

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“ELABORACIÓN DE UN ABONO LÍQUIDO A PARTIR
DE RESIDUOS DE FRESA (*Fragaria x ananassa*) POR
FERMENTACIÓN LÁCTICA”**

Presentada por:

Ricardo Eduardo Herrera Cárdenas

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERO AMBIENTAL

Lima – Perú

2017

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“ELABORACIÓN DE UN ABONO LÍQUIDO A PARTIR
DE RESIDUOS DE FRESA (*Fragaria x ananassa*) POR
FERMENTACIÓN LÁCTICA”**

Presentada por:

Ricardo Eduardo Herrera Cárdenas

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERO AMBIENTAL

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Dra. Gladys Carrión Carrera
PRESIDENTE

Blgo. Roberto Ramos Chaupín
MIEMBRO

Ing. Lawrence Quipuzco Ushñahua
MIEMBRO

Blgo. Juan Juscamaita Morales
ASESOR

Dedicatoria

*A mi madre Flor de María,
mi ejemplo de constancia y esfuerzo.*

Agradecimientos

Mis sinceros agradecimientos a todos quienes colaboraron con la realización de este trabajo de investigación. Agradezco inmensamente sus aportes así como su interés y atención prestada.

En este sentido, me dirijo a mi asesor y maestro Juan Juscamaita Morales por su apoyo incondicional, su dedicada asesoría, sus acertados consejos y por exhortarme a continuar mejorando este trabajo.

A mi madre, Flor de María Cárdenas Huayta, por ser mi principal impulso y ejemplo de constancia y esfuerzo. Con tu presencia logré mucho más de lo que esperaba.

A la empresa nacional N. REPS S.R.L., por su recepción y gentil apoyo y por contribuir a la investigación académica de nuestra universidad.

A la Dra. Gladys Carrión Carrera, por sus importantes observaciones y propuestas, y por su especial cuidado con este trabajo.

A los miembros del jurado: Blgo. Roberto Ramos Chaupín e Ing. Lawrence Quipuzco Ushñahua por sus observaciones, sugerencias y demás aportes.

Así también me dirijo a unas personas muy especiales: al Mg. Sc. Orlando Advíncula, a los técnicos Ignacio Paucar, Soliz, Edgar Giraldo, Eberth Vicente, a mi buen amigo Jimmy Cañari y a los miembros del equipo de trabajo del Laboratorio de Biotecnología Ambiental y Biorremediación.

Mi mayor gratitud se queda con todos ustedes.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1 MARCO LEGAL	5
2.2 RESIDUOS DEL PROCESAMIENTO DE FRUTAS	6
2.2.1 RESIDUOS DE FRESA DE LA ELABORACIÓN DE MERMELADAS.....	7
2.3 MANEJO DE RESIDUOS SÓLIDOS.....	9
2.3.1 VALORIZACIÓN DE RESIDUOS DE FRUTAS	10
2.4 ABONO	12
2.4.1 ABONO ORGÁNICO	14
2.4.2 ABONO ORGÁNICO POR FERMENTACIÓN LÁCTICA	16
2.5 FERMENTACIÓN ÁCIDO LÁCTICA	20
2.5.1 BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS (BAL).....	24
2.6 ENSAYO DE FITOTOXICIDAD EN ABONOS.....	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1 LUGAR DE REALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO	31
3.2 MATERIALES.....	31
3.2.1 MATERIA PRIMA E INSUMOS.....	31
3.2.2 MATERIALES Y EQUIPOS.....	32
3.3 MÉTODOS DE ANÁLISIS	32
3.3.1 MEDICIÓN DEL pH.....	32
3.3.2 MEDICIÓN DEL PORCENTAJE DE ACIDEZ LÁCTICA.....	33
3.3.3 ANÁLISIS AGRONÓMICO	33
3.3.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	34
3.3.5 ENSAYO DE FITOTOXICIDAD.....	35

3.4 PROCEDIMIENTO	36
3.4.1 ELABORACIÓN DEL ABONO LÍQUIDO.....	36
3.4.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	40
3.4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	40
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
4.1 EVALUACIÓN DE LA ACIDIFICACIÓN DE LA FERMENTACIÓN	42
4.1.1 FASE LABORATORIO	42
4.1.2 SELECCIÓN DEL MEJOR TRATAMIENTO	46
4.1.3 FASE PILOTO	47
4.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL ABONO LÍQUIDO	49
4.2.1 MACRONUTRIENTES Y MICRONUTRIENTES	49
4.2.2 RATIO CARBONO-NITRÓGENO.....	55
4.2.3 METALES PESADOS	55
4.3 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL ABONO LÍQUIDO	56
4.4 ENSAYO DE FITOTOXICIDAD DEL ABONO LÍQUIDO	58
4.5 PRINCIPALES RESULTADOS	60
V. CONCLUSIONES	61
VI. RECOMENDACIONES	62
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
VIII. ANEXOS	70
ANEXO 1	70
ANEXO 2	72
ANEXO 3	76
ANEXO 4	77

ANEXO 5.....	78
ANEXO 6.....	79
ANEXO 7.....	85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Normativas nacionales e internacionales.....	5
Tabla 2: Generación de residuos en la cadena de suministro de alimentos	6
Tabla 3: Composición microbiológica de la fresa procesada sin desinfectar.....	8
Tabla 4: Referencias del contenido nutricional del residuo de fresa	8
Tabla 5: Clasificación cuantitativa de los nutrientes procedentes del suelo	13
Tabla 6: Límites de concentración de metales pesados	15
Tabla 7: Resultados agronómicos de abonos orgánicos según su proceso y residuo utilizado.....	17
Tabla 8: Clasificación de <i>Lactobacillus</i>	18
Tabla 9: Análisis microbiológico del B-Lac	19
Tabla 10: Características de la melaza de caña	19
Tabla 11: Composición de la melaza de caña	20
Tabla 12: Contenido de metales pesados de la melaza de caña.....	20
Tabla 13: Aplicaciones del ácido láctico	21
Tabla 14: Parámetros de pH y temperatura en crecimiento de patógenos	26
Tabla 15: Parámetros de fermentación de las BAL	28
Tabla 16: Índices de germinación referenciales	30
Tabla 17: Métodos de ensayo agronómicos	34
Tabla 18: Criterio de interpretación de C/N.....	34
Tabla 19: Métodos de ensayo microbiológicos	35
Tabla 20: Tratamientos del ensayo de fitotoxicidad	35
Tabla 21: Indicadores del ensayo	36
Tabla 22: Criterio de interpretación del IG	36
Tabla 23: Fases del proceso de producción del abono líquido	37
Tabla 24: Tratamientos para el residuo de fresa.....	38
Tabla 25: Descripción del análisis estadístico.....	41
Tabla 26: Tratamientos con los mejores resultados de pH.....	42
Tabla 27: Tratamientos con los mejores resultados de porcentaje de ácido láctico	44
Tabla 28: Criterios de selección	46
Tabla 29: Análisis agronómico del residuo de fresa.....	49
Tabla 30: Análisis agronómico del abono líquido.....	51

Tabla 31: Comparativo agronómico del abono líquido de residuos de fresa versus otros abonos	53
Tabla 32: Análisis agronómico del subproducto sólido	54
Tabla 33: Ratio carbono-nitrógeno	55
Tabla 34: Evaluación de metales pesados	55
Tabla 35: Características de los tratamientos del ensayo de fitotoxicidad.....	58
Tabla 36: Principales resultados	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Clases de productos fertilizantes	12
Figura 2: Composición elemental promedia de las plantas	13
Figura 3: Rutas de fermentación homoláctica y heteroláctica.....	22
Figura 4: Grupos de bacterias ácido lácticas	24
Figura 5: Fase preliminar del proceso de elaboración	38
Figura 6: Fase laboratorio del proceso de elaboración	39
Figura 7: Fase piloto del proceso de elaboración	40
Figura 8: Niveles de pH de los tratamientos	43
Figura 9: Comparación múltiple de niveles de pH	43
Figura 10: Porcentajes de ácido láctico de los tratamientos.....	44
Figura 11: Comparación múltiple de porcentajes de ácido láctico.....	45
Figura 12: Nivel de pH y porcentaje de acidez láctica	48
Figura 13: Comparativo agronómico del residuo – Nutrientes mayoritarios.....	50
Figura 14: Comparativo agronómico del residuo – Nutrientes minoritarios	50
Figura 15: Comparativo agronómico del abono líquido – Nutrientes mayoritarios.....	52
Figura 16: Comparativo agronómico del abono líquido – Nutrientes minoritarios.....	52
Figura 17: Recuento de <i>Lactobacillus</i> sp.....	56
Figura 18: Recuento de microorganismos.....	57
Figura 19: Índice de germinación	58

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: RESULTADOS EN EXTENSO	70
ANEXO 2: ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	72
ANEXO 3: CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS TRATAMIENTOS	76
ANEXO 4: CÁLCULOS ADICIONALES	77
ANEXO 5: RESULTADOS DEL ENSAYO DE FITOTOXICIDAD	78
ANEXO 6: INFORMES DE LABORATORIO	79
ANEXO 7: REGISTRO FOTOGRÁFICO	85

RESUMEN

Se propuso la elaboración de un abono líquido orgánico como alternativa de valorización de los residuos de fresa (*Fragaria x ananassa*) procedentes de la producción de mermeladas. Para ello se utilizó la fermentación láctica sobre los residuos cuya duración fue breve (cinco días). Se evaluaron las propiedades del producto obtenido tales como (1) el nivel del pH y de acidez láctica, (2) las características físico-químicas, (3) microbiológicas y (4) la dilución óptima de aplicación en un bioensayo. Previamente se ensayaron nueve mezclas a fermentarse y se seleccionó aquella óptima: residuo de fresa y agua (90%), consorcio microbiano (5%) y melaza de caña (5%). Con este tratamiento se trabajó una escala piloto y se alcanzó un pH final de 3.64 a temperatura ambiente y un contenido de acidez láctica cercano al uno por ciento. El potasio y el sodio fueron los macronutrientes y micronutrientes principales respectivamente. La acidificación del proceso fermentativo aseguró la eliminación de patógenos y mediante un ensayo de fitotoxicidad se determinó que el abono diluido al uno por ciento favoreció el crecimiento de plántulas de lechuga. El abono líquido elaborado presentó características propias de la fermentación láctica y acorde con experiencias semejantes: generación de ácido láctico, aporte de nutrientes, inocuidad microbiológica y sin efectos fitotóxicos. Además se incurrió en bajos costos de materiales. Finalmente hay que considerar que se evitaron la emisión de gases de efecto invernadero y otros problemas ambientales al valorizar el residuo. Por tanto, los residuos de la fresa (y potencialmente de otras frutas) tienen un valor económico y ambiental a través de su valorización.

Palabras clave: Abono líquido, fermentación láctica, residuos sólidos, valorización.

SUMMARY

An organic liquid fertilizer was proposed as an alternative for the valorization of strawberry residues (*Fragaria x ananassa*) from the production of jams. For this purpose lactic fermentation was used on the residues and whose duration was brief (five days). The properties of the obtained product were evaluated such as (1) pH and lactic acidity level, (2) physico-chemical characteristics, (3) microbiological characteristics and (4) the optimum application dilution in a bioassay. Previously, nine blends were tested for fermentation and the optimum was selected: strawberry and water residue (90%), microbial consortium (5%) and cane molasses (5%). With this treatment a large scaled was worked and a final pH of 3.64 was reached at environmental temperature and lactic acid content was close to one percent. Potassium and sodium were the main macronutrients and micronutrients respectively. Acidification of the fermentative process ensured the elimination of pathogens and by phytotoxicity test it was determined that fertilizer diluted at one percent favored the growth of lettuce seedlings. The elaborated liquid fertilizer presented characteristic own of the lactic fermentation and according to similar experiences: lactic acid generation, nutrient supply, microbiological safety and without phytotoxic effects. In addition, low material costs were incurred. Finally, it must be considered that the emission of greenhouse effect gases and other environmental problems were avoided by valorizing the residue. Therefore, strawberry residues (and potentially other fruits) have an economic and environmental value through their valorization.

Key words: Liquid fertilizer, lactic fermentation, solid wastes, valorization.

RESUMO

Foi proposta a preparação de um fertilizante líquido orgânico como alternativa a valorização dos resíduos de morango (*Fragaria x ananassa*) a partir da produção de compotas. Para este efeito foi utilizada a fermentação láctica nos resíduos cuja duração foi breve (cinco dias). As propriedades do produto obtido foram avaliadas tais como (1) o nível de pH e de ácido láctico, (2) características físicas e químicas, (3) características microbiológicas e (4) a diluição ótima de aplicação num bioensaio. Previamente nove misturas foram fermentadas e aquela ótima foi escolhida: resíduo de morango e de água (90%), consórcio microbiano (5%) e melação de cana (5%). Com este tratamento foi trabalhado uma escala maior e foi atingido um pH final de 3.64 à temperatura ambiente (3.49 a 40 ° C) e um conteúdo ácido láctico perto de um por cento. O potássio e o sódio foram os principais macronutrientes e micronutrientes respectivamente. A acidificação do processo fermentativo garantiu a eliminação de patógenos e pelo teste de fitotoxicidade foi determinado que o adubo diluído um por cento favoreceu o crescimento de mudas de alface. O fertilizante líquido produzido apresentou características próprias da fermentação láctica e foi acorde com experiências semelhantes: geração de ácido láctico, entrada de nutrientes, segurança microbiológica e sem efeitos fitotóxicos. Também foi incorrida em baixos custos de materiais. Finalmente, deve-se considerar que a emissão de gases do efeito estufa e outros problemas ambientais foram evitados através da valorização do resíduo. Portanto, os resíduos de morango (e potencialmente outras frutas) têm um valor económico y ambiental através da sua valorização.

Palavras chave: fertilizante líquido, fermentação láctica, resíduos sólidos, valorização.

I. INTRODUCCIÓN

Se tienen amplios reportes sobre los problemas ocasionados por la inadecuada disposición de los residuos sólidos de frutas y alimentos en general. Entre ellos son frecuentes los comentarios sobre el impacto a la salud humana y el ambiente. En el caso de las industrias procesadoras de frutas y hortalizas, las cuales generan importantes cantidades de residuos sólidos orgánicos, se indican como problemas habituales la formación de malos olores a causa de la putrefacción del material orgánico así como la lixiviación de contaminantes hacia el suelo y las aguas superficiales y subterráneas (MMA 1998). Más aún, si tales residuos fuesen derivados a un vertedero (*landfill*) se estaría emitiendo un gas de efecto invernadero crítico como el metano hacia la atmósfera (Sitorus *et al.* 2013).

La apropiada disposición final de los residuos sólidos también encuentra dificultades ante los residuos de característica orgánica. El alto contenido de humedad así como la fácil descomposición de estos residuos los hace poco ideales para su disposición en rellenos sanitarios o en incineraciones y hasta pueden implicar serios problemas de operación (Sitorus *et al.* 2013; MMA 1998). Incluso en investigaciones sobre la incineración se reportó la generación de gases nocivos y gases de efecto invernadero (como los óxidos de nitrógeno, monóxido y dióxido de carbono) (Aristizabal *et al.*, citados por Milena *et al.* 2008)

Aun así es frecuente que el manejo de los residuos sólidos consista en disponerlos temporalmente en contenedores para luego ser recepcionados por camiones recolectores de basura. Sin embargo, la concepción de gestión y manejo de residuos sólidos plasmada en el Decreto Legislativo N° 1278, Ley de Gestión Integral de RR.SS., y en la derogada Ley N° 27314, Ley General de RR.SS., no solo contempla su disposición final como única opción sino también su valorización. Más aún, la priorización de la

valorización o reaprovechamiento de residuos se contempla dentro de los lineamientos de la gestión de los residuos sólidos de las normativas citadas.

La valorización de residuos sólidos, o su equivalente “reaprovechamiento” según una normativa precedente, está ampliamente difundida en el sector agroindustrial de Latinoamérica. Varios ejemplos ilustran las formas en las que los residuos orgánicos han sido valorados a través de su fermentación para la producción de metabolitos de interés, la producción de bioenergéticos, su empleo como complemento alimenticio para animales o como mejoradores o acondicionadores de suelos, etc (Saval 2012).

A favor de lo anterior, en el Perú se permite la comercialización de residuos de frutas y verduras sin tratamiento alguno siempre que estos sean directamente reaprovechados en el proceso productivo del comprador. Así también la alimentación animal o el compostaje son consideradas como alternativas de valorización de los residuos de frutas y hortalizas del sector agrario (MINAGRI 2012). De ellos, el compostaje y opciones semejantes han sido desarrollados como una línea de investigación sobre abonos orgánicos en la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

Una corriente derivada y de reciente aplicación son los abonos orgánicos líquidos los cuales son producidos por la fermentación láctica de residuos agroindustriales. Entre los muchos casos de esta corriente se pueden citar el reaprovechamiento de las excretas del ganado lechero (Peralta 2010), las excretas de cuy o cuyinaza (Román 2012), los residuos del proceso de producción del congelado y curtido de rocoto (Ricse 2013), el bagazo de cebada, excretas de vacuno y suero de quesería (Buchelli 2014) y las papas de descarte (Meza 2014) entre otros. En las experiencias citadas se reportó la relativa rapidez con que se obtuvieron resultados satisfactorios (cerca de cinco días) y la practicidad de ejecutar la técnica del ensilaje requerida para el proceso fermentativo.

De acuerdo a las referencias comentadas se entiende que la propuesta de reaprovechar la fracción orgánica de los residuos sólidos permite beneficiarse de potenciales materiales renovables, abaratar costos para muchas industrias y evitar los problemas ambientales y sanitarios causados por la inadecuada disposición de los residuos. En suma, se estaría

promoviendo el reciclaje de nutrientes de forma integrada y promoviendo el principio de economía circular en la cual se crea valor a lo largo del ciclo de vida de un bien según el Decreto Legislativo N° 1278. Más aún, la fermentación láctica como alternativa de reaprovechamiento se destaca por su versatilidad y la breve duración del proceso. Esto trae ventajas en la producción de abonos orgánicos y facilita satisfacer su creciente demanda. Por tanto, la fermentación láctica permite reaprovechar los residuos de forma eficaz y eficiente.

Conforme a los motivos expuestos, se consideró trabajar con los residuos sólidos orgánicos de la industria del procesamiento de frutas. Específicamente, con los residuos de fresa. Y la hipótesis planteada fue: “se consigue elaborar un abono líquido a partir de residuos de fresa por fermentación láctica utilizando una mezcla de B-Lac y melaza de caña.”

Para ello se trabajó con los residuos de fresa de la producción de mermeladas de la empresa nacional N. Reys S.R.L. y se utilizó la tecnología fermentativa del tipo láctica debido a que las fresas o sus residuos (y frutas en general) se consideran apropiados para este proceso por su contenido de azúcares y humedad. Así se consiguió elaborar un abono líquido cuyas propiedades fueron analizadas. Incluso se realizó un bioensayo para determinar el efecto de las diluciones del abono sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de lechuga.

Siendo así los objetivos propuestos fueron:

Objetivo general

- Elaborar un abono líquido a partir de los residuos de fresa (*Fragaria x ananassa*) vía fermentación láctica.

Objetivos específicos

- Evaluar la acidificación del proceso fermentativo a través del pH y porcentaje de acidez láctica de las unidades experimentales y del tratamiento seleccionado.

- Caracterizar los parámetros físico-químicos del abono líquido tales como macronutrientes, micronutrientes, ratio carbono-nitrógeno y metales pesados.
- Evaluar el contenido microbiológico del abono líquido en cuanto a coliformes totales, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Lactobacillus* sp, mohos y levaduras.
- Determinar la fitotoxicidad del abono líquido mediante un ensayo en *Lactuca sativa*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 MARCO LEGAL

Las normativas correspondientes a la presente investigación serán comentadas en los siguientes subcapítulos de la revisión de literatura. Estas normativas se agrupan en la Tabla 1 según su alcance nacional e internacional.

Tabla 1: Normativas nacionales e internacionales

Nombre	Documento	Objeto
Normativas nacionales		
Ley de gestión integral de residuos sólidos	Decreto Legislativo N° 1278	Establecer derechos, obligaciones, atribuciones y responsabilidades de la sociedad en su conjunto, con la finalidad de propender hacia la maximización constante de la eficiencia en el uso de los materiales y asegurar una gestión y manejo de los residuos sólidos económica, sanitaria y ambientalmente adecuada, con sujeción a las obligaciones, principios y lineamientos de este Decreto Legislativo.
Ley general de residuos sólidos*	Ley N° 27314 (modificada)	Establecer derechos, obligaciones, atribuciones y responsabilidades de la sociedad en su conjunto, para asegurar una gestión y manejo de los residuos sólidos, sanitaria y ambientalmente adecuada, con sujeción a los principios de minimización, prevención de riesgos ambientales y protección de la salud y el bienestar de la persona humana.
Reglamento de la ley general de residuos sólidos	Decreto Supremo N° 057-2004-PCM	Asegurar que la gestión y el manejo de los residuos sólidos sean apropiados para prevenir riesgos sanitarios, proteger y promover la calidad ambiental, la salud y el bienestar de la persona humana.
Reglamento de manejo de residuos sólidos del sector agrario	Decreto Supremo N° 016-2012-AG	Regular la gestión y manejo de los residuos sólidos generados en el Sector Agrario, en forma sanitaria y ambientalmente adecuada, con sujeción a los principios de prevención y minimización de riesgos ambientales, así como la protección de la salud y el bienestar de la persona humana, contribuyendo al desarrollo sostenible del país.
Normativas internacionales		
Real Decreto, sobre productos fertilizantes (España)	Real Decreto 506/2013	Establecer la normativa básica en materia de productos fertilizantes y las normas necesarias de coordinación con las comunidades autónomas.

Nota: (*) Derogada por el D.L. N° 1278 pero tomada como referencia.

2.2 RESIDUOS DEL PROCESAMIENTO DE FRUTAS

La agroindustria hortofrutícola (frutas y verduras) se dedica a ofrecer variados productos en base al procesamiento de frutas y verduras. Por ejemplo se pueden citar productos como los jugos congelados, alimentos congelados o deshidratados, pulpa de fruta, conservas y mermeladas (MMA 1998). A lo largo de la cadena de suministro de estos productos, la etapa del procesamiento de frutas y vegetales (junto al embalaje) resulta ser la etapa de la cadena que genera mayor cantidad de residuos. De acuerdo con la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) citada por Sitorus *et al.* (2013) en algunas regiones de Asia se estimaron los porcentajes de residuos de frutas y vegetales generados en la cadena de suministro de alimentos y el procesamiento participó en un 25 por ciento (ver Tabla 2).

Tabla 2: Generación de residuos en la cadena de suministro de alimentos

Etapa de la cadena de suministro de frutas y vegetales	Porcentaje de residuos generados (%)
Producción agrícola.	15
Manipulación y almacenamiento pos-cosecha.	9
Procesamiento y embalaje.	25
Distribución.	10
Consumo.	7

FUENTE: FAO citada por Sitorus *et al.* (2013).

Dentro del procesamiento de frutas y hortalizas se pueden identificar sub-etapas que a su vez son fuentes de generación de residuos sólidos. Estas son la limpieza, el lavado, el corte, el deshuesado, el pelado y el descorazonado. Y por ello los residuos sólidos generados más comunes resultan ser restos de frutas, frutas en mal estado, cuescos (huesos de la fruta), envases y embalajes (MMA 1998).

Además de la importante fuente de residuos que representa el procesamiento han de tenerse en cuenta los problemas asociados ante una inadecuada disposición de dichos residuos. Se han reportado el fácil deterioro y la generación de mal olor como problemas de la inadecuada disposición de residuos de frutas y vegetales de mercados tradicionales de Asia (Sitorus *et al.* 2013). De forma similar, en Chile se tienen como problemas habituales la generación de malos olores a causa de la putrefacción del

material orgánico así como la lixiviación de contaminantes hacia el suelo y las aguas superficiales y subterráneas (MMA 1998).

Para una mejor idea sobre la magnitud de lo comentado se cita una experiencia en Estados Unidos. En el caso de la industria de conservas de frutas y hortalizas se registró que las producciones de residuos sólidos putrefactibles a partir del procesamiento de manzanas producen 280 kg de residuos por tonelada de producto; los cítricos, 390 kg/ton; los duraznos, 270 kg/ton y las peras, 290 kg/ton (MMA 1998).

2.2.1 RESIDUOS DE FRESA DE LA ELABORACIÓN DE MERMELADAS

En la etapa inicial de la elaboración de mermeladas a base de fresas se extrae la parte asociada al pedículo y cáliz de la fruta y luego se descarta generándose un residuo. En otros casos hay fresas que no pasan una etapa anterior, la selección, y también son descartadas. Así se tienen dos fuentes de generación de residuos durante el proceso de producción. En consecuencia se generan unos 150 kg de residuos por cada tonelada procesada según la experiencia de la empresa N. Reys S.R.L.

No se tienen referencias sobre la composición microbiológica o el contenido de nutrientes en el caso específico del residuo de fresa. Mas pueden tomarse algunas referencias cercanas como la propia fruta. En el caso microbiológico Beltrán *et al.* (2010) describen que la especie *Fragaria vesca* (v. diamante) suele ser atacada en el campo por el hongo *Botrytis cinerea*. Por otro lado, los mismos autores indican la presencia de bacterias mesófilas, mohos y levaduras en muestras de fresas luego de ser seleccionadas, lavadas y refrigeradas (5 °C). Cabe indicarse que tales muestras no recibieron tratamiento de desinfección alguno pues estos formaban parte de un grupo control en una investigación sobre la efectividad de esterilización por radiación UV (ver Tabla 3).

Tabla 3: Composición microbiológica de la fresa procesada sin desinfectar

Infección Fúngica (fracción)	Bacterias mesófilas (UFC/g fresa)	Mohos y levaduras (UFC/g fresa)
0,96 ± 0,51	2,5 x 10 ³	9,8 x 10 ²

Nota: La fracción de infección fúngica se determinó mediante la cantidad de frutos dañados después de cinco días de almacenamiento al ambiente.

FUENTE: Beltrán *et al.* (2010).

En cuanto al contenido de nutrientes se destaca el aporte de nitrógeno, potasio y sodio en muestras foliares cuyos valores son superiores a muestras aéreas. También se reportan una humedad mayor a 90 por ciento, contenido de azúcares reductores, sólidos solubles y otros parámetros para muestras de fresas (ver Tabla 4).

Tabla 4: Referencias del contenido nutricional del residuo de fresa

Muestra	Hojas	Hojas	Aérea	Muestra	Fruta
Fuente	FREP (s.f.)	Chirinos (2000)	Molina <i>et al.</i> (1993)	Fuente	Beltrán <i>et al.</i> (2010)
Nutrientes	%			Otros parámetros	
N	2,4-3,0	2,50-4,00	1,60	Humedad (%)	94,79 ± 4,21
P	0,3-0,4	0,25-1,00	0,16		
K	1,3-1,8	1,25-3,00	1,34	Azúcares reductores (g de glucosa / 100 g fresa)	6,1 ± 0,56
Ca	-	1,00-2,50	1,62		
Mg	-	0,25-1,00	0,25	Sólidos solubles (°Brix)	9,2 ± 0,91
S	-	0,13-0,48	-		
	ppm			Vitamina C (mg / 100 g)	48,89±0,81
Fe	-	50-250	505	Antocianinos (nmol de glucósido 3 - pelargonidina/g fresa)	0,024 ± 0,012
Cu	-	6-100	12		
Zn	-	20-250	99		
Mn	-	3,0-350	153		
Na	-	0-2000	-		
B	-	20-75	-		

Nota: La muestra aérea está compuesta por hojas, pecíolos, frutos y flores.

De forma más específica Ojeda *et al.* (2008) comentan sobre los contenidos de azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos predominantes en la fresa (*Fragaria x ananassa* v. Aromas). Los azúcares glucosa (30-40 mg/g de peso seco) y fructosa (60-100 mg/g) fueron los más abundantes y también estuvieron presentes los azúcares ribosa (<0.5mg/g), arabinosa (<3 mg/g), xilosa (<1 mg/g), manosa (<1 mg/g), galactosa

(<0.5mg/g) y *myo*-inositol (cercano a 0.5 mg/g). Por otra parte, los aminoácidos como el glutamato/ glutamina (glu/gln) y aspartato/asparagina (asp/asn) fueron los compuestos más abundantes. Además se identificaron glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, treonina, serina, fenilalanina, tirosina y lisina. Finalmente, entre los ácidos determinados se tuvo que el contenido del ácido ascórbico (<25 mg/g) fue superior al contenido del ácido cítrico (<10 mg/g) a pesar de las referencias que indican que más del 90% de la acidez de la fresa es atribuida al ácido cítrico.

2.3 MANEJO DE RESIDUOS SÓLIDOS

El Decreto Legislativo N° 1278 que aprobó la nueva Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos introdujo el término **valorización** de residuos cuya implicancia ha de priorizarse ante la disposición final como alternativa de manejo de residuos sólidos (Congreso de la República 2016).

La valorización tiene un significado amplio pues engloba los conceptos de reciclaje y reutilización. La definición presentada en la Ley es: “cualquier operación cuyo objetivo sea que el residuo, uno o varios de los materiales que lo componen, sea reaprovechado y sirva a una finalidad útil al sustituir a otros materiales o recursos en los procesos productivos.” Además se indican dos variantes de la valorización: la energética y la material. En ésta última se citan los casos de recuperación de aceites, bio-conversión, otros y al compostaje, como representante de los abonos orgánicos (Congreso de la República 2016).

Adicionalmente, un término equivalente a la valorización en la recién derogada Ley General de Residuos Sólidos fue el **reaprovechamiento** que se definió como: “volver a obtener un beneficio del bien, artículo, elemento o parte del mismo que constituye residuo sólido” y comprende las técnicas de recuperación, reutilización y reciclaje (Congreso de la República 2000). Entre las anteriores técnicas, la última implica una transformación sobre el residuo para cumplir su finalidad original u otros fines. Por eso el reciclaje engloba a los procesos como el compostaje, vermicultura o biodigestión pues emplean residuos agropecuarios para elaborar abonos.

Tanto para el reaprovechamiento y la valorización se enfatiza la opción de obtener beneficios de los residuos sólidos en vez de disponerlos en rellenos sanitarios o en incineraciones. Como ejemplo de una aplicación práctica y cercana a la vida diaria y ciudadana se puede comentar la experiencia en la que se fermentaron residuos de comida (arroz, vegetales y carne) de un campus universitario en China para producir ácido láctico con microbiota propia del residuo bajo condiciones controladas de pH, temperatura y sin oxígeno (Tang *et al.* 2016). Así también pueden citarse otros ejemplos aplicados al área agropecuaria cuya tendencia es la producción de metabolitos de interés, la producción de bioenergéticos, elaborar complementos alimenticios para animales o bien mejoradores o acondicionadores de suelos, etc (Saval 2012).

En cambio, sobre la **disposición final** de residuos se afirma que los residuos de característica orgánica resultan poco ideales para destinarlos en rellenos sanitarios, en incineraciones o procesos de pirólisis debido a su alto contenido de humedad (p.e. residuos de frutas), su bajo poder calorífico así como la fácil descomposición de estos. Incluso se indica que hasta pueden implicar serios problemas de operación (Sitorus *et al.* 2013; MMA 1998; Milena *et al.* 2008).

Curiosamente algunos autores consideran a la incineración y la pirólisis como variantes de la “valorización térmica” (Milena *et al.* 2008). Sin embargo, los mismos autores señalan sus impactos negativos como la generación de sustancias tóxicas llamadas dioxinas y furanos en la incineración y ciertos problemas ambientales (no especificados) en la pirólisis. Incluso en investigaciones sobre la incineración se reportó la generación de gases de efecto invernadero (como los óxidos de nitrógeno, monóxido y dióxido de carbono) (Aristizabal *et al.*, citados por Milena *et al.* 2008)

2.3.1 VALORIZACIÓN DE RESIDUOS DE FRUTAS

Según el artículo 30 del D. S. N° 016-2012-AG que aprueba el Reglamento de Manejo de los Residuos Sólidos del Sector Agrario se tiene que los residuos de frutas y hortalizas producidos en el almacenaje, conservación y transformación, no elaborables o consumibles pueden comercializarse como tales siempre que su uso sea directo. Así

también se contemplan las opciones de alimentación animal o de compostaje como abono orgánico (MINAGRI 2012).

Además de las opciones consideradas por la anterior normativa algunos autores mencionan otras más. Por ejemplo, los residuos de frutas pueden ser utilizados en la alimentación animal y humana, obtener biogás y abonos, extraerse aceites esenciales, pectinas y flavonoides (Milena *et al.* 2008). En cuanto a la alimentación humana se ha logrado incluso elaborar mermeladas a base de cáscaras de frutas como piña, naranja, granada y plátano identificándose además un efecto antimicrobiano contra *Shigella* spp en el caso de la granada en un estudio en la India (Meera y Estherlydia 2014).

Para la obtención de biogás se puede comentar que los residuos de frutas, junto a los de verduras, de un mercado tradicional en Indonesia han sido procesados por la digestión anaeróbica para recuperar biogás (con un máximo de 65% de metano) al considerarse el alto contenido orgánico y de humedad de los residuos (Sitorus *et al.* 2013). En Italia se procesó una co-digestión de lodos de PTAR con residuos de fruta y verduras los cuales ayudaron a generar más amonio y por tanto una mayor producción de metano (Di Maria y Barratta 2015).

Finalmente, sobre los abonos orgánicos, en Costa Rica se elaboró un “fertilizante orgánico foliar” a base a la fermentación de residuos de fruta (papaya, sandía, melón, mango y plátano) de una planta cafetalera requiriendo melaza y agua y un periodo de cinco semanas bajo condiciones ambientales. Se reportó que su aplicación foliar tuvo buenos resultados sobre plántulas de vivero y que el efecto bioestimulante del producto pudo asignarse a ciertos aminoácidos libres cuando se descompuso la proteína de las frutas (Russo 2001). En otro caso se comenta que debido al contenido de humedad de los residuos de frutas, así como de vegetales, estos presentan limitaciones para su empleo en el proceso de compostaje (Sitorus *et al.* 2013).

2.4 ABONO

De acuerdo con la normativa española vigente (Ministerio de la Presidencia 2013) no se establece distinción alguna entre los términos “abono” y “fertilizante” pues en ambos casos se reconoce la principal función de proporcionar nutrientes a las plantas. Estos términos junto a “enmienda” y “productos especiales” se incluyen dentro un concepto mayor que es “producto fertilizante” cuya naturaleza puede ser orgánica, inorgánica o mixta (ver Figura 1).

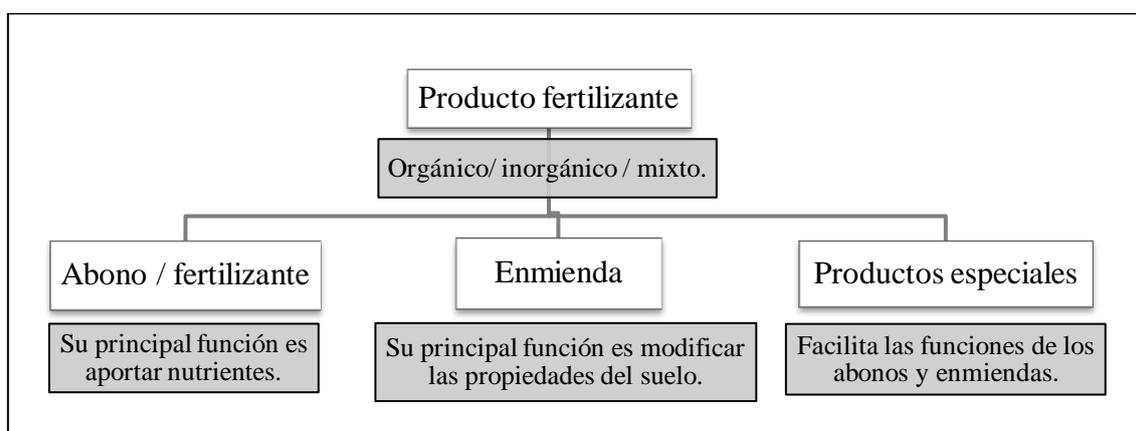


Figura 1: Clases de productos fertilizantes

FUENTE: Ministerio de la Presidencia (2013).

Así un producto fertilizante queda definido por la normativa española Real Decreto 506/2013 consolidado (Art. 2) como: “producto utilizado en agricultura o jardinería que, por su **contenido en nutrientes**, facilita el crecimiento de las plantas, aumenta su rendimiento y mejora la calidad de las cosechas o que, por su acción específica, modifica, según convenga, la fertilidad del suelo o sus características físicas, químicas o biológicas [...]”. Además se indica que debe aportar de forma eficaz los nutrientes o mejorar las propiedades del suelo, se pueda comprobar sus riquezas y cualidades y ser inocuo con la salud y el ambiente. Por otro lado, un abono tiene como principal función la de proveer nutrientes (Ministerio de la Presidencia 2013).

En cuanto a los nutrientes según la IFA (2002) estos son obtenidos por las plantas por tres vías: del aire (carbono), del agua (oxígeno e hidrógeno) y del suelo. Esta última vía provee un conjunto de nutrientes que representan un siete por ciento de la composición

elemental promedio de las plantas (ver Figura 2). Más aún, esta condición puede balancearse junto a la aplicación de productos fertilizantes.

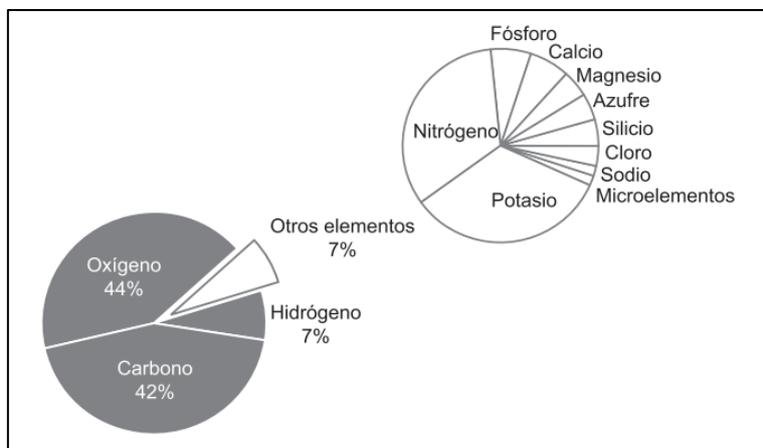


Figura 2: Composición elemental promedio de las plantas

FUENTE: IFA (2002).

Los elementos procedentes del suelo o de productos fertilizantes se clasifican a su vez en dos categorías: macronutrientes (sub-divididos en nutrientes primarios y secundarios) y micronutrientes (o también llamados microelementos) (ver Tabla 5). De los cuales los macronutrientes se requieren en grandes cantidades (y grandes aplicaciones si el suelo es deficiente en uno o más de ellos) mientras que los micronutrientes se precisan sólo en cantidades ínfimas para el crecimiento correcto de las plantas (y se requerirán pequeñas aplicaciones cuando no puedan ser provistas por el suelo) (IFA 2002).

Tabla 5: Clasificación cuantitativa de los nutrientes procedentes del suelo

Macronutrientes	Primarios	N, P, K.
	Secundarios	Mg, S, Ca.
Micronutrientes		Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, Cl, B, Na, Si, Co.

FUENTE: IFA (2002).

Tal como se indicó una correcta aplicación de nutrientes asegura el desarrollo apropiado de las plantas. Sin embargo, algunos microelementos pueden ser tóxicos para las plantas a concentraciones ligeramente en exceso y ante niveles de pH de bajo a muy bajo. Se cita que la toxicidad del aluminio y del manganeso son las más frecuentes para suelos

ácidos (IFA 2002). Ante esto, se ha citado que la **aplicación foliar** es el método más eficiente de suministro de micronutrientes pues son tan solo pequeñas cantidades de estas son requeridas. En cambio, la aplicación en el suelo puede implicar que los micronutrientes estén indisponibles (IFA 2002). Adicionalmente, se comenta que la aplicación foliar permite tomar con relativa rapidez el nitrógeno de N o NPK en una situación crítica para el cultivo y corregir deficiencias en los cultivos. Sin embargo, se suele recomendar para acompañar a otros productos fertilizantes (Russo 2001; IFA 2002).

Por otro lado, la clasificación de los abonos varía de acuerdo a los criterios tomados. Por ejemplo, se pueden clasificar los abonos según su estado físico: sólidos y líquidos. Más aún, los abonos líquidos se pueden sub-clasificar según su contenido de sólidos. Estos son los abonos líquidos en solución o en suspensión. Donde el primero está libre de partículas sólidas mientras que en el segundo se tienen partículas sólidas suspendidas en la fase líquida (Ministerio de la Presidencia 2013).

Otra clasificación toma en cuenta la procedencia de los abonos y se tienen tres tipos: abono inorgánico (o abono mineral), abono orgánico y abono órgano-mineral. El primero es aquel cuyos nutrientes se presentan en forma mineral mientras que el segundo procede de un material carbonado de origen animal o vegetal. Por ello el abono orgánico requiere de un proceso de mineralización en el suelo. Finalmente el tercero resulta una mezcla o combinación química de los dos anteriores (Ministerio de la Presidencia 2013).

2.4.1 ABONO ORGÁNICO

Tal como se indicó, un abono del tipo orgánico se denomina así pues procede de una fuente carbonada de origen animal y/o vegetal. Estos abonos se clasifican a su vez bajo el criterio del aporte mayoritario de nutrientes encontrándose cinco clases: abonos nitrogenados, abonos fosfatados, abonos ternarios NPK y abonos binarios NP y NK. Además de estas características el Ministerio de la Presidencia (2013) considera el contenido de metales pesados cuyos límites de concentración son un criterio para

asignar las clases A, B o C descritas en la Tabla 6. Así también establece los siguientes niveles máximos de microorganismos:

- *Salmonella*: Ausente en 25 g de producto elaborado.
- *Escherichia coli*: < 1000 número más probable (NMP) por gramo de producto elaborado.

Tabla 6: Límites de concentración de metales pesados

Metal pesado	Límites de concentración (mg/kg*)		
	Clase A	Clase B	Clase C
Cadmio	0.7	2	3
Plomo	45	150	200
Cromo	70	250	300
Interpretación	Clase A: Productos fertilizantes cuyo contenido en metales pesados no superan ninguno de ellos los valores de la columna A.	Clase B: Productos fertilizantes cuyo contenido en metales pesados no superan ninguno de ellos los valores de la columna B.	Clase C: Productos fertilizantes cuyo contenido en metales pesados no superan ninguno de ellos los valores de la columna C.

Nota: (*) mg/kg válido para líquidos y en materia seca para sólidos.

FUENTE: Ministerio de la Presidencia (2013).

En comparación a los abonos minerales, los cuales aportan la mayor parte de los nutrientes que la planta precisa, se puede indicar que los abonos orgánicos además de aportar nutrientes actúan, sobre todo, mejorando las propiedades físico-químicas de los suelos y su actividad biológica (García-Serrano *et al.* 2009).

También cabe destacarse la contribución de los abonos orgánicos frente al cambio climático. Se reconoce que el aporte de materia orgánica al suelo por parte de los abonos orgánicos (junto con abonos de corral, residuos vegetales y prácticas de barbechos) permite mitigar la emisión de gases de efecto invernadero generados por la propia actividad agrícola. Más aún, bajo modelos de simulación, la aplicación de abonos orgánicos permite obtener las mayores tasas de acumulación de carbono frente a otras condiciones en estudios para suelos áridos (FAO 2007).

2.4.2 ABONO ORGÁNICO POR FERMENTACIÓN LÁCTICA

Un tipo de abono orgánico no tradicional y de reciente investigación en nuestra casa de estudios (UNALM) es el abono líquido obtenido por la fermentación láctica de residuos sólidos agroindustriales y residuos de otras industrias. Dicho proceso fermentativo emplea un consorcio microbiano (B-Lac) cuyas bacterias aceleran la degradación del residuo orgánico para producir ácido láctico mientras se eliminan otras bacterias y patógenos (procedentes del residuo) debido al grado de acidez alcanzado. Mayores detalles se indicarán en la siguiente sección (ver 2.5 FERMENTACIÓN ÁCIDO LÁCTICA).

La actividad aceleradora de la acidificación fue reportada en una experiencia donde se inocularon bacterias ácido lácticas en un proceso de compostaje. Esto aceleró la fase de acidificación permitiendo el rápido inicio de la fase termófila entre los días ocho y diez del proceso alcanzando una temperatura estable de 60 °C. En otro ensayo sin inóculo la fase termófila no tuvo inicio dentro de los primeros 15 días (la temperatura se mantuvo por debajo de los 30 °C iniciales). Se explicó que la rápida producción de ácido láctico favoreció el crecimiento de cierto hongo degradador del ácido incrementándose el valor de pH. Esto acondicionó a su vez el crecimiento de las bacterias propias de la fase termófila. Además, gracias a la producción del ácido láctico se logró inhibir la producción de ácido acético, ácido butírico y ácido propiónico (Minh *et al.* 2015).

La descripción del proceso de fermentación para la elaboración de abonos líquidos se encuentra documentada en las investigaciones desarrolladas bajo la modalidad de tesis de esta universidad. Cabe indicarse que a este tipo de abono también se le suele denominar biol acelerado aunque el término resulte poco preciso pues un biol es un sub-producto líquido en la obtención de biogás utilizando biodigestores.

Se reportan los resultados de algunos casos de abonos líquidos obtenidos vía fermentación láctica en la Tabla 7. En la misma tabla se incluyen las experiencias del proceso de biodigestión así como la experiencia de Russo (2001) quien empleó una fermentación no especificada sobre residuos de frutas.

Los insumos empleados para la elaboración de estos abonos orgánicos son el consorcio de bacterias ácido lácticas (B-Lac) y la melaza de caña de azúcar. Estos se comentan a continuación:

- **Consortio de bacterias ácido lácticas (B-LAC)**

Este consorcio contiene cepas seleccionadas de bacterias del género *Lactobacillus* (Guccione, citado por Buchelli 2014). En este género de morfología bacilar la mayoría de las especies son del tipo homofermentativas pero algunas son heterofermentativas (Tabla 8). Normalmente los lactobacilos resisten ante valores de acidez demasiados bajos para el resto de BAL. Por ello crecen eficientemente a valores de pH de hasta 4 y resultan responsables de los últimos estadios de la fermentación láctica. Además, a los lactobacilos prácticamente nunca se les considera patógenos (Madigan *et al.* 2009). Más aún, se les suele encontrar en la microbiota normal humana: en el estómago, intestino delgado e intestino grueso (Prescott *et al.* 2002).

Tabla 8: Clasificación de *Lactobacillus*

Homofermentativas	Heterofermentativas	Fuentes
<i>Lb. delbruekii</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lb. helveticus</i> y <i>Lb. amylovorus</i> .	<i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. buchneri</i> y <i>Lb. bifidus</i> .	Serna y Rodríguez (2005)
<i>Lb. delbruekii</i> y <i>Lb. bulgaricus</i> .	<i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. lycopersici</i> y <i>Lb. bifidus</i> .	Chen y Wang (2016)

En la composición microbiológica del consorcio B-Lac (Tabla 9) se descarta la presencia de coliformes fecales y totales pues el pH de este producto es cercano a 3.5 como resultado de la actividad de las BAL. También suelen encontrarse levaduras pero no son perjudiciales para la BAL (García 2008). Serna y Rodríguez (2005) comentan que ciertos mohos y levaduras de los géneros *Rhizopus*, *Zymomonas*, *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* también son utilizados en la producción de ácido láctico. En cambio Minh *et al.* (2015) encontró que algunos hongos suelen degradar ácidos orgánicos y por ello elevar el pH como el *Paecilomyces* sp luego de la acidificación de una especie BAL.

Tabla 9: Análisis microbiológico del B-Lac

Parámetros	Muestra B-Lac
Enumeración de coliformes totales (NMP/mL)	<3
Enumeración de coliformes fecales (NMP/mL)	<3
Recuento de <i>Lactobacillus</i> sp (UFC/mL)	7×10^7
Recuento de mohos (UFC/ ml)	2.5×10^5
Recuento de levaduras (UFC/ ml)	<10
Recuento de bacterias mesófilas viables (UFC/mL)	3.3×10^4

FUENTE: García (2008).

- Melaza de caña de azúcar

Es un subproducto líquido, también denominado miel, de la industria del azúcar de característica viscosa, denso y coloración oscura. Suele emplearse en alimentos concentrados para animales y como suplemento alimenticio para las personas (Leeson y Summers, citados por Fajardo y Sarmiento 2007). Este residuo resulta ser una mezcla compleja pues contiene azúcares fermentables como la sacarosa, glucosa, fructosa y rafinosa. Sin embargo, presenta además sustancias reductoras no fermentables (Honig, citado por Fajardo y Sarmiento 2007). Se presentan a mayor detalle las características, la composición y el contenido de metales pesados de la melaza de caña en la Tabla 10, Tabla 11 y Tabla 12.

Tabla 10: Características de la melaza de caña

Parámetro	Valor
Materia seca	76.50 %
Materia orgánica	62.50 %
Cenizas	16.00 %
Relación C:N	27 (aprox.)
Densidad	1.41 kg/l
pH	4.9-5.4

FUENTE: Molasses, Poballe citados por García (2008).

Tabla 11: Composición de la melaza de caña

Parámetro	Concentración	Parámetro	Concentración
Proteínas y aminoácidos		Carbohidratos	
Proteína bruta	4.30 %	Azúcares totales	48.30 %
Nitrógeno	1.01 %	Azúcares reductores	11.50 %
Lisina	200 ppm	Sacarosa	35.90 %
Metionina	200 ppm	Fructosa	5.60 %
Treonina	500 ppm	Glucosa	2.60 %
Triptófano	200 ppm	Minerales	
Isoleucina	400 ppm	Calcio	0.80 %
Valina	700 ppm	Fósforo	0.08 %
Vitaminas		Potasio	4.20 %
Biotina (B8)	3 ppm	Cloro	2.10 %
Ácido fólico (B9)	0.04 ppm	Magnesio	0.27 %
Inositol	6000 ppm	Azufre	0.78 %
Pantotenato de calcio	60 ppm	Sodio	0.09 %
Piridoxina (B6)	4 ppm	Cobre	14 ppm
Riboflavina (B2)	2.5 ppm	Hierro	130 ppm
Tiamina (B1)	1.8 ppm	Manganeso	5 ppm
Niacina (B3)	500 ppm	Zinc	8 ppm
Colina	700 ppm		

FUENTE: Molasses, Poballe citados por García (2008).

Tabla 12: Contenido de metales pesados de la melaza de caña

Parámetro	Concentración
Metales pesados	
Cadmio	0.06 mg/l
Plomo	2.97 mg/l
Cromo	3.00 mg/l

FUENTE: Medina (2013).

2.5 FERMENTACIÓN ÁCIDO LÁCTICA

Es una fermentación muy común donde se reduce el piruvato en ácido láctico. A diferencia de la síntesis artificial del ácido láctico la fermentación es una vía biológica llevada a cabo por las bacterias ácido lácticas (BAL), algas (*Chlorella*), algunos mohos acuáticos, protozoos e incluso esta fermentación se registra en el músculo esquelético animal (Prescott *et al.* 2002). Más aún, Serna y Rodríguez (2005) resaltan su importancia y citan que por la vía biológica se obtiene el 90% del ácido láctico producido en el mundo.

El ácido láctico, o ácido 2-hidroxiopropanoico ($C_3H_6O_3$), presenta un carbono asimétrico y por ello existen dos isómeros del ácido: L(+) láctico y D(-) láctico, ambas ópticamente activas cuando se obtiene por la vía biológica. La primera forma, L-isómero, tiene variadas aplicaciones en las industrias de la alimentación y farmacéuticas, además se emplea como materia prima para producir biopolímeros. En cambio, el D-isómero resulta tóxico para los humanos. Por ello se procura una producción pura del L-isómero (Papagianni 2012; Serna y Rodríguez 2005). Algunas de las aplicaciones del ácido láctico reconocidas se citan en la Tabla 13.

Tabla 13: Aplicaciones del ácido láctico

Industria	Aplicaciones	Fuentes
Alimentos Cosméticos Farmacéutica Plásticos	Agente preservativo (acidificante) y potenciador de sabor. Agente emulsificante y humectante. Insumo para producir farmacéuticos ópticamente puros. Producción de bioplásticos sintéticos (p.e. ácido poliláctico).	Papagianni (2012)
Química Curtiembre Pinturas y resinas Farmacéutica Textil Agricultura	Solubilizador y agente controlador de pH. Remojar y desencalar cueros. Solvente biodegradable. Sus sales de hierro y calcio para producir drogas. Teñido e impresión. Material acidulante.	Serna y Rodríguez (2005)
Alimentos Ganadería Salud	Fermentación de alimentos, conservación y desarrollo de características sensoriales, ensilaje de pescado. Ensilaje de forrajes. Función probiótica: contra problemas digestivos, cáncer de colon, intolerancia a la lactosa, colesterol sérico, hipertensión y a favor del sistema inmunológico.	Ramírez <i>et al.</i> (2011)

La fermentación láctica de carbohidratos se clasifica en dos tipos según los productos formados a partir de la glucosa: la fermentación homoláctica y la heteroláctica. Estas se describen en la Figura 3. En la ruta homoláctica la glucosa se convierte casi cualitativamente en ácido láctico mientras que en la ruta heteroláctica se obtiene una mezcla equimolecular de ácido láctico, etanol y dióxido de carbono a partir de una glucosa. En términos más exactos, la fermentación homoláctica sigue la ruta de Embden-Meyerhof mientras que la fermentación heteroláctica no porque carece de la enzima fructosa difosfatoaldolasa también llamada enzima aldolasa. Por ello la ruta heteroláctica sigue la ruta oxidativa de las pentosas fosfato. Otros azúcares menores como la celobiosa y monosacáridos de los grupos hexosas y pentosas (galactosa,

fructosa, manosa, xilosa, arabinosa y ribulosa) también siguen ambas rutas de fermentación (Wang *et al.* 2015; Stanier *et al.* 1992).

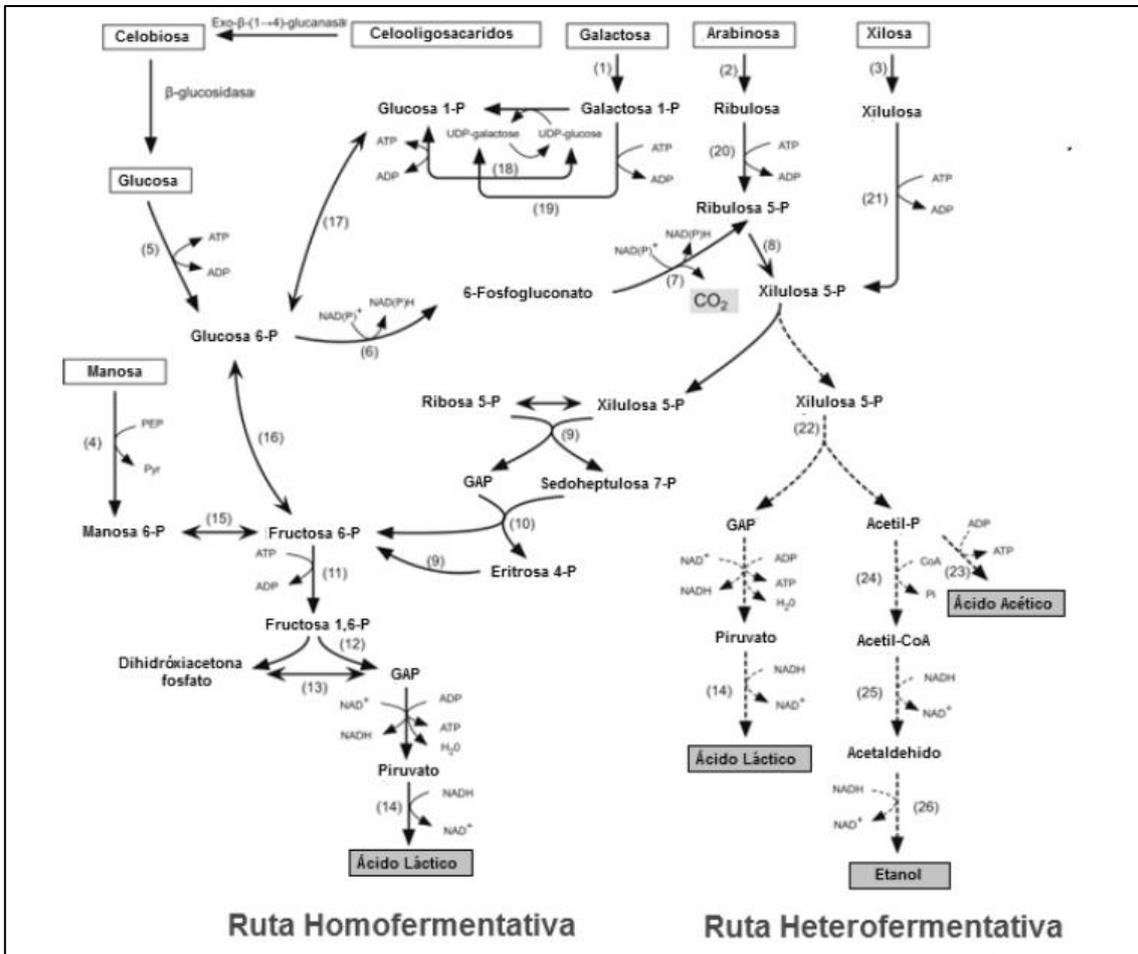


Figura 3: Rutas de fermentación homoláctica y heteroláctica

FUENTE: Wang *et al.* modificado por Aragón (2015).

De la figura anterior se observa que en la ruta heteroláctica se producen ácido acético, etanol y dióxido de carbono además del ácido láctico. Otra diferencia entre ambas rutas es el rendimiento energético. En la ruta homoláctica se producen dos moles de ATP por mol de glucosa mientras que en la ruta heteroláctica se producen o bien un mol de ATP por mol de glucosa cuando se produce etanol o bien 2.5 moles de ATP por mol de glucosa cuando se produce ácido acético tal como se indica en las siguientes ecuaciones (Wang *et al.* 2015; Pisabarro 2009; Chen y Wang 2016).

Fermentación homoláctica



Fermentación heteroláctica



Los microorganismos como los estreptococos, enterococos, pediococos y lactobacilos son propios de una fermentación homoláctica. En cambio en las especies *Leuconostoc*, levaduras y algunos lactobacilos participan en la fermentación heteroláctica (Koneman *et al.* 2008). Ambos grupos láctico-fermentadores se indican en la Figura 4 según su morfología, agrupamiento y el tipo de fermentación (Pisabarro 2009).

Cabe indicarse que ciertos microorganismos considerados homofermentadores pueden producir una mezcla de ácidos orgánicos de bajo peso molecular como el ácido fórmico y ácido acético así como etanol aunque en cantidades pequeñas (Koneman *et al.* 2008). Incluso ciertas bacterias ácido lácticas pueden producir ác. propiónico, ác. butírico, ác. fórmico, ác. acético y principalmente ácido succínico cuando se usan caldos de infusión de peces como sustratos (Özcelik *et al.* 2016). Por otro lado, se reporta la generación de dióxido de carbono en bacterias homofermentativas. En suma, estas **desviaciones** hacia la ruta heteroláctica pueden explicarse por las limitaciones del sustrato, consumo de azúcares distintos a la glucosa (galactosa o maltosa), presencia de oxígeno, altos niveles de pH y bajas temperaturas (Gaspar *et al.*, Leveau y Bouix, citados por Aragón 2015; Papagianni 2012).

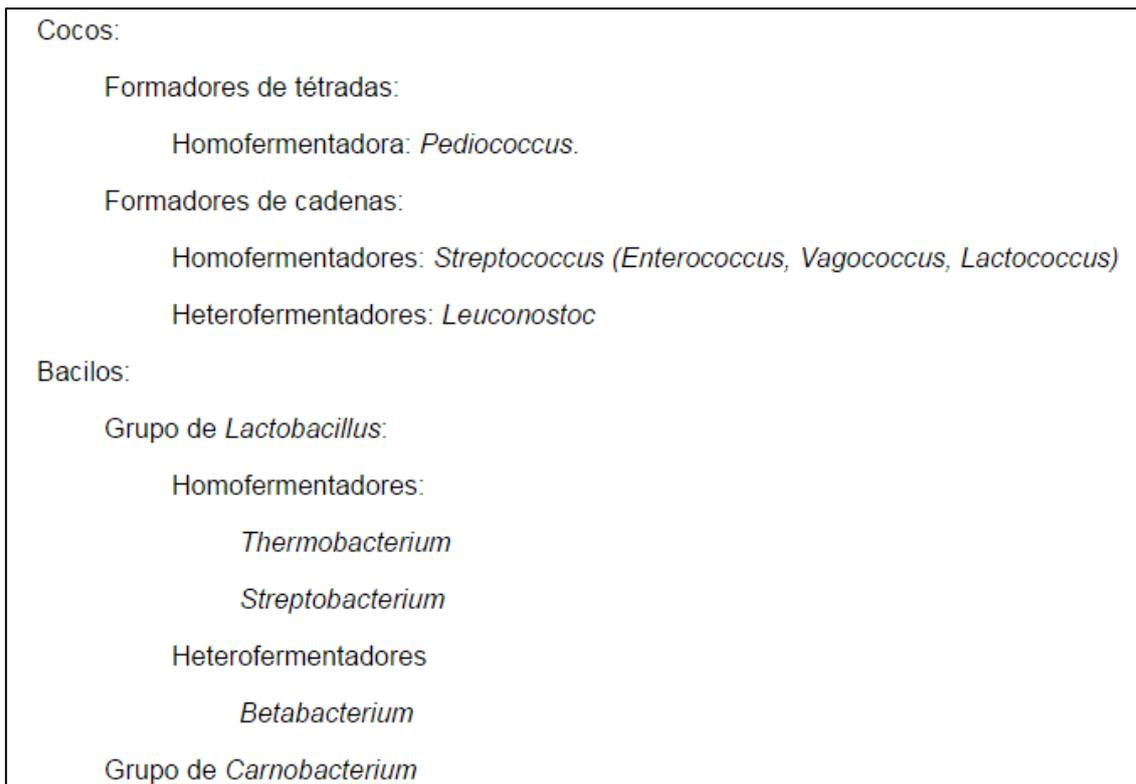


Figura 4: Grupos de bacterias ácido lácticas

FUENTE: modificado de Pisabarro (2009).

2.5.1 BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS (BAL)

Las BAL son un grupo de microorganismos inmóviles, de forma bacilar o esférica (cocos) Gram-positivos y se denominan ácido lácticas pues a través de la fermentación de carbohidratos producen única o principalmente ácido láctico. Según esto último las BAL suelen clasificarse por el tipo de fermentación en el que participan (homofermentativas o heterofermentativas). En cualquier caso obtienen su energía mediante la fosforilación del sustrato sintetizando ATP. Por tanto, la fermentación de azúcares es su fuente exclusiva de energía (Stanier *et al.* 1992; Madigan *et al.* 2009; Pisabarro 2009).

Además se conoce que las BAL se caracterizan por crecer en ambientes anaeróbicos siendo la mayoría bacterias anaerobios aerotolerantes porque acumulan gran cantidad de Mn^{+2} . Esto les permite fermentar azúcares en condiciones aeróbicas y anaeróbicas. Las BAL son mesófilas y a pesar de esto pueden soportar temperaturas de 5-45°C incluso pueden crecer y producir ácido láctico a una temperatura máxima cercana a los 50°C.

Otra característica de este grupo es su elevada tolerancia a la acidez generada por la producción del ácido láctico. Se cita que pueden crecer entre pH de 4.0-4.5 y hasta proliferar a pH de 3.2-9.6. Así se eliminan los microorganismos competidores por la fuente de azúcares (Stanier *et al.* 1992; Madigan *et al.* 2009; Pisabarro 2009; Wang *et al.* 2015).

Según Pisabarro (2009) la acción de las BAL de eliminar competidores y entre ellos a microorganismos patógenos es conocido como **antagonismo láctico** que se consigue a través de (1) la producción de bactericidas, (2) la producción de peróxidos y (3) producción del ácido láctico y acético. Adicionalmente, Ramírez *et al.* (2011) indican otros componentes antimicrobianos como el diacetilo, dióxido de carbono y aquellos resultantes de la acción de la lactoperoxidasa sobre el peróxido de hidrógeno y tiocianato.

Los bactericidas son antibióticos peptídicos producidos por las BAL y otras bacterias. Entre las de mayor interés industrial destacan la nisina y subtilina. Además se cita la acción antimicrobiana de los bactericidas sobre *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella* y otros. Asimismo los peróxidos resultan muy tóxicos para otras bacterias y algunas cepas de las BAL pueden formarlas a partir del oxígeno (Pisabarro 2009; Ramírez *et al.* 2011).

En cuanto a los ácidos láctico, acético y otros ácidos orgánicos se tiene que estos acidifican el medio inhibiendo a las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Pisabarro 2009; Ramírez *et al.* 2011). La condición ácida permite a los ácidos orgánicos ser liposolubles e ingresar a la membrana celular y alcanzar el citoplasma de los patógenos (Özcelik *et al.* 2016). Estos ácidos en sus formas no ionizadas atraviesan la membrana bacteriana, se acumulan en el interior en la forma ionizada y junto al ión hidrógeno interfieren en el metabolismo e inhiben el crecimiento celular (Pisabarro 2009; Ramírez *et al.* 2011).

Los niveles altos de acidez pueden eliminar a muchos microorganismos patógenos relacionados a los alimentos que se listan en la Tabla 14 según la OPS (2016). Tales

niveles incluso pueden causar la inhibición entre especies BAL. Al respecto, Tang *et al.* (2016) cita que ciertas BAL trabajan a pH muy bajos y cercanos a 3.5 mientras que la mayoría no y difícilmente pueden producir ácido láctico a niveles de pH por debajo de cuatro.

Tabla 14: Parámetros de pH y temperatura en crecimiento de patógenos

Patógenos en alimentos	Parámetros	
	Nivel de pH (und pH)	Temperatura (°C)
<i>Salmonella</i> spp	3.7 – 9.5	5.0 – 45.6
<i>Shigella</i> spp	4.8 – 9.3	6.1 – 47.1
<i>Escherichia coli</i>	4.0 – 9.0	2.5 – 49.4
<i>Listeria monocytogenes</i>	4.3 – 9.6	0.0 – 45.0
<i>Bacillus cereus</i>	4.3 – 9.3	5.0 – 50.0
<i>Clostridium botulinum</i>	4.6 – 9.0	10.0 – 50.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	5.0 – 9.0	10.0 – 52.0

FUENTE: modificado de OPS (2016).

Relacionado a la producción del ácido láctico se ha reportado la inhibición del proceso de fermentación a causa del propio producto final. Esto se traduce en un **ralentizamiento** progresivo de la fermentación incluyendo el crecimiento celular, la utilización del sustrato y la producción de ácido láctico (Wang *et al.* 2015).

Se encuentra que las BAL tienen una preferencia sobre los azúcares solubles y según esto se identifica un comportamiento de **represión catabólica por carbono** donde se inhibe el consumo de azúcares complejos ante un contenido importante de glucosa u otro azúcar soluble (Wang *et al.* 2015). Particularmente se encontró que las BAL predominantes de una mezcla de residuos de comida con lodos primarios de PTAR lograron reducir en 80% la concentración de carbohidratos como la glucosa y galactosa en un lapso de 24 horas (RedCorn y Engelberth 2016).

Además de los azúcares se citan determinados aminoácidos (cisteína, triptófano y serina) como fuentes nitrogenadas para su conversión en piruvato y ser conducidos a la fermentación láctica (Lee *et al.*, citados por Maeda *et al.* 2009). Otras fuentes como bases pirimidinas y purinas o péptidos de peso molecular medio también son recomendadas (Serrato, Ramirez y Leal, Pescuma *et al.*, citados por Aragón 2015).

Tanto las fuentes carbonadas como las nitrogenadas deben tenerse en una proporción adecuada de manera que no resulte inhibitoria o deficiente. Por ello una adecuada relación C/N del sustrato se obtiene al adicionarse peptonas, extractos cárnicos y de levaduras (Lu *et al.*, citados por Wang *et al.* 2015) y este valor es cercano a 19 mol/mol en el caso de una cepa de *Lactobacillus* sp (Hétenyo *et al.*, citados por Wang *et al.* 2015).

Otros nutrientes también son importantes para las BAL. Por ello se describe que estas bacterias tienen un requerimiento nutricional complejo donde se incluyen ácidos grasos, vitaminas y minerales (Özcelik *et al.* 2016). Entre los micronutrientes se tiene que el magnesio y el calcio están asociados al buen crecimiento de las BAL mientras que el cadmio, el cesio, el cobre, el molibdeno y el cobalto se asocian a la inhibición del crecimiento. El manganeso y el magnesio favorecen las funciones enzimáticas. Y finalmente el potasio regula el nivel de pH intracelular y la presión osmótica (Leveau y Bouix, citados por Aragón 2015).

Según Serna y Rodríguez (2005) los parámetros óptimos para las BAL son generalmente un pH por debajo de cinco y un rango de temperatura de 20°C a 45°C. Estas referencias son similares a las comentadas por Wang *et al.* (2015) las cuales son un pH entre 5.0-7.0 y temperatura entre 37-43°C. En la Tabla 15 se resumen los parámetros óptimos para la producción de ácido láctico de algunas investigaciones que emplearon sustratos renovables y de bajo coste. Entre los parámetros reportados se procura que el pH se acerque a la neutralidad e incluso se suele ajustar a ese nivel. Muchos autores citan que en condiciones cercanas a la neutralidad se obtienen mayores rendimientos del ácido láctico en comparación a condiciones ácidas iniciales (Tang *et al.* 2016; Wang *et al.* 2015).

Tabla 15: Parámetros de fermentación de las BAL

Parámetros	Acidez	Temp.	Sustratos	Fuentes
Grupos/especies	(und pH)	(°C)		
Bacterias endógenas de lodos residuales	6.8	50	Sacarosa.	Maeda <i>et al.</i> (2009)
No específica	4-7	35-60	Varios / no indica.	Aragón (2015)
<i>Lactobacterium plantarum</i> (se presume)	5.5	41	Glucosa y galactosa aportados por lodos primarios de PTAR y residuos de comida.	RedCorn y Engelberth (2016)
<i>Lactobacillus lactis lactis</i> y <i>Pediococcus acidilactici</i>	6.4	37	Carbohidratos y proteínas de la anchoveta.	Özcelik <i>et al.</i> (2016)
<i>Lactobacillus</i>	6.0	37	Residuos de comida (arroz, vegetales y carne) como fuente de almidón.	Tang <i>et al.</i> (2016)

Las BAL también son responsables de la fermentación maloláctica donde el ácido láctico es obtenido a partir de la fermentación del ácido málico el cual es de habitual presencia en las frutas. En la aplicación para la industria vinícola se busca cambiar al ácido málico por un ácido más débil como el ácido láctico y mejorar las propiedades organolépticas del vino aunque la fermentación maloláctica puede verse ralentizada ante un alto contenido de alcohol o un bajo nivel de pH (Tristezza *et al.* 2016).

Finalmente, la producción del ácido láctico y de otros ácidos orgánicos no son las únicas referencias conocidas de las BAL. A nivel industrial estas bacterias son requeridas para la producción de probióticos y péptidos antimicrobianos y para aplicaciones en la salud. También se emplean para la producción de metabolitos de gran valor relacionados al desarrollo de sabor (diacetilo, acetaldehído) así como en la producción de edulcorantes (L-alanina, manitol, sorbitol, xilitol), exopolisacáridos y vitaminas (Papagianni 2012).

2.6 ENSAYO DE FITOTOXICIDAD EN ABONOS

Es conocido que ciertos materiales orgánicos presentan efectos fitotóxicos principalmente por su contenido de amonio, de ácidos volátiles orgánicos, de metales pesados y de sales. Tales efectos se manifiestan en la inhibición de la germinación de semillas así como en la inhibición del crecimiento de raíces y otros rasgos de la

plántula. Por tanto, la aplicación de determinados materiales orgánicos sobre la vegetación debe procurar no generar efectos fitotóxicos (Varnero *et al.* 2007).

El ensayo o prueba de fitotoxicidad con semillas de lechuga permite evaluar los efectos fitotóxicos de una gran variedad de sustancias (no solo orgánicas sino también inorgánicas) sobre la germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Por ello, la ventaja de este tipo de ensayos yace en su amplia aplicación para muestras coloreadas o turbias, en ensayos estáticos, semiestáticos y de flujo continuo, con compuestos puros solubles, muestras de aguas residuales domésticas e industriales, aguas superficiales (lagos y ríos) y subterráneas, lixiviados de suelos, sedimentos, lodos y fertilizantes sólidos o líquidos (Navarro *et al.* 2006; Sobrero y Ronco 2008). Inclusive estos ensayos de fitotoxicidad sirvieron para evaluar la madurez del compost (Varnero *et al.* 2007). Otra ventaja es la relativa baja inversión de tiempo y dinero requeridos.

Las semillas de lechuga son el material biológico por excelencia y han sido recomendadas por la USEPA y FDA (Wang *et al.*, citados por Navarro *et al.* 2006). Se ha reportado que las semillas de lechuga son más sensibles en estos estudios que otras semillas como las de achicoria y escarola (Navarro *et al.* 2006). Así también se comentó la sensibilidad de las semillas de lechuga y rabanito en el compostaje: en la fase termófila del compost la lechuga tiene una sensibilidad menor que el rabanito pero es mayor en la fase de maduración (Varnero *et al.* 2007). Además, la lechuga es de fácil y rápida germinación (Sobrero y Ronco 2008).

Por los motivos expuestos las semillas de lechugas han sido objeto de análisis en muchas investigaciones. Por mencionar algunos casos la lechuga ha sido estudiada para evaluar la toxicidad de las aguas de irrigación contaminadas por aluminio (Silva y Matos 2016), de los efluentes de la industria citrícola y de la destilación de alcohol de la melaza de caña de azúcar (Navarro *et al.* 2006), de los suelos remediados por oxidación Fenton y nanoremediación (Rede *et al.* 2016) y de las aguas residuales de la industria cafetalera (Louzada *et al.* 2016).

Sobrero y Ronco (2008) proponen evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas complejas mediante una prueba estática de toxicidad aguda (120 horas de exposición) cuyos puntos finales son las inhibiciones de la germinación y de las elongaciones de la radícula y del hipocotilo. En cuanto a los puntos finales Rede *et al.* (2016) concuerdan en que el porcentaje de germinación y la elongación de la raíz son más sensibles que las longitudes del brote (*shoot*) o de la hoja para lechugas de variedad Buttercrunch. Asimismo Navarro *et al.* (2006) encontraron una mayor sensibilidad en la elongación de la radícula que en el hipocotilo de las plántulas de la variedad mantecosa. Por último, Varnero *et al.* (2007) quienes trabajaron con la variedad Cuatro Estaciones consideraron al porcentaje de germinación y al crecimiento de radícula para generar el índice de germinación.

El mencionado índice de germinación ha sido utilizado en las experiencias de fermentación ácido láctica y/o biodigestión en la UNALM tal como se presenta en la Tabla 16. En estos casos se indicó que los mejores resultados fueron obtenidos en las diluciones 0.01 / 100, 0.1 / 100 y 1 / 100.

Tabla 16: Índices de germinación referenciales

Proceso	Residuo utilizado	IG (%) según diluciones					Fuentes
		0.01/100	0.1/100	1/100	10/100	100/100	
Ferm. láctica	Rocoto	-	81.9	67.9	0	0	Ricse (2013)
	Bagazo, e. vacuno y suero	112.5	80.1	21.8	0	0	Buchelli (2014)
	Cuyinaza	99.49	98.98	54.0	0	0	Román (2012)
	Papa	114.38	120.20	140.40	19.79	0	Meza (2014)
	Estiércol vacuno	-	84.5	65.8	0.41	0	Peralta (2010)
	Poda de grass	109.01	98.09	93.42	0	0	Herrera (2016)
F. láctica y biodig.	Estiércol de ovino	94.8	85.8	67.1	0	0	Medina (2013)

Finalmente, es importante considerar los parámetros de pH y conductividad eléctrica (CE) de las muestras a evaluar. Se pueden tomar como referencias las experiencias hidropónicas en lechugas donde se recomiendan un pH en el rango de 5.5-7.0 y para lechugas de cinco hojas verdaderas una CE menor a 1.5 mS/cm (Carrasco e Izquierdo 1996).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE REALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO

La experimentación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental - Biorremediación perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

3.2 MATERIALES

3.2.1 MATERIA PRIMA E INSUMOS

- Elaboración del abono líquido
 - Residuos de fresa (materia prima): cortes de pedículo, cáliz y pulpa provenientes del procesamiento de fresa (*Fragaria x ananassa*) de la empresa N. Reys S.R.L.
 - Microorganismos: conformado por un consorcio de bacterias probióticas ácido lácticas (B-Lac).
 - Melaza de Caña: proveniente del estable de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

- Ensayo de fitotoxicidad.
 - Semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) de la variedad Duett: provenientes del Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral de la UNALM. Estas no presentan sustancias fungicidas ni pesticidas.

3.2.2 MATERIALES Y EQUIPOS

- Elaboración del abono líquido
 - Recipientes de plástico de 1 kg con tapa
 - Bidón de plástico de 60 L
 - Bolsas de plástico de 5 L
 - Balanza electrónica
 - Estufa eléctrica
 - Horno
 - Prensa manual
 - Taladro
 - Paleta mezcladora de metal
 - Licuadora industrial
 - Solución buffer de pH 7.01 Hanna Instruments HI 7007
 - Solución buffer de pH 4.01 Hanna Instruments HI 7007
 - Bureta de vidrio de 30 mL
 - Solución de hidróxido de sodio 0.1 N, 1L
 - Equipo centrifugador
 - Tubos de ensayo de 15 mL
 - Agua destilada
 - Guantes quirúrgicos
 - Mascarillas quirúrgicas
 - Papel toalla
 - Etiquetas autoadhesivas
 - Potenciómetro marca Hanna Instruments modelo HI 8424
- Ensayo de fitotoxicidad.
 - Placas Petri de diámetro 10 cm
 - Pinzas
 - Papel filtro de rápida absorción
 - Pipetas de 2 ml
 - Fiolas de 50 ml

3.3 MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.3.1 MEDICIÓN DEL pH

La medición de pH de las muestras de la fermentación se realizó empleando un potenciómetro modelo HI 8424 de forma directa. Previo a su uso se calibró el equipo utilizando soluciones buffer de pH 7.01 y pH 4.01. Luego se introdujo el electrodo del potenciómetro en la muestra y la lectura válida fue aquella que se mantuvo constante por 10 segundos aproximadamente. Finalmente se enjuagó el electrodo con agua destilada después de cada uso.

3.3.2 MEDICIÓN DEL PORCENTAJE DE ACIDEZ LÁCTICA

La medición del porcentaje de acidez titulable (o acidez libre) se realizó acorde a los principios del método estandarizado 942.15 (AOAC 2007) establecido por la Asociación Oficial de Químicos Analistas (AOAC International). En este caso la cantidad de acidez titulable determinada se expresó en términos de ácido láctico.

Para esto se diluyeron cinco gramos de muestra con agua destilada hasta alcanzar 50 ml de solución y se tomó una alícuota de 20 ml sometiéndola a centrifugado (5000 rpm) por cinco minutos. En la titulación potenciométrica el titulante fue hidróxido de sodio NaOH 0.1 N y los niveles de pH alcanzados se encontraron en el rango 8.1 ± 0.2 . Finalmente, el cálculo fue:

$$\% \text{ácido láctico} = \frac{V \cdot N \cdot f}{m} \times 100$$

Donde:

V: Volumen de NaOH consumido (ml)

N: Normalidad del NaOH (N)

m: Masa de la muestra (g)

f: factor de conversión del ácido láctico (f=0.09)

3.3.3 ANÁLISIS AGRONÓMICO

Se realizaron análisis de las características agronómicas del abono líquido, del subproducto sólido de la fermentación y del residuo de frutas. Los principales parámetros evaluados fueron los macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S), micronutrientes (Fe, Cu, Zn, Mn, B) y metales pesados (Pb, Cd y Cr) así como el contenido de materia orgánica, pH y conductividad eléctrica. Dicha evaluación se realizó por el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía – LASPAF UNALM. En cuanto al análisis de los otros insumos se tomaron referencias de otras investigaciones. Los métodos de ensayo empleados se citan en la Tabla 17.

Tabla 17: Métodos de ensayo agronómicos

Parámetro	Método
pH	Potenciometría
Conductividad eléctrica	Conductimetría
Sólidos totales	Gravimetría
Materia orgánica	Walkley y Black o Dicromato de Potasio
Nitrógeno	Kjeldahl
Fósforo	Amarillo de Vanadato Molibdato
Potasio, calcio, magnesio, sodio	Espectometría de absorción atómica
Hierro, cobre, zinc, manganeso	Espectometría de absorción atómica
Boro	Curmina

Adicionalmente, se determinó la relación carbono-nitrógeno para conocerse relación de disponibilidad de estos nutrientes mediante la fórmula:

$$C/N = \frac{\% \text{carbono orgánico}}{\% \text{nitrógeno total}} = \frac{\% \text{materia orgánica} / 1.725}{\% \text{nitrógeno total}}$$

Según INIA (2004) el resultado numérico de dicha relación implica las interpretaciones citadas en la Tabla 18.

Tabla 18: Criterio de interpretación de C/N

Criterio	Interpretación
Relación C/N baja (menor de 20)	Alta disponibilidad de nitrógeno.
Relación C/N media (20 a 30)	Disponibilidad moderada de nitrógeno.
Relación C/N alta (mayor a 30)	Baja disponibilidad de nitrógeno

FUENTE: INIA (2004).

3.3.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Se realizaron análisis de las características microbiológicas del abono líquido y del residuo de fruta. Los parámetros evaluados fueron coliformes totales, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Lactobacillus* sp así como mohos y levaduras. Dicha evaluación se realizó por el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología “Marino Tabusso” de la Facultad de Ciencias – UNALM y el Laboratorio de Control de Calidad N.REPS S.R.L. Los métodos de ensayo empleados se citan en la Tabla 19.

Tabla 19: Métodos de ensayo microbiológicos

Parámetro	Método
<i>Lactobacillus</i> sp Coliformes y <i>Escherichia coli</i> Mohos y levaduras <i>Salmonella</i> spp.	International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1983. 2da Ed. Vol 1 Part II (Trad. 1988) AOAC método oficial 991.14-1994 AOAC método oficial 997.02-2000 AOAC método oficial 2014.01 y AOAC Performance TestedSM Certificado n.º 061301

3.3.5 ENSAYO DE FITOTOXICIDAD

A partir de la fase piloto se realizó el ensayo de fitotoxicidad con semillas de lechuga *Lactuca sativa* variedad Duett bajo 120 horas de exposición siguiendo la metodología descrita por Sobrero y Ronco (2008). Con esto se buscó evaluar los efectos fitotóxicos de abono líquido puro y sus diluciones a través de la inhibición de la germinación de las semillas y la inhibición en la elongación de las radículas de las plántulas (mas no se consideró la inhibición en la elongación del hipocotilo) para compararlos frente a un control que empleó agua de mesa. Así se tuvo un determinado número de tratamientos (cinco y un control) a evaluarse con sus respectivas repeticiones (tres). Ver Tabla 20.

Tabla 20: Tratamientos del ensayo de fitotoxicidad

Tratamientos	Control	D1	D2	D3	D4	Puro
Dilución del abono líquido (v/v)	0/100	0.01/100	0.1/100	1/100	10/100	100/100

Por tanto, los puntos finales de este ensayo fueron el porcentaje de germinación relativo (PGR), el crecimiento de radícula relativo (CRR) y el índice de germinación (IG). Para esto se tomaron registros de las semillas germinadas y de las elongaciones de las radículas al término de la exposición (120 h). Tales puntos finales se calcularon siguiendo la metodología presentada por Tiquia, citado por Varnero *et al.* (2007) (ver Tabla 21).

Tabla 21: Indicadores del ensayo

Indicadores	Porcentaje de germinación relativo	Crecimiento de radícula relativo	Índice de germinación
Fórmulas	$PGR = 100\% \times (A/B)$	$CRR = 100\% \times (C/D)$	$IG = PGR \times CRR/100$
Consideraciones	A = N° semillas germinadas en el extracto B = N° semillas germinadas en el testigo	C = Elongación de la radícula en el extracto D = Elongación de la radícula en el testigo	-

Nota: extracto y testigo se refieren a tratamiento y control respectivamente.

FUENTE: Tiquia, citado por Varnero *et al.* (2007).

Finalmente, Zucconi *et al.*, citados por Varnero *et al.* (2007) proponen evaluar la toxicidad de compost inmaduros por medio de un criterio de interpretación del IG que ha de ser referencial para esta investigación. Tal criterio se describe en la Tabla 22.

Tabla 22: Criterio de interpretación del IG

Criterio	Interpretación
IG ≥ 80%	No hay sustancias fitotóxicas o están en muy baja concentración. Hay una fuerte presencia de sustancias fitotóxicas. Hay una presencia moderada de sustancias fitotóxicas.
IG ≤ 50%	
50% < IG < 80%	

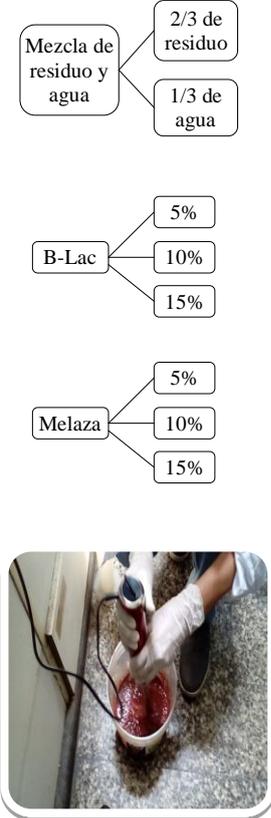
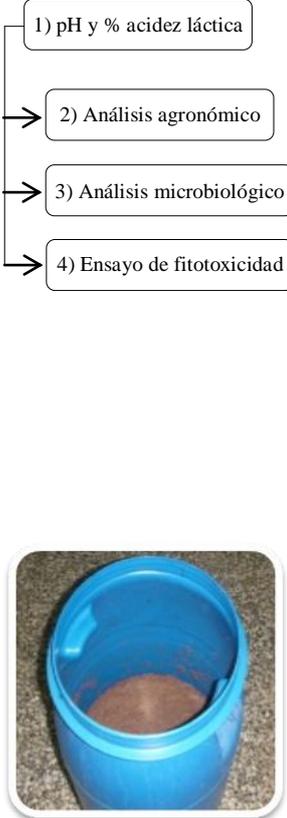
FUENTE: Zucconi *et al.*, citados por Varnero *et al.* (2007).

3.4 PROCEDIMIENTO

3.4.1 ELABORACIÓN DEL ABONO LÍQUIDO

El proceso de elaboración consistió en las fases indicadas en la Tabla 23.

Tabla 23: Fases del proceso de producción del abono líquido

Fase	Fase preliminar	Fase laboratorio	Fase piloto																																				
Objetivo	Determinar las composiciones de los tratamientos	Determinar el mejor tratamiento	Evaluación de los objetivos propuestos																																				
Ilustración		<p>Tratamiento Repeticiones</p> <table border="1"> <tr><td>T1</td><td>T1R1</td><td>T1R2</td><td>T1R3</td></tr> <tr><td>T2</td><td>T2R1</td><td>T2R2</td><td>T2R3</td></tr> <tr><td>T3</td><td>T3R1</td><td>T3R2</td><td>T3R3</td></tr> <tr><td>T4</td><td>T4R1</td><td>T4R2</td><td>T4R3</td></tr> <tr><td>T5</td><td>T5R1</td><td>T5R2</td><td>T5R3</td></tr> <tr><td>T6</td><td>T6R1</td><td>T6R2</td><td>T6R3</td></tr> <tr><td>T7</td><td>T7R1</td><td>T7R2</td><td>T7R3</td></tr> <tr><td>T8</td><td>T8R1</td><td>T8R2</td><td>T8R3</td></tr> <tr><td>T9</td><td>T9R1</td><td>T9R2</td><td>T9R3</td></tr> </table> 	T1	T1R1	T1R2	T1R3	T2	T2R1	T2R2	T2R3	T3	T3R1	T3R2	T3R3	T4	T4R1	T4R2	T4R3	T5	T5R1	T5R2	T5R3	T6	T6R1	T6R2	T6R3	T7	T7R1	T7R2	T7R3	T8	T8R1	T8R2	T8R3	T9	T9R1	T9R2	T9R3	
T1	T1R1	T1R2	T1R3																																				
T2	T2R1	T2R2	T2R3																																				
T3	T3R1	T3R2	T3R3																																				
T4	T4R1	T4R2	T4R3																																				
T5	T5R1	T5R2	T5R3																																				
T6	T6R1	T6R2	T6R3																																				
T7	T7R1	T7R2	T7R3																																				
T8	T8R1	T8R2	T8R3																																				
T9	T9R1	T9R2	T9R3																																				
Periodo	1 semana	1 mes	1 mes																																				

Fase preliminar: En esta primera fase se realizó una prueba preliminar para hallar la proporción adecuada de residuo de fresa y agua. Esta se determinó al conseguirse una mezcla (residuo y agua) con consistencia suave y cremosa propia de un ensilaje. Para ello se procedió a agregar progresivamente agua a una cantidad fija de residuo de fresa hasta formar dicha consistencia (ver Figura 5). Por otro lado, los porcentajes de la melaza (fuente de azúcares solubles) y B-Lac (inóculo) en la mezcla se escogieron en base a anteriores experiencias de ensilaje con residuos. En otras investigaciones sobre la producción ácido láctica, la melaza es reemplazada por sustratos puros, como la glucosa o lactosa puras, donde se suele emplear una mezcla de 10 al 15 por ciento de glucosa (Serna y Rodríguez 2005).



Figura 5: Fase preliminar del proceso de elaboración

Fase laboratorio: Se procedió a evaluar diferentes proporciones de los insumos de la mezcla (melaza y B-Lac). De esta manera se tuvo un determinado número de tratamientos (nueve) con sus respectivas repeticiones (tres) indicados en la Tabla 24. Se utilizaron para esta fase recipientes de plástico de 1 kg de capacidad.

Tabla 24: Tratamientos para el residuo de fresa

Trat.	F-A* (%)	B-Lac (%)	Melaza (%)
T1	90	5	5
T2	85	5	10
T3	80	5	15
T4	85	10	5
T5	80	10	10
T6	75	10	15
T7	80	15	5
T8	75	15	10
T9	70	15	15

Notas: (*) F-A= Residuo de fresa diluido con agua: dos partes del residuo con una parte de agua. Porcentajes p/p.

En la Figura 6 se señala inicialmente la mezcla del residuo, agua, B-Lac y melaza hasta lograr homogenizarla por medio de una paleta cortante de metal acondicionada a un taladro simulando una licuadora industrial. Lo anterior permitió también reducir el tamaño del residuo. Luego, se cubrió con plástico la mezcla para aislarla del aire

atrapado en el espacio libre del contenedor minimizándose la presencia de oxígeno y favoreciéndose así una condición anaerobia. Esta descripción corresponde a la técnica del ensilaje aunque la finalidad no era producir un ensilado sino favorecer la fermentación láctica. Posteriormente, el contenedor se cerró con tapa y se mantuvo en una estufa a 40 °C para dar inicio a la fermentación. Se realizaron mediciones de pH y el porcentaje de acidez titulable (expresada en ácido láctico). En paralelo se evaluó el olor propio de la fermentación y la formación de coloraciones blanquecinas (presencia de levaduras). Estas evaluaciones se extendieron hasta completar un mes en intervalos de cinco días para conocer la estabilización de los valores de pH y porcentaje de acidez láctica. Finalmente se separó al abono en sus componentes líquido y sólido mediante una prensa mecánica. Se calcularon los porcentajes de abono líquido, subproducto sólido y la materia seca del subproducto sólido (un día en horno a 60°C).



Figura 6: Fase laboratorio del proceso de elaboración

Fase piloto: Se trabajó a escala piloto solo para el tratamiento seleccionado según los criterios del ítem 4.4.2. Se utilizó un bidón de plástico de 60 L de capacidad. Los parámetros de pH y porcentaje de acidez láctica se evaluaron por cinco días y a temperatura ambiente. Además se realizaron los análisis agronómicos, microbiológicos y el ensayo de fitotoxicidad. Ver Figura 7.

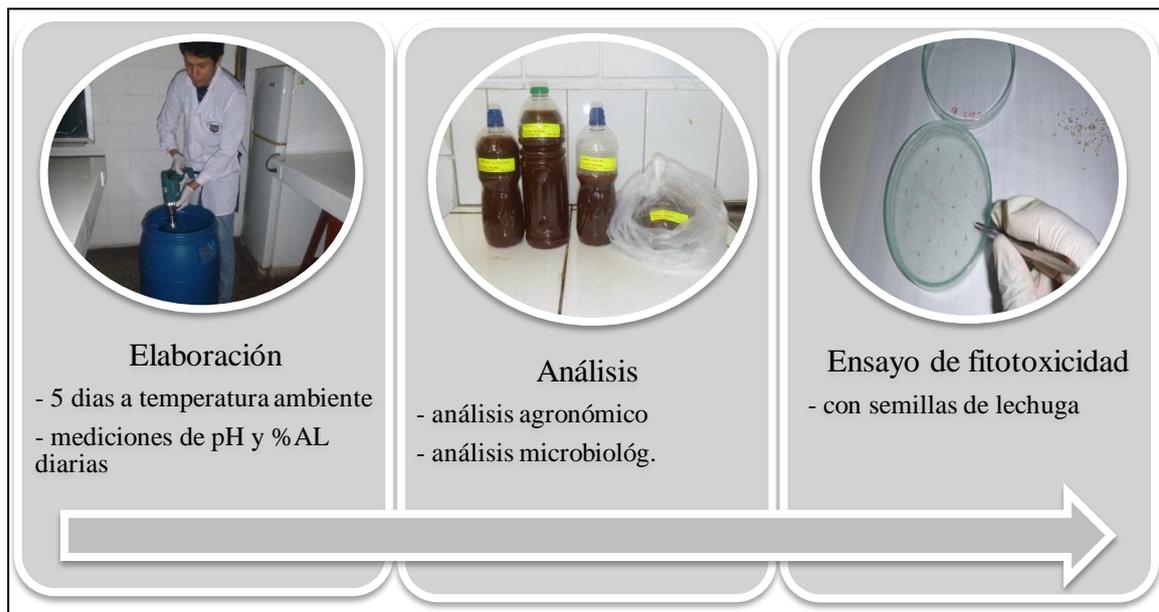


Figura 7: Fase piloto del proceso de elaboración

3.4.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN

Los tratamientos fueron evaluados al llegar el día final de la fase laboratorio y se seleccionó el mejor tratamiento tomando en consideración aspectos como el consumo del residuo (su porcentaje en el tratamiento), porcentajes de abono líquido, subproducto sólido y la materia seca del subproducto sólido, costo de insumos de cada tratamiento, el análisis estadístico (ver 3.4.3) y otros criterios indicados por Peña, citado por Ricse (2013):

- El pH debe ser menor o cercano a 4 para ser considerado buen tratamiento.
- No debe presentarse mal olor u olores fuertes.
- No debe presentarse colonias de microorganismos como mohos o levaduras.

3.4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se empleó como diseño experimental un DCA (Diseño Completamente al Azar) con nueve tratamientos y tres repeticiones con arreglo factorial para dos casos. En un caso se tomó como variable respuesta el pH y en otro el porcentaje de ácido láctico para el quinto día. En ambos se consideraron como tratamientos las distintas combinaciones de proporciones de residuo, B-Lac y melaza. Estas dos últimas se consideraron como

factores. Además se utilizó un nivel de significación del 5% ($\alpha=0.05$). Lo anterior se esquematiza en la Tabla 25.

Tabla 25: Descripción del análisis estadístico

Análisis del nivel de pH	Análisis del porcentaje de ácido láctico
Diseño: DCA con arreglo factorial Unidad experimental: Muestra fermentada del residuo en el quinto día Variable respuesta: unidad de pH # Repeticiones: 3 # Tratamientos: 9 # Factores: 2 (B-Lac y melaza) Nivel de significación: $\alpha=0.05$	Diseño: DCA con arreglo factorial Unidad experimental: Muestra fermentada del residuo en el quinto día Variable respuesta: % de ácido láctico # Repeticiones: 3 # Tratamientos: 9 # Factores: 2 (B-Lac y melaza) Nivel de significación: $\alpha=0.05$

Se empleó el software estadístico libre de Infostat. El modelo estadístico fue determinado siguiendo el método de máxima verosimilitud (Maximum likelihood estimation, MLE). Este método nos presentan modelos ajustados al conjunto de datos de la variable respuesta. La selección del modelo se basó en el criterio de información de Akaike (Akaike Information Criterion, AIC).

Ante lo mencionado fue de interés probar las siguientes hipótesis:

$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7 = \mu_8 = \mu_9$ (hipótesis nula)

$H_1 : \text{Al menos una } \mu_i \text{ es diferente a las demás}$ (hipótesis alterna)

Donde μ_i es la media común del tratamiento i en el quinto día ($i = 1, 2, \dots, 9$)

El procedimiento adecuado para probar estas hipótesis fue el Análisis de Varianza (ANVA), habiendo realizado previamente el diagnóstico del cumplimiento de los supuestos. Este paso se debió realizar ya que violaciones a los supuestos restan validez a la prueba de hipótesis realizada en el ANVA y a las pruebas de comparaciones múltiples.

Luego de rechazar la hipótesis nula se utilizó una prueba de comparación entre las medias de los tratamientos. Esta es la prueba de Fisher conocida también como la prueba de la diferencia significativa mínima (LSD Fisher) a un nivel de significación del 5%. El desarrollo completo del análisis estadístico puede revisarse en el ANEXO 2.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EVALUACIÓN DE LA ACIDIFICACIÓN DE LA FERMENTACIÓN

4.1.1 FASE LABORATORIO

Se observó un proceso de acidificación durante el periodo de evaluación. Si bien inicialmente se registraron valores fluctuantes se pudo identificar una tendencia de descenso del pH con el tiempo. Entre los primeros días hasta el día cinco se encontró que los tratamientos T1, T4 y T7 presentaron los más bajos niveles de pH y cercanos al rango 3.25 – 3.50 unidades de pH (ver Tabla 26, Figura 8, ANEXO 1). Lo anterior se confirma con base estadística a través de la prueba de comparación múltiple (LSD Fisher) aplicada en el **quinto día**. Esta prueba indicó que con los tratamientos compuestos por 5 por ciento de melaza se alcanzaron los menores niveles de pH. Los tratamientos referidos son T1, T4 y T7 cuyos valores de pH fueron 3.19 ± 0.01 , 3.45 ± 0.15 y $3.42 \pm 3.3E-03$ respectivamente (ver Figura 9 y ANEXO 2). Finalmente, se observó que los valores de pH del tratamiento T1 predominaron como los más bajos durante el total del tiempo evaluado (ver Figura 8).

Tabla 26: Tratamientos con los mejores resultados de pH

Trat./Días	0	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30
T1	3,74	3,27	3,32	3,28	3,35	3,19	3,49	3,57	3,23	2,98	3,30
T4	3,73	3,29	3,30	3,36	3,53	3,45	3,47	3,46	3,11	3,44	3,30
T7	3,71	3,32	3,17	3,37	3,61	3,42	3,63	3,35	3,36	3,24	3,24

Nota: valores expresados en unidades de pH.

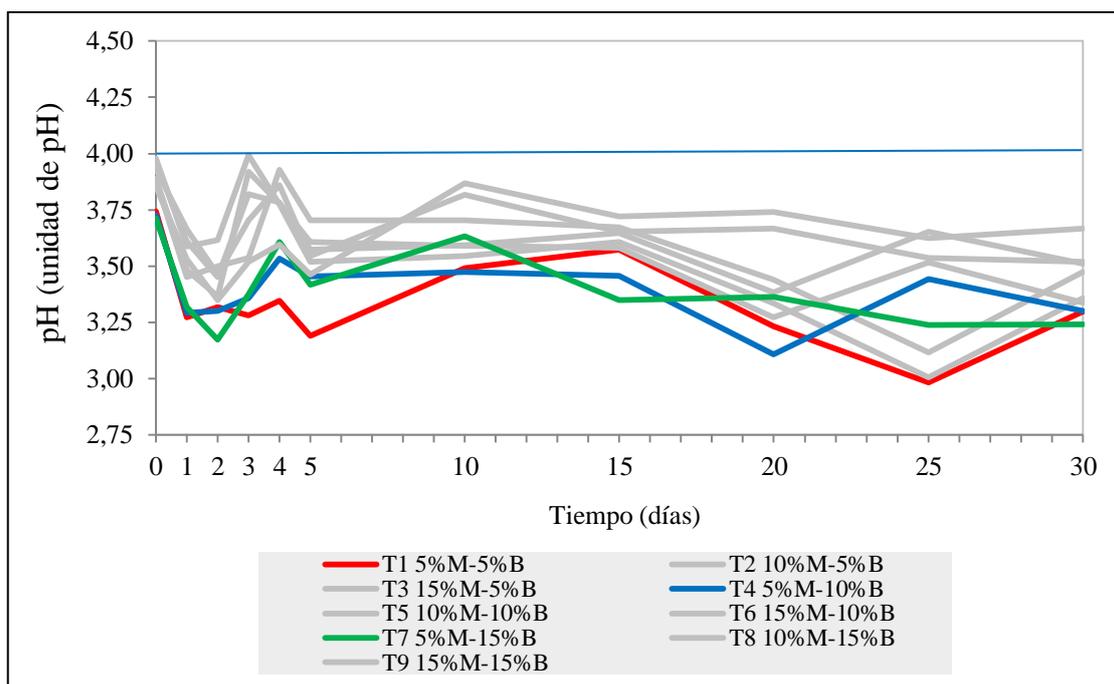


Figura 8: Niveles de pH de los tratamientos

Nota: la serie “T1 5%M-5%B” se lee como “Tratamiento 1, 5% de melaza, 5% de B-Lac”. Así el resto.

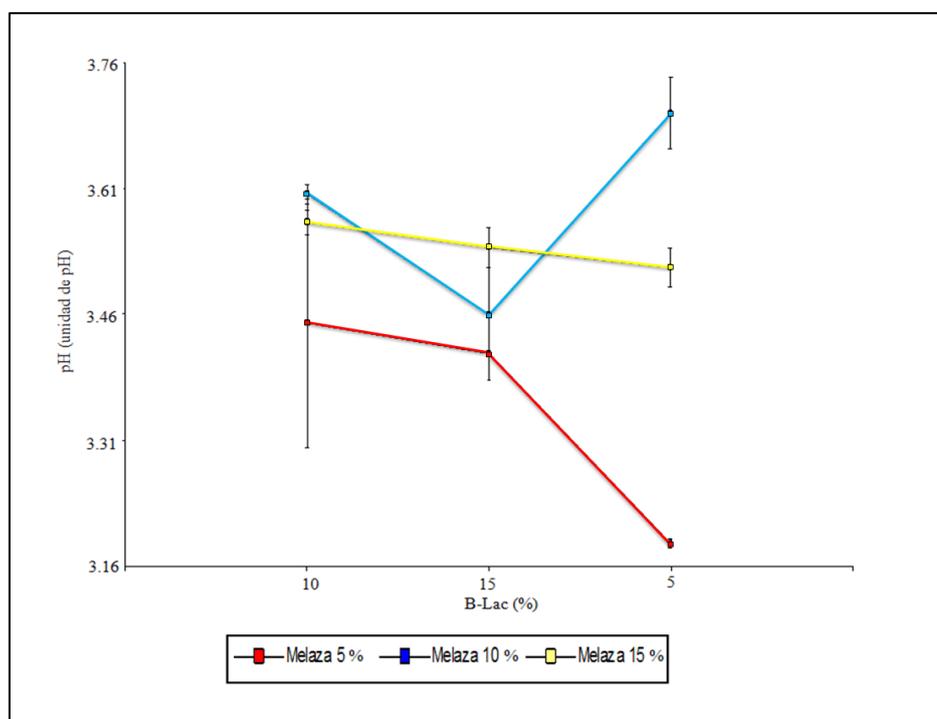


Figura 9: Comparación múltiple de niveles de pH

En cuanto al porcentaje de ácido láctico se observó que durante los primeros 10 días se registraron porcentajes de ácido láctico cercanos al uno por ciento y a nivel gráfico (ver Tabla 27, Figura 10, ANEXO 1) no se apreció diferencia importante entre tratamientos. Sin embargo, el análisis estadístico sí determinó una diferencia significativa en el **quinto día**. Según la prueba de comparación múltiple, el grupo de tratamientos compuestos por 15 por ciento de melaza alcanzó el mayor porcentaje promedio de ácido láctico igual a 1.06 ± 0.02 . Los demás grupos de tratamientos, compuestos por cinco y diez por ciento de melaza, alcanzaron un valor de 0.88 ± 0.02 por ciento (ver Figura 11 y ANEXO 2). Por último, al considerar todo el periodo evaluado se identificó una tendencia de incremento del porcentaje de ácido láctico solo en los tratamientos T1, T4, T5 y T7 (ver Figura 10).

Tabla 27: Tratamientos con los mejores resultados de porcentaje de ácido láctico

Trat./Días	0	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30
T1	1,14	1,11	0,92	0,89	0,84	0,92	0,79	1,22	1,10	1,55	1,91
T4	1,14	1,08	0,89	0,87	0,75	0,81	0,95	1,77	1,80	2,18	2,51
T7	1,02	1,14	0,99	0,86	0,81	0,92	1,09	1,77	1,73	2,26	1,95

Nota: valores expresados en porcentaje.

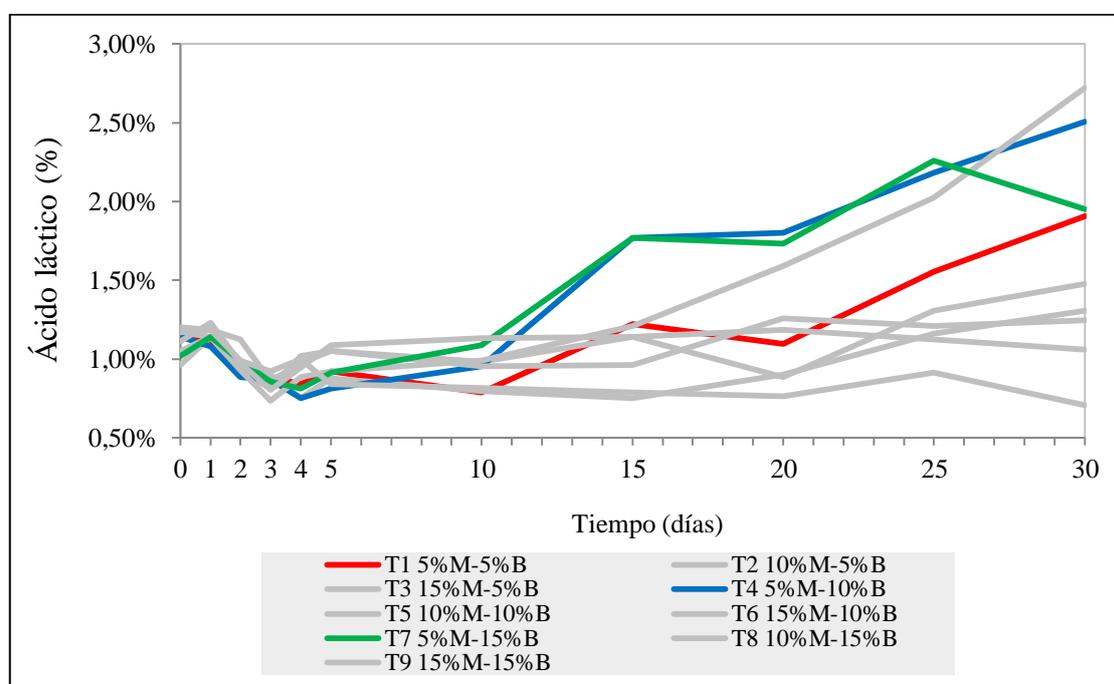


Figura 10: Porcentajes de ácido láctico de los tratamientos

Nota: la serie “T1 5%M-5%B” y se lee como “Tratamiento 1, 5% de melaza, 5% de B-Lac”. Así el resto.

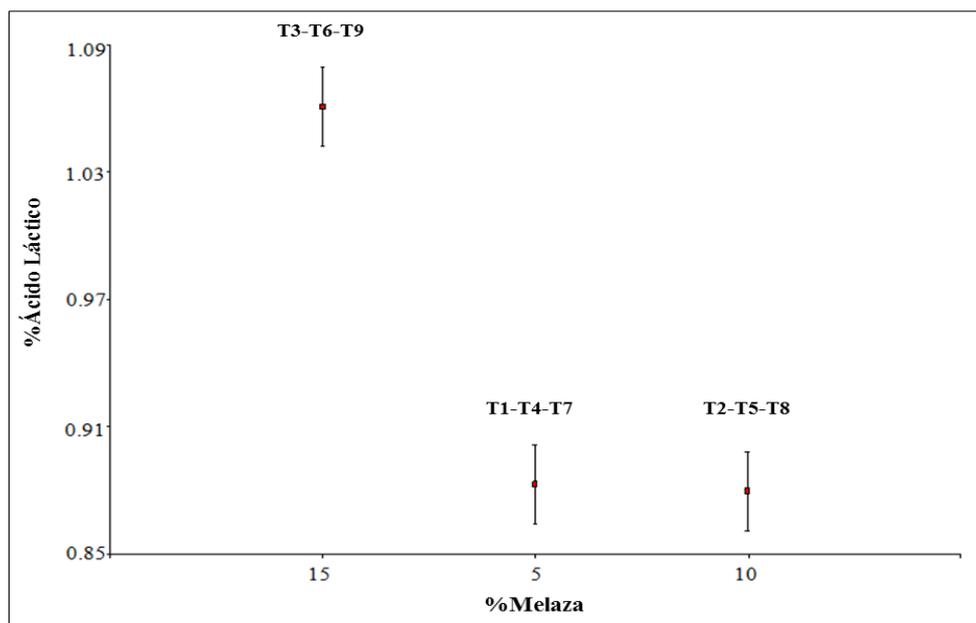


Figura 11: Comparación múltiple de porcentajes de ácido láctico

De acuerdo a los gráficos de las Figura 8 y Figura 10 se encontró una **correspondencia** entre los parámetros de pH y porcentaje de ácido láctico. Es decir, la tendencia decreciente del nivel de pH fue correspondido por la tendencia creciente del porcentaje de ácido láctico. Esto se destacó en los citados gráficos para los tratamientos T1, T4, y T7.

Durante los primeros cinco días ocurrió un rápido descenso y una rápida recuperación del nivel de pH y en orden inverso ocurrió para el contenido de ácido láctico. Por tanto se puede describir que las BAL inoculadas consumieron el azúcar soluble, cuya fuente principal fue la melaza, en la brevedad observada. Más aún, en la experiencia de RedCorn y Engelberth (2016) se registró el consumo del 80% de azúcares como la glucosa y galactosa en solo 24 horas. Luego, la gran cantidad de ácido láctico producido pudo permitir a su vez la proliferación de ciertos hongos degradadores de ácidos orgánicos como el hallado por Minh *et al.* (2015) logrando recuperarse el nivel de pH.

Sin embargo, la tendencia global de los dos parámetros fue la acidificación. Por ello, las BAL debieron continuar produciendo ácido láctico empleando una fuente de azúcares más complejos (o simplemente diferentes a aquellos solubles) de forma paulatina y ralentizada como se aprecia en los gráficos. El inicial consumo de la fuente de azúcares

de fácil asimilación en vez de una más compleja confirma el comportamiento de **represión catabólica** por carbono de las BAL. Así también la posterior **ralentización** de la acidificación puede explicarse por la inhibición ocasionada por el propio ácido láctico (Wang *et al.* 2015).

Finalmente, al procurarse trabajar con las condiciones óptimas para las BAL se puede afirmar que la fermentación fue homoláctica y que no se presentaron factores significativos que desviasen el proceso hacia la ruta heteroláctica. Más aún, las cepas inoculadas son consideradas homofermentativas.

4.1.2 SELECCIÓN DEL MEJOR TRATAMIENTO

Además de la evaluación gráfica, numérica (revisar ANEXO 1) y estadística (revisar ANEXO 2) del nivel de pH y porcentaje de acidez láctica se consideraron otros cuatro criterios para la selección del mejor tratamiento: (1) ausencia de mal olor, mohos y levaduras, (2) porcentaje de residuo utilizado, (3) porcentaje del abono líquido producido y (4) costos de insumos (ver Tabla 28).

Tabla 28: Criterios de selección

Trat.	Ausencia de mal olor, mohos y levaduras	Residuo utilizado (%)*	Abono líquido (%)	Costos de insumos (PEN/kg) **
T1	Sí	90	78,82	0,55
T2	Sí	85	80,61	0,60
T3	Sí	80	78,31	0,65
T4	Sí	85	80,95	1,05
T5	Sí	80	75,37	1,10
T6	Sí	75	82,71	1,15
T7	Sí	80	83,20	1,55
T8	Sí	75	81,70	1,60
T9	Sí	70	82,14	1,65

Notas: (*) Residuo de fresa diluido con agua: dos partes del residuo con una parte de agua. (**) Los costos están expresados en unidades de PEN (código de la divisa de Nuevos Soles) por cada kilogramo de mezcla.

Se observó en todos los tratamientos la ausencia de mal olor y mohos o levaduras a causa, principalmente, del ambiente ácido generado. Por otro lado, los primeros

tratamientos (desde T1 en adelante) fueron aquellos que tuvieron un mayor porcentaje de aprovechamiento del residuo y a su vez tuvieron un menor consumo de insumos. En consecuencia se hizo también un menor gasto por dichos insumos (revisar ANEXO 4). Finalmente, se encontró que las menores fracciones de abono líquido obtenidos se conseguían con los primeros tratamientos (revisar ANEXO 3).

Resumiendo, las evaluaciones de pH y porcentaje de ácido láctico durante los primeros cinco días y específicamente en el quinto día nos sugieren enfocarnos en los tratamientos T1, T4 y T7. Más aún, considerando los otros criterios se seleccionó al tratamiento T1 por su bajo coste en insumos y por el mayor aprovechamiento del residuo el cual es la finalidad de esta investigación.

4.1.3 FASE PILOTO

El tratamiento seleccionado T1 (90% de residuo de fresa diluido, 5% de B-Lac y 5% de melaza) se replicó a una escala piloto (26.66 kg) y se trabajó a temperatura ambiente ($T_{\text{máx}} = 30^{\circ}\text{C}$). Los parámetros de pH y contenido de ácido láctico se evaluaron hasta el quinto día en el cuál se cosechó el producto fermentado (ver Figura 12). Información adicional sobre las condiciones iniciales y la cosecha en esta fase se puede encontrar en el ANEXO 3.

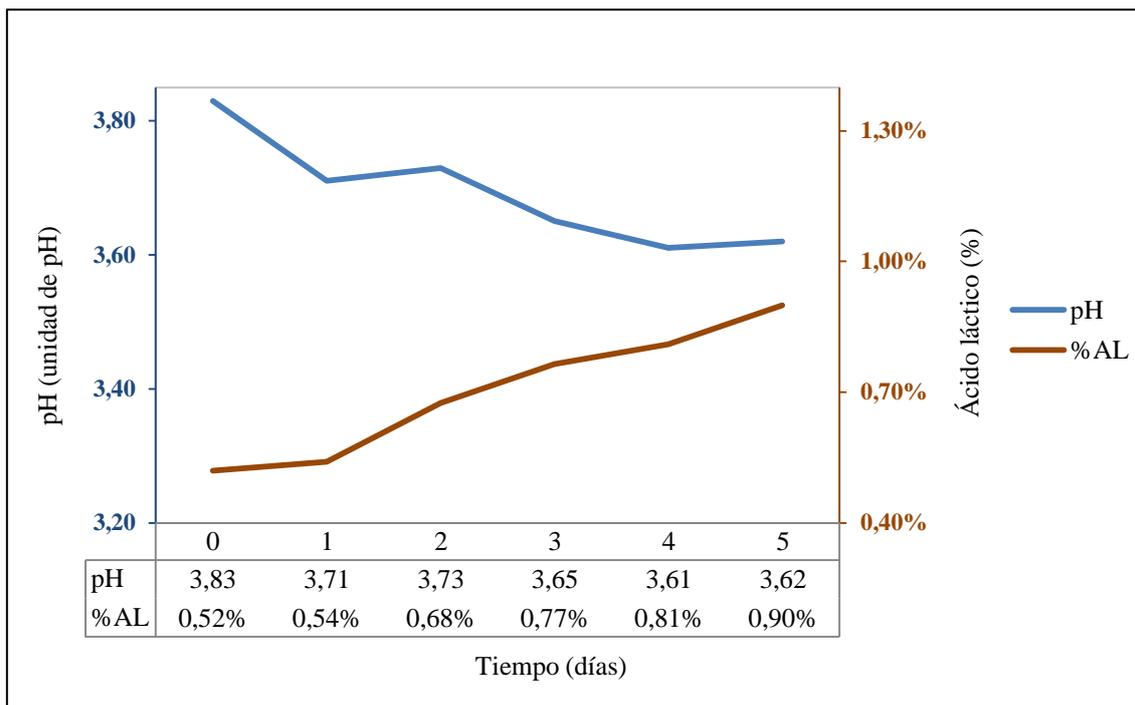


Figura 12: Nivel de pH y porcentaje de acidez láctica

Se tuvieron conclusiones similares a las de la fase laboratorio. Por ejemplo se encontró cierta correspondencia entre ascensos y descensos de ambos parámetros. Sin embargo, la principal diferencia entre las fases laboratorio y piloto fue que en la primera se alcanzaron mejores resultados de los parámetros que en la segunda. Esto resultó así a causa de la temperatura de trabajo (piloto) menor a la óptima (laboratorio) que a su vez concuerda con lo indicado en la Tabla 15: Parámetros de fermentación de las BAL.

A pesar de la diferencia comentada la fase piloto sí alcanzó un nivel de pH (<4.0) de tal magnitud que garantizaría la inocuidad del producto fermentado. Esto se basa en el hecho de que muchos patógenos son eliminados al exponerse a un pH tan ácido como el reportado por esta investigación. Lo anterior se puede prever al examinar la información de la Tabla 14: Parámetros de pH y temperatura en crecimiento de patógenos. Y también se puede confirmar con el análisis microbiológico realizado (revisar 4.3 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL ABONO LÍQUIDO).

4.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL ABONO LÍQUIDO

4.2.1 MACRONUTRIENTES Y MICRONUTRIENTES

La caracterización del residuo de fresa (cortes de pedículo, cáliz y pulpa) se reporta en la Tabla 29 donde los nutrientes nitrógeno y potasio destacan entre los macronutrientes mientras que el sodio y hierro entre los micronutrientes. Los metales pesados tuvieron concentraciones muy bajas. La materia seca constituyó un 11.23% y el carbono tiene una concentración del 46.24%. Todos los resultados fueron reportados en base seca.

Tabla 29: Análisis agronómico del residuo de fresa

Macronutrientes	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	S (%)
	2.80	0.27	2.26	0.77	0.32	0.10
Micronutrientes	Na (%)	Zn (ppm)	Cu (ppm)	Mn (ppm)	Fe (ppm)	B (ppm)
	0.11	21	10	31	142	41
Metales Pesados	Pb (ppm)		Cd (ppm)		Cr (ppm)	
	3.20		0.93		0.05	
Otros Parámetros	C (%)			MS (%)		
	46.24			11.23		

Nota: N.D.: No detectable

Los minerales provistos por este residuo son considerados parte del requerimiento nutricional complejo de las BAL como el calcio (0.77%) y magnesio (0.32%) que favorecen su buen crecimiento. Además se resalta el papel del potasio (2.26%) que regula el pH intracelular y la presión osmótica para propiciar el óptimo desarrollo de las BAL (Özcelik *et al.* 2016; Leveau y Bouix, citados por Aragón 2015). El bajo contenido de materia seca implica por el contrario un gran aporte de humedad. Finalmente, a partir del contenido de C y N se obtuvo el ratio carbono – nitrógeno igual a 16.51 g/g que se interpreta como alta disponibilidad de nitrógeno según INIA (2004). Además este valor es cercano al ratio 16.29 g/g o 19 mol/mol indicado por Hétenyo *et al.*, citados por Wang *et al.* (2015) para una cepa de *Lactobacillus* sp.

Los valores determinados en el residuo de fresa se compararon frente a análisis foliares de muestras cercanas como las hojas de fresa y la parte aérea (hojas, peciolo, frutos y flores). Así se encontró que los valores del residuo se hallaban intermedios entre los valores reportados por las hojas y la parte aérea pues el residuo de fresa estuvo compuesto de peciolo y de una parte de fruta. Ver Figura 13 y Figura 14.

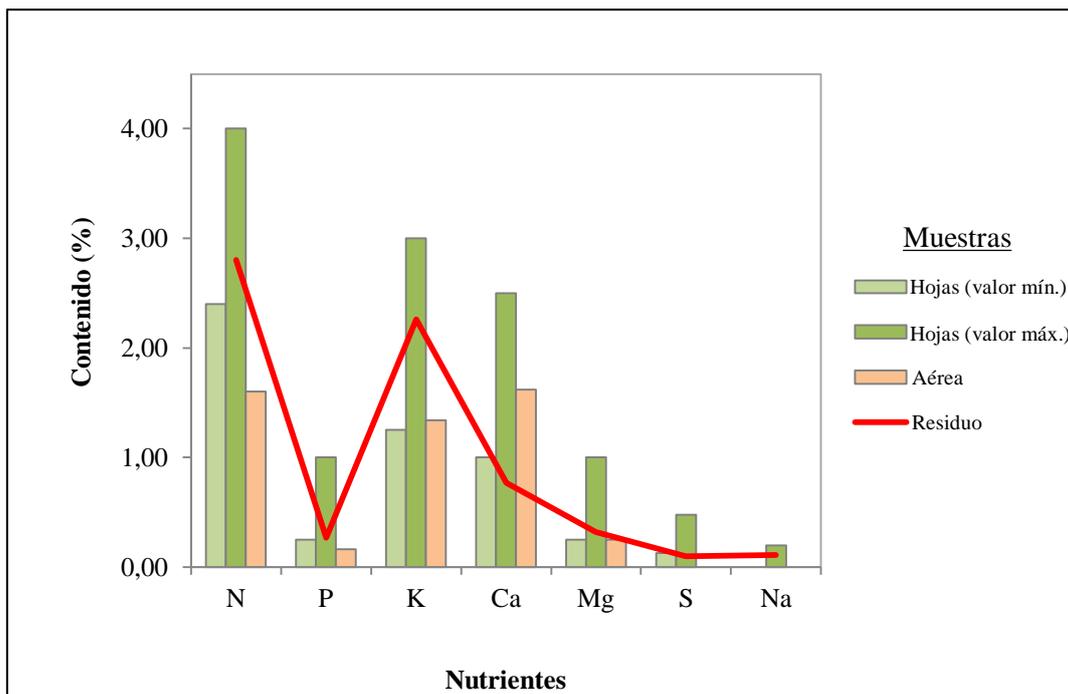


Figura 13: Comparativo agronómico del residuo – Nutrientes mayoritarios

Nota 1: La muestra aérea está compuesta por hojas, pecíolos, frutos y flores.

Nota 2: “Hojas valor mín/máx” indican los mínimos y máximos valores reportados para las hojas.

FUENTE: Chirinos (2000), FREP (s.f.) y Molina *et al.* (1993).

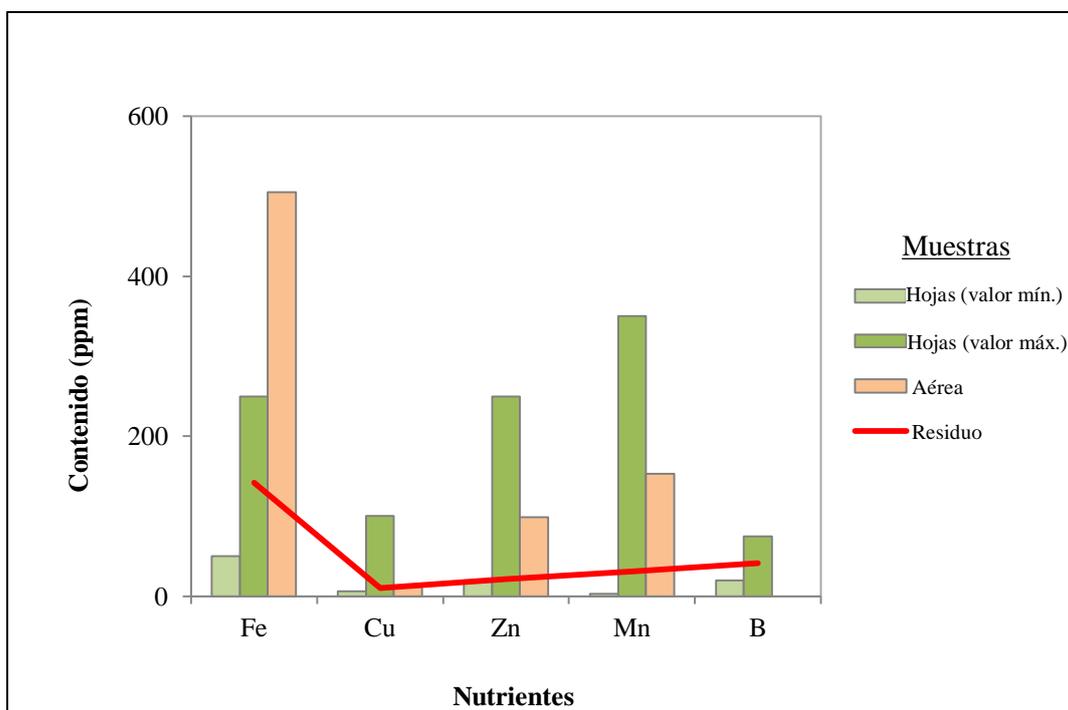


Figura 14: Comparativo agronómico del residuo – Nutrientes minoritarios

Nota 1: La muestra aérea está compuesta por hojas, pecíolos, frutos y flores.

Nota 2: “Hojas valor mín/máx” indican los mínimos y máximos valores reportados para las hojas.

FUENTE: Chirinos (2000), FREP (s.f.) y Molina *et al.* (1993).

De acuerdo con los gráficos de las anteriores figuras se puede indicar que los contenidos de nitrógeno, potasio y hierro en el residuo se hallan próximos a los máximos valores de las hojas ya que el residuo contiene peciolos. Sin embargo, los demás nutrientes del residuo son cercanos a los valores mínimos de las hojas y no a la muestra aérea a pesar de ser semejante al residuo.

En el análisis agronómico al abono líquido (ver Tabla 30) se puede comentar que el principal macronutriente primario determinado resultó ser el potasio (2300.00 mg/L) mientras que aquellos secundarios fueron el calcio (355.00 mg/L) y magnesio (355.00 mg/L). En cuanto a los micronutrientes destaca el sodio por su mayor concentración (1150.00 mg/L) respecto de los demás cuyos valores no superan los 3 mg/L mientras que la concentración de los metales pesados resultó menor aun registrándose valores menores a 0.2 mg/L. Se obtuvo un producto ácido de pH=3.64 cuya conductividad fue 8.55 dS/m. Se reportaron también parámetros como sólidos totales y materia orgánica en solución.

Tabla 30: Análisis agronómico del abono líquido

Macronutrientes	N (mg/L)	P (mg/L)	K (mg/L)	Ca (mg/L)	Mg (mg/L)	S (mg/L)
	630.00	120.18	2300.00	357.50	355.00	165.83
Micronutrientes	Na (mg/L)	Zn (mg/L)	Cu (mg/L)	Mn (mg/L)	Fe (mg/L)	B (mg/L)
	1150.00	1.50	1.50	1.98	2.68	1.81
Metales Pesados	Pb (mg/L)		Cd (mg/L)		Cr (mg/L)	
	0.07		0.17		0.09	
Otros Parámetros	pH	CE (dS/m)	Sólidos Totales (g/L)		M.O. en solución (g/L)	
	3.64	8.55	20.45		32.40	

La comparación de estos resultados con otros hallazgos se apoya en la Figura 15, Figura 16 y la Tabla 31. Se halló que los contenidos de macronutrientes fueron menores respecto a los casos de fermentación láctica como los de biodigestión anaerobia (para producir biogás) mientras que los contenidos de los micronutrientes se ajustaron a las referencias salvo en el caso del zinc y hierro. Estas diferencias nutricionales son explicadas por el residuo (vegetal o animal) utilizado en cada caso y por el hecho de que la fresa es rica en minerales pero también en contenido de humedad. Según esto se puede justificar la semejanza entre el abono líquido y el “fertilizante orgánico foliar” basado en residuos de varias frutas por Russo (2001).

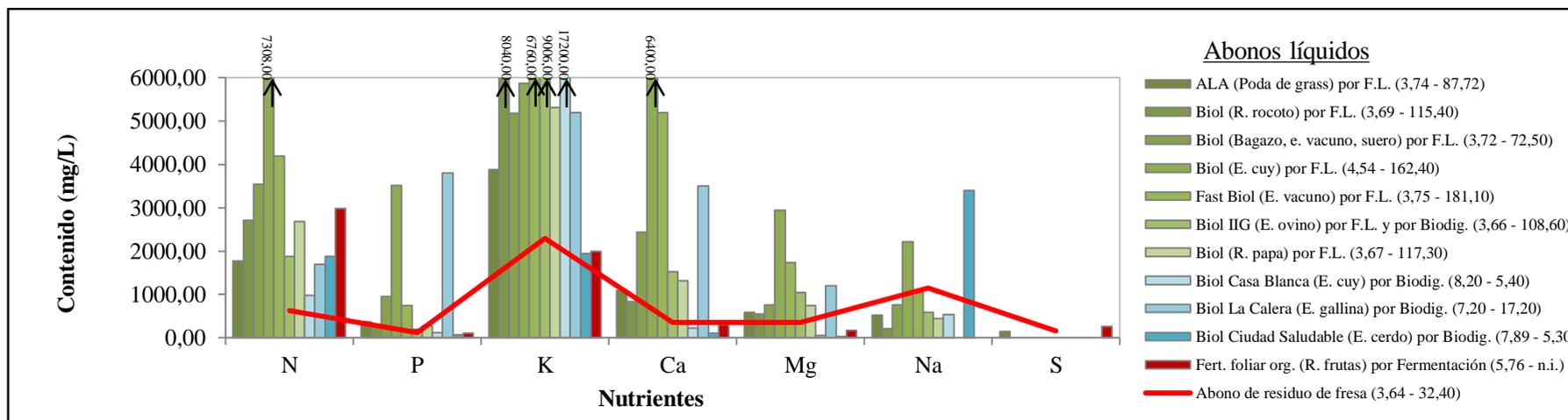


Figura 15: Comparativo agronómico del abono líquido – Nutrientes mayoritarios

Nota: los números en paréntesis que acompañan a las series indican el valor de pH y M.O. en solución (g/L) en ese orden.

Fuente: Russo (2001), Peralta (2010), Román (2012), Medina (2013), Ricse (2013), Buchelli (2014), Meza (2014) y Herrera (2016).

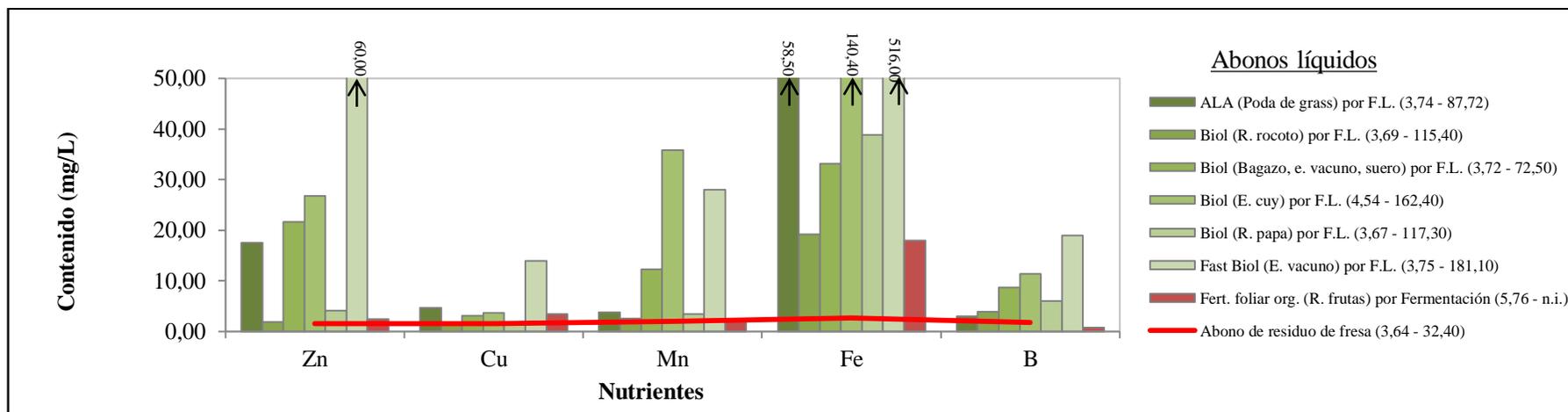


Figura 16: Comparativo agronómico del abono líquido – Nutrientes minoritarios

Nota: los números en paréntesis que acompañan a las series indican el valor de pH y M.O. en solución (g/L) en ese orden.

Fuente: Russo (2001), Peralta (2010), Román (2012), Medina (2013), Ricse (2013), Buchelli (2014), Meza (2014) y Herrera (2016).

En cuanto al contenido de nitrógeno se podría presumir la inclusión de aminoácidos libres (a partir de la descomposición proteica de las frutas) que otorguen una característica bioestimulante al abono líquido como lo indica Russo (2001). Otro parámetro como el pH reflejó lo observado en la práctica y evidenció el proceso fermentativo realizado. Más aún, este nivel de pH fue el menor registrado con respecto a otros casos de fermentación láctica. Por otro lado, la concentración de materia orgánica resultó menor frente a otros abonos líquidos que emplearon residuos vegetales mediante la fermentación láctica aunque fue superior a los bioles de excretas de animales por biodigestión.

En la Tabla 32 se muestran los resultados del análisis agronómico del subproducto sólido. Los mayores macronutrientes fueron el potasio ($K_2O = 1.94\%$) y nitrógeno ($N=2.59\%$). El azufre fue el más bajo de los macronutrientes mientras que el sodio fue el más alto de los micronutrientes. La presencia de metales pesados fue baja y menor a 1 ppm. Así también se determinó un pH ácido y otros parámetros. Todos los resultados fueron reportados en base seca.

Tabla 32: Análisis agronómico del subproducto sólido

Macronutrientes	N (%)	P_2O_5 (%)	K_2O (%)	CaO (%)	MgO (%)	S (%)
	2.59	0.59	1.94	1.18	0.40	0.17
Micronutrientes	Na (%)	Zn (ppm)	Cu (ppm)	Mn (ppm)	Fe (ppm)	B (ppm)
	0.12	21	13	27	309	35
Metales Pesados	Pb (ppm)		Cd (ppm)		Cr (ppm)	
	0.08		0.65		0.63	
Otros Parámetros	pH		CE (dS/m)		M.O. (%)	
	3.58		4.08		92.59	

Nota: la humedad de la muestra fue de 85.57 %.

Este análisis de materia orgánica del subproducto sólido resultó similar al del abono líquido (Tabla 30) pues ambos se obtuvieron por una separación física. Por ejemplo, los micronutrientes fueron semejantes a los reportados para el abono líquido (salvo el hierro que es mucho mayor) y fueron más semejantes aún con el análisis del residuo de fresa (Tabla 29). Por otro lado este subproducto posee una cantidad importante de humedad (como en el caso del residuo de fresa) así como el contenido de materia orgánica sobre la materia seca.

4.2.2 RATIO CARBONO-NITRÓGENO

A partir de los resultados de análisis de materia orgánica se determinaron los ratios carbono-nitrógeno indicados en la Tabla 33. Los ratios nos indicaron que ambas muestras (líquida y sólida) tuvieron una apropiada relación de nutrientes o una disponibilidad moderada de nitrógeno según INIA (2004).

Tabla 33: Ratio carbono-nitrógeno

Muestra	C/N	Interpretación
Abono líquido	29.81	Disponibilidad moderada de nitrógeno ($20 < C/N < 30$)
Subproducto sólido	20.72	Disponibilidad moderada de nitrógeno ($20 < C/N < 30$)

Según lo anterior se puede indicar la cualidad del abono y del subproducto como insumos para un segundo reaprovechamiento como en la fase ácida de un proceso de compostaje. Más aún, si se analizan los contenidos de materia orgánica de ambos productos estos pueden considerarse como enmiendas orgánicas además de abonos orgánicos.

4.2.3 METALES PESADOS

Por otro lado, se compararon las concentraciones de metales pesados respecto al límite máximo Clase A (la más exigente) establecida por la normativa Real Decreto 506/2013 que trata sobre los productos fertilizantes puestos en el mercado español para ser utilizados en agricultura, jardinería o restauración de suelos degradados (Ministerio de la Presidencia 2013). Ambas muestras mostraron niveles de metales muy por debajo del límite (ver Tabla 34).

Tabla 34: Evaluación de metales pesados

Muestra	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)
Abono líquido	0,07	0,17	0,09
Subproducto sólido	0,08	0,65	0,63
Límite de concentración Clase A del Real Decreto 506/2013 (Ministerio de la Presidencia de España, 2013)	45,00	0,70	70,00

Se concluye de la tabla anterior que los metales pesados en los productos no significan un riesgo de contaminación al mantenerse por debajo del límite más exigente de la normativa española. En ese sentido, tanto el abono líquido como el subproducto sólido son apropiados para su aplicación en cultivos.

4.3 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL ABONO LÍQUIDO

De acuerdo con el recuento del género *Lactobacillus* sp se encontró en el residuo de fresa y en el abono líquido un importante contenido igual a 20×10^5 UFC/g y 42×10^6 UFC/ml respectivamente (ver Figura 17). Así también se halló que en el residuo de fresa se tuvo una presencia importante de coliformes totales (16×10 UFC/g) y mohos (4×10 UFC/g) mientras que en el abono líquido se descartó la presencia de coliformes totales, mohos, *E. coli*, levaduras y *Salmonella* spp. de forma significativa (ver Figura 18).

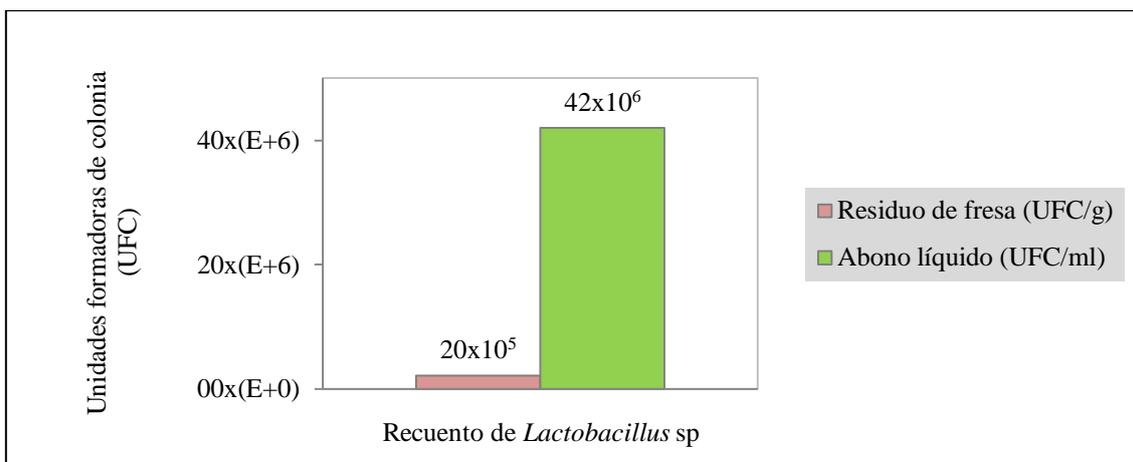


Figura 17: Recuento de *Lactobacillus* sp

FUENTE: Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso" (2017).

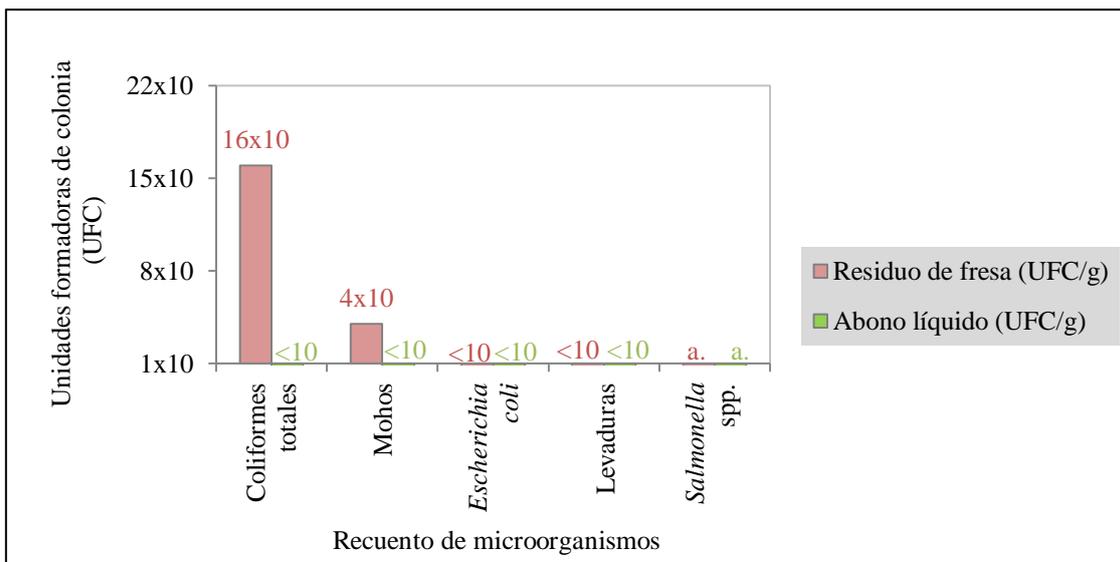


Figura 18: Recuento de microorganismos

Nota: El valor <10 indica ausencia en el ensayo. La abreviatura “a.” indica ausencia en 25 g.
 FUENTE: Laboratorio de Control de Calidad N.REPS S.R.L. (2017).

Los resultados mostrados nos indican que el proceso de fermentación permitió la eliminación de los coliformes totales y mohos presentes en el residuo y en general se descartó la presencia de patógenos en el abono líquido quedando conforme con los niveles máximos de microorganismos según el Real Decreto 506/2013 (Ministerio de la Presidencia 2013). La inocuidad lograda se debió al grado de acidez alcanzado donde predominaron solo las bacterias del género *Lactobacillus* sp. Estas bacterias también se hallaron en el residuo mas no se puede precisar a cuáles especies corresponden. En cualquier caso, se puso en evidencia el antagonismo láctico de las cepas provenientes del consorcio B-Lac.

Por otro lado cabe indicarse que el residuo de fresa constituye una mezcla de material desinfectado junto a un material de descarte sin desinfectar y por ello se determinó la presencia de coliformes totales y mohos en dicho residuo.

4.4 ENSAYO DE FITOTOXICIDAD DEL ABONO LÍQUIDO

Los tratamientos del ensayo de fitotoxicidad tuvieron diferencias fisicoquímicas de nivel de pH (de 3.62 a 7.33 und pH) y conductividad eléctrica (0.35 a 9.83 mS/cm) conforme a las diluciones realizadas (Tabla 35). De la misma forma se obtuvieron diferentes resultados en cuanto al índice de germinación (Figura 19, ANEXO 5) donde los tratamientos D1 (0.01/100) y D2 (0.1/100) alcanzaron valores cercanos al blanco, el tratamiento D3 (1/100) superó al blanco mientras que en los tratamientos D4 (10/100) y Puro (100/100) no se permitió la germinación de las semillas.

Tabla 35: Características de los tratamientos del ensayo de fitotoxicidad

Tratam.	Dilución (v/v)	pH	CE (mS/cm)
Puro	100/100	3,62	9,83
D4	10/100	3,91	1,55
D3	1/100	5,67	0,46
D2	0,1/100	7,24	0,36
D1	0,01/100	7,33	0,35
Blanco	0/100	7,40	0,35

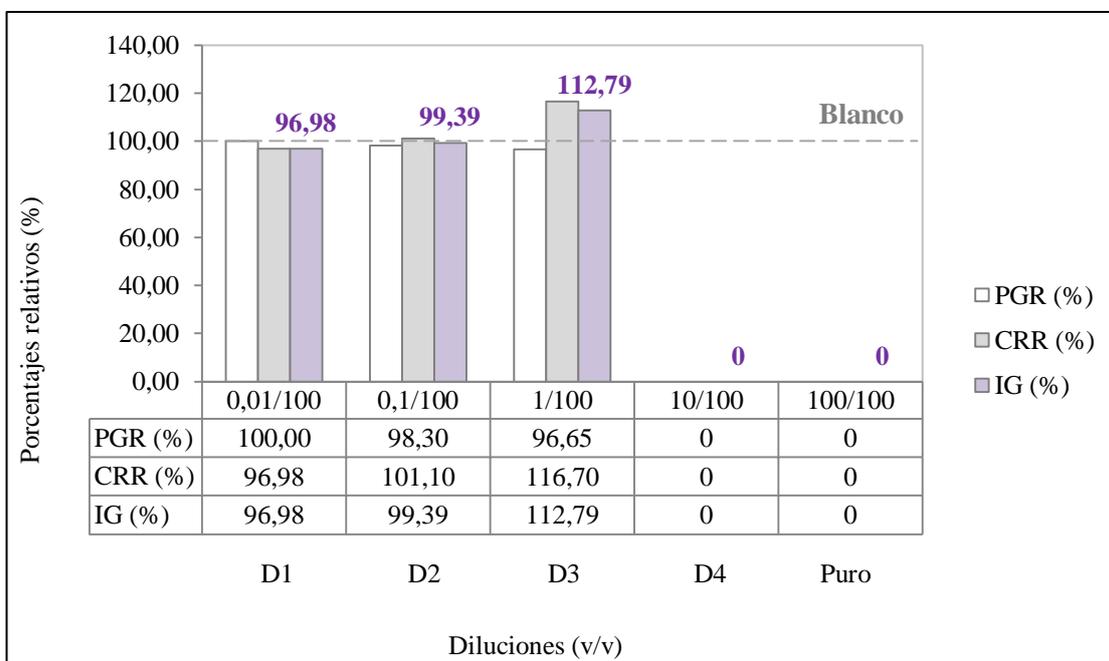


Figura 19: Índice de germinación

Nota: PGR = porcentaje de germinación relativo, CRR = crecimiento de radícula relativo, IG = índice de germinación.

En cuanto a la información expuesta se observa que los tratamientos D4 (10/100) y Puro (100/100) no fueron apropiadas para la germinación de semillas a causa del bajo nivel de pH y la alta conductividad eléctrica. Considérese además que en todo sistema hidropónico el pH óptimo debe encontrarse en el rango 5.5-6.5 para que los nutrientes se encuentren disponibles (Carrasco e Izquierdo 1996).

Además del pH la CE pudo ejercer un efecto de inhibición adicional en el caso del tratamiento C5 pues en sistemas hidropónicos para lechugas Carrasco e Izquierdo (1996) recomiendan que la CE de la solución nutritiva se encuentre debajo de los 1.5 mS/cm (o hasta 2.5 mS/cm). Los mismos autores explican que valores de CE superiores a 3.0 mS/cm indican una alta concentración de minerales disueltos y por ello la absorción de agua y de nutrientes se ve reducida. A similar explicación llegó Louzada *et al.* (2016) al exponer a las semillas de lechuga a altos contenidos de sólidos solubles e insolubles conforme se incrementaba la concentración del agua residual industrial evaluada.

Según lo anterior el tratamiento D3 (1/100) presentó un pH dentro del óptimo aunque una CE baja pero lo suficiente para que el IG supere el 100%. En cambio, los tratamientos D1 (0.01/100) y D2 (0.1/100) no presentaron los valores óptimos reportados y por tanto sus IG fueron cercanas a los resultados del blanco (ver Figura 19). Esto último resulta más evidente al comentarse la gran cercanía entre los parámetros pH y CE de los tratamientos D1 y D2 con las del blanco (ver Tabla 35).

Finalmente, se observó que los indicadores CRR fueron más sensibles pues presentaron mayores diferencias entre sí que los indicadores PGR. Estos hallazgos resultaron concordantes a lo afirmado por Varnero *et al.* (2007) y por otros estudios citados por el mismo autor. Lo anterior refuerza la idea de que existen metabolitos fitotóxicos moderados presentes en tan bajas concentraciones que son poco capaces de inhibir la germinación pero sí son capaces de afectar el crecimiento radicular de las plántulas (Sobrero y Ronco 2008). Por ello se puede indicar que en los tratamientos D1, D2 y D3 ($IG \geq 80\%$) no se encontraron sustancias fitotóxicas de acuerdo al criterio propuesto por Zucconi *et al.*, citados por Varnero *et al.* (2007).

4.5 PRINCIPALES RESULTADOS

Los resultados más relevantes de este capítulo se encuentran compilados de manera resumida en la Tabla 36 y se presentan acorde a los objetivos propuestos.

Tabla 36: Principales resultados

Objetivo específico	Resultado	Interpretación	Referencia
Evaluar la acidificación del proceso fermentativo a través del pH y porcentaje de acidez láctica de las unidades experimentales y del tratamiento seleccionado.	<p><u>Fase laboratorio</u> Tratamiento con menor nivel de pH y mayor %AL durante 30 días = T1.</p> <p><u>Fase piloto</u> T1 evaluado en 5 días: - pH < 4 - %AL ≈ 1</p>	<p><u>Fase laboratorio</u> Mejor tratamiento = T1.</p> <p><u>Fase piloto</u> T1 con acidez propia de la fermentación láctica.</p>	<p>Figura 8 Figura 10 Figura 9 Figura 11 Figura 12 ANEXO 1 ANEXO 2 ANEXO 3</p>
Caracterizar los parámetros físico-químicos del abono líquido tales como macronutrientes, micronutrientes, ratio carbono-nitrógeno y metales pesados.	<ul style="list-style-type: none"> - Nutrientes = destaca en K y Na - Metales pesados = Calidad A - pH = 3.64 - M.O. = 32.40 g/L - C/N = 29.81 	<ul style="list-style-type: none"> - Aporte de los beneficios de K y Na. - Contenido de metales pesados por debajo del límite más exigente. - pH ácido. - M.O. bajo. - C/N disponibilidad moderada de nitrógeno 	<p>Figura 15 Figura 16 Tabla 31 Tabla 30 Tabla 33 Tabla 34</p>
Evaluar el contenido microbiológico del abono líquido en cuanto a coliformes totales, <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp, <i>Lactobacillus</i> sp, mohos y levaduras.	<ul style="list-style-type: none"> - Recuento de <i>Lactobacillus</i> sp = 42×10^6 UFC/ml - Recuento de Coliformes totales, mohos, <i>E. coli</i>, levaduras = <10 UFC/g - Recuento de <i>Salmonella</i> spp = Ausente/25g 	<p>Propiedad inocua</p>	<p>Figura 17 Figura 18</p>
Determinar la fitotoxicidad del abono líquido mediante un ensayo en <i>Lactuca sativa</i> .	<ul style="list-style-type: none"> - Índice de germinación de la dilución 1/100 = 112.79 % (>100 %) 	<p>Dilución óptima = 1 %</p>	<p>Figura 19 ANEXO 5</p>

V. CONCLUSIONES

1. Se pudieron valorar (reaprovechar) los residuos de fresas procedentes de la producción de mermeladas a través de su conversión en un abono líquido de característica orgánica e inocuo para las plantas. La formulación determinada se compuso por 90 por ciento de residuo de fresa diluido (2:1), cinco por ciento de melaza y cinco por ciento de B-Lac (porcentajes peso-peso).
2. El abono líquido basado en la formulación seleccionada obtuvo un nivel de acidez propio de una fermentación láctica al término de cinco días con un pH = 3.64 y porcentaje de ácido láctico cercano al uno por ciento, ambos a temperatura ambiente. Mientras que en condiciones óptimas de temperatura (T=40°C) se obtuvieron un pH=3.19 y un porcentaje de ácido láctico cercano al uno por ciento para la misma formulación.
3. El abono líquido presentó como principal macronutriente al potasio y como principal micronutriente al sodio. Tuvo una disponibilidad moderada de nitrógeno. También se le clasificó como abono de clase A debido a que no presentaba riesgos significativos por contenido de metales pesados.
4. En el abono líquido se identificó el género *Lactobacillus* sp y no se presentaron microorganismos patógenos.
5. El abono líquido diluido al 0.01, 0.1 y uno por ciento no presentó sustancias fitotóxicas sobre las semillas de lechuga (variedad Duett). Más aún, con la dilución del uno por ciento se alcanzó el mayor índice de germinación.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar pruebas en masetería y campo para determinar la dosis óptima (L/ha) del abono líquido a partir de residuos de fresa en diferentes cultivos.
2. Realizar un estudio de mercado para determinar el precio de venta del abono líquido y analizar su comercialización.
3. Como parte de las buenas prácticas agrícolas (BPA) se recomienda almacenar el abono líquido de tal forma que se evite la exposición directa al sol. En cuanto a la conservación el abono líquido parte de éste debe diluirse a su nivel óptimo solo cuando se requiera su aplicación.
4. Evaluar los posibles usos y propiedades del subproducto sólido como por ejemplo su uso en el suelo agrícola, su almacenamiento en fosas y/o su secado al ambiente para aplicarse periódicamente o emplearlo como insumo para la dieta animal.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2007. Acidity (Titratable) of Fruit Products. Norma Official Method 942.15. 18th ed. Washington, Estados Unidos de América, Gaithersburg MD. 2007.v1. pt.3. cap. 37. p.10-11.
2. Aragón, J. 2015. Evaluación de fuentes alternativas de nitrógeno en fermentación láctica. Tesis Maestría. Bogotá, Colombia, Universidad Nacional de Colombia. 123 p.
3. Beltrán, A; Ramos, M; Alvarez, M. 2010. Estudio de la vida útil de fresas (*Fragaria vesca*) mediante tratamiento con radiación ultravioleta de onda corta (UV-C). Revista Tecnológica ESPOL – RTE 23(2): 17-24.
4. Buchelli, H. 2014. Producción de biofertilizantes de bagazo de cebada, excretas de vacuno y suero de quesería mediante fermentación homoláctica. Tesis Grado. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. 129 p.
5. Carrasco, G; Izquierdo, JI. 1996. Manual técnico: La empresa hidropónica de mediana escala: La técnica de solución nutritiva recirculante («NFT»). Talca, Chile, Universidad de Talca. 62 p.
6. Chen, H; Wang, L. 2016. Technologies for Biochemical Conversion of Biomass. Londres, Reino Unido, Ed. Academic Press. 284 p.
7. Chirinos, H. 2000. Fertilización de fresa (*Fragaria ananassa*). Informaciones agronómicas 4(1):11.

8. Congreso de la República. 2000. Ley n.º 27314. Ley General de Residuos Sólidos. Diario Oficial El Peruano. Perú. 21 jul.
9. Congreso de la República. 2016. Decreto Legislativo n.º 1278, 2016. Ley de gestión integral de residuos sólidos. Diario Oficial El Peruano. Perú. 23 dic.
10. Di Maria, F; Barratta, M. 2015. Boosting methane generation by co-digestion of sludge with fruit and vegetable waste: Internal environment of digester and methanogenic pathway. *Waste Management* 43: 130-136.
11. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2007. Secuestro de carbono en tierras áridas. Roma, Italia, FAO. 102 p.
12. FREP (Fertilizer Research And Education Program). s.f. Guía para la Fertilización. Nitrógeno. Fresa (en línea, folleto). Consultado 29 feb. 2017. Disponible en <https://www.cdfa.ca.gov/is/ffldrs/frep/Resources.html>
13. Garcia-Serrano, P; Lucena, J; Ruano, S; Nogales, M. 2009. Guía práctica de fertilización racional de los cultivos en España. Parte 1: El suelo, los nutrientes, los fertilizantes y la fertilización. Madrid, España, MAMR. 119 p.
14. García, L. 2008. Uso de bacterias probióticas en el ensilado de residuos de pescado. Tesis Grado. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. 142 p.
15. Herrera, R. 2016. Conversión de la Poda de Grass (*Stenotaphrum secundatum*) de la UNALM para su Transformación en Biofertilizante a través del Proceso de Fermentación Homoláctica. Compendio de trabajos de investigación de alumnos de pregrado 2015-2016. Lima, Perú, UNALM. 39 p.

16. IFA (Asociación Internacional de la Industria de los Fertilizantes). 2002. Los fertilizantes y su uso. 4 ed. París, Francia, FAO. 77 p.
17. INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias). 2004. Preparación y utilización de compost en hortalizas. Santiago de Chile, Chile, Ministerio de Agricultura. Informativo N° 14.
18. Koneman, E; Procop, G; Schreckenberger, P; Woods, G; Winn, W; Allen, S; Janda, W. 2008. Koneman. Diagnóstico microbiológico. 6 ed. Buenos Aires, Argentina, Médica Panamericana. 1696 p.
19. Louzada, L; Fonseca, L; Oliveira, D. 2016. Evaluation of the toxic potential of coffee wastewater on seeds, roots and meristematic cells of *Lactuca sativa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 133: 366-372.
20. Madigan, M; Martinko, J; Dunlap, P; Clark, D. 2009. Brock. Biología de los microorganismos. 12 ed. Madrid, España, Pearson Education. 1296 p.
21. Maeda, T; Yoshimura, T; Shimazu, T; Shirai, Y; Ogawa, H. 2009. Enhanced production of lactic acid with reducing excess sludge by lactate fermentation. *Journal of Hazardous Materials* 168: 656-663.
22. Medina, A. 2013. Evaluación de la calidad de biol de segunda generación de estiércol de ovino producido a través de biodigestores. Tesis Grado. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. 143 p.
23. Meera, C; Estherlydia, D. 2014. Antimicrobial evaluation of jams made from indigenous fruit peels. *International Journal of Advanced Research* 2(1): 202-207.
24. Meza, L. 2014. Elaboración de abono líquido mediante fermentación

- homoláctica de papas de descarte utilizando el consorcio microbiano ácido láctico B-Lac. Tesis Grado. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. 122 p.
25. Milena, S; Montoya, L; Orozco, F. 2008. Valorización de residuos agroindustriales – frutas – en Medellín y el sur del valle del Aburrá, Colombia. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín* 61(1): 4422-4431.
 26. MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). 2012. Decreto Supremo n.º 016-2012-AG. Reglamento de Manejo de los Residuos Sólidos del Sector Agrario. *Diario Oficial El Peruano*. Perú. 13 nov.
 27. Minh, Q; Mimoto, H; Nakasaki, K. 2015. Inoculation of lactic acid bacterium accelerates organic matter degradation during composting. *International Biodeterioration and Biodegradation* 104(2015): 377-383.
 28. Ministerio de la Presidencia. 2013. Real Decreto n.º 506/2013. Sobre productos fertilizantes. *Boletín Oficial del Estado*. España. 28 jun.
 29. MMA (Ministerio de Medio Ambiente). 1998. Guía para el control y prevención de la contaminación industrial. Industria procesadora de frutas y hortalizas. Santiago de Chile, Chile, Ministerio de Medio Ambiente. 50 p.
 30. Molina, E; Salas, R; Castro, A. 1993. Curva de crecimiento y absorción de nutrimentos en fresa (*Fragaria x ananasa* cv. Chandler) en Alajuela. *Agronomía Costarricense* 17(1): 67-73.
 31. Navarro, AR; Arrueta, RG; Maldonado, MC. 2006. Determinación del efecto de diferentes compuestos a través de ensayos de fitotoxicidad usando semillas de lechuga, escarola y achicoria. *Revista de Toxicología* 23(2-3): 125-129.

32. Ojeda, L; Cárdenas, R; Lobit, P; Grageda, O; Valencia, E; Macías, L. 2008. Efecto de la nutrición nítrica y sistemas de riego en el sabor de la fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.). Revista Chapingo Serie Horticultura 14(1): 61-70.
33. OPS (Organización Panamericana de la Salud). 2016. Peligros biológicos. Sistema HACCP (en línea, sitio web). Consultado 25 feb. 2017. Disponible en http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838%3A2015-peligros-biologicos&catid=7678%3Ahaccp&Itemid=41432&lang=es.
34. Özcelik, S; Kuley, E; Özogul, F. 2016. Formation of lactic, acetic, succinic, propionic, formic and butyric acid by lactic acid bacteria. LWT - Food Science and Technology 73: 536-542.
35. Papagianni, M. 2012. Metabolic Engineering of Lactic Acid Bacteria for the Production of Industrially Important Compounds. Computational and Structural Biotechnology Journal 3(4): 1-8.
36. Peralta, R. 2010. Determinación de parámetros óptimos en la producción de fast biol usando las excretas del ganado lechero del establo de la UNALM. Tesis Grado. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. 120 p.
37. Pisabarro, A. Curso de microbiología general. 2009. Bacterias gram-positivas fermentadoras: bacterias del ácido láctico (en línea, curso). Navarra, España. Consultado 17 mar. 2017. Disponible en http://www.unavarra.es/genmic/curso_microbiologia_general/20-bacterias_lacticas.htm
38. Prescott, L; Harley, J; Klein, D. 2002. Microbiología. 5 ed. Madrid, España, Mc Graw Hill. 1240 p.
39. Ramírez, J; Rosas, P; Velázquez, M; Armando, J; Arce, F. 2011. Bacterias

- lácticas : Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. Revista Fuente 2(7): 1-16.
40. RedCorn, R; Engelberth, A. 2016. Identifying conditions to optimize lactic acid production from food waste co-digested with primary sludge. *Biochemical Engineering Journal* 105: 205-213.
41. Rede, D; HMLM Santos, L; Ramos, S; Oliva-Teles, F; Ant, C; Sousa, SR; Delerue-Matos, C. 2016. Ecotoxicological impact of two soil remediation treatments in *Lactuca sativa* seeds. *Chemosphere* 159: 193-198.
42. Ricse, Y. 2013. Elaboración de biofertilizante acelerada vía fermentación homoláctica del residuo del procesamiento de rocoto (*Capsicum pubescens*). Tesis Grado. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. 113 p.
43. Román, C. 2012. Tratamiento biológico de la cuyinaza a través de un proceso de fermentación homoláctica. Tesis Grado. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. 207 p.
44. Russo, R. 2001. Organic foliar fertilizer prepared from fermented fruits on growth of *Vochysia guatemalensis* in the Costa Rican humid tropics. *Sustainable Agriculture* 18(2/3): 161-167.
45. Saval, S. 2012. Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *BioTecnología* 16(2): 14-46.
46. Serna, L; Rodríguez, A. 2005. Producción Biotecnológica De Ácido Láctico: Estado Del Arte. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 5(1): 54-65.
47. Silva, P; Matos, M. 2016. Assessment of the impact of Aluminum on germination, early growth and free proline content in *Lactuca sativa* L.

Ecotoxicology and Environmental Safety 131: 151-156.

48. Sitorus, B; Sukandar, S; Panjaitan, SD. 2013. Biogas recovery from anaerobic digestion process of mixed fruit -vegetable wastes. Energy Procedia 32: 176-182.
49. Sobrero, MC; Ronco, A. 2008. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México. México D.F., Instituto Nacional de Ecología, p.55-67.
50. Stanier, R; Ingraham, J; Wheelis, M; Painter, P. 1992. Microbiología. 2 ed. Barcelona, España, Reverté. 753 p.
51. Tang, J; Wang, X; Hu, Y; Zhang, Y; Li, Y. 2016. Lactic acid fermentation from food waste with indigenous microbiota : Effects of pH, temperature and high OLR. Waste Management 52: 278-285.
52. Tristezza, M; Di Feo, L; Tufariello, M; Grieco, F; Capozzi, V; Spano, G; Mita, G; Grieco, F. 2016. Simultaneous inoculation of yeasts and lactic acid bacteria: Effects on fermentation dynamics and chemical composition of Negroamaro wine. LWT - Food Science and Technology 66: 406-412.
53. Varnero, MT; Rojas, C; Orellana, R. 2007. Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. Revista Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal 7(1): 28-37.
54. Wang, Y; Tashiro, Y; Sonomoto, K. 2015. Fermentative production of lactic acid from renewable materials: Recent achievements, prospects, and limits. Journal of Bioscience and Bioengineering 119(1): 10-18.

Los anexos contienen firmas y datos
personales, favor de consultar el ejemplar
impreso disponible en la Sala Tesis de la
Biblioteca Agrícola Nacional - UNALM

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: RESULTADOS EN EXTENSO

1. Niveles de pH (expresado en unidades de pH)

Trat. / Días		0	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30
T1	R1	3,74	3,28	3,33	3,28	3,34	3,20	3,64	3,65	3,28	3,38	3,35
	R2	3,75	3,27	3,32	3,28	3,36	3,19	3,63	3,56	3,23	3,36	3,29
	R3	3,74	3,27	3,30	3,28	3,34	3,18	3,20	3,51	3,19	3,32	3,25
T2	R1	3,88	3,46	3,50	3,52	3,99	3,76	3,82	3,79	3,58	3,28	3,68
	R2	3,86	3,45	3,50	3,57	3,84	3,62	3,57	3,57	3,34	3,00	3,35
	R3	3,90	3,44	3,50	3,52	3,95	3,73	3,72	3,66	3,40	3,07	3,39
T3	R1	3,99	3,60	3,62	4,02	3,77	3,52	3,55	3,63	3,36	3,02	3,36
	R2	3,98	3,58	3,61	4,04	3,80	3,56	3,58	3,62	3,30	2,97	3,33
	R3	3,97	3,58	3,62	3,92	3,75	3,48	3,50	3,57	3,34	3,03	3,38
T4	R1	3,72	3,30	3,30	3,35	3,36	3,16	3,60	3,55	3,20	3,52	3,36
	R2	3,72	3,29	3,30	3,36	3,83	3,56	3,40	3,40	3,03	3,39	3,26
	R3	3,74	3,29	3,30	3,36	3,41	3,64	3,42	3,42	3,09	3,42	3,28
T5	R1	3,90	3,49	3,37	3,93	3,78	3,60	3,55	3,54	3,24	3,47	3,31
	R2	3,91	3,48	3,36	3,91	3,76	3,59	3,51	3,48	3,16	3,44	3,27
	R3	3,85	3,48	3,37	3,92	3,79	3,63	3,71	3,72	3,42	3,64	3,43
T6	R1	3,98	3,61	3,45	3,91	3,79	3,55	3,59	3,66	3,36	3,59	3,52
	R2	3,97	3,61	3,45	3,66	3,74	3,60	3,55	3,59	3,36	3,66	3,43
	R3	3,94	3,61	3,45	3,89	3,82	3,57	3,64	3,69	3,43	3,71	3,58
T7	R1	3,73	3,33	3,18	3,40	3,67	3,41	3,69	3,39	3,42	3,25	3,25
	R2	3,71	3,32	3,17	3,35	3,46	3,42	3,58	3,30	3,30	3,20	3,22
	R3	3,70	3,30	3,17	3,37	3,69	3,42	3,63	3,36	3,37	3,26	3,25
T8	R1	3,85	3,53	3,36	3,52	3,51	3,57	3,85	3,69	3,70	3,60	3,66
	R2	3,85	3,53	3,35	3,52	3,48	3,31	3,91	3,76	3,78	3,67	3,73
	R3	3,86	3,53	3,34	3,52	3,80	3,51	3,84	3,71	3,74	3,60	3,61
T9	R1	3,94	3,67	3,46	3,76	3,85	3,52	3,83	3,66	3,67	3,55	3,52
	R2	3,93	3,66	3,46	3,67	3,85	3,52	3,78	3,62	3,65	3,50	3,48
	R3	3,92	3,66	3,47	3,68	3,88	3,59	3,84	3,68	3,68	3,56	3,56

2. Porcentajes de ácido láctico (expresado en %)

Trat. / Días		0	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30
T1	R1	1,17	1,17	0,86	0,90	0,90	0,92	0,70	0,90	0,90	1,62	1,80
	R2	0,99	1,08	0,90	0,86	0,81	0,95	0,68	1,37	1,49	1,51	2,07
	R3	1,26	1,08	0,99	0,90	0,81	0,90	0,99	1,40	0,90	1,53	1,85
T2	R1	1,08	1,17	0,90	0,95	0,74	0,90	0,74	0,54	0,59	0,90	0,81
	R2	0,99	1,08	0,99	0,90	0,79	0,83	0,90	0,92	0,99	1,19	1,71
	R3	0,81	1,17	1,08	0,86	0,72	0,90	0,74	0,79	1,13	1,40	1,40
T3	R1	1,08	1,17	0,95	0,81	0,95	1,04	1,04	1,10	0,77	1,44	1,53
	R2	1,17	1,08	0,90	0,77	1,04	1,04	1,10	1,24	1,04	1,19	1,55
	R3	1,26	1,17	0,90	0,88	1,08	1,08	0,81	1,08	0,86	1,28	1,35
T4	R1	1,26	1,13	0,90	0,81	0,81	0,77	0,90	1,35	1,35	2,16	2,34
	R2	1,08	1,08	0,86	0,95	0,72	0,81	0,99	1,98	2,03	2,21	2,75
	R3	1,08	1,04	0,90	0,86	0,72	0,86	0,97	1,98	2,03	2,18	2,43
T5	R1	0,90	1,13	0,90	0,79	0,90	0,88	0,99	1,28	1,80	2,61	2,88
	R2	1,17	1,17	0,90	0,72	0,90	0,95	1,08	1,58	1,85	1,80	3,17
	R3	1,08	1,13	0,99	0,70	0,86	0,95	0,90	0,77	1,13	1,67	2,12
T6	R1	1,17	1,17	1,13	0,83	0,99	1,04	1,08	0,81	1,24	1,42	1,42
	R2	1,26	1,22	1,17	0,99	0,95	1,08	0,86	1,24	1,33	1,15	1,26
	R3	1,17	1,17	1,08	0,77	0,99	1,04	0,92	0,83	1,22	1,06	1,06
T7	R1	0,99	1,13	0,99	0,88	0,79	0,81	1,17	1,60	1,58	2,03	1,98
	R2	0,99	1,08	0,99	0,81	0,95	1,04	1,22	2,09	2,07	2,61	2,48
	R3	1,08	1,22	0,99	0,88	0,70	0,90	0,88	1,62	1,55	2,14	1,40
T8	R1	1,17	1,08	1,04	0,95	1,06	0,83	0,90	0,79	0,81	1,04	0,79
	R2	1,17	1,35	1,04	0,95	1,06	0,90	0,79	0,77	0,72	0,83	0,70
	R3	1,17	1,13	0,90	0,88	0,88	0,79	0,77	0,81	0,77	0,88	0,63
T9	R1	1,17	1,22	0,95	0,81	1,04	1,10	1,19	1,17	1,22	1,35	1,26
	R2	1,08	1,31	0,99	0,79	0,90	1,15	1,19	1,24	1,31	0,83	0,97
	R3	1,08	1,17	0,99	0,81	0,90	1,01	1,01	1,01	1,04	1,19	0,95

ANEXO 2: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

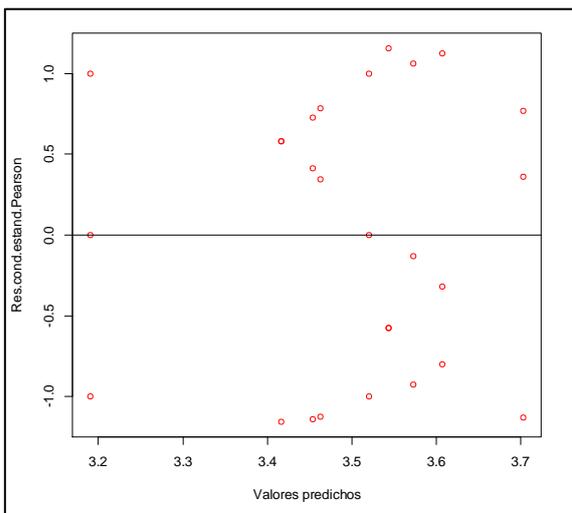
1. Resumen del análisis para nivel de pH

Pruebas		Resultado	Interpretación
1.1 Cumplimiento de supuestos.	Homogeneidad de varianzas (*).	Ver gráfico en 1.1.	Sí cumple el supuesto.
	Normalidad de los errores.	$R \geq 0.94$. Ver gráfico en 1.1.	Sí cumple el supuesto.
1.2 Análisis de varianza.		$p < 0.0001$. Ver tabla en 1.2.	Existe interacción entre los factores melaza y B-Lac.
1.3 Prueba de comparación múltiple con LSD Fisher (Alfa=0.05).		Ver tabla y gráfico en 1.3.	Se alcanza el menor nivel de pH con los tratamientos con 5% de melaza (T1, T4 y T7).

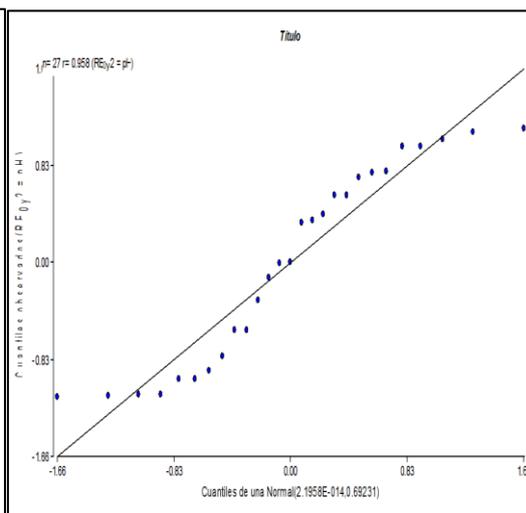
Nota: (*) Se modeló la varianza.

1.1 Cumplimiento de supuestos

Homogeneidad de varianzas



Normalidad de errores



1.2 Análisis de varianza

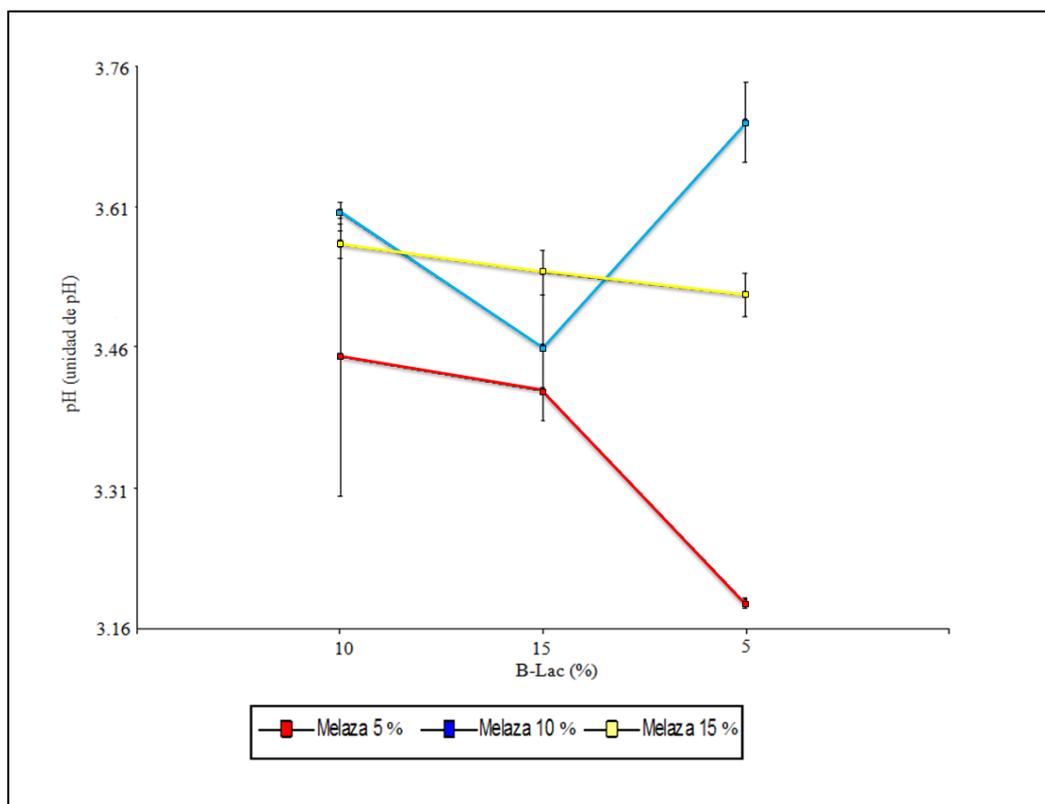
Factores	numDF	denDF	F-value	p-value
Melaza	2	18	8.63	0.0024
Blac	2	18	0.98	0.3932
Melaza:Blac	4	18	18.46	<0.0001

1.3 Comparación múltiple

Melaza	B-Lac	Medias	E.E.	Grupos*		
10%	5%	3.70	0.04	A		
10%	10%	3.61	0.01	A		
15%	10%	3.57	0.01	A		
15%	15%	3.54	0.02	A		
15%	5%	3.52	0.02	A		
10%	15%	3.46	0.08	A	B	
5%	10%	3.45	0.15	A	B	C
5%	15%	3.42	3.3E-03		B	C
5%	5%	3.19	0.01			C

Nota: (*) Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

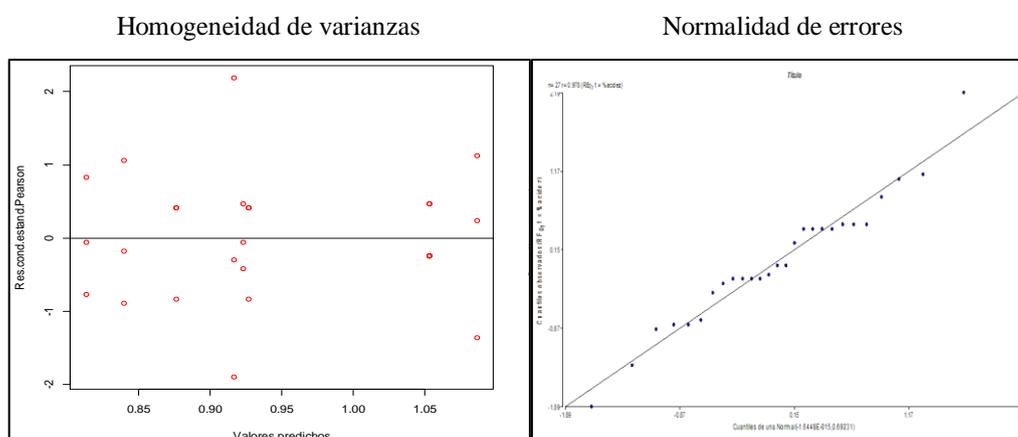
Gráfica de la comparación múltiple para nivel de pH



2. Resumen del análisis para el porcentaje de ácido láctico

Pruebas		Resultado	Interpretación
2.1 Cumplimiento de supuestos.	Homogeneidad de varianzas.	Ver gráfico en 2.1.	Sí cumple el supuesto.
	Normalidad de los errores.	$R \geq 0.94$. Ver gráfico en 2.1.	Sí cumple el supuesto.
2.2 Análisis de varianza.		$p < 0.0001$. Ver tabla en 2.2.	Existe efecto por la variación de la melaza.
2.3 Prueba de comparación múltiple con LSD Fisher (Alfa=0.05).		Ver tabla y gráfico en 2.3.	Se alcanza el mayor porcentaje de ácido láctico cuando la melaza constituye el 15%.

2.1 Cumplimiento de supuestos



2.2 Análisis de varianza para el porcentaje de ácido láctico

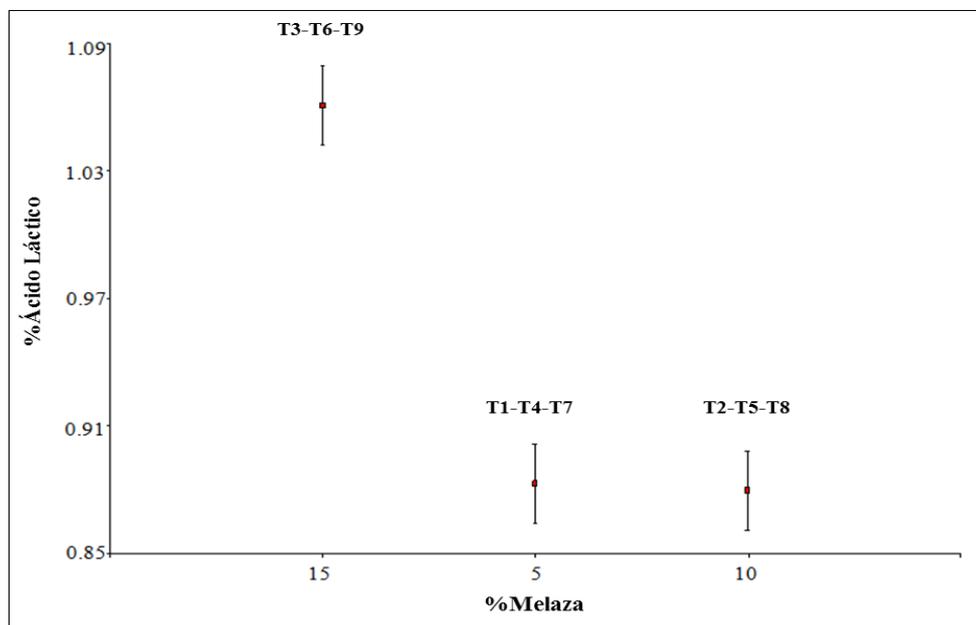
Factores	numDF	denDF	F-value	p-value
Melaza	2	18	31.20	<0.0001
Blac	2	18	0.33	0.7263
Melaza:Blac	4	18	2.70	0.0634

2.3 Comparación múltiple para el porcentaje de ácido láctico

Melaza	Medias	E.E.	Grupos*
15%	1.06	0.02	A
5%	0.88	0.02	B
10%	0.88	0.02	B

Nota: (*) Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Gráfico de comparación múltiple para el porcentaje de ácido láctico



ANEXO 3: CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS TRATAMIENTOS

1. Características de todos los tratamientos en la fase laboratorio

Trat.	Composición del fermentado		Composición del subp. sólido		Rendimiento (kg abono líq. / kg residuo)
	Abono líquido (%) *	Subproducto sólido (%)	Humedad del subp. sólido (%)	Materia seca del subp. sólido (%)	
T1	78,82	21,18	86,41	13,59	1,31
T2	80,61	19,39	83,37	16,63	1,42
T3	78,31	21,69	81,80	18,20	1,47
T4	80,95	19,05	85,63	14,37	1,43
T5	75,37	24,63	86,57	13,43	1,41
T6	82,71	17,29	80,55	19,45	1,65
T7	83,20	16,80	84,73	15,27	1,56
T8	81,70	18,30	83,83	16,17	1,63
T9	82,14	17,86	81,75	18,25	1,76

Nota: (*) densidad del abono = 1.05 kg/L.

2. Características del ensayo piloto

Condiciones iniciales del ensayo piloto					
Componentes	Composición de la mezcla		pH	CE (mS/cm)	Contenido de humedad en el residuo de fresa
Residuo de fresa diluido* (2:1)	90 %	24.00 kg**	3.56	20.5	Pesos netos <u>Inicial</u> <u>Final</u> <u>%Hd</u> Muestra 1: 19.84 g 2.13 g 89.3 % Muestra 2: 27.99 g 2.78 g 90.1 % Muestra 3: 24.24 g 2.48 g 89.8 % %Hd residuo fresa = 89.7 %
B-Lac	5 %	1.33 kg	3.22	15.3	
Melaza	5 %	1.33 kg	4.80	24.6	
Total	100 %	26.66 kg	3.83	-	
Cosecha del ensayo piloto***					
Componentes	Composición de la mezcla		Contenido de humedad en el subproducto sólido		
Abono líquido	69,37%	18.50 kg	Pesos netos <u>Inicial</u> <u>Final</u> <u>%Hd</u> Muestra 1: 40.52 g 6.03 g 85.1 % Muestra 2: 41.35 g 6.19 g 85.0 % Muestra 3: 37.52 g 5.74 g 84.7 % %Hd subproducto sólido = 85.0 %		
Subproducto sólido	24,16%	6.44 kg			
Merma del prensado	6,47%	1.73 kg			

Nota: (*) Características del agua de mesa, pH=6.92 y C.E.=415 uS/cm. (**) Compuesto por 16 kg de residuo de fresa y 8 kg de agua de mesa. (***) Rendimiento = 1.16 kg abono líq./ kg residuo de fresa.

ANEXO 4: CÁLCULOS ADICIONALES

1. Cálculo del ratio carbono – nitrógeno

Muestra	Contenido de M.O., C	Contenido de N	Fórmula	C/N	Interpretación
Residuo de fresa	46.24 %	2.80 %	$C/N = \frac{\%C}{\%N}$	16.51	Alta disponibilidad de nitrógeno
Abono líquido	32.40 g/L	0.63 g/L	$C/N = \frac{\%M. O./1.725}{\%N}$	29.81	Disponibilidad moderada de nitrógeno
Subproducto sólido	92.59 %	2.59 %		20.72	Disponibilidad moderada de nitrógeno

2. Cálculo de costos de insumos

Trat.	B-Lac (%) *	Melaza (%) *	Fórmula	Costos de insumos (PEN/kg) **
T1	5	5	$Costo = \frac{(\%BLac * 10) + (\%melaza * 1)}{100}$	0,55
T2	5	10		0,60
T3	5	15		0,65
T4	10	5		1,05
T5	10	10		1,10
T6	10	15		1,15
T7	15	5		1,55
T8	15	10		1,60
T9	15	15		1,65

Notas: (*) 1L de B-Lac = 10 PEN, 1 kg de melaza = 1 PEN. (**) Los costos están expresados en PEN (código de la divisa de Nuevos Soles) por 1kg de mezcla.

ANEXO 5: RESULTADOS DEL ENSAYO DE FITOTOXICIDAD

1. Cálculo del índice de germinación

Dilución	Germinación		Crecimiento radicular		IG (%)
	# semillas germinadas	PGR (%)	Elongación de la radícula (mm)	CRR (%)	
0/100	20,00	-	24,30	-	-
0,01/100	20,00	100,00	23,57	96,98	96,98
0,1/100	19,66	98,30	24,57	101,10	99,39
1/100	19,33	96,65	28,36	116,70	112,79
10/100	0	0	0	0	0
100/100	0	0	0	0	0

Nota: PGR = porcentaje de germinación relativo, CRR = crecimiento de radícula relativo, IG = índice de germinación.

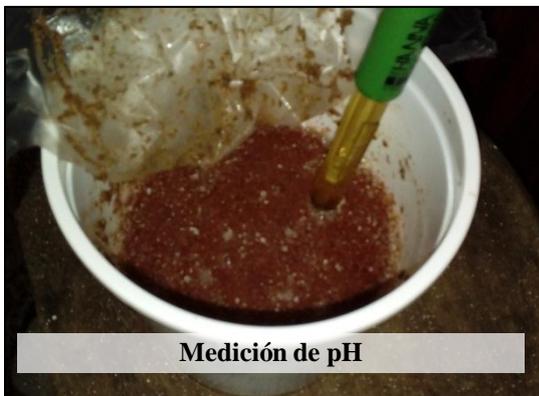
2. Longitud de la radícula (expresada en mm)

#	Blanco (0/100)			D1 (0,01/100)			D2 (0,1/100)			D3 (1/100)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	23	19	30	23	20	28	21	17	29	26	32	36
2	17	25	21	28	32	30	18	23	29	22	28	33
3	21	22	28	32	31	26	22	30	32	30	12	35
4	23	27	31	33	33	28	22	33	26	32	26	34
5	19	19	32	15	28	33	22	25	29	28	35	34
6	20	17	29	31	34	25	23	30	35	29	13	32
7	20	22	27	11	24	25	17	32	28	28	16	32
8	15	22	25	25	31	33	24	32	20	25	30	15
9	25	25	31	20	33	27	27	29	17	21	31	33
10	26	20	26	26	23	31	26	36	27	21	24	35
11	24	29	34	25	30	25	17	32	26	27	34	36
12	25	29	28	12	25	32	13	35	20	32	32	31
13	17	17	25	11	27	30	27	29	29	9	27	24
14	15	30	17	32	38	11	10	30	33	27	27	36
15	23	35	14	32	11	13	23	31	28	27	28	33
16	25	18	24	30	39	15	8	34	33	32	27	37
17	26	32	25	32	37	8	17	30	29	18	26	38
18	20	36	26	8	6	11	23	32	8	28	33	30
19	25	36	24	7	4	14	22	28	8	25	-	33
20	25	22	25	10	4	16	-	10	8	33	-	30
Promedios	21,7	25,1	26,1	22,2	25,5	23,1	20,1	28,9	24,7	26,0	26,7	32,4
Prom. total	24,3			23,6			24,6			28,4		

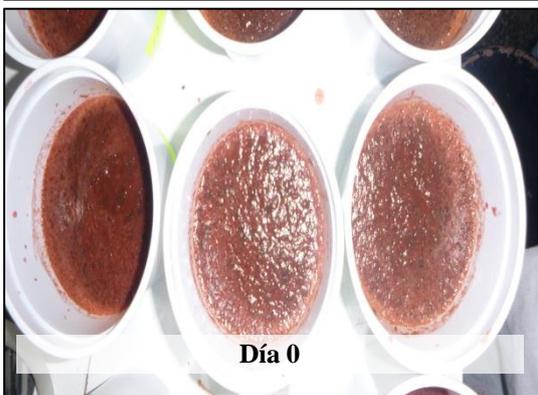
Nota: para la dilución D4 (10/100) y el abono puro (100/100) no se reportó la germinación de semillas.

ANEXO 7: REGISTRO FOTOGRÁFICO

1. Fase preliminar



2. Fase laboratorio





Estufa a 40 °C



Estufa a 40 °C



Medición de pH



Medición de ácidos titulables



Día 15



No hinchazón, buen olor

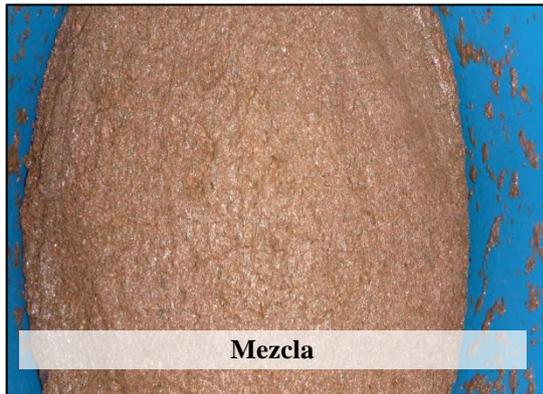


Día 30

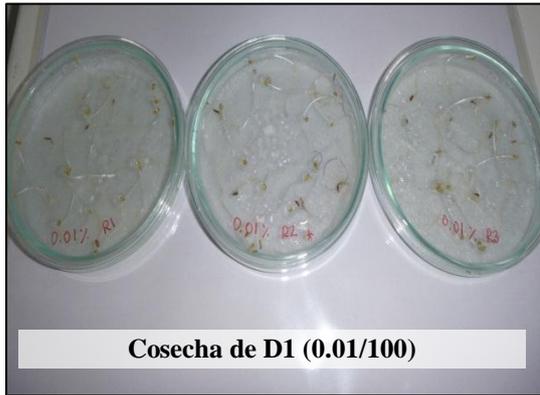


Mejor tratamiento, T1

3. Fase piloto







Cosecha de D1 (0.01/100)



Cosecha de D2 (0.1/100)



Cosecha de D3 (1/100)



Cosecha de D4 (10/100)



Cosecha del puro (100/100)



Medición de las plántulas



Plántulas de lechuga



Semillas no germinadas (D4)



Semillas no germinadas (puro)