre otros. (Gómez R. , 2004)

1.4.2. Hipótesis

El análisis fisicoquímico y microbiológico del abono orgánico producido por el GAD Baños cumple con parámetros internacionales, que permiten sugerir normas para el control en Ecuador.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Participantes

Las empresas auspiciantes del proyecto de tesis fueron AGROCALIDAD y el Gobierno Autónomo de Baños provincia de Tungurahua.

En el estudio participó como directora, Alma Koch Kaiser MSc., docente de la Carrera de Ingeniería en Biotecnología y en calidad de tesista, Lic. Jaime Serpa, egresado de la Maestría en Sistemas de Gestión Ambiental XII de la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE.

2.2 Zona de estudio

2.2.1 Trabajo de campo

La fase de campo fue llevada a cabo en la Planta de compostaje de la ciudad de Baños de Agua Santa provincia de Tungurahua, donde se recolectaron las muestras del abono orgánico para el análisis en el laboratorio. Las Coordenadas de la Compostera son X: 0780907, Y: 9843283, AL: 2061 msnm, Pr: 7 m.

En la planta de compostaje se evaluó el diseño, operación y personal que elabora los abonos orgánicos.

Se analizó In situ el proceso y el producto final.

2.2.2 Trabajo de laboratorio

La fase de laboratorio fue desarrollada en el Laboratorio de Microbiología Ambiental perteneciente al Departamento de Ciencias de la Vida de la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE, Ecuador, Provincia de Pichincha, cantón

Rumiñahui, Sangolquí, ubicación geográfica: 0°18'53",52 ° S, en donde se llevó a cabo el análisis microbiológico.

El análisis físico-químico de las muestras fue realizado en los Laboratorios de Suelos de AGROCALIDAD ubicado en Tumbaco, Av. Interoceánica Km. 141/2, Provincia de Pichincha, Ecuador.

2.3 Periodo de tiempo de investigación

La investigación se inició en septiembre del 2015 y se finalizó en enero del 2016.

2.4 Recolección de muestras

Se realizó el muestreo en la Planta de compostaje de la ciudad de Baños de Agua Santa provincia de Tungurahua, en referencia a la Normativa Técnica Ecuatoriana NTE INEN 220:2013. Fertilizantes o Abonos. Muestreo (Tabla 1).

El tamaño del lote no supera los 15 Kg, por lo que se tomó cinco muestras de un kilogramo por saco y se las unió en una muestra compuesta para realizar los análisis microbiológicos y fisicoquímicos (INEN, 2009).

Las muestras para el análisis microbiológico fueron colocadas en recipientes estériles y transportadas bajo condiciones termorefrigeradas al Laboratorio de Microbiología de la Carrera de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE. Para los análisis fisicoquímicos, las muestras se colocaron en fundas plásticas estériles y fueron transportadas en un termo refrigerado al Laboratorio de Suelos de Agrocalidad (Figura 1).

Tabla 1**Número de muestras elementales de fertilizantes.**

Tamaño del lote (Kg)	Número mínimo de muestras elementales.
Hasta 15	3
16 -25	4
26-50	5
51-90	7
91-150	10
151-280	15
281-400	20
401-500	25
501-1200	35
1201-3200	50
3201-10000	75
100001-35000	100
35001-150000	150
Mayor a150000	200

Fuente: (INEN, Normativa Técnica Ecuatoriana INEN 220:Fertilizantes y abonos , 2013)



Figura 1: Muestreo para el análisis microbiológico y fisicoquímico del abono orgánico.

2.5 Evaluación del proceso de compostaje, cambios e infraestructura.

El proceso del compostaje se lo realizó en base a la observación y encuesta al operador. (Figuras 2, 3, 4 y 5).



Figura 2: Compostaje del GAD de Baños de Agua Santa -Tungurahua.



Figura 3: Proceso de compostaje del GAD de Baños de Agua Santa -Tungurahua.



Figura 4: Cambio físicos del compost del GAD de Baños de Agua Santa -Tungurahua.



Figura 5: Infraestructura del proceso de compostaje del GAD de Baños de Agua Santa - Tungurahua.

2.6 Fase de Laboratorio

2.6.1 Análisis Microbiológicos

Para determinar la inocuidad de los abonos orgánicos se buscó la existencia o ausencia de bacterias patógenas como: *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *Escherichia coli* (Caffer, Terragno, & Binztein, 2008; García, Fernández, & Paredes, 1997; INEN, Normativa Técnica Ecuatoriana INEN 220: Fertilizantes y abonos muestreo, 2009; Koneman, Allen, & Janda, 1999; Rodríguez G. , 2002; Sánchez & Zavala, 2003; Stuart, 2000; Willey, 2009; Benson, 2005).

2.6.2 Aislamiento e identificación de *Salmonella* sp.

El aislamiento e identificación del género *Salmonella* se realizaron según la norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-15: Control microbiológico de los Alimentos. Aislamiento e identificación de *Salmonella* (INEN, 2009). Además, se añadieron medios de cultivo selectivos y diferenciales que han demostrado buenos resultados en la recuperación de las bacterias objetivo de la investigación.

2.6.3 Pre-enriquecimiento

Se pesó 10 g de la muestra de abono orgánico en 90 mL de agua de peptona tamponada estéril. Se homogenizó por 5 min, se dejó reposar 60 min a temperatura ambiente y luego se incubó a 37°C, durante 18 h.

2.6.4 Enriquecimiento selectivo

Pasadas las 18 h de incubación correspondientes al pre-enriquecimiento de la muestra, se tomó 5 mL y se colocó en 50 mL de caldo tetrationato verde brillante. Se incubó a 42°C durante 48 h. Además se puso 10 mL en 100 mL de caldo selenito y se incubó a 37° por 48 h.

2.6.5 Aislamiento primario en medios selectivos y diferenciales

Cumplido el periodo de enriquecimiento selectivo, a partir de los caldos se inoculó la muestra en medios sólidos selectivos y diferenciales, agar verde brillante rojo fenol, agar SS, así como agares MacConkey y Hektoen. Se incubaron a 37°C por 24 h.

2.6.6 Selección y purificación de las colonias confirmativas

De cada medio selectivo y diferencial, se seleccionaron cinco colonias sospechosas bien separadas y se procedió a realizar los cultivos puros en agar nutriente inclinado. Se incubaron a 37°C por 24 h. Luego se realizó una tinción Gram para verificar su pureza y volver a repicar en nuevos tubos de agar nutriente inclinado.

2.6.7 Identificación mediante batería bioquímica

A partir de los cultivos puros, se inocularon las bacterias en medio primario para reacciones bioquímicas de metabolismo como triple sugar iron agar (TSI). Se incubaron 37°C por 24h. De las presuntas salmonelas, se sembraron las colonias en los medios secundarios de identificación bioquímica como urea, caldo lisina decarboxilasa, prueba de beta galactosidasa, voges proskauer, prueba de indol, prueba de fenilalanina, citrato Simmons, entre otros. Los resultados se verificaron según la norma técnica ecuatoriana INEN para la determinación del género *Salmonella*.

2.6.8 Aislamiento e identificación de *Shigella* sp.

El aislamiento e identificación de *Shigella* se realizó según la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-16: Control microbiológico de los alimentos. Aislamiento e identificación de *Shigella* (INEN., 1996). También se consideraron otros medios de cultivo selectivos y diferenciales propicios para robustecer los resultados.

2.6.9 Pre-enriquecimiento

Se pesó 10 g de muestra del abono orgánico en 90 mL en agua de peptona estéril al 0.1% y se homogenizó. Se dejó reposar 1 h a temperatura ambiente.

2.6.10 Enriquecimiento selectivo

Pasadas las dos horas de incubación del pre-enriquecimiento de la muestra, se tomó 10 mL y se colocó en 100 mL de caldo Hajna para cumplir con el enriquecimiento selectivo. Se incubó a 37°C por 16 a 18 h.

2.6.11 Aislamiento primario en medios selectivos y diferenciales

Cumplido el periodo de enriquecimiento selectivo, se sembraron por estriado para obtener colonias aisladas en los medios sólidos selectivos y diferenciales XLD, MAC y SS. Se incubaron a 37°C por 24 h.

2.6.12 Selección y purificación de las colonias sospechosas

De cada placa de medio selectivo y diferencial, se seleccionaron colonias aisladas sospechosas para *Shigella*, se realizaron cultivos puros en agar nutriente inclinado y se incubaron a 37°C por 24 h. Luego se realizó una tinción Gram para verificar su pureza y volver a repicar en nuevos tubos de agar nutriente inclinado.

2.6.13 Identificación bioquímica

A partir de los cultivos puros, se inoculó en los medios primarios de identificación bioquímica, triple sugar iron agar (TSI) y movilidad. Se incubaron a 37°C por 24 h. De las presuntas shigellas, se sembró en los medios secundarios de urea, caldo lisina decarboxilasa, malonato, salicina, voges proskauer, prueba de indol, prueba de fenilalanina y citrato Simmons. Los resultados se verificaron según la Norma Técnica Ecuatoriana para determinar el género *Shigella*.

2.6.14 Aislamiento e identificación de *E. coli* y coliformes

El aislamiento e identificación de *E. coli* y coliformes fue realizado según la norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-8, NTE INEN 1529-6, NTE INEN 1529-7 Control microbiológico de los alimentos. Aislamiento e identificación de *E. coli*. Para mayor seguridad de los resultados, se añadieron otros medios de cultivos selectivos y diferenciales.

2.6.15 Pre-enriquecimiento

Se pesó 10 g del abono orgánico en 90 mL en agua de peptona 0.1% y se homogenizaron. Se los dejó reposar durante 2 h a temperatura ambiente.

2.6.16 Aislamiento primario en medios selectivos y diferenciales

Concluida la hora de pre-enriquecimiento, se realizaron diluciones (10^{-1} hasta 10^{-7}). A partir de ellas, se inoculó en cajas Petri con medio de cultivo agar cristal violeta-rojo neutro-bilis. Se incubó a 30°C por 48 h.

2.6.17 Selección y purificación de las colonias confirmativas

De cada placa de medio selectivo y diferencial, se seleccionaron colonias aisladas sospechosas para *E. coli* para obtener cultivos puros. Las colonias fueron sembradas

en agar nutriente inclinado y se incubaron a 35°C por 24 h. Luego se realizó una tinción Gram para verificar su pureza y volver a repicar en nuevos tubos de agar nutriente inclinado.

2.6.18 Identificación bioquímica

Para la identificación bioquímica, se siguió el método IMVIC, pruebas de indol, MR, VP y Citrato Simmons. Los resultados se interpretaron según las Normas Técnicas INEN para la identificación de *E. coli*.

2.7 Identificación bioquímica y confirmación con pruebas API

Los resultados obtenidos de las pruebas morfológicas y bioquímicas se confirmaron mediante la ejecución de pruebas miniaturizadas API, siguiendo las instrucciones de siembra y lectura de resultados, con el Índice Analítico de Perfil API 20E Medium, para Enterobacteriaceae (Benson, 2005).

2.8 Análisis fisicoquímicos

Los análisis fisicoquímicos de la muestra del abono orgánico fueron realizados en el Laboratorio de Suelos, Foliar y Aguas de la Dirección de Servicios de Laboratorio de AGROCALIDAD, por el autor de esta tesis (Anexo 1). Se determinaron los contenidos óptimos de cenizas, materia orgánica, nitrógeno total, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, cobre, zinc, cadmio y plomo. Todos los métodos utilizados en el laboratorio están basados en el Standard Methods y en la RELASE (Red de Laboratorios de Suelos del Ecuador), corresponden a procesos certificados y son confidenciales.

2.9 Análisis de muestras de suelo

2.9.1 Preparación de las muestras

La muestra del abono orgánico colectado fue secada en una estufa 70°C por 48 h. Fueron molidas y tamizadas a través de un tamiz de 2mm y almacenadas en fundas plásticas transparentes identificadas, para los respectivos análisis excepto el de densidad aparente (Figura 6).



Figura 6: Preparación de las muestras de los abonos orgánicos del GAD Baños de Agua Santa para análisis fisicoquímicos.

2.9.2 Determinación de las características fisicoquímicas de los abonos orgánicos

La caracterización fisicoquímica del abono orgánico se basó en la determinación de los contenidos de niveles óptimos de los parámetros mencionados anteriormente.

2.9.3 Características físicas

La caracterización físico química del abono orgánico se realizó según los procedimientos estandarizados por los Laboratorios de Suelos de AGROCALIDAD (Cuadro 1). No son detallados en esta tesis por confidencialidad.

Cuadro 1

Determinación fisicoquímica de la muestra de abono orgánico del GAD Baños de Agua Santa; procedimientos estandarizados por los Laboratorios de suelos de Agroalidad.

PARÁMETRO ANALIZADO	MÉTODO	UNIDAD
Cenizas	Gravimétrico	%
Materia orgánica	Gravimétrico	%
Nitrógeno	Dumas	%
Fósforo	Colorimétrico	%
Potasio	Absorción atómica	%
Calcio	Absorción atómica	%
Magnesio	Absorción atómica	%
Hierro	Absorción atómica	Ppm
Manganeso	Absorción atómica	ppm
Cobre	Absorción atómica	Ppm
Zinc	Absorción atómica	Ppm
Cadmio	Absorción atómica	mg/Kg
	(Llama)	
Plomo	Absorción atómica	mg/Kg
	(Llama)	

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

3.1 Evaluación del proceso de compostaje, cambios e infraestructura.

El proceso del compostaje se lo realiza en base a un sistema abierto, con pilas dinámicas donde se mezclan materias primas en dos capas: la primera, es una mezcla de 4 m³ de desechos de lodos de gelatina, 3 m³ de bagazo de caña y 2 m³ de aserrín. La segunda contiene 2 m³ de desechos de gelatina más 1,5 m³ de bagazo de caña y 0,2 m³ de rumen con sangre. Es un proceso microbiológico aerobio que combina fases mesófilas y termófilas, con una duración de seis meses hasta su madurez (Figura 2).

En esta investigación se constató que no se controlan los parámetros de oxigenación, temperatura y pH. Se observó que se realiza volteo mecánico a las pilas con el fin de suministrarles la cantidad de oxígeno que requieren, que tengan la humedad necesaria evitando que se sequen o que se saturen de agua (Figura 3).

Durante el proceso de compostaje se dieron varios cambios físicos. En cuanto al olor, en la fase inicial durante un mes presentaba un olor fuerte debido a la desintegración de la materia orgánica incluida: rumen con sangre y gelatina vacuna. En la fase mesófila el olor fue más intenso y fue bajando su concentración a los cinco meses al alcanzar las etapas termófilas y de maduración. El volumen de la pila fue disminuyendo debido a que todas las mezclas sufrieron descomposición en el tiempo (Figura 4).

La textura del compost durante el proceso de compostaje sufrió varias transformaciones, ya la materia orgánica fue tornándose pastosa en los tres primeros meses y luego se convirtió en una mezcla de partículas finas y estables.

Todo el proceso de compostaje se desarrolla en tres áreas físicas. Existe un espacio para la etapa inicial donde se tritura la materia orgánica como el bagazo de

caña y otros residuos vegetales. La segunda zona en donde se desarrolla el proceso de descomposición del compost es una plataforma de unos 20 m de ancho por 40 m de largo aproximadamente y el suelo está cubierto por una geo-membrana, es a cielo abierto, no tiene cubierta. La última área en donde se lleva a cabo los procesos de maduración, secado, molienda y embalaje es de aproximadamente 20 m de ancho por 15 m de largo (Figura 5). Los lixiviados que se producen en el proceso de compostaje son desechados directamente al río.

3.2 Fase de Laboratorio

Se presentan primero los resultados de los análisis microbiológicos de las bacterias patógenas indicadoras *Salmonella* sp., *Shigella* sp., y *Echerichia coli* y en segundo lugar, los resultados de los análisis físicoquímicos del abono orgánico del GAD de Baños de Agua Santa.

3.2.1 Análisis microbiológicos

Aislamiento de colonias del género *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *E. coli*.

Se aislaron diez colonias bacterianas que presentaron características macroscópicas y microscópicas similares a las reportadas por bibliografía para *Salmonella*, *Shigella* y *E. coli*.

Descripción macroscópica celular

Las características macroscópicas más evidentes para *Salmonella* sp., borde entero, elevada y convexa, superficie lisa. Las colonias de *Shigella* sp., lisas, con borde entero, convexa. *E. coli*, superficie lisa, con borde entero y convexa.

Los diez aislamientos presuntivos para *Salmonella*, *Shigella* y *E. coli* fueron bacilos Gram negativos (Figura 7).

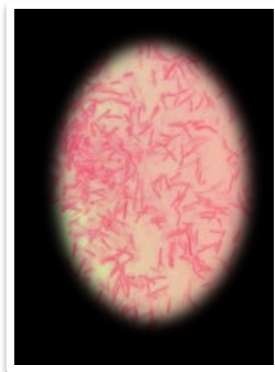


Figura 7: Tinción Gram: bacilos Gram negativos (100x).

Análisis bioquímico

Las claves bibliográficas de identificación microbiana: Bergey's Manual y Normativa INEN permitieron la caracterización bacteriana (Figura 8).

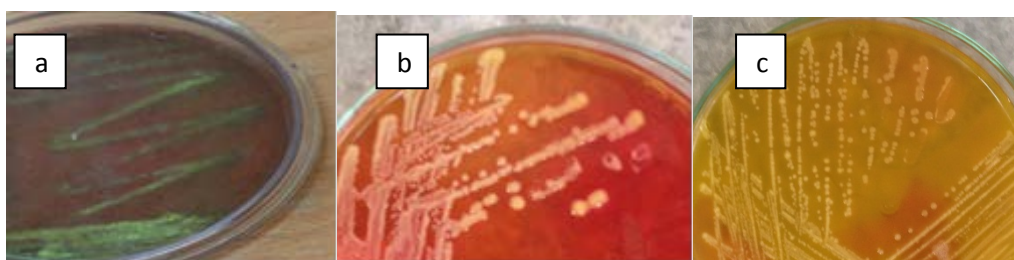


Figura 8: a) *E. coli*, b) *Shigella* y c) *Salmonella*, en medios de cultivo selectivo y diferencial.

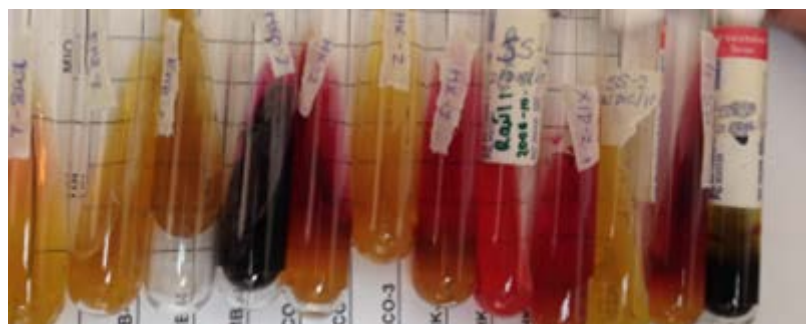


Figura 9: Pruebas bioquímicas realizadas a las colonias presuntivas aisladas del abono orgánico: *Salmonella*, *Shigella* y *E. coli*.

3.3 Análisis confirmativo

En la Figura 10 se muestra el análisis confirmativo con pruebas miniaturizadas API que corroboran la identificación bioquímica primaria y secundaria de las Cepas MCO-2, HK-1, HK-2 como colonias pertenecientes a *E. coli*.



Figura 10: Prueba confirmativas API para bacterias entéricas.

En la Tabla 2 se muestran los resultados de los análisis microbiológicos del abono orgánico del GAD de Baños de Agua Santa. El abono orgánico cumple con la norma EPA 503 para ausencia de *Salmonella* sp. y ausencia de *Shigella* sp.

Tabla 2

Análisis microbiológico y límites permisibles según la EPA 503.

Patógenos	Norma EPA Presencia o ausencia	Compost GAD Baños
Salmonella sp.		Ausencia
Shigella sp.		Ausencia
E. coli		Presencia

3.4 Análisis fisicoquímico

Los resultados de las características fisicoquímicas del abono orgánico se presentan en la Tabla 3 y en el Anexo 1.

3.5 Resultados de las características fisicoquímicas del compost

Los análisis químicos del abono orgánico del GAD Baños se encuentran en la Tabla3.

Tabla 3

Características fisicoquímicas del abono orgánico del GAD de Baños de Agua Santa.

IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA	PARÁMETRO ANALIZADO	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO
COMPOST	Cenizas	Gravimétrico	%	64,79
	Materia orgánica	Gravimétrico	%	35,21
	Nitrógeno	Dumas	%	1,46
	Fósforo	Colorimétrico	%	0,46
	Potasio	Absorción atómica	%	0,2
	Calcio	Absorción atómica	%	9,29
	Magnesio	Absorción atómica	%	0,44
	Hierro	Absorción atómica	Ppm	3378,65
	Manganeso	Absorción atómica	Ppm	113,25
	Cobre	Absorción	Ppm	39,98

atómica			
Zinc	Absorción atómica	Ppm	110,66
Cadmio	Absorción atómica	mg/Kg	ND
(Llama)			
Plomo	Absorción atómica	mg/Kg	ND
(Llama)			

Los resultados mostraron porcentajes de materia orgánica del 35.21%, cenizas 64,79% y nitrógeno total 1.46 %. Los macronutrientes y micronutrientes encontrados en el abono orgánico son potasio (K) 0.20 %, fósforo (P) 0,46%, calcio 9,29%, magnesio (Mg) 0.44 %, hierro (Fe) 3378,65 ppm y manganeso (Mn) 113,25 ppm. La concentración de metales pesados evaluados en el abono orgánico fue menor a los establecidos en la legislación internacional. Los resultados obtenidos para cobre fueron 39.98 ppm; zinc, 110,66 mientras que cadmio y plomo no fueron detectables.

CAPÍTULO 4

DISCUSIÓN

Las condiciones en las que se lleva a cabo el proceso de compostaje en el área de estudio son bastante básicas considerando que existen varios criterios técnicos de ubicación que deben tomarse en cuenta para un proyecto de compostaje, tales como distancia del proyecto a la fuente de recuperación de materia orgánica, acceso a una carretera o camino fácilmente accesible, carretera que brinde buen acceso al proyecto, terreno sin riesgos de inundación, acceso a fuentes fijas de agua, tamaño y capacidad del terreno: suficientemente amplio para la recepción de una cantidad dada de materia orgánica y el tratamiento de la misma. Los terrenos demasiado pequeños causan problemas en el manejo mismo de los desechos. Por último, debe contar con las condiciones climáticas favorables, lejos de zonas con alta densidad poblacional o zonas exclusivamente residenciales. (Olsthoom, Keltjens, Van, & Hopman, 1991)

En relación a la infraestructura física (Haug, 1993), corresponde todo tipo de construcciones y servicios básicos creados para la implementación del proyecto, como edificios o galpones, sanitarios, duchas, cuartos de implementos, cuartos de vestimenta de trabajo, cuarto de estancia y reuniones para trabajadores, centros de almacenamiento, adecuación de cisternas, tomas de agua, canales de riego, etc., construcción de lechos y adecuación de vías de acceso. La infraestructura debe contar con los requerimientos técnicos necesarios para su funcionamiento con el fin de garantizar resultados óptimos, seguros y de calidad constante a largo plazo. (Ocampo, 1999)

En cuanto a la tecnología, debe contarse con la maquinaria necesaria como plantas industriales de tratamiento completas en el caso de que sea un proyecto de compostaje industrial, maquinaria procesadora de material como trituradoras, tamizadoras, mezcladoras, entre otras, en el caso de ser un proyecto de compostaje semi-industrial, vehículos de transporte, herramientas necesarias como palas, rastrillos, azadones, picos, carretillas, regaderas, mangueras, termómetros, higrómetros, medidores de pH, y otras. (Castaldi, Alberti, & Melis, 2005)

Por otro lado, la composición fisicoquímica de los materiales utilizados en la elaboración del compost incide directamente en la calidad del producto final, por lo tanto debe ser tomada en cuenta para cada proceso (Soto M. , 2003). Los factores fisicoquímicos (Suler & Finstein, 1977) que cuentan en este aspecto son la temperatura, de acuerdo a las fases por las que atraviesa la descomposición de materia orgánica, la temperatura va cambiando gradualmente hasta alcanzar un máximo de 75°C para luego descender y estabilizarse; la temperatura al momento de la cosecha debe ser estable y llegar a la temperatura ambiental o máximo a 25°C. Un compost de calidad no debe estar demasiado seco ni demasiado húmedo, durante el proceso este factor debe ser controlado. El promedio de la humedad debe ser de un máximo de 45 % durante el proceso. La ventilación es importante únicamente en el caso de que el método de compostaje sea aeróbico y por tanto tiene que ser controlado específicamente (Ekinci, Keener, & Elwell, 2004). La relación carbono - nitrógeno se controla al principio del proceso mediante el uso de materiales ricos en estos elementos.

Las fuentes de carbono son ceniza, restos de cosechas, hierba seca, malezas, etc. y las fuentes de nitrógeno son desechos animales (estiércol, huesos, carne, pieles), desperdicios de cocina, hierba tierna, materia orgánica verde fresca, harina de pescado, etc. La relación carbono-nitrógeno óptima para el compost es 25/1; el pH también debe ser monitoreado durante el proceso y su valor óptimo es neutro. (Golueke & Díaz, 1987) El tiempo de compostaje varía según la metodología utilizada en el proceso y el control aplicado. El tiempo promedio que el compostaje utiliza en atravesar todas las fases es de aproximadamente seis meses, pudiendo variar en función de las condiciones climáticas, la metodología utilizada y el control sobre el proceso. Usualmente, el compost puede ser usado en el momento en el que el producto presente un color oscuro, ya no se diferencian los materiales de origen. El producto final o compost debe tener olor agradable, textura suave, humedad aproximada a 40 % y 25°C de temperatura. (Jeris & Regan, 1973)

Es necesario llevar un control completo y estricto de las condiciones higiénicas del proceso de compostaje y del producto final en tres niveles: (1) Trabajadores, los

que deben contar con equipo adecuado para la manipulación de los desechos y evitar accidentes como cortaduras y lastimados; además su salud (OPS, s.f) debe ser examinada periódicamente por el riesgo constante de enfermedades e infecciones. (2) Entorno: la higiene y limpieza del entorno conviene mantenerla pues la acumulación de desechos orgánicos es fuente de problemas sanitarios en el suelo, aire, agua o paisaje del sitio utilizado, afectando a las poblaciones humanas y animales localizadas alrededor. La descomposición genera residuos líquidos o gaseosos que también necesitan ser controlados para evitar daños ambientales. (3) Consumidores del producto final: una adecuada elaboración del compost asegura que los consumidores estén libres de problemas de salud y rendimiento (Alvarez, 2006).

El abono orgánico del GAD de Baños de Agua Santa carece de bacterias de los géneros *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. Según Gómez, Gonzales, & Chiroles (2004) los patógenos, parásitos y malezas no logran sobrevivir después del proceso de compostaje debido a que la fase termófila alcanza temperaturas entre 60 y 75°C, si se ha llevado a cabo correctamente y luego de su finalización no ha habido contaminación externa del producto final. Los dos géneros bacterianos son microorganismos de baja incidencia en compost y dependen de condiciones físicas ambientales específicas, como humedad mayor a 20%. El proceso térmico de reducción de patógenos que ocurre en la fase termófila está ocurriendo según lo esperado. (Miyatake & Iwabuchi, 2006)

Los desechos derivados de las actividades agrícolas y pecuarias pueden resultar en problemas de contaminación ambiental y afectar a la salud humana cuando no son manejados apropiadamente (Gómez, Gonzales, & Chiroles, 2004). *Escherichia coli* es una bacteria indicadora de contaminación fecal, por lo tanto, pudo haber ingresado al compost después de terminado el proceso por contaminación externa debida a animales domésticos o salvajes, manipulación deficiente, agua de baja calidad, implementos de trabajo contaminados, incumplimiento de normas sanitarias, así como también a desechos fecales humanos. La presencia de *E. coli* en el compost y su posterior aplicación en el suelo puede causar contaminación de productos vegetales. En Estados Unidos, desde el 2005, *Salmonella* sp. y *E. coli* fueron

relacionadas con enfermedades causadas por vegetales frescos. (Warriner & Namvar, 2010) La norma EPA menciona que puede existir la presencia de coliformes fecales en el compost pero en un rango limitado y dentro de este grupo bacteriano está *E. coli*.

“Los abonos orgánicos también se conocen como enmiendas orgánicas, fertilizantes orgánicos, fertilizantes naturales, entre otros” (Roben, 2002). Asimismo, existen diversas fuentes orgánicas como por ejemplo: abonos verdes, estiércoles, compost, humus de lombriz, bioabonos, los cuales varían su composición química de acuerdo al proceso de preparación e insumos que se empleen (Alvarez, 2006). Los resultados fisicoquímicos muestran que el contenido de materia orgánica y nitrógeno total están elevados, posiblemente se debe al tipo de residuos orgánicos usados para el proceso de compostaje, como desechos animales ricos en proteínas según el trabajo de (Kolmas & Vásquez, 1996).

Rodríguez (2010) determina que para el uso de productos de compostaje se requiere una evaluación sistemática de sus contenidos en metales pesados (MP) porque pueden acumularse en los suelos y los sustratos y provocar alteración en el equilibrio biológico de los mismos así como afectar el rendimiento de los cultivos y la salud humana. Los metales pesados encontrados en el abono orgánico del GAD de Baños de Agua Santa cumplen los límites permisibles establecidos por la EPA 503, lo que indica que el proceso se lleva bajo condiciones adecuadas.

Las concentraciones metales pesados parten del material de origen usado para el compostaje. Los desechos del GAD de Baños consisten en residuos vegetales y animales que no muestran contaminación de este tipo.

Se comprobó en este estudio que no se cuenta con parámetros de producción ni con sistemas de control de calidad estandarizados a corto, mediano o largo plazo, por lo que posiblemente la calidad del compost variará de lote a lote. Esto quiere decir que si se llevan a cabo análisis microbiológicos y fisicoquímicos al compost de varios procesos, probablemente no darán los mismos resultados.

Los objetivos del compostaje por los GADs son proveer de una alternativa viable a los problemas causados por el mal manejo de desechos sólidos municipales, involucrar a la comunidad en el manejo de desechos sólidos mediante la clasificación y separación en el origen, mejorar el sistema de manejo de desechos sólidos en la población, reducir los niveles de contaminación que producen estos desechos, contribuir con la conservación de los recursos naturales, mejorar la estructura y rendimiento de los suelos a nivel agrícola, realizar una actividad económicamente rentable y autosustentable, ampliar la oferta de abonos orgánicos incrementando su producción, mediante la práctica técnica y científica del proceso. (Restrepo & Rodríguez, 2002)

Los factores decisivos que influyen en el logro efectivo de programas de aprovechamiento de residuos orgánicos son la participación efectiva de todos los actores que intervienen en el proceso, el apoyo e intervención directa de las municipalidades como instituciones activas en las actividades de recolección, transporte, gestión y control de los procesos, la planificación del proceso con una clara visión de los objetivos y los logros a obtenerse a corto, mediano y largo plazo, la realización de estudios de factibilidad, el diseño de estrategias de calidad a largo plazo y la capacitación continua interna y externa para la socialización del impacto positivo ambiental y económico del compostaje. (Costa, García, & Hernández, 1991)

Definitivamente, resulta indispensable la organización y planificación del trabajo en cualquier sistema de manejo de desechos a fin de obtener resultados óptimos. El compostaje como alternativa de tratamiento de desechos sólidos urbanos requiere de control técnico en todas las fases y actividades del proceso: localización, infraestructura, recuperación de materia orgánica, pre-tratamiento, tratamiento, control higiénico, control de toxicidad, análisis de calidad, post-tratamiento, distribución y venta, aspectos socio-organizativos, diferentes actores, aspectos económicos y mecanismos de autogestión.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

1. El GAD de Baños de Agua Santa, Tungurahua, presenta deficiencias en cuanto a la infraestructura física, por ejemplo, áreas no bien definidas de trabajo, sin techo, sin piso.
2. El GAD de Baños presenta deficiencias tecnológicas como ausencia de control de condiciones físicas, pH, temperatura, oxígeno y humedad en el proceso de compostaje. Dicho proceso se acerca más a un compostaje artesanal.
3. No se ha creado un mercado para la compra y utilización del compost.
4. El abono orgánico del GAD de Baños de Agua Santa carece de bacterias patógenas de acuerdo al análisis microbiológico. Presente coliformes los que pueden originarse de un manejo deficiente o contaminación externa.
5. Los parámetros fisicoquímicos se encuentran dentro de los rangos de madurez y estabilidad del abono orgánico. Los niveles de metales pesados se encuentran dentro de los límites permisibles comparados con la EPA 503.
6. Al cumplir el compost los niveles microbiológicos y fisicoquímicos, se considera que la normativa EPA podría servir de base para el desarrollo de la normativa nacional.

CAPÍTULO 6

RECOMENDACIONES

1. Realizar monitoreo continuo de control de temperatura, ph y humedad relativa para determinar la maduración del compostaje.
2. Implementar una infraestructura adecuada en la planta de compostaje.
3. Determinar las proporciones y/o cantidades de residuos orgánicos como materias primas para estandarizar el contenido de macro y micronutrientes del compost.
4. Normar la calidad fisicoquímica y microbiológica de los abonos orgánicos, en especial los que provienen de residuos orgánicos municipales.
5. Controlar los procesos previos de producción así como los posteriores con el fin de evitar microorganismos dañinos contaminantes.
6. 6. Implementar manuales sobre el protocolo estandarizado del proceso y capacitar al personal acerca del manejo y mantenimiento de la inocuidad antes, durante y después del proceso de compostaje.
7. Llevar a cabo análisis de calidad rutinarios.
8. Realizar ensayos de fitotoxicidad del compost.
9. Hacer la caracterización de los lixiviados para realizar la planificación de una planta de tratamiento de lixiviados y proponer su uso práctico.

BIBLIOGRAFÍA

- Abad, M. (1998). *Limitaciones y riesgos del uso agrícola de los residuos orgánicos*. Colombia.
- Agrolanzarote. (2013). *Manual Práctico para la lombricultura*.
- Alvarez, J. (2006). *Manual de compostaje para la agricultura ecológica*.
- Benson, E. (2005). *Benso's Microbiological Applications*. Auburn Uneversity. New York-USA.
- Bidlingmaier, W. (1996). *Odour emissions from composting plants. The Sicience of composting*.
- Brechelt, A. (2004). *Manejo ecológico del suelo*. República Dominicana.
- Caffer, M., Terragno, R., & Binztein, N. (2008). *Diagnóstico y caracterización de Salmonella*.
- Castaldi, P., Alberti, G., & Melis, P. (2005). *Study of the organic matter evolution during municipal solid waste composting aimed at identifying suitable parameters for the evaluation of compost maturity*.
- Cereijo, D., Ferro, J., Villar, A., & Mato, S. (2007). *Estudio comparativo sobre la aptitud para el compostaje de la fracción orgánica de RSU separada en origen y la recuperación por separación mecánica a partir de la fracción inerte*.
- Costa, F., García, C., & Hernández, T. (1991). *Residuos Orgánicos Urbanos*. . Murcia España.
- Costa, F., García, C., Hernández, T., & Polo, A. (1991). *Resisuos orgánicos urbanos. Manejo y utilización. Consejo superior de investigaciones científicas. Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura*. Murcia-España.
- Cristales, O. (1997). *Sistema de crianza de lombriz de tierra. Alternativas de uso para el manejo de desechos sólidos. Fundación para el fomento de empresas para la recolección y tratamiento ambiental de sólidos*. El Salvador.
- Cuesta, M. (2002). *la Agricultura Orgánica y las dimensiones del desarrollo. XIII Congreso del INCA. Universidad Agraria de la Habana*. La Habana.
- Dalzell, H., Biddlestone, A., Gray, K., & Thurairajan, T. (1991). *Manejo del suelo: producción y uso del compostaje en ambientes tropicales y subtropicales*. Italia.
- Díaz, M., Jiménez, L., Cabrera, F., & De Bertoldi, M. (2004). *Using a second order polynomialsmodel to determine the optimum vinasse/grape marc ratio for vessel composting*.

- Ekinci, K., Keener, H., & Elwell, D. (2004). *Effects of aeration strategies on the composting process: Part I. Experimental studies*.
- EPA. (2013). *Environmental Protection Agency*.
- FAO. (2013). *Manual del Compostaje del agricultor*. Santiago de Chile: Chile.
- FONAG. (2010). *Fondo para la protección del agua. Manual técnico abonos orgánicos protegen el suelo y garantizan alimentación sana*. Quito-Ecuador.
- FONAG. (2013). *Fondo para la protección del agua. Manual técnico abonos orgánicos protegen el suelo y garantizan alimentación sana*. Quito. Ecuador.
- García, C. (2001). *Fertilización de los suelos y fertilización de los cultivos*. Nicaragua.
- García, P., Fernández, M., & Paredes, F. (1997). *Microbiología Clínica Aplicada*. Madrid-España.
- Golueke, C. (1977). *Biological Reclamation of solid Wastes*. Rodale Press, Emmaus. USA.
- Golueke, C., & Díaz, L. (1987). *Composting and the Limiting Factors Principle*. Biocycle. Usa.
- Gómez, D., Gonzales, M., & Chiroles, S. (2004). *Microorganismos presentes en el compost. Importancia de su control sanitario. Cub@: Medio Ambiente y Desarrollo*.
- Gómez, R. (2004). *La toxicidad de las plantas ornamentales*. Barcelona: España.
- Haug, R. (1993). *The practical Handbook of Compost Engineering*. Florida.
- Haug, R. (1993). *The Practical handbook of Compost Engineering*. Florida.
- INEN. (2009). *Normativa Técnica Ecuatoriana INEN 220: Fertilizantes y abonos muestreo*.
- INEN. (2013). *Normativa Técnica Ecuatoriana INEN 220: Fertilizantes y abonos*.
- INEN. (1996). *Normativa Técnica Ecuatoriana*.
- Jeavons, J. (2002). *Cultivo biointensivo de alimentos*.
- Jeris, J., & Regan, R. (1973). *Controlling Environmental Parameters for Optimum Composting*. USA.
- Jhorar, B., Phogat, V., & Malik, E. (1991). *Kinetics of composting rice straw with glue waste at different C/N ratios in a semiarid environment*.
- Kaas, D. (1996). *Fertilidad de los suelos*. Costa Rica.
- Kiehl, F. (1985). *fertilizantes orgánicos*. Sao Paulo: Editora Agronómica.

- Kolmas, E., & Vásquez, D. (1996). *Estiércol y compost. Manual de Agroecología Ecológica*.
- Koneman, E., Allen, S., & Janda, W. (1999). *Diagnóstico Microbiológico. Médica Panamericana*.
- Lasaridi, K., Protopapa, I., Kotsou, M., Pilidis, G., Manios, T., & Kyriacou, A. (2006). *Quality assessment of composts in the Greek market: The need for standards and quality assurance. Journal of Environmental Management*.
- Leblanc, H., Cerrato, M., Miranda, A., & Valle, G. (2007). *Determinación de la calidad de los abonos orgánicos a través de bioensayos. Tierra Tropical*, 97-107.
- Liang, C., Das, K., & McClendon, R. (2003). *The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend*.
- Madejón, E., Díaz, M., López, R., & Cabrera, F. (2001). *New approaches to establish optimum moisture content for compostable materials*.
- MAE-PNGIDS. (s.f). *Programa Nacional para la Gestión integral de los desechos sólidos*. Quito-Ecuador.
- Martinez, R. (2003). *Lombricultura: Manual Práctico*. La Habana-Cuba.
- Michel, F., Pecchia, J., & Rogot, J. (2004). *Mass and nutrient losses during the composting of dairy manure amended with sawdust or straw*.
- Miyatake, F., & Iwabuchi, K. (2006). *Effect of compost temperature on oxygen uptake rate, specific growth rate and enzymatic activity of microorganisms in dairy cattle manure*.
- Mora, B. (2013). *Control Biológico de olores en la parte pecuaria con el kit bioremediador Subtilin Pseudobio*.
- Moreno, J. (2008). *Compostaje*. España.
- Nakasaki, K., Nag, K., & Karita, S. (2005). *Microbial succession associated with organic matter decomposition during thermophilic composting of organic waste*.
- Noriega, G., & Altamirano, A. (1993). *Manual de Lombricultura*. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- Ocampo, C. (1999). *Proyecto de Factibilidad técnica económica para la producción de Humus en el altiplano de Bolivia*. Bolivia.
- Olsthoorn, A., Keltjens, W., Van, B., & Hopman, M. (1991). *Influence of ammonium on fine root development and rhizosphere pH of Douglas-fir seedlings in sand*.

- OPS. (s.f). *Organización Panamericana de la Salud*.
- Paneque, V., & Calaña, J. (2004). *Abonos orgánicos para la agricultura urbana*. La Habana.
- Peña, E. (2002). *Producción de los abonos orgánicos para la agricultura urbana*. La Habana.
- Pérez, A., Céspedes, C., & Nuñez, P. (s.f). *Caracterización de enmiendas orgánicas en cultivos agrícolas*. República Dominicana.
- Pirque, E. A. (s.f). *Manual de lombricultura y compostaje*.
- Puerta, S. (s.f). *Los residuos sólidos municipales como acondicionadores de suelos. Lasallista de investigación Vol I No1*.
- Restrepo, J., & Rodríguez, J. (2002). *El suelo, la vida y los abonos orgánicos*. Nicaragua.
- Roben, E. (2002). *Manual del compostaje para municipios*. Loja-Ecuador.
- Rodríguez, G. (2002). *Principales características y Diagnóstico de los grupos Patógenos de Escherichia coli*.
- Rodríguez, M. (2010). *Evaluación de los contenidos de metales en abonos orgánicos, sustratos y plantas*. La Habana. Cuba.
- Ruíz, C., Russian, T., & Tua, D. (2007). *Efecto de la fertilización orgánica en el cultivo de la cebolla*. *Agronomía Tropical*.
- Sánchez, J., & Zavala, J. (2003). *Fundamentos de la Microbiología Médica*.
- Sánchez, M., Roing, A., Paredes, C., & Bernal, M. (2001). *Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH. Ec and maturity of the composting mixtures*.
- Singh, C., & Amberger, A. (1990). *Humic substances in straw compost with rock phosphate*.
- Soto, M. (2003). *Abonos orgánicos: definiciones y procesos. Abonos orgánicos: principios, aplicaciones e impactos en la agricultura*. San José-Costa Rica.
- Soto, G., & Melendez, G. (2004). *Cómo medir la calidad de los abonos orgánicos. Manejo integrado de plagas y agroecología, 91-97*.
- Stuart, D. (2000). *Microbiología*. USA.
- Suler, D., & Finstein, S. (1977). *Effect of Temperature, Aeration, and Moisture on CO₂ Formation in Bench-Scale, continuously Thermophilic Composting of Solid Waste*. *Appl. Environ. Microbiol.*

- Sundberg, C. (2005). *Improving Compost Process Efficiency by Controlling Aeration, Temperature and pH*.
- Sundberg, C.; Smars, S.; Jonsson, H. (2004). *Low pH as an inhibiting factor in the transition from mesophilic to thermophilic phase in composting*.
- Tchobanogolus, G., Treisen, H., & Vigil, S. (1994). *Gestión integral de residuos sólidos*. Madrid: McGrawHill.
- Tierra, A. D. (s.f). *Manual de Compostaje*. madrid.
- Tomati, U., Madejon, E., & Galli, E. (2000). *Evolution of humic acid molecular weight as an index of compost stability*.
- Trautmann, T., & Olynciw, E. (2000). *Cornell Composting Science & Engineering*.
- Trivierge, C., & Seito, M. (2005). *Nuevas Tecnologías de Vivero en Nicaragua, bandejas y sustratos mejorados compost*. Nicaragua.
- Vansintjan, G., & Vega, E. (1992). *La materia orgánica en el suelo y la aplicación de lso abonos orgánicos*. Nicaragua.
- Vásquez, J., & Cabral, M. (2001). *La inocuidad alimentaria, realidad y reto mundial*.
- Warriner, K., & Namvar, A. (2010). *The tricks learnt by human enteric pathogens to persist within the plant environment*.
- Willey, S. W. (2009). *Microbiología de Prescott, Harley y Klein*. (séptima ed.). Barcelona-España: MacGrawHilla.
- Yanque, L. (2014). *Importancia de los abonos en la Agricultura: Revista de Investigación Universitaria*, 67-75.
- Zucconi, F., & De Bertoldi, M. (1987). *Specifications for solid waste compost*.

ANEXOS