

**EVALUACIÓN Y FORMULACIÓN DE MICROORGANISMOS EFICACES PARA
EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES GENERADAS EN UNA
INDUSTRIA PORCÍCOLA DE MUNICIPIO PEREIRA, RISARALDA.**

JULIAN ESTEBAN IZQUIERDO CARDONA

OSCAR JAVIER MONTEALEGRE PALMA

ELIOR MUÑOZ TOBÓN

UNIVERSIDAD LIBRE SECCIONAL PEREIRA BELMONTE

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

MICROBIOLOGIA

PEREIRA

2017

EVALUACIÓN Y FORMULACIÓN DE MICROORGANISMOS EFICACES PARA
EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES GENERADAS EN UNA
INDUSTRIA PORCÍCOLA DE MUNICIPIO PEREIRA, RISARALDA.

Trabajo de grado para optar por el título de microbiólogo

JULIAN ESTEBAN IZQUIERDO CARDONA

OSCAR JAVIER MONTEALEGRE PALMA

ELIOR MUÑOZ TOBÓN

Profesor:

MSc. ELIZABETH CASTAÑO

Grupo de investigación:

MICROBIOTEC.

UNIVERSIDAD LIBRE SECCIONAL PEREIRA BELMONTE

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

MICROBIOLOGIA

PEREIRA

2017

Nota de aceptación

Presidente del jurado

Jurado _____

Jurado _____

Pereira, _____ de _____ de 2017

"La naturaleza jamás llama a la inteligencia mientras el hábito y el instinto no sean útiles" H.G Wells.

DEDICATORIA

Este proyecto va para nuestros padres, los cuales son nuestros pilares fundamentales en mi vida, por darnos la oportunidad de estudiar y por el acompañamiento en el diario vivir estudiantil además del apoyo académico en otras actividades y las enseñanzas de vida.

También dedicamos este proyecto a todo integrante de nuestra familia pues siempre me han representado un modelo de vida.

Resumen

La técnica de los microorganismos eficaces (ME), corresponde al uso de microorganismos foto-tróficas, productores de ácido láctico, levaduras y hongos de fermentación, que tienen ventajas potenciales en tratamientos de aguas residuales y en aceleración de procesos bioquímicos, su potencial metabólico evita la proliferación de bacterias patógenas. En el presente estudio, se evaluó la capacidad de reducción de bacterias patogénicas con el fin de mejorar la calidad microbiológica del agua para su vertimiento, se realizaron 3 mezclas de microorganismos eficientes (ME) inoculados en un tratamiento de aguas residuales porcícolas bajo condiciones de laboratorio durante 21 semanas. A través de un monitoreo fisicoquímico (pH y T°) y monitoreo microbiológico de enterobacterias, se registró que en la prueba de filtración por membrana se obtuvo una reducción significativa de la carga microbiana durante las semanas 8, 9 y 10 en las mezclas 2 y 3. Además la reducción de turbidez y poca sedimentación, comparado con las mezclas 1.

Tabla de contenido

1. Introducción	10
1.1. Características de las aguas residuales porcícolas.....	11
1.2. Tratamiento con microorganismos eficientes (ME)	12
1.2.1. 1.3.1. Bacterias productoras de ácido láctico (Lactobacillus casei)	12
1.2.2. 1.3.2. Actinomicetos (Streptomyces albus).....	13
1.2.3. 1.3.3 Levaduras (Candida utilis)	13
2. Marco de referencia	13
2.1. Métodos de tratamientos de las aguas residuales porcícolas	13
2.2. Condiciones sugeridas para un tratamiento anaeróbica con microorganismos eficientes.....	16
2.2.1. Adaptación de la microflora	16
2.2.2. Dilución del agua residual.....	¡Error! Marcador no definido.
3. Materiales y Métodos.....	17
3.1. Toma de muestra	17
3.2. Preparación de las mezclas de los microorganismos eficientes	17
3.3. Caracterización microbiológica inicial de las aguas residuales porcícolas	19
3.4. Monitoreo fisicoquímico y muestreo microbiológico de enterobacterias	19
4. Resultados y discusión	20
4.1. Caracterización inicial de las aguas residuales porcícolas.....	20
4.2. Monitoreo fisicoquímico y muestreo microbiológico de enterobacterias	21
4.2.1.....	21
4.2.2. Resultados fisicoquímicos	21
4.2.3. Resultados de muestreos microbiológicos de enterobacterias.....	24
5. Conclusiones	30
6. Bibliografía.....	31

Índice de gráficos

Grafico 1. Resultados de DQO, DBO, ST. Vs rangos permisibles, en color rojo los valores hallados y en azul los valores estandarizados de la Resolución 0631 del 2015.	21
Grafico 2. Evaluación de pH en los diferentes muestreos	23
Grafico 3. Resultados de T°, durante el tratamiento de M:E durante cada muestreo en aguas residuales.	24
Grafico 4. Reducción de población bacteriana en los muestreos periódicos.	28
Grafico 5. Reducción de población bacteriana en las semanas de monitoreo. ..	29

Índice de tablas

Tabla 1. Condiciones iniciales de la muestra de agua residual porcícola sin adicción de ME.....	20
Tabla 2. Comparación de etapas de monitoreo de las 3 mezclas. A. Semana 0: de izquierda a derecha se clasifican como mezclas 1, 2,3 y semana 21: Control 0 vs Mezcla 2. B. Semana 0: de izquierda a derecha se clasifican como mezclas 1, 2,3 y semana 21: control 0 vs Mezcla 2 y 3.....	22
Tabla 3. Resultados de la calidad microbiológica de los muestreos de las 3 mezclas (NMP (NMP/100ml), Filtración por membrana (FPM) (UFC/100ml).....	24
Tabla 4. Resultado de pruebas microbiológicas durante las semanas de monitoreo de la 2 y 3 mezcla.....	26

Índice de imágenes

Imagen 1. A la izquierda cochera, a la derecha pozo donde se recolecto las muestras. Imágenes tomadas del predio porcícola.....	17
Imagen 2. Evidencia de la reactivación de las cepas de referencia. Imágenes tomadas en el laboratorio de análisis microbiológico y fisicoquímico de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Libre seccional Pereira, sede Belmonte.....	18

1. Introducción

Durante los últimos 15 años, el sector porcícola en Colombia ha experimentado un importante crecimiento y ha mejorado significativamente su productividad. La producción porcícola en el departamento de Risaralda ocupa el 4 puesto en el país después de Antioquia y Valle del Cauca con 9,4 kg de carne de cerdo al año por persona. En Risaralda, el primer puesto lo ocupa Pereira y el segundo Santa Rosa, en producción según los reportes anuales de la asociación de porcicultores (Henaó, Ramírez Aguirre, & Rondón-Barragán, 2012).

Pero sin lugar a dudas uno de los residuos que genera mayor controversia es la excreta porcina debido a las características físico-químicas, características microbiológicas, el bajo caudal y la escasa capacidad de autodepuración y volumen generado. El vertido de los residuos generados en una granja porcina puede afectar a las masas de aguas tanto superficiales como subterráneas. Es por eso que uno de los más importantes desafíos es encontrar una solución causada por los residuos y aguas residuales de las actividades de la industria porcícola (Córdoba, Fernández, & Santalla, 2016). Una de las soluciones más aceptadas y estudiadas es el tratamiento anaeróbico de residuos porcícolas con microorganismos eficientes.

1.1. Características de las aguas residuales porcícolas

Las propiedades de los desechos porcícolas pueden clasificarse como físicas, químicas y biológicas; las características físicas y químicas son afectadas por la fisiología (tamaño, edad, raza) de los animales y los alimentos (contenido de proteína y fibra) y el ambiente (temperatura y humedad). Las características biológicas (tipo y cantidad de microorganismos presentes) pueden modificarse por la adición de antibióticos, al limitar éstos el crecimiento microbiológico. Las características microbiológicas de los desechos porcícolas pueden afectarse por la utilización de antibióticos, ya sea que se encuentre presente en los alimentos o que sean aplicados directamente al cerdo. Este hecho modifica en especie y cantidad a los microorganismos, situación que puede reflejarse en la efectividad de los sistemas de tratamiento biológicos (Villagómez, Borges, & Pereda, 2002).

En general, los principales componentes contaminantes del estiércol de puerco son la materia orgánica (MO), el nitrógeno (NTK), el fósforo (P-Tot) y la materia en suspensión (SST). Pero también es una fuente de contaminación por organismos patógenos. Un (1) gramo de estiércol de puerco fresco puede contener hasta 10^8 gérmenes aerobios y 10^7 gérmenes anaerobios, de los cuales 6×10^5 son enterobacterias (Lasbleiz, 1989).

1.2. Tratamiento con microorganismos eficientes (ME)

Una de las técnicas más usadas en la actualidad para el tratamiento de las aguas residuales son los microorganismos eficientes (Toc, 2012). La tecnología de los microorganismos eficientes (ME), desarrollados por el Dr. Teruo Higa de la universidad de Ryukus de Okinawa, Japón, cuyo efecto potencializado consiste en la mezcla de varios microorganismos naturales de tipo beneficioso(Higa, 1995; Namsivayam, Narendrakumar, & Kumar, 2011). Generalmente los microorganismos más reportados en contaminación son enterobacterias Gram negativas, donde se reportan géneros como *Escherichia* sp.

Un método para tratar residuos porcícolas, comprende la etapa de poner un material de desecho orgánico en contacto con al menos 5 especies de microorganismos, cada uno de los cuales se selecciona de 5 grupos; los actinomicetos, las bacterias fototróficas, bacterias capaces de producir ácido láctico, (c) bacterias no productoras ácido butírico, bacterias no patogénicas y tener un efecto antagonista valor de 50 o más (Higa, 1995).

1.2.1. Bacterias productoras de ácido láctico (*Lactobacillus casei*)

No se tiene gran información precisa acerca de la forma en la cual las bacterias productoras de ácido láctico funcionan en el tratamiento de aguas residuales, pero referente a sus propiedades, se planteó que al disminuir el pH se genera una inhibición de patógenos, los cambios fisicoquímicos están atribuidos a metabolitos secundarios producidos durante una fase de latencia(Early & Oria Almudí, 1998).

Aparte de la producción de ácido láctico, la producción de péptidos antimicrobianos y compuestos de bajo peso molecular como las bacteriosinas son factores atribuidos a el comportamiento antagonista (Kelly, Davey, & Ward, 1998). Las bacteriosinas se han convertido en péptidos antimicrobianos de alto valor industrial, que a pesar de que desfavorece la multiplicación de bacterias patógenas.

Por lo general, para el crecimiento de las poblaciones de las bacterias de ácido láctico, necesitan de una temperatura alrededor a los 30 C°, pues son microorganismos de crecimiento relativamente lento y su metabolismo depende directamente de la temperatura (Cardona & Garcia, 2008; Orozco & Solarte, 2003).

1.2.2. Actinomicetos (*Streptomyces albus*)

Son un grupo importante de bacterias saprófitas y de crecimiento filamentosos, capaces de producir una amplia variedad de enzimas extracelulares (León et al., 2011) y metabolitos secundarios de interés comercial e industrial. Se ha evaluado que producen compuestos de uso biotecnológico como antibióticos y enzimas industriales, entre otros (Bérdy, 2005; Taha et al., 2016).

El género *Streptomyces* es caracterizado por tener un alto potencial biotecnológico e industrial, su capacidad enzimática, controla patógenos en ambientes y mejora procesos biotecnológicos como el compostaje. Las actinobacterias pueden formar esporas en condiciones de altas temperaturas, además de resistir duros ambientes, por lo que la inoculación de actinobacterias puede ser excelente herramienta para aplicarse en bioprocesos (Olson, McBride, Joe Shaw, & Lynd, 2012; Y. Zhao et al., 2016). Grupo en el cual hace parte *Streptomyces* sp. (Y. Zhao et al., 2016).

1.2.3. Levaduras (*Candida utilis*)

Estos microorganismos sintetizan sustancias antimicrobianas a partir de azúcares y aminoácidos secretados por las bacterias fotosintéticas, también producen sustancias bioactivas como hormonas y enzimas que son aprovechadas por las bacterias ácido lácticas (Cardona & Garcia, 2008).

Como parte de su metabolismo fermentativo, las levaduras producen etanol relativamente altas concentraciones, conocida también como sustancia antimicrobiana. Al degradar los carbohidratos presentes en las aguas residuales porcícolas, se producirá etanol, lo cual se relaciona como metabolito antagonista frente a patógenos (Cardona & Garcia, 2008; Gabler, Mansour, Smilanick, & Mackey, 2004).

Una de las condiciones más indispensable para las poblaciones de las levaduras es la temperatura, la temperatura óptima de 28.5 y 30.1 C° (Adams, 1986).

2. Marco de referencia

2.1. Métodos de tratamientos de las aguas residuales porcícolas

La digestión anaeróbica tiende a resolver el problema de los residuos porcícolas con un alto contenido de materia orgánica a través de la disponibilidad de fuentes de energía renovables basados en la producción de metano (Minde,

Magdum, & Kalyanraman, 2013)(Atandi & Rahman, 2012). Sin embargo la estimación de la producción de energía es un completo reto debido al amplio rango de factores que afectan la producción de metano(H. Zhou, Löffler, & Kranert, 2011).

Con un agregado, la digestión anaeróbica puede ir bien con parámetros termófilos en el manejo de residuos porcícolas, pues evita la pestilencia y lo más importante es que remueve microorganismos patogénicos. Sin embargo, hay varias afectaciones relativas al proceso, especialmente cuando el residuo porcícola es el único sustrato (Creamer, Williams, Chen, & Cheng, 2008).

A diferencia, una técnica aeróbica de tratamiento representa un interés cercano por la simultaneidad de remoción de materia orgánica y nitrógeno en plantas de tratamiento residual. Sin embargo la información acerca de las comunidades microbianas en sistemas granulares aerobios que tratan con aguas residuales industriales como desechos de cerdo es limitada. En un estudio, la diversidad bacteriana y dinámica fue seguida en una planta piloto aeróbica usando lodos granulares para remover nitrógeno y materia orgánica en desechos porcícolas durante 300 días. Los resultados indicaron que la composición bacteriana evolucionó a lo largo del período operativo desde el lodo activado floculante, usado como inóculo, hasta los gránulos aeróbicos maduros(Fra-Vázquez et al., 2016).

La digestión anaeróbica va acompañada de la aplicación de microorganismos eficientes EM que pueden ser usados como agentes bioremediadores, los EM pueden demostrar un mejor desarrollo si ellos son mezclados con ingredientes que pueden actuar como nutrientes o adhesivos. El uso de microorganismos eficientes para reducir volúmenes de residuos; este método ha sido frecuentemente sugerido para tratar cualquier tipo de residuo líquido, como en tanques sépticos y afluentes industriales(Namsivayam et al., 2011).

Los tratamientos de residuos líquidos porcícolas, pueden ser muy variados inclusive el cultivo de microalgas asocia los residuos porcícolas como un ideal escenario para el crecimiento de estas, además estudios recientes relacionan las microalgas como removedoras de compuestos inorgánicos de una gran variedad de aguas residuales. La característica de los altos niveles de nitrógeno en los residuos porcícolas lo convierten en una buena fuente de nutrientes. En algunas pruebas piloto se utiliza residuos líquidos porcícolas con el fin de producir biodiesel aunque los resultados son desalentadores pues las microalgas tienen buena producción de biodiesel cuando el nitrógeno escasea(Wang et al., 2015).

Asimismo puede existir el consorcio de microalgas-bacterias, según (Arango, Cuervo, González-Sánchez, & Buitrón, 2016) evaluaron el efecto de la inoculación de un sistema microalgas-bacteria en la remoción de nutrientes y de la materia orgánica, en residuos municipales, cocheras y aguas residuales. Donde evaluaron 3 condiciones; inoculo con lodo activado e iluminación, inoculo con lodo activado y sin iluminación, inoculación con lodo activado más consorcio nativo de microalgas bajo iluminación. Notaron que en la (III) la remoción de la demanda química de oxígeno, amonio y fosforo, alcanzaron valores de 84%, 65% y 77%, respectivamente. Las algas pueden ser reemplazadas por bacterias fotosintéticas.

La aplicación de bacterias fotosintéticas en tratamiento de aguas residuales ha sido un tema de interés por los investigadores en los recientes años, produce una alta eficiencia y a precios muy bajos. La aplicación de bacterias fotosintéticas son una grande clase de microorganismos los cuales pueden ser utilizados variando el tipo de nutrientes como el carbono y la fuente de energía, ellas pueden ser distribuidas no solo en aguas residuales sino que también en lagos, suelos, pantanos, entre otros (Wen et al., 2016).

En 1970, investigadores japoneses encontraron la capacidad de las bacterias fotosintéticas de purificar agua contaminadas (Kobayashi & Tchan, 1973). Desde entonces, han sido usadas para el tratamiento de varias aguas residuales como en la industria del latex, industria de alimentos, industria azucarera, entre otras(Q. Zhou, Zhang, & Zhang, 2014)(Prachanurak, Chiemchaisri, Chiemchaisri, & Yamamoto, 2014).

El uso de bacterias ha habilitado el desarrollo de varios procesos así como el proceso químico patentado (ANAMMOX[®]) que es una forma rentable y sostenible de de efluentes y de amoniaco de gases residuales. En comparación con los sistemas convencionales de nitrificación/desnitrificación, los ahorros de costes operativos pueden alcanzar hasta el 60%, en tanto que se reducen las emisiones de CO₂(Suto et al., 2017)(Waki, Yasuda, Suzuki, Komada, & Abe, 2015).

La eliminación de amonio (ANAMMOX[®]) es un elegante “atajo” en el ciclo natural de nitrógeno. Un biofilm de bacterias ANAMMOX[®] activo convierte el amonio (NH₄⁺) y nitrito (NO₂⁻) en gas nitrógeno. Paques desarrolló el proceso para fines comerciales en colaboración con la Universidad Tecnológica de Delft y la Universidad de Nimega, ambas en los Países Bajos. A la puesta en marcha en 2002 de la primera planta a escala real, siguió la implementación de muchas otras plantas ANAMMOX[®] en todo el mundo(Suto et al., 2017).

Una de las técnicas de tratamiento microbiológico anaeróbico más recomendada para aguas residuales, fue desarrollada y patentada por el científico Teruo Higo con un buen prospecto para el tratamiento de desechos líquidos, en este caso de aguas residuales porcícolas pues su método elimina de residuos orgánicos; repele plagas de insectos, mejora la calidad del agua, utilizando los materiales de desecho eliminados (Higa, 1995).

2.2. Condiciones sugeridas para un tratamiento anaeróbica con microorganismos eficientes.

(McCarty, 1964) sugirió el control de materiales tóxicos en la digestión anaerobia: remoción de los compuestos tóxicos en el desecho; diluyéndolos por debajo del umbral de toxicidad; precipitándolos en su forma insoluble; con un material "antagonista" del compuesto tóxico. Basados en estos conocimientos, los diferentes caminos para evitar la llegada de las sustancias tóxicas en la digestión anaerobia son:

2.2.1. Adaptación de la microflora en un tratamiento anaeróbico

Las bacterias son extraordinariamente sensibles a la presencia de compuestos tóxicos en tratamiento anaerobio de agua residual. Sin embargo, si se les da un tiempo suficientemente largo, tienen la capacidad de adaptarse a ciertas concentraciones de algunas sustancias tóxicas. Estos tiempos se refieren al tiempo de retención de sólidos (TRS) pueden resultar de meses, lo que hace que se requiera una gran paciencia para que estos microorganismos se adapten a las concentraciones de las sustancias tóxicas. (Cardinali-Rezende et al., 2012; Villagómez et al., 2002) (Paris et al., 1989).

3. Materiales y Métodos

3.1. Toma de muestra

La toma de la muestra se realizó en una granja porcícola en Pereira, Risaralda. El procedimiento de la toma de muestra estuvo referenciado en estudios posteriores realizados por (Escalante Estrada & Alarcón Hernández, 2001; Garzon-Zuñiga & Buelna, 2014).

Las unidades experimentales de agua residual porcícola fueron recolectadas de uno de los pozos al aire libre de las cocheras (Imagen 1). Las muestras fueron envasadas en cuatro frascos con capacidad para 3 litros, luego fueron transportadas en nevera de icopor a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ al laboratorio de análisis microbiológico y fisicoquímico de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Libre seccional Pereira, sede Belmonte.



Imagen 1. A la izquierda cochera, a la derecha pozo donde se recolecto las muestras. Imágenes tomadas del predio porcícola.

3.2. Preparación de las mezclas de los microorganismos eficientes

Se utilizaron cepas de referencia *Candida utilis* ATCC® 9950 Thermo Scientific, *Lactobasillus casei* ATCC® 393 Thermo Scientific y *Streptomyces albus* ATCC® 19700 Thermo Scientific. Se utilizó agar nutritivo para la reactivación de cepas de referencia (Ver imagen 2).

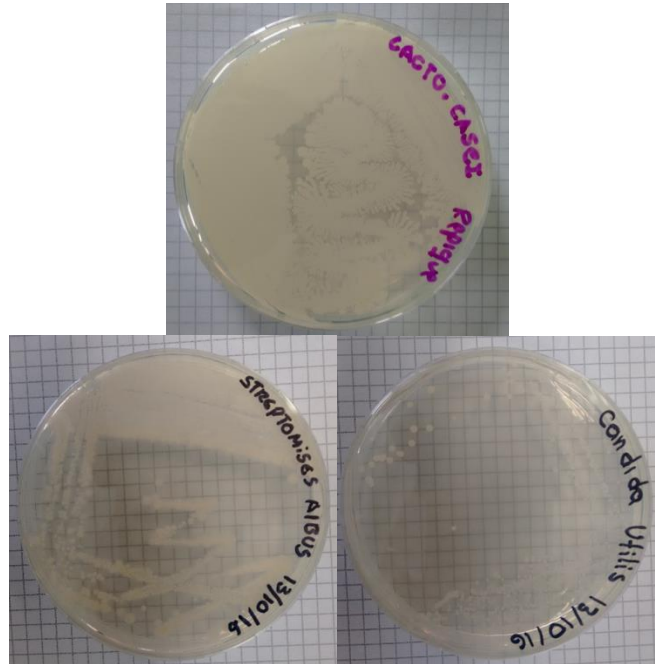


Imagen 2. Evidencia de la reactivación de las cepas de referencia. Imágenes tomadas en el laboratorio de análisis microbiológico y fisicoquímico de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Libre seccional Pereira, sede Belmonte.

La solución de los ME consistió en 3 mezclas realizadas con diferentes proporciones, así:

- Mezcla 1

- (3) Bacterias ácido lácticas *I.casei*: 1×10^8 cfu mL⁻¹
- (2) Levaduras *candida utilis*: 2×10^6 cfu mL⁻¹
- (1) Actinomyces *Streptomyces albus*: 1×10^3 cfu mL⁻¹

- Mezcla 2

- (1) Bacterias ácido lácticas *I.casei*: 1×10^3 cfu mL⁻¹
- (3) Levaduras *candida utilis*: 2×10^8 cfu mL⁻¹
- (2) Actinomyces *Streptomyces albus*: 1×10^6 cfu mL⁻¹

- Mezcla 3

- (2) Bacterias ácido lácticas *I.casei*: 1×10^6 cfu mL⁻¹
- (1) Levaduras *candida utilis*: 2×10^3 cfu mL⁻¹
- (3) Actinomyces *Streptomyces albus*: 1×10^8 cfu mL⁻¹

Se utilizó el método de la escala de MacFarland (0.5) y el espectrofotómetro para determinar la concentración de los microorganismos eficientes.

3.3. Caracterización microbiológica inicial de las aguas residuales porcícolas

Se realizaron análisis microbiológicos de Coliformes totales y *E. coli*. Se realizó el método de filtración por membrana y Número más probable (NMP) que se expresará en unidades de NMP/100 cm³. Estos análisis serán llevados a cabo según el decreto 475 de 1998, Colombia.

Además se realizó unas pruebas de DBO, DQO y ST, en conjunto con el laboratorio de la Universidad Tecnológica de Pereira, resultados a comparar con la resolución 0631 del 2015.

3.4. Monitoreo fisicoquímico y muestreo microbiológico de enterobacterias

Luego de inocular en cada envase cada mezcla correspondiente los envases fueron almacenados en un lugar oscuro y a temperatura ambiente $\pm 35^{\circ}\text{C}$.

Se llevaron a cabo muestreos a la semana 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21. Donde se registraron parámetros fisicoquímicos como color, estado de fases de sedimentación, precipitación, pH y temperatura; al igual que parámetros microbiológicos como enterobacterias, para los cuales fue necesario un muestreo utilizando 100ml de cada mezcla, los cuales se dispusieron para el método de filtración de membrana y número más probable.

Para la filtración de membrana se utilizó el medio de cultivo EMB y para Número más probable (NMP), se utilizó caldo verde brilla. Los procedimientos realizados estuvieron referenciados con los estudios realizados por (Camacho et al., 2009; Carrillo & Lozano, 2008).

4. Resultados y discusión

4.1. Caracterización inicial de las aguas residuales porcícolas

Los resultados microbiológicos de la muestra tomada directamente del pozo, sin ser sometida a las pruebas con las 3 mezclas fue el siguiente: (Tabla 1):

Tabla 1. Condiciones iniciales de la muestra de agua residual porcícola sin adicción de ME.

Tipo de prueba microbiológica:	Muestra sin adicción de ME	
	NMP (NMP/100ml)	Filtración por membrana (UFC/100ml)
Muestreo inicial	≥2400	INCONTABLE

Según la tabla 1 las condiciones microbiológicas del agua residual porcícola son las esperadas, una de explicaciones es que el agua residual porcícola no ha recibido ningún tipo de tratamiento. Además, el pozo estaba al aire libre, sin ningún tipo de intervención, se ha registrado que el uso de pozos anaeróbicos, representan un buen pre-tratamiento (McCarty, 1964).

Una evaluación microbiológica expone que las enterobacterias suelen persistir y sobrevivir en los desechos porcícolas a medida que pasa el tiempo, las enterobacterias son un grupo de bacterias relacionadas con diversidad de enfermedades (Fongaro et al., 2016).

La utilización de antibióticos en la porcicultura puede volverse un problema a largo plazo, es estimado que el 75% de los antibióticos no son absorbidos por los animales y son excretados, un estudio revela que las bacterias que logran sobrevivir durante varias semanas logran desarrollar resistencia a los antibióticos (Chee-Sanford et al., 2009).

Para conocer en qué estado se encontraba desde un punto de vista fisicoquímico, se encontró que los valores fisicoquímicos de DQO, DBO, SST y ST superan los valores máximos exigidos por la Resolución 0636 (Gráfico 1).

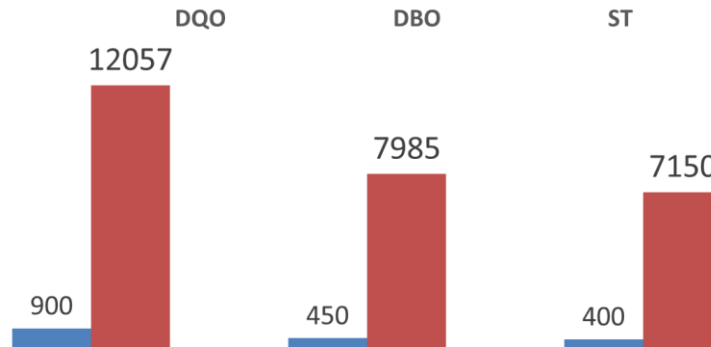


Grafico 1. Resultados de DQO, DBO, ST. Vs rangos permisibles, en color rojo los valores hallados y en azul los valores estandarizados de la Resolución 0631 del 2015.

4.2. Monitoreo fisicoquímico y muestreo microbiológico de enterobacterias

4.2.1.

4.2.2. Resultados fisicoquímicos



Durante el monitoreo se notaron cambios fisicoquímicos visibles en la semana 5 de las 3 mezclas. La mezcla #2 obtuvo menos turbidez y poca sedimentación comparada con las mezclas número 1 y 3.



Otra diferencia significativa, es que no se forma un precipitado grueso y la ausencia de burbujas blancas, como se muestra en la tabla 2.

Los cambios en las características fisicoquímicas de las mezclas 2 y 3, sugieren de manera macroscópica menor proliferación de enterobacterias, que generan por su metabolismo la turbidez y sedimentación.

Las características hacían referencia a los procesos metabólicos llevados a cabo, en el caso de la sedimentación se debió a una alta población microbiana que consumió el oxígeno. Más la liberación de antioxidantes y la fluctuación del pH, inhibió la nitrificación y se vio favorecida la reducción desasimilatoria de nitratos, es decir, la formación de nitrógeno gaseoso, el mismo que promueve una separación liquido-sólida. Al igual que una fermentación anaeróbica y procesos de putrefacción influyen en el color y olor.

Tabla 2. Comparación de etapas de monitoreo de las 3 mezclas. A. Semana 0: de izquierda a derecha se clasifican como mezclas 1, 2,3 y semana 21: Control 0 vs Mezcla 2. B. Semana 0: de izquierda a derecha se clasifican como mezclas 1, 2,3 y semana 21: control 0 vs Mezcla 2 y 3

A	Semana 0	Semana 21. Mezcla 0 vs 2
Condiciones		

B	Semana 0	Semana 21. Mezcla 2, 0 y 3.
Condiciones		

En las aguas residuales de granjas porcinas se presenta una alta variación en la concentración de contaminantes dependiendo del proceso productivo (maternidad, destete, engorda, mezcla, ciclo completo). Generalmente al ser de mayor tamaño la granja, el agua residual tiene concentraciones más altas de contaminantes, debido a que el agua se utiliza eficientemente (Escalante-Estrada & Garzón-Zuñiga, 2010; Garzon-Zuñiga & Buelna, 2014).

Según el Decreto 1594 de 1984 Artículo 72, estas condiciones fisicoquímicas visibles parecen ir en el mejor camino para el vertimiento a los efluentes, aunque en la norma de vertimiento no es necesario cumplir un rango microbiológico, es recomendado pasar por una variedad de filtros biológicos antes de verter (Hidalgo & Mejia, 2010)

De la tabla 2 es necesario tener en cuenta que la cantidad de agua residual porcícola usada en esta prueba, puede ser mínima si se compara con los residuos porcícolas producidos en un día, de los cuales podemos afirmar que los resultados fisicoquímicos visibles pueden ser variados.

EVALUACION DE pH

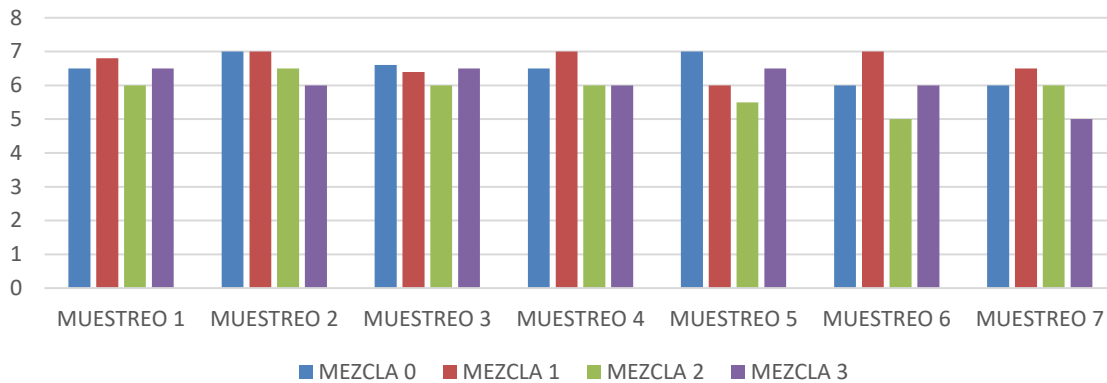


Grafico 2. Evaluación de pH en los diferentes muestreos

Se obtuvo un pH óptimo, que permitió que las mezclas de M.E realizaran sus procesos metabólicos, esto generó resultados esperados según la literatura donde el pH disminuyó de 6,3 a 4,5. Encontramos una disminución del pH para la mezcla 2, de 6 a 5 en el muestreo 6 y para la mezcla 3, de 6,5 a 5 en el muestreo 7 (Grafica 2).

EVALUACIÓN DE TEMPERATURA

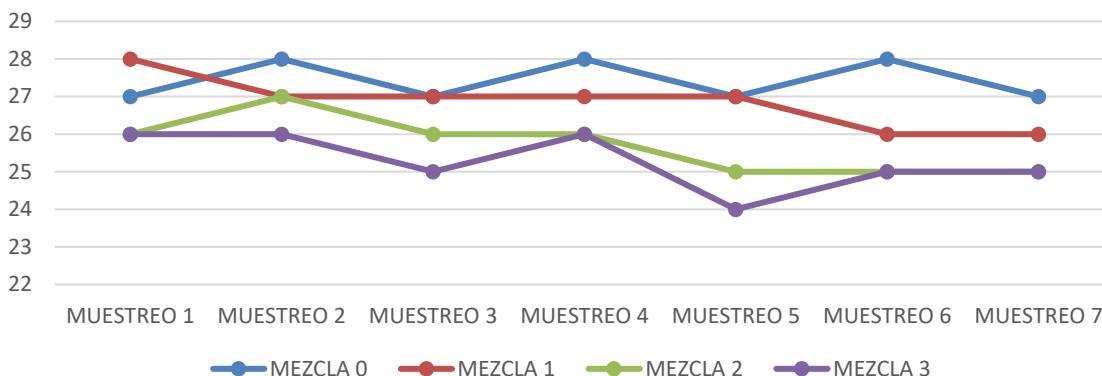


Grafico 3. Resultados de T°, durante el tratamiento de M:E durante cada muestreo en aguas residuales.

En el grafico 3, la temperatura de aguas residuales es mayor a la de las aguas no contaminadas, debido a la energía liberada durante las reacciones bioquímicas que se presentan en la degradación de la materia orgánica.

4.2.3. Resultados de muestreos microbiológicos de enterobacterias

Los resultados de la calidad microbiológica de las 3 mezclas, muestran cambios en los últimos tres muestreos, para las mezclas 2 y 3, lo cual concuerda con la literatura existente, donde los resultados se obtienen después de aproximadamente 140 días; para el presente estudio el muestreo 7 correspondió a la semana 21 de evaluación como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la calidad microbiológica de los muestreos de las 3 mezclas (NMP (NMP/100ml), Filtración por membrana (FPM) (UFC/100ml).

	Mezcla 1		Mezcla 2		Mezcla 3	
	NMP	FPM	NMP	FPM	NMP	FPM
Muestreo 1	≥2400	INC	≥2400	INC	≥2400	INC
Muestreo 2	≥2400	INC	≥2400	INC	≥2400	INC
Muestreo 3	≥2400	INC	≥2400	INC	≥2400	INC
Muestreo 4	≥2400	INC	≥2400	INC	≥2400	INC
Muestreo 5	≥2400	INC	≥2400	98	≥2400	INC
Muestreo 6	≥2400	INC	≥2400	90	≥2400	98
Muestreo 7	≥2400	INC	≥2400	90	≥2400	90

En las 3 mezclas; los resultados registrados indican que la calidad microbiológica sigue siendo baja (Fongaro et al., 2016), excepto en las últimas semanas de las mezcla 2 y 3 que tuvieron una reducción muy significativa en comparación con las otra mezcla y el control.

Según (Córdoba et al., 2016) registro que después de 140 días, cualquier tipo de inóculo aumenta la producción de metano, al igual que el porcentaje de remoción de materia orgánica, en condiciones anaeróbicas.

La digestión anaeróbica puede ir bien con parámetros termofilicos en el manejo de residuos porcícolas, pues evita la pestilencia y lo más importante es que remueve microorganismos patogénicos. Sin embargo, no se obtuvieron resultados significativos relativos al proceso, especialmente porque el residuo porcícola es el único sustrato (Atandi & Rahman, 2012; Creamer, Williams, Chen, & Cheng, 2008; Minde, Magdum, & Kalyanraman, 2013).



La aplicación de microorganismos eficientes EM que pueden ser usados como agentes bioremediadores en cualquier tipo de tratamiento, pueden demostrar un mejor desarrollo si ellos son mezclados con ingredientes que pueden actuar como nutrientes o adhesivos (Namsivayam et al., 2011).

Las bacterias de ácido láctico en este caso *L.casei* es por excelencia una productora de ácido láctico, además de ayudar en la propagación de bacterias deseables. Los actinomicetos en este caso, *S. albus* es una especie del genero streptomyces, el cual produce actinomicina. Y es comúnmente encontrada en polvo, suelo y hojas. Por último, la levadura *C.utilis* utilizada en la industria de alimento para perros e industria del papel, por su capacidad de aprovechar azúcares de subproductos industriales. Estos microorganismos, más uno fotosintético y un coadyuvante (glicerina) fueron mencionados por (Avery & Veron, 2012) como un biolimpiador con gran potencial. Gracias al metabolismo de cada uno de los ME, han sido denominados como agentes reductores de bacteria indeseadas.

A partir de las comparaciones la mezcla 2 (Bacteria ácido láctica *L.casei* : 1×10^3 cfu mL⁻¹, levadura *candida utilis* : 2×10^8 cfu mL⁻¹, *Actinomyces Streptomyces albus* : 1×10^6 cfu mL⁻¹) fue la mejor concentración para el tratamiento de aguas residuales porcícolas.

Como podemos ver en la Tabla 4, en la prueba de filtración por membrana se observó una reducción de las aglutinaciones formadas por tanta concentración de enterobacterias durante el tratamiento en los muestreos 5, 6 y 7.

Tabla 4. Resultado de pruebas microbiológicas durante las semanas de monitoreo de la 2 y 3 mezcla

	Mezcla 2	Mezcla 3
Filtración por membrana		

En estudios posteriores, se registró que la reducción de enterobacterias depende del tiempo del tratamiento, y el uso también de microorganismos fotosintéticos en el tratamiento de aguas residuales domésticas (Cardona & Garcia, 2008).

El uso combinado de los microorganismos eficientes con una técnica de inmovilización en un reactor mejora notablemente las condiciones fisicoquímicas de los residuos e indirectamente las condiciones microbiológicas, convirtiéndose en otra técnica alternativa del uso de los microorganismos (Lee & Cho, 2010). Una tecnología parecida a el ANAMMOX®, un biofilm activo convierte el amonio (NH_4^+) y nitrito (NO_2^-) en gas nitrógeno (Jianbo Guo et al., 2016; Lee & Cho, 2010; Suto et al., 2017).

(Antonopoulos, Rob, Ball, & Wilson, 2001) han estudio el potencial enzimático que posee *Streptomyces albus* en la producción de peroxidasa en el tratamiento de aguas residuales cloradas, una enzima relacionada con la degradación de compuestos orgánicos e inorgánicos, importante para tratamientos de aguas residuales, especialmente en la industria textil. Las grandes capacidades metabólicas que poseen *S.albus* son denominadas las apropiadas para cualquier tipo de tratamiento residual.

(Namsivayam et al., 2011) utilizo EM stock liquido con una mezcla de *Lactobacillus planetarium* (1.0×10^4) *Candida utilis*, (1.0×10^5 CFU/ml) *Streptomyces albus* (3.0×10^3 CFU/ml), *Aspergillus oryzae* (1.1×10^5 CFU/ml) para el tratamiento de aguas residuales domésticas, y obtuvieron a los 20 días de tratamiento que la población de bacterias heterotróficas y levaduras totales aumentó y no se registró ningún cambio significativo en la población de hongos y

actinomicetos, en cuanto a los parámetros fisicoquímicos (DQO y DBO) mostraron una distintiva reducción (Freitag & Meihoefer, 2000).

En un estudio realizado por (B. Zhao, Li, & Leu, 2014) encontraron un gran número de microorganismos capaces de degradar los compuestos lignocelulósicos en el sistema de tratamiento de residuos porcícolas, que pueden proporcionar carbono adicional a las especies de desnitrificación y mejorar la eliminación de la carga del nitrógeno.

La efectividad de la mezcla de ME se relaciona con la pureza de los inóculos, pues otro tipo de microorganismos podrían establecer competitividad por espacio y nutrientes, así como generar variaciones en el pH del medio y por tanto, posiblemente estas condiciones contribuyeron a limitar la capacidad de la mezcla para desplegar su potencial de reducción de los parámetros fisicoquímicos analizados (Herrera & Corpas, 2013).

A diferencia de este trabajo, (Wen et al., 2016) utilizó bacterias fotosintéticas *Rhodobacter blasticus* y *Rhodobacter capsulatus*, para examinar la factibilidad de remover COD y biomasa acumulada en un tratamiento anaeróbico, con un sustrato de aguas residuales porcícolas. El uso de un mixed de dos bacterias fotosintéticas juega un rol positivo en el tratamiento eficiente de aguas residuales.

En el papel del tratamiento de aguas residuales porcícolas, también pueden utilizarse biofloculantes producidos por bacterias en este caso por *Rhodococcus erythropolis*, logro reducir la demanda química de oxígeno, amonio y turbiedad al 45.2%, 41.8% and 74.6%, en un tratamiento de agua residuales porcícolas (Junyuan Guo & Ma, 2015). Lo que no hace indispensable el uso directo de los microorganismos en el tratamiento.

Las comunidades bacterianas se pueden ver afectadas durante el tratamiento del agua residual porcícola, y este trabajo el objeto de estudio fue generalmente el grupo de las enterobacterias generalmente caracterizadas por ser patógenas.

A través de la pirosecuenciación (Ibekwe, Ma, Murinda, & Reddy, 2016) logro establecer cuáles son las filos más predominantes en los residuos porcícolas, donde el filo más predominante eran las protobacterias (34.94%), seguido de las clases Betaproteobacteria con el promedio más alto (18.3%), seguido de Gammaproteobacteria (7.09%), Epsilonproteobacteria (5.05%), y Alphaproteobacteria (2.48%).

Por eso utilizando ME se buscaba reducir el alto promedio de las poblaciones patógenas relacionadas no solo con enfermedades humanas si no también vegetales.

Los resultados fueron muy significativos en cuanto a la reducción de poblaciones en las mezclas 2,3 debido quizás al tiempo del tratamiento u otros factores, no se descarta que el uso de los ME sean una buena herramienta para la biorremedación.

En el grafico 4 se quiere representar la reducción de bacterias patógenas en las aguas residuales porcícolas en las mezcla 1, 2 y 3, durante los muestreos, los resultados iniciales fueron incontables (>300 UFC) y después de la 5 semana el muestreo de la mezcla 2 registró una reducción, en las siguientes semanas se observó el mismo proceso en la mezcla 3, a pesar de que no fue un resultado significativamente alto esto se puede relacionar de acuerdo a lo publicado por (Blanco et al., 2015) que se refiere al tratamiento de aguas residuales porcícolas presentan un mejor desempeño en la medida que el sistema tenga mayor tiempo y dimensiones.

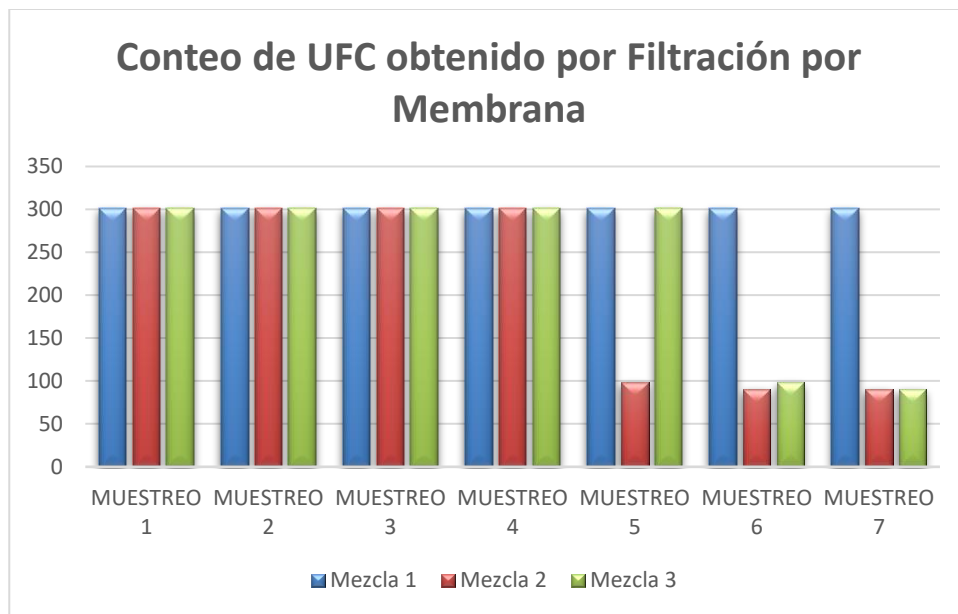


Grafico 4. Reducción de población bacteriana en los muestreos periódicos.

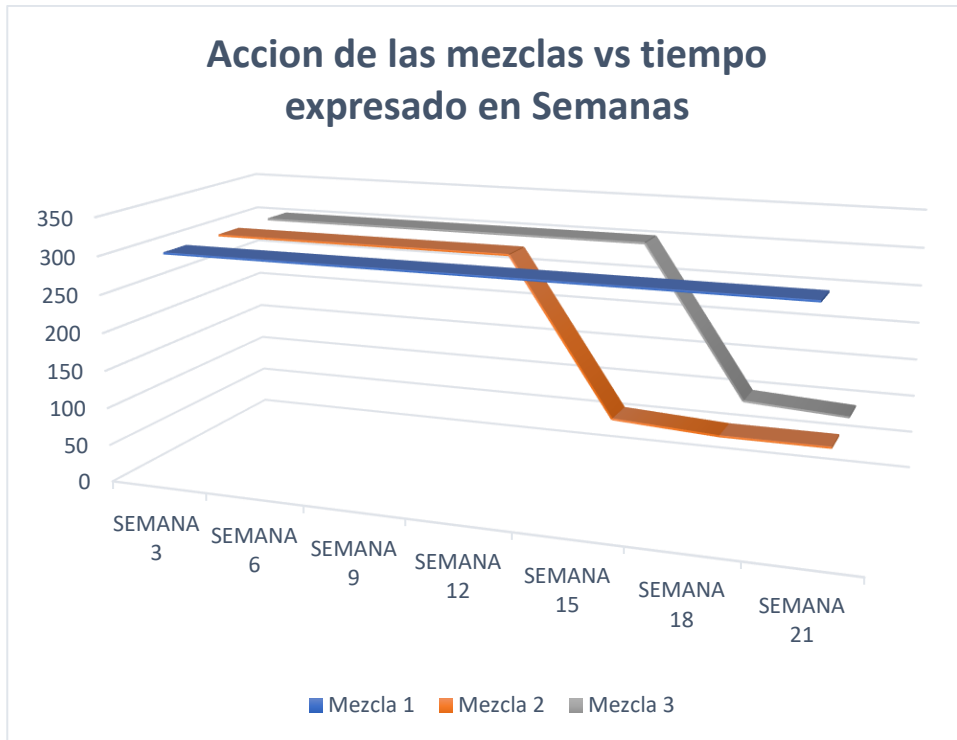


Grafico 5. Reducción de población bacteriana en las semanas de monitoreo.

El tiempo se convierte en una variable importante pues es aquella que delinea las fases metabólicas. Los metabolitos producidos en las diferentes fases de crecimiento de los ME como acidos, etanol y bactericinas, inhiben las poblaciones de patógenos de origen fecal, posiblemente estos metabolitos fluctúan las condiciones del ambiente desestabilizando el transporte a través de la membrana al bloquear receptores o generar cambios en el equilibrio iónico. Como lo podemos observar en el gráfico 5, una reducción no significativa.

5. Conclusiones

Las mezclas 2 y 3 presentaron reducción muy significativa en la concentración microbiana patógena, en comparación con la mezcla 1. Al igual que obtuvieron las características organolépticas más cercanas al tratamiento de aguas residuales.

Las variables tiempo y tratamiento, existió una dependencia, el comportamiento de los resultados se empezó a comportar mejor mientras pasaba el tiempo.

La disminución del pH, provee un medio que no favorece la proliferación de bacterias, lo que conlleva a una disminución de las UFC de enterobacterias. El pH óptimo, que permitió que las mezclas de M.E realizaran sus procesos metabólicos, estuvo entre 7, 6.5 y 4.

Se presentó una leve disminución de la temperatura en las mezclas 2 y 3, lo cual sugiere menor población microbiana, sin embargo, la disminución no es significativa.

6. Bibliografía

- Adams, M. R. (1986). *Micro-organisms in the production of food*. Elsevier.
- Antonopoulos, V. T., Rob, A., Ball, A. S., & Wilson, M. T. (2001). Dechlorination of chlorophenols using extracellular peroxidases produced by streptomyces albus ATCC 3005. *Enzyme and Microbial Technology*, 29(1), 62–69. [http://doi.org/10.1016/S0141-0229\(01\)00357-X](http://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00357-X)
- Atandi, E., & Rahman, S. (2012). Prospect of anaerobic co-digestion of dairy manure: a review. *Environmental Technology Reviews*, 1(1), 127–135. <http://doi.org/10.1080/09593330.2012.698654>
- Avery, J., & Veron, M. (2012). Cleaning fluid. Retrieved from <https://www.google.com/patents/WO2013076468A1?cl=en>
- Bérdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 58(1), 1–26. <http://doi.org/10.1038/ja.2005.1>
- Blanco, D., Suárez, J., Jiménez, J., González, F., Álvarez, L. M., Cabeza, E., & Verde, J. (2015). Eficiencia del tratamiento de residuales porcinos en digestores de laguna tapada Efficiency of the treatment of pig production residues in covered lagoon digesters, 38(4), 441–447. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v38n4/pyf08415.pdf>
- Camacho, A., Giles, M., Ortegón, A., Palao, M., Serrano, B., & Velázquez, O. (2009). Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y Escherichia coli por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP). Retrieved from http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Colif-tot-fecales-Ecoli-NMP_6529.pdf
- Cardona, J., & Garcia, L. A. (2008). *Evaluacion del efecto de los microorganismos eficaces sobre la calidad de un agua residual domestica*. Javeriana. Retrieved from <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis204.pdf>
- Carrillo, E. M., & Lozano, M. (2008). *VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE DETECCIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES EN AGUA POTABLE UTILIZANDO AGAR CHROMOCULT AUTORES*. Retrieved from <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis203.pdf>
- Córdoba, V., Fernández, M., & Santalla, E. (2016). The effect of different inoculums on anaerobic digestion of swine wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(1), 115–122. <http://doi.org/10.1016/j.jece.2015.11.003>
- Creamer, K. S., Williams, C. M., Chen, Y., & Cheng, J. J. (2008). Implications of Urine-to-Feces Ratio in the Thermophilic Anaerobic Digestion of Swine Waste. *Water Environment Research*, 80(3), 267–275.

<http://doi.org/10.2175/106143007X184717>

- Early, R., & Oria Almudí, R. M. (1998). *Tecnología de los productos lácteos*. Editorial Acribia. Retrieved from <http://biblioteca.ugca.edu.co/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=2531>
- Escalante-Estrada, V. E., & Garzón-Zuñiga, M. A. (2010). OPCIONES DE TRATAMIENTO PARA AGUAS RESIDUALES DE TRES GRANJAS PORCÍCOLAS TREATMENT OPTIONS FOR WASTEWATER OF THREE SWINE FARMS. *Ingeniería Agrícola Y Biosistemas*, 2(2), 87–90. <http://doi.org/10.5154/r.inagbi.2010.10.015>
- Escalante Estrada, V. E., & Alarcón Hernández, D. E. (2001). TRATAMIENTO DE EFLUENTES PORCÍCOLAS EN GRANJAS DE TRASPATIO. Retrieved from <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/mexico13/013.pdf>
- Fongaro, G., Kunz, A., Magri, M. E., Schissi, C. D., Viancelli, A., Philippi, L. S., & Barardi, C. R. M. (2016). Settling and survival profile of enteric pathogens in the swine effluent for water reuse purpose, 219(8), 883–889. <http://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.07.004>
- Freitag, D. G., & Meihoefer, H. (2000). The Use of Effective Microorganisms (EM) in Organic Waste Management.
- Gabler, F. M., Mansour, M. F., Smilanick, J. L., & Mackey, B. E. (2004). Survival of spores of *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata* after exposure to ethanol solutions at various temperatures. *Journal of Applied Microbiology*, 96(6), 1354–1360. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02280.x>
- Garzon-Zuñiga, A., & Buelna, G. (2014). Caracterización de aguas residuales porcinas y su tratamiento por diferentes procesos en México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 30(1), 65–79. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992014000100006
- Guo, J., & Ma, J. (2015). Bioflocculant from pre-treated sludge and its applications in sludge dewatering and swine wastewater pretreatment. *Bioresource Technology*, 196, 736–740. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.113>
- Guo, J., Wang, S., Lian, J., Ngo, H. H., Guo, W., Liu, Y., & Song, Y. (2016). *Rapid start-up of the anammox process: Effects of five different sludge extracellular polymeric substances on the activity of anammox bacteria*. *Bioresource Technology* (Vol. 220). <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.084>
- Henao, J. S., Ramírez Aguirre, E., & Rondón-Barragán, I. S. (2012). Análisis de las Buenas Prácticas de Producción en granjas porcícolas del departamento

del Tolima y factores de riesgo asociados a la presencia de Salmonella spp. *CES Medicina Veterinaria Y Zootecnia*, 7(2), 11–20. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1900-96072012000200002&lng=es&nrm=iso

- Herrera, O., & Corpas, E. (2013). Reducción de la contaminación en agua residual industrial láctea utilizando microorganismos beneficios. *Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 11(1), 57–67. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a07.pdf>
- Hidalgo, M., & Mejia, E. (2010). *DIAGNÓSTICO DE LA CONTAMINACIÓN POR AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS, CUENCA BAJA DE LA QUEBRADA LA MACANA, SAN ANTONIO DE PRADO. MUNICIPIO DE MEDELLÍN*. Retrieved from <http://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/1304/1/DiagnosticoContaminacionAguasResidualesDomesticas.pdf>
- Higa, T. (1995). Microbiological method for disposing of organic waste materials.
- Ibekwe, A. M., Ma, J., Murinda, S., & Reddy, G. B. (2016). Bacterial community dynamics in surface flow constructed wetlands for the treatment of swine waste. *Science of The Total Environment*, 544, 68–76. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.139>
- Kelly, W. J., Davey, G. P., & Ward, L. J. H. (1998). Characterization of lactococci isolated from minimally processed fresh fruit and vegetables. *International Journal of Food Microbiology*, 45, 85–92. Retrieved from http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/45972486/s0168-1605_2898_2900135-420160526-26145-tzjz7c.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1492197964&Signature=cGCihIGiak%2BNR82tkFF0GqM9eTg%3D&response-content-disposition=inline%3Bfilename%3DCharacterization_of_lactococci_isolated.pdf
- Lee, J., & Cho, M. H. (2010). Removal of nitrogen in wastewater by polyvinyl alcohol (PVA)-immobilization of effective microorganisms. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 27(1), 193–197. <http://doi.org/10.1007/s11814-009-0330-4>
- León, J., Aponte, J. J., Rojas, R., Cuadra, D., Ayala, N., Tomás, G., & Guerrero, M. (2011). Estudio de actinomicetos marinos aislados de la costa central del Perú y su actividad antibacteriana frente a Staphylococcus aureus Meticilina Resistentes y Enterococcus faecalis Vancomicina Resistentes. *Revista Peruana de Medicina Experimental Y Salud Publica*, 28(2), 237–246.
- McCarty, P. (1964). Anaerobic waste treatment fundamentals: I. Chemistry and microbiology; II. Environmental requirements and control; III. Toxic materials and their control; IV. Process Design. *Public Works*, 95, 9–12.

- Minde, G. P., Magdum, S. S., & Kalyanraman, V. (2013). Biogas as a Sustainable Alternative for Current Energy Need of India. *Journal of Sustainable Energy & Environment*, 4, 121–132.
- Namsivayam, K., Narendrakumar, G., & Kumar, A. (2011). Evaluation of Effective Microorganism (EM) for treatment of domestic sewage. *Journal of Experimental Sciences*, 2(7).
- Olson, D. G., McBride, J. E., Joe Shaw, A., & Lynd, L. R. (2012). Recent progress in consolidated bioprocessing. *Current Opinion in Biotechnology*. <http://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.11.026>
- Orozco, P., & Solarte, J. A. (2003). *BÚSQUEDA DEL MEJOR MEDIO DE CULTIVO Y MODELAMIENTO CINÉTICO PARA LA OBTENCIÓN DEL ÁCIDO LÁCTICO A PARTIR DE GLUCOSA POR VÍA FERMENTATIVA*. Nacional. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/982/1/mariaorozcojuansolarte.2003.pdf>
- Suto, R., Ishimoto, C., Chikyu, M., Aihara, Y., Matsumoto, T., Uenishi, H., ... Waki, M. (2017). Anammox biofilm in activated sludge swine wastewater treatment plants. *Chemosphere*, 167, 300–307. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.121>
- Taha, M., Foda, M., Shahsavari, E., Aburto-Medina, A., Adetutu, E., & Ball, A. (2016). Commercial feasibility of lignocellulose biodegradation: possibilities and challenges. *Current Opinion in Biotechnology*, 38, 190–197. <http://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.02.012>
- Toc, R. (2012). *Efecto de los Microorganismos Eficientes (ME) en las Aguas Residuales de la Granja Porcina de Zamorano, Honduras*. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2012.
- Villagómez, G. F., Borges, E. V., & Pereda, P. M. (2002). Inhibidores del proceso anaerobio: compuestos utilizados en porcicultura. *Ingeniería*.
- Wen, S., Liu, H., He, H., Luo, L., Li, X., Zeng, G., ... Yang, C. (2016). Treatment of anaerobically digested swine wastewater by *Rhodobacter blasticus* and *Rhodobacter capsulatus*. *Bioresource Technology*, 222, 33–38. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.102>
- Zhao, B., Li, J., & Leu, S.-Y. (2014). An innovative wood-chip-framework soil infiltrator for treating anaerobic digested swine wastewater and analysis of the microbial community. *Bioresource Technology*, 173, 384–391. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.135>
- Zhao, Y., Lu, Q., Wei, Y., Cui, H., Zhang, X., Wang, X., ... Wei, Z. (2016). Effect of actinobacteria agent inoculation methods on cellulose degradation during composting based on redundancy analysis. *Bioresource Technology*, 219, 196–203. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.117>

