

UNIVERSIDAD CATÓLICA SEDES SAPIENTIAE

FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA



Tratamiento biológico de residuos orgánicos provenientes del comedor universitario UCSS-Lima por una cepa de *Lactobacillus fermentum* Beijerinck aislada de la chicha de siete semillas

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AMBIENTAL**

AUTORA

Kenneth Silva Cajaleón

ASESORA

Heidi Isabel Sánchez Torres

Lima, Perú

2020

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

ACTA N° 023.- 2019/UCSS/FIA/DI

Siendo las 10.00 a.m. del día 11 de diciembre de 2019, en la Capilla del Campus Gonzáles Prada, Sede Lima - Universidad Católica Sedes Sapientiae, el Jurado de Tesis, integrado por:

- | | |
|---|-----------------|
| 1. M. Sc. Wilfredo Mendoza Caballero | Presidente |
| 2. Ing. Julián Alberto Álvarez Paredes | Primer Miembro |
| 3. Ing. Ind. Mario Antonio Anaya Raymundo | Segundo Miembro |
| 4. Mg. Heidi Isabel Sánchez Torres | Asesor |

Se reunieron para la sustentación de la tesis titulada: “**TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE RESIDUOS ORGÁNICOS PROVENIENTES DEL COMEDOR UNIVERSITARIO UCSS-LIMA POR UNA CEPA DE *Lactobacillus fermentum* Beijerinck AISLADA DE LA CHICHA DE SIETE SEMILLAS**” que presenta la bachiller en Ciencias Ambientales, la **Srta. Kenneth Silva Cajaleón** cumpliendo así con los requerimientos exigidos por el reglamento para la modalidad de titulación; la presentación y sustentación de un trabajo de investigación original, para obtener el Título Profesional de **Ingeniero Ambiental**.

Terminada la sustentación, el Jurado luego de deliberar acuerda:

APROBAR

DESAPROBAR

La tesis, con el calificativo de.....**BUENA**..... y eleva la presente Acta al Decanato de la Facultad de Ingeniería Agraria, a fin de que se declare EXPEDITA para conferirle el TÍTULO de INGENIERO AMBIENTAL.

Firmado en Lima, 11 de diciembre de 2019.

M. Sc. Wilfredo Mendoza Caballero
PRESIDENTE

Ing. Julián Alberto Álvarez Paredes
1° MIEMBRO

Ing. Ind. Mario Antonio Anaya Raymundo
2° MIEMBRO

Mg. Heidi Isabel Sánchez Torres
ASESOR

DEDICATORIA

A mi padre Noé Silva Avendaño (1958-2019).

A las comunidades campesinas y nativas, de manera que la presente investigación sea un apoyo en su labor cotidiana que es la agricultura. Asimismo, a toda persona que investigue, sea esta investigación un recurso de fin educativo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme lograr concretar esta meta.

A mi madre, Rubi Cajaleón Quedo y a mi padre, Noé Silva Avendaño por el acompañamiento y soporte en el día a día.

A mi asesora Heidi Sánchez Torres por su disponibilidad y asesoramiento.

A mis amigos y amigas de la FIA-UCSS de la Sede Lima.

A CYTED, CONCYTEC Y FONDECYT por el financiamiento del proyecto ProInfant, a cargo de la Dra. Nilda Montes Villanueva.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Índice general	v
Índice de tablas	ix
Índice de figura.....	xi
Índice de apéndices.....	xii
Resumen	xiv
Abstract.....	xvi
Introducción.....	1
Objetivos.....	3
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	4
1.1. Antecedentes	4
1.2. Bases teóricas especializadas	9
1.2.1. Producción de residuos orgánicos en el Perú	9
1.2.2. Residuos sólidos orgánicos	9
a. Clasificación según la fuente de generación.....	10
b. Clasificación según su naturaleza.....	10
1.2.3. Aplicación de los residuos orgánicos	10
a. Residuos orgánicos como biocombustible	10
b. Residuos orgánicos como abonos orgánicos	11
c. Residuos orgánicos para alimentación animal.....	11
1.2.4. Bacterias ácido lácticas	11
Características generales de las BAL	11
Metabolismo de las BAL	12
Aplicaciones de las BAL.....	15
1.2.5. El género <i>Lactobacillus</i>	15
<i>Lactobacillus fermentum</i>	16
1.2.6. Requerimientos nutricionales de las plantas	16
1.2.7. Abonos orgánicos.....	17
a. Biol.....	17
1.2.8. Fertilización foliar en las plantas	18
1.2.9. “Rabanito” <i>Rhapanus sativus</i> L.	18

1.2.10. Melaza de caña de azúcar	19
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	21
2.1. Diseño de la investigación	21
2.1.1. Lugar y fecha.....	21
2.1.2. Descripción del experimento.....	21
2.1.3. Tratamientos.....	27
2.1.4. Unidades experimentales	28
2.1.5. Identificación de variables y su mensuración	28
Aislamiento de la cepa <i>Lactobacillus fermentum</i> proveniente de la chicha de siete Semillas.....	28
Caracterización morfológica y bioquímica de una cepa de <i>Lactobacillus fermentum</i>	29
Obtención del inóculo de una cepa de <i>Lactobacillus fermentum</i>	30
Obtención del abono orgánico (biol).....	30
a. Evaluación diaria del parámetro pH en los 12 tratamientos	30
b. Preselección de los tratamientos	30
c. Evaluación diaria del parámetro pH en los tratamientos preseleccionados T1 y T8.....	30
d. Determinación de acidez titulable (porcentaje de ácido láctico)	31
e. Selección del tratamiento más eficiente	31
Análisis del parámetro físico-químico del abono orgánico obtenido de T8	32
Análisis microbiológico del abono orgánico obtenido de T8	32
Relación C/N del abono orgánico obtenido de T8	33
Evaluación de la estabilidad del abono orgánico (biol)	33
Aplicación foliar del abono orgánico (biol) en plantas de rabanito.....	33
Variables agronómicas consideradas post-cosecha de las plantas de rabanito.....	35
a. Conteo de hojas.....	35
b. Longitud de la planta	35
c. Área foliar.....	35
d. Peso del producto.....	35
2.1.6. Diseño estadístico del experimento.....	35

2.1.7. Análisis estadístico de datos.....	36
2.2. Materiales.....	36
2.2.1. Material biológico.....	36
2.2.2. Medios de cultivo.....	37
2.2.3. Reactivos.....	37
2.2.4. Equipos.....	37
2.2.5. Otros materiales.....	37
CAPÍTULO III: RESULTADOS.....	38
3.1. Aislamiento y caracterización morfológica y bioquímica de una cepa de <i>Lactobacillus fermentum</i>	38
3.2. Obtención del abono orgánico (biol).....	39
3.2.1. Caracterización físico-química de los residuos orgánicos utilizados en la obtención del abono orgánico.....	39
3.2.2. Condiciones preliminares de los insumos usados en la obtención del abono orgánico (biol).....	40
3.2.3. Determinación de la proporción óptima de los factores residuos orgánicos, inóculo y melaza de caña en los tratamientos.....	40
a. Medición del parámetro pH en los 12 tratamientos.....	40
b. Interacción entre los factores: Residuos orgánicos, inóculo y melaza de Caña.....	41
c. Análisis de varianza del parámetro pH.....	42
d. Variabilidad diaria del pH en los 12 tratamientos.....	43
e. Tratamientos preseleccionados.....	44
3.2.4. Selección del tratamiento más eficiente de los tratamientos preseleccionados T1 y T8 para la producción de abono orgánico (biol).....	44
a. Evaluación diaria del parámetro pH en los tratamientos preseleccionados T1 y T8.....	44
b. Análisis de varianza del parámetro pH de los tratamientos T1 y T8 en el quinto día.....	45
c. Variabilidad diaria del pH promedio en los tratamientos T1 y T8.....	45
d. Medición de acidez titulable de los tratamientos T1 y T8.....	46
e. Análisis de varianza de acidez titulable de los tratamiento T1 y T8 en el quinto día.....	46

f. Variabilidad diaria de la acidez titulable promedio en los tratamientos T1 y T8.....	47
g. Relación de los parámetros pH y acidez titulable	47
3.2.5. Selección del tratamiento más eficiente de los tratamientos T1 y T8.....	48
3.2.6. Análisis físico-químico del abono orgánico (biol) producido por el tratamiento más eficiente T8.....	49
3.2.7. Análisis microbiológico del abono orgánico (biol) producido por el tratamiento más eficiente T8.....	50
3.2.8. Relación Carbono/Nitrógeno del abono orgánico (biol) T8	50
3.2.9. Estabilidad del abono orgánico (biol) producido por T8	51
3.3. Aplicación del abono orgánico (biol) en plantas de rabanito.....	52
3.4. Variables agronómicas evaluadas post-cosecha de las plantas de rabanito	53
CAPÍTULO IV: DISCUSIONES	56
4.1. Identificación y caracterización morfológica y bioquímica de una cepa de <i>Lactobacillus fermentum</i>	56
4.2. Obtención del abono orgánico (biol).....	56
4.2.1. Determinación de la proporción óptima de los factores: residuos orgánicos, inóculo y melaza de caña en los tratamientos	59
4.2.2. Selección del tratamiento más eficiente de los tratamientos T1 y T8 para la producción de abono orgánico (biol)	62
4.3. Selección del tratamiento T8 como el más eficiente	64
4.4. Caracterización físico-química del abono orgánico (biol) T8.....	64
4.5. Análisis microbiológico del abono orgánico (biol) T8	65
4.6. Relación C/N del abono orgánico (biol) T8.....	66
4.7. Estabilidad del abono orgánico (biol) T8.....	67
4.8. Variables agronómicas evaluadas post-cosecha de las plantas de rabanito	67
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES	69
CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES	71
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
TERMINOLOGÍA	83
APÉNDICES	85

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. <i>Clasificación de Lactobacillus según el tipo de su metabolismo</i>	15
Tabla 2. <i>Clasificación de Lactobacillus de acuerdo a la temperatura óptima para su crecimiento</i>	16
Tabla 3. <i>Composición de la melaza de caña</i>	20
Tabla 4. <i>Identificación de bacteria perteneciente al género Lactobacillus</i>	23
Tabla 5. <i>Factores y cantidades consideradas para la transformación de residuos orgánicos en abono orgánico (biol)</i>	27
Tabla 6. <i>Tratamientos para la transformación de residuos orgánicos en abono orgánico (biol)</i>	28
Tabla 7. <i>Metodología empleadas para el análisis físico-química del abono orgánico (biol)</i>	32
Tabla 8. <i>Tratamientos de diluciones del biol para la aplicación en plantas de rabanito</i>	34
Tabla 9. <i>Caracterización físico-química de los residuos orgánicos del comedor de la UCSS-Lima</i>	39
Tabla 10. <i>Condiciones preliminares de los insumos en base a su pH</i>	40
Tabla 11. <i>Registro diario de valores pH promedio (X) y sus desviaciones estándar ($\pm DE$) de los 12 tratamientos y del control</i>	41
Tabla 12. <i>Análisis de varianza del parámetro pH en el quinto día según la variación de los 12 tratamientos</i>	43
Tabla 13. <i>Registro diario del parámetro pH (X) y sus desviaciones estándar ($\pm DE$) de los tratamientos T1 y T8 y del control</i>	44
Tabla 14. <i>Análisis de varianza del parámetro pH en el quinto día según la variación de los tratamientos T1 y T8</i>	45
Tabla 15. <i>Registro de acidez titulable promedio (X) producido por los</i>	

<i>tratamientos T1 y T8 con sus desviaciones estándar (\pm DE).....</i>	<i>46</i>
Tabla 16. <i>Análisis de varianza de acidez titulable en el quinto día de los tratamientos T1 y T8</i>	<i>46</i>
Tabla 17. <i>Cantidades de biol (L) producido por los tratamientos T1 y T8.....</i>	<i>48</i>
Tabla 18. <i>Comparación de la caracterización físico-química del abono orgánico (biol) T8 con otros tipos de bioles</i>	<i>49</i>
Tabla 19. <i>Resultado del análisis microbiológico del abono orgánico (biol) T8.....</i>	<i>50</i>
Tabla 20. <i>Cálculo de la relación Carbono/Nitrógeno</i>	<i>51</i>
Tabla 21 <i>Registro de la variación del parámetro pH del abono orgánico (biol) T8 durante 30 días</i>	<i>51</i>
Tabla 22. <i>Registro promedio del efecto del abono orgánico (biol) T8 en plantas de rabanito</i>	<i>53</i>
Tabla 23. <i>Caracterización físico-química de insumos utilizados en la elaboración del abono orgánico (biol) T8 antes de ser tratados biológicamente</i>	<i>57</i>
Tabla 24. <i>Evaluación inicial del parámetro pH de los residuos orgánicos alimenticios</i>	<i>58</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<i>Figura 1.</i> Ruta metabólica de las bacterias ácido lácticas homofermentativas	13
<i>Figura 2.</i> Ruta metabólica de las bacterias ácido lácticas heterofermentativas	14
<i>Figura 3.</i> Amplificación con el gen 16S rRNA mediante PCR	23
<i>Figura 4.</i> Flujograma de la obtención del abono orgánico (biol).....	26
<i>Figura 5.</i> Resultado del aislamiento y caracterización morfológica y bioquímica de la cepa <i>Lactobacillus fermentum</i>	38
<i>Figura 6.</i> A: Resultado de la interacción triple de los factores: residuos orgánicos, inóculo y melaza de caña. B: Resultado del efecto de la interacción triple en los tratamientos	42
<i>Figura 7.</i> Resultado de la variación diaria del parámetro pH promedio de los 12 tratamientos	43
<i>Figura 8.</i> Resultado de la variación diaria del parámetro pH promedio de los tratamientos T1 y T8	45
<i>Figura 9.</i> Resultado de la variación diaria de acidez titulable promedio de los tratamientos preseleccionados T1 y T8.....	47
<i>Figura 10.</i> Resultado de la relación de los parámetros pH promedio y acidez titulable promedio de los tratamientos T1 y T8	48
<i>Figura 11.</i> Resultado de la variación de pH del abono orgánico (biol) T8.....	51
<i>Figura 12.</i> A: Abono orgánico Biol T8 y fertilizante químico. B: Plantas de rabanito después de 20 días de haber sido sembradas	52
<i>Figura 13.</i> Plantas de rabanito previo a ser cosechadas	52
<i>Figura 14.</i> Altura media de las plantas de rabanito post-cosecha	54
<i>Figura 15.</i> Área foliar media de las plantas de rabanito post-cosecha.....	54
<i>Figura 16.</i> Peso medio del producto de las plantas de rabanito post-cosecha	55
<i>Figura 17.</i> Cantidad de hojas media de las plantas de rabanito post-cosecha.....	55

ÍNDICE DE APÉNDICES

	Pág.
Apéndice 1. Registro diario de los valores del parámetro pH de los tratamientos y sus respectivas réplicas.....	85
Apéndice 2. Prueba de normalidad del parámetro pH de los tratamientos en el día 0 y día 5	86
Apéndice 3. ANOVA de los efectos principales y de las interacciones doble y triple de los factores: residuos orgánicos, inóculo-Lac y melaza de caña.....	87
Apéndice 4. ANOVA del parámetro pH de los 12 tratamientos	88
Apéndice 5. Registro diario del parámetros pH de los tratamientos T1 y T8 y sus respectivas réplicas.....	89
Apéndice 6. Prueba de normalidad del parámetro pH de los tratamientos T1 y T8 en el día 0 y día 5	90
Apéndice 7. ANOVA del parámetro pH de los tratamientos T1 y T8	90
Apéndice 8. Registro diario de los valores de acidez titulable de los tratamientos T1 y T8 con sus respectivas réplicas.....	91
Apéndice 9. Prueba de normalidad de los valores de acidez titulable de los tratamientos T1 y T8 en el día 0 y día 5	91
Apéndice 10. ANOVA de acidez titulable de los tratamientos T1 y T8	92
Apéndice 11. Informe de Laboratorios.....	93
Apéndice 12. Cálculo de la relación Carbono/Nitrógeno de abono orgánico (biol) T8	95
Apéndice 13. Registro de valores de las variables agronómicas pos-cosecha de las plantas de rabanito	95
Apéndice 14. Prueba de normalidad de los valores de las variables agronómicas post-cosecha de las plantas de rabanito.....	96

Apéndice 15. ANOVA de los valores de las variables agronómicas post- cosecha de las plantas de rabanito.....	96
Apéndice 16. Registro fotográfico.....	99

RESUMEN

La presente investigación, tuvo como objetivo elaborar un abono orgánico a través del tratamiento biológico de los residuos orgánicos del comedor de la Universidad Católica Sedes Sapientiae (UCSS) Sede Lima, mediante un proceso fermentativo accionado por una cepa de *Lactobacillus fermentum* Beijerinck aislada de la chicha de siete semillas. Con ello, se posibilita una alternativa para reducir los impactos ambientales negativos de los residuos orgánicos de los restaurantes o comedores no tratados adecuadamente. Se aislaron varias muestras de chicha de siete semillas, de las cuales se seleccionó La Verídica [(1) 10⁻⁶ [A₁]], código que hace referencia al nombre del establecimiento comercial “La Verídica” en donde la chicha fue adquirida. La muestra presentó una caracterización morfológica bacilar y Gram positivo, en tanto la caracterización bioquímica resultó ser de catalasa y oxidasa negativa; no evidenció esporas; fermentadora de tres hidratos de carbono (lactosa, glucosa y sacarosa) sin fabricación de gas sulfuro de hidrógeno (H₂S) para la prueba de TSI (Triple Azúcar Hierro). Además, la movilidad y el citrato como única fuente de carbono resultaron ser negativos para las pruebas MIO (Movilidad Indol Ornitina) y Citrato (Medio SIMMONS) respectivamente. Se consideraron 12 tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 y T12), para ser sometidos a un proceso de fermentación activada por el *L. fermentum* por un periodo de cinco días, de los cuales se preseleccionaron los tratamientos T1 y T8. Posteriormente, se llevó a cabo un nuevo proceso de fermentación por cinco días para los tratamientos preseleccionados T1 y T8. De estos tratamientos se seleccionó T8 (350 g de residuos orgánicos, 100 g de melaza de “caña” y 100 ml de inóculo de *L. fermentum*) como el más eficiente porque evidenció un pH promedio de 3.55 ± 0.04 y acidez titulable promedio de 2.27 ± 0.09. El abono orgánico (biol) obtenido del tratamiento T8 presentó propiedades agronómicas aceptables al poseer 2 430.40 mg/L de nitrógeno (N), 244.44 mg/L de fósforo (P), 2 438.00 mg/L de potasio (K) y 168.29 g/L de materia orgánica; además de micronutrientes tales como 507.00 mg/L de Na total, 34.22 mg/L de Fe total, 0.92 mg/L de Cu total, 5.00 mg/L de Zn, 4.86 mg/L de Mn total y 2.58 mg/L de B total. También evidenció no tener coliformes fecales y totales. Asimismo, posterior a su obtención, el abono orgánico (biol) T8 mantuvo una estabilidad durante 30 días con un pH inferior a 3.70. En la aplicación foliar del biol en plantas de “rabanito” *Rhapanus sativus* L., la dilución al 0.1/100 (correspondiente al tratamiento Tr2) fue la concentración óptima en el crecimiento de la planta de rabanito. Se consideró el tratamiento Tr2 dado a que en la evaluación de variables

agronómicas post cosecha, éste reportó el desarrollo del producto con un peso superior de 16.14 g en contraste con los demás tratamientos (Tr1, Tr3, Tr4 y Trq), cuyos productos tuvieron pesos inferiores a 11.00 g.

Palabras claves: Biol, *Lactobacillus fermentum*, chicha de siete semillas, fermentación, abono orgánico.

ABSTRACT

The present investigation had objective was to elaborate an organic fertilizer through the biological treatment of organic waste of the dining room of the Catholic University Sedes Sapientiae (UCSS) Lima Headquarters through a fermentation process driven by a strain of *Lactobacillus fermentum* Beijerinck isolated from chicha de seven seeds. This allows an alternative to reduce the negative environmental impacts of organic waste from restaurants or dining rooms not properly treated. Several samples of chicha were isolated from seven seeds, from which La Verídica [(1) 10-6 [A1]] was selected, a code that refers to the name of the commercial establishment “La Verídica” where the chicha was acquired. The sample presented a bacillary and Gram positive morphological characterization, while the biochemical characterization turned out to be catalase and negative oxidase; did not show spores; three carbohydrate fermenter (lactose, glucose and sucrose) without the manufacture of hydrogen sulfide gas (H₂S) for the TSI (Triple Iron Sugar) test. In addition, mobility and citrate as the only carbon source were found to be negative for the MIO (Molecule Indol Ornithine) and Citrate (Medium SIMMONS) tests respectively. Twelve treatments (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12) were considered, to undergo a fermentation process activated by *L. fermentum* for a period of five days, of which the treatments T1 and T8 were preselected. Subsequently, a new fermentation process was carried out for five days for the preselected treatments T1 and T8. Of these treatments, T8 (350 g of organic waste, 100 g of “cane” molasses and 100 ml of *L. fermentum* inoculum) was selected as the most efficient because it showed an average pH of 3.55 ± 0.04 and average titratable acidity of 2.27 ± 0.09 . The organic fertilizer (biol) obtained from the T8 treatment had acceptable agronomic properties having 2 430.40 mg/L of nitrogen (N), 244.44 mg/L of phosphorus (P), 2 438.00 mg/L of potassium (K) and 168.29 g/L of organic matter; in addition to micronutrients such as 507.00 mg / L of total Na, 34.22 mg/L of total Fe, 0.92 mg / L of total Cu, 5.00 mg/L of Zn, 4.86 mg/L of total Mn and 2.58 mg/L of B total. He also evidenced not having fecal and total coliforms. Likewise, after obtaining it, the organic fertilizer (biol) T8 maintained a stability for 30 days with a pH lower than 3.70. In the foliar application of the biol in "radish" plants *Rhapanus sativus* L., the 0.1/100 dilution (corresponding to the Tr2 treatment) was the optimum concentration in the growth of the radish plant. The treatment Tr2 was considered because in the evaluation of post-harvest agronomic variables, it reported the development of the product with a weight greater than 16.14 g in contrast to

the other treatments (Tr1, Tr3, Tr4 and Trq), whose products had weights lower than 11.00 g.

Keywords: Biol, *Lactobacillus fermentum*, seven seed chicha, fermentation, organic fertilizer.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el aumento de la generación de los residuos sólidos que está asociado al crecimiento poblacional y a la globalización que propicia una cultura consumista, es uno de los principales problemas ambientales a nivel mundial (Ojeda, Lozano, Quinteros, Whitty y Smith, 2008; Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 2005).

En la mayoría de los países de América Latina y del Caribe, la cantidad de residuos sólidos orgánicos representa el 50 % a más del total que se disponen en los rellenos sanitarios. Tal es el caso de Perú cuyas cifras oscilan entre 50 % y 55 % (Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2005; Ministerio del Ambiente [MINAM], 2012; Ministerio del Ambiente [MINAM], 2014). De este porcentaje, entre 40 % y 45 % son producidos por los restaurantes (López y Flores, 2017; O'Farrill, 2010).

Dentro de las alternativas para un mejor manejo de estos residuos orgánicos se encuentra la producción de fertilizantes orgánicos como el biol y el compost, así como también el biogás (Capcha, 2014; Casavilca y Serrano, 2016). Otro uso de estos residuos orgánicos podría ser como materia prima para la elaboración de alimentos y/o como suplementos alimenticios para animales (Belén y Menéndez, 2002; Perez, Copacalle, Saavedra y Heredia, 2015). Asimismo, el uso de fertilizantes orgánicos en el sector agropecuario es importante, no solo porque existe una alta demanda en el consumo de alimentos orgánicos (Peralta, 2010), sino también porque su utilización ayuda a recuperar, preservar y mejorar las características de los suelos así como de la propia planta (Acosta y Peralta, 2015).

Los fertilizantes o abonos orgánicos líquidos (biol) que son elaborados con una o varias cepas de microorganismos, son utilizados de manera correctiva porque aportan mayor cantidad de nutrientes cuando se evidencia su deficiencia en las plantas. El uso preventivo se efectúa cuando el suelo donde se plantará no tiene las condiciones necesarias para el crecimiento de plantas. El biol puede usarse también como sustituto, con el fin de suplir las

necesidades del cultivo o planta, o de manera complementaria, cuando se aporta nutrientes extras en el estadio de floración de la planta. Y como estimulante, cuando son aplicados a los cultivos de alta productividad debido a los nutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio que poseen. Además, es importante porque su uso en las plantas ayuda a combatir y prevenir enfermedades aéreas de los cultivos, ya que el abono orgánico al ser aplicado al follaje, condiciona la presencia de patógenos debido a la producción de antibióticos por parte de los microorganismos presentes en el fertilizante orgánico (Ito, 2006).

Dentro de los microorganismos usados para la producción de abonos orgánicos se encuentran los *Lactobacillus*, los cuales son de mucha importancia en los cultivos porque tienen la función de suprimir la presencia de microorganismos patógenos causantes de *Fusarium*, enfermedad que debilita a la planta y la expone a la presencia de nemátodos, brindando un mejor ambiente para el crecimiento de la planta (Peralta, 2010).

La presente investigación tuvo como objetivo tratar biológicamente los residuos orgánicos del comedor de la Universidad Católica Sedes Sapientiae (UCSS) mediante un proceso fermentativo accionada por una cepa de *Lactobacillus fermentum* aislada de la chicha de siete semillas. El producto obtenido será un abono orgánico con adecuados nutrientes para las plantas, y de esta manera se posibilite una alternativa para reducir los impactos ambientales negativos de los residuos orgánicos de los restaurantes no tratados adecuadamente.

OBJETIVOS

Objetivo General

Tratar biológicamente los residuos orgánicos del comedor de la UCSS-Lima mediante la fermentación anaerobia por una cepa de bacterias *Lactobacillus fermentum* aislados de la chicha de siete semillas.

Objetivos específicos

- Aislar y caracterizar morfológica y bioquímicamente a una cepa de bacterias *Lactobacillus fermentum* aisladas del fermento de la chicha de siete semillas.
- Fermentar los residuos orgánicos del comedor UCSS mediante tratamientos compuestos por el inóculo de *Lactobacillus fermentum* y melaza de “caña”.
- Seleccionar el tratamiento más óptimo en la elaboración del abono orgánico cuyo valor de pH sea menor de 4.5, con mayor producción de ácido láctico, además de no presentar olor desagradable y no evidenciar visiblemente la presencia de mohos y levaduras.
- Realizar la caracterización físico-química y microbiológica del abono líquido o biol obtenido y calcular la relación carbono-nitrógeno (C/N).
- Aplicar el biol obtenido en la estructura foliar del rabanito y determinar la dosis óptima.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

Guccione (2009) realizó una investigación en la que elaboró alimento para cerdos a partir del tratamiento de residuos orgánicos provenientes del comedor de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú. Para ello considero 16 tratamientos con 5 replicaciones en las cuales mezclaron diferentes proporciones de residuos orgánicos, ensilado de residuos de biodiesel-ERB (generado con bacterias del género *Lactobacillus*) y melaza de caña. Estos insumos fueron dispuestos en recipientes de plástico de 1 litro, donde fueron mezclados homogéneamente y cubiertos con láminas de plástico para darle un ambiente anaeróbico. Seguidamente fueron colocados en la estufa donde permanecieron a una temperatura de 40 °C. La medición del parámetro pH fue diariamente durante seis días. El autor considero a los tratamientos que tuvieron un pH bajo (< 4.0), puesto que inhibió el crecimiento de microorganismos patógenos. La data registrada fue evaluada estadísticamente bajo un Diseño de Bloques Completos al Azar, con un arreglo factorial de 4 x 4. También aplicaron la prueba de significancia de Gabriel. Los tratamientos seleccionados fueron T11 (80 % residuos orgánicos, 10 % de ERB y 10 % de melaza), T12 (70 % residuos orgánicos, 10 % de ERB y 20 % de melaza), T15 (70 % residuos orgánicos, 20 % de ERB y 10 % melaza) y T16 (60 % residuos orgánicos, 20 % de ERB y 20 % de melaza), estos fueron analizados microbiológicamente y evidenciaron estar libres de patógenos. Sin embargo, el tratamiento T16 fue el elegido para ser considerado como alimento para cerdo debido al mayor contenido de ERB y melaza.

Ossa *et al.* (2010), evaluaron la melaza de caña como sustrato y fuente de carbono para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*, teniendo en cuenta las condiciones óptimas para dicho crecimiento. Los autores utilizaron una cepa de *L. plantarum* WS417, donada por la Universidad München, Freising (Alemania), la cual fue sembrada en agar MRS e incubada a 30 °C por 48 horas sin agitación en aerobiosis. Para ello, usaron melaza de caña en

diferentes concentraciones (5, 10, 20, 25 y 30 % p/v), compuestos químicos para ajustar el pH de todos los tratamientos y consideraron también diferentes temperaturas (25, 30 y 35 °C), de modo que después de 24 horas evaluaron el crecimiento bacteriano. La data recogida fue corrida usando el análisis de varianza factorial a través del programa Statistix 8,0. Del crecimiento evaluado en distintas concentraciones, los resultados evidenciaron que el crecimiento de la bacteria *L. plantarum* WS417 fue de 10^9 UFC/ml para las concentraciones 20 y 25 %; de 10^6 y 10^7 UFC/ml para las otras concentraciones (5, 10 y 30 %). Considerando que el recuento inicial fue de 10^2 UFC/ml. En tanto la temperatura óptima considerada para el crecimiento fue de 30 °C. Asimismo, las concentraciones de melaza del 20 y 30 % (p/v) no presentaron diferencias estadísticamente significativas, eligiéndose la del 20 % por el menor costo. La investigación permitió evaluar un subproducto de la industria azucarera, la melaza de caña, como un sustrato ideal para el crecimiento óptimo de *L. plantarum*, siendo el 20 % de concentración la que propició un mayor desarrollo microbiano incrementando las UFC en siete durante un lapso de tiempo de 24 horas.

Sánchez *et al.* (2011) aislaron y caracterizaron *in vitro* cepas de *Lactobacillus* spp. como candidata a ser probiótica. Estas fueron obtenidas de muestras vaginales de 198 mujeres sanas de la provincia de Mayabeque, Cuba. Estas muestras fueron introducidas en tubos de 5 ml de caldo MRS durante 8 horas. Posteriormente, llevaron a cabo diluciones seriadas (1/10, 1/100 y 1/1000) en solución tampón fosfato-salino (PBS), en la que sembraron 0.1 – 0.2 ml en placas Petri con agar MRS, incubadas a 37 °C en anaerobiosis mediante el uso de jarras durante un tiempo de 24 - 48 horas. Luego, seleccionaron cepas de *L. spp.* por sus características fenotípicas y por su identificación mediante pruebas bioquímicas como catalasa, indol y producción de ácido a partir de glucosa. Del proceso de sembrado obtuvieron un total de 24 cepas de *L. spp.* (Gram positivos, catalasa negativa y anaerobio facultativo), a las cuales aplicaron diferentes pruebas como: crecimiento en distintos pH (2.5, 3.4, 5.4 y 6.4) y en diferentes temperaturas (15, 30, 37 y 45 °C) durante 24 - 48 horas. De las 24 cepas seleccionaron a 9 que presentaron las mejores condiciones para ser candidatas a probióticas, a este nuevo grupo analizaron el antagonismo microbiano de la cepas mediante las siguientes pruebas: determinación de hidrofobicidad frente a solventes orgánicos, prueba de Hemoaglutinación frente a eritrocitos humano, auto-agregaron, coagregaron con *E. coli* y *C. albicans*. El resultado determinó que las cepas seleccionadas presentaron características fisicoquímicas y biológicas compatibles con un potencial uso como probiótico, esto por su

resistencia al pH ácido, buenas propiedades hidrofóbicas, hemaglutinantes, autoagregantes y con una actividad antimicrobiana.

Román (2012) realizó una investigación referida al tratamiento biológico de la cuyinaza procedente de la granja de cuyes de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú; con la finalidad de usarlo como insumo para la elaboración de biofertilizantes a través de la fermentación homoláctica. El autor consideró 16 tratamientos con diferentes proporciones de cuyinaza, melaza y consorcio de bacterias probióticas (B-lac). Estos fueron dispuestos en envases herméticos para lograr un proceso anaerobio, procediéndose a medir el pH durante 11 días para determinar el tratamiento con mejor resultado. Los tratamientos seleccionados fueron los que tenían un pH igual o por debajo de 4.50. Sin embargo, algunos tratamientos con dicho valor y los demás tratamientos fueron descartados debido a la elevada concentración de insumos, reacción tardía al proceso de fermentación, características organolépticas presentadas que no eran los más favorables y porque no evidenciaban diferencias significativas con los tratamientos seleccionados. El tratamiento elegido fue T13 (70 % de cuyinaza, 20 % de melaza y 10 % de B-lac). Posterior a la selección del mejor tratamiento (T13), calcularon el Índice de Germinación (IG) en semillas de lechuga, para ello el biol de T13 fue sometido a diluciones (10:100, 1:100, 0.1:100 y 0.01:100), siendo considerada la dilución 0.01:100 con un 99.49 % de IG. Concluyendo que la fermentación llevada a cabo por el consorcio B-lac y melaza utilizada como fuente de carbono, permitió ser una alternativa en el manejo de excretas de cuy posibilitando la producción de biol y biosol como biofertilizantes.

Mondragón *et al.* (2013) recolectaron información variada de investigaciones sobre las características antimicrobianas de las bacteriocinas, las cuales son metabolitos producidos por las bacterias ácido lácticas. El modo de acción de las bacteriocinas es actuar sobre la membrana celular, desestabilizando y permeabilizando mediante la formación de canales o poros iónicos, que van a dar salida a compuestos como fosfato, potasio, aminoácidos, ATP, de modo que disminuyen la síntesis de macromoléculas y por consecuencia la muerte celular. Una de las bacteriocinas más representativas es la nisina perteneciente a la Clase I, esta se produce de forma natural en algunos productos lácteos y se utiliza como un aditivo en la producción de alimentos con la finalidad de prevenir la descomposición ocasionadas por

bacterias Gram positivas como los géneros *Clostridium* spp., *Staphylococcus*, *Bacillus* spp. y *Listeria monocytogenes*. Asimismo, las bacteriocinas de la Clase II, su actividad bactericida es mediante la desestabilización de las funciones de la membrana celular de las células sensibles o patógena, mientras que las bacteriocinas de la Clase III promueven la lisis de la pared celular de la bacteria objetivo. En conclusión, las bacteriocinas representan un papel importante en la preservación y fermentación de los alimentos, ya que a través de su mecanismo de acción, inhiben el desarrollo de microorganismo que afectan la salud humana y animal.

Ulloa (2015) realizó un estudio sobre el efecto de tres bioles sobre el cultivo de “rábano” *Raphanus sativus* L., además de su aporte al suelo. La investigación fue llevada a cabo en la Universidad Politécnica Salesiana, Yumacay-Ecuador; y tuvo dos etapas, la primera consistió en la elaboración de bioles a partir de residuos ganaderos tales como los estiércoles de ganado vacuno, cuy y de gallina, en tanto la segunda etapa consistió en la aplicación de los bioles en diferentes dosis sobre el rabanito. Para la elaboración de bioles usó un biodigestor en la que mezclaron el estiércol junto con residuos de alfalfa y leche, además de melaza de caña y levadura. Al final del proceso realizó los análisis físico-químicos (pH, conductividad eléctrica y temperatura), y bacteriológicos del producto final obtenido del biodigestor. Posterior a su análisis preparó la tierra en la que estableció 36 parcelas de 1.20 m x 1.20 m y procedió al sembrío de 100 plantas de rabanito. Para la segunda etapa estableció tres tratamientos por triplicado, correspondiendo cada tratamiento a un tipo de biol, luego aplicó cada biol en diferentes dosis (5, 10 y 15 ml por litro de agua) a las parcelas, para luego regarlas con agua evitando el contacto directo del biol con las plantas. La aplicación del biol fue cada 10 días, aproximadamente 25 ml por planta durante 30 días. La data registrada de los tratamientos en relación al crecimiento de la planta a los 10, 20 y 30 días, fueron trabajados estadísticamente con un diseño de bloques y con un arreglo factorial de 3 x 3 x 3. También aplicaron la prueba de comparaciones múltiples Duncan. En relación a los bioles, los resultados mostraron características similares en cuanto a un pH alto (8.0 – 8.5), conductividad eléctrica alta, exceso en los valores de micronutrientes y presencia de bacterias patógenas como coliformes fecales. Asimismo, presentó tales resultados para el análisis del suelo y del propio rabanito. Al final del proceso experimental el autor concluyó que el tratamiento T2 (10 ml) y T3 (15 ml) correspondientes al biol de la gallinaza fueron los mejores que incidieron en el crecimiento, peso y tamaño del rabanito.

Peralta *et al.* (2016) realizaron un estudio sobre una nueva técnica para la obtención y caracterización de un abono orgánico líquido usando un consorcio microbiano y excretas de ganado vacuno. Este estudio fue realizado en la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú. Para ello, consideraron 25 tratamientos por triplicado con diferentes porcentajes de excreta de ganado (tratado previamente), melaza de caña y consorcio microbiano (B-lac). La mezcla de los insumos fue dispuesta en bolsas herméticas para su proceso de anaerobiosis, posteriormente procedieron a la medición de los parámetros pH, conductividad eléctrica (CE) y porcentaje de acidez titulable por un periodo de 21 días. Los tratamientos fueron tratados bajo un Diseño Completo al Azar (DCA) con un arreglo factorial 5 x 5. Asimismo, utilizaron la prueba de comparaciones múltiples Tukey ($p < 0.05$) y la prueba de Mínimos Cuadrados para hallar el efecto de interacción entre el consorcio microbiano (B-lac) y melaza. El estudio tuvo como resultado que T20 (20 % de melaza, 15 % de B-lac y 65 % de excretas tratadas), fue considerado como el mejor tratamiento dado a que registró el pH más bajo (4.02) y el valor más alto de acidez titulable en corto tiempo de 2.06 % correspondiente al ácido láctico. Además, posterior a la selección del mejor tratamiento realizaron análisis microbiológicos que reportaron estar libre de patógenos, mientras que los análisis físico-químicos dieron como resultado niveles aceptables de micronutrientes, haciendo que este producto sea una alternativa como fertilizante orgánico de interés agronómico.

Aguirre (2017) desarrolló una investigación sobre la producción de un biofertilizante a partir de estiércol de cuy, esto mediante la fermentación anaeróbica activada por una cepa bacteriana del género *Lactobacillus* aislada de la chicha de cebada. La investigación fue llevada a cabo en la Universidad Católica Sedes Sapientiae, Lima-perú. La finalidad de la investigación fue minimizar el impacto negativo que generan los estiércoles de cuy provenientes de granjas de crianza de las mismas. El autor consideró 12 tratamientos por triplicado con diferentes proporciones de estiércol de cuy, melaza e inóculo de bacterias del género *Lactobacillus* sp.; estos fueron sometidos a un proceso de fermentación y dispuestos en bolsas de polietileno de alta densidad para darle las condiciones de un proceso anaerobio. Posteriormente, hizo la medición de pH por un periodo de cinco días para la selección del mejor tratamiento. Luego del tiempo cumplido, preseleccionó tres tratamientos T1 (0.15 L de Inóculo IBL, 0.15 kg de melaza y 0.60 kg de cuyinaza); T4 (0.15 L de Inóculo IBL, 0.25 kg de melaza y 0.60 kg de cuyinaza) y T6 (0.15 L de Inóculo IBL, 0.25 kg de melaza y 0.80

kg de cuyinaza) que obtuvieron un pH menor a 4.50. Los tratamientos preseleccionados fueron sometidos a un nuevo procedimiento fermentativo por un período de cinco días para la selección del mejor tratamiento. De lo anterior, el tratamiento T4 fue el seleccionado dado a que alcanzó un pH promedio de 2.83 ± 0.15 ; además de obtener un promedio de ácido láctico titulable de 3.60 ± 0.12 . Los productos de este tratamiento, biol y biosol, presentaron considerables contenidos de macronutrientes y micronutrientes, además de no reportar presencia de bacterias perjudiciales como los coliformes y *Salmonella* sp. Asimismo, realizó un ensayo de toxicidad en semillas de lechuga, para ello el biol de T4 fue sometido a diferentes diluciones (100, 10, 1, 0.1 y 0.01 %), resultando la dilución más óptima el 0.01 % dado a que la acidez del biol no inhibió la germinación, calculándose un Índice de Germinación (IG) cercano al 100 %.

1.2. Bases teóricas especializadas

1.2.1. Producción de residuos orgánicos

En el Perú diariamente se producen aproximadamente 18 000 toneladas de residuos sólidos. De esta cantidad, 7 000 toneladas son generados en Lima y el resto en los otros departamentos del país. El 86 % de los residuos sólidos generados en Lima son derivados a los rellenos sanitarios, mientras que el 14 % va a parar a los botaderos y sitios informales (MINAM, 2012). Cabe indicar que el 52 % del total de residuos que se generan en Lima son representados por los residuos orgánicos provenientes del sector gastronómico, tales como restaurantes, comedores y de la actividad doméstica (Guailupo *et al.* , 2017).

1.2.2. Residuos sólidos orgánicos

Es la fracción orgánica del total de residuos sólidos que se generan en las zonas urbanas provenientes de restos de productos que tienen origen orgánico. Generalmente estos residuos orgánicos pueden degradar rápidamente o desintegrarse hasta transformarse en otro tipo de materia orgánica. Algunos residuos orgánicos son los siguientes: frutas y verduras, restos de comida, carne y huevos entre otros. Cabe resaltar, que el plástico, a pesar de tener su origen en un compuesto orgánico, no es considerado como residuos sólido orgánico (Jaramillo y Zapata, 2008).

La clasificación de los residuos sólidos orgánicos pueden ser los siguientes:

a. Clasificación según la fuente de generación

- Residuos sólidos orgánicos procedentes de la limpieza pública de las calles, tales como restos de frutas y papeles.
- Residuos sólidos orgánicos provenientes de instituciones.
- Residuos sólidos orgánicos de los centros de avastos (mercados), tales como restos de vegetales y frutas.
- Residuos sólidos orgánicos de origen comercial, los cuales son restos provenientes de establecimientos comerciales como tiendas y restaurantes tales como resto de comida principalmente.
- Residuos sólidos orgánicos domiciliarios, tales como restos de frutas, verduras, alimentos preparados, así como podas de jardín.

b. Clasificación según su naturaleza

- Residuos de alimentos, estos son restos de alimentos provenientes de diversas fuentes.
- Estiércol, que son restos fecales procedente de los animales transformables en fertilizantes.
- Restos de vegetales procedentes de las podas de jardines y parques, así como restos de cocina (cáscaras de fruta y vegetales).

1.2.3. Aplicación de los residuos orgánicos

Los residuos orgánicos pueden ser aprovechables cuando estos pueden ser transformados en otro producto utilizable que pueda tener un beneficio económico, social y ambiental. Los tipos de aplicación de residuos orgánicos en general se describen a continuación:

a. Residuos orgánicos como biocombustible

Los biocombustibles tales como el bioetanol y biodiesel se obtienen a partir de la biomasa proveniente de los residuos orgánicos que son transformados mediante procesos físicos, químicos y biológicos. Por ejemplo, el bioetanol se puede obtener por medio de tres procesos

diferentes. El primer proceso es la fermentación de la caña de azúcar, seguida de un proceso de destilación y secado. El segundo proceso es la segregación molecular para obtener almidón de distintas materias primas como papa, maíz y yuca, que posteriormente pasan por el proceso de fermentación y destilación. El tercer y último es la hidrólisis de la celulosa, que permite usar cualquier materia prima que contenga celulosa que luego de su obtención pasa por el proceso de fermentación y destilación (Gandulia *et al.* 2009; Jaramillo y Zapata, 2008).

b. Residuos orgánicos como abonos orgánicos

Los abonos orgánicos son producto de la descomposición o mineralización de restos orgánicos que son usados con la finalidad de mejorar las propiedades del suelo y suministrar nutrientes (macronutrientes y micronutrientes) a los cultivos (Yugsi, 2011).

c. Residuos orgánicos para alimentación animal

En las zonas rurales, una fracción de los residuos orgánicos provenientes de la preparación de alimentos o de la cosecha de cultivos (restos agrícolas), son usados para la alimentación de los animales, que en su mayoría son ganado vacuno y cerdos (Jaramillo y Zapata, 2008). Cabe indicar que en la actualidad hay investigaciones que buscan mejorar la calidad de los residuos orgánicos agregando microorganismos benéficos, de manera que el producto obtenga un mayor valor nutricional para el animal.

1.2.4. Bacterias ácido lácticas

Características generales de las BAL

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son un grupo de bacterias que tienen la forma de coco o bastón, que pueden variar en formas delgadas o largas, curvas o cortas. También son Gram positivas, de catalasa negativa, no son esporuladas y generalmente son inmóviles. Las condiciones óptimas para el crecimiento de las bacterias ácido lácticas en relación a la temperatura varía según el género y se encuentra en el rango de 20 a 45 °C, en tanto el rango de pH es entre 4.5 y 6.4 (García, 2008). Además, las bacterias de este grupo crecen anaeróbicamente, sin embargo, pueden ser tolerantes al oxígeno, por ello son considerados como anaerobios aerotolerantes (Madigan *et al.*, 2004).

Asimismo, este tipo de bacterias poseen actividad antimicrobiana que son atribuidos a los productos finales generados en la fermentación láctica, tales como, dióxido de carbono, ácidos orgánicos (ácido láctico y ácido acético, entre otros), cuya generación reduce el pH del medio e inhibe el crecimiento de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Aguirre, 2017), y la producción de bacteriocinas que son proteínas que ejercen acción antimicrobiana inhibiendo el crecimiento de microorganismos patógenos (Del Campo y Gómez, 2008; Mondragón *et al.*, 2013; Crespo, 2018).

Este grupo de bacterias comprende alrededor de 20 géneros, siendo considerados los principales los siguientes: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* y *Lactobacillus*, siendo este último el más grande de estos géneros. Asimismo, su clasificación esta basada en diversos criterios tales como el tipo de morfología que puede ser de forma coco o bacilar; por el modo de fermentar los carbohidratos pueden ser homofermentativas o heterofermentativas; según la temperatura apropiada para su crecimiento pueden considerarse mesófila o termófila; y según su tolerancia a la sal puede ser halotolerante o no (García, 2011; Aguirre, 2017). Cabe resaltar que este tipo de bacterias se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, siendo aisladas a partir de plantas, alimentos, tracto digestivo, entre otros (Ramírez *et al.*, 2011).

Metabolismo de las BAL

Las bacterias ácido lácticas obtienen su energía únicamente del metabolismo de los azúcares o glucosa. Esta energía es preservada por fosforilaciones a nivel de sustrato, vale decir, que durante la fermentación la glucosa es catabolizada para poder producir ATP (Garcés *et al.*, 2004; Campbell y Reece, 2007). Según su fermentación, las BAL pueden ser homofermentativas (Figura 1), vale decir, que producen solo ácido láctico fermentando la glucosa mediante la vía Embden-Meyerhof, y heterofermentativas (Figura 2) que producen además de ácido láctico, etanol y dióxido de carbono por medio de la vía Pentosa Fosfato (Parra, 2010; Moreno, 2012).

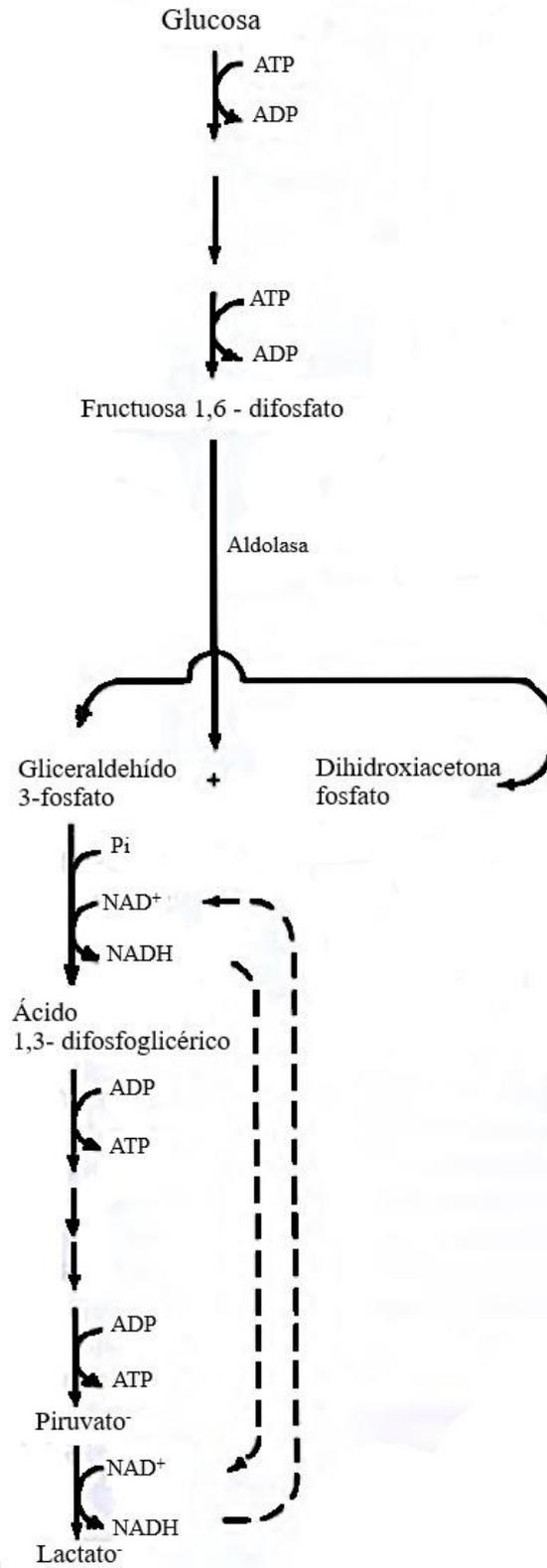


Figura 1. Ruta metabólica de las bacterias ácido lácticas homofermentativas.
Fuente: Madigan *et al.* (2004).

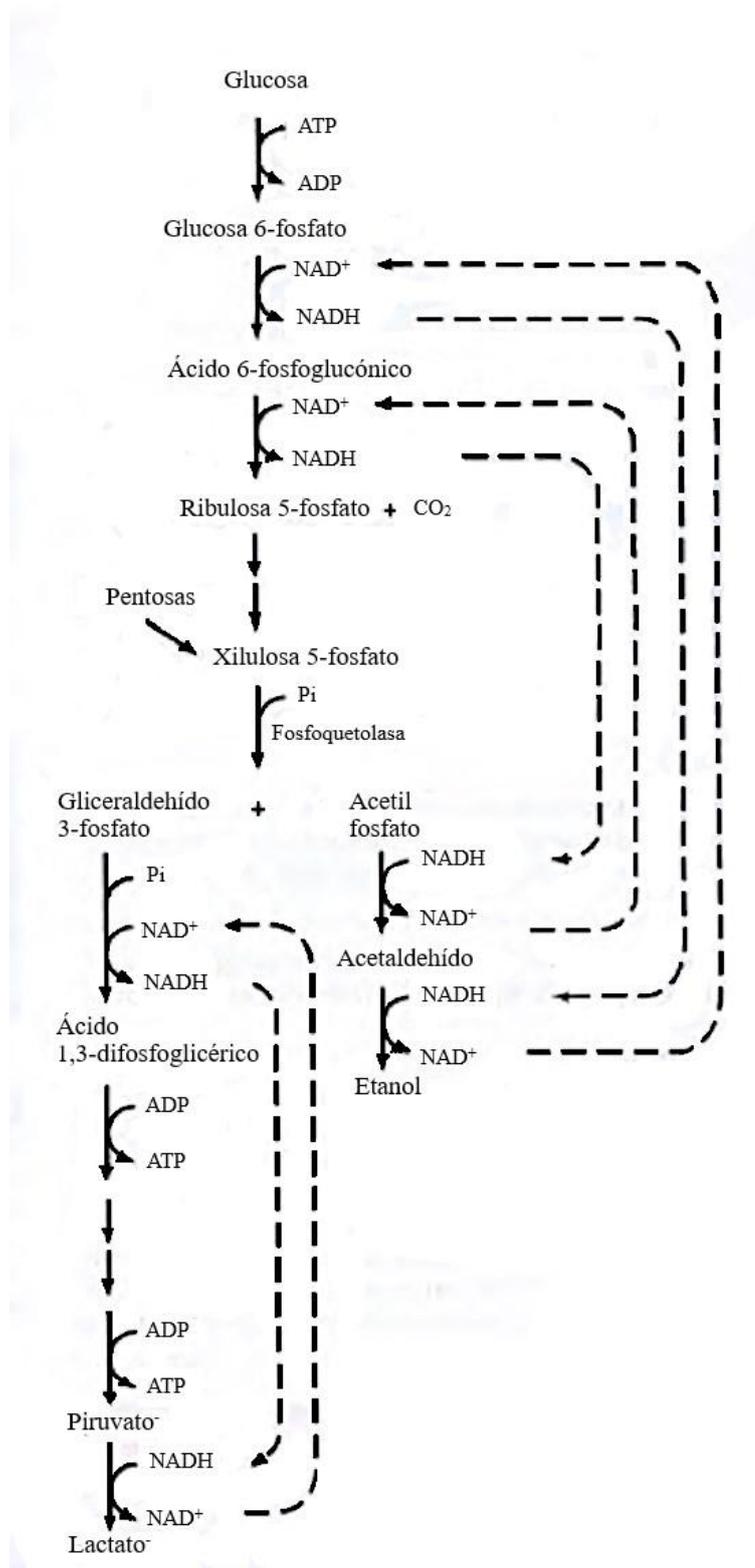


Figura 2. Ruta metabólica de las bacterias ácido lácticas heterofermentativas. *Fuente:* Madigan *et al.* (2004).

Aplicaciones de las BAL

Las BAL tienen diversas aplicaciones en la industria alimentaria, siendo los productos del proceso fermentativo de alimentos su principal aporte, ya que se obtienen quesos, yogurt, embutidos, ensilado, y otros provenientes de la fermentación de la carne, leche y vegetales. También, contribuyen en la preservación de los alimentos, aportando significativamente en la mejora de sus características sensoriales como el sabor, olor y textura, además de mejorar su calidad nutritiva (Parra, 2010; Ramírez *et al.*, 2011). Asimismo, algunas BAL son seleccionadas para ser utilizadas en la elaboración de inoculantes microbianos, con el fin de dominar y controlar la fermentación por una posible sobrepoblación de otras bacterias no deseadas (Aguirre, 2017; Contreras y Musk, 2006).

1.2.5. El género *Lactobacillus*

Los *Lactobacillus* presentan morfología bacilar con longitud y grosor variado, no forman esporas, son inmóviles, no reducen nitrato, son catalasa negativa y oxidasa negativa. La temperatura óptima para su crecimiento se encuentra en el rango de 30 a 40 °C (Moreno, 2012). Además, la mayoría de las bacterias de este género son facultativos o microaerófilos y producen ácido láctico como principal producto de fermentación. Los *Lactobacillus*, de acuerdo a su metabolismo, se dividen en tres grupos (Tabla 1).

Tabla 1

Clasificación de Lactobacillus según el tipo de su metabolismo

Grupo	Tipos de bacterias
Grupo I: Homofermentativos estrictos	<i>L. delbrueckii</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. salivarius</i> .
Grupo II: Heterofermentativos facultativos	<i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. sakei</i> .
Grupo III: Heterofermentativos estrictos	<i>L. brevis</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. buchneri</i>

Fuente: García (2008).

Asimismo, de acuerdo a la temperatura de crecimiento, los *Lactobacillus* pueden dividirse en dos grupos (Tabla 2).

Tabla 2

Clasificación de Lactobacillus de acuerdo a la temperatura óptima para su crecimiento

Temperatura óptima	Tipos de bacterias
Termófilos: Temperatura óptima: 37-45 °C	<i>L. bulgaricus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. fermentum</i> .
Mesófilos: Temperatura óptima: 30-37 °C	<i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. sakei</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. fermentum</i> .

Fuente: García (2008)

Lactobacillus fermentum

Este tipo de bacterias se encuentra en una gran variedad de hábitads tales como productos lácteos, productos fermentados tradicionalmente, vegetales y frutas fermentadas (Dan *et al.*, 2015). En el Perú, *Lactobacillus fermentum* se ha encontrado en bebidas típicas fermentadas tales como la chicha de jora (Todorov y Holzapfel, 2015) y chicha de masato (Sedano, 2006), lo que indica que posiblemente se encuentre en otras bebidas fermentadas poco conocidas en el interior del país como la chicha de siete semillas usada en la presente investigación.

1.2.6. Requerimientos nutricionales de las plantas

Las plantas requieren de nutrientes esenciales como los minerales, que incluyen a los macro nutrientes (N, P, K, Ca, S y Mg) y micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, B, Cl y Ni), y los no minerales que incluyen a los elementos H, O y C. Cabe resaltar que el requerimiento de estos elementos depende del tipo de planta que se quiera cultivar (Peralta, 2010).

Del grupo de los macronutrientes mencionados *supra*, los tres primeros son considerados como los más importantes. El nitrógeno está presente en la planta en forma de compuestos orgánicos moleculares como las aminas, aminoácidos y otros compuestos que influyen en el

desarrollo de la fotosíntesis; el fósforo forma parte de los ácidos nucleicos y participa en diversas reacciones bioquímicas relacionadas con el metabolismo de la planta; y el potasio interviene en la regulación de la presión osmótica, síntesis de proteínas y en la transferencia de carbohidratos entre las distintas partes de la planta.

1.2.7. Abonos orgánicos

Los abonos orgánicos son considerados como “sustancias” dado que pueden estar constituidos de diversos residuos de origen vegetal, animal o mixto. Estos son añadidos al suelo directa o indirectamente con el fin de mejorar sus características físico-químicas y biológicas. Asimismo, existen diferentes tipo de abonos orgánicos sólidos y líquidos tales como los siguientes: compost, lombri compost, *bokashi*, té de compost y extracto de algas; así como también el uso de microorganismos junto con la materia orgánica para la obtención de biofertilizantes sólidos como el biosol y líquidos como el biol (Román, 2012). Estos microorganismos son llamados “microorganismos eficientes” (EM), que al ser agregados a la materia orgánica y mediante la fermentación anaeróbica transforman la materia orgánica como alternativa de biofertilizante (Aguirre, 2017).

a. Biol

El biol es un fertilizante o abono orgánico (líquido) producido a partir de la fermentación anaerobia de la materia orgánica constituido por residuos de origen vegetal como resto agrícolas y restos vegetales de cocina, entre otros; y/o residuos de origen animal tales como las excretas o estiércoles (Aguirre, 2017; Peralta, 2010). Asimismo, es considerado como un fitorregulador, dado a que en pequeñas cantidades estimula el desarrollo de la planta en relación a su enraizamiento, incremento de de biomasa (radicular y foliar), floración y poder germinativo de la semilla (Siura *et al.*, 2016).

En relación a las concentraciones del biol para su posterior aplicación en las plantas, según Siura *et al.* (2009) varían entre los valores 10 y 100 %, con una aplicación promedio de tres a seis veces por ciclo de cultivo. Mientras que para Siura *et al.* (2016) las concentraciones de biol pueden variar entre 25 y 75 % con una aplicación promedio de tres a cinco veces durante la ciclo de cultivo. En tanto, para Santamaría (2009) las concentraciones pueden

variar entre 1 y 10 % con una aplicación promedio de tres a cuatro aplicaciones por ciclo de cultivo. Cabe resaltar que tanto la determinación de la concentración y aplicación del biol varía no solo por el tipo de cultivo, sino también por los insumos usados en la elaboración del biol (Barrios, 2001).

1.2.8. Fertilización foliar en las plantas

La fertilización foliar es la aplicación de nutrientes a las plantas a través de sus hojas, según Trinidad y Aguilar (1999). La fertilización foliar contribuye en la calidad y en el rendimiento de las cosechas cuando existen problemas en la fertilización del suelo (sequía y temperatura extrema del suelo, entre otros), o cuando los requerimientos nutricionales brindados por el suelo hacía la planta son limitadas.

Asimismo, la absorción de nutrientes a nivel foliar en la planta es más rápida en comparación a la que se da a través de la raíz (Aguirre, 2017; Peralta, 2010). Esta absorción rápida se debe dado a que la hoja presenta condiciones para la incorporación inmediata de los nutrientes a los fotosintatos, así como en el transporte de éstos a los lugares que más demanda hay en la planta (Trinidad y Aguilar, 1999).

1.2.9. “Rabanito” *Raphanus sativus* L.

El “rabanito” o “rábano” *Raphanus sativus* L., considerada como hortaliza, es una planta que se caracteriza por tener la raíz gruesa y pulposa que varía en forma y tamaño, y su fruto puede ser de color rojo, rosado o blanco dependiendo de la variedad. Asimismo, sus hojas son basales, pecioladas y de lámina lobulada que posee de uno a tres pares de segmentos laterales con bordes dentados. Su ciclo productivo es relativamente corto, pero puede variar entre 20 y 70 días según el tipo de rábano. También puede desarrollarse en climas donde la temperatura varíe entre 18 y 22 °C. Además, puede adaptarse a cualquier tipo de suelo como los suelos profundos, arcillosos, neutros e incluso puede tolerar suelos cuyo pH este entre 5.5 y 6.8 (Mamani, 2015; Criollo y García, 2009).

1.2.10. Melaza de caña de azúcar

La melaza de caña es un subproducto de la fabricación de azúcar, este subproducto concentra entre 70 - 75 % de materia seca, del cual el 65 % es azúcar. Además, contiene de 2 - 4 % de proteína en forma de nitrógeno no proteico (Basantes, 2015). La melaza de caña es usada ampliamente como alimento para animales, sin embargo, también es considerada como fuente de carbono en las diversas fermentaciones, tales como las que se llevan a cabo en el proceso de ensilaje. Las proporciones usadas varían en el rango de 2 - 10 % de peso (Sumba, 2015).

Tabla 3 *Composición de la melaza de caña*

Componente	Constituyente	Contenido
Datos físicos y químicos	Materia seca	76.5 %
	Agua	23.5 %
	Materia orgánica	62.5 %
	Cenizas	16.0 %
	Relación C:N	27 aprox.
	Energía	2 350 Cal/kg
	Brix	86 grados
	Densidad	1.41 kg/L
	pH	4.9 – 5.4
Cantidad de Minerales	Calcio	0.80 %
	Fósforo	0.08 %
	Potasio	4.20 %
	Cloro	2.10 %
	Magnesio	0.27 %
	Azufre	0.78 %
	Sodio	0.09 %
	Cobre	14 ppm
	Hierro	130 ppm
	Manganeso	5 ppm
Cantidad de Carbohidratos	Zinc	8 ppm
	Azúcares totales	48.30 %
	Azúcares reductores	11.50 %
	Sacarosa	35.90 %
	Fructuosa	5.60 %
Cantidad de Proteínas y aminoácidos	Glucosa	2.60 %
	Proteína bruta	4.30 %
	Nitrógeno	1.01 %
	Lisina	200 ppm
	Metionina	200 ppm
	Metionina + cistina	400 ppm
	Treonina	500 ppm
	Triptófani	200 ppm
	Isoleucina	400 ppm
	Valina	700 ppm
Cantidad de Vitaminas	Biotina (B8)	3 ppm
	Ácido fólico (B9)	0,04 ppm
	Inositol	6000 ppm
	Pantotcnato de calcio (B5)	60 ppm
	Piridixona (B6)	4 ppm
	Riboflavina (B2)	2.5 ppm
	Tiamina (B1)	1.8 ppm
	Niacina (B3)	500 ppm
Colina	700 ppm	

Fuente: Aldón (2008)

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Diseño de la investigación

La presente investigación tiene un enfoque cuantitativo porque abordó un conjunto de procesos en la que se recolectó y analizó datos para probar la hipótesis. El diseño de la investigación fue experimental con un alcance explorativo-descriptivo (Gómez, 2006).

2.1.1. Lugar y fecha

La investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología de la Universidad Católica Sedes Sapientiae Lima – UCSS durante el mes de octubre del 2017 hasta el mes de marzo del 2018.

2.1.2. Descripción del experimento

Aislamiento de una cepa de bacterias *Lactobacillus fermentum*

Las bacterias ácido lácticas del género *Lactobacillus* se aislaron de las muestras de la chicha de siete semillas, bebida típica fermentada, provenientes de la ciudad de Huanta-Ayacucho. Esta cepa fue obtenida por parte del proyecto ProInfant: “Alimentos vegetales con funcionalidad probiótica para poblaciones infantiles desnutridas”- perteneciente al Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). La muestra considerada en la investigación fue codificada como “La Verídica (1) 10⁻⁶ [A₁]”, dicho código hace referencia al nombre del establecimiento comercial “La Verídica” en donde fue adquirida la chicha de siete semillas.

Caracterización morfológica y bioquímica de una cepa de bacterias *Lactobacillus fermentum*

La caracterización morfológica de las colonias aisladas fueron mediante tinción de Gram, además, se realizaron las pruebas bioquímicas (catalasa y oxidasa) y esporulación para descartar que sean bacterias del género *Bacillus* (Rodríguez, 2009; Ortiz, 2006; Cabrera, 2007). Así como también, se realizaron las pruebas TSI (Triple Azúcar Hierro), MIO (Movilidad Indol Ornitina) y Citrato (Medio SIMMONS).

Identificación molecular de la cepa utilizada

Es necesario indicar que al inicio de la investigación, no se conocía la especie de las bacterias ácido lácticas pertenecientes al género *Lactobacillus* presentes en la chicha. Sin embargo, antes de culminar la investigación se llevo a cabo la identificación molecular de la cepa presente en la muestra (“La Verídica (1) 10^{-6} [A₁]”) seleccionada, esto fue posible dada la participación en el proyecto ProInfant: “Alimentos vegetales con funcionalidad probiótica para poblaciones infantiles desnutridas”- perteneciente al Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED).

La identificación de la cepa fue realizada en el Laboratorio de la *Università Cattolica del Sacro Cuore* (UCSC), Piacenza, Italia. Cabe resaltar que el proceso de identificación se realizó a todas las cepas aisladas de las diferentes muestras de chicha de siete semillas del proyecto ProInfant, entre ellas, la cepa utilizada en la presente investigación. Esta identificación se dio mediante técnicas moleculares. Primero se empleó la técnica RAPD-PCR con el uso de dos cebadores universales: M13 y RAPD2 (Fontana *et al.*, 2005), con la finalidad de conocer la diferenciación entre especies y cepas. Luego se llevó a cabo una amplificación con el gen 16S rRNA para determinar la especie de la cepa. Para esta técnica se usaron los cebadores P0 y P6 (Patrone *et al.*, 2016).

El resultado de la amplificación con el gen 16S rRNA mediante PCR realizada en el laboratorio de la UCSC se muestra en la Figura 3, en la que los productos obtenidos fueron purificados y cuantificados con el Marker II.

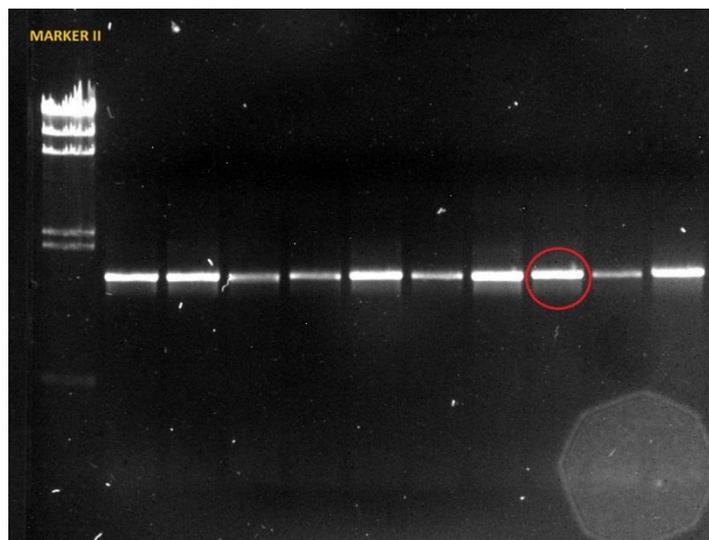


Figura 3. Amplificación con el gen 16S rRNA mediante PCR. Fuente: Proyecto ProInfant

Posteriormente, tales productos fueron secuenciados en el laboratorio de BMR genomics (BMR Genomics, Italia). Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4

Identificación de bacteria perteneciente al género *Lactobacillus*

Nombre de la muestra	Identificación molecular de la cepa
(1)La Verídica 10 ⁻⁶ – [A ₁] C/A	<i>L. fermentum</i>

Fuente: Elaboración propia a partir del Proyecto ProInfant

La Tabla 4 indica que la bacteria ácido láctica aislada de la chicha de siete semillas fue identificada como *Lactobacillus fermentum*.

Obtención del inóculo de una cepa de *Lactobacillus fermentum*

El inóculo se obtuvo de una cepa de bacterias *Lactobacillus fermentum* “La Verídica (1) 10⁻⁶ [A₁]”, previamente cultivada en caldo MRS, del cual el 10 % fue mezclado con melaza de “caña” al 20 % (p/v) (Ossa *et al.*, 2010).

Obtención del abono orgánico

El abono orgánico se obtuvo a través de la fermentación de los residuos orgánicos del comedor de la UCSS mediante la activación de las bacterias *Lactobacillus fermentum* en

presencia de melaza de “caña” de acuerdo a los tratamientos establecidos en la Tabla 6. La medición de pH se realizó diariamente por un periodo de cinco días. Se consideró este lapso de tiempo porque según Román (2012), Meza del Aguila (2014) y Aguirre (2017) lograron un $\text{pH} \leq 4.5$ al quinto día de iniciado el proceso de fermentación de residuos orgánicos para la elaboración de biol. Posteriormente, se seleccionó dos de los 12 tratamientos dado a que presentaron valores menores de pH (< 4.5), olor agradable y visiblemente ausencia de mohos. Se consideró pertinente llevar a cabo nuevamente el procedimiento de la fermentación para seleccionar de ellos el tratamiento más óptimo.

Análisis físico-químico y microbiológico del abono orgánico (biol)

La caracterización físico-químico se realizó al biol obtenido con el fin de determinar la presencia de nutrientes que sean de utilidad en el ámbito agrario. Este se analizó en LASPAF (Laboratorio de Análisis de Suelo, Plantas, Aguas y Fertilizantes) de la Facultad de Agronomía de la UNALM. Mientras que el análisis microbiológico se llevó a cabo en el laboratorio “Marino Tabusso” (Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología) de la UNALM, para descartar la presencia de microorganismos patógenos tales como coliformes totales y fecales.

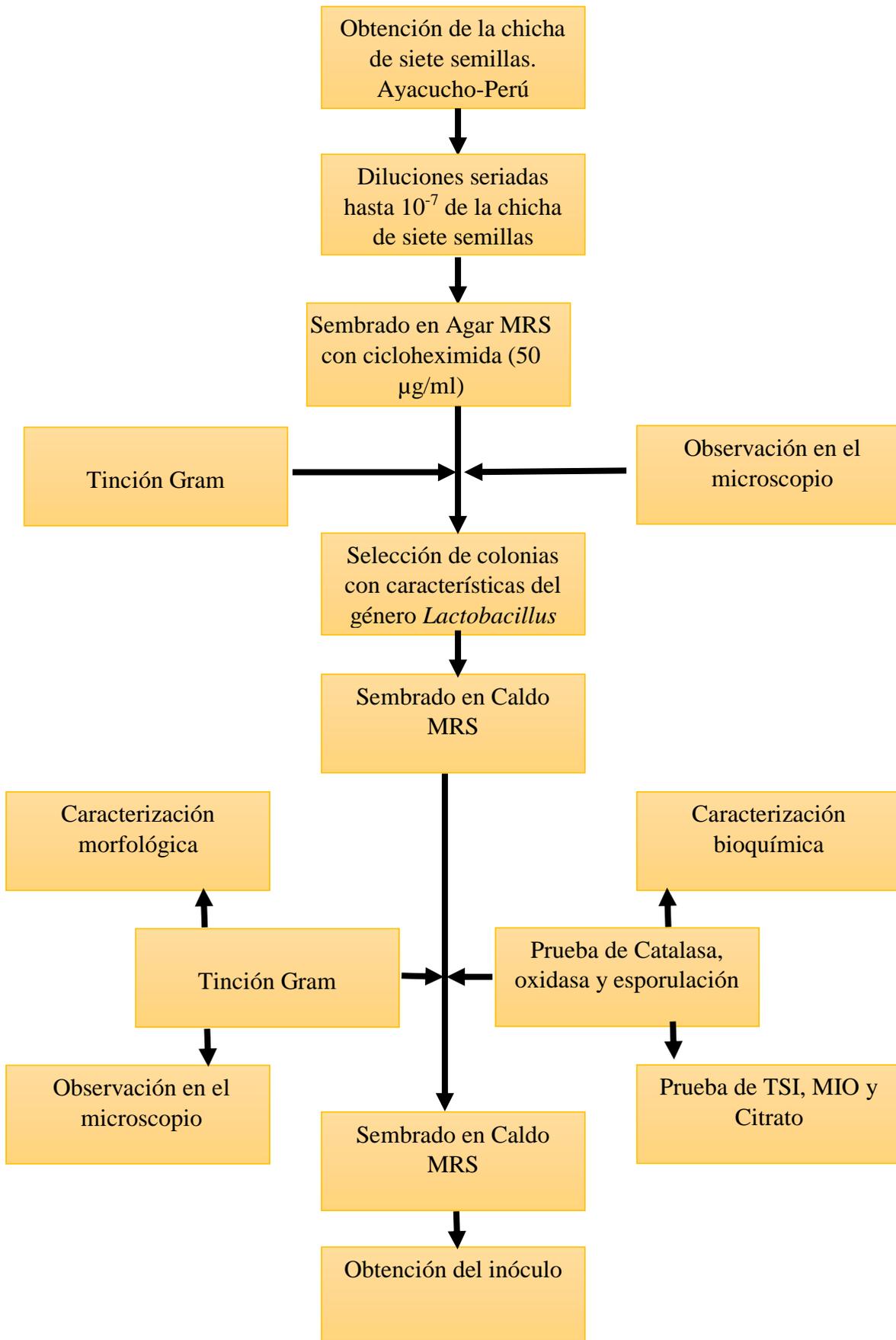
Aplicación del biol obtenido en plantas de rabanito

El biol obtenido por fermentación fue diluido en diferentes concentraciones para ser aplicado en plantas de rabanito a nivel de macetas y así llegar a conocer la dilución más óptima para la planta. Cabe mencionar que esta aplicación fue en las hojas, vale decir, de manera foliar.

VARIABLES agronómicas consideradas después de la cosecha de la planta de rabanito

Se consideró para la selección del mejor tratamiento en el rabanito las siguientes variables agronómicas: Conteo de hojas, longitud de la planta y área foliar (Lara *et al.*, 2011; Mamani, 2015; Bailón *et al.* 2007).

El diagrama de flujo de la descripción del experimento se presenta en la Figura 4.



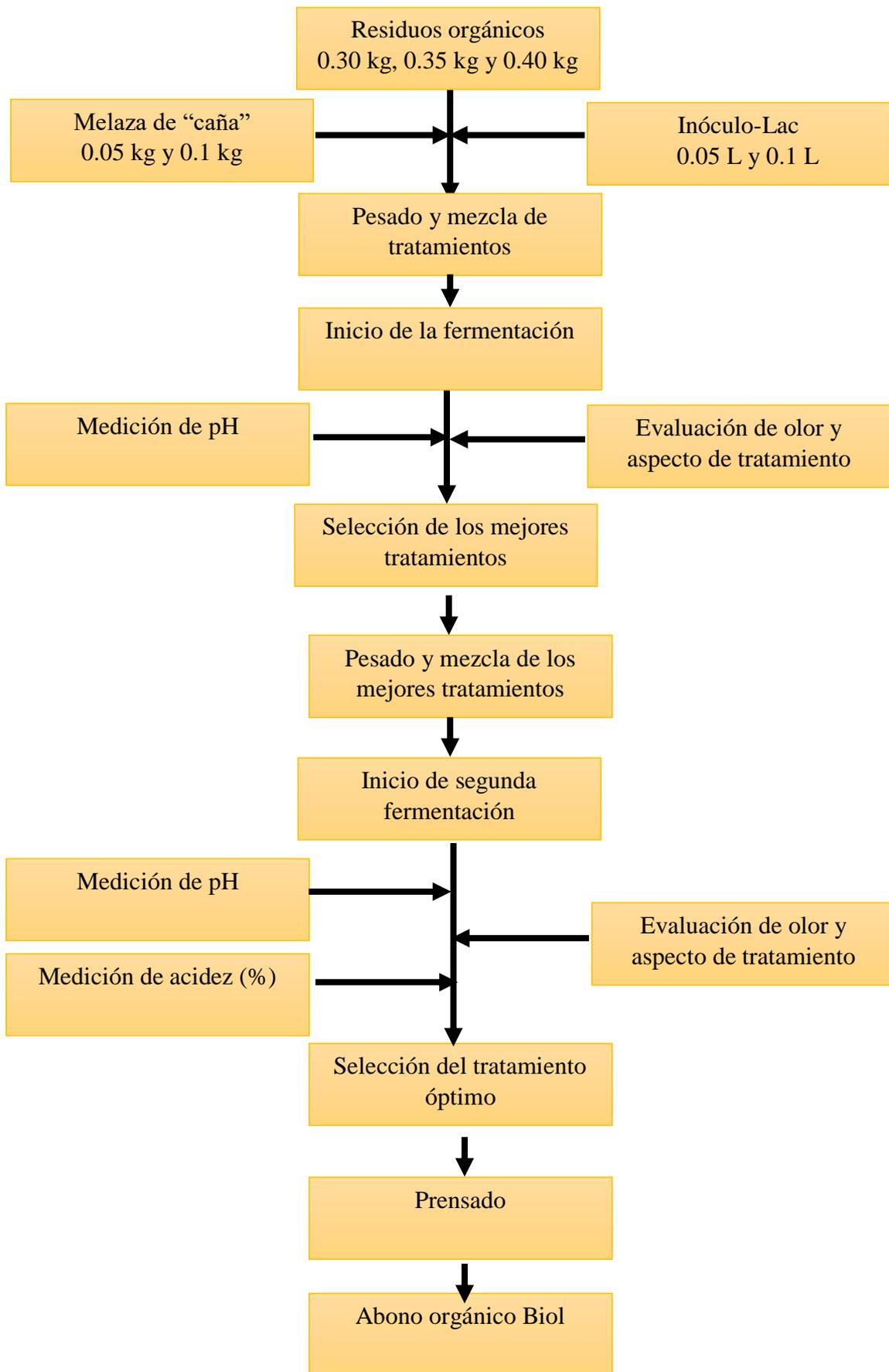


Figura 4. Flujograma de la obtención del abono orgánico (biol)

2.1.3. Tratamientos

Los residuos orgánicos fueron recolectados del comedor de la UCSS en recipientes de plástico de 40 Litros, se homogenizó y se separaron los restos sólidos y otros restos que no eran considerados como residuos orgánicos. Considerandose solo restos de vegetales y frutas.

Los factores considerados en la presente investigación fueron tres: residuos orgánicos (1), melaza de “caña” (2) y Inóculo de *Lactobacillus fermentum* (3), los cuales se muestran en la Tabla 5 con sus respectivas cantidades suministradas.

Tabla 5

Factores y cantidades considerados para la transformación de residuos orgánicos en abono orgánico (biol)

Nombre del factor	Niveles		
1:Residuos orgánicos	1 _a : 0.30 kg	1 _b : 0.35 kg	1 _c :0.40 kg
2:Melaza de “caña”	2 _a :0.05 kg	2 _b :0.10 kg	
3:Inóculo de <i>Lactobacillus fermentum</i> (Inóculo-Lac)	3 _a :0.05 L	3 _b :0.10 L	

Fuente: Elaboración propia a partir de Guccione, 2009 y Aguirre, 2017.

Los tratamientos de esta investigación experimental se indican en la Tabla 6, y para cada uno se consideró tres réplicas. Los insumos (residuos orgánicos, melaza de “caña” e inóculo-Lac), se incorporaron en bolsas plásticas de polietileno de alta densidad y fueron cerradas herméticamente con rafia para darle un ambiente anaeróbico y pueda llevarse a cabo la fermentación activada por las bacterias del género *Lactobacillus fermentum*. Posteriormente, las unidades experimentales fueron dispuestas dentro de una caja de tecnopor con el fin de que se genere una temperatura homogénea.

Tabla 6

Tratamientos para la transformación de residuos orgánicos en abono orgánico (biol)

Tratamientos	Combinación	Residuos orgánicos (kg)	Melaza de “caña” (kg)	Inóculo-Lac (L)
T0	Control	0.50	0	0
T1	1 _a 2 _a 3 _b	0.30	0.05	0.1
T2	1 _b 2 _a 3 _b	0.35	0.05	0.1
T3	1 _c 2 _a 3 _b	0.40	0.05	0.1
T4	1 _a 2 _a 3 _a	0.30	0.05	0.05
T5	1 _b 2 _a 3 _a	0.35	0.05	0.05
T6	1 _c 2 _a 3 _a	0.40	0.05	0.05
T7	1 _a 2 _b 3 _b	0.30	0.1	0.1
T8	1 _b 2 _b 3 _b	0.35	0.1	0.1
T9	1 _c 2 _b 3 _b	0.40	0.1	0.1
T10	1 _a 2 _b 3 _a	0.30	0.1	0.05
T11	1 _b 2 _b 3 _a	0.35	0.1	0.05
T12	1 _c 2 _b 3 _a	0.40	0.1	0.05

Fuente: Elaboración propia a partir de Guccione, 2009 y Aguirre, 2017.

2.1.4. Unidades experimentales

En la investigación se consideraron un total de 45 unidades experimentales, las cuales estuvieron conformadas por bolsas de poliestileno de alta densidad cuyas dimensiones fueron de 30 x 40 cm, dentro del cual se mezclaron los residuos orgánicos del comedor UCSS (Cáscaras de frutas, restos de vegetales y hortalizas), la melaza de “caña” de azúcar y el inóculo de bacterias lácticas. Para la preselección se utilizaron 39 unidades experimentales, vale decir, 12 tratamientos más un control con sus respectivas réplicas según lo indicado en la Tabla 6. En tanto para la selección del tratamiento óptimo se utilizaron seis unidades experimentales.

2.1.5. Procedimiento experimental e identificación de variables y su mensuración

Aislamiento de la cepa *Lactobacillus fermentum* proveniente de la chicha de siete semillas

Las bacterias ácido lácticas del género *Lactobacillus* se aislaron de las muestras de la chicha de siete semillas, bebida típica fermentada, provenientes de la ciudad de Huanta-Ayacucho.

El aislamiento se llevó a cabo mediante la técnica de diluciones sucesivas a partir de una muestra de 10 ml en 90 ml de agua peptonada, de esta primera dilución ($1/10 = 10^{-1}$) se realizó diluciones seriadas hasta 10^{-7} , considerándose las diluciones de 10^{-3} hasta 10^{-7} . De cada dilución obtenida se tomó 1 ml para ser sembrado en el medio de cultivo selectivo agar MRS al que previamente se le aplicó cicloheximida ($50 \mu\text{g/ml}$), para inhibir el crecimiento de levaduras y mohos en las placas Petri (Rodríguez, 2011 y Díaz, 2012), esta dilución se expandió con un asa de Drigalsky. Posteriormente, las placas sembradas se colocaron dentro de frascos herméticos y para generar un ambiente anaeróbico se colocó una vela hasta la extinción con la finalidad de eliminar el oxígeno presente en el frasco. A continuación, este se incubó a una temperatura de $32 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48-72 horas (Aguirre, 2017). Las placas seleccionadas se sembraron por estría en el medio selectivo agar MRS en las mismas condiciones que las anteriores. De estas placas se seleccionó una placa cuyo nombre fue La Verídica [$(1) 10^{-6} [A_1]$], de este se realizó un último seleccionamiento de colonias para luego ser cultivadas en caldo MRS, de la cual se consiguió el aislamiento de la cepa de bacterias *Lactobacillus fermentum* que se usó posteriormente para la obtención del inóculo.

Caracterización morfológica y bioquímica de una cepa de bacterias de *Lactobacillus fermentum*

La cepa aislada se caracterizó morfológicamente de modo macroscópica teniendo en cuenta la forma de las colonias a simple vista; además, se tomó en cuenta la coloración característica que presentan las bacterias del género *Lactobacillus*. Mientras que microscópicamente, la caracterización se realizó mediante tinción gram para diferenciar las bacterias Gram positivas de las Gram Negativas (Aparicio, 2016). Para la caracterización bioquímica se realizaron las pruebas bioquímicas de catalasa y oxidasa y la prueba de esporulación (técnica de Shaeffer Fulton) para descartar que sean bacterias del género *Bacillus* (Rodríguez, 2009; Ortiz, 2006; Cabrera, 2007). De igual manera se realizaron las pruebas TSI (Triple Azúcar Hierro), MIO (Movilidad Indol Ornitina) y Citrato (Medio SIMMONS). La primera prueba fue para señalar si las bacterias aisladas tienen la capacidad de realizar fermentación de glucosa, sacarosa y lactosa, así como la producción de H_2S ; la segunda prueba fue para indicar si pertenecen a otro género diferente al *Lactobacillus*, y la tercera prueba para determinar si realizan fermentación utilizando otra fuente que no sea hidrato de carbono, tal como el citrato (Bailón *et al.*, 2003; Madrid, 2013; Mantilla y Portacio, 2012).

Obtención del inóculo de una cepa de *Lactobacillus fermentum*

Se preparó un inóculo mezclando el 10 % de la cepa de *Lactobacillus fermentum* obtenida con la melaza de “caña” de azúcar adquirida de la Universidad Nacional Agraria La Molina, la cual se diluyó previamente en agua destilada en una concentración de 20 % (p/v) (Ossa *et al.*, 2010). El inóculo de *L. fermentum* (Inóculo-Lac) obtenido se guardó herméticamente en recipientes de plástico durante un período de 15 días para luego ser usado en la obtención del abono orgánico.

Obtención del abono orgánico

a. Evaluación diaria del parámetro pH de los 12 tratamientos

Los 12 tratamientos fueron sometidos a la evaluación de pH se dio por un periodo de 5 días consecutivas. Esto fue mediante el uso de un pH-metro digital el cual fue calibrado previamente con soluciones buffer (pH 4 y pH 7) antes de empezar con las mediciones. La medición se realizó a la dilución de 10 g cada tratamiento, previamente homogenizado, en agua destilada contenida en un recipiente, en el que se le introdujo el pH-metro digital para la medición (Aguirre, 2017).

b. Preselección de los tratamientos

Dado a que los 12 tratamientos presentaron valores de $\text{pH} < 4.5$, se consideró tomar en cuenta el olor y la ausencia de mohos. Frente a estos criterios, los tratamientos T1 y T8 cumplieron con estos requisitos. Por esta razón, se realizó un nuevo procedimiento de fermentación para seleccionar entre los tratamientos T1 y T8 al más óptimo.

c. Evaluación diaria del parámetro pH de los tratamientos preseleccionados T1 y T8

Los tratamientos T1 y T8 fueron llevados a un nuevo proceso fermentativo. Se consideraron las mismas proporciones referidas en la Tabla 6. Al igual que en la fermentación inicial, en este nuevo proceso se realizó la medición del pH por un período de 5 días.

d. Determinación de acidez titulable (porcentaje de ácido láctico)

La medición del porcentaje de acidez titulable se aplicó a los tratamientos preseleccionados T1 y T8, esta medición permitió cuantificar la producción de ácido láctico generada por la fermentación. Se utilizó el método de titulación alcalimétrica para medir la acidez, en donde la sustancia alcalina será el NaOH 0.1 N y como indicador se usó fenolftaleína. El método para medir la acidez es a través de una titulación alcalimétrica con NaOH 0.1 N, utilizando fenolftaleína como indicador. Los procesos a seguir están establecidos por la AOAC (1998). Se realizarán los cálculos de la acidez presente en la muestra, expresada mediante la fórmula de ácido láctico titulable (Aguirre, 2017; Román, 2012).

$$\text{Porcentaje de ácido láctico titulable (\%)} = \frac{(G)(N)(0.09)(100)}{m}$$

Donde:

G: Mililitros (ml) de solución de NaOH 0.1 N gastados en la titulación

N: Normalidad de la solución de NaOH

m: Masa de la muestra en (g)

Para el cálculo del porcentaje de ácido láctico titulable, se considera que 1 ml de NaOH al 0.1 N equivale a 0.09 g de ácido láctico.

e. Selección del tratamiento más eficiente

El último día (Día 5) de la medición, los tratamientos preseleccionados T1 y T8 presentaron un pH menor a 4.5, olor agradable y no fétido, así como similar porcentaje de ácido láctico titulable y buen aspecto en relación a la consistencia.

Cabe mencionar que ese mismo día se procedió a separar la parte sólida y la parte líquida del producto fermentado. Si bien ambos tratamientos presentaron un buen aspecto en la consistencia, fue T8 el que presentó una consistencia más húmeda en comparación con T1, esto debido a la mayor producción de parte líquida, que es el biol. Es por ello que T8 fue el

tratamiento seleccionado. La parte líquida (biol) fue analizada fisicoquímicamente, así como microbiológicamente.

Análisis del parámetro físico-químico del abono orgánico obtenido de T8

El análisis físico-químico se realizó a la parte líquida, llamada biol, con el fin de determinar nutrientes de valor agronómico. Este se llevó a cabo en LASPAF (Laboratorio de Análisis de Suelo, Plantas, Aguas y Fertilizantes) de la Facultad de Agronomía de la UNALM. y consistió en la evaluación de pH, conductividad eléctrica, sólidos totales, materia orgánica, fósforo total, nitrógeno total, potasio total, calcio, hierro, magnesio, sodio, cobre, zinc, manganeso y boro. En la Tabla 7, se muestran las unidades de medida y la metodología empleada por el laboratorio.

Tabla 7

Metodologías empleadas para el análisis físico-químico del abono orgánico (biol)

Parámetro	Unidades	Metodología empleada
pH	pH	pH-metro
Conductividad eléctrica	uS/cm	Conductimetría
Sólidos totales	g/L	Gravimetría
Materia orgánica	g/L	Walkley y Black/dicromato de potasio
N total	mg/L	Kjeldahl
P total	mg/L	Azul de molibdeno
K total, Ca total, Mg total, Na total, Fe total, Cu total, Zn total, Mn total	mg/L	Espectrofometría de absorción
Boro	mg/L	Colorimetría empleando curcumina

Fuente: Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes (LASPAF) de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina citado por Aguirre (2017).

Análisis microbiológico del abono orgánico obtenido de T8

El análisis microbiológico del abono orgánico (biol) se realizó en el laboratorio “Marino Tabusso” (Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología) de la UNALM. La metodología establecida por el laboratorio está fundamentada en la International Commission on Microbiological Specifications for Foods [ICMSF] (1983). Estos análisis consistieron en el conteo de levaduras, conteo de aerobios mesófilos viables, conteo de mohos y

enumeración de coliformes totales y fecales. Con los resultados obtenidos se logró saber la calidad fitosanitaria del biol.

Relación C/N del abono orgánico obtenido de T8

La relación C/N es un índice que indica la calidad de la materia orgánica. Su valor indica el equilibrio existente entre los macronutrientes carbono y nitrógeno en relación a la estabilidad del abono (Peralta, 2010; Aguirre, 2017). Se calculó la relación C/N utilizando los valores proporcionados por el laboratorio LASPAF, para ello se aplicaron las formulaciones siguientes (Thompson y Troeh, 1988; Aguirre 2017):

$$C/N = \frac{\%C}{\%N}$$

Donde:

$$\%C = \frac{\%Materia\ orgánica}{1,724}$$

El cálculo del porcentaje de carbono se dió mediante la división del porcentaje de materia orgánica sobre el factor de Van Bemmelen 1.724. Este factor considera que la materia orgánica del suelo posee aproximadamente 58 % de carbono (Thompson y Troeh, 1988; Aguirre 2017).

Evaluación de la estabilidad del abono orgánico (biol)

La estabilidad del abono orgánico esta relacionada a la acidez que presenta por un tiempo determinado (García, 2008). Es por ello que el biol obtenido se evaluó a través de la medición de pH por un periodo de 30 días posterior de su extracción del tratamiento T8. Esta evaluación se dio con la finalidad de averiguar si surgía algún cambio en el pH del biol en relación al tiempo.

Aplicación foliar del abono orgánico (biol) en plantas de rabanito

El biol obtenido fue diluido en agua destilada con la finalidad de determinar la dilución más óptima para el crecimiento de la planta. Se realizaron diluciones al 1 , 0.1 , 0.01 y 0.001 %

del biol (Aguirre, 2017; Medina *et al.*, 2015; Ulloa, 2015), y para el control solo se usó agua de caño (Tabla 8). Asimismo, se consideró un biol comercial de aplicación directa como parte de los tratamiento para observar la comparación entre la influencia de ambos bioles sobre el crecimiento de la planta. Cabe indicar que para cada tratamiento se consideraron tres réplicas. Además, se consideraron tales diluciones porque las aplicaciones se realizaron a nivel de macetero.

Las semillas de “rabanito” *Raphanus sativus* L. fueron adquiridas en el Centro de Hidroponía de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Se consideró esta semilla debido al ciclo corto de crecimiento, así como por su tolerancia a suelos cuyo pH varía entre 5.5 y 6.8.

Tabla 8

Tratamientos de diluciones del biol para la aplicación en plantas de rabanito

Tratamiento	Diluciones	
Tr0	Control	0 %
Tr1	1/100	1 %
Tr2	0.1/100	0.1 %
Tr3	0.01/100	0.01 %
Tr4	0.001/100	0.001 %
Trq (Abono comercial)	Aplicación directa	

Fuente: Elaboración propia

Previa a la aplicación foliar, se preparó la tierra de acuerdo a las exigencias del cultivo del rabanito (Ulloa, 2015). Luego, se procedió a colocar cinco semillas por maceta y al finalizar la siembra, se regó solo con agua. La aplicación foliar del biol comenzó a partir de los 20 días de haber sembrado las semillas en las macetas, vale decir, cuando emergieron los cotiledones (Mamani, 2015). Posteriormente, la aplicación del biol se llevó a cabo con intervalos de más o menos 10 días (Marino, 2017) durante el periodo de crecimiento del “rabanito”, asimismo, el riego en la tierra se llevo a cabo solo con agua.

Variables agronómicas consideradas después de la cosecha de la planta de rabanito

Los criterios de evaluación son los siguientes:

a. Conteo de Hojas

Se contabilizó las hojas verdaderas fotosintéticamente activas al final de la cosecha de los tratamientos (Lara *et al.* 2011).

b. Longitud de planta

Se consideró la medición desde la raíz hasta la hoja más larga de la planta. Esta medición se realizó con la ayuda de una regla graduada de 30 cm y una cinta métrica (Mamani, 2015).

c. Área foliar

Se consideró las superficies de las hojas fotosintéticamente activas de los tratamientos después de la cosecha. La medición de esta variable se realizó mediante el uso de papel milimetrado en el que se calcó la silueta de la hoja y se calculó su área en cm^2 (Bailón *et al.* 2007).

d. Peso del producto

El peso del producto se consiguió retirando la hojas del rábano para luego ser pesado individualmente en una balanza *Electronic Compact Scale* (Ulloa, 2015).

2.1.6. Diseño estadístico del experimento

En la investigación, se aplicó un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial de $3 \times 2 \times 2 + 1$, siendo un total de doce tratamientos más el control en donde cada tratamiento tuvieron tres réplicas. Mientras que para la aplicación del biol obtenido sobre plantas de rabanito se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro tratamientos más un control y un tratamiento comparativo con tres réplicas cada uno.

2.1.7. Análisis Estadístico de los Datos

Los resultados de la investigación fueron tratados a través de un análisis de varianza - ANOVA ($p \leq 0.05$), entre los tratamientos y los factores correspondientes a los residuos orgánicos, el inóculo bacteriano y la melaza de caña de azúcar. Asimismo, teniendo en cuenta al pH como variable respuesta, se aplicó ANOVA a los efectos de interacciones dobles y triples. Además, se consideraron gráficos de interacciones y prueba de comparación de medias por pares Tukey ($p \leq 0.05$).

También se aplicó ANOVA ($p \leq 0.05$) para contrastar el pH y la acidez titulable de los dos tratamientos preseleccionados T1 y T8. Sin embargo, no se consideró la prueba de Tukey puesto que según el resultado de ANOVA resultó ser no significativo.

Asimismo, se realizó un análisis de varianza ($p \leq 0.05$) a las variables agronómicas: Altura de la planta, Área foliar, Peso del producto y Cantidad de hojas post cosecha de la planta de rabanito por acción de las diluciones del biol obtenido. También se realizó la prueba de comparaciones medias por pares Tukey ($p \leq 0.05$). El programa utilizado para el análisis estadístico fue IBM SPSS Statistics 21.

2.2. Materiales

2.2.1. Material biológico

- Residuos orgánicos provenientes del comedor de la Universidad Católica Sedes Sapientiae.
- Bebida típica fermentada de chicha de siete semillas originaria de la ciudad de Huanta-Ayacucho.
- Melaza de caña procedente de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Semillas de Rabanito *Raphanus sativus* adquiridas del Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral de la Universidad Nacional Agraria La Molina

2.2.2. Medios de Cultivo

- Caldo MRS (500G) medio para facilitar el crecimiento del *Lactobacillus*
- Agar MRS (500G) medio recomendado para el crecimiento de *Lactobacillus*
- Agar Hierro Triple Azúcar, agar citrato de Simons, y agar MIO

2.2.3. Reactivos

- Cicloheximida, reactivo Kovacs, cristal violeta, acetona, lugol, safranina, peróxido de hidrógeno al 3 %, solución buffer de cuatro y siete de pH, fenoltaleína, hidróxido de sodio 0.10 N y agua destilada

2.2.4. Equipos

- Cámara de aislamiento marca Kyntel, Incubadora Kert Lab modelo ODHG-9070, Centrífuga para tubos marca Kert Lab modelo 0412-1, Vortex mixer marca Kyntel, Balanza digital marca Electronic Balance, Espectrofotómetro marca Kert Lab modelo SpectrumLab 54, pH metro digital marca Kyntel modelo PH-016, Baño María marca Kert Lab modelo CDK-S22, Autoclave marca Kyntel, Horno microondas marca LG, Selladora de bolsas modelo SF300S, Microscopio binocular marca Labor Tech modelo 2005 y Balanza electrónica modelo SF-400^a.

2.2.5. Otros materiales

- Material de laboratorio: Tubos de ensayo, probeta de 500 ml, pipetas automáticas, asa de Drigalsky, matraces de 250 ml, tips, asa de siembra, placas Petri de 10 cm de diámetro, guantes, mascarilla, gradilla, piceta, bolsas de polietileno y papel toalla.
- Materiales variados: Cajas de tecnopor, hilo sintético, foco Led y timer diario modelo MS-T24.

CAPÍTULO III: RESULTADOS

3.1. Aislamiento y caracterización morfológica y bioquímica de una cepa de *Lactobacillus fermentum*

La cepa aislada de la chicha de siete semillas presentó el desarrollo de colonias pequeñas, de color blanco y cremosas (Figura 5). La morfología observada en el microscopio presentó forma bacilar y de color violeta. En tanto, las pruebas bioquímicas a las cuales fue sometida la cepa aislada dieron como resultado ser de catalasa y oxidasa negativa. Además, para la prueba de tinción de endosporas se evidenció la ausencia de estas mismas por el tipo de coloración que presentó. También, resultó ser fermentadora de tres carbohidratos (glucosa, lactosa y sacarosa), sin producción de gas y sulfuro de hidrógeno (H_2S) para la prueba de TSI (Triple Azúcar Hierro), en tanto la movilidad y el citrato como única fuente de carbono resultaron ser negativos para las pruebas MIO (Movilidad Indol Ornitina) y Citrato (Medio SIMMONS) respectivamente (Figura 5).

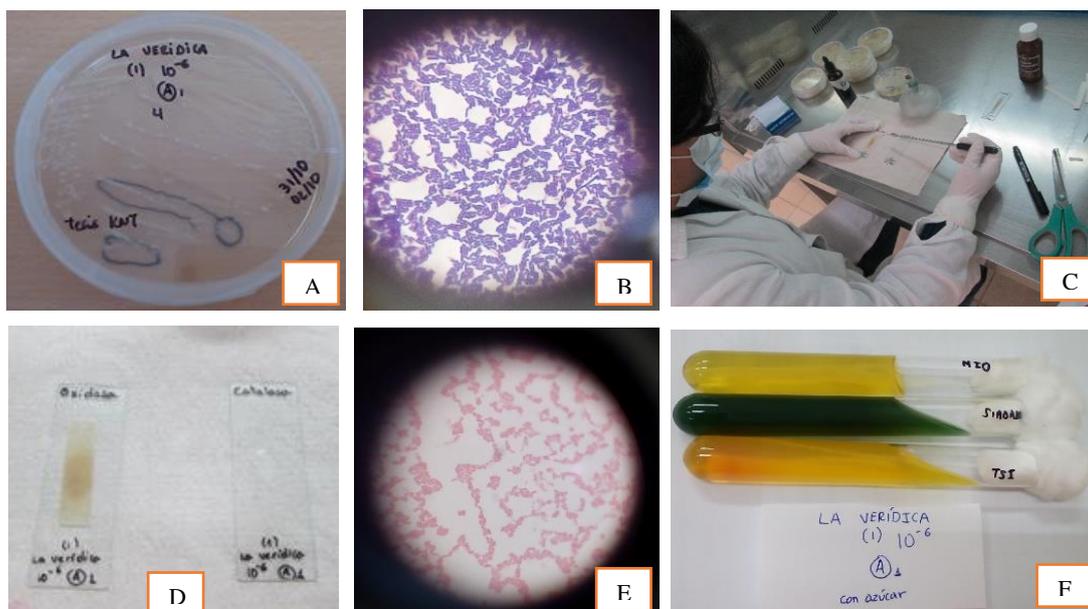


Figura 5. Resultados del aislamiento y caracterización morfológica y bioquímica del *Lactobacillus fermentum* A: Desarrollo de colonias pequeñas, de color blanco y cremosas. B: Vista morfológica de la cepa aislada. C: Procedimiento para la prueba Catalasa y Oxidasa. D: Resultados de la prueba de Catalasa y Oxidasa. E: Resultados de la prueba de tinción de endosporas. F: Resultados de las pruebas de TSI, MIO y CITRATO. Fuente: Elaboración propia.

3.2. Obtención del abono orgánico (biol)

3.2.1. Caracterización físico-química de los residuos orgánicos utilizados en la obtención del abono orgánico

La muestra de residuos orgánicos procedentes del comedor universitario UCSS, previamente seleccionada y homogenizada, fue caracterizada físico-químicamente para así evaluar el posible potencial que posee. Los valores que se muestran a continuación.

Tabla 9

Caracterización físico-química de los residuos orgánicos del comedor de la UCSS- Lima

Parámetro	Residuos orgánicos del comedor UCSS
C. E. (dS/m)	21.10
M. O. (%)	66.63
Humedad (%)	87.57
Micronutrientes	
Na (%)	0.84
Fe (ppm)	599.00
Cu (ppm)	5.00
Zn (ppm)	32.00
Mn (ppm)	28.00
B (ppm)	51.00
Macronutrientes	
N (%)	1.95
P ₂ O ₅ (%)	0.55
K ₂ O (%)	3.75
CaO (%)	1.58
MgO (%)	4.74

Fuente: LASPAF (Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes) de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Tal como se indica en la Tabla 9, los micro y macro nutrientes muestran que los residuos orgánicos provenientes del comedor universitario de la UCSS poseen cualidades significativas para ser usados como insumos en la obtención de un abono orgánico líquido (biol).

3.2.2. Condiciones preliminares de los insumos usados en la obtención del abono orgánico (biol)

Previo a la iniciación de la experimentación, también, se realizó la medición del pH inicial de los residuos orgánicos, melaza e inóculo de *Lactobacillus fermentum* (Inóculo-Lac), tal como se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10

Condiciones preliminares de los insumos en base a su pH

Insumos	pH
Residuos orgánicos	6.76
Melaza de “caña”	4.40
Inóculo de <i>Lactobacillus fermentum</i> (Inóculo-Lac)	4.28

Fuente: Elaboración propia

Se observa en la Tabla 10 que el pH de los residuos orgánicos tiende a la neutralidad, vale decir, cercano a un pH = 7, mientras que la melaza de caña y el inóculo de *Lactobacillus fermentum* tienden a tener un pH ácido.

3.2.3. Determinación de la proporción óptima de los factores residuos orgánicos, inóculo y melaza en los tratamientos

a. Medición del parámetro pH en los 12 tratamientos

Los valores promedio de pH registrados diariamente de todos los tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 y T12) incluido el control se muestran en la Tabla 11, cabe mencionar que el Día 0 hace referencia al registro de pH inicial de los tratamientos. La medición se realizó en un periodo de cinco días y se consideraron los valores tanto iniciales como los finales para su evaluación. El registro total de las mediciones de pH de los tratamientos con sus respectivas réplicas se detallan en el Apéndice 1.

Tabla 11

Registro diario del pH promedio (X) con sus respectivas desviaciones estándar ($\pm DE$) de los 12 tratamientos y del control.

Tratamiento	Día					
	0	1	2	3	4	5
T0	6.76 \pm 0.05	5.75 \pm 0.48	5.14 \pm 0.04	5.32 \pm 0.10	5.06 \pm 0.09	5.16 \pm 0.22
T1	5.47 \pm 0.04	4.81 \pm 0.17	3.89 \pm 0.04	3.70 \pm 0.02	3.67 \pm 0.02	3.55 \pm 0.04
T2	5.35 \pm 0.04	4.62 \pm 0.14	3.97 \pm 0.06	3.75 \pm 0.04	3.63 \pm 0.02	3.68 \pm 0.02
T3	5.52 \pm 0.03	4.59 \pm 0.13	4.31 \pm 0.56	3.80 \pm 0.13	3.63 \pm 0.02	3.60 \pm 0.02
T4	5.72 \pm 0.03	4.64 \pm 0.05	3.93 \pm 0.04	3.80 \pm 0.05	3.66 \pm 0.03	3.59 \pm 0.03
T5	5.96 \pm 0.03	4.68 \pm 0.06	3.91 \pm 0.03	3.76 \pm 0.03	3.67 \pm 0.03	3.57 \pm 0.02
T6	5.93 \pm 0.04	4.52 \pm 0.11	3.93 \pm 0.06	3.79 \pm 0.01	3.67 \pm 0.03	3.59 \pm 0.02
T7	5.23 \pm 0.06	4.84 \pm 0.08	4.05 \pm 0.13	3.88 \pm 0.04	3.70 \pm 0.03	3.59 \pm 0.01
T8	5.71 \pm 0.09	4.80 \pm 0.15	3.90 \pm 0.03	3.80 \pm 0.04	3.67 \pm 0.02	3.54 \pm 0.02
T9	5.67 \pm 0.05	4.61 \pm 0.02	3.90 \pm 0.03	3.80 \pm 0.04	3.64 \pm 0.06	3.61 \pm 0.03
T10	5.68 \pm 0.05	4.85 \pm 0.06	3.91 \pm 0.07	3.86 \pm 0.01	3.71 \pm 0.02	3.68 \pm 0.03
T11	5.84 \pm 0.04	4.74 \pm 0.03	3.92 \pm 0.01	3.82 \pm 0.05	3.68 \pm 0.02	3.66 \pm 0.01
T12	5.66 \pm 0.06	4.62 \pm 0.07	3.84 \pm 0.05	3.77 \pm 0.01	3.67 \pm 0.04	3.61 \pm 0.02

Fuente: Elaboración propia

La Tabla 11 muestra los valores promedios del pH de todos los tratamientos con sus respectivas desviaciones estándar medidos durante los cinco días. Los valores del pH correspondientes al Día 0 superan o están muy cercanos a 6.0, mientras que en el Día 5 están por debajo de 3.7 a excepción del tratamiento control (T0).

b. Interacción entre los factores: Residuos orgánicos, inóculo de *Lactobacillus fermentum* y melaza de “caña”

El análisis de varianza ($p \leq 0.05$), de los efectos principales de la melaza e inóculo de *Lactobacillus fermentum* (Inóculo-Lac), y de los efectos de las interacciones doble (residuos * melaza, residuos * inóculo-lac, melaza*inóculo-Lac) y triple (residuos * melaza * inóculo-Lac) de estos factores dieron como resultado ser significativos (ver Apéndice 3).

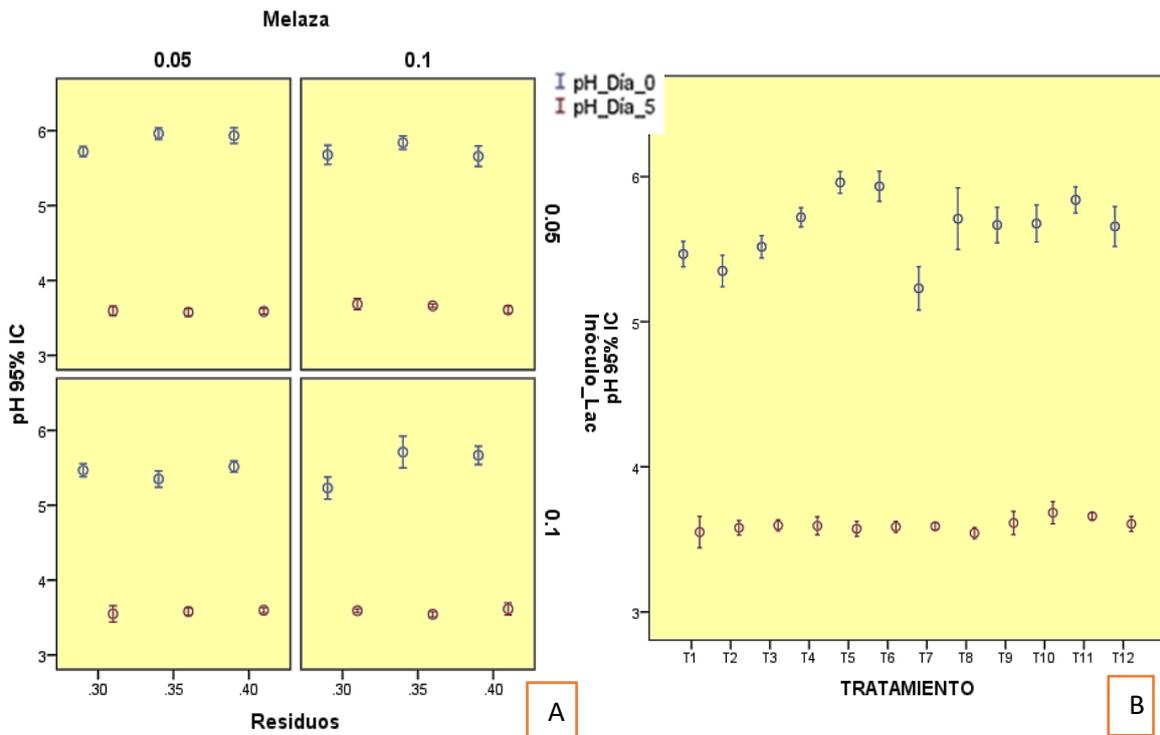


Figura 6. A: Resultado de la interacción triple de los factores: residuos orgánicos, inóculo y melaza. B: Resultado del efecto de la interacción triple en los tratamientos. Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 6 (A), se puede observar las proporciones de cada uno de los tres factores: residuos orgánicos, inóculo de *Lactobacillus fermentum* y melaza de caña; y que la interacción de estas mismas influyen en la disminución del pH. Asimismo, en la Figura 6 (B), se observa el comportamiento del parámetro pH desde el día inicial (Día 0) hasta el día final (Día 5) de cada uno de los tratamientos.

c. Análisis de varianza (ANOVA) del parámetro pH

El análisis de varianza ($p \leq 0.05$) de los valores de pH medidos en todos los tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 y T12) fueron analizados al quinto día. Se consideró aplicar ANOVA a los valores registrados en el último día porque Román (2012), Meza del Aguila (2014) y Aguirre (2017) lograron un $pH \leq 4.5$ al quinto día de iniciado el proceso de fermentación de residuos orgánicos para la elaboración de biol.

Tabla 12

Análisis de varianza del parámetro pH en el quinto día según la variación de los 12 tratamientos

	pH_Día_5				
	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0.054	11	0.005	8.776	0.000
Intra-grupos	0.013	24	0.001		
Total	0.067	35			

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 12, se observa que el ANOVA del parámetro pH en el quinto día ($p=0.000$) dió como resultado ser significativo entre todos los tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 y T12), porque sus valores fueron inferiores al nivel de significancia ($p \leq 0.05$).

d. Variabilidad diaria del pH promedio de los 12 tratamientos

La variación diaria del pH de los 12 tratamientos evidenciaron a partir del segundo día estar por debajo de 4.5.

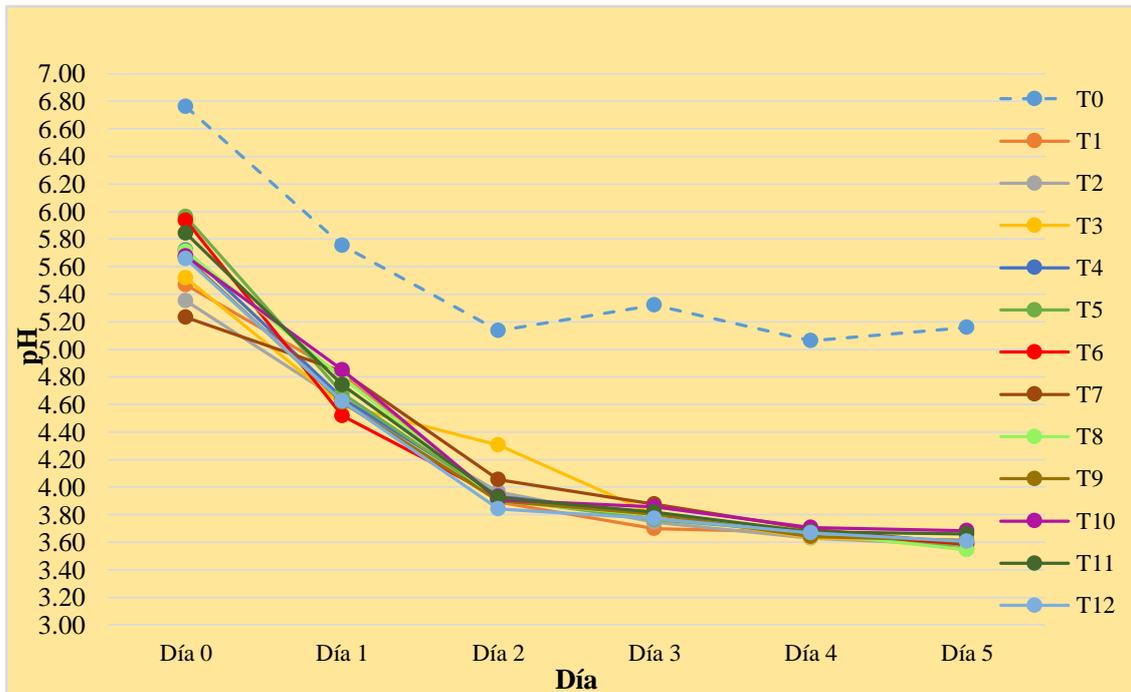


Figura 7. Resultado de la variación diaria del parámetro pH promedio de los 12 tratamientos. *Fuente:* Elaboración propia.

En la Figura 7 se observa que todos los tratamientos, incluido el control (T0), inician (Día 0) con un pH inferior a 7. Mientras que en los días posteriores (Día 1, Día 2, Día 3, Día 4 y Día 5) los tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 y T12) muestran un comportamiento similar en relación a la disminución de pH.

e. Tratamientos preseleccionados

Los tratamientos preseleccionados fueron T1 y T8 porque no solo presentaron un pH menor comparado al resto ($\text{pH} < 4$), sino también olor agradable y visiblemente se observó la libre presencia de mohos y levaduras.

3.2.4. Selección del tratamiento más eficiente de los tratamientos preseleccionados T1 y T8 para la producción del abono orgánico (biol)

La selección del mejor tratamiento fue a partir de los tratamientos preseleccionados T1 y T8, cuyas consideraciones fueron el valor de pH, ausencia de olor fétido, ausencia de moho y/o levaduras y mayor producción de acidez titulable al quinto día.

a. Evaluación diaria del parámetro pH en los tratamiento preseleccionados T1 y T8

El registro de los valores promedio de pH de los tratamientos preseleccionados incluido el control se indican en la Tabla 13. En tanto, el registro total de las mediciones de pH de cada tratamiento con sus respectivas réplicas se indican en el Apéndice 5.

Tabla 13

Registro diario del parámetro pH promedio (X) y sus desviaciones estándar (\pm DE) de los tratamientos T1 y T8 y del control.

Tratamiento	Día					
	0	1	2	3	4	5
T0	7.04 \pm 0.19	6.39 \pm 0.54	5.89 \pm 0.51	5.52 \pm 0.47	5.08 \pm 0.20	4.84 \pm 0.08
T1	5.07 \pm 0.02	4.47 \pm 0.02	3.72 \pm 0.04	3.59 \pm 0.02	3.53 \pm 0.02	3.53 \pm 0.04
T8	5.33 \pm 0.15	4.58 \pm 0.08	3.76 \pm 0.06	3.67 \pm 0.05	3.56 \pm 0.06	3.55 \pm 0.04

Fuente: Elaboración propia.

La Tabla 13 muestra los valores promedios del pH de los tratamientos preseleccionados con sus respectivas desviaciones estándar medidos durante los cinco días. Los valores del pH

correspondientes al Día 0 están muy cercanos a 5.4, mientras que en el Día 5 están por debajo de 3,6 a excepción del tratamiento control (T0).

b. Análisis de varianza del parámetro pH de los tratamientos T1 y T8 en el quinto día 5

El análisis de varianza ($p \leq 0.05$) de los valores de pH medidos de los tratamientos preseleccionados también fueron analizados al quinto día.

Tabla 14

A nálisis de varianza del parámetro pH en el quinto día según la variación de los tratamientos T1 y T8

	pH_Día_5				
	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0.001	1	0.001	0.486	0.524
Intra-grupos	0.005	4	0.001		
Total	0.006	5			

Fuente: Elaboración propia.

Se observa en la Tabla 14 que el análisis de varianza de la evaluación de pH de los tratamientos preseleccionados T1 y T8 al quinto día ($p= 0.524$) resultó ser no significativo.

c. Variabilidad diaria del pH promedio en los tratamientos T1 y T8

La variación del pH promedio de los tratamientos T1 y T8 evidenciaron que a partir del segundo día se encontraron por debajo de 4.0.

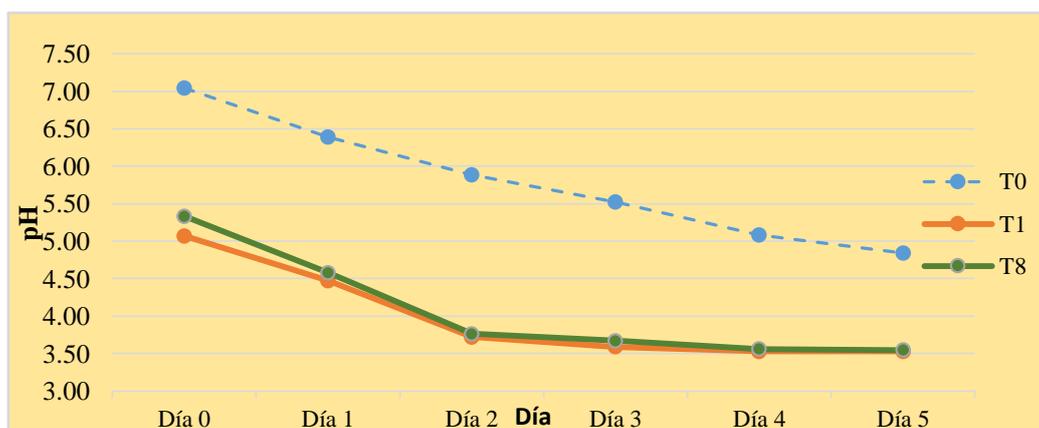


Figura 8. Resultado de la variación diaria del parámetro pH promedio de los tratamientos T1 y T8. *Fuente:* Elaboración propia.

d. Medición de acidez titulable de los tratamientos T1 y T8

El ácido láctico se midió diariamente durante cinco días en los dos tratamientos preseleccionados T1 y T8, y en sus respectivas réplicas. Esta medición se realizó paralelamente a la medición del parámetro pH y se expresó en porcentaje de ácido láctico titulable. El registro total de las mediciones se muestra en el Apéndice 8, mientras que los valores promedios de estos porcentajes se muestran en la Tabla 15.

Tabla 15

Registro de acidez titulable promedio (X) producido por los tratamientos T1 y T8 con sus desviaciones estándar ($\pm DE$)

Tratamiento	Día					
	0	1	2	3	4	5
T1al	0.20 \pm 0.11	0.57 \pm 0.18	1.32 \pm 0.07	1.70 \pm 0.13	1.90 \pm 0.08	2.27 \pm 0.07
T8al	0.28 \pm 0.08	0.59 \pm 0.11	1.31 \pm 0.05	1.64 \pm 0.18	1.76 \pm 0.15	2.27 \pm 0.09

Fuente: Elaboración propia.

La Tabla 15 muestra los valores promedios de la acidez titulable producido en los tratamientos preseleccionados T1 y T8 con sus respectivas desviaciones estándar medidos durante los cinco días. Los valores de la acidez titulable correspondientes al Día 0 están muy cercanos a 0.30, mientras que en el Día 5 están por debajo de 2.30.

e. Análisis de varianza de acidez titulable de los tratamientos T1 y T8 en el quinto día

El análisis de varianza ($p \leq 0.05$) de los valores de acidez titulable medidos en los tratamientos preseleccionados T1 y T8 fueron analizados al quinto día al igual que el parámetro pH.

Tabla 16

Análisis de varianza de la acidez titulable en el quinto día de los tratamientos T1 y T8

	AC_LAC_Día_5				
	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0.000	1	0.000	0.010	0.926
Intra-grupos	0.027	4	0.007		
Total	0.027	5			

Fuente: Elaboración propia.

La Tabla 16 muestra que el ANOVA al quinto día ($p= 0.926$) resultó ser no significativo para la producción de acidez titulable de los tratamientos preseleccionados T1 y T8.

f. Variabilidad diaria de la acidez titulable promedio en los tratamientos T1 y T8

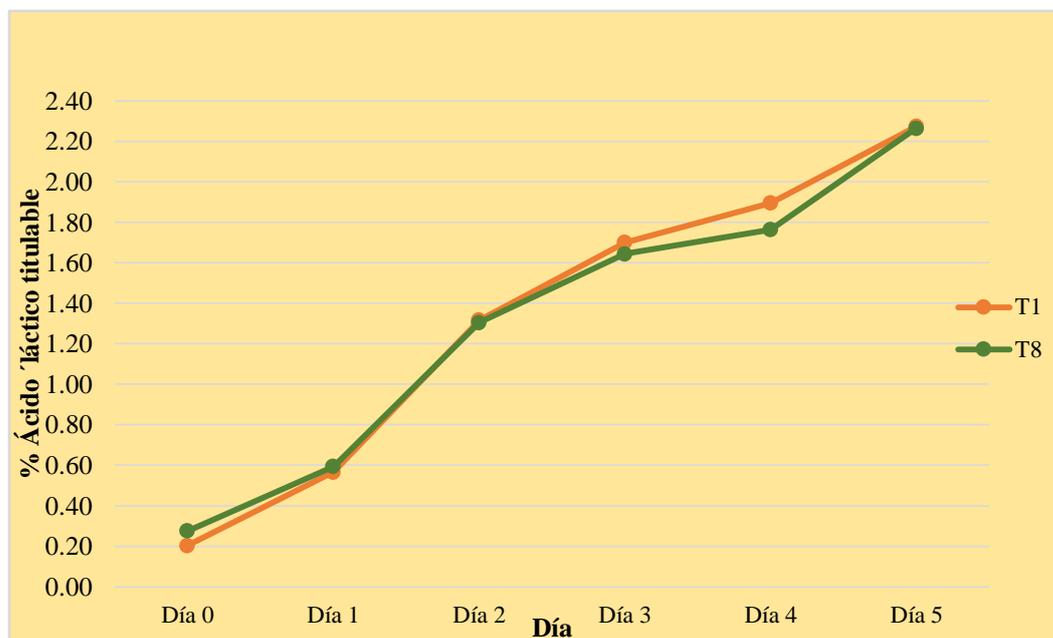


Figura 9. Resultado de la variación diaria de acidez titulable promedio de los tratamientos preseleccionados T1 y T8. Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 9, se puede observar que los tratamientos preseleccionados T1 y T8 presentan un similar comportamiento en relación a la producción de acidez titulable en los cinco días de medición. El porcentaje de ácido láctico titulable producido por ambos tratamientos estuvo entre un rango de 0.20 y 2.27.

g. Relación de los parámetros pH y acidez titulable de los tratamientos T1 y T8

El pH promedio y la acidez titulable promedio tienen una relación inversamente proporcional, vale decir, que a medida que el pH disminuye la producción de ácido láctico aumenta. La Figura 10 muestra la gráfica de esta relación para los tratamientos T1 y T8.

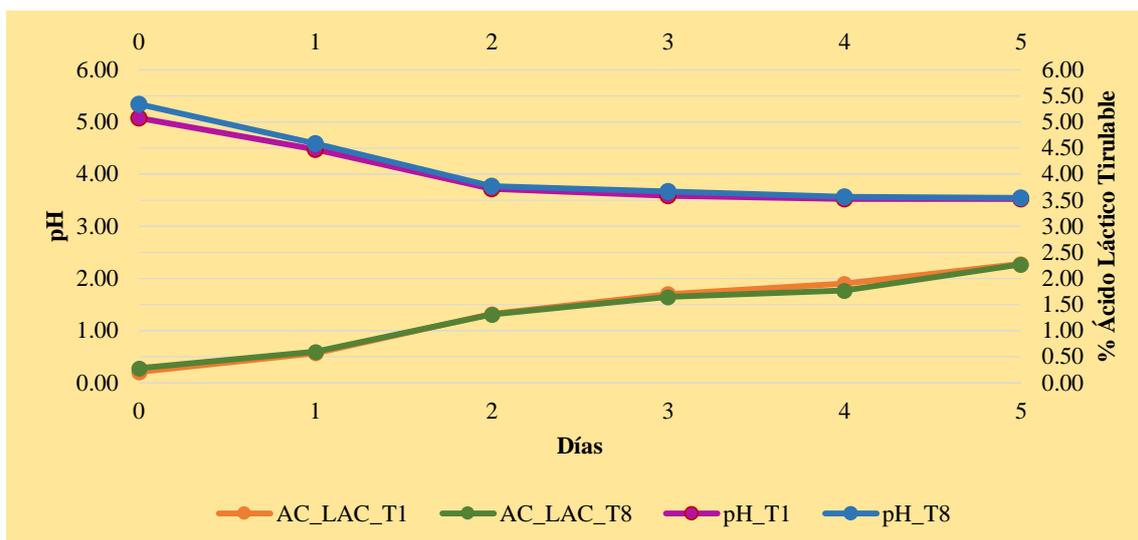


Figura 10. Resultado de la relación de los parámetros pH promedio y acidez titulable promedio de los tratamientos T1 y T8. Fuente: Elaboración propia.

3.2.5. Selección del tratamiento más eficiente de los tratamientos T1 y T8

El ANOVA para los parámetros pH y acidez titulable resultó ser no significativo para los tratamientos preseleccionados T1 y T8, por ello se consideraron otros factores como el aspecto cualitativo (olor y consistencia) y el aspecto cuantitativo referido a la cantidad de biol producido.

Tabla 17

Cantidades de biol (L) producido por los tratamientos T1 y T8

Tratamiento	Cantidad de biol producido (L)
T1	2.495
T8	2.905

Fuente: Elaboración propia.

La Tabla 17 muestra que el tratamiento T8 tuvo mayor producción en volumen de biol respecto al tratamiento T1.

3.2.6. Análisis Físico-químico del abono orgánico (biol) producido por el tratamiento más eficiente (T8)

La caracterización físico-químico del biol a nivel de investigación se analizó en el LASPAF (Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes) de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina. El documento con el resultado se adjunta en el Apéndice 11.

Tabla 18

Comparación de la caracterización físico-química del abono orgánico (biol) T8 con otros bioles

Parámetros	Fast biol 20 ¹	Biol Casa Blanca ²	Biol con alfalfa ³	Biol con chicha de jora ³	Biol T4 ⁴	Papa Biol ⁵	Biol T8
pH	3.75	8.2	6.8	6.8	4.15	3.67	3.43
C. E. (dS/m)	25.7	15.3	11.2	10.2	34.7	24.1	24.90
Sólidos en suspensión (g/L)	-	23.6	8.85	9.78	-	-	-
Sólidos totales (g/L)	232.98	-	-	-	249.12	147.2	242.10
MO. en Solución (g/L)	181.1	5.4	2.86	3.75	173.1	117.3	168.29
Micronutrientes							
Na total (mg/L)	1040	542	463	500	975	450	507.00
Fe total (mg/L)	516	-	5	12.5	365.95	38.8	34.22
Cu total (mg/L)	14	-	0.3	0.4	4.9	1.53	0.92
Zn total (mg/L)	60	-	1.9	2.9	27.5	4.12	5.00
Mn total (mg/L)	28	-	1.8	2.7	57.55	3.48	4.86
B total (mg/L)	19	-	124	93	15.74	6.01	2.58
Macronutrientes							
N total (mg/L)	4200	980	1064	1015	6020	2688	2430.40
P total (mg/L)	744.2	121	53.3	66.5	3349.75	275.52	244.44
K total (mg/L)	17200	6760	1143	1045	18900	5316.7	2438.00
Ca total (mg/L)	5200	220.4	755	707	5670	1316.7	2080.00
Mg total (mg/L)	1740	53.4	348	353	3050	750	97.80

Nota: (1) Peralta (2010); (2) Biol Casa Blanca citado por Meza (2014); (3) Ramos (2004); (4) Aguirre (2017); (5) Meza (2014).

Fuente: Laboratorio LASPAF.

La Tabla 18 muestra los valores de la caracterización físico-química del biol T8, así como el de otros bioles. Se puede observar que las cantidades de los micronutrientes y macronutrientes varían para cada biol, esta variación está en función a los insumos y proporciones considerados para su elaboración, así como las condiciones ambientales y tiempo a los que fueron sometidos (Rojas, 2014; Díaz, 2017).

3.2.7. Análisis microbiológico del abono orgánico (biol) producido por el tratamiento más eficiente (T8)

El Biol T8 fue analizado microbiológicamente en el laboratorio “Marino Tabusso” (Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología) de la Universidad Agraria La Molina. El documento con el resultado se adjunta en el Apéndice 11.

Tabla 19

Resultado del análisis microbiológico del abono orgánico (biol) T8

Análisis microbiológico	Biol T8
Enumeración de coliformes totales (NMP/ml)	<3
Enumeración de coliformes fecales (NMP/ml)	<3
Recuento de mohos y levaduras (UFC/ml)	20 x 10 ⁴
Recuento de aerobios mesófilos viables (UFC/ml)	16 x 10 ⁴

Nota: El valor <3 indica ausencia de microorganismos. *Fuente:* Laboratorio LASPAF de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

La Tabla 19 muestra que el biol T8 evidencia la ausencia de microorganismos patógenos que puedan influenciar en la inocuidad del abono orgánico en la aplicación foliar sobre las plantas.

3.2.8. Relación Carbono/ Nitrógeno del abono orgánico (biol) T8

El cálculo de la relación C/N se muestra en el Apéndice 12. El resultado de este cálculo se muestra a continuación:

Tabla 20

Cálculo de relación Carbono/Nitrogéno

Abono orgánico	% MO	%C	%N	C/N
Biol T8	16.82	9.75	0.24	40.12

Fuente: Elaboración propia

La relación C/N en Tabla 20 muestra un valor de 40.12, ello indica que hay 40 partes de carbono por uno de nitrógeno (Escobedo, 2015).

3.2.9. Estabilidad del abono orgánico (biol) producido por T8

La estabilidad del biol fue evaluado posterior a la extracción del tratamiento T8. Las mediciones se realizaron cada tres días durante un mes.

Tabla 21

Registro de la variación del parámetro pH del abono orgánico T8 durante 30 días

Abono orgánico	Día											
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	
Biol T8	3.56	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63	3.66	3.66	3.68	3.70	3.70	

Fuente: Elaboración propia

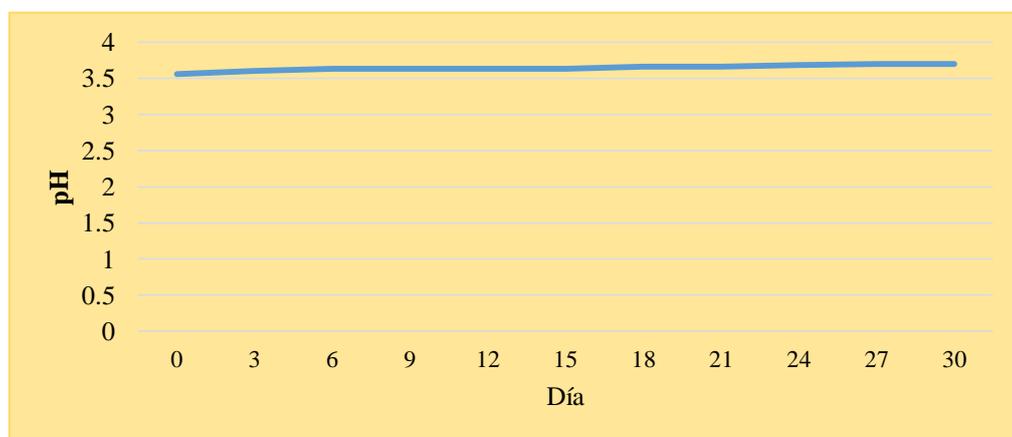


Figura 11. Resultado de la variación de pH del abono orgánico (biol) T8. *Fuente:* Elaboración propia.

La Figura 11 muestra la evaluación del pH en relación al tiempo, el cual se mantuvo entre 3.5 y 4.0. El periodo de tiempo considerado fue de 30 días. Al mantenerse en ese rango, el

abono orgánico producido podría considerarse estable (Aguirre, 2017; Román, 2012; García, 2008).

3.3. Aplicación del abono orgánico (biol) obtenido en plantas de rabanito

La aplicación del abono orgánico Biol T8 se diluyó previamente de acuerdo a lo establecido en la Tabla 8 antes de ser aplicado a las plantas de rabanito. Cabe mencionar que para cada aplicación, vale decir, cada 10 días se preparaba dicha dilución.

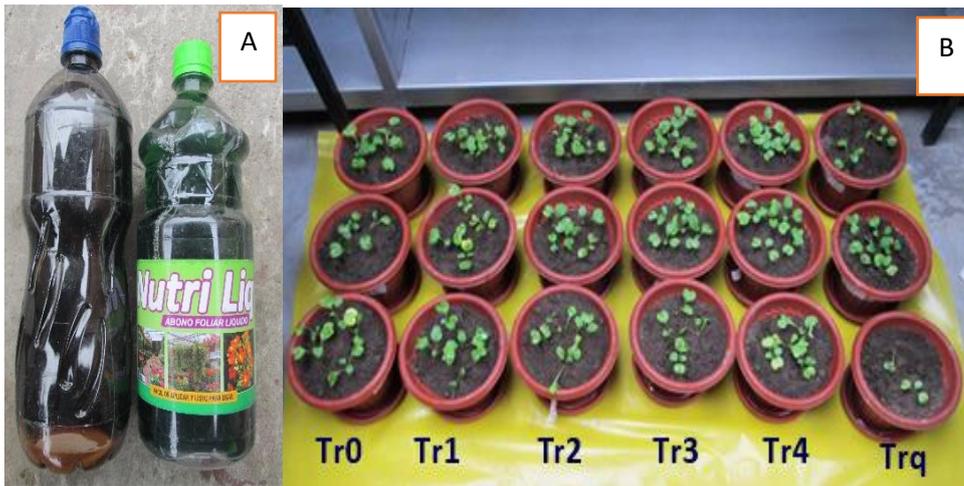


Figura 12. A: Abono orgánico Biol T8 y fertilizante químico. B: Plantas de rabanito después de 20 días de haber sido sembradas. Fuente: Elaboración propia.

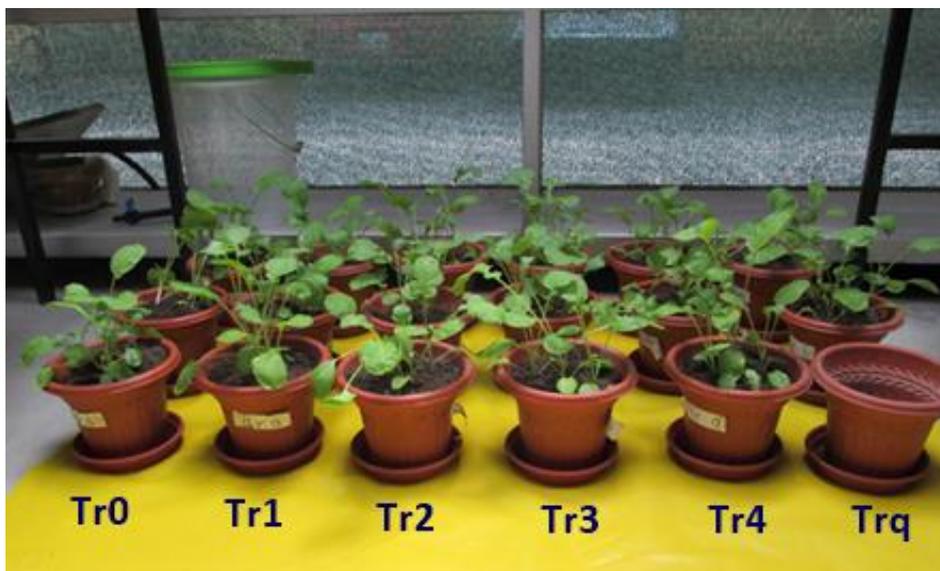


Figura 13. Plantas de rabanito previo a ser cosechadas. Fuente: Elaboración propia.

3.4. Variables agronómicas evaluadas post-cosecha de las plantas de rabanito

Posterior a la cosecha del rabanito, se evaluaron las variables agronómicas consideradas: Altura de la planta, Área foliar, Peso del producto y Conteo de hojas.

Tabla 22

Registro promedio del efeto del abono orgánico (biol) T8 en las plantas de rabanito

Tratamiento	Altura de planta (cm)	Área foliar (cm ²)	Peso de cada producto (g)	Conteo de hojas
Tr0	25.53 ± 1.92	134.33 ± 3.06	9.35 ± 0.47	6.33 ± 0.58
Tr1	21.93 ± 0.57 ^a	125.00 ± 3.61 ^a	0.09 ± 0.09 ^a	4.67 ± 0.58 ^a
Tr2	26.70 ± 5.80 ^a	141.70 ± 4.93 ^b	16.14 ± 0.52 ^e	7.00 ± 1.00 ^a
Tr3	22.80 ± 3.60 ^a	136.33 ± 4.51 ^{ab}	10.66 ± 0.49 ^d	6.33 ± 1.53 ^a
Tr4	21.93 ± 1.68 ^a	130.33 ± 8.62 ^{ab}	9.26 ± 0.53 ^c	5.67 ± 1.53 ^a
Trq	18.03 ± 2.01 ^a	126.33 ± 3.51 ^a	6.05 ± 0.71 ^b	6.00 ± 1.00 ^a

Nota: No existen diferencias significativas en superíndices con letras iguales según la Prueba de Tukey.

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 22, se observó que el tratamiento Tr2, cuya dilución fue de 0.1/100 presentó valores altos en cada una de las variables agronómicas (Figura 14, 15, 16 y 17) en comparación con el resto de los tratamientos incluido el tratamiento comercial Trq. Asimismo, se observó el crecimiento de la planta de rabanito para el tratamiento Tr1, cuya dilución fue de 1/100, pero no se evidenció el desarrollo del producto.

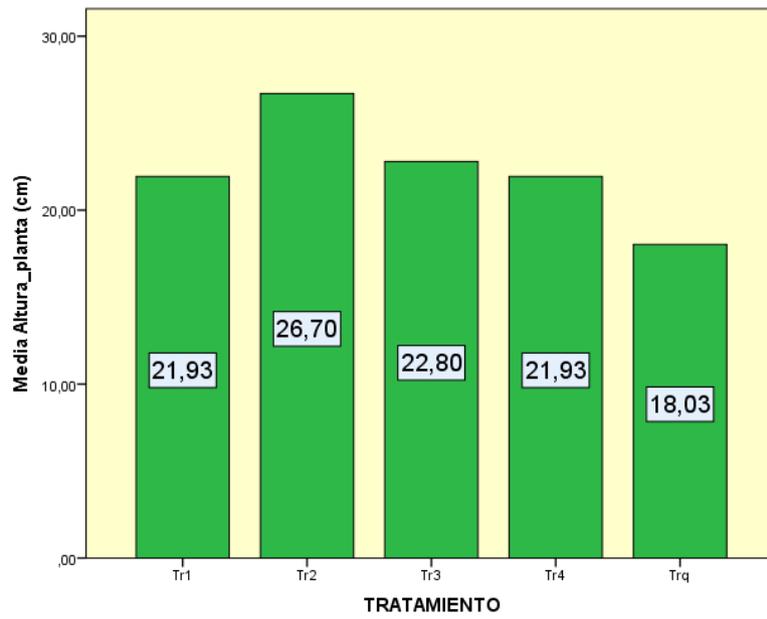


Figura 14. Altura media de las plantas de rabanito post-cosecha. Fuente: Elaboración propia.

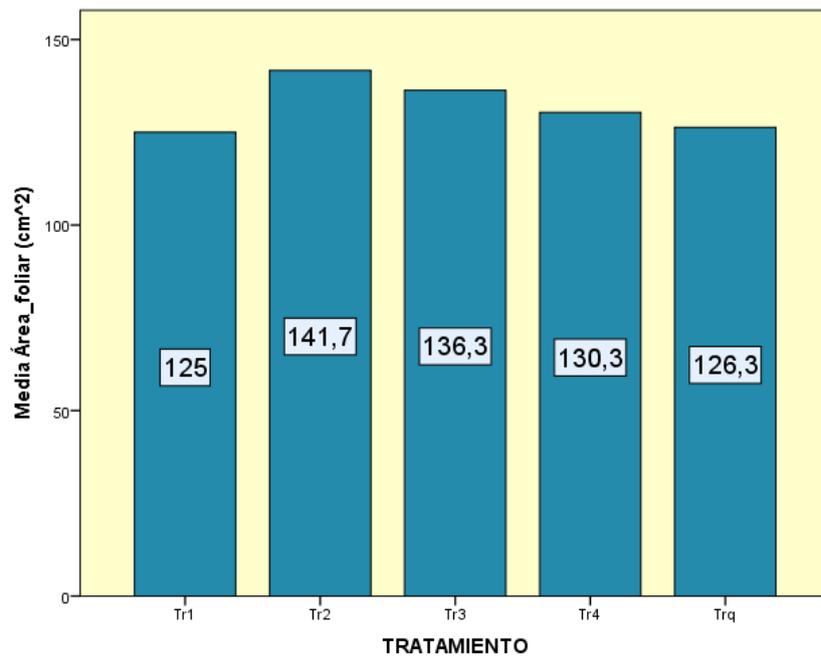


Figura 15. Área foliar media de las plantas de rabanito post cosecha. Fuente: Elaboración propia.

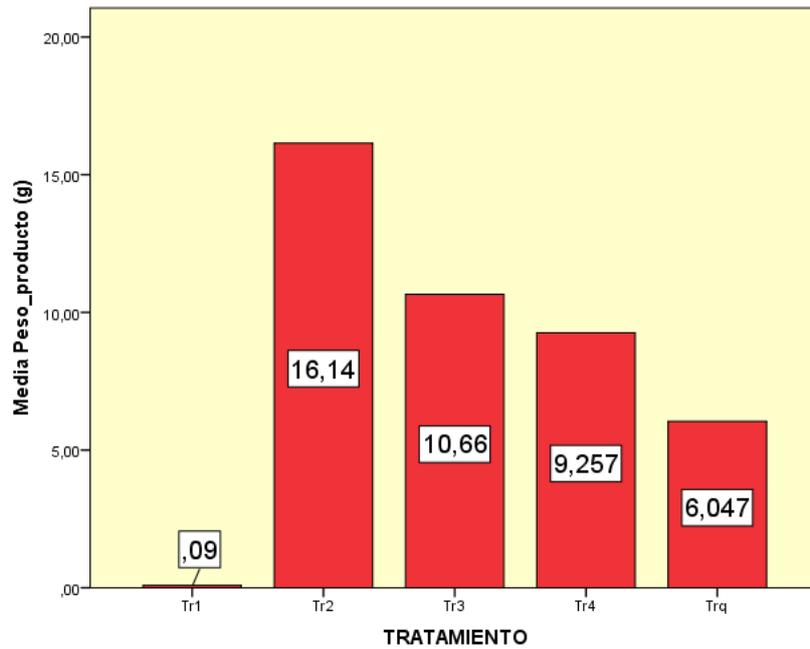


Figura 16. Peso del producto medio de las plantas de rabanito post-cosecha. Fuente: Elaboración propia

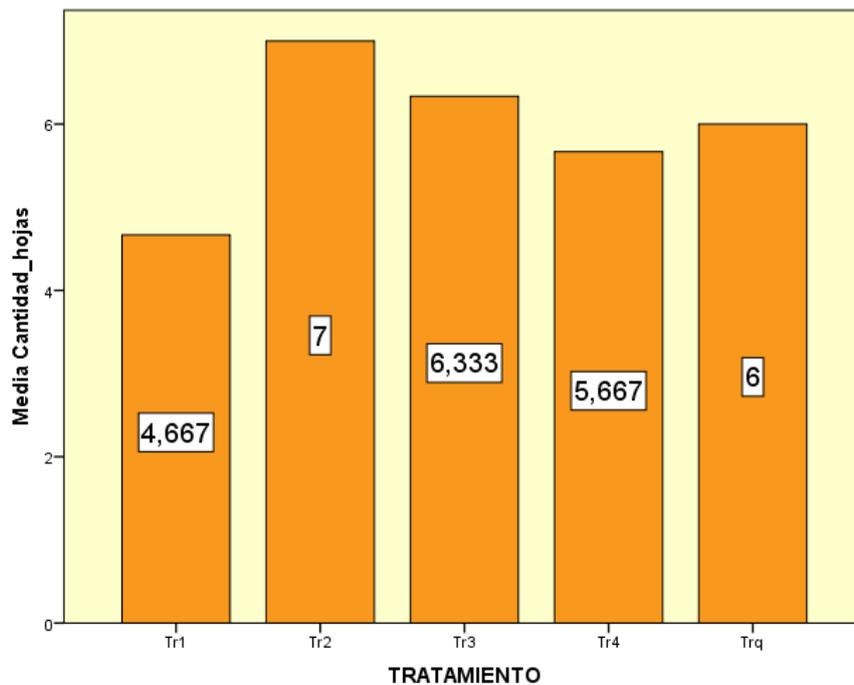


Figura 17. Altura media de las plantas de rabanito post cosecha. Fuente: Elaboración propia

CAPITULO IV: DISCUSIONES

4.1. Identificación y caracterización morfológica y bioquímica de una cepa de *Lactobacillus fermentum*

La cepa aislada de la chicha de siete semillas fue identificada como *Lactobacillus fermentum* puesto que presentó el desarrollo de colonias pequeñas, de color blanco, cremosas y de aproximadamente 1 mm de diámetro (Figura 4). La morfología que presentó fue Gram positiva de forma bacilar (Bazán y Vargas, 2017; Aguirre, 2017), característica general que presenta este tipo de bacterias. Las pruebas bioquímicas (Figura 5) a las cuales fue sometida la cepa aislada para ser caracterizada dieron como resultado ser de catalasa negativa puesto que no se observó burbujeo y oxidasa negativa dado a que no hubo cambio de coloración durante la prueba (Rojas, 2012; Rodriguez, 2009). Además, se evidenció la ausencia de endosporas, descartando que pertenezcan al género *Bacillus* (Mejía *et al.*, 2007; Delgado y Torres, 2003; Cavallini, 2005). Asimismo, resultó ser fermentadora de tres carbohidratos (lactosa, glucosa y sacarosa), sin producción de gas y sulfuro de hidrógeno (H₂S) para la prueba de TSI, esto es dado a que la cepa sembrada logró degradar la lactosa (disacárido) por medio de la ruta Beta-galactosidasa en glucosa y galactosa y posteriormente degradó estos monosacáridos a través del ciclo de Embden-Meyerhof logrando acidificar el medio (color amarillo), corroborando que la cepa es fermentadora de carbohidratos (Rojas, 2012; Bailón *et al.*, 2003; Silva y García, 2006). En tanto la movilidad resultó ser negativa puesto que no se evidenció el crecimiento de la cepa más allá de la línea de siembra para la prueba MIO. Asimismo, el citrato como única fuente de carbono resultó ser negativo pues no se observó crecimiento ni cambio de color en el medio de Citrato de Simmons (Madrid, 2013; Bailón *et al.*, 2003).

4.2. Obtención del abono orgánico (biol)

Previo a la obtención del abono orgánico se caracterizó físico-químicamente los residuos orgánicos del comedor, y se consideró realizar una comparación de los residuos orgánicos

el comedor UCSS con otros insumos que también han sido usados para elaboración de biol. Esta comparación se observa en la Tabla 23, donde se consideran tres tipos de residuos orgánicos.

Tabla 23

Caracterización físico-químico de insumos utilizados en la elaboración del abono orgánico (biol) T8 antes de ser tratados biológicamente

Parámetro	Cuyinaza ¹	Papa de descarte ²	Residuos orgánicos del comedor UCSS
C. E. (dS/m)	14.10	6.77	21.10
M. O. (%)	74.08	94.54	66.63
Humedad (%)	60.00	90.23	87.57
Micronutrientes			
Na (%)	0.26	0.04	0.84
Fe (ppm)	3323.00	276.00	599.00
Cu (ppm)	38.00	8.00	5.00
Zn (ppm)	237.00	16.00	32.00
Mn (ppm)	254.00	13.00	28.00
B (ppm)	64.00	27.00	51.00
Macronutrientes			
N (%)	1.99	1.46	1.95
P ₂ O ₅ (%)	3.01	0.43	0.55
K ₂ O (%)	5.63	2.09	3.75
CaO (%)	2.71	0.11	1.58
MgO (%)	1.23	0.12	4.74

Fuente: Elaboración propia. 1-Aguirre (2017), 2- Meza (2014).

Meza (2014) elaboró un abono líquido a partir de papas de descarte procedentes de un mercado de abastos, en donde la caracterización físico-química de estos residuos, previo a ser fermentadas, se muestran diferentes a lo observado en la Tabla 23. Esta diferenciación con la presente investigación se debe a la composición de los residuos orgánicos usados como insumos en la obtención del fertilizante orgánico, ya que no solo se han considerado restos de papas de descarte, sino también cáscaras de frutas y restos de otros vegetales, hortalizas y tubérculos: “zanahoria”, “lechuga”, “beterraga”, “apio” etc. También, Aguirre (2017) produjo biol a partir de estiércol de cuy provenientes de una granja, en donde la caracterización físico-química de las excretas, previas a ser tratadas, también difieren con lo observado en la Tabla 23. Esta variación, según él, se debe a que el estiércol de cuy está compuesta por un alto contenido de nitrógeno, fósforo y potasio. Asimismo, se debe tener en cuenta que el estiércol de cuy no solo esta conformado por las excretas, sino también por

rastrojos, restos de alimento y pelo de animal. Además, de que son generados por el proceso digestivo del animal lo que hace que sea muy rico en micro y macro nutrientes.

De igual manera, se consideró las condiciones preliminares de los insumos utilizados en la obtención del abono orgánico (Tabla 10). Se puede observar que inicialmente el pH 6.76 registrado por los residuos orgánicos, es un valor cercano a 6,05 reportado por Meza (2014) quien fermentó solo papa de descarte. De igual modo, el valor obtenido en esta investigación es similar a lo reportado por otras investigaciones tal como se muestra en la Tabla 24.

Tabla 24

Evaluación inicial del parámetro pH de los residuos orgánicos alimenticios

pH de la presente investigación	pH de otras investigaciones
	7.17 ¹
	6.50 ²
6.76	5.15 ³
	4.40 ⁴
	3.7-4.2 ⁵

Fuente: Elaboración propia a partir de 1-(Yong, Dong, Zhang y Tan, 2015, citados por Carlin, 2015), 2-(Zhang, Lee y Jahn, 2011), 3- (Zarkadas, Sofikiti, Voudrias y Pilidis, 2015), 4-(Agyeman y Tao, 2014), 5-(Labatud, Angenent y Scott, 2011, citados por Xu, Li, Ge, Yang y Li, 2018)

Según Meng *et al.* (2015) citados por Xu *et al.* (2018), la variación inicial del pH de los residuos orgánicos se debe a diversos factores tales como el origen de su procedencia, la manipulación y los métodos de procesamiento antes y después de ser usados como productos alimenticios, así como también el clima, y la influencia cultural en el cultivo.

Para la melaza de “caña” (Tabla 10), este registró 4,40 como pH inicial, este valor es cercano a lo reportado por Meza (2014), además se encuentra en el rango de 4.8-5.4 señalado por Aldón (2008). Según Aldón, el pH ácido que presenta la melaza se debe a la actividad de los ácidos no volátiles originados en el proceso de elaboración de azúcar. En cuanto al inóculo-Lac (Tabla 9), se registró un pH de 4,28 similar a lo reportado por Guccione (2009). Para

Madigan *et al.* (2004), el pH ácido se debe a la producción de ácido láctico generada por las bacterias lácticas como consecuencia de su propio metabolismo. Por lo que se observa que los valores reportados de esta investigación son aceptables de acuerdo a la consideración de otras investigaciones.

4.2.1. Determinación de la proporción óptima de los factores: residuos orgánico, inóculo y melaza en los tratamientos

Según la evaluación del parámetro pH se puede observar en la Tabla 11 que el pH inicial de todos los tratamientos para el día cero se encuentra entre los valores promedios 6.76 y 5.23. El valor más alto corresponde al tratamiento control T0 (0.5 kg de residuos orgánicos), mientras que el más bajo corresponde al tratamiento T7 (0.3 kg de residuos orgánicos; 0.1 kg de melaza y 0.1 L de inóculo-Lac).

También se observó que los tratamientos T1 (0.3 kg de residuos orgánicos; 0.05 kg de melaza y 0.1 L de inóculo-Lac), T2 (0.35 kg de residuos orgánicos; 0.05 kg de melaza y 0.1 L de inóculo-Lac) y T7 (0.3 kg de residuos orgánicos; 0.1 kg de melaza y 0.1 L de inóculo-Lac) mostraron un pH inicial muy cercano a cinco. En cada uno de estos tratamientos se notó que al incorporar la máxima cantidad de inóculo-lac (pH igual a 4.28) les proporcionó un medio ácido, además de contener una menor cantidad de residuos orgánicos lo que influyó en el descenso de pH inicial en comparación con los demás tratamientos.

El Día 1, luego de 24 horas de iniciada la experimentación, se observó que algunas unidades experimentales contenían gas en su interior, proceso que dejó de producirse con el transcurrir de los días. Este gas generado en los primeros días del proceso de fermentación, según Monroy (2017), es dióxido de carbono producido como producto de la respiración de la masa vegetal y del metabolismo propio de los microorganismos aerobios. Para Aguirre (2017), algunos de estos microorganismos son la *Klebsiella* y el *Acetobacter* que aprovechan el aire que queda en la bolsa para llevar a cabo su proceso metabólico.

En los días siguientes se puede observar en la Tabla 11 que el pH de las unidades experimentales va disminuyendo, esto según Mier (2009), menciona que la presencia de bacterias ácido lácticas como el *Lactobacillus fermentum* en condiciones anaerobias elaboran ácido láctico y ácido acético (en relación de 2:1), lo que posibilita que el pH disminuya. Esta condición propicia que se genere un medio que inhibe el crecimiento de bacterias aerobias y patógenos (Guccione, 2009), puesto que mientras el ácido láctico disminuye rápidamente el pH del medio, el ácido acético no solo inhibe el crecimiento de levaduras sino también mantiene una mayor estabilidad de bacterias aerobias. En tanto el tratamiento control T0 compuesto solo por residuos orgánicos, evidenció un ligero descenso de pH generado por el ácido acético propiciado por los microorganismos aerobios en los primeros días.

El último día (Día 5) se observó que todas las unidades experimentales, excepto el tratamiento control (T0), tuvieron una disminución de pH menor a 4.5. Sin embargo, pese a este descenso de pH, se observó una tenue capa blanca en la superficie de algunas unidades experimentales correspondientes a los tratamientos T4 (0.3 kg de residuos orgánicos; 0.05 kg de melaza y 0.05 L de inóculo-Lac), T5 (0.35 kg de residuos orgánicos; 0.05 kg de melaza y 0.05 L de inóculo-Lac) y T6 (0.35 kg de residuos orgánicos; 0.05 kg de melaza y 0.05 L de inóculo-Lac), según Meza (2014) esta capa blanca se debe a que la fuente de carbono no fue suficiente para que las bacterias ácido lácticas puedan proliferar. El mismo aspecto de la presencia de una tenue capa blanca se evidenció en los tratamientos T10 (0.3 kg de residuos orgánicos; 0.1 kg de melaza y 0.05 L de inóculo-lac), T11 (0.35 kg de residuos orgánicos; 0.1 kg de melaza y 0.05 L de inóculo-Lac) y T12 (0.4 kg de residuos orgánicos; 0.1 kg de melaza y 0.05 L de inóculo-Lac), que pese a haber contenido la máxima cantidad de melaza de caña, las bacterias lácticas no lograron desarrollarse. Por ello se descartaron estos tratamientos.

El análisis de varianza ($p \leq 0.05$), de los efectos principales de la melaza e inóculo (Inóculo-lac), y de los efectos de las interacciones doble (residuos*melaza, residuos*inóculo-Lac, melaza*inóculo-Lac) y triple (residuos*melaza*inóculo-Lac) de estos factores dieron como resultado ser significativos (ver Apéndice 3). Se puede observar en la Figura 6, que a mayor cantidad de melaza y a mayor cantidad de inóculo_Lac, hay un menor valor de pH. Estas

condiciones según lo indicado por Meza (2014) y Mier (2009) manifiestan la importancia de la fuente de carbono para fomentar la proliferación de bacterias ácido lácticas, quienes son las que influyen en que el pH disminuya.

El análisis de varianza ($p \leq 0.05$) de los valores de pH presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p= 0.000$) (Tabla 12). En tanto, la prueba de Tukey dio a conocer que los tratamientos T8, T9, T10 y T11 presentaron diferencias significativas (ver Apéndice 4). Sin embargo, se señaló que los tratamientos T10 y T11 se descartaron por presentar una ligera capa blanca, incumpliendo los requisitos de selección. Asimismo, el tratamiento T9 se descartó porque tuvo un pH mayor que el tratamiento T8 y presentó una consistencia semi seca pese a que contuvo la mayor cantidad de inóculo y melaza de “caña”.

Los tratamientos T2, T3 y T7 fueron excluidos porque no mostraron diferencias significativas con el tratamiento T8 (ver Apéndice 4). Además, aquellos tratamientos presentaron un pH mayor al seleccionado. Se consideró al tratamiento T1 pese a que no presentó diferencia significativa con el tratamiento T8 porque, al igual que este presentó uno de los valores de pH más bajo y una consistencia homogénea en comparación con el resto de los tratamientos.

La Figura 7, muestra la evolución del pH en los cinco días de evaluación para los 12 tratamientos. Se puede observar que pasada las 48 horas hubo un descenso de pH menor a 4,5 en todos los tratamientos, excepto el tratamiento control T0. Según Aguirre (2017), esta condición se debe a que el desarrollo de las bacterias ácido lácticas tienen una duración de 48 horas posterior a su periodo de incubación. Después de este tiempo se observa que los valores de pH disminuyeron en los 12 tratamientos, logrando llegar incluso a ser menores de cuatro en el Día 2. Esta tendencia es muy similar a lo reportado por Guccione (2009).

En tanto el tratamiento T0 no solo presentó olores fétidos a partir del Día 1, sino también que durante los cinco días de evaluación manifestó un pH mayor a cinco. Además, su

consistencia no presentó uniformidad y en los últimos días se observó la proliferación de mohos en la superficie.

4.2.2. Selección del tratamiento más eficiente de los tratamientos T1 y T8 para la producción del abono orgánico (biol)

La selección del tratamiento más eficiente se llevo a cabo entre los tratamientos preseleccionados T1 y T8, para ello se consideró la evaluación diaria de pH durante cinco días, cuyos valores promedio se muestran en la Tabla 13. Según los resultados, se puede observar que tanto en el día cero como en el día cinco los valores de pH de los tratamientos incluido el control T0, han disminuido ligeramente en comparación a lo registrado en la etapa de preselección. Ello se debe posiblemente a la influencia de la composición de los residuos orgánicos en la fermentación, puesto que algunos restos de frutas liberan ácido orgánico que infuyen en que el medio pueda acidificarse ligeramente siendo poco perceptible, y esto es debido a que la cantidad de ácido de una fruta dismiuye a medida que va madurando (Suárez, 2003).

Además, se observa en la Tabla 13 que en el Día 2, los tratamientos T1 y T8 tuvieron valores de $\text{pH} < 4$, manteniéndose así en los posteriores días. En el Día 5, se observó que ambos tratamientos no presentaron visiblemente microorganismos en la superficie ni olores desagradables. Sin embargo, se observó que el tratamiento T8 presentó mejor consistencia tanto en homogeneidad como en humedad en comparación con T1.

El análisis de varianza ($p \leq 0.05$) de los valores de pH mostró que no existe diferencia significativa ($p= 0.524$) entre los tratamientos T1 y T8 (ver Apéndice 7). De manera que pueda seleccionarse cualquiera de los dos tratamientos.

En la Figura 8 se observa que ambos tratamientos presentan una tendencia similar en el gráfico, sin embargo, es el tratamiento T8 quien hace mayor trababajo al degradar más cantidad de residuos orgánicos en los dos primeros días en comparación con el tratamiento T1. Y ambos al quinto día logran tener un pH menor a cuatro.

En tanto el tratamiento T0 mostró durante los cinco días un $\text{pH} < 7.5$ llegando incluso en el último día a llegar por debajo de cinco. Sin embargo, debido a que su composición solo fue de residuos orgánicos, este presentó en la superficie el desarrollo de mohos y levaduras, además de olores desagradables. De lo anterior, se infiere la importancia del uso de inóculo de bacterias ácido lácticas en la elaboración de abonos orgánicos procedente de residuos orgánicos, puesto que lo transforma en compuestos que puedan ser absorbidos por las plantas (Monroy, Iglesias y Valiño (2014), Tobía y Vargas (2013), Murray *et al.* (2008)).

Asimismo, se realizó la medición de producción de ácido láctico titulable de los tratamientos preseleccionados T1 y T8 en los cinco días de evaluación, presentando en este periodo una similar tendencia gráfica (Figura 9). En la Tabla 15 se muestra que en los días cero y uno el tratamiento T8 presenta ligeramente un mayor porcentaje de ácido láctico titulable respecto al tratamiento T1, según Aguirre (2017) y Meza (2014), esto se puede deber posiblemente a que el tratamiento T8 haya tenido mayor contenido de melaza. En tanto en el Día 5 ambos tratamientos presentan igual porcentaje de ácido láctico titulable. Es por ello que el análisis de varianza ($p \leq 0.05$) indicó que no existe diferencias significativas ($p = 0.926$) entre ambos tratamientos (Tabla 16).

En la Figura 10 se muestra la relación del pH con el porcentaje de ácido láctico titulable. Se observó que a medida que el pH disminuyó en el transcurso de los cinco días, en ese mismo lapso de tiempo el porcentaje de ácido láctico fue aumentando en ambos tratamientos, por lo que se evidencia que existe una relación inversamente proporcional entre el valor del pH y el porcentaje de ácido láctico producido en la fermentación de los residuos orgánicos.

Esta misma relación se evidenció en la fermentación de la cuyinaza (Aguirre, 2017) y en la fermentación de la papa de descarte (Meza, 2014), ambas fermentaciones homofermentativas. El ácido láctico producido en estas investigaciones fue mayor y en menor tiempo en contraste con la presente investigación que realizó una fermentación heterofermentativa por acción del *Lactobacillus fermentum*. Este comportamiento, constata lo señalado en la teoría relacionada a las bacterias ácido lácticas, en la que se menciona que

la producción de ácido láctico entre bacterias lácticas homofermentativas y heterofermentativas tiene una proporción de 2:1 (Madigan *et al.*, 2004). Si bien hay una diferenciación entre las bacterias ácido lácticas por el tipo de fermentación, ambas tienen la capacidad de transformar los diferentes tipos de residuos orgánicos generados por la actividad humana.

4.3. Selección del tratamiento T8 como el más eficiente

Se seleccionó el tratamiento T8 como el más eficiente frente al tratamiento T1, pese a que ambos lograron un menor pH y una producción similar de porcentaje de ácido láctico titulable, porque presentó una mejor consistencia homogénea y húmeda. Además, porque presentó mejor olor, pese a que el otro tratamiento no presentó olor desagradable, y principalmente porque fermentó mayor cantidad de residuos orgánicos. En relación a la obtención de biol, el tratamiento T8 produjo mayor cantidad de biol en comparación con el tratamiento T1 (Tabla 17). Por ello el biol extraído del tratamiento T8 fue caracterizado físico-químicamente y analizado microbiológicamente.

4.4. Caracterización físico-química del abono orgánico (biol) T8

El Biol T8, según la Tabla 18, se observó que el contenido de materia orgánica (MO) es elevado en comparación con otros bioles, a excepción de Fast biol 20 y Biol T4 que usaron como materia prima excretas de animales. No obstante, el contenido de materia orgánica en el Biol T8 es considerable. Según Aguirre (2017) la cantidad de materia orgánica presente en un fertilizante o abono es importante por la relación que tiene con el suelo, ya que no solo proporciona nutrientes, sino también lo activa biológicamente, mejora su estructura, facilita la circulación del agua y evita la compactación de modo que favorece la retención del agua, la aireación y el intercambio catiónico.

En cuanto a la conductividad eléctrica del Biol T8, se observó que es relativamente alta, sin embargo, este valor disminuirá conforme se realicen diluciones para su aplicación en la planta (Peralta, 2010).

En relación a los micronutrientes y macronutrientes los valores nutricionales mínimos que deben presentar un biol según Suarez (2009), basadas en las investigaciones realizadas por Corpoica y la Corporación PBA, son: Nitrógeno (N) >700 mg/L, Fósforo (P) >170 mg/L, Potasio (K) >1300 mg/L, Calcio (Ca) >1800 mg/L, Boro (B) >7 mg/L. De acuerdo a la caracterización realizado en el laboratorio LASPAF, el Biol T8 cumple los requisitos mencionados previamente a excepción del boro. Además, los valores de los nutrientes de Biol T8 son relativamente cercanos a lo reportado por Meza (2014) en la elaboración del fertilizante orgánico Papa Biol, y presentó valores superiores en la mayoría de los nutrientes a lo reportado por Ramos (2004) en la elaboración de Biol alfalfa y Biol con chicha de jora.

También se observó que los bioles elaborados específicamente con excretas de animales presentaron valores altos en comparación con los bioles elaborados con residuos orgánicos (restos de vegetales, frutas y restos de agricultura), esta diferenciación se presenta porque las excretas de animales por sí mismas son ricas en nutrientes y al ser tratadas por acción de las bacterias ácido lácticas hace que su valor nutricional aumente (Aguirre, 2017). Si bien la fuente de elaboración de biol varía, ambos tipos de bioles tienen la capacidad de ser considerados como abonos orgánicos. Además, mencionar que el requerimiento de nutrientes varía según el tipo de planta o cultivo.

Asimismo, tener en cuenta que los abonos orgánicos (bioles) son el resultado de diferentes procesos de descomposición de la materia orgánica (excretas de animales; cáscaras de frutas y verduras; residuos agrícolas, entre otros), donde la forma de preparación, los insumos, las proporciones para su elaboración; las condiciones ambientales y el tiempo a los que fueron sometidos definen características o particularidades únicas de cada biol (Díaz, 2017).

4.5. Análisis microbiológico del abono orgánico (biol) T8

En la Tabla 19, se observa la ausencia de coliformes totales y coliformes fecales en el Biol T8, sin embargo, este evidenció la presencia de recuento de mohos, levaduras y recuento de aerobios mesófilos viables.

La ausencia de coliformes totales y fecales se debe a la acción del *Lactobacillus fermentum* en el medio, puesto que al fermentar los carbohidratos producen ácidos orgánicos como el ácido láctico (en mayor cantidad) y el ácido acético (en menor cantidad), siendo la influencia del primero mayor que el segundo en el medio. Esta condición se da porque el ácido láctico producido disminuye rápidamente el pH del medio, inhibiendo la presencia de coliformes (Aguirre, 2017). Asimismo, otra influencia antimicrobiana del *Lactobacillus fermentum* son los metabolitos producidos durante la fermentación tales como las bacteriocinas, compuestos aromáticos, enzimas bacteriológicas, peróxido de hidrógeno (H_2O_2), entre otros. Además, la competencia entre comunidades microbianas también tiene una acción inhibitoria, puesto que prevalecieron las bacterias ácido lácticas presente en el inóculo de *Lactobacillus fermentum* ante otros microorganismos (Aguirre, 2017; Román, 2012).

La presencia de levaduras y mohos presentados en esta investigación es menor a lo reportado por Aguirre (2017), quien elaboró biol a partir de excretas de cuy. Cabe mencionar que el ácido acético producido tiene una acción inhibitoria sobre las levaduras, por ello la diferencia de la cantidad presente en ambos tipos de bioles. Si bien se observó la presencia de aerobios mesófilos viables, estos fueron estabilizados por el ácido acético (Mier, 2009). Por lo que se puede inferir que existe menor carga microbiana patógena en residuos orgánicos fermentados por bacterias ácido lácticas que en excretas de animales fermentadas por el mismo tipo de bacterias

4.6. Relación C/N del abono orgánico (biol) T8

La Tabla 20 indicó que la relación C/N del Biol T8 fue 40.12. Si bien no existe un parámetro de evaluación de C/N para bioles (Buchelli, 2014), se toma como referencia los rangos considerados para el abono compost. Además, la variación de la relación C/N se da en función de las materias primas que conforman el abono orgánico. Teóricamente, la relación de C/N puede variar entre los intervalos 10:1 – 35:1 o 10:1 – 40:1, siendo considerado el rango de 25 a 35 el más óptimo (Díaz, 2017; Yugsi, 2011). Sin embargo, el rango de 30:1 a 40:1 también es considerado como apto para abonos orgánicos (Gómez, 2007; Yugsi, 2011). Asimismo, valores mayores de 40:1 pueden considerarse como aceptables, sin embargo, el tiempo de la descomposición de los materiales orgánicos se dilata (Díaz, 2017; Dalzell,

1991). De lo anterior, la relación C/N del Biol T8 puede considerarse que esta dentro del rango permitido.

4.7. Estabilidad del abono orgánico (biol) T8

Según Aguirre (2017) evaluar la estabilidad del abono orgánico es importante, puesto que los microorganismos presentes en su composición pueden ir neutralizándose con el transcurrir del tiempo generando variación en sus características.

La Tabla 21 muestra los valores registrados de la evaluación de pH del biol T8 durante un mes. Se observó que durante los primeros 15 días el biol mantuvo un valor constante de 3.63 de pH, valor superior a lo reportado por Aguirre (2017) e inferior a lo reportado por Román (2012). Posterior a los 15 días, el valor fue incrementándose hasta llegar a 3.70 en el día 30 (Figura 10). En base a lo evaluado durante este periodo, se podría señalar que el Biol T8 se conservo estable.

4.8. Variables agronómicas evaluadas post-cosecha de las plantas de rabanito

El análisis de varianza ($p \leq 0.05$) de las variables agronómicas (ver Apéndice 15) muestra que para las variables altura de la planta y cantidad de hojas se evidenció que no existen diferencias significativas entre la variación de los tratamientos. Sin embargo, la altura de las plantas de rabanito de esta investigación presentaron valores altos en comparación a lo reportado por Ulloa (2015) quien aplicó biol de gallizana y por Vincent (2013) quien aplicó humus líquido a las plantas de rabanito. En tanto, para las variables área foliar y peso del producto se evidenció que si existen diferencias significativas ($p=0.017$) y ($p=0.000$) respectivamente entre la variación de los tratamientos.

La prueba de Tukey para la variable área foliar mostró que los tratamientos Tr1 (dilución 1/100) y Trq (biol comercial) no presentaron diferencias significativas entre sí, por lo que se eligió Tr1. No obstante, mostró que este último tratamiento y Tr2 presentaron diferencias significativas, de modo que se consideraron ambos tratamientos. Asimismo, la prueba de Tukey para la variable peso del producto evidenció diferencia significativa entre la variación

de todos los tratamientos (Tr1, Tr2, Tr3 y Tr4), incluido el tratamiento Trq. Cabe mencionar que esta variable agronómica fue determinante para la selección del mejor tratamiento en relación a la dilución del Biol T8. En la Figura 15, se observó que en todos los tratamientos hubo crecimiento del producto, excepto en el tratamiento Tr1 que a pesar de haber desarrollado un follaje aceptable no se evidenció tal crecimiento. De los tratamientos Tr1, Tr2, Tr3 y Tr4 se seleccionó al tratamiento Tr2 porque presentó un producto con mayor peso en contraste con los otros productos. Además, el valor numérico del peso del producto de Tr2 fue mayor a los reportado por Ulloa (2015), cuya dilución de biol (gallinaza) fue de 10 ml/L.

Asimismo, el tratamiento control Tr0 (Tabla 22) evidenció crecimiento y desarrollo del producto, sin embargo, el peso de este fue menor al que presentó el tratamiento seleccionado. No obstante, se observó que Tr0 presentó un comportamiento similar al tratamiento Tr4.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

1. La cepa aislada de la chicha de siete semillas, proveniente de Ayacucho, pertenece al género *Lactobacillus* de acuerdo a la identificación morfológica y bioquímica.
2. La identificación molecular de la cepa aislada de la chicha de siete semillas, complementaria a la investigación, corresponde al *Lactobacillus fermentum*, cuyo metabolismo es heterofermentativo.
3. El tratamiento T8 constituido por 350 g de residuos orgánicos provenientes del comedor universitario UCSS, 100 g de melaza de caña y 100 ml de inóculo de bacterias *Lactobacillus fermentum* (inóculo_Lac) fue seleccionado como el mejor tratamiento porque logró menor pH, olor agradable, mejor consistencia y fermentó mayor cantidad de residuos orgánicos.
4. El Biol T8 presentó características agronómicas al poseer 2430.40 mg/L de nitrógeno (N), 244.44 mg/L de fósforo (P), 2438.00 mg/L de potasio (K) y 168.29 g/L de materia orgánica, además de micronutrientes. Asimismo, evidenció estar libre de la presencia de colifomes fecales y totales.
5. El Biol T8 resultó con 40.12 de relación C/N, valor considerado apto para abonos orgánicos.
6. El Biol T8 mantuvo una estabilidad por un periodo de 30 días al no sobrepasar el valor de 3.70 de pH.
7. El Biol T8 diluido al 0,1/100 (correspondiente al tratamiento Tr2) fue la concentración más óptima en el crecimiento de la planta de rabanito, puesto que reportó el desarrollo del producto rabanito con un peso superior de 16.14 g en contraste con los demás tratamientos.

8. El Biol T8 elaborado en la presente investigación contribuye a la Seguridad Alimentaria puesto que es un producto orgánico que no afecta al cultivo y por ende a la salud de la persona.

9. La estabilidad del Biol T8 por un periodo de 30 días posibilita su aplicación en la agricultura.

CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES

- Llevar a cabo un análisis como fitohormonas al biol elaborado con la finalidad de determinar su capacidad fitorreguladora en el desarrollo de la planta.
- Probar la aplicación foliar del biol elaborado sobre diferentes tipos de cultivos, tomando en cuenta sus consideraciones agronómicas, para así averiguar en cuál de ellos es más eficiente.
- Realizar investigaciones sobre el Biosol T8 sobre diversos cultivos como abono orgánico sobre el suelo.
- Realizar investigaciones con otros tipos de residuos orgánicos provenientes de restaurantes.
- La aplicación foliar del biol elaborado debe considerarse en etapas críticas del cultivo.
- Estudiar la estabilidad del Biol T8 por un periodo mayor a 30 días y aplicar técnicas que conserve sus propiedades agronómicas con la finalidad de ser usado en la producción agrícola.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, W. y Peralta, M. (2015). *Elaboración de abonos orgánicos a partir del compostaje de residuos agrícolas en el Municipio de Fusagasugá*. (Tesis de grado). Universidad Cundinamarca. Fusagasugá, Colombia.
- Aguirre, E. (2017). *Producción de biofertilizante mediante fermentación de la cuyinaza por bacteria del género Lactobacillus aislada del fermento de la chicha de cebada*. (Tesis de grado). Universidad Católica Sedes Sapientiae. Lima, Perú.
- Agyeman, O., y Tao, W. (2014). Anaerobic co-digestion of food waste and dairy manure: Effects of food waste particle size and organic loading rate. *Journal of environmental management*, 133, 268-274.
- Aldón, D. (2008). *Estrategia Ambiental de aprovechamiento de la macroalga Ulva lactuca (lechuga de mar) a través del proceso de ensilaje*. (Tesis de grado). Universidad Agraria La Molina. Lima, Perú.
- Aparicio, G. (2016). Aislamiento de bacterias lácticas de alimentos lácteos: producción de bacteriocinas. (Tesis de grado). Universidad de Jaén. Recuperado de http://tauja.ujaen.es/bitstream/10953.1/3951/1/TFG_Mateos_Aparicio_Romero_de_%C3%81vila_Gabriel.pdf
- Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental-AIDIS; Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo-IDRC (2005). *Directrices para la gestión integrada y sostenible de residuos sólidos urbanos en América Latina y el Caribe*. Sao Paulo: AIDIS-IDRC. Recuperado de http://www.aidis.org.br/PDF/libro_residuos_solidos.pdf.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1988). *Agricultural liming materials*. Maryland, USA: AOAC.
- Bailón, H.; Castillo, I.; Pablo, M.; Topiño, Y.; Velásquez, M. y La Rosa, R. (2007). Respuestas fisiológicas de *Raphanus sativus* L. frente a tres concentraciones de Mg^{+2} . *Biologist (Lima)*, 5 (1), 11-18.
- Bailón, L., Cruz, R., y Cervantes, A. (2003). Atlas de Pruebas Bioquímicas para identificación de bacterias. Recuperado de https://www.academia.edu/4858992/Atlas_de_pruebas_bioquimicas_para_identificar_bacterias

- Barrios, F. (2001). *Efectos de concentraciones de biol al suelo y foliarmente en el cultivo de vainita (Phaseolus vulgaris L.)*. (Tesis de doctorado). Universidad Agraria La Molina, Lima, Perú..
- Basantes, C. (2015). *Evaluación del uso balanceado orgánico vs. el alimento industrial sobre la conservación alimenticia de la Oreochromis sp (Tilapia) criada en cultivo intensivo*. (Tesis de grado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/6944>
- Bazán, V., y Vargas, T. (2017). Aislamiento de *Lactobacillus* nativos de productos de fermentación en la ciudad de Tacna. *Ciencia & Desarrollo*, (11),61-66. <https://doi.org/10.33326/26176033.2007.11.226>
- Belén, M., y Menéndez, N. (2002). *Estabilización anaeróbica de desechos de comida para la elaboración de suplementos alimenticios para cerdos*. (Tesis de grado). Universidad Earth, Guácimo, Costa Rica.
- Buchelli, H. (2014). *Producción de biofertilizante de bagazo de cebada, excretas de vacuno y suero de quesería mediante fermentación homolácticas* (Tesis de doctorado). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú).
- Cabrera, O. (2016). *Producción de probióticos y bacteriocinas a partir de desechos agrícolas*. (Tesis de grado). Instituto politécnico nacional. D. F, México.
- Campbell, N., y Reece, J. (2007). *Biología*. Recuperado de https://books.google.com.pe/books?id=QcU0yde9PtkC&dq=fosforilacion+a+nivel+de+sustrato+fermentacion&hl=es&source=gbs_navlinks_s
- Capcha, M. (2014). *Evaluación de la macroalga Ulva lactuca como aportante de nutrientes a un inóculo metanogénico en la producción de biogás y biol mediante digestión anaerobia de residuos orgánicos del comedor de la Universidad Agraria La Molina (UNALM)*. (Tesis de grado). Universidad Agraria La Molina. Recuperado de http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1905/P06_C362%20-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Carlin, S. y Ronnie, E. (2015). *Evaluación del potencial energético a partir del metano producido por codigestión de residuos de alimentos y estiércol vacuno*. (Tesis de grado). Escuela Agrícola Panamericana. Recuperado de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4497/1/IAD-2015-006.pdf>

- Casavilca, M. y Serrano, E. (2016). *Propuesta de un programa de eco-eficiencia para la reducción de residuos orgánicos en el comedor de la UNALM*. (Tesis de grado). Universidad Agraria La Molina.. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2566/Q70-C38-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cavallini, R. (2005). *Bacteriología general: Principios y prácticas de laboratorio*. Editorial Universidad de Costa Rica.
- Contreras, F., y Musk, R. (2006). Inoculantes Microbiales para Ensilaje. *Revista Focus on Forage*, 8(4), 4.
- Crespo, A. (2018). *Bacterias ácido lácticas con capacidad antagónica y actividad bacteriocinogénica aisladas de quesos frescos*. (Tesis de grado). Universidad del Azuay. Recuperado de <http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/8595>
- Criollo, H. y García, J. (2009). Effect of planting density on the growth of radish (*Raphanus sativus* L.) plants under greenhouse conditions. *Colombian Journal of Horticultural Science*, 3(2), 210-222.
- Dalzell, H. (1991). *Manejo del suelo, producción y uso del composte en ambientes tropicales y subtropicales*. Recuperado de https://books.google.com.pe/books?id=WgZ47ud_bpoC&pg=PA23&dq=que+significa+una+relacion+C/N+ALTA&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj_m4L9rtDiAhWPrVvKkHZPRCFAQ6AEIJzAA#v=onepage&q=que%20significa%20una%20relacion%20C%2FN%20ALTA&f=false
- Dan, T., Liu, W., Song, Y., Xu, H., Menghe, B., Zhang, H., y Sun, Z. (2015). The evolution and population structure of *Lactobacillus fermentum* from different naturally fermented products as determined by multilocus sequence typing (MLST). *BMC microbiology*, 15(1), 107.
- Del Campo, M. y Gómez, H. (2008). Bacterias Ácido Lácticas con capacidad antagónica y actividad bacteriocinogénica aisladas de quesos frescos. *Revista Digital Científica y Tecnológica e-Gnosis*, 6, 1-17.
- Delgado, R. y Torres, D. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 14, 158-164.

- Díaz García, M. (2012). *Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias productoras de histamina en queso*. (Tesis de maestría). Universidad de Oviedo. Oviedo, España.
- Díaz, L. (2017). *Elaboración de abono orgánico (biol) para su utilización en la producción de alfalfa (Medicago sativa v. vicius) en Cajamarca*. (Tesis de grado). Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. Recuperado de <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/215/Tesis%20Final.pdf?sequence=5&isAllowed=y>
- Díaz, A. (2017). Características fisicoquímicas y microbiológicas del proceso de elaboración de biol y su efecto en germinación de semillas. (Tesis de maestría). Universidad Nacional Agraria La Molina. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2792/F04-D5335-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Escobedo, B. (2015). Calidad de una vermicomposta en laboratorio y sus efecto en el desarrollo de Solidago x híbrida, bajo cubierta plástica. (Tesis de grado). Universidad Autonoma del Estado de México, Tenancingo, México.
- Fontana, C., Cocconcelli, P. S., y Vignolo, G. (2005). Monitoring the bacterial population dynamics during fermentation of artisanal Argentinean sausages. *International journal of food microbiology*, 103(2), 131-142.
- Fraume, N. (2007). Diccionario Ambiental. Recuperado de <http://booksmedicos.org/diccionario-ambiental-nessor-julio-fraume/>
- Ganduglia, F., León, J. G., Gasparini, R., Rodríguez, E., Huarte, G. J., Estrada, J., y Filgueiras, E. (2009). *Manual de biocombustibles*. IICA, ARPEL.
- Garcés, A., Berrio, L., Ruiz, S., Serna, J. y Builes, A. (2004). Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación*, 1(1), 66-71. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/695/69511010.pdf>
- García, J. (2011). *Técnicas moleculares aplicadas a la caracterización y estudio de la supervivencia de bacterias lácticas del yogur* (Tesis doctoral). Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.
- García, L. A. (2008). *Uso de bacterias probióticas en el ensilado de residuos de pescado*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

- Gómez, M. (2006). *Introducción a la metodología de la investigación científica*. Argentina, Córdoba: Editorial Brujas. Recuperado de https://books.google.com.pe/books?id=9UDXPe4U7aMC&pg=PA59&dq=enfoque+cuantitativo+investigacion&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwifpuHSr_flAhWrs1kKHbxJBI4Q6AEIKDAA#v=onepage&q=enfoque%20cuantitativo%20investigacion&f=false
- Gómez, J. (2007). *Producción de abonos orgánicos de buena calidad*. Bogotá: Promudios.
- Guailupo, C., Motta, E. y Quiroz, F. (2017). *Gestión de residuos orgánicos en el restaurant El Mesón-Santa Anita para la producción de biogás*. (Tesis de grado). Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú
- Guccione, L. (2009). *Tratamiento de residuos orgánicos del comedor universitario de la UNALM para su uso como alimento para cerdos en crecimiento*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. Recuperado de http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/9266/GUAILUP_O_MOTTA QUIROZ_GESTION_DE_RESIDUOS_ORGANICOS_EN_EL_RESTAURANTE.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). (1983). *Metodología para análisis microbiológico*. ICMSF.
- Ito, S. (2006). *Caracterización y evaluación de los factores que determinan la calidad nutricional e inocuidad en la producción de fertilizantes orgánicos fermentados*. (Tesis de maestría). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. Recuperado de http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/4595/Caracterizacion_y_evaluacion_de_los_factores.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Jaramillo, G. y Zapata, L. (2008). *Aprovechamiento de los residuos sólidos en Colombia*. (Tesis de grado). Universidad de Antioquía. Medellín, Colombia.
- Labatut, A., Angenent, T., y Scott, R. (2011). Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. *Bioresource technology*, 102(3), 2255-2264.
- Lara, C., García, L. y Oviedo, L. (2011). Biofertilizer effect of the prepared from vegetales wastes -diazotroph native bacterium on biometrics variables of *Rhapanus sativus* seedlings. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 13(1), 156-162.
- López, V. y Flores, M. (2017). *Biotransformación de Residuos Orgánicos en la Secretaría Distrital de Salud*. (Tesis de grado) Universidad Distrital Francisco José de Caldas.

Recuperado de
<http://repository.udistrital.edu.co/bitstream/11349/5179/1/FlorezVargasMaicolEstiven2017.pdf>

- Madigan, M; Martinko, J. y Parker, J. (2004). *Brock Biología de los Microorganismos*. (10th ed.) Madrid: Prentice Hall.
- Madrid, V. (2013). Apunte de Apoyo para Trabajos Prácticos de Microbiología. Recuperado de
http://repositorio.udec.cl/bitstream/handle/11594/733/Apunte_%20Apoyo_Para%200_TrabajoPracticos_deMicrobiologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Mamani, T. (2015). *Efecto del biol en el cultivo asociado de rábano (Raphanus sativus L.), lechuga suiza (Valerianella locusta), en ambiente atemperado de Cota Cota*. (Tesis de grado). Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia.
- Mantilla, L., y Portacio, B. (2012). Potencial probiótico de cepas nativas para uso como aditivos en la alimentación avícola. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(1), 31-40.
- Marino, J. (2017). Efecto de concentraciones y frecuencias de aplicación del biol en el cultivo de rábano chino (*Raphanus sativus* l. var. *longipinnatus*) en la estación experimental de cota cota – La Paz. (Tesis de grado). Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia.
- Medina, A., Quipuzco, L. y Juscamaita, J. (2015). Evaluación de la calidad de biol de segunda generación de estiércol de ovino producido a través de biodigestores. In *Anales Científicos*. 76(1), 116-124.
- Mejía, J., Chacón, Z., Guerrero, B., Otoniel, J., y López, G. (2007). Obtención de cepas de lactobacillus.: Caracterización in-vitro como potenciales probióticas. *Revista científica*, 17(2), 178-185.
- Meng, Y., Li, S., Yuan, H., Zou, D., Liu, Y., Zhu, B., Chufo, A., Jaffar, M., y Li, X. (2015). Evaluating biomethane production from anaerobic mono- and co-digestion of food waste and floatable oil (FO) skimmed from food waste. *Bioresour. Technol.* 185, 7-13.
- Meza del Aguila, M, (2014). *Elaboración de abono líquido mediante fermentación homoláctica de papas de descarte utilizando el consorcio microbiano ácido láctico B-lac*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú..

- Mier, M. (2009). *Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero*. (Tesis de maestría). Universidad de Córdoba, Córdoba, España..
- Ministerio del Ambiente (2012). *Informe Anual de Residuos Sólidos Municipales y No Municipales en el Perú Gestión 2012*. Lima: Ministerio del Ambiente. Recuperado de <http://redrrss.minam.gob.pe/material/20140423145035.pdf>
- Ministerio del Ambiente (2014). *Sexto Informe Nacional de Residuos Sólidos del Ámbito Municipal y No Municipal 2013*. Lima: Ministerio del Ambiente. Recuperado de <http://redrrss.minam.gob.pe/material/20160328155703.pdf>
- Mondragón, G., Escalante, P., Osuna, J., Ibarra, V., Morlett, J., Aguilar, C. y Rodríguez, R. (2013). Bacteriocinas: características y aplicación en alimentos. *Investigación y Ciencia*, 21(59).
- Monroy, D., Iglesias, E., y Valiño, E. (2014). Consorcios microbianos con actividad ácido-láctica promisorios aislados desde inoculantes bacterianos nativos para ensilajes. *Revista ciencia y Agricultura*, 11(1), 17-25.
- Monroy, A. C. (2017). *Evaluación de la producción de metabolitos en el proceso de ensilaje a partir de bagazo de caña de azúcar (saccharum officinarum)*. (Tesis de maestría). Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.
- Moreno, L. (2012). *Aislamiento y selección de Lactobacillus sp. con potencial probiótico a partir de pan de abejas*. (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia..
- Murray, R., Cerezal, P., Bermudez, P., Bugueño, R., y Muñoz, H. (2008). Utilización de residuos alimentarios para elaborar un ensilado láctico. En *I simposio Iberoamericano de ingeniería de residuos*. Recuperado de <http://www.redisa.net/doc/artSim2008/tratamiento/A15.pdf>
- O'Farrill, S. (2010). *Proyecto de Manejo de Desechos en el Restaurante Escuela de la Licenciatura de Artes Culinarias*. (Tesis de grado) Universidad de las Américas Puebla. Recuperado de http://caterina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lhr/sesma_o_mf/capitulo4.pdf
- Ojeda, S., Lozano, G., Quintero, M., Whitty, K., y Smith, C. (2008). Generación de residuos sólidos domiciliarios por periodo estacional: el caso de una ciudad Mexicana. *I Simposio Iberoamericano sobre Ingeniería de Residuos REDISA*, 23-24. Recuperado

de <http://www.redisa.net/doc/artSim2008/gestion/A26.pdf>.

- Organización Panamericana de la Salud. (2005). *Informe de la Evaluación Regional de los Servicios de Manejo de Residuos Sólidos Municipales en América Latina y el Caribe*. Washington, Dc: OPS. Recuperado de http://www.bvsde.paho.org/cursoa_mrsm/e/fulltext/informe.pdf
- Ortiz, M. (2006). *Identificación bioquímica de bacterias ácido lácticas aisladas a partir de productos lácteos en el Estado de Hidalgo*. (Tesis de grado). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Hidalgo, México.
- Ossa, J., Vanegas, M. y Badillo, A. (2010). Evaluation of cane molasses as substrate for *Lactobacillus plantarum* growth. *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica*, 13(1), 97-104. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262010000100011&lng=en&tlng=es
- Parra, R. (2010). Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(1), 93-105..
- Patrone, V., Molinari, P., y Morelli, L. (2016). Microbiological and molecular characterization of commercially available probiotics containing *Bacillus clausii* from India and Pakistan. *International journal of food microbiology*, 237, 92-97.
- Peralta, L. (2010). *Determinación de parámetros óptimos en la producción de fast biol usando las excretas del ganado lechero del establo de la Universidad Agraria La Molina (UNALM)*. (Tesis de grado). Universidad Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Peralta, L., Juscamaita, J. y Meza, V. (2016). Obtención y caracterización de abono orgánico líquido a través del tratamiento de excretas de ganado vacuno de un establo lechero usando un consorcio microbiano de ácido láctico. *Ecología Aplicada*, 15(1), 1-10.
- Perez, B., Copacalle, E., Saavedra, A., y Heredia, L. (2015). Alimentos balanceados y abonos orgánicos a partir de cascaras de frutas y hortalizas.
- Ramírez, J., Rosas, P., Velázquez, M., Ulloa, J. y Arce, F. (2011). Bacterias lácticas: importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente*, 2(7), 1-16. Recuperado de <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-07/1.pdf>
- Ramos, M. (2004). Efecto de bioles en la producción de maíz morado (Tesis de grado).

Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

Rodríguez, J. (2011). *Aislamiento e identificación de microorganismos con presuntivo potencial probiótico a partir de heces de animales de producción industrial*. (Tesis de grado). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Rodríguez, M. (2009). *Aislamiento y selección de cepas del género Lactobacillus con capacidad probiótica e inmunomoduladora*. (Tesis de doctorado). Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España.

Rojas, H. (2014). Estudio del efecto de la aplicación de microorganismo efectivos en la calidad del biol en un proceso de biodigestión anaeróbica. (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1878/F04-R633-T.pdf?sequence=5&isAllowed=y>

Rojas, L. (2012). *Aislamiento e identificación de lactobacillus spp. de heces de niños lactantes y caracterización parcial in vitro de su potencial probiótico*. (Tesis de grado). Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.

Román, C. (2012). *Tratamiento biológico de la cuyinaza a través de un proceso de fermentación homoláctica*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

Sánchez, L., Vichi, J., Llanes, M., Castro, E., Soler, D., Espinosa, I., Kociubinski, G. y Ferreira, C. (2011). Aislamiento y caracterización in vitro de cepas de Lactobacillus spp. como candidato a probióticas. *Revista de Salud Animal*, 33(3), 154-160.

Santamaría, S. (2009). *Evaluación microbiana, hormonal y nutricional de ocho formulaciones en la preparación de biol y su aplicación en tres dosis en el cultivo de palmito (Bactris Gasipaes HBK)* (Tesis de grado). Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Sangolquí, Ecuador.

Sedano, L. (2006). *Selección de cepas nativas de Lactobacillus con actividad inhibitoria y tolerantes al etanol aisladas de "masato"*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Silva, M., y García, J. (2006). *Técnico especialista en laboratorio de Atención Primaria*. Sevilla: Editorial MAD SL.

- Siura, S., Barrios, F., Delgado, J., Dávila, S., y Chilet, M. (2009). Efectos del biol (Abono orgánico líquido) en la producción de hortalizas. *Vertientes del pensamiento agroecológico: fundamentos y aplicaciones*, 289. Recuperado de <https://www.socla.co/wp-content/uploads/2014/Vertientes-del-pensamiento-agroecologico.pdf>
- Siura, S., Montes, I. y Dávila, S. (2016). Efecto del biol y la rotación con abono verde (*Crotalaria juncea*) en la producción de espinaca (*Spinacea oleracea*) bajo cultivo orgánico. *In Anales Científicos*, 70(1), 1-8.
- Suárez, M., y Diana, X. (2003). Guía de procesos para la elaboración de néctares, mermeladas, uvas pasas y vinos. Bogotá Siglo del Hombre Editores SA.
- Sumba, L. (2015). *Evaluación de la calidad nutritiva de un ensilado para la alimentación de ganado lechero a partir de los residuos provenientes del trillado de la quinua (Chenopodium quinoa Wild) y sangorache (Amaranthus hybridus L.), con la adición de dos aditivos (urea 1%- 1,5%) y (melaza 5%-10%)*. (Tesis de grado). Universidad Técnica de Cotopaxi. Latacunga, Ecuador.
- Thompson, L. y Troeh, F. (1988). *Los suelos y su fertilidad*. Barcelona: Reverté.
- Todorov, D., y Holzapfel, H. (2015). Traditional cereal fermented foods as sources of functional microorganisms. In *Advances in fermented foods and beverages* (pp. 123-153). UK: Woodhead Publishing.
- Tobía, R., y Vargas, E. (2013). Inóculos bacterianos: una alternativa para mejorar el proceso fermentativo en los ensilajes tropicales. *Nutrición Animal Tropical*, 6 (1), 129-143.
- Trinidad, A. y Aguilar, D. (1999). Fertilización foliar, un respaldo importante en el rendimiento de los cultivos. *Terra Latinoamericana*, 17(3), 247-255.
- Ulloa, J. (2015). *Valoración de tres tipos de bioles en la producción de rábano (Raphanus sativus)*. (Tesis de Maestría). Universidad de Piura. Piura, Perú.
- Vincent, C. (2013). *Comportamiento agronómico de tres variedades de rábano. (Rhapanus sativus), con diferentes densidades de siembra aplicando abono orgánico líquido*. (Tesis de grado). Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Recuperado de <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/554/1/T-UTEQ-0042%281%29.pdf>
- Xu, F., Li, Y., Ge, X., Yang, L., y Li, Y. (2018). Anaerobic digestion of food waste—Challenges and opportunities. *Bioresource technology*, 247, 1047-1058. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.020>

Yong, Z., Dong, Y., Zhang, X., y Tan, T. (2015). Anaerobic co-digestion of food waste and straw for biogas production. *Renewable energy*, 78, 527-530.

Yugsi, L. (Ed.). (2011). *Módulo V: Elaboración y uso de abonos orgánicos: Módulos de capacitación para capacitadores*. Recuperado de <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/95/1/iniapsc300cd.pdf>

Zarkadas, S., Sofikiti, S., Voudrias, A., y Pilidis, A. (2015). Thermophilic anaerobic digestion of pasteurised food wastes and dairy cattle manure in batch and large volume laboratory digesters: Focussing on mixing ratios. *Renewable Energy*, 80, 432-440.

Zhang, L., Lee, W., y Jahng, D. (2011). Anaerobic co-digestion of food waste and piggery wastewater: focusing on the role of trace elements. *Bioresource technology*, 102(8), 5048-5059.

TERMINOLOGÍA

Los siguientes términos han sido considerados del Diccionario Ambiental cuyo autor es Fraume (2007).

- **Acidez.** Contenido o concentración de iones de hidrógeno en una solución, que se expresa con un valor en la escala del pH. Una solución es ácida si la concentración de hidrógeno (H) es mayor que la de iones de hidróxido (OH). Son ácidas las disoluciones que tienen un pH menor que 7.
- **Ácido.** Compuesto que contiene hidrógeno, el cual se puede reemplazar, parcial o totalmente, con un metal para formar una sal. Los ácidos por lo general de sabor acre, son generalmente corrosivos y tornan rojo el tornasol azul (tinte vegetal). Hay dos clases, los ácidos inorgánicos o minerales derivados de fuentes minerales y ácidos orgánicos que contienen carbono, derivados de fuentes vivientes.
- **Agente patógeno.** Virus, bacteria, hongo, microbio, gusano o cualquier otro ser vivo capaz de producir una enfermedad.
- **Anaerobiosis.** Procesos metabólicos que tienen lugar en ausencia de oxígeno, es decir la utilización biológica de los nutrientes en ausencia de aire. Si es anaerobiosis estricta significa que el oxígeno impide el proceso.
- **Análisis microbiológico.** Estudio de los pequeños organismos vivientes en las aguas y líquidos, especialmente de los que se presume de contaminados, que tiene por objeto identificarlos y determinar su cantidad.
- **Bacilo.** Denominación de carácter morfológico aplicado en bacteriología a toda bacteria cuya forma es alargada, recordando el aspecto de un bastón pequeño.
- **Bacteria.** Término genérico que cubre el conjunto de los microorganismos unicelulares procariotas con núcleo desprovisto de membrana, con cromosoma único, provistos generalmente de una pared exterior y capaces de multiplicarse por escisión.

- **Bacteria anaeróbica.** Microbio capaz de vivir sin la presencia de oxígeno molecular, que requiere condiciones anóxicas para degradar la materia orgánica.
- **Calentamiento global.** Término utilizado para describir el recalentamiento general del planeta, probablemente debido, principalmente, a las actividades del ser humano, recalentamiento que está teniendo lugar por la acumulación de gases llamados gases de efecto invernadero, en la atmósfera superior de la tierra.
- **Fermentación.** Cambios químicos en las sustancias orgánicas producidos por la acción de las enzimas. Conversión biológica anaeróbica de las moléculas orgánicas, generalmente hidratos de carbono, en alcohol, ácido láctico y gases, mediante la acción de ciertas enzimas que actúan directamente o como componentes de ciertas bacterias y levaduras.
- **Patógeno.** Productor o causante de una enfermedad. Que puede contagiar. Organismo o partícula que causa enfermedad.

APÉNDICES

Apéndice 1

Registro diario de los valores del parámetro pH de los tramientos y sus respectivas réplicas

Tratamientos		Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
T0	Réplica 1	6.8	5.2	5.12	5.21	4.96	4.93
	Réplica 2	6.78	6.04	5.18	5.4	5.09	5.36
	Réplica 3	6.7	6.02	5.11	5.35	5.14	5.18
	X ±DE	6.76±0.05	5.75±0.48	5.14±0.04	5.32±0.10	5.06±0.09	5.16±0.22
T1	Réplica 1	5.47	4.65	3.93	3.72	3.68	3.6
	Réplica 2	5.5	4.98	3.88	3.68	3.68	3.52
	Réplica 3	5.43	4.81	3.86	3.7	3.65	3.53
	X ±DE	5.47±0.04	4.81±0.17	3.89±0.04	3.70±0.02	3.67±0.02	3.55±0.04
T2	Réplica 1	5.33	4.63	3.94	3.78	3.65	3.58
	Réplica 2	5.32	4.47	4.03	3.75	3.63	3.56
	Réplica 3	5.4	4.75	3.93	3.71	3.61	3.6
	X ±DE	5.35±0.04	4.62±0.14	3.97±0.06	3.75±0.04	3.63±0.02	3.68±0.02
T3	Réplica 1	5.55	4.71	3.97	3.67	3.64	3.61
	Réplica 2	5.51	4.61	4.00	3.92	3.65	3.6
	Réplica 3	5.49	4.46	4.95	3.82	3.61	3.58
	X ±DE	5.52±0.03	4.59±0.13	4.31±0.56	3.80±0.13	3.63±0.02	3.60±0.02
T4	Réplica 1	5.75	4.59	3.93	3.76	3.65	3.59
	Réplica 2	5.71	4.68	3.9	3.8	3.69	3.62
	Réplica 3	5.7	4.66	3.97	3.85	3.64	3.57
	X ±DE	5.72±0.03	4.64±0.05	3.93±0.04	3.80±0.05	3.66±0.03	3.59±0.03
T5	Réplica 1	5.96	4.69	3.9	3.8	3.7	3.59
	Réplica 2	5.93	4.62	3.95	3.74	3.67	3.58
	Réplica 3	5.99	4.73	3.89	3.75	3.65	3.55
	X ±DE	5.96±0.03	4.68±0.06	3.91±0.03	3.76±0.03	3.67±0.03	3.57±0.02
T6	Réplica 1	5.92	4.5	3.9	3.8	3.68	3.6
	Réplica 2	5.98	4.63	4.00	3.8	3.64	3.57
	Réplica 3	5.9	4.42	3.88	3.78	3.69	3.59
	X ±DE	5.93±0.04	4.52±0.11	3.93±0.06	3.79±0.01	3.67±0.03	3.59±0.02
T7	Réplica 1	5.23	4.88	3.97	3.88	3.69	3.59
	Réplica 2	5.29	4.75	4.2	3.91	3.73	3.6
	Réplica 3	5.17	4.88	3.99	3.84	3.67	3.58
	X ±DE	5.23±0.06	4.84±0.08	4.05±0.13	3.88±0.04	3.70±0.03	3.59±0.01
T8	Réplica 1	5.7	4.66	3.89	3.82	3.69	3.53
	Réplica 2	5.63	4.78	3.88	3.75	3.66	3.56
	Réplica 3	5.8	4.95	3.93	3.82	3.65	3.54
	X ±DE	5.71±0.09	4.80±0.15	3.90±0.03	3.80±0.04	3.67±0.02	3.54±0.02

(Continuación)

T9	Réplica 1	5.7	4.6	3.93	3.81	3.71	3.59
	Réplica 2	5.69	4.64	3.9	3.84	3.61	3.6
	Réplica 3	5.61	4.6	3.87	3.76	3.6	3.65
	X ±DE	5.67±0.05	4.61±0.02	3.90±0.03	3.80±0.04	3.64±0.06	3.61±0.03
T10	Réplica 1	5.72	4.91	3.98	3.86	3.72	3.69
	Réplica 2	5.69	4.85	3.84	3.85	3.72	3.65
	Réplica 3	5.62	4.79	3.9	3.86	3.68	3.71
	X ±DE	5.68±0.05	4.85±0.06	3.91±0.07	3.86±0.01	3.71±0.02	3.68±0.03
T11	Réplica 1	5.85	4.7	3.93	3.82	3.67	3.65
	Réplica 2	5.8	4.76	3.91	3.77	3.7	3.67
	Réplica 3	5.87	4.76	3.93	3.87	3.66	3.66
	X ±DE	5.84±0.04	4.74±0.03	3.92±0.01	3.82±0.05	3.68±0.02	3.66±0.01
T12	Réplica 1	5.6	4.54	3.89	3.78	3.63	3.59
	Réplica 2	5.71	4.68	3.8	3.78	3.67	3.6
	Réplica 3	5.66	4.65	3.83	3.76	3.7	3.63
	X ±DE	5.66±0.06	4.62±0.07	3.84±0.05	3.77±0.01	3.67±0.04	3.61±0.02

Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 2

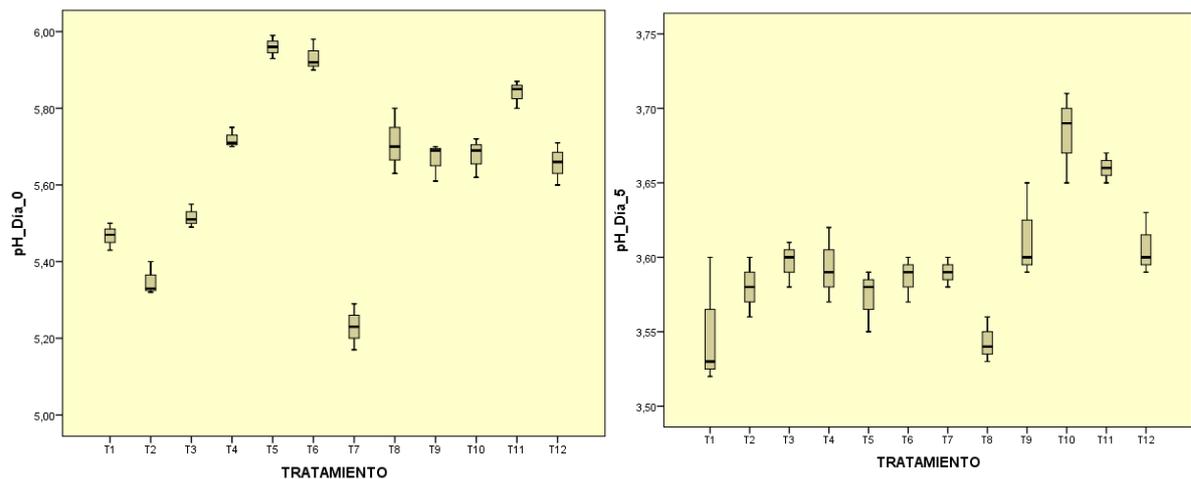
Prueba de normalidad del parámetro pH de los tratamientos en el día 0 y día 5

Día	Tratamiento	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	grados de libertad	Sig.
pH_Día_0	T1	0.993	3	0.843
	T2	0.842	3	0.220
	T3	0.964	3	0.637
	T4	0.893	3	0.363
	T5	1.000	3	1.000
	T6	0.923	3	0.463
	T7	1.000	3	1.000
	T8	0.990	3	0.806
	T9	0.832	3	0.194
	T10	0.949	3	0.567
	T11	0.942	3	0.537
	T12	0.997	3	0.900
pH_Día_5	T1	0.842	3	0.220
	T2	1.000	3	1.000
	T3	0.964	3	0.637
	T4	0.987	3	0.780

(Continuación)

T5	0.923	3	0.463
T6	0.964	3	0.637
T7	1.000	3	1.000
T8	0.964	3	0.637
T9	0.871	3	0.298
T10	0.964	3	0.637
T11	1.000	3	1.000
T12	0.923	3	0.463

Fuente: Elaboración propia.



Apéndice 3

ANOVA de los efectos principales y de las interacciones doble y triple de los factores: residuos orgánicos, inóculo-Lac y melaza de caña

Factores de la investigación: Residuos orgánicos, melaza e inóculo

Factor	Cantidad	N
RESIDUOS ORGÁNICOS	0.30	12
	0.35	12
	0.40	12
MELAZA DE “CAÑA”	0.05	18
	0.10	18
INÓCULO_LAC	0.05	18
	0.10	18

Fuente: Elaboración propia.

Análisis de varianza de los efectos principales y de las interacciones doble y triple de los factores

Variable dependiente: pH_Día_5					
Origen	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	0.054	11	0.005	8.776	0.000
Intersección	466.056	1	466.056	838901.045	0.000
Residuos	0.001	2	0.001	1.340	0.281
Melaza	0.012	1	0.012	21.125	0.000
Inóculo_Lac	0.013	1	0.013	23.805	0.000
Residuos * Melaza	0.004	2	0.002	3.440	0.049
Residuos * Inóculo_Lac	0.010	2	0.005	9.060	0.001
Melaza * Inóculo_Lac	0.008	1	0.008	14.045	0.001
Residuos * Melaza * Inóculo_Lac	0.005	2	0.003	4.940	0.016
Error	0.013	24	0.001		
Total	466.123	36			
Total corregida	0.067	35			

Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 4

ANOVA del parámetro pH de los 12 tratamientos

Prueba de homogeneidad de pH en el quinto día

Variable dependiente: pH_Día_5			
Estadístico de Levene	Grados libertad 1	Grados libertad 2	Sig.
1.806	11	24	0.109

Fuente: Elaboración propia.

Análisis de varianza de pH correspondiente al quinto día tomando en cuenta a los tratamientos como fuente de variación

pH_Día_5					
	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0.054	11	0.005	8.776	0.000
Intra-grupos	0.013	24	0.001		
Total	0.067	35			

Fuente: Elaboración propia.

Prueba de Tukey de pH correspondiente al quinto día tomando en cuenta a los tratamientos como fuente de variación

		pH_Día_5			
		Subconjunto para alfa = 0.05			
TRATAMIENTO	N	1 (A)	2 (B)	3 (C)	4 (D)
T8	3	3. 5433 ^a			
T1	3	3. 5500 ^a	3. 5500 ^b		
T5	3	3. 5733 ^a	3. 5733 ^b		
T2	3	3. 5800 ^a	3. 5800 ^b		
T6	3	3. 5867 ^a	3. 5867 ^b		
T7	3	3. 5900 ^a	3. 5900 ^b		
T4	3	3. 5933 ^a	3. 5933 ^b	3. 5933 ^c	
T3	3	3. 5967 ^a	3. 5967 ^b	3. 5967 ^c	
T12	3	3. 6067 ^a	3. 6067 ^b	3. 6067 ^c	
T9	3		3. 6133 ^b	3. 6133 ^c	
T11	3			3. 6600 ^c	3. 6600 ^d
T10	3				3. 6833 ^d
Sig.		0.096	0.096	0.068	0. 983

Nota: No existen diferencias significativas en superíndices con letras iguales según la Prueba de Tukey.

Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 5

Registro diario del parámetro pH de los tratamientos T1 y T8 y sus respectivas réplicas

Evaluación diaria del pH							
Tratamientos	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	
T0	Réplica 1	6.83	5.82	5.31	4.98	4.87	4.76
	Réplica 2	7.17	6.89	6.27	5.79	5.26	4.92
	Réplica 3	7.13	6.46	6.08	5.79	5.12	4.85
	X ±DE	7.04±0.19	6.39±0.54	5.89±0.51	5.52±0.47	5.08±0.20	4.84±0.08
T1	Réplica 1	4.80	4.46	3.77	3.61	3.52	3.56
	Réplica 2	5.06	4.47	3.70	3.58	3.55	3.53
	Réplica 3	5.35	4.49	3.69	3.57	3.51	3.49
	X ±DE	5.07±0.02	4.47±0.02	3.72±0.04	3.59±0.02	3.53±0.02	3.53±0.04
T8	Réplica 1	5.34	4.49	3.70	3.63	3.52	3.51
	Réplica 2	5.18	4.65	3.80	3.72	3.63	3.58
	Réplica 3	5.48	4.60	3.79	3.66	3.53	3.55
	X ±DE	5.33±0.15	4.58±0.08	3.76±0.06	3.67±0.05	3.56±0.06	3.55±0.04

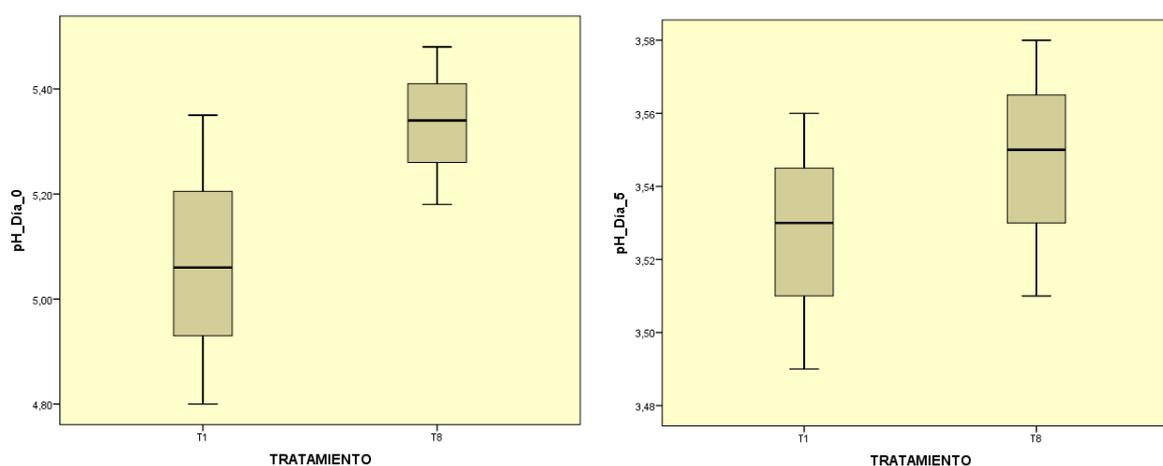
Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 6

Prueba de normalidad del parámetro pH de los tratamientos T1 y T8 en el día 0 y día 5

Día	Tratamiento	Estadístico	Shapiro- Wilk	
			Grados de libertad	Sig.
pH_Día_0	T1	0.999	3	0.940
	T8	0.999	3	0.927
pH_Día_5	T1	0.993	3	0.843
	T8	0.993	3	0.843

Fuente: Elaboración propia,



Apéndice 7

ANOVA del parámetro pH de los tratamientos T1 y T8

Prueba de homogeneidad de pH en el quinto día

Variable dependiente: pH_Día_5				
Estadístico de Levene	Grados libertad 1	Grados libertad 2	Sig.	
0.000	1	4	1.000	

Fuente: Elaboración propia.

Análisis de varianza de pH correspondiente al quinto día tomando en cuenta a los tratamientos preseleccionados como fuente de variación

pH_Día_5					
	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig,
Inter-grupos	0.001	1	0.001	0.486	0.524
Intra-grupos	0.005	4	0.001		
Total	0.006	5			

Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 8

Registro diario de los valores de acidez titulable de los tratamientos T1 y T8 con sus respectivas réplicas

Tratamientos	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
T1 Réplica 1	0.32	0.77	1.23	1.76	1.98	2.21
Réplica 2	0.17	0.50	1.37	1.55	1.82	2.25
Réplica 3	0.12	0.42	1.35	1.80	1.89	2.36
X ±DE	0.20±0.11	0.57±0.18	1.32±0.07	1.70±0.13	1.90±0.08	2.27±0.07
T8 Réplica 1	0.19	0.47	1.35	1.84	1.93	2.36
Réplica 2	0.35	0.68	1.26	1.48	1.62	2.19
Réplica 3	0.29	0.63	1.31	1.62	1.75	2.25
X ±DE	0.28±0.08	0.59±0.11	1.31±0.05	1.64±0.18	1.76±0.15	2.27±0.09

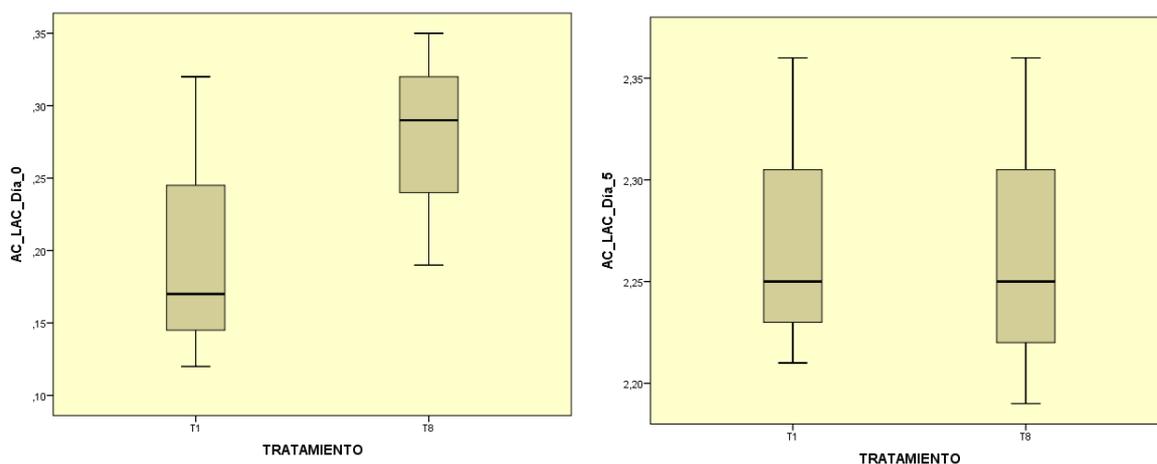
Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 9

Prueba de normalidad de los valores de acidez titulable de los tratamientos T1 y T8 en el día 0 y día 5

Día	Tratamiento	Shapiro- Wilk		
		Estadístico	Grados de libertad	Sig,
AC_LAC_Día_5	T1	0.292	3	0.463
	T8	0.232	3	0.726
AC_LAC_Día_5	T1	0.285	3	0.497
	T8	0.243	3	0.679

Fuente: Elaboración propia.



Apéndice 10

ANOVA de acidez titulable de los tratamientos T1 y T8

Prueba de homogeneidad del porcentaje de ácido láctico en el quinto día

Variable dependiente: AC_LAC_Día_5			
Estadístico de Levene	Grados libertad 1	Grados libertad 2	Sig.
0.022	1	4	0.888

Fuente: Elaboración propia.

Análisis de varianza del porcentaje de ácido láctico correspondiente al quinto día tomando en cuenta a los tratamientos preseleccionados como fuente de variación

AC_LAC_Día_5					
	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0.000	1	0.000	0.010	0.926
Intra-grupos	0.027	4	0.007		
Total	0.027	5			

Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 11

Informes de los laboratorios

Informe de análisis de materia orgánica del Biol T8



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGANICA

SÓLICITANTE : KENNETH SILVA CAJALEON
PROCEDENCIA : LIMA
MUESTRA DE : BIOL
REFERENCIA : H.R. 61916
BOLETA : 1166
FECHA : 04/01/18

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	Sólidos Totales g/L	M.O. en Solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L
981	Biol T8	3.43	24.90	242.10	168.29	2430.40	244.44	2438.00

Nº LAB	CLAVES	Ca Total mg/L	Mg Total mg/L	Na Total mg/L
981	Biol T8	2080.00	97.80	507.00

LAB	CLAVES	Fe Total mg/L	Cu Total mg/L	Zn Total mg/L	Mn Total mg/L	B Total mg/L
981	Biol T8	34.22	0.92	5.00	4.86	2.58



Dr. Sady García Bendezo
Jefe de Laboratorio

Informe de análisis microbiológico del Biol T8



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Av. La Molina s/n La Molina - Lima - Perú
Teléfono: 6147800 anexo 274



INFORME DE ENSAYO N° 180104 - LMT

SOLICITANTE : KENNETH SILVA CAJALEON

DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO

**MUESTRA : BIOL – T8
180104)**

PROCEDENCIA : Lima
TIPO DE ENVASE : Botella de Plástico
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra x 01 und. x 500 ml. aprox.
ESTADO Y CONDICIÓN : En buen estado y cerrado
FECHA DE MUESTREO : 2017 - 12 - 16
FECHA DE RECEPCIÓN : 2018 - 01 - 04
FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 2018 - 01 - 04
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 2018 - 01 - 08

RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Análisis Microbiológico	Muestra 180104
¹ Recuento de aerobios mesófilos viables (UFC/ml)	20 x 10 ⁴
¹ Recuento de mohos y levaduras (UFC/ml)	16 x 10 ⁴
¹ Enumeración de coliformes totales (NMP/ml.)	< 3
¹ Enumeración de coliformes fecales (NMP/ml)	< 3

NOTA: El valor < 3 indica ausencia de microorganismos en ensayo.

Métodos:

¹International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II, (Trad. 1988) Reimp. 2000. Editorial Acribia.

Observaciones:

Informe de ensayo emitido sobre la base de resultados de nuestro laboratorio en muestras proporcionadas por el solicitante.

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin nuestra autorización escrita.

Validez del documento:

Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 16 de enero del 2018

DRA. DORIS ZÚÑIGA DÁVILA

Jefe del Laboratorio de Ecología Microbiana
y Biotecnología "Marino Tabusso"
Universidad Nacional Agraria La Molina

Teléfono: 6147800 anexo 274

E-mail: lmt@lamolina.edu.pe



LABORATORIO DE ECOLOGÍA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGÍA "MARINO TABUSSO"

(511) 614-7800 anexo 274 - E-mail: lmt@lamolina.edu.pe

Apéndice 12

Cálculo de la relación Carbono/Nitrógeno del abono orgánico (biol) T8

$$\% \text{CBiol T8} = \frac{\% \text{Materia Orgánica (MO)}}{1.724} = \frac{16.82}{1.724} = 9,75 \quad \text{C/N Biol T8} = \frac{\% \text{C}}{\% \text{N}} = \frac{9.75}{0.243} = 40.12$$

Apéndice 13

Registro de los valores de las variables post- cosecha de las plantas de rabanito

Tratamientos		Altura de planta (cm)	Área foliar (cm ²)	Peso de cada producto (gr)	Conteo de hojas
Tr0	Réplica 1	25.20	135	9.84	7
	Réplica 2	23.80	131	8.91	6
	Réplica 3	27.60	137	9.30	6
	X ±DE	25.53±1.92	134.33±3.06	9.35±0.47	6.33±0.58
Tr1	Réplica 1	21.3	128	0.17	5
	Réplica 2	22.1	121	0	5
	Réplica 3	22.4	126	0.10	4
	X ±DE	21.93±0.57	125.00±3.6100	0.09±0.09	4.67±0.58
Tr2	Réplica 1	32.5	145	15.67	7
	Réplica 2	20.9	136	16.7	6
	Réplica 3	26.7	144	16.06	8
	X ±DE	26.70±5.80	141.7±4.93	16.14±0.52	7.00±1.00
Tr3	Réplica 1	19.3	136	10.3	6
	Réplica 2	22.6	141	11.21	8
	Réplica 3	26.5	132	10.46	5
	X ±DE	22.80±3.60	136.33±4.51	10.66±0.49	6.33±1.53
Tr4	Réplica 1	23.4	121	9.80	4
	Réplica 2	22.3	138	9.22	7
	Réplica 3	20.1	132	8.75	6
	X ±DE	21.93±1.68	130.33±8.62	9.26±0.53	5.67±1.53
Trq	Réplica 1	19.7	126	6.50	6
	Réplica 2	18.6	130	6.41	7
	Réplica 3	15.8	123	5.23	5
	X ±DE	18.03±2.01	126.33±3.51	6.05±0.71	6.00±1.00

Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 14

Prueba de normalidad de los valores de las variables agronómicas post-cosecha de las plantas de rabanito

Variable	Tratamiento	Shapiro- Wilk		
		Estadístico	Grados de libertad	Sig.
Altura_planta	Tr1	0.936	3	0.510
	Tr2	1.000	3	1.000
	Tr3	0.998	3	0.908
	Tr4	0.964	3	0.637
	Trq	0.940	3	0.529
Área_foliar	Tr1	0.942	3	0.537
	Tr2	0.832	3	0.194
	Tr3	0.996	3	0.878
	Tr4	0.972	3	0.679
	Trq	0.993	3	0.843
Peso_producto	Tr1	0.990	3	0.806
	Tr2	0.981	3	0.734
	Tr3	0.877	3	0.316
	Tr4	0.996	3	0.885
	Trq	0.803	3	0.121
Cantidad_hojas	Tr1	0.750	3	0.000
	Tr2	1.000	3	1.000
	Tr3	0.964	3	0.637
	Tr4	0.964	3	0.637
	Trq	1.000	3	1.000

Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 15

ANOVA de los valores de las variables agronómicas pos-cosecha de las plantas de rabanito

Prueba de homogeneidad de las variables agronómicas

Variables	Biol T8			Sig.
	Contraste de Levene	Grados libertad 1	Grados libertad 2	
Altura_planta	1.598	4	10	0.249
Área_foliar	1.141	4	10	0.392

(Continuación)

Peso_producto	1.954	4	10	0.178
Cantidad_hojas	0.800	4	10	0.552

Fuente: Elaboración propia.

Análisis de varianza de las variables agronómicas

		Biol T8				
Variables		Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Altura_planta	Inter-grupos	114.244	4	28.561	2.653	0.096
	Intra-grupos	107.640	10	10.764		
	Total	221.884	14			
Área_foliar	Inter-grupos	588.267	4	147.067	5.095	0.017
	Intra-grupos	288.667	10	28.867		
	Total	876.933	14			
Peso_producto	Inter-grupos	421.117	4	105.279	407.228	0.000
	Intra-grupos	2.585	10	0.259		
	Total	423.703	14			
Cantidad_hojas	Inter-grupos	8.933	4	2.233	1.595	0.250
	Intra-grupos	14.000	10	1.400		
	Total	22.933	14			

Fuente: Elaboración propia.

Prueba de Tukey para las variables agronómicas tomando en cuenta la variación de los tratamientos

Altura de la planta de rabanito

Altura_planta		Subconjunto para alfa = 0.05	
TRATAMIENTO	N	1 (A)	
Trq	3	18.0333	
Tr1	3	21.9333	
Tr4	3	21.9333	
Tr3	3	22.8000	
Tr2	3	26.7000	
Sig.		0.055	

Fuente: Elaboración propia.

Área foliar de la planta de rabanito

Área_foliar			
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1 (A)	2 (B)
Tr1	3	125.00	
Trq	3	126.33	
Tr4	3	130.33	130.33
Tr3	3	136.33	136.33
Tr2	3		141.67
Sig.		0.147	0.147

Fuente: Elaboración propia.

Peso de producto de la planta de rabanito

Peso_producto						
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1 (A)	2 (B)	3 (C)	4 (D)	5 (E)
Tr1	3	0.0900				
Trq	3		6. 0467			
Tr4	3			9. 2567		
Tr3	3				10. 6567	
Tr2	3					16. 1433
Sig.	3	1.000	1.000	1.000	1.000	

Fuente: Elaboración propia.

Cantidad de hojas de la planta de rabanito

Cantidad de hojas		
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1 (A)
Tr1	3	4.67
Tr4	3	5.67
Trq	3	6.00
Tr3	3	6.33
Tr2	3	7.00
Sig.		0.188

Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 16

Registro fotográfico

Fotografía 16.1. (A) Muestras de chicha de siete semillas de Huanta-Ayacacucho, (B) Dilución seriada para el aislamiento de bacterias ácido lácticas.



Fotografía 16.2. (A) Comedor Universitario de la UCSS-Lima y recojo de residuos orgánicos, (B) Residuos orgánicos picados para ser mezclados homogéneamente.



Fotografía 16.3. (A) Pesado de residuos orgánicos, (B) Contenedor con las 39 unidades experimentales, (C) Medición del porcentaje de ácido láctico.



Fotografía 16.4. (A) Separación de bioles, (B) Biol obtenido de T8.

