

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS



**“ELABORACIÓN DE BIOFERTILIZANTE A PARTIR DE
ESTIÉRCOL DE GANADO VACUNO Y EFLUENTE DEL
PROCESO DE FERMENTACIÓN CERVECERA MEDIANTE
FERMENTACIÓN HOMOLÁCTICA”**

Presentada por:

BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERA AMBIENTAL

Lima-Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS

**“ELABORACIÓN DE BIOFERTILIZANTE A PARTIR DE
ESTIÉRCOL DE GANADO VACUNO Y EFLUENTE DEL PROCESO
DE FERMENTACIÓN CERVECERA MEDIANTE FERMENTACIÓN
HOMOLÁCTICA”**

Presentada por:

BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERA AMBIENTAL

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Dra. Rosemary Vela Cardich
PRESIDENTE

Ing. Lawrence Quipuzco Ushñahua
MIEMBRO

Blgo. Roberto Ramos Chaupín
MIEMBRO

Blgo. Juan Juscamaita Morales
ASESOR

Mg. Sc. Segundo Gamarra Carrillo
CO-ASESOR

DEDICATORIA

*A Dios, quien siempre está presente en mi vida,
dándome fuerza, sabiduría y confianza.*

*A mis queridos padres, Carmen y Roger, y mi hermana, Yasmine,
quienes me brindan su amor, apoyo, comprensión y confianza siempre.*

AGRADECIMIENTOS

- A mis padres y mi hermana, por ustedes pude empezar este proyecto y por ustedes pude culminarlo.
- A mi tía Julia, por su apoyo e impulso constante. Porque siempre estás para escucharme, aconsejarme y motivarme.
- A Harry, por ser un gran amigo y compañero. Tus ánimos y apoyo siempre estuvieron presentes en la ejecución de esta tesis. Sé que cuento contigo para todos los proyectos que emprendo.
- A mis amigas: Lorena, Caroline, Milagros, Carolina y Marianella. Por todas las palabras, abrazos, alientos y empuje que me dieron en todo momento.
- Al profesor Juscamaita, por su tiempo, dedicación, consejos y, sobre todo, motivación. Gracias a su apoyo y asesoría pude comenzar y culminar esta tesis. Siempre estaré en deuda con usted.
- A la profesora Vela, quien me apoyo desde que inicié el proceso de la tesis, sus consejos y paciencia me ayudaron en los momentos más difíciles.
- Al profesor Quipuzco y el profesor Ramos, por sus consejos, su paciencia y su tiempo.
- A los chicos del laboratorio de Biorremediación Ambiental: Yasmin, Leticia, Franz, Evelyn y Edwin, por su apoyo y aliento. Por hacerme sentir como parte del grupo desde un inicio.
- A los chicos que apoyaron en la ejecución de esta tesis: Estrellita, Maziel, Sara, Karina, Gianella, Lucero, Belén, Marycielo y Renzo.
- A mi co-asesor Segundo Gamarra y al equipo de Proyección Social por su ayuda e interés en esta investigación.
- A todos aquellos que de una u otra forma apoyaron en esta investigación

¡Para todos ellos mis más sinceros y profundos agradecimientos!

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1.	Marco normativo.....	4
2.2.	Ganadería vacuna.....	7
2.2.1.	Ganadería vacuna en el Perú	7
2.2.2.	Estiércol de ganado vacuno	7
2.2.3.	Situación ganadera y el medio ambiente	9
2.3.	Industria cervecera.....	11
2.3.1.	Generalidades	11
2.3.2.	Proceso de producción de la cerveza	12
2.3.3.	Residuos de la industria cervecera.....	17
2.3.4.	Efluente de la industria cervecera.....	18
2.3.5.	Efluente del proceso de fermentación	20
2.3.6.	Industria cervecera en el Perú.....	22
2.4.	Agricultura sostenible	24
2.5.	Nutrición de las plantas.....	25
2.6.	Fertilizantes.....	27
2.6.1.	Fertilizantes minerales o químicos	28
2.6.2.	Fertilizantes orgánicos	29
2.7.	Biofertilizante	30
2.7.1.	Biofertilizante acelerado.....	31
2.8.	Fermentación ácido láctico	32
2.8.1.	Bacterias Ácido Lácticas (BAL).....	33
2.8.2.	Aplicaciones de las Bacterias Ácido Lácticas (BAL)	39
2.9.	Consorcio microbiano Bio-lac (B-lac).....	39

2.10.	Melaza de caña de azúcar.....	40
2.11.	Bioensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga.....	42
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.1.	Hipótesis	45
3.2.	Lugar y periodo de ejecución.....	45
3.3.	Materiales.....	45
3.4.	Metodología de la investigación	47
3.4.1.	Análisis de pH y acidez titulable de los tratamientos (escala laboratorio)	48
3.4.2.	Determinación del mejor tratamiento	51
3.4.3.	Evaluación de las características iniciales de los insumos	54
3.4.4.	Análisis de pH y Acidez Titulable de la réplica del mejor tratamiento	
	(escala piloto)	55
3.4.5.	Evaluación de la calidad del biofertilizante obtenido de la escala piloto	58
3.4.6.	Evaluación fitotóxica del biofertilizante.....	63
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	66
4.1.	Análisis de pH y acidez titulable (%) en los tratamientos (escala laboratorio)	66
4.1.1.	Acondicionamiento de las Insumos -Mezcla Base (MB)	66
4.1.2.	Análisis de pH y acidez	68
4.2.	Determinación del mejor tratamiento	75
4.2.1.	Primera Selección.....	75
4.2.2.	Segunda Selección.....	77
4.2.3.	Costos	79
4.3.	Evaluación de las características iniciales de los insumos.....	81
4.3.1.	Caracterización físico-químicas	81
4.3.2.	Caracterización microbiológica.....	85
4.4.	Análisis de pH y acidez titulable del mejor tratamiento (escala piloto)	87
4.5.	Evaluación de la calidad del biofertilizante obtenido de la escala piloto	88

4.5.1.	Caracterización físico-químicas	88
4.5.2.	Contenido de metales pesados	96
4.5.3.	Caracterización microbiológica	99
4.5.4.	Evaluación de características organolépticas	102
4.5.5.	Tipo de fermentación.....	102
4.5.6.	Rendimiento.....	104
4.5.7.	Estabilidad	104
4.5.8.	Inocuidad	105
4.5.1.	Análisis costo-beneficio	106
4.6.	Evaluación fitotóxica del biofertilizante	107
V.	CONCLUSIONES	110
VI.	RECOMENDACIONES	112
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113
VIII.	ANEXOS.....	124

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Regulaciones nacionales e internacionales relacionadas a abonos	5
Tabla 2: Deyecciones de ganado vacuno por día	8
Tabla 3: Composición química (%) del estiércol de vaca lechera.....	8
Tabla 4: Producción de gases de efecto invernadero a partir del estiércol y la digestión animal bovina	10
Tabla 5: Contaminantes ambientales de la industria cervecera.....	18
Tabla 6: Características del agua residual de la industria cerveza	20
Tabla 7: Elementos esenciales para las plantas	26
Tabla 8: Principales nutrientes y sus funciones.....	27
Tabla 9: Tipos de abonos orgánicos	29
Tabla 10: Tipos de fermentación ácido lácticas	34
Tabla 11: Bacterias ácido lácticas homo y heterofermentativas y la configuración	36
Tabla 12: Análisis microbiológico del Bio-lac.....	40
Tabla 13: Composición de la melaza de caña de azúcar	41
Tabla 14: Insumos, materiales, equipos y reactivos	46
Tabla 15: Proporción de los insumos evaluados	48
Tabla 16: Parámetros de análisis organoléptico para las proporciones en evaluación	49
Tabla 17: Composición gravimétrica de los tratamientos evaluados	49
Tabla 18: Criterios para la determinación del mejor tratamiento	52
Tabla 19: Métodos de pasteurización	57
Tabla 20: Información sobre el análisis físico-químico	58
Tabla 21: Información sobre el análisis microbiológico	60
Tabla 22: Información sobre el análisis químico de grado alcohólico	61
Tabla 23: Consideraciones recomendadas para la prueba de toxicidad aguda con <i>Lactuca sativa L.</i>	63
Tabla 24: Proporciones evaluadas para la Mezcla Base (MB)	66
Tabla 25: Valores de pH de los componentes trabajados	68
Tabla 26: Valores promedio de pH de los tratamientos (biofermentos).....	70
Tabla 27: Valores promedio de acidez como ácido láctico (%) de los tratamientos (biofermentos)	71
Tabla 28: Comparación múltiple con LSD Fisher para pH y acidez en el día 5	76
Tabla 29: Valores y calificación de la primera selección	77

Tabla 30: Rendimiento de los mejores tratamientos de la primera selección	78
Tabla 31: Contenido de nutrientes de los mejores tratamientos de la primera selección	78
Tabla 32: Contenido de metales de los mejores tratamientos de la primera selección	79
Tabla 33: Costos totales de los mejores tratamientos de la primera selección	80
Tabla 34: Valores y calificación de la segunda selección	80
Tabla 35: Caracterización físico-química del estiércol de ganado vacuno y el estiércol de otros animales	82
Tabla 36: Caracterización físico-química del efluente cervecero, Mezcla Base y Mezcla Global.....	84
Tabla 37: Caracterización microbiológico del estiércol vacuno	86
Tabla 38: Caracterización microbiológico del efluente cervecero y Mezcla Base	86
Tabla 39: Caracterización parasitológica de la Mezcla base y sus componentes.....	87
Tabla 40: Valores de pH y acidez a escala laboratorio y piloto	87
Tabla 41: Comparación del Biofertilizante Líquido Cevafer con el requerimiento mínimo de bioles	89
Tabla 42: Comparación de Biofertilizante Líquido Cevafer con biofertilizantes líquidos por fermentación homoláctica	91
Tabla 43: Comparación de Biofertilizante Líquido Cevafer con biofertilizantes líquidos por digestión anaerobia (bioles).....	92
Tabla 44: Comparación entre el Biofertilizante Líquido Cevafer y bioles comerciales	93
Tabla 45: Comparación de Biofertilizante Sólido Cevafer con biofertilizantes sólidos por fermentación homoláctica	95
Tabla 46: Comparación de Biofertilizante Sólido Cevafer con un abono orgánico comercial (Mallki)	96
Tabla 47: Comparación del contenido de metales del Biofertilizante Líquido Cevafer con legislación internacional	98
Tabla 48: Comparación de la carga microbiana entre la Mezcla Base, el Biofertilizante líquido (pre-pasteurización) y el Biofertilizante Líquido Cevafer	100
Tabla 49: Comparación de la carga microbiana del Biofertilizante Líquido Cevafer con los estándares	101
Tabla 50: Análisis parasitológico del biofertilizante líquido (pre-pasteurización) y el Biofertilizante Líquido Cevafer.....	102
Tabla 51: Concentración de etanol en el Biofertilizante Líquido Cevafer y el efluente cervecero.....	103

Tabla 52: Rendimiento del Biofertilizante Líquido Cevafer	104
Tabla 53: Análisis costo-beneficio (considerando inversión)	107
Tabla 54: Análisis costo-beneficio (con inversión recuperada)	107
Tabla 55: Efecto de las diluciones en variables determinación de lechuga.....	109
Tabla 56: Comparación de Índices de Germinación con otras investigaciones	109

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama general del proceso productivo de la cerveza.....	12
Figura 2. Diagrama de los vertidos generados durante en el proceso de elaboración de la cerveza	19
Figura 3. Representación esquemática de la valorización de biomasa de levadura cervecera a través del tiempo.....	22
Figura 4: Estructuras isoméricas del ácido láctico	33
Figura 5: Modelo general del mecanismo de acción de péptidos antimicrobianos	38
Figura 6: Procedimiento experimental de la primera etapa (escala laboratorio).....	47
Figura 7: Procedimiento experimental de la segunda etapa (escala piloto)	54
Figura 8: Comportamiento de la media del pH de los tratamientos	74
Figura 9: Comportamiento de la media de la acidez expresada como porcentaje de ácido láctico de los tratamientos.....	74
Figura 10: Comportamiento de pH y acidez a escala laboratorio y piloto	88
Figura 11: Balance teórico de grado alcohólico del proceso.....	103

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Ficha Técnica del Consorcio Microbiano Bio-lac	125
Anexo 2: Registro de valores de pH de los tratamientos.....	127
Anexo 3: Registro de acidez titulable de los tratamientos (expresada como porcentaje de ácido láctico)	129
Anexo 4: Análisis estadístico	131
Anexo 5: Ficha Técnica de Mallki	135
Anexo 6: Costos de los tratamientos elegidos en la primera selección	137
Anexo 7: Costos y cantidades de la producción de Biofertilizante Líquido Cevafer	138
Anexo 8: Información adicional	139
Anexo 9: Índice de germinación.....	140
Anexo 10: Análisis físico-químicos de los tratamientos elegidos en la primera selección (T7, T8 y T9)	142
Anexo 11: Análisis físico-químico de los insumos	143
Anexo 12: Análisis físico-químico de la Mezcla Base.....	145
Anexo 13: Análisis físico-químico de la Mezcla Global.....	146
Anexo 14: Análisis físico-químico del Biofertilizante Líquido Cevafer.....	147
Anexo 15: Análisis físico-químico del Biofertilizante Sólido Cevafer	149
Anexo 16: Análisis microbiológico de los insumos	151
Anexo 17: Análisis microbiológico de la Mezcla Base.....	153
Anexo 18: Análisis microbiológico del Biofertilizante Líquido Cevafer (post-pasteurización)	154
Anexo 19: Análisis microbiológico del biofertilizante líquido (pre-pasteurización).....	155
Anexo 20: Análisis parasitológico de los insumos y la Mezcla Base	156
Anexo 21: Análisis parasitológico del Biofertilizante Líquido Cevafer (post-pasteurización) y biofertilizante líquido (pre-pasteurización)	157
Anexo 22: Registro fotográfico	158

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1: Mezcla Base y componentes de los tratamientos (Melaza y Bio-lac)	158
Fotografía 2: Tratamientos y sus repeticiones	158
Fotografía 3: Fermentación anaeróbica a 40°C por 5 días (Escala laboratorio).....	159
Fotografía 4: Muestras para envío a los laboratorios	159
Fotografía 5: Fermentación anaeróbica a 40°C por 5 días (Escala piloto).....	160
Fotografía 6: Diluciones para la prueba de toxicidad aguda con <i>Lactuca sativa</i>	160
Fotografía 6: Prueba de toxicidad aguda con <i>Lactuca sativa L</i>	161

RESUMEN

En la presente investigación se elaboró un biofertilizante líquido a partir de estiércol de ganado vacuno y efluente de la fermentación cervecera mediante la fermentación homoláctica, usando melaza (fuente de carbohidrato soluble) y el consorcio microbiano Bio-Lac. Se desarrolló en dos etapas. En la primera, se llevó a cabo la fermentación homoláctica a escala laboratorio, bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), durante 5 días. Se trabajaron 9 tratamientos y se evaluó su efecto sobre la Mezcla Base (estiércol de ganado vacuno:efluente de fermentación cervecera, 1:1, m/m) en lo que respecta a pH y acidez principalmente. Los indicadores secundarios fueron: presencia de mohos y levaduras y olor. El análisis estadístico comprendió un análisis de varianza y la prueba LSD Fisher considerando los valores promedio de pH y acidez. Con los resultados de los indicadores y el análisis estadístico se hizo un primer proceso de selección, determinándose tres tratamientos: T7, T8 y T9. En la segunda selección, se consideró: concentración de nutrientes, rendimiento y costos, dando como mejor tratamiento al T8, que arrojó una proporción de 20:2:1 correspondiente a Mezcla Base, Melaza y Bio-lac respectivamente. En la segunda etapa, se ejecutó la fermentación homoláctica del mejor tratamiento (T8) a una escala piloto durante 5 días. Antes, se realizó una caracterización físico-química y microbiológica de la Mezcla Base y sus constituyentes. Durante el proceso homofermentativo, se monitoreó el pH y la acidez. Culminada la fermentación se obtuvo un biofertilizante y un subproducto sólido. Se evaluó la calidad del biofertilizante y se comprobó que era un producto con alto contenido nutricional, estable, inocuo y con potencial comercial. Finalmente, se evaluó la fitotoxicidad del biofertilizante en semillas de lechuga y se encontró que las concentraciones de 10:100 y 100:100 fueron nocivas para las plántulas, siendo la idónea la concentración de 1:100.

Palabras clave: biofertilizante, fermentación homoláctica, estiércol de ganado vacuno y efluente del proceso de fermentación cervecera.

ABSTRACT

In this investigation, a biofertilizer was elaborated from cattle manure and effluent from beer fermentation by homolactic fermentation, using molasses (source of soluble carbohydrate) and the Bio-lac microbial consortium. It was developed in two stages. In the first, homolactic fermentation was carried out on a laboratory scale, under a Completely Randomized Design (DCA), for 5 days. Nine treatments were performed and evaluated their effect on the Base Mix (cattle manure: beer fermentation effluent, 1:1, m/m) in terms of pH and acidity mainly. Secondary indicators were: presence of molds and yeasts and odor. The statistical analysis included an analysis of variance and the Fisher LSD test considering the average values of pH and acidity. With the results of the indicators and the statistical analysis, a first selection process was made, determining three treatments: T7, T8 and T9. In the second selection, the following was considered: concentration of nutrients, yield and costs, giving as best treatment to T8, which showed a ratio of 20:2:1 corresponding to Base Mixture, Molasses and Bio-lac respectively. In the second stage, the homolactic fermentation of the best treatment (T8) was carried out on a pilot scale for 5 days. Before, a physical-chemical and microbiological characterization of the Base Mixture and its constituents was carried out. During the homofermentative process, pH and acidity were monitored. After the fermentation, a biofertilizer and a solid by-product were obtained. The quality of the biofertilizer was evaluated and it was found to be a product with high nutritional content, stable, innocuous and with commercial potential. Finally, the phytotoxicity of the bio fertilizer in lettuce seeds was evaluated and it was found that the 10:100 and 100:100 concentrations were harmful for the seedlings, with the ideal concentration being 1 percent.

Key words: biofertilizer, homolactic fermentation, cattle manure and effluent from the beer fermentation process.

I. INTRODUCCIÓN

Los desechos orgánicos se producen en grandes cantidades en todas partes del planeta y crean serios problemas de contaminación. Trátese de desechos urbanos, domésticos, animales y agroindustriales despiden fetidez, ocupan grandes superficies irregularmente manejadas y contaminan las fuentes hídricas, el suelo, el aire, entre otros problemas (García *et al.* 2009).

El estiércol de ganado vacuno causa preocupación debido a las altas cantidades que se genera y los efectos dañinos en el ambiente. Una vaca lechera puede producir hasta 30 kg de deyecciones sólidas por día (Valín 2001) y provocar impactos ambientales negativos si no existe un control en el almacenamiento, el transporte o la aplicación, debido a la emisión de gases contaminantes hacia la atmósfera, y la acumulación de micro y macro nutrientes en el suelo y en los cuerpos hídricos superficiales (Pinos *et al.* 2012). Sin embargo, recibe un especial interés si se toma en cuenta que contiene una gran proporción de nutrientes ingeridos por el animal; los cuales, pueden representar una fuente potencial de nutrientes disponibles para las plantas cuando son reciclados mediante el compostaje u otro método de transformación de la materia orgánica (Olivares *et al.* 2012).

La industria cervecera constituye un segmento importante de cualquier país, tal es así que según estudios, la cerveza representa la quinta bebida más consumida en el mundo después del té, bebidas carbonatadas, leche y café (Simate *et al.* 2011). No obstante, los residuos, emisiones y efluentes que genera representan un riesgo para el ambiente si es que no se gestionan con efectividad. Uno de los efluentes que recibe gran atención es el efluente de la fermentación cervecera, la cual no es posible tratar por medios convencionales debido a su alta cantidad de materia orgánica. Éste puede representar entre el 1,5-3 por ciento del volumen de cerveza producida y posee una carga orgánica 50 a 100 veces superior al de las aguas residuales finales de todo el proceso, esto debido principalmente al contenido de levaduras, etanol y carbohidratos remanentes de la fermentación (Ferreira *et al.* 2010; Seluy 2015).

La producción agrícola en los sistemas convencionales utiliza principalmente fertilizantes químicos para proporcionar a las plantas los nutrientes necesarios. Se ha estudiado que el uso indiscriminado de los fertilizantes químicos provoca que los suelos sufran un acelerado agotamiento de materia orgánica, y un desbalance de los nutrientes que con el pasar del tiempo pierde su fertilidad, y con ello su capacidad de producción (Romero y Pereda 2005). Es por ello, que en la actualidad es cada vez más urgente buscar otras opciones de incorporar elementos para nutrición de las plantas cultivadas; es el caso del empleo de abonos orgánicos provenientes de estiércoles de diferentes especies domésticas; así como, de residuos de materia orgánica, que al ser incorporados al suelo son descompuestos por los microorganismos presentes en el mismo (Longoria 2000).

Los biofertilizantes líquidos se producen por fermentación láctica, en sentido estricto por la ruta homoláctica, de cualquier residuo orgánico. Para lograr este proceso se requiere melaza (fuente de carbono) y el consorcio microbiano Bio-Lac, conformado principalmente por especies del género *Lactobacillus*. Son estos últimos los encargados de realizar la fermentación, generando ácidos orgánicos (ácido láctico en mayor proporción) y otras sustancias orgánicas que tienen un poder antimicrobiano de amplio espectro sobre bacterias enteropatógenas (De Vuyst y Leroy 2007). Es así que la fermentación homoláctica como alternativa de aprovechamiento y transformación de materia orgánica, cada vez va ganando mayor interés por su versatilidad y breve duración (5 días). Se tiene registros que ha sido usada con distintos residuos animales, como estiércol de ganado vacuno (Peralta 2010) y estiércol de cuy (Román 2012), y en algunos casos con otros residuos acompañantes, como por ejemplo estiércol vacuno, bagazo de cebada y suero de quesería (Buchelli 2014) y estiércol de ganado alpaquero y lactosuero (Quiñonez 2016), incluso se ha usado con residuos vegetales.

Conforme lo expuesto, en la presente investigación se transformó el estiércol de ganado vacuno y el efluente de la fermentación cervecera mediante el proceso de fermentación homoláctica y se obtuvo un biofertilizante líquido al cual se denominó Cevafer. De esta manera, se aprovechó los beneficios de estos subproductos y se elaboró un biofertilizante con calidad nutricional, estable e inocuo, el cual se puede emplear en la agricultura, sector que cada vez demanda más productos amigables con el ambiente y que en nuestro país ha crecido en las últimas décadas, siendo así que para el 2016, representó aproximadamente el

25 por ciento de la Población Económicamente Activa (PEA), según el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI).

Los objetivos de la presente investigación se muestran a continuación:

Objetivo General

- Elaborar un biofertilizante a partir de estiércol de ganado vacuno y efluente del proceso de fermentación cervecera, mediante un proceso fermentativo homoláctico, empleando el consorcio microbiano Bio-lac y la melaza como fuente de nutrientes.

Objetivos Específicos

- Analizar las variaciones temporales de pH y acidez titulable durante el tratamiento de la mezcla de estiércol de ganado vacuno y efluente del proceso de fermentación cervecera con las combinaciones de melaza y Bio-lac a escala de laboratorio.
- Determinar el mejor tratamiento, combinación de melaza y Bio-lac, que genera un producto de mayor estabilidad (pH bajo).
- Evaluar las características físico-químicas y microbiológicas del estiércol de ganado vacuno, efluente del proceso de fermentación cervecera y la mezcla de ambos.
- Analizar las variaciones temporales de pH y acidez titulable durante el proceso de réplica del mejor tratamiento a escala piloto.
- Evaluar la calidad del biofertilizante obtenido de la escala piloto.
- Evaluar la fitotoxicidad del biofertilizante mediante el bioensayo de toxicidad aguda de *Lactuca sativa L.*

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Marco normativo

En la actualidad, no existe regulación nacional respecto a productos fertilizantes que incluya requisitos, procedimientos, límites, parámetros, etc. Es por ello que se consideró las normas afines o relacionadas al tema.

A nivel internacional, se consideraron las normas que regulen la mayor cantidad de material fertilizante, ya que la mayoría reglamenta el compost. Este abono ha sido el que más regulación posee a nivel mundial, sobre todo en los países industrializados. En la Tabla 1, se muestra las normativas consideradas en la presente investigación, según su alcance nacional e internacional.

Tabla 1: Regulaciones nacionales e internacionales relacionadas a abonos

Nombre	Número	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.
Reglamento de la Ley de gestión integral de residuos sólidos	Decreto Supremo N° 014-2017-MINAM	Reglamentar el Decreto Legislativo N° 1278, Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos, a fin de asegurar la maximización constante de la eficiencia en el uso de materiales, y regular la gestión y manejo de residuos sólidos, que comprende la minimización de la generación de residuos sólidos en la fuente, la valorización material y energética de los residuos sólidos, la adecuada disposición final de los mismos y la sostenibilidad de los servicios de limpieza pública.
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.
Ley de promoción de la producción orgánica o ecológica	Ley N° 29196	Promover el desarrollo sostenible y competitivo de la producción orgánica o ecológica en el Perú

«continuación»

Reglamento Técnico para los productos orgánicos	Decreto Supremo N° 044-2006-AG	Definir y normar la producción, transformación, etiquetado, certificación y comercialización de los productos denominados ORGÁNICO, ECOLÓGICO, BIOLÓGICO, así como todas sus inflexiones y derivaciones, las que de aquí en adelante se denominarán de forma genérica PRODUCTOS ORGÁNICOS . Las disposiciones del presente Reglamento Técnico, para efectos de la comercialización de los productos como orgánicos, deben ser cumplidas de manera obligatoria por todos los agentes de la producción, transformación, etiquetado, certificación y comercialización de dichos productos.
Normativas internacionales		
Real decreto sobre productos fertilizantes	Real Decreto 506/2013	Establecer la normativa básica en materia de productos fertilizantes y las normas necesarias de coordinación con las comunidades autónomas.
Productos para la industria agrícola. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas de suelo	Norma técnica Colombiana 5167	Establecer los requisitos que deben cumplir y los ensayos a los cuales deben ser sometidos los productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y como enmiendas de suelo.

FUENTE: Elaboración Propia

2.2. Ganadería vacuna

2.2.1. Ganadería vacuna en el Perú

Según cifras del INEI, en el 2016 la ganadería junto a la agricultura, la caza y la silvicultura representaron alrededor de 5 por ciento del Producto Bruto Interno (PBI). Por ello, es uno de los sectores que sufre mayor abandono y falta de promoción, a pesar de ser una de las principales fuente de ingreso de la población rural altoandina, y campesina, generador de trabajo y contribuir con la seguridad alimentaria del país. Además, permite generar productos con valor agregado significativo como la leche, lana, carne y cueros (INIA, citado por Buchelli 2014).

La ganadería vacuna representa un tercio del total de la producción pecuaria. En la sierra del país, la crianza es mayormente extensiva mientras que en la costa es intensiva y estabulada (con ganado Holstein y Brown Swiss). La población vacuna al 2008 tuvo un incremento de 32 por ciento con respecto al estancamiento producido en 1990 con tendencia ascendente (CEPES 2009).

Se estima que alrededor de 824 mil productores agropecuarios tienen al menos un bovino, de los cuales 87 por ciento se concentra en la Sierra. El ingreso promedio que perciben los productores bovinos es de S/ 1 988 al año. La ganadería bovina se caracteriza por el manejo de hatos pequeños y de manera individual con elevados costos de producción debido a la fragmentación de la propiedad (MINAGRI 2017).

2.2.2. Estiércol de ganado vacuno

El estiércol no es sólo materia fecal, es un subproducto de la producción ganadera que incluye excremento animal, material de cama, agua de lavado, alimento salpicado, limpiadores y pelos. La cantidad y composición depende de la edad, clase y características de los animales, cantidad y digestibilidad del forraje, alimentos concentrados consumidos por el ganado, cantidad y tipo de cama, duración, forma de almacenamiento y método de manejo del estiércol, condiciones ambientales, pérdidas gaseosas y la velocidad de disposición (Arellano *et al.* 2016; García *et al.* 2009; Iglesias 1995).

La producción media diaria de las deyecciones sólidas y líquidas equivalen a 7 por ciento del peso vivo del animal, pero este valor está sujeto a alteraciones por numerosos factores como edad, clase o característica del animal por mencionar algunos (Rodríguez 2002). Las deyecciones sólidas y líquidas producidas por el ganado vacuno se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2: Deyecciones de ganado vacuno por día

Tipo de ganado Animal vacuno	Deyección por día		
	Sólidos (kg)	Líquidas (kg)	Volumen total (m ³)
Animales < 250 kg	10-12	5	14
Animales de 500 kg	15-17	7	30
Vacas lecheras	20-30	10-20	40-60

FUENTE: Valín (2001)

La Tabla 3 muestra la composición del estiércol, compuesta en mayor proporción por materia orgánica, cantidades importantes de minerales y micronutrientes que le confieren buenas cualidades como mejorador de las propiedades químicas y físicas de los suelos, y portador de cantidades de nutrimentos importantes para las plantas (García *et al.* 2009). El estiércol, en general, tiene dos utilidades al aplicarlo sobre el terreno: aporta materia orgánica y es una fuente de elementos nutritivos para las plantas (N, P y K) (Iglesias 1995). Debido a la presencia de patógenos, la incorporación directa contempla una serie de medidas y restricciones dadas en las regulaciones correspondientes según el país.

Tabla 3: Composición química (%) del estiércol de vaca lechera

Materia Orgánica	Nitrógeno (N)	Fosforo (P)	Potasio (K)	Calcio (Ca)	Magnesio (Mg)	Humedad
36,1	1,51	1,20	1,51	3,21	0,53	25,5

FUENTE: García *et al.* (2009)

Para aprovechar el potencial del estiércol vacuno, el ganadero o agricultor debe gestionar de forma adecuada el estiércol y otros desechos orgánicos, de manera que tenga una producción agropecuaria rentable con pérdidas mínimas de nutrientes y esto puede ser a través de los procesos de transformación de la materia orgánica que permita usarlo como

fertilizante. Esta acción les puede ahorrar gastos por la compra de fertilizantes químicos comerciales. Además, ayudaría a reducir la emisión de gases y la pérdida de nutrientes contenidos en la materia orgánica, y de paso evitar los malos olores y los efectos indeseables que este material tiene sobre el medio ambiente (Arellano *et al.* 2016).

2.2.3. Situación ganadera y el medio ambiente

El estiércol vacuno no tratado constituye un importante reservorio de contaminantes, al situarse entre las principales fuentes de contaminación de mantos freáticos y del suelo (Olivares *et al.* 2012). Los principales efectos negativos sobre el ambiente son: en el suelo, ocasiona un aporte excesivo de minerales, dentro de ellos metales pesados, acidifican del terreno y facilita la transmisión de enfermedades; sobre las aguas superficiales y subterráneas, origina eutrofización a causa del aporte de nitrógeno y fósforo, aumento de toxicidad por el aporte de iones amonio y nitratos, aumenta la Demanda Biológica o Bioquímica de Oxígeno (DBO) y facilita la transmisión de enfermedades, y sobre la atmósfera, emite olores y gases de efecto invernadero, principalmente el metano y el óxido nitroso (García *et al.* 2009).

Uno de los problemas más significativo de la producción de ganado son las emisiones de metano (CH₄) resultante de la fermentación entérica y emisiones de CH₄ de los sistemas de gestión del estiércol de ganado. Los vacunos constituyen una fuente importante de este gas de efecto invernadero debido a su gran población y a la alta tasa de emisión provocada por su sistema digestivo rumiante. Tal como se observa en la Tabla 4, las emisiones de metano producidas por la gestión del estiércol tienden a ser menores que las entéricas; las emisiones más significativas se asocian con operaciones de gestión, en las que el estiércol se maneja por medio de sistemas basados en líquidos y su acumulación en estanques o lagunas (Campos 2011).

Tabla 4: Producción de gases de efecto invernadero a partir del estiércol y la digestión animal bovina

Gases de efecto invernadero	Fuentes contaminantes	Millones de toneladas de CO₂ equivalentes
CH ₄ (metano)	Digestión animal (bovinos)	1 792
CH ₄ (metano) N ₂ O (óxido nitroso)	Estiércol	413

FUENTE: García *et al.* 2009

El uso de estiércol animal no tratado (sin proceso de formación de abono) en la producción de productos vegetales comestibles da lugar a un mayor riesgo de contaminación que el uso de estiércol tratado y, por lo tanto, no se recomienda. Si se utiliza, debe ser añadido a la tierra durante la preparación del suelo y antes de la siembra. Los microorganismos en el suelo pueden reducir el número de organismos patógenos en el estiércol, no obstante, el tiempo transcurrido es un factor importante. El estiércol se incorpora al suelo y la tierra es removida de manera periódica para facilitar la reducción de patógenos. La cantidad de tiempo que las bacterias patógenas pueden sobrevivir en el estiércol se desconoce, pero se estima que depende de las condiciones ambientales. La supervivencia puede llegar a un año o más (García *et al.* 2009).

En algunas normas como la Española, señala que el estiércol, pueden aplicarse directamente a las tierras, sin procesamiento previo, salvo que las autoridades competentes establecieran temporalmente lo contrario, por riesgo de propagación de enfermedades para los seres humanos o los animales, en las correspondientes zonas de exclusión (Pueyo *et al.* 2011). No obstante, la mayoría de las normas impide o restringe, según ciertas condiciones, la incorporación directa del estiércol. La Ley 2092/91 de la regulación europea prohíbe el uso de excretas de animales estabuladas. Por otra parte, El Programa Nacional Orgánico del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (NOP, sigla en inglés) establece una serie de requisitos que deben cumplir los productos orgánicos. En lo que respecta a estiércol fresco de animal, sostiene que deberá convertirse en abono a menos que:

- Se aplique en el terreno que se utilizó para un cultivo que no sea destinado al consumo humano.

- Se incorpore dentro del suelo por lo menos 120 días antes de cosechar un producto cuya parte comestible tenga contacto directo con la superficie del terreno o partículas del suelo.
- Se incorpore dentro del suelo por lo menos 90 días antes de cosechar un producto cuya parte comestible no tenga contacto directo con la superficie del terreno o partículas del suelo.

Las Buenas Prácticas de Manejo y uso del estiércol son recomendadas para disminuir los riesgos de contaminación y aprovechar de manera más eficiente los nutrientes que contiene, de manera que repercuta en menores costos de fertilización y disminución de riesgos de contaminación (Figuerola *et al.* 2009).

2.3. Industria cervecera

2.3.1. Generalidades

En el Perú, la NTP 213.014:2016 CERVEZA. Requisitos, define a la cerveza como sigue: “bebida resultante de un proceso fermentativo controlado, mediante levadura cervecera, de un mosto o cebada malteada o extracto de malta, sometido previamente a un proceso de cocción, adicionando lúpulo”. El mosto puede proceder de la malta de cebada únicamente o mezclado con otros productos amiláceos transformables en azúcares por digestión enzimática (Ministerio de Medio Ambiente de España 2005). Entre las materias primas adicionales empleadas en el proceso se consideran diversas clases de maltas (malta de trigo), cereales sin maltear denominados granos crudos (cebada, trigo, maíz o arroz), harina de almidón y productos de la degradación del almidón y el azúcar (Ben 2015).

Existen múltiples criterios para clasificar la cerveza, la más usada es aquella que considera el tipo de fermentación y las agrupa en:

- Cervezas de fermentación baja o tipo lager: Se utiliza *Saccharomyces carlsbergensis* conocida también como *Saccharomyces uvarum* o *pastorianus* las cuales se depositan en el fondo de los depósitos tras la fermentación. La temperatura del proceso fermentativo está comprendida entre 8 °C y 14 °C (Ministerio de Medio Ambiente de España 2005).

- Cervezas de fermentación alta o tipo ale: Las levaduras usadas son del genero *Saccharomyces cerevisiae* y tienden a ascender a la superficie durante la fermentación. La temperatura de este proceso oscila entre 15 °C y 25 °C (Ministerio de Medio Ambiente de España 2005). La fermentación del tipo Ale ocurre de manera más rápida, produce un elevado porcentaje de alcohol y son muy aromáticas (De Clerck, citado por Rodríguez 2003).

2.3.2. Proceso de producción de la cerveza

Según el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) y Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI) (1999), el flujo de elaboración de la cerveza en una fábrica se muestran en la Figura 1.

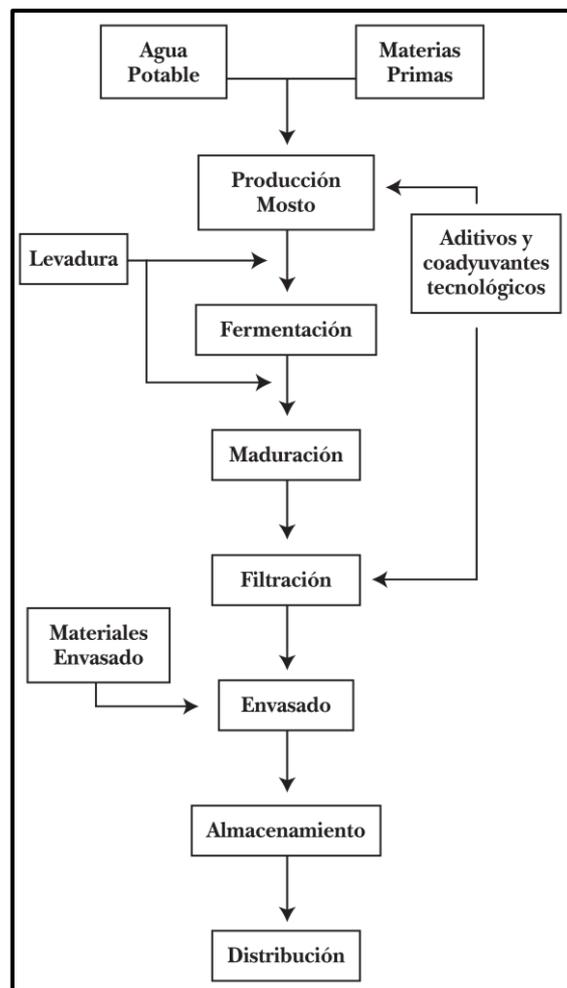


Figura 1: Diagrama general del proceso productivo de la cerveza

FUENTE: IICA y AECI (1999); p. 24

A continuación se describe el proceso de elaboración de la cerveza:

A. Producción de la Malta (Malteado)

Es la prime proceso en la elaboración de la cerveza por el cual se obtiene la materia prima principal, la malta. El proceso consiste en la germinación controlada de un cereal, seguida por la interrupción de este proceso natural, secando el grano mediante el calor (Toribio 2015).

Producción del Mosto

B. Molienda

Si bien el primer proceso para la producción de la cerveza es el malteado, considerando la elaboración de un lote, la molienda vendría a ser el primer paso. En este proceso se tritura los granos de la malta, reduciéndolo a partículas más pequeñas tratando de mantener la cáscara intacta. El producto resultante es denominado sémola, harina gruesa o harina fina dependiendo de su paso por distintas cribas (Ministerio de Medio Ambiente de España 2005; Toribio 2015).

C. Maceración

En esta etapa se macera la harina o sémola de malta con agua a temperaturas seleccionadas para liberar un extracto fermentescible mediante acción enzimática. La temperatura, pH y periodos de estabilización son factores importantes para el accionar de las enzimas. Bajo condiciones óptimas, las enzimas se encargaran de la acidificación del mosto, la conversión de almidón en azúcares fermentables y las proteínas en péptidos y aminoácidos, los cuales serán usado por las levaduras (AINIA 1996; Ministerio de Medio Ambiente de España 2005).

D. Filtración del Mosto

Es la separación física del mosto cervecero (compuestos solubles como carbohidratos y compuestos proteicos de distinta complejidad) y el orujo o bagazo (compuesto insoluble

que es un resto sólido de la maceración). Culminada la separación, el bagazo se almacena en silos pudiendo ser reutilizado, en alimento para ganado por ejemplo (AINIA 1996; Ministerio de Medio Ambiente de España 2005).

E. Cocción

El mosto se conduce a la caldera de cocción, donde añade el lúpulo y se calienta hasta la ebullición durante 1-2 horas. En esta etapa, se busca la remoción de compuestos volátiles indeseados, la isomerización de los ácidos del lúpulo, la desnaturalización y floculación de las proteínas, la inactivación enzimática, la esterilización y concentración del mosto, además que en este proceso se definen el color y algunos sabores y aromas específicos (Ministerio de Medio Ambiente de España 2005; Toribio 2015).

F. Clarificación de Mosto

Durante la cocción, complejos proteínas-polifenoles, materiales ricos en lípidos, componentes insolubles del lúpulo precipitan por efecto del calor, formándose el turbio caliente o *trub* que es necesario eliminar de la cerveza. La separación se realiza en grandes depósitos llamados *Whirpol*, a través de un tipo especial de centrifugación (AINIA 1996; Toribio 2015).

G. Enfriamiento del Mosto

Después de la clarificación, en el menor tiempo posible se enfría el mosto hasta la temperatura de fermentación, la cual dependerá del tipo de levadura y proceso fermentativo elegido. El mosto clarificado, que está a 98 °C aproximadamente, se enfría entre 8-12 °C en un intercambiador de placas que utiliza agua y/o agua glicolada como refrigerante (Ministerio de Medio Ambiente de España 2005).

Al mosto clarificado y enfriado se le inyecta aire estéril hasta una concentración entre 8-12 ppm de O₂. Este proceso es previo a la fermentación y favorece el crecimiento de la levadura (AINIA 1996; Ministerio de Medio Ambiente de España 2005).

Fermentación y maduración

H. Fermentación

En la elaboración industrial de la cerveza se diferencian dos tipos de fermentación: fermentación alta, en la elaboración de cerveza tipo “Ale” y fermentación baja, en la elaboración de cerveza tipo “Lager”. Cada fermentación opera bajo condiciones de cepas, tiempo y temperaturas diferentes, sin embargo ambas siguen dos procesos: fermentación y maduración (Toribio 2015). El tiempo de fermentación dura aproximadamente 7-9 días. La fermentación de la cerveza tipo lager es la que se describe en la mayoría de textos y es como sigue:

Fermentación primaria, se inicia cuando las levaduras son introducidas en el mosto aireado, a esta cerveza se denomina “Cerveza verde”. En esta etapa las levaduras crecen hasta agotar el oxígeno, desde dos hasta seis veces, y oxidan compuestos ácidos presentes en el mosto, dando como resultado una baja significativa del pH y acidificación del mosto (Toribio 2015).

Fermentación secundaria, agotado el oxígeno inicia un proceso caracterizado por la reducción de la densidad del mosto y la producción del dióxido de carbono y etanol. En esta fase, la levadura está en suspensión lo que le permite mayor contacto con el mosto, favoreciendo la producción de alcohol. El agotamiento de los azúcares y nutrientes debido a la fermentación origina que las levaduras comiencen a flocular y sedimentar en el fondo del fermentador. En esta etapa, se produce la maduración del aroma y sabor de la cerveza (Toribio 2015).

El exceso de levadura que se depositó en el fondo del tanque durante la fermentación, se separa, una parte se destina a la siembra de la siguiente carga de mosto y el resto se gestiona como un subproducto. La levadura puede reutilizarse varias generaciones, pero debe ser finalmente repuesta debido a la pérdida de sus características (Ministerio de Medio Ambiente de España 2005).

I. Maduración o guarda

La etapa de maduración se lleva a cabo cuando se ha alcanzado el extracto final deseable, los tanques se enfrían a temperaturas de refrigeración de -1 °C a 5 °C por un periodo que oscila entre 3 ó 4 y 30 días como máximo. Las levaduras y otros compuestos causantes de la turbidez van sedimentando lentamente, con lo que la cerveza va clarificando. (Ministerio de Medio Ambiente de España 2005; Toribio 2015). Los restos de levadura de los fondos de los tanques de fermentación y maduración contienen entre 10-14 por ciento de sólidos totales y una cantidad importante de cerveza que puede suponer entre 1,5-2,5 por ciento del total de producción (Ministerio de Medio Ambiente de España 2005).

J. Filtración

En esta etapa se busca obtener el nivel especificado de claridad y retrasar el enturbiamiento natural de la cerveza desde su elaboración hasta su consumo. Para ello, la cerveza madura se puede centrifugar antes del filtrado para eliminar la levadura restante y los precipitados lo cual dependerá del tipo de lúpulo y levadura empleada. Usualmente la clarificación se realiza con filtros de tierras diatomeas, con las que se hace una precapa a través del cual pasa la cerveza. Luego sucede el abrillantado mediante placas filtrantes que están constituidas por fibras de celulosa (AINIA 1996; Ministerio de Medio Ambiente de España 2005).

K. Carbonatación

Si la cerveza no tuviera suficiente gas carbónico se le inyecta en este momento hasta que logre el contenido necesario para que produzca buena formación de espuma (AINIA, 1996; Toribio 2015).

Estabilización Microbiológica y envasado

L. Estabilización microbiológica

Esta etapa busca eliminar todos los microorganismos que pudieran producir alteraciones en las cualidades organolépticas de la cerveza y/o suponer una modificación de la calidad.

Esto con el fin de asegurar que la cerveza mantenga un periodo largo sus propiedades. Dicha estabilización se realiza generalmente por pasteurización, aunque existen otras tecnologías como las de membranas que no requieren calor. Este proceso puede ser antes o después del envasado (AINIA 1996; Ministerio de Medio Ambiente de España 2005).

M. Envasado

La línea de envasado varía según el tipo de envase que puede ser botellas, retornables o no, en latas o barriles (AINIA 1996). El envasado se realiza bajo las mejores condiciones asépticas posibles, con la menor agitación para eliminar la pérdida de gas carbónico, sin aumento de temperatura y sin inyección de aire (Toribio 2015). Según la línea de la producción, puede continuar la pasteurización o si se hizo antes se pasa a la siguiente etapa.

El proceso continúa con el etiquetado, encajonado y paletizado. Los productos terminados son almacenados en bodegas (Schleenstein 2002).

2.3.3. Residuos de la industria cervecera

La contaminación ambiental que producen las industrias cerveceras esta originada principalmente por residuos sólidos, aguas residuales o efluentes y emisiones atmosféricas (Tabla 5). Los residuos sólidos de la industria cervecera provienen de diferentes fuentes como la del proceso de envasado (vidrio, plástico, cartón, metales), mantenimiento de las instalaciones de la planta (aceites, grasas, productos de limpieza, etc.) y aquellos provenientes de la etapa de filtrado y maduración como el bagazo de cebada, levadura y fangos de depuración, estos residuos son de carácter orgánico y además su proporción es mucho mayor que otros residuos en esta industria. Estos residuos orgánicos pueden ser considerados como subproductos y utilizarse como insumos en otras industrias como la ganadera, farmacia o agricultura (AINIA 1996). Los contaminantes ambientales de esta industria se especifican en la Tabla 5.

Tabla 5: Contaminantes ambientales de la industria cervecera

Residuos sólidos	Residuos orgánicos	Bagazo de cebada Levadura de cerveza Fango de depuración
	Residuos inertes	Desechos de vidrio Hojalata Aluminio Cartón Plástico
	Residuos peligrosos	Solventes Pinturas Restos de productos químicos
Emisiones atmosféricas	Polvos Olores Emisiones por consumo de combustible	
Efluentes	Estos efluentes contienen alta concentración de materia orgánica disuelta (DBO ₅), presencia de metales pesados (cadmio y níquel), sólidos en suspensión, altas temperaturas.	

FUENTE: GEA, citado por Buchelli (2014)

2.3.4. Efluente de la industria cervecera

La producción de la cerveza se caracteriza por consumir un elevado volumen de agua de buena calidad. Más del 90 por ciento de la cerveza es agua y las cervecerías eficientes utilizan entre 4-7 litros de agua para producir 1 litro de cerveza (IFC 2007). El vertido de aguas residuales puede representar el 65-80 por ciento del total de agua consumida (Núñez 2009).

Dada la complejidad existente en las diversas etapas de producción de la cerveza (manejo de materias primas, preparación del mosto, fermentación, filtración, limpieza *in situ*, envasado, etc.) y la naturaleza de las materias primas utilizadas, la composición química y microbiológica del efluente de una cervecería es muy variada (Stewart, citado por Castro 2003; Driessen y Vereijken 2003).

En la industria cervecera, se produce un elevado volumen de aguas residuales, cuya estimación es de 3-10 litros de efluente por litro de cerveza producida (Simate *et al.* 2011). Proveniente principalmente del lavado de equipos, tales como estanques de cocimiento, filtros de prensa, intercambiadores de calor, estanques de fermentación y maduración, lavado de circuitos de filtración, lavado de botellas, barriles, pisos y tuberías en general; a estas corrientes se suman las pérdidas de producto, durante rompimientos de botellas y derrames de producto, los que a la vez aportan importantes cantidades de materia orgánica (Castro 2003; Schleenstein 2002). En la Figura 2 se muestra un diagrama que resume los principales vertidos producidos en el proceso de elaboración de cervezas.

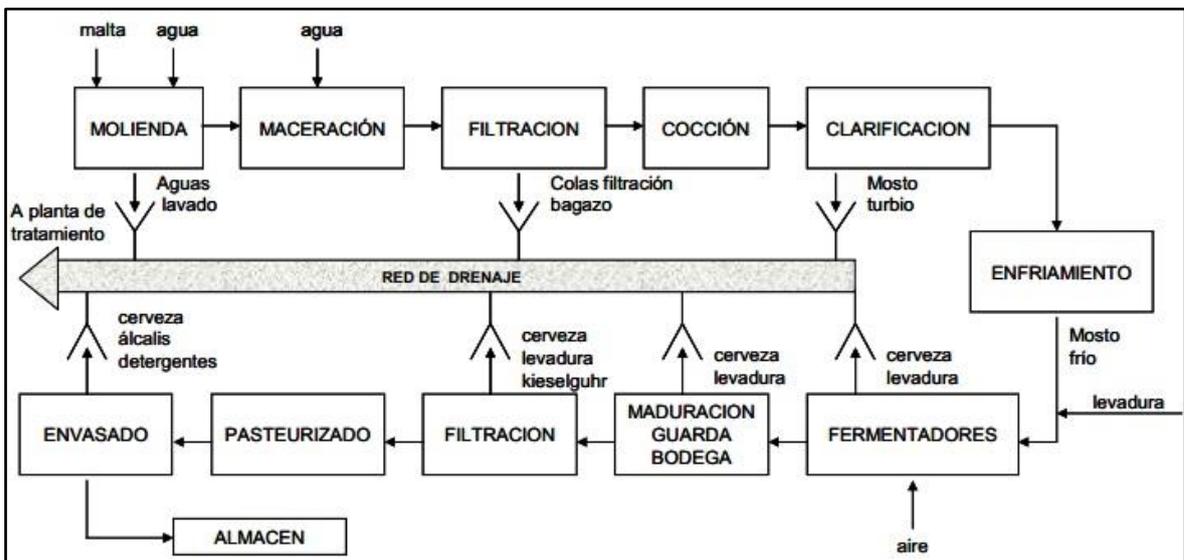


Figura 2. Diagrama de los vertidos generados durante en el proceso de elaboración de la cerveza

FUENTE: Martínez 2010

Estas aguas residuales presentan carga orgánica elevada, sólidos en suspensión, vertidos puntuales de limpieza y vaciado de la máquina lavadora de botellas (Núñez 2009). Los componentes orgánicos en el efluente de la cervecería (expresado como DQO) generalmente son fácilmente biodegradables ya que estos consisten principalmente en azúcares, almidón soluble, etanol, ácidos grasos volátiles, etc. Esto se ilustra por la relación DBO / DQO relativamente alta de 0,6-0,7. Los sólidos en suspensión o sedimentables de la cervecería (expresado como STS) consisten principalmente en granos gastados, cáscaras, residuo de malta (orujo), lúpulo, restos de tierra de filtrante, levadura de desecho y turbios

calientes (*hot trub*) (Driessen y Vereijken 2003). La Tabla 6 resume las características físico-químicas del efluente de la industria cervecera.

Tabla 6: Características del agua residual de la industria cerveza

Parámetro	Rango de valores
pH	3-12
Temperatura (°C)	18-40
DQO (mg/L)	2000-6 000
DBO ₅ (mg/L)	1200-3 600
Relación DQO/DBO ₅	1,667
Ácidos grasos volátiles (mg/L)	1 000-2 500
Fosfatos como PO ₄ (mg/L)	10-50
NTK (mg/L)	25-80
ST (mg/L)	5 100-8 750
STS (mg/L)	2 901-3 000
SDT (mg/L)	2 020-5 940

FUENTE Simate *et al.* (2011)

El efluente de cervecería posee color y turbiedad bastante elevada y un pH variado, desde 3,5 a 4,6, pudiendo llegar a valores de 10 u 11 durante el lavado. Los niveles de pH están determinados principalmente por la cantidad y el tipo de productos químicos utilizados en las unidades de limpieza *in situ* (por ejemplo, soda cáustica, ácido fosfórico, ácido nítrico, etc.), generando usualmente un pH alcalino (Castro 2003; Driessen y Vereijken 2003; Núñez 2009).

2.3.5. Efluente del proceso de fermentación

Este efluente también es conocido como levadura líquida (Seluy 2015), excedente de levadura (Kerby y Vriesekoop 2017; Seluy 2015), levadura gastada (Kerby y Vriesekoop 2017) o levadura de recuperación de cerveza (Otero *et al.* 2000). Se trata de una suspensión de levaduras en cerveza inmadura o cerveza joven cuya concentración oscila entre 6-10 por ciento p/v (Briggs, *et al.*, citado por Seluy, 2015).

Durante la etapa de fermentación y maduración de la cerveza, se generan ciertos efluentes correspondientes a las purgas de los tanques donde se llevan a cabo estas etapas. Esta purga se realiza con el fin de separar las levaduras conforme vaya avanzando la fermentación, y separar una mezcla de levadura y otros compuestos precipitados (complejos proteína-polifenoles, agentes precipitantes, etc.) generados durante la etapa de maduración. Parte de las purgas de fermentación son reutilizadas para inocular posteriores fermentaciones, pero su uso está restringido a un número limitado de veces, dada la necesidad de conservar la estabilidad de la cepa y la calidad del producto obtenido. Una vez que son reutilizadas (entre 4-6 veces, estipulado en el protocolo de cada producto) se mezclan con las purgas de maduración originando el efluente denominado “excedente de levadura” o “levadura líquida”. Éste puede representar el 1,5-3 por ciento del volumen de cerveza producida y posee una carga orgánica 50 a 100 veces superior a la de las aguas residuales finales de todo el proceso de elaboración de la cerveza, debido principalmente al contenido de levaduras, etanol y carbohidratos remanentes de la fermentación (Ferreira *et al.* 2010; Seluy 2015).

Este efluente representa un inconveniente para la industria cervecera, sobre todo por su elevado contenido de humedad y materia orgánica biodegradable, lo que lo torna inestable desde el punto de vista microbiológico. El principal destino de este efluente es el alimento animal, sin embargo cuando no es posible se debe dar un tratamiento antes de su vertimiento. Esto genera complicaciones, dado que los sistemas de tratamiento no están dimensionados para tratar este subproducto junto con las aguas residuales, lo que obliga a dosificar el efluente o a sobredimensionar las plantas de tratamiento aumentando los costos de inversión y operación (Seluy 2015).

Hay diversos estudios que han investigado el aprovechamiento de este efluente tanto por su contenido de levadura como por la composición de la fracción líquida. Las levaduras son fuente de proteínas, minerales y vitaminas (Seluy 2015). Usualmente se destina como alimento animal, diversos estudios han evaluado su uso en la dieta de rumiantes, caballos, cerdos y peces (Kerby y Vriesekoop 2017; Seluy 2015). Sin embargo, también puede ser usado como materia prima con diferentes usos. Se han hecho varios intentos para usarlos en procesos biotecnológicos, como por ejemplo en procesos fermentativos para la producción de compuestos de valor agregado como el etanol; como sustrato para cultivo de microorganismos, o simplemente materia prima para la extracción de compuestos. Incluso

se ha estudiado como fuente de nutrientes para la nutrición humana y como agente de desintoxicación de efluentes que contienen metales. En la Figura 3, se muestra un panorama del potencial de esta biomasa de levadura en diversos ámbitos y periodos.

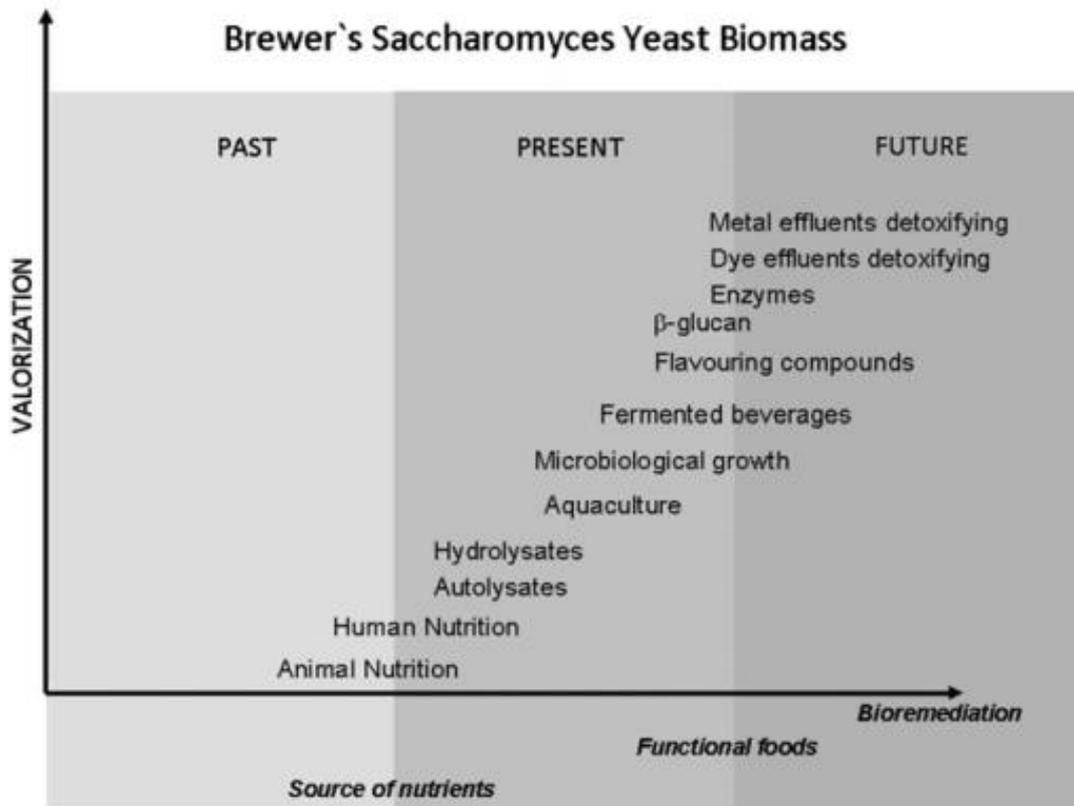


Figura 3. Representación esquemática de la valorización de biomasa de levadura cervecera a través del tiempo

FUENTE: Ferreira *et al.* (2010)

La fracción líquida del efluente es materia de intensa investigación a escala laboratorio para obtener productos con valor agregado. Por ejemplo ha sido usado para la producción de oligosacáridos, celulosa bacteriana y bioetanol, la co-digestión con los efluentes de lavado en reactores anaeróbicos de alta carga para incrementar la producción de metano y la producción de vinagre con aroma a cerveza (Seluy 2015).

2.3.6. Industria cervecera en el Perú

Latinoamérica es la segunda región donde el consumo de alcohol es más elevado y el Perú el sexto país en cuanto a consumo per cápita con un total de 8,1 litros per cápita de alcohol

puro por año (Ochoa y Peña 2017). Siendo la cerveza la bebida alcohólica más consumida con 47 litros per cápita según la Cámara de Comercio de Lima, cifra que es similar a la que maneja Euromonitor que, para el 2016, señala que el consumo per cápita fue de 45,4 litros (Redacción Gestión 2017). Un poco alejado se encuentra el vino con un consumo de 1,5 litros y finalmente los licores con 1 litro aproximadamente per cápita, en el que destaca el pisco (Villar 2017).

Durante el 2016, el mercado peruano de cervezas creció en volumen 2,1 por ciento respecto al 2015 (0,7 por ciento). En los últimos periodos la tasa promedio de crecimiento del sector ha sido bastante baja, comparada con anteriores periodos donde tuvo mejores niveles. Esto debido al mayor poder adquisitivo de la población, ya que se cuenta con una clase media sólida, la cual contribuye con una fuerte demanda y mayor consumo interno y brindó un impulso en todos los niveles socioeconómicos (principalmente en los segmentos de ingresos más bajos) (Ochoa y Peña 2017). En este sentido, se espera una recuperación de la tasa de crecimiento del sector, en línea con la recuperación gradual del crecimiento de la economía. No obstante, es importante mencionar que el consumo ha aumentado y muestra de ello es que en la actualidad el peruano gasta en promedio S/428,50 en consumo de cerveza, lo que representa S/100 más que hace 5 años (Redacción Gestión 2017).

Anheuser Bush Inbev (ABInBev de forma abreviada) oficializó su fusión con SAB Miller, propietaria de Backus en el Perú en octubre de 2016. De esta forma la empresa Unión de Cervecerías Peruanas Backus y Johnston S.A.A (en adelante Backus) consolidó su posición dominante en el mercado cervecero peruano (Redacción La República 2016). ABInbev es la compañía cervecera más grande a nivel mundial con una participación de mercado de 21 por ciento, considerando el volumen de ventas, tiene operaciones en 25 países y cuenta con un portafolio de más de 200 marcas de cervezas. En cuanto a su presencia en Latinoamérica, es líder en Brasil y Argentina (Ochoa y Peña 2017).

La compañía Backus hoy concentra una participación de 99 por ciento del mercado cervecero local, y deja solo 1 por ciento a la fabricación artesanal y otras empresas, según el anuario Perú: *The Top 10 000 Companies* 2017 (Redacción El Comercio 2017). Para tener una idea del dominio de Backus basta con revisar la producción del mercado cervecero. Al término del 2016, la producción nacional de cerveza alcanzó un volumen de 14 112 hectolitros, según un estudio de la empresa investigadora de mercados CCR. De ese

total, la producción de la compañía fue de 13 840 hectolitros, es decir concentró el 98 por ciento de la producción cervecera (Redacción El Comercio 2017).

Backus es dueña de marcas emblemáticas para los peruanos como Cristal, Pilsen Callao o Cusqueña. En total sumaba 11 marcas de cerveza hasta el 2016, pero con la fusión de SABMiller y AB Inbev incorporó otras tres a su portafolio: Corona, Budweiser y Stella Artois (Redacción El Comercio 2017).

2.4. Agricultura sostenible

El actual modelo de agricultura está seriamente cuestionado por dos razones principales: no es sustentable (permanencia en el tiempo) y no es aplicable al gran conjunto de productores. Lo primero se sustenta en el impacto en el ambiente, degradación de recursos naturales, pérdida de capacidad productiva, contaminación, pérdida de biodiversidad, etc. En cuanto a lo segundo, el modelo actual se caracteriza por el empleo de sistemas tecnológicos que utilizan plantas especializadas y una alta cantidad de insumos como fertilizantes, pesticidas, herbicidas, riego, antibióticos, maquinaria agrícola y energía fósil. Esta práctica es válida y accesible para las grandes empresas, mas no para los medianos y pequeños agricultores (Longoria 2000; Sarándon 2008).

La agricultura ecológica, como modelo de agricultura sostenible, se define como «un sistema agrario cuyo objetivo fundamental es la obtención de alimentos de máxima calidad, respetando el medio ambiente y conservando la fertilidad de la tierra mediante la utilización óptima de los recursos naturales y sin el empleo de productos químicos de síntesis, procurando así un desarrollo agrario perdurable» (Labrador, citado por Ribó 2013).

La Agricultura ecológica, conocida también como agricultura alternativa, busca un progresivo acercamiento al grado máximo de autosuficiencia, a través de nutrientes y el uso de recursos locales, encaminándose a una disminución de la energía consumida en la mecanización de las labores agrícolas y al aumento del uso de energías alternativas (Ribó 2013).

Dentro de este marco es importante establecer una integración de las actividades pecuarias con el sistema agrícola, donde se reciclen todas las excretas como alternativa para hacer más efectiva la utilidad de estos desechos en los sistemas agropecuarios (Gómez *et al.* 2007).

La fertilización en la agricultura ecológica se basa en el empleo de abonos verdes (leguminosas, gramíneas, crucíferas, etc.), residuos orgánicos (restos agrícolas y ganaderos) u otras formas de fertilización orgánica. Su aplicación ha permitido incrementar los contenidos de materia orgánica del suelo, mejorar su estructura, aumentar la actividad biológica, mejorar la fertilidad del suelo, favorecer el desarrollo radicular y la biomasa de los cultivos y reducir el efecto de plagas y fitopatógenos sobre la sanidad de los cultivos, lo que puede llegar a incrementar los rendimientos en términos altamente rentables. El objetivo es estimular el conjunto que constituye el sistema productivo agrícola, es decir, el suelo (favoreciendo la formación del complejo arcillo-húmico), los microorganismos del suelo (debido a su intervención directa con los ciclos de nutrientes), y la planta (Acuña 2003; Ribó 2013).

2.5. Nutrición de las plantas

La planta necesita elementos esenciales para su desarrollo y crecimiento. Un elemento es considerado esencial si: i) la planta no puede completar su ciclo en ausencia de la misma, ii) no puede ser reemplazado por otro elemento y iii) forma parte de cualquier molécula o constituyente de la planta (Rodríguez y Flórez 2004). Actualmente se reconocen 17 elementos químicos que son esenciales para las plantas en general y hay algunos más que se han demostrado esenciales sólo para algunas especies vegetales, hasta un total de 20 ó 21 (Tabla 7) (Pueyo *et al.* 2011).

Tabla 7: Elementos esenciales para las plantas

Grupo	Elementos	Presencia (% peso seco)	Fuente
Macroelementos	C,H, O	90-95 %	Aire y agua
	N, P, K	2-5 %	Suelo
	Ca, Mg, S	0,5-2 %	Suelo
Microelementos	Fe, Cu, Mn, Zn, B	< 0,1 %	Suelo
	Cl, Mo, Ni	Se duda que el Ni sea esencial para algunas plantas	Suelo
	Co, Si, Na	Solo esencial para algunas especies	Suelo

FUENTE: Pueyo *et al.* 2011

Cuando se habla de fertilización se usa el término "nutriente", para referir a alguno de los elementos esenciales (quizá por el hecho de que carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O) están en abundancia a disposición de la planta y, aunque son esenciales, no suele hablarse de ellos como nutrientes) (Pueyo *et al.* 2011). Según la cantidad demandada los elementos esenciales se clasifican en macronutrientes (cantidades del orden de decenas de kg/ha) y micronutrientes (cantidades del orden de decenas de g/ha). A su vez los macronutrientes se dividen en nutrientes primarios (nitrógeno, fósforo, y potasio) y secundarios (magnesio, azufre y calcio). Dentro de los micronutrientes tenemos al hierro, manganeso, zinc, cobre, molibdeno, cloro, boro y Ni, éste último solo algunos textos lo incluyen (FAO e IFA 2002; Pueyo *et al.* 2011). En la Tabla 8 se muestra los principales nutrientes y sus funciones y la forma química en la que la planta lo aprovecha.

Tabla 8: Principales nutrientes y sus funciones

Nutriente		Función	Forma asimilable
Macronutrientes primarios	Nitrógeno	Forma parte de proteínas y clorofila, da color verde a las plantas y promueve el desarrollo de hojas y tallos	NH_4^+ , NO_3^-
	Fósforo	Es importante en el desarrollo inicial de las plantas, provoca un crecimiento inicial, rápido y vigoroso. Estimula la floración. Forma parte de las proteínas	H_2PO_4^+ , HPO_4^{2-}
	Potasio	Da vigor y resistencia contra las enfermedades	K^+
Macronutrientes secundarios	Calcio	Promueve el desarrollo de raíces, mejora la absorción del nitrógeno. Constituye una base para la neutralización de ácidos	Ca^{+2}
	Magnesio	Mantiene el color verde oscuro en las hojas	Mg^{2+}
	Azufre	Ayuda en la formación de la clorofila. Promueve el desarrollo de las raíces. Forma parte de las proteínas	SO_4^{2-} , SO_3^{2-}
Micronutriente	Boro	Ayuda a absorber calcio y nitrógeno	H_2BO_3^-
	Manganeso	Ayuda a la formación de la clorofila y contrarresta el efecto de una aireación deficiente	Mn^{+2}
	Fierro	Ayuda a la formación de la clorofila	Fe^{+2} , Fe^{+3}
	Zinc	Importante para el metabolismo de la planta	Zn^{2+}
Elementos esenciales	C, H, O	Elementos estructurales principales en los tejidos	H_2O , OH , CO_2

FUENTE: Rico y Pérez (2013)

2.6. Fertilizantes

La FAO (1999) sostiene lo siguiente: «Los fertilizantes son sustancias minerales y orgánicas, naturales o elaboradas que se aplican al suelo, al agua de irrigación o a un medio hidropónico para proporcionarle a la planta los nutrientes. Los fertilizantes contienen como mínimo el 5 por ciento de uno o más de los tres nutrientes primarios (N, P_2O_5 , K_2O), mientras que a los productos con menos del 5 por ciento de nutrientes combinados, se les

denomina fuente de nutrientes. No obstante, la definición legal puede variar según cada país». Como menciona la FAO, la definición de fertilizante puede variar, en ese sentido, la mayoría de textos y regulaciones refiere al fertilizante como aquel material que enriquece el suelo con nutrientes y favorece el crecimiento vegetal (Arévalo y Castellano 2009).

Según su origen se puede clasificar en:

2.6.1. Fertilizantes minerales o químicos

Son productos inorgánicos, líquidos o sólidos, obtenidos mediante un proceso industrial; pueden aportar los nutrientes principales, secundarios o una mezcla de ambos (FAO 1999). Existen numerosos fertilizantes químicos con diferentes nutrientes, sin embargo los que se aportan en forma casi exclusiva y en mayores cantidades son aquellos elementos principales o macroelementos primarios (N, P, K) (Irañeta *et al.* 2011).

Es importante distinguir que para los elementos químicos nitrógeno, fósforo y potasio, sus símbolos son N, P y K respectivamente. Sin embargo, la riqueza en elementos fertilizantes de los abonos se expresa en porcentaje de N, P₂O₅ y K₂O porque así lo marca la legislación (Irañeta *et al.* 2011).

Estos fertilizantes se absorben, transportan y almacenan con facilidad por las plantas, sin embargo su desventaja radica en que no aportan al suelo materia orgánica, por el contrario disminuyen la proporción de esta y con ello la capacidad de retención de agua, haciendo que el suelo sea menos adecuado para el desarrollo de los cultivos (Gordón 2013).

Según su composición se clasifica en (Arévalo y Castellano 2009; Irañeta *et al.* 2011):

- Fertilizantes simples: contienen solo un elemento como fertilizante.
 - i) Nitrogenados: contienen solo nitrógeno, como la urea.
 - ii) Fosfatados: contiene solo fósforo (P) como el superfosfato del 45 por ciento.
 - iii) Potásicos: contienen solo potasio (K) como cloruro potásico o el sulfato potásico.

- Fertilizante compuesto: contienen dos o tres de los nutrientes básicos (N, P y K). Se identifican con 3 números seguidos que representan su riqueza en nitrógeno, fósforo y potasio respectivamente. Ejemplo, la fórmula 8-15-15, significa que 100 kg de este fertilizante aportará 8 kg de Nitrógeno, 15 kg de Fósforo P_2O_5 y 15 kg de Potasio K_2O .

2.6.2. Fertilizantes orgánicos

También denominado abonos orgánicos son productos naturales resultantes de la descomposición de materiales de origen vegetal, animal o mixto y se usan principalmente para mejorar las características del suelo, como fuente de vida y nutrientes. (Soto y Meléndez 2004; Xelhuantzi 2013). Los abonos orgánicos más conocidos se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9: Tipos de abonos orgánicos

Estado	Sin procesamiento	Con procesamiento
Sólido	Excretas de animales Desechos vegetales Rastrojos o follajes Abonos verdes	Compost Bocashi Lombricompost
Líquido	Efluentes industriales	Té de compost Té de estiércol Biofermentos

FUENTE: Soto y Meléndez (2004)

El abono orgánico actúa en el suelo sobre tres tipos de propiedades (Arévalo y Castellano 2009):

Propiedades físicas:

- Por su color oscuro, absorbe más las radiaciones solares, con lo que el suelo adquiere más temperatura y se pueden absorber con mayor facilidad los nutrientes.
- Mejora la estructura y textura del suelo, haciendo más ligeros los suelos arcillosos y más compactos a los arenosos.

- Mejora la permeabilidad del suelo, ya que influyen en el drenaje y aireación de éste.
- Disminuye la erosión del suelo, tanto hídrica como eólica.
- Aumenta la retención de agua en el suelo, por lo que se absorbe más el agua cuando llueve o se riega, y retienen el agua en el suelo durante mucho tiempo en el verano.

Propiedades químicas:

- Aumenta el poder tampón del suelo y, en consecuencia, reducen las oscilaciones de pH de éste.
- Aumenta la Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) del suelo, con lo que incrementa la fertilidad.

Propiedades biológicas:

- Favorece la aireación y oxigenación del suelo, por lo que hay mayor actividad radicular y mayor actividad de los microorganismos.
- Constituye una fuente de energía para los microorganismos, debido a ello se multiplican rápidamente.

Una limitación del abono orgánico es que no es suficiente por sí solo (y a menudo no está disponible en grandes cantidades) para lograr el nivel de producción que el agricultor desea. Si bien aportan materia orgánica, nutrientes y microorganismos, lo cual favorece la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas; no obstante, su capacidad como fuente de nutrientes es baja, respecto a los fertilizantes químicos. Es por ello, que se sugiere el uso combinado de ambos fertilizantes a través del Sistema Integrado de Nutrición de las Plantas (SINP) generando las condiciones ambientales ideales para el cultivo, dado que el abono orgánico/la materia orgánica mejora las propiedades del suelo y el suministro de los fertilizantes minerales proveen los nutrientes que las plantas necesitan (FAO e IFA 2002).

2.7. Biofertilizante

También es conocido como biopreparado (Restrepo 2001) o como biofermento (CEDECO 2005; Soto 2003; Uribe 2003). Son fertilizantes orgánicos líquidos que se originan a partir de la fermentación de materiales orgánicos, como estiércol de animales, desechos de

plantas verdes y frutos, acompañado de estimulantes como: leche, suero, melaza, jugo de caña o jugo de frutas, levaduras, pajas, cenizas y otros (CEDECO 2005; Restrepo 2001). El suero y la leche cruda poseen microorganismos lácteos que controlan el pH y realizan la fermentación, mientras que la melaza y el jugo de caña de azúcar proveen de energía y nutrientes (potasio, calcio, magnesio y boro) a los microorganismos (CEDECO 2005; Ito 2006; Restrepo 2001).

Pueden ser aeróbicos (proceso en presencia de aire) o anaeróbicos (proceso con ausencia de aire). Su aplicación podría hacerse directamente sobre las plantas vía foliar o sobre los suelos, si éstos tienen cobertura, o sobre aboneras para enriquecerlas (CEDECO 2005; Restrepo 2001).

Las sustancias que se originan a partir de la fermentación son muy ricas en energía libre, y al ser absorbidas directamente por las hojas tonifican las plantas e impiden el desarrollo de enfermedades y el constante ataque de insectos (Restrepo 2001). Además, como efecto del proceso fermentativo, el pH sufre una caída drástica y ésta junto con la disponibilidad de oxígeno condiciona el crecimiento de la flora microbiana, limitando principalmente la presencia de microorganismos patógenos (Uribe 2003).

Estos abonos requieren mucho menos mano de obra, además se pueden hacer en grandes volúmenes y a su vez, se diluyen para su aplicación en una proporción del 4 al 10 por ciento, lo que los hace mucho más baratos (CEDECO 2005). Bajo condiciones anaerobias, el biofertilizante se obtiene a los 26 u 30 días, pudiendo llegar hasta 90 días en lugares muy fríos (Restrepo 2001).

2.7.1. Biofertilizante acelerado

Estos biofertilizantes son el resultado de la fermentación homoláctica de la materia orgánica utilizando el consorcio microbiano Bio-lac en condiciones anaerobias. Las bacterias presentes, principalmente ácido-lácticas, aceleran el proceso de degradación de los residuos y producen ácido láctico, lo que genera acidez en el medio y la rápida eliminación de microorganismos (Peralta 2010). Dadas las condiciones se puede considerar a este biofertilizante como un producto biotecnológico, ya que un concepto de biotecnología es «toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos u organismos

vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos» (FAO, citado Gordón, 2013).

A diferencia de los biofermentos convencionales, el proceso de fermentación homoláctica permite obtener el producto a los 5 días, gracias a la acción de las bacterias ácido-lácticas presentes en el Bio-lac. Esta es la razón por la que en algunas investigaciones lo denominan como “biofertilizante acelerado”. Estos productos van despertando mayor interés debido al corto tiempo para transformar múltiples tipos de residuos orgánicos y a los bajos costos de producción. Esto crea una ventaja competitiva frente a cualquier abono. A esto se suma el alto contenido de nutrientes, el cual depende principalmente de las materias transformadas por el proceso fermentativo.

2.8. Fermentación ácido láctico

Es un proceso celular anaerobio en el cual se produce ácido láctico como principal producto de la fermentación de carbohidratos. Es realizado por bacterias ácido lácticas, algunas algas, hongos, mohos y levaduras en condiciones anaerobias, las cuales tienen la capacidad de inhibir las bacterias patógenas teniendo amplio uso en la producción de alimentos fermentados, ya que se producen compuestos que contribuyen con el sabor, olor, color y textura (Parra 2010).

El ácido láctico se denomina ácido 2-hidroxi-propanoico y está formado por los grupos funcionales alcohol y carboxilo, conformando un carbono asimétrico que le confiere su actividad óptica. Existen dos isómeros ópticos, el D(-) láctico y el L(+) láctico (Figura 4) y una forma racémica constituida por fracciones equimolares de las 2 anteriores. El isómero D(-) es perjudicial al metabolismo humano y puede generar acidosis y descalcificación. Mientras que el ácido láctico L(+) láctico es clasificado por la *Food and Drug Administration* - FDA (Administración de Drogas y Alimentos) como una sustancia *Generally Recognized As Safe* - GRAS (Generalmente Reconocido Como Seguro) para su uso como aditivo alimenticio (García *et al.* 2010).



Figura 4: Estructuras isoméricas del ácido láctico

FUENTE: García *et al.*, 2010

2.8.1. Bacterias Ácido Lácticas (BAL)

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son un grupo de organismos Gram-positivos, microaerofílicos, no formadores de esporas, inmóviles, catalasa negativo y en forma de cocos y bacilos. A pesar de su metabolismo anaeróbico, son anaerobios aerotolerantes (pueden crecer o actuar en presencia o ausencia de O₂) y en medios de cultivo sólidos crecen en presencia de aire (Parra 2010). Son microorganismos de rápido crecimiento con pequeños genomas, metabolismo simple y relevancia industrial (Frioni 2005; García *et al.* 2010).

Diferentes factores afectan el crecimiento de las BAL en un medio de fermentación. Los requerimientos nutricionales y temperatura son los más importantes. La mayoría de las especies de las BAL necesitan aminoácidos y vitaminas del grupo B (lactoflavina, tiamina, biotina, ácido nicotínico, ácido pantoténico, ácido fólico) (Parra 2010); estos requerimientos nutricionales complejos se deben a su limitada habilidad para sintetizar aminoácidos y vitaminas B que tienen estas bacterias (Serna y Rodríguez 2005). En cuanto a la temperatura, el valor óptimo de crecimiento varía entre géneros y está en un rango de 20 °C-45 °C (Serna y Rodríguez 2005).

Son quimiorganotróficos y solo pueden crecer en medios complejos. Carbohidratos fermentables y alcoholes pueden ser empleados como fuente de energía para formar principalmente ácido láctico, a través de la degradación de hexosas a lactato

(homofermentativas) y productos adicionales como acetato, etanol, CO₂, formato o succinato (heterofermentativas) (Parra 2010).

Las BAL comprende: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weisella*, siendo *Lactobacillus* el más grande de estos géneros (Serna y Rodríguez 2005; Parra 2010). Estas bacterias son ácido tolerantes, pudiendo crecer a valores de pH tan extremos como 3,2 y 9,6, sin embargo, la mayoría crece en un rango de pH de 4-4,5. Esto les otorga ventajas competitivas sobre otras bacterias (Ramírez *et al.* 2011).

A. Clasificación de las BAL según los productos metabólicos

Según los productos finales de la fermentación de los hidratos de carbono las BAL se clasifican en homofermentativas (produce solo ácido láctico) y heterofermentativas (producen ácido láctico y otras sustancias) (Serna y Rodríguez 2005; Parra 2010). La Tabla 10 muestra las principales características de cada ruta.

Tabla 10: Tipos de fermentación ácido lácticas

Fermentación	Donador de e⁻	Aceptor de e⁻	Enzimas	Productos finales
Homoláctica	Triosa-P	Ácido pirúvico	Deshidrogenasa láctica	Ácido láctico
Heteroláctica	Triosa-P	Acetaldehído	Deshidrogenasa alcohólica	CO ₂ , etanol

FUENTE: Frioni (2005)

En el metabolismo homofermentativo, se produce principalmente ácido láctico y las bacterias utilizan la ruta de Embden-Meyerhoff-Parnas (EMP) al convertir 1 mol de glucosa en dos moles de ácido láctico, la estequiometría se puede ver en la Ecuación 1; además que se produce más del 85 por ciento de ácido láctico a partir de glucosa (Serna y Rodríguez 2005; Parra 2010); incluso algunos autores como García *et al.* (2010) y Frioni (2005) sostienen que el rendimiento puede ser de 0,9 gg⁻¹ (90 por ciento). El grupo homofermentativo está compuesto de *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pedicoccus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*; se pueden citar a *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus*

rhamnosus, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus amylovorus*; *Pedicoccus acidilactici*, *Pedicoccus pentosaceus*, *Pedicoccus damnosus*, *Streptococcus salivarius*, *Lactococcus lactis*, entre otros (Serna y Rodríguez 2005).

Ecuación 1(Serna y Rodríguez 2005):



La fermentación heteroláctica produce a partir de glucosa, cantidades equimolares de otros productos como ácido acético, etanol y dióxido de carbono. En este proceso, las bacterias en vez de usar la vía EMP, utilizan la vía del fosfogluconato (vía de las pentosas fosfato o hexosas fosfato) y producen solamente 50 por ciento de ácido láctico, esto debido a que carecen de enzimas de la vía glucolítica (aldolasa y trifosfato isomerasa). A partir de las hexosas producen cantidades equimolares de ácido láctico, ácido acético, etanol y dióxido de carbono (CO₂) y degradan las pentosas para obtener ácido acético y láctico. Los organismos fermentan 1 mol de glucosa para formar 1 mol de ácido láctico y 1 mol de CO₂ y 1 mol de ATP, la Ecuación 2 muestra la estequiometría heteroláctica (Frioni 2005; Parra 2010; Ramírez 2005; Serna y Rodríguez 2005). El grupo heterofermentativo está compuesto por *Lactobacillus*, y *Leuconostoc* principalmente (Frioni 2005).

En la fermentación heteroláctica, los *Lactobacillus* están formados por: *L. .brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. kéfir*, *L. reuteri*, entre otros (Frioni 2005; Parra 2010)

Ecuación 2 (Serna y Rodríguez 2005):



La mayoría de los *Lactobacillus* producen únicamente una forma isomérica ya sea ácido D (-) láctico o ácido L (+) láctico, sin embargo algunos producen una forma racémica de los dos anteriores DL-láctico (Tabla 11).

Tabla 11: Bacterias ácido lácticas homo y heterofermentativas y la configuración

Género y especie	Homofermentativa	Heterofermentativa	Configuración ácido láctico*
<i>Lactobacillus</i>			
<i>L. delbrueckii</i>	+	-	D(-)
<i>L. lactis</i>	+	-	D(-)
<i>L. bulgaricus</i>	+	-	D(-)
<i>L. casei</i>	+	-	L(+)
<i>L. plantarum</i>	+	-	DL
<i>L. curvatus</i>	+	-	DL
<i>L. brevis</i>	-	+	DL
<i>L. fermentum</i>	-	+	DL
<i>Sporolactibacillus</i>			
<i>S. inulinus</i>	+	-	D(-)
<i>Streptococcus</i>			
<i>S. cremoris</i>	+	-	L(+)
<i>S. lactis</i>	+	-	L(+)
<i>Leuconostoc</i>			
<i>L. mesenteroides</i>	-	+	D(-)

FUENTE: García *et al.* (2010)

Nota:

* L: Levógiro y D: Dextrógiro, según el tipo de isomería

B. Clasificación de las BAL según la temperatura ideal

Según la temperatura de crecimiento, las BAL se clasifican en mesófilos y termófilos (Parra 2010).

BAL mesófilas, tienen una temperatura ideal de 20-25 °C y las especies son *Lactococcus lactis subs lactis*, *Lactococcus lactis subs cremoris*, *Lactococcus lactics*, *biovariedad diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides subs cremoris* (Parra 2010).

BAL termófilas, con una temperatura ideal de 40-45 °C. En este grupo, se encuentran las siguientes especies: *Lactobacillus delbruecki subs bulgaris*, *Lactobacillus lactis*,

Lactobacillus helveticus, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus salivarius* subsp *thermophiles* (Parra 2010).

C. Mecanismo de acción

La fermentación reduce la cantidad de carbohidratos disponibles y produce principalmente ácidos orgánicos como ácido láctico, acético, propiónico y otras sustancias como peróxido de hidrógeno, diacetilo, bacteriocinas y productos secundarios generados por la acción de lactoperoxidasa sobre el peróxido de hidrogeno y tiocianato. Estos productos inhiben un gran número de microorganismos patógenos y dañinos (Ramírez *et al.* 2011).

El poder antimicrobiano de los ácidos orgánicos se debe a su forma no disociada, la cual depende del pH, y tiene más importancia que la disminución de pH extracelular que estos produzcan. La forma disociada al ser un anión, es altamente polar y, por lo tanto, no atraviesa fácilmente la membrana plasmática de los microorganismos; por el contrario, su forma no disociada puede penetrar con mayor facilidad membrana. Una vez en el interior de la bacteria, el pH más alto del contenido celular promueve la disociación dando lugar a la liberación de iones hidrogeno y el anión correspondiente, de modo que, ambos iones interfieren en el metabolismo y crecimiento celular, afectando el gradiente de protones y de carga eléctrica con el exterior e interfiriendo con los sistemas de transporte de aminoácidos y fosfatos (Ramírez *et al.* 2011; Di Schiavi 2015).

La acumulación de ácido láctico y otros ácidos orgánicos producidos por el BAL, reduce el pH del ambiente con un efecto inhibitorio de bacterias gram-positivas y gram-negativas. Mientras que las BAL continúan desarrollarse a pH relativamente bajos, ya que poseen un sistema de transporte simultaneo de ácido láctico y protones al exterior. Esta tolerancia a pH ácidos les permite seguir creciendo durante las fermentaciones naturales, mientras otras bacterias no pueden (Madigan *et al.* 2004; Ramírez *et al.* 2011). Adicionalmente algunas enzimas se inactivan en pH ácidos.

Las BAL también generan bacteriocinas, moléculas que tienen estructura tipo péptido o proteína biológicamente activas, las cuales presentan acción bactericida sobre receptores específicos de las células (Ramírez *et al.* 2011). Su modo de acción es complejo, pero el más común es mediante la formación de poros en la membrana citoplasmática de células

sensibles. Lo que genera una pérdida de iones (principalmente K^+ y Mg^{+2}), ATP, en algunos casos aminoácidos y moléculas pequeñas (Figura 5). A la vez ésta pérdida de sustancias, trae como consecuencia la pérdida de la fuerza motriz de protones (FMP), consumo de las reservas energéticas e inhibición de la síntesis de macromoléculas (ADN y ARN). Todos estos procesos en suma provocan la muerte celular (Martin 2002; Ramírez 2005).

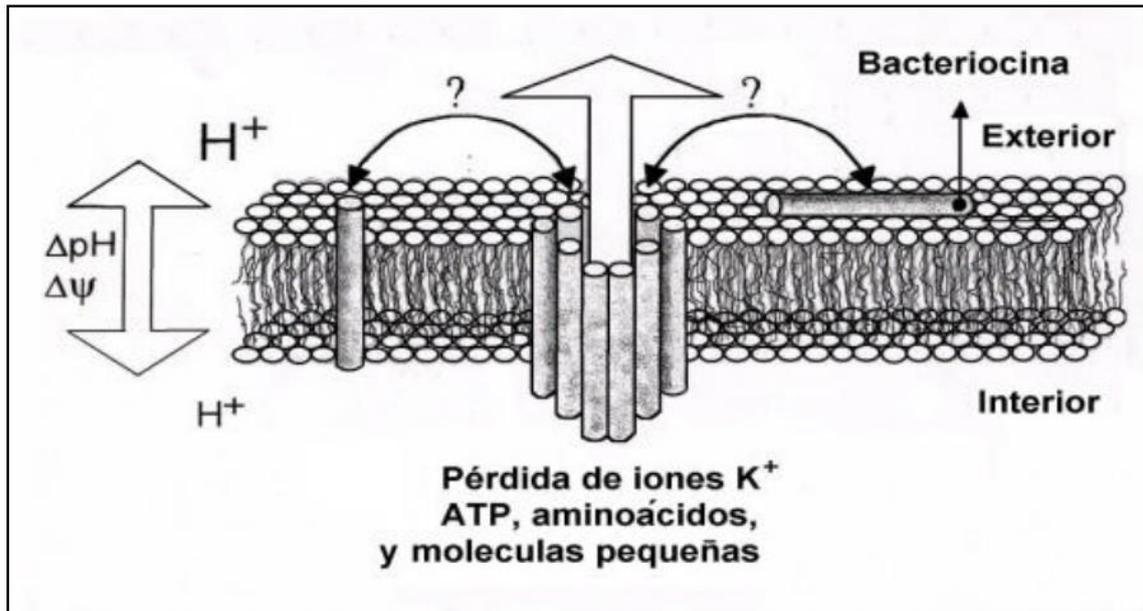


Figura 5: Modelo general del mecanismo de acción de péptidos antimicrobianos

FUENTE: McAuliffee *et al.*, citado por Martin (2002)

Las bacteriocinas que producen las BAL han sido intensamente estudiadas por su actividad microbiana contra bacterias patógenas tales como: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella* y *Escherichia coli* (Ramírez *et al.* 2011). En estas dos últimas, generalmente se da cuando la integridad de la membrana interna se ha visto comprometida, por ejemplo después de un choque osmótico o un tratamiento de pH bajo, en presencia de un detergente o agente quelante, o después de un campo eléctrico pulsado o tratamiento a alta presión (De Vuyst y Leroy 2007).

2.8.2. Aplicaciones de las Bacterias Ácido Lácticas (BAL)

Las BAL desempeñan un papel importante en los procesos de fermentación; son utilizadas principalmente en la industria alimentaria, no solo por su capacidad de acidificar y, por ende, de preservar alimentos de las esporas y de esta forma ser un agente microbiano, sino también por su implicación en la textura, sabor, olor y desarrollo de aroma de alimentos fermentados. Dentro de los principales microorganismos utilizados en la industria alimentaria tenemos: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weisella* (Parra 2010).

También el ácido láctico y sus derivados son ampliamente utilizados en otros sectores de la sociedad. Las industrias químicas lo utilizan como solubilizador y como agente controlador de pH, además de neutralizante y agente limpiador. En las curtiembres, es utilizado para remojar los cueros y desencalarlos. En la producción de pinturas y resinas, puede ser utilizado como solvente biodegradable. En la industria farmacéutica, sus sales de hierro y calcio tienen un importante uso en la producción de drogas y es que el ácido láctico es usado como electrolito y fuente de minerales. En la industria textil, ayuda en el teñido e impresión. En la industria cosmética, como pH buffer, antimicrobiano y rejuvenecedor de la piel. En la agricultura, se utiliza como acidulante y en la industria de plásticos es utilizado como el precursor del ácido poliláctico (PLA), un polímero biodegradable con interesantes usos en la industria y la medicina; se considera que ésta es la principal aplicación del ácido láctico y la causa por la cual ha aumentado considerablemente su demanda (García *et al.* 2010; Serna y Rodríguez 2005).

2.9. Consorcio microbiano Bio-lac (B-lac)

Es un producto comercial de inocuidad microbiológica (Ver Anexo 1). Es un consorcio de microorganismos benéficos, compuesto principalmente por bacterias probióticas del género *Lactobacillus* (Guccione 2009). La composición microbiológica detallada se muestra en la Tabla 12.

Los mohos, coliformes totales y fecales están ausentes en este consorcio. Los *Lactobacillus* inhiben el crecimiento de cualquier microorganismo patógeno mediante la producción de

ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico, bacteriocinas y el pH ácido (alrededor de 3,5) por efecto de la alta concentración de ácidos orgánicos.

Las levaduras están presentes en este consorcio, pero no son perjudiciales. Son importantes por su capacidad para fermentar diversos cuerpos orgánicos, principalmente los azúcares, produciendo distintas sustancias como hormonas y enzimas, sustratos útiles para las bacterias ácido lácticas (Silva y Toapanta; Naranjo 2013).

En este consorcio también se encuentran las bacterias mesófilas viables, que incluye a todas las bacterias capaces de desarrollarse a 30 °C en condiciones aeróbicas. En la concentración en que se encuentran no representan ningún problema, si tenemos en cuenta que muchos tipos de leche de consumo humano son aceptados en un contenido hasta 105 UFC/ml de aerobios mesófilos (DIGESA, citado por García 2008).

Tabla 12: Análisis microbiológico del Bio-lac

Análisis Microbiológico	Unidad	Valor
Recuento de <i>Lactobacillus sp.</i>	UFC/ml	7×10^7
Recuento de levaduras	UFC/ml	$2,5 \times 10^5$
Recuento de mohos	UFC/ml	< 10
Recuento de bacterias mesófitas viables	UFC/ml	$3,3 \times 10^4$
Recuento de coliformes totales	NMP/ml	< 3
Recuento de coliformes fecales	NMP/ml	< 3

FUENTE: García (2008)

Nota:

Los valores < 3 y < 10 indican ausencia de microorganismos

NMP: Número más probable; UFC: Unidades Formadoras de Colonia

2.10. Melaza de caña de azúcar

La melaza de caña de azúcar, miel final o melaza “*blackstrap*” es un líquido denso, viscoso de color oscuro y que contiene sacarosa, azúcar invertido, sales y otros compuestos solubles en álcali; es un producto final de la fabricación o refinación de la sacarosa, glucosa y fructosa procedente de la caña de azúcar; además, contienen sustancias no fermentables y melanoidinas (a base de nitrógeno), derivados a partir de la condensación

del azúcar y aminocompuestos, esto se puede apreciar en la Tabla 13 (Ossa *et al.* 2010). En términos sencillos, la melaza de caña de azúcar es el efluente final de la preparación del azúcar mediante cristalización repetida final, de la cual no se puede extraer más azúcar por métodos físicos (Fajardo y Sarmiento 2007).

Los principales atributos que destacan de este material es el alto contenido de energía metabolizable (2,7 Mcal), azúcares solubles de fácil fermentación y minerales tales como potasio, calcio y magnesio; sin embargo, el contenido de proteínas es baja (alrededor de 4 por ciento) (Martínez 2008; Restrepo 2001). Debido a estas características y al bajo costo que posee, la melaza es ampliamente utilizada como sustrato en el crecimiento de bacterias ácido lácticas (BAL) responsables de procesos fermentativos (Ossa *et al.* 2010; García *et al.* 2010). En pruebas de fermentación, la melaza aporta con la energía necesaria para activar el metabolismo microbiológico, de esta forma el proceso se potencializa; adicionalmente aporta minerales y aminoácidos por lo señalado anteriormente (Restrepo 2001). Otros usos de la melaza son la producción de alimentos concentrados de animales y la producción de alcohol.

Tabla 13: Composición de la melaza de caña de azúcar

Datos físicos y químicos		Carbohidratos	
Materia seca	76,50 %	Azúcares totales	48,30 %
Agua	23,50 %	Azúcares reductores	11,50 %
Materia orgánica	62,50 %	Sacarosa	35,90 %
Cenizas	16,00 %	Fructosa	5,60 %
Relación C/N	27 (aprox.)	Glucosa	2,60 %
Energía	2 350 cal/kg	Proteínas y aminoácidos	
Brix	86 grados	Proteína bruta	4,30 %
Densidad	1,41 kg/L	Nitrógeno	1,01 %
pH	4,9-5,4	Lisina	200 ppm
Minerales		Metionina	200 ppm
Calcio	0,80 %	Metionina + cistina	400 ppm
Fósforo	0,08 %	Treonina	500 ppm
Potasio	4,20 %	Triptófano	200 ppm
Cloro	2,10 %	Isoleucina	400 ppm

«continuación»

Magnesio	0,27 %	Valina	700 ppm
Azufre	0,78 %	Vitaminas	
Sodio	0,09 %	Biotina (vitamina B8)	3 ppm
Cobre	14 ppm	Ácido fólico (vitamina B9)	0,04 ppm
Hierro	130 ppm	Inositol	6 000 ppm
Manganeso	5 ppm	Pantotenato de calcio (vitamina B5)	60 ppm
Zinc	8 ppm	Piridixona (vitamina B6)	4 ppm
--		Riboflavina (vitamina B2)	2,5 ppm
		Tiamina (vitamina B1)	1,8 ppm
		Niacina (vitamina B3)	500 ppm
		Colina	700 ppm

FUENTE: Molase y Poballe, citados por García (2008)

2.11. Bioensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga

Los ensayos biológicos o bioensayos son un instrumento alternativo y que complementa a las pruebas tradicionales físico-químicas para la medición de niveles de toxicidad de muestras ambientales (Navarro *et al.* 2006). Éstas permiten determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas (Castillo 2004). Los organismos vivos expuestos presentan algunas respuestas a niveles peligrosos de cualquier sustancia química o mezcla compleja de tóxicos. Estas pruebas suministran resultados confiables, además de ser económicos, simples y rápidos (Navarro *et al.* 2006).

La aplicación directa de material orgánico tratado y sin tratar en cultivos puede generar toxicidad en las plantas, debido principalmente a la inmadurez e inestabilidad de la materia orgánica existente y a la presencia de sustancias fitotóxicas orgánicas; tales como amonio, ácidos alifáticos de cadena corta (ácidos grasos de bajo peso molecular y ácidos grasos volátiles), compuestos fenólicos, metales pesados y sales (Acosta *et al.* 2006; Varnero *et al.* 2007). La determinación de estas sustancias en forma independiente encarece los análisis, esto ha incentivado el uso de pruebas con plantas vasculares para determinar las fitotoxinas presentes en un material orgánico en diversas investigaciones. Esto debido a

que permite evaluar los efectos adversos sobre la germinación de las semillas y el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Uno de los bioensayos más usados es la prueba con semillas de lechuga (Varnero *et al.* 2007).

González *et al.* (2015) sostiene lo siguiente: «El bioensayo con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), es un ensayo estático de toxicidad aguda en el que se evalúan los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de una mezcla compleja en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Como puntos finales para la evaluación de los efectos fitotóxicos, se determina la inhibición en la germinación y la inhibición en la elongación de la radícula y del hipocotilo. La información generada a partir de este ensayo proporciona datos acerca de posible efecto de los contaminantes en las comunidades vegetales cercanas, esta es también una especie interesante de considerar por su importancia desde el punto de vista hortícola. Además, es de fácil y rápida germinación, por lo que es posible desarrollar el ensayo en pocos días. El mismo ha sido recomendado y aplicado por diferentes organismos de protección ambiental para la evaluación ecotoxicológica de muestras ambientales y compuestos puros, así como la del efecto fitotóxico de pesticidas sobre especies no blancos, siendo necesarias para el registro de los mismos».

A diferencia de la prueba tradicional de germinación de semillas, la evaluación del efecto en la elongación de la radícula y el hipocotilo permite determinar el efecto tóxico de compuestos presentes en niveles tan bajos que no inhiben la germinación, pero que si afectan la elongación; convirtiéndose en indicadores subletales muy sensibles que proporcionan información complementaria al efecto en la germinación (Sobrero y Ronco 2008).

El indicador más completo para describir el potencial fitotóxico de un material orgánico es el índice de germinación (IG), ya que integra el Porcentaje de Germinación Relativo (PGR) y el Crecimiento Relativo de Raíces (CRR). Estos indicadores se determinan de la siguiente manera (Tiquia, citado por Varnero *et al.* 2007):

$$PGR = \frac{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas en el extracto}}{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas en el testigo}} \times 100$$

$$CRR = \frac{\text{Elongación de radículas en el extracto}}{\text{Elongación de radículas en el testigo}} \times 100$$

$$IG = \frac{PGR \times CRR}{100}$$

De acuerdo a Zucconi *et al.*, citado por Varnero *et al.* (2007) el criterio de interpretación del Índice de Germinación (IG) es como sigue:

$IG \geq 80 \%$	No hay sustancias fitotóxicas o están en muy baja concentración (baja fitotoxicidad)
$50 \leq IG \leq 80 \%$	Presencia moderada de sustancias fitotóxicas (moderada fitotoxicidad)
$IG \leq 50 \%$	Fuerte presencia de sustancias fitotóxicas (alta fitotoxicidad)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Hipótesis

La fermentación homoláctica del estiércol de ganado vacuno y el efluente del proceso de fermentación cervecera producirá un biofertilizante con calidad nutricional e inocuidad microbiológica.

3.2. Lugar y periodo de ejecución

La presente investigación se realizó en el Laboratorio Biotecnología Ambiental-Biorremediación de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina, entre los meses de julio y diciembre de 2017. En estas instalaciones, se elaboró un biofertilizante a partir del estiércol de ganado vacuno procedente de la granja de la Unidad Experimental de Zootecnia (UEZ) del Programa de Investigación y Proyección Social (PIPS) en Leche de la UNALM y del efluente del proceso de fermentación de una industria cervecera local.

3.3. Materiales

En la presente investigación, se usó subproductos del sector pecuario (estiércol fresco de ganado vacuno) y subproducto del sector industrial cervecero (efluente del proceso de fermentación cervecera) las cuales se trabajaron en forma combinada en igual proporción constituyendo la Mezcla Base (estiércol vacuno, efluente cervecero, 1:1, m/m), que representó la unidad experimental. Adicionalmente, se usó melaza (residuo agroindustrial) y consorcio microbiano ácido láctico Bio-lac (producto biotecnológico) los cuales componían los tratamientos en distintas proporciones y eran las encargadas del proceso de fermentación homoláctica. Los materiales, equipos, reactivos y demás estuvieron a disposición en el laboratorio de Biorremediación.

El estiércol de ganado vacuno (en adelante estiércol vacuno) fue fresco, debido a que en esta condición es más rico en microorganismos y nutrientes (Restrepo 2001). Con respecto al efluente del proceso de fermentación cervecera (en adelante efluente cervecero), se trabajó con la fracción líquida debido a que es un efluente abundante no aprovechado luego de extraerle la levadura termolizada.

Tabla 14: Insumos, materiales, equipos y reactivos

Insumos	Materiales		Equipos	Reactivos
Estiércol fresco de ganado vacuno	2 baldes (20 L)	21 placas Petri (base y tapa)	Potenciómetro	Soluciones buffer de pH 7,01 y 4,01
Efluente del proceso de fermentación cervecera	30 envases (1 L)	1 plumón indeleble	Conductímetro	NaOH (0,1 N)
Melaza de caña	5 frascos con tapa	1 pliego de papel filtro	Estufa Eléctrica	Agua destilada
Bio-lac	5 frascos de boca ancha con tapa	3 Pipetas graduadas	Autoclave	Agua de mesa
Semillas de lechuga	100 bolsas (10x15)	3 Bombillas graduada	Prensa manual	Alcohol 95°
	10 bolsas de basura	6 probetas graduada	Balanza analítica	
	1 mandil	1 piceta	Balanza comercial	
	1 caja de mascarillas (50 u)	1 fiola de 1 L	Taladro	
	1 caja de guantes de nitrilo (50 u)	1 bureta		
	Ligas de hule (100 u)	6 vasos de precipitado de 50 ml		
	5 rollos de papel toalla	1 agitador magnético		
	3 m de organza	1 cámara fotográfica		
		Útiles de escritorio		

FUENTE: Elaboración Propia

3.4. Metodología de la investigación

El presente trabajo de investigación se desarrolló en 2 etapas:

Primera Etapa: Fermentación a escala laboratorio

En esta etapa, se evaluó los efectos de los distintos tratamientos sobre la Mezcla Base, principalmente en lo que respecta a pH y acidez (indicadores de la fermentación homoláctica). También se evaluaron las propiedades organolépticas y presencia de mohos y levaduras. Al finalizar se procesaron los datos y siguiendo los criterios establecidos en la Tabla 18 se determinó el mejor tratamiento. En la Figura 6, se muestra un esquema de las actividades ejecutadas la primera etapa.

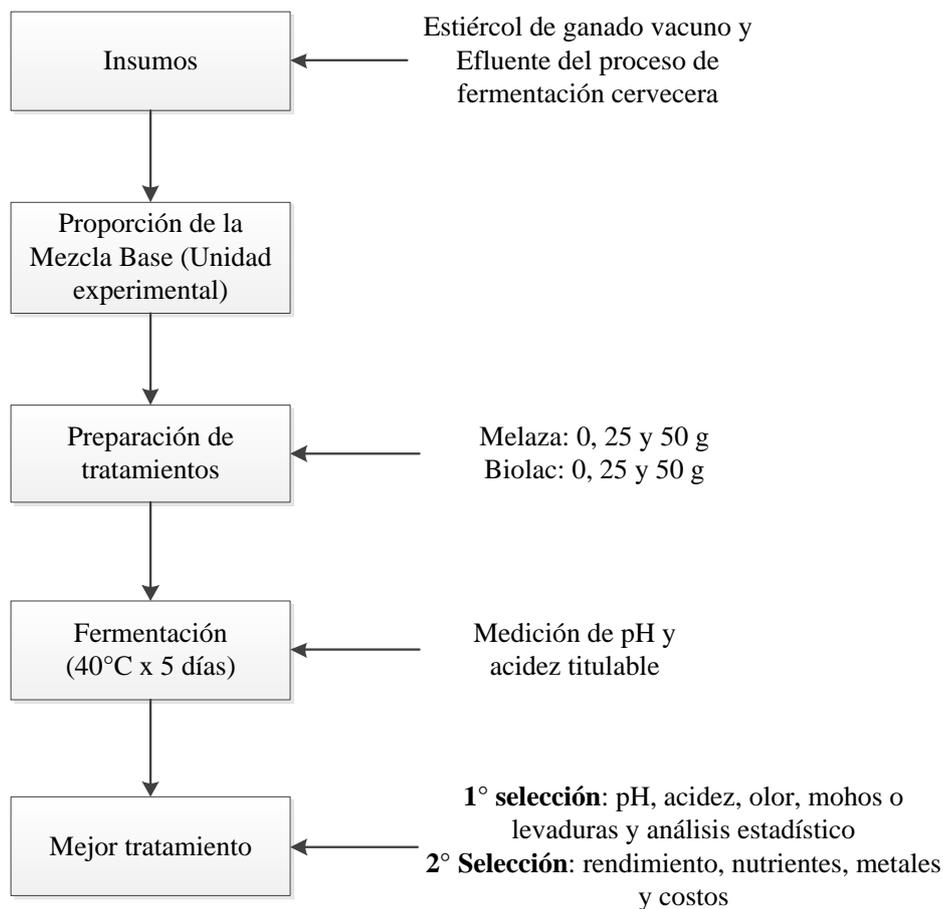


Figura 6: Procedimiento experimental de la primera etapa (escala laboratorio)

FUENTE: Elaboración Propia

Los detalles de esta etapa se muestran a continuación:

3.4.1. Análisis de pH y acidez titulable de los tratamientos (escala laboratorio)

A. Acondicionamiento de los Insumos

En el acondicionamiento, se determinó que la mejor manera de trabajar con los insumos sería mediante la mezcla, pues se daría un adecuado aprovechamiento, homogenización y manejo de los insumos en evaluación. Asimismo, era importante conocer la proporción de mezcla que presente mejores condiciones iniciales. Para ello, se prepararon diferentes proporciones del estiércol vacuno y el efluente cervecero y se hizo una evaluación de propiedades organolépticas como: color, olor y consistencia, y también se midió pH.

Tabla 15: Proporción de los insumos evaluados

Estiércol vacuno	Efluente cervecero
1	1
1	0,75
1	0,5
0,5	1
0,75	1

FUENTE: Elaboración Propia

Con base a investigaciones anteriores, como la de Holguín *et al.* (2009), Buchelli (2014), Quiñonez (2016); Egúsqüiza (2017), se determinó las características que debía reunir la mezcla para ser considerada como aceptable, las cuales se detallan en la Tabla 16. La mezcla seleccionada representó la unidad experimental en evaluación y se denominó Mezcla Base (MB).

Tabla 16: Parámetros de análisis organoléptico para las proporciones en evaluación

Propiedad organoléptica	Calificación	
	Aceptable	No aceptable
Olor	Moderado	Fétido, putrefacto
Consistencia	Cremosa	Pastosa, semilíquida
Color	Oscura	Clara

FUENTE: Elaboración Propia

B. Preparación de los tratamientos

Con el fin de determinar la mejor combinación de melaza y Bio-lac, aquella que genere mejores resultados en la fermentación de la mezcla, se evaluaron 9 tratamientos con 3 repeticiones. Estos se generaron a partir de la combinación de 3 niveles de melaza y Bio-lac (0, 25 y 50 g). En la Tabla 17, se muestra los tratamientos.

Tabla 17: Composición gravimétrica de los tratamientos evaluados

Tratamientos			Unidad Experimental	Peso Final (g)
Notación	Melaza (g)	Bio-lac (g)	Mezcla Base (g)	
T1 (control)	0	0	500	500
T2	0	25	500	525
T3	0	50	500	550
T4	25	0	500	525
T5	25	25	500	550
T6	25	50	500	575
T7	50	0	500	550
T8	50	25	500	575
T9	50	50	500	600

FUENTE: Elaboración Propia

Los tratamientos se prepararon en envases de plástico de 1 kg de capacidad. Se agregó 500 g de la Mezcla Base en 27 envases (9 tratamientos x 3 repeticiones) y se aplicaron los tratamientos de forma aleatoria mediante un sorteo. Se agregó la melaza y Bio-lac en ese

orden. Se homogenizó con una bagueta, se midió el pH y se colectó la muestra para la determinación de acidez, dichos valores correspondieron al día cero. Para lograr el ambiente anaerobio se cubrió con plástico todos los envases procurando eliminar todo el aire posible y se cerró, finalizando con el rotulado según tratamiento y repetición.

Todos los envases fueron incubados en una estufa a 40 °C por cinco días (120 horas). Estos se sacaban solo para la medición de pH y la colecta de muestra para la determinación de acidez e inmediatamente eran devueltos.

C. Determinación de pH

La medición de pH de las muestras se hizo de manera directa usando el potenciómetro HI-8424. Previamente el equipo se calibró usando soluciones buffer de pH 4,0 y 7,0 siguiendo ese orden. La medición se realizó por inmersión del electrodo en la muestra homogenizada, se esperaba hasta que el valor se estabilice y aquel que permaneciera por 10 segundos es el que se tomaba como el pH de la muestra. El electrodo era enjuagado entre cada medición.

D. Determinación de Acidez Titulable

El porcentaje de acidez titulable de las muestras se determinó mediante el método estandarizado 942.15 de la AOAC (2016).

Siguiendo los lineamientos de esta metodología, se diluyó 5 g ($\pm 0,1$) de muestra en 50 ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer. Se tomó una alícuota de 20 ml y se tituló con NaOH 0,1N hasta valores superiores a 8,1, cuidando de agregar gotas enteras para evitar que fracciones de gota permanecieran en la bureta. Se interpoló los datos para la valoración de 8,1, considerando el rango $8,1 \pm 0,2$. Los datos se reemplazaron en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ acidez titulable} = \frac{G \times N \times f}{m} \times 100$$

Donde:

G: Gasto de NaOH (ml)

N: Normalidad de NaOH

M: Masa de la muestra (gramos)

f : factor de conversión para ácido láctico equivalente a 0,09

La acidez titulable se expresa como ácido láctico, considerando que toda la acidez es debido al ácido láctico. De esta forma 1 meq de NaOH gastado en la titulación equivale a 1 meq de ácido láctico, que a su vez corresponde a 0,09 g de ácido láctico (90 g/mol). El resultado final expresa los gramos de ácido láctico por cada 100 g de muestra (Egúsquiza 2017).

3.4.2. Determinación del mejor tratamiento

Los nueve tratamientos se evaluaron considerando dos etapas de selección y los criterios mostrados en la Tabla 18.

En la primera etapa de selección, se consideraron los criterios considerados por García (2008): pH, acidez, olor, microorganismos y la prueba estadística, la calificación de los mismos se hizo en base a investigaciones anteriores (Holguín *et al.* 2009; Peralta 2010; Román 2012; Quiñonez 2016).

En la segunda etapa de selección, se analizaron los tres tratamientos obtenidos del primer proceso de selección. Los criterios evaluados fueron: rendimiento, contenido de nutrientes y metales y costos de producción. El procedimiento para separar los componentes y cómo se determinó el rendimiento se detalla en el acápite secciones 3.4.4 (E) y 3.4.5 (E). El contenido de nutrientes y metales se determinó en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes (LASPAF) siguiendo la metodología descrita en la Tabla 20 y los costos de producción se calculó considerando los factores variables, ya que los factores fijos eran comunes a todos los tratamientos.

Tabla 18: Criterios para la determinación del mejor tratamiento

Parámetro	Calificación	
	Aceptable	Inaceptable
Primera Selección		
pH (Día 5)	1: ≤ 4	2: >4
Acidez (Día 5)	1: $2 \leq \text{Acidez} \leq 4$	2: Acidez <2
Olor	1: Agradable: melaza (dulce) 2: Ligeramente alcohólico (fermentado)	3: Desagradable: estiércol y/o fermentado intenso 4: Putrefacto
Microorganismos como mohos o levaduras	1: Ausencia	2: Presencia
Análisis Estadístico	1: ANOVA significativo ($\alpha=0,05$) 2: Mejor(es) tratamiento(s) con la Prueba F ($\alpha=0,05$) ¹	3: ANOVA no significativo ($\alpha=0,05$) 4: Peor(es) tratamiento(s) con la Prueba F ($\alpha=0,05$) ¹
Segunda Selección		
1 valor(es) más alto(s), 2 valor(es) intermedio(s), 3 valor(es) más bajo(s)		
Rendimiento	1	2 y 3
Contenido de nutrientes	1	2 y 3
Metales	3	1 y 2
Costos	3	1 y 2

FUENTE: Elaboración Propia

Nota:

¹ Mejor(es): aquellos que generen menor pH y mayor acidez.

Peor(es): aquellos que generen mayor pH y menor acidez

A. Análisis estadístico para la elección del mejor tratamiento

Al quinto día, los valores de pH y acidez de los 27 biofermentos (nueve tratamientos por triplicado) se analizaron mediante un Análisis de Varianza (ANVA), bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), con el fin determinar si existían diferencias significativas entre tratamientos. Significativo el ANVA se aplicó la prueba de diferencia significativa mínima (LSD Fisher) que compara la media de los tratamientos y permite determinar el mejor o los mejores tratamientos, según sea el caso. El nivel de significancia usado para todos los análisis fue de 5 por ciento y se empleó el software libre InfoStat.

Segunda Etapa: Fermentación a escala piloto

En esta etapa, se replicó a escala piloto el mejor tratamiento determinado en la primera etapa. Antes de ello se hizo la caracterización físico-químico, microbiológica y parasitológica de la Mezcla Base y de sus constituyentes. Al fin del proceso, también se realizaron los mismos análisis al producto (biofertilizante). Adicionalmente se obtuvo un subproducto sólido al cual solo se determinó las características físico-químicas y contenido de nutrientes y metales.

Finalmente, se hizo una evaluación de la fitotoxicidad del biofertilizante mediante la prueba de toxicidad con *Lactuca sativa L.* (lechuga).

En la Figura 7, se muestra un esquema de las actividades desarrolladas en la segunda etapa.

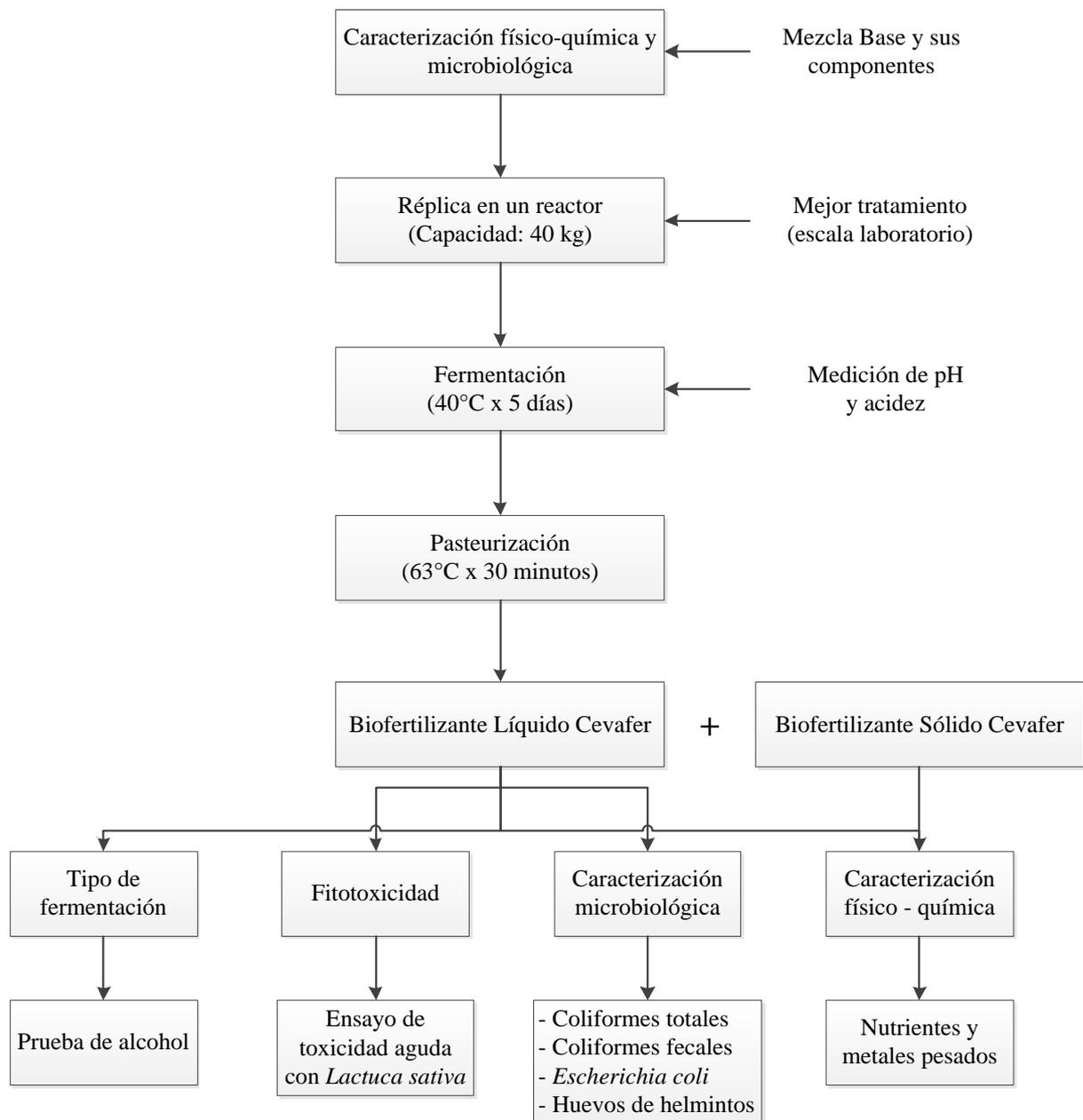


Figura 7: Procedimiento experimental de la segunda etapa (escala piloto)

FUENTE: Elaboración Propia

A continuación se dará mayor detalle de esta etapa.

3.4.3. Evaluación de las características iniciales de los insumos

Estos análisis se realizaron en esta etapa para saber las condiciones iniciales y compararlas con el producto obtenido luego de la fermentación (biofertilizante).

A. Caracterización físico-química

Con el propósito de conocer las características físicas, composición nutricional y de metales se envió una muestra del estiércol vacuno, efluente cervecero, Mezcla Base y Mezcla Global al Laboratorio de Análisis de Suelos, Agua y Fertilizantes (LASPAF) de la Facultad de Agronomía de la UNALM. Mayor detalle de estos análisis se muestra en la Tabla 20.

Como se mencionó anteriormente, la Mezcla Base correspondía a la combinación del estiércol vacuno y efluente cervecero en igual proporción (1:1). En cuanto a la Mezcla Global, esta era la mezcla final resultante de la combinación de la Mezcla Base con la melaza y el Bio-lac, de acuerdo a las proporciones del mejor tratamiento determinadas en la primera etapa (20:2:1).

B. Caracterización microbiológica

La carga microbiana del estiércol vacuno, efluente cervecero y Mezcla Base se determinó en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología “Marino Tabusso” del Departamento de Biología de la UNALM y en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Zootecnia de la UNALM. Los detalles de los análisis considerados se muestran en la Tabla 21.

3.4.4. Análisis de pH y Acidez Titulable de la réplica del mejor tratamiento (escala piloto)

A. Preparación de la réplica

El mejor tratamiento de la primera etapa (escala laboratorio) se replicó a escala piloto en un reactor de acero inoxidable de 40 kg. Los componentes se ingresaron en el siguiente orden: Mezcla Base (estiércol vacuno: efluente cervecero; 1:1, m/m), Melaza y Bio-lac, siguiendo la proporción 20:2:1 en kilogramos. Previamente se preparó la Mezcla Base combinando 10 kg de estiércol vacuno y 10 kg de efluente cervecero (ambos frescos), estos se homogenizaron con un taladro acondicionado con unas paletas de agitación, de esta manera se obtuvo los 20 kg de Mezcla Base.

Una vez que los componentes estaban en el interior se mezclaron completamente con el taladro agitador, se hizo la medición de pH y se tomó la muestra para determinación de acidez, dichos valores correspondieron al Día 0. Finalmente, se cubrió con plástico para generar las condiciones anaerobias.

B. Análisis de pH

Se hizo un monitoreo diario de pH durante 5 días, siguiendo la metodología citada en el acápite 3.4.1 (C)

C. Análisis de acidez

Igual que el caso del pH, se hizo un monitoreo diario de acidez durante cinco días considerando lo descrito en el acápite 3.4.1 (D)

D. Pasteurización

La pasteurización es el proceso térmico aplicado a líquidos (usualmente alimentos) con el fin de destruir los agentes patógenos que pueda contener, además de otros microorganismos, lo que incrementa la vida útil de estos. Este proceso causa mínimos cambios químicos, físicos y organolépticos (Barrera 2012; Universidad de Zulia 2003). Sin embargo, la pasteurización no es sinónimo de esterilización, puesto que en ella no se destruyen todos los microorganismos (excepto en el caso de la ultrapasteurización). La pasteurización no destruye las esporas de los microorganismos, ni elimina todas las células de microorganismos termofílicos. Existen tres procesos bien diferenciados y se muestran en la Tabla 19.

Tabla 19: Métodos de pasteurización

Método	Temperatura	Tiempo
Pasteurización lenta, baja o VAT (Low Temperature Long Time - LTLT)	63 °C	30 m
Pasteurización alta o pasteurización instantánea (High Temperature Short Time - HTST)	72 °C	15 s
Pasteurización o Ultrapasteurización (Ultra High Temperatura - UHT)	138 °C	2 s

FUENTE: Elaborado a partir de Barrera (2012) y Cuno (2015).

El producto obtenido de la fermentación se pasteurizó para garantizar su inocuidad microbiológica. Se optó por la pasteurización lenta debido a que era el proceso más simple y práctico, y por la disponibilidad de materiales y equipos en el laboratorio. Los otros procesos de pasteurización requerían equipos más sofisticados.

Cuando culminó el proceso de fermentación (quinto día) se realizó la pasteurización lenta. El reactor se elevó a 63 °C y se mantuvo por un lapso de 30 min, inmediatamente después, se disminuyó a temperatura de ambiente mediante un flujo de agua fría a través del reactor.

E. Cosecha del biofertilizante

Concluida la pasteurización, la cosecha del biofermento consistió en la extracción del líquido (biofertilizante), producto de la fermentación, mediante presado mecánico, quedando un subproducto sólido. Para este proceso se utilizó una prensa manual, se iba vaciando cantidades de 1 L aproximadamente de biofermento en la organza que estaba al interior de un cilindro con orificios, se amarraba y se presionaba con las manos hasta filtrar la mayor cantidad de líquido posible y finalmente se presionaba con la prensa. El biofertilizante se iba colectando en un balde y el sólido en una bolsa. En este proceso de consideró la asepsia de los materiales y utensilios utilizados, con el fin de evitar una contaminación cruzada, según la recomendación de (Gordón 2013). Por razones prácticas y de fácil reconocimiento, al producto se denominó Biofertilizante Líquido Cevafer y al subproducto Biofertilizante Sólido Cevafer.

3.4.5. Evaluación de la calidad del biofertilizante obtenido de la escala piloto

Una vez culminada la cosecha se envió el biofertilizante (Biofertilizante Líquido Cevafer) y el subproducto (Biofertilizante Sólido Cevafer) a los respectivos laboratorios para los análisis correspondientes. Adicionalmente, se consideraron otros indicadores como rendimiento, estabilidad, inocuidad y potencial comercial para evaluar la calidad de Biofertilizante Líquido Cevafer.

A. Caracterización físico-químicas

Se envió una muestra de Biofertilizante Líquido Cevafer y Biofertilizante Sólido Cevafer al Laboratorio de Análisis de Suelos, Agua y Fertilizantes (LASPAF) de la Facultad de Agronomía de la UNALM, donde se realizó un análisis de las características físico-químicas, de los nutrientes (N, P, K, CaO, MgO, Na, Fe, Cu, Zn, Mn, B) y de los metales (Pb, Cd y Cr).

Tabla 20: Información sobre el análisis físico-químico

Parámetros		Técnica	Lugar
Características físico-químicas	pH, CE, materia orgánica disuelta	Potenciometría, conductimetría, Walkey y Black p dicromato de potasio respectivamente	Laboratorio de Análisis de Suelos, Agua y Fertilizantes (LASPAF)
Macro-nutrientes	N, P ₂ O ₅	Kjedahl, amarillo de vanadato molibdato respectivamente	
	K ₂ O, CaO, MgO, Na	Espectometría de absorción atómica	
Micro-nutrientes	Fe, Cu, Zn, Mn		
	B	Curmina	
Metales pesados	Cr, Pb, Cd	Espectometría de absorción atómica	

FUENTE: LASPAF (2017)

Se comparó la composición nutricional del Biofertilizante líquido Cevafer con otros grupos de fertilizantes. El primer grupo estaba compuesto por biofertilizantes obtenidos por

fermentación homoláctica de estiércol de distintos animales; el segundo, estaba formado por bioles obtenidos por digestión anaerobia y el tercero estaba constituido por fertilizantes comerciales.

Asimismo, con el fin de conocer el potencial del subproducto sólido como abono, se comparó con otros subproductos sólidos, provenientes de la fermentación homoláctica de estiércol de distintos animales, y con un abono comercial.

En la actualidad aún no se ha desarrollado normativa sobre límites máximos permisibles de metales en abonos orgánicos líquidos, es por ello que se comparó con normativa internacional referida a compost. Considerando que los biofertilizantes líquidos también se pueden aplicar vía radicular (Carhuancho 2012). En el caso del Biofertilizante Líquido Cevafer, los valores tuvieron que ser convertidos para poder ser comparados. Se transformó de mg/L a mg/kg considerando una densidad de $1,04 \text{ g/cm}^3$ (Anexo 8).

B. Caracterización microbiológica

Se colectó una muestra del biofertilizante antes de la pasteurización y una muestra del Biofertilizante Líquido Cevafer (pasteurizado) para los análisis microbiológicos. Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología “Marino Tabusso” del Departamento de Biología de la UNALM y en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Zootecnia de la UNALM. En la Tabla 21 se muestra los detalles de las pruebas realizadas.

Tabla 21: Información sobre el análisis microbiológico

Parámetros		Técnica	Lugar
Bacterias ¹	Coliformes totales Coliformes fecales <i>Escherichia coli</i> <i>Lactobacillus</i> Salmonella	International Commision on Microbiological Specifications for Foods ICMS (1983)	Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología “Marino Tabusso”
Hongos ¹	Mohos y levaduras		
Parásitos ²	Helmintos gastrointestinales	Técnica de Mc Master y Sedimentación para descarte de helmintos gastrointestinales	Laboratorio de Parasitología

FUENTE: ¹Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología “Marino Tabusso” (2017)

²Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Zootecnia-UNALM (2017)

Con la finalidad de un rápido y fácil reconocimiento por el laboratorio, al biofertilizante antes de la pasteurización se denominó Biofertilizante Líquido Cevafer (sin pasteurización) y al biofertilizante posterior a la pasteurización, Biofertilizante Líquido Cevafer (con pasteurización). No obstante, para la presentación de resultados se mostrarán con los nombres correspondientes. El biofertilizante antes de la pasteurización será biofertilizante líquido (pre-pasteurización) y el biofertilizante posterior a la pasteurización, Biofertilizante Líquido Cevafer

C. Evaluación de características organolépticas

Por observación directa se evaluó el color, olor y consistencia del Biofertilizante líquido Cevafer.

D. Determinación del tipo de fermentación

Para conocer el tipo de fermentación en la réplica se envió una muestra de efluente cervecero y Biofertilizante Líquido Cevafer al Laboratorio de Servicios de Análisis Químico (LASAQ) de la Facultad de Ciencias de la UNALM, en la cual se determinó el contenido de alcohol. En estudios anteriores, los insumos no contenían alcohol, por lo que

con esta prueba se determinaba de forma inmediata el tipo de fermentación (por descarte). Sin embargo, en la presente investigación al inicio del proceso se tuvo un aporte de alcohol, que fue el efluente cervecero. Por ello, se envió una muestra de este para conocer el contenido alcohólico con el que partía el sistema.

Tabla 22: Información sobre el análisis químico de grado alcohólico

Parámetros	Técnica	Lugar
Grado alcohólico a 20 °C (%)	AOAC International Official Methods of Analysis 19 th Edition, 2012. 930.35Q	Laboratorio de Servicios de Análisis Químico (LASAQ)

FUENTE: LASAC (2017)

Con los datos obtenidos se realizó un balance teórico de grado alcohólico del sistema para saber si se generó alcohol en el proceso fermentativo. La Mezcla Global inició con un contenido de alcohol, proveniente del efluente cervecero. Por lo que, de haberse producido alcohol en el proceso fermentativo, el Biofertilizante Líquido Cevafer debió presentar un contenido de alcohol superior a lo registrado en el efluente. Según la existencia o no de alcohol en el proceso fermentativo se determinó si la fermentación fue del tipo heteroláctica u homoláctica respectivamente.

E. Rendimiento

Una vez culminado el proceso fermentativo se separó el sólido y líquido como se mencionó anteriormente. El rendimiento se determinó a partir de las cantidades obtenidas, considerando en el cálculo las muestras extraídas para la determinación de la acidez.

F. Estabilidad

Aún no existe un consenso en cuanto al concepto de estabilidad de un abono orgánico, incluso en el compost que es uno de los abonos más estudiados, desarrollados y que cuenta con normativas en muchos países. Wu *et al.*, citado por Soto y Meléndez (2003) definen estabilidad como «el grado de descomposición de la materia orgánica». En el caso del compost, se le puede considerar estable si no está sujeto a descomposición rápida y sus

nutrientes estén relativamente disponibles para la liberación al suelo. Tomando como referencia estas premisas, el Biofertilizante Líquido Cevafer sería catalogado como estable si logró descomponerse a materiales más estables, lo que impediría que continúe descomponiéndose, y favoreciendo que los nutrientes estén disponibles para las plantas.

Investigaciones como las de Uribe (2003); Soto y Meléndez (2004) y Artavia *et al.* (2010) han planteado pruebas para determinar la estabilidad del compost, tomando en cuenta las mismas se consideró las siguientes condiciones para considerar al biofertilizante líquido como estable.

Relación C/N

En base a la relación C/N propuesta para otros abonos se consideró un rango ideal entre 8 y 12 (Vázquez 2003; Uribe 2003; García-Serrano *et al.* 2009). Aunque, la disponibilidad de C depende del tipo de compuesto en que predomina el C, como lignina o polisacáridos, lo cual determina la resistencia a la descomposición y por tanto la disponibilidad de N. Valores elevados de C/N conllevan a una inmovilización de N, generando una competencia por éste en el suelo, entre los microorganismos y la planta (Acosta *et al.* 2012).

Actividad microbiana

Se tomó en cuenta los análisis microbiológicos del Biofertilizante Líquido Cevafer y el comportamiento de pH y acidez. Una actividad microbiana baja o nula indica que la descomposición de materia orgánica es baja o ha culminado.

G. Inocuidad

La inocuidad de un abono se define como el atributo de no causar daño a la salud humana. Los principales riesgos provienen de los microorganismos patógenos y el contenido de metales (Soto y Meléndez 2004). En base a los valores de estos parámetros, se determinó la inocuidad del Biofertilizante Líquido Cevafer.

H. Análisis Costo-Beneficio

Se realizó este análisis considerando una producción 100 L (~100 kg) para tener un panorama del potencial comercial de este biofertilizante. Los gastos de producción incluyeron los insumos, materiales, mano de obra y energía, tomando en cuenta precios y cantidades gravimétricas. En los casos en los que costos eran por unidades de volumen, se realizaron los cambios respectivos considerando las densidades.

3.4.6. Evaluación fitotóxica del biofertilizante

Para saber los efectos fitotóxicos del Biofertilizante Líquido Cevafer y la dosis en la que no afectaría la germinación, se realizó el bioensayo de toxicidad aguda con *Lactuca sativa L.* Las condiciones más importantes de esta prueba se muestran la Tabla 23.

Tabla 23: Consideraciones recomendadas para la prueba de toxicidad aguda con *Lactuca sativa L.*

Condición	Especificaciones
Tipo de ensayo	Estático
Temperatura	20 ± 2 °C
Calidad de luz	Oscuridad
Volumen de la solución de prueba	4 ml
Agua de dilución	Agua de pozo, estanque o regadío
Número de semillas por réplica	20
Número de réplicas	3
Duración de la prueba	120 horas
Efecto medido	Inhibición en la elongación de la radícula e hipocotilo. Inhibición en la germinación
Resultado Final	PGR, CRR y IG

FUENTE: Sobrero y Ronco (2008)

En esta prueba, se usó semillas de lechuga (*Lactuca sativa L.*) variedad Tasna del Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición mineral de la UNALM. Se siguió el siguiente procedimiento:

A. Preparación de diluciones

Se trabajaron las siguientes diluciones: 0:100 (control), 0,001:100, 0,01:100, 0,1:100, 1:100, 10/100, 100/100 (puro). El control se preparó con agua de pozo y las demás diluciones también se hicieron con esta agua.

B. Desarrollo de la prueba

En una placa Petri, se colocó papel filtro y se agregó 4 ml de cada dilución, evitando que se formen bolsas de aire. Con una pinza se colocaron 20 semillas dejando suficiente espacio entre las semillas para permitir la elongación de las raíces. Las placas fueron tapadas y colocadas en bolsas plásticas para evitar la pérdida de humedad. Finalmente se colocó en una zona oscura por 5 días (120 horas). Cada dilución tuvo 3 repeticiones.

C. Medida de los puntos finales de evaluación de la fitotoxicidad

Cada punto final se evaluó comparando la respuesta de los organismos expuesto a una determinada dilución con respecto al control. Terminado el periodo de exposición (120 horas) se procedió a cuantificar el efecto en la germinación y en la elongación de la radícula y del hipocotilo. Para ello se determinó el número de semillas germinadas, se midió el hipocotilo y la radícula con papel milimetrado. Los valores obtenidos se reemplazaron en las siguientes ecuaciones:

$$PGR = \frac{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas en el extracto}}{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas en el control}} \times 100$$

$$CRR = \frac{\text{Elongación de radículas en el extracto}}{\text{Elongación de radículas en el control}} \times 100$$

$$IG = \frac{PGR \times CRR}{100}$$

De acuerdo a Zucconi *et al.* citado por Varnero *et al.* (2007) el criterio de interpretación del Índice de Germinación (IG) es como sigue:

$IG \geq 80 \%$	No hay sustancias fitotóxicas o están en muy baja concentración (baja fitotoxicidad)
$50 \leq IG \leq 80 \%$	Presencia moderada de sustancias fitotóxicas (moderada fitotoxicidad)
$IG \leq 50 \%$	Fuerte presencia de sustancias fitotóxicas (alta fitotoxicidad)

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis de pH y acidez titulable (%) en los tratamientos (escala laboratorio)

4.1.1. Acondicionamiento de las Insumos -Mezcla Base (MB)

Los resultados de pH y evaluación organoléptica de las 5 proporciones evaluadas se muestran en la Tabla 24.

Tabla 24: Proporciones evaluadas para la Mezcla Base (MB)

Proporción		Valor de pH	Evaluación organoléptica
Estiércol vacuno	Efluente cervecero		
1	1	4,85	Olor a chicha de jora (moderado), coloración verde petróleo, consistencia cremosa
1	0,75	5,15	Olor fétido, coloración verde petróleo, consistencia pastosa ligeramente líquida
1	0,5	5,30	Olor fétido, coloración verde petróleo, consistencia pastosa
0,5	1	4,32	Olor a chicha de jora (intenso), coloración verde petróleo, consistencia líquida
0,75	1	4,74	Olor a chicha de jora (intenso), coloración verde petróleo, consistencia líquida

FUENTE: Elaboración Propia

El color verde petróleo de todas de las proporciones analizadas se debió principalmente al estiércol, la coloración del efluente cervecero era de marrón claro y no fue muy marcado en comparación al verde oscuro del estiércol vacuno.

En el caso del olor, las proporciones 1:0,5 y 1:0,75 de ganado de estiércol vacuno y efluente respectivamente, presentaron un olor fétido a causa del mayor porcentaje de estiércol; mientras que las proporciones 0,5:1 y 0,75:1 tuvieron un olor a producto fermentado, parecido al de la chicha de jora, éste era bien intenso y se podía sentir a distancia.

La consistencia para el caso de las proporciones 1:0,5 y 1:0,75, de ganado de estiércol vacuno y efluente respectivamente, fueron pastosas debido a la mayor presencia del estiércol, siendo la primera más pastosa, mientras la otra era ligeramente más líquida, ofrecía menos resistencia a la homogenización. En el caso de las proporciones 0,5:1 y 0,75:1, ambas fueron líquidas, pues tenían mayor porcentaje del efluente cervecero.

El pH fue variable, los valores más ácidos fueron aquellos constituidos por una mayor proporción de efluente cervecero, debido a que éste tenía un pH ácido, tal fue el caso de las proporciones 0,5:1 y 0,75:1 de estiércol de ganado vacuno y efluente cervecero respectivamente. Mientras que los mayores valores de pH fueron los que contenían mayor proporción el estiércol vacuno, cuyo pH fue más alto que el efluente cervecero. Los ejemplos de este caso son las proporciones 1:0,5 y 1:0,75 de estiércol de ganado vacuno y efluente cervecero respectivamente

La proporción 1:1 fue la que reunió mejores condiciones en cuanto a pH y a condiciones organolépticas. El pH fue un valor intermedio, ideal para notar el efecto de la fermentación homoláctica. En cuanto a propiedades organolépticas, el olor fue más tolerable en comparación a las otras proporciones, el color fue verde petróleo y la consistencia fue cremosa, características recomendadas por anteriores investigaciones tales como Bucheli (2014) y Quiñonez (2016). Además, ésta proporción permitía la máxima utilización de ambos subproductos, pues estaban en igual proporción. Por las razones señaladas se optó por la proporción 1:1 de ganado de estiércol vacuno y efluente cervecero, respectivamente, para la Mezcla Base (MB).

4.1.2. Análisis de pH y acidez

Los valores de pH de los insumos de los tratamientos (melaza y Bio-lac), así como de la unidad experimental (Mezcla Base) generaron una influencia directa sobre el pH global. Los resultados se muestran en la Tabla 25.

Tabla 25: Valores de pH de los componentes trabajados

Componente		pH
Tratamiento	Melaza	4,84
	Bio-lac	3,77
Unidad experimental	Mezcla Base (MB)	5,49

FUENTE: Elaboración Propia

El pH de la melaza fue ligeramente ácido, con un valor de 4,84, aunque fuera del rango 5,5-6,5 señalado por Swan y Karalazos citado por Fajardo y Sarmiento (2007). La ligera acidez de la melaza se debe a la presencia de ácidos alifáticos y el bajo pH de la clarificación (Swan y Karalazos citado por Fajardo y Sarmiento, 2007). La melaza es la principal fuente energética para la fermentación de los abonos orgánicos. Favorece la multiplicación de la actividad microbológica; es rica en potasio, calcio y magnesio; y contiene micronutrientes, principalmente boro (Restrepo 2001).

El valor de pH del consorcio microbiano Bio-lac fue de 3,77. Este consorcio está compuesto en gran proporción por bacterias ácidos lácticas del género *Lactobacillus* quienes tienen una alta tolerancia a pH por debajo de 4,0, y producen ácidos orgánicos volátiles de cadena corta, principalmente ácido láctico, y en algunos casos, ácido acético y propiónico. Estas características generan el carácter ácido de este consorcio.

Es importante recordar que el pH y la acidez están íntimamente relacionados, pero no son iguales. La acidez está asociada con los grupos carboxílicos e hidrogeniones presentes. Normalmente se determina mediante titulación con un álcali fuerte, como NaOH, hasta el viraje de un indicador como fenolftaleína o eléctricamente con un potenciómetro (como se trabajó en esta investigación), recibe la denominación de acidez titulable y representa el valor del porcentaje del ácido predominante, para el caso de esta

investigación, del ácido láctico. El pH, en cambio, mide la presencia de hidrogeniones (H^+). Los ácidos fuertes, como el HCl o H_2SO_4 , se encuentran totalmente disociados en solución, por consiguiente un mol de ácido genera un mol de hidrogeniones, teniendo un efecto severo en el pH. Los ácidos débiles, como el ácido láctico, están parcialmente disociados, por consiguiente un mol de éste ácido no genera, en medio acuoso, un mol de hidrogeniones (H^+), sino una fracción, dependiendo del grado de disociación. De esta forma, los ácidos débiles contribuyen a la acidez pero afectan poco el pH (Barreiro y Sandoval 2006). No obstante, si se sigue un proceso de fermentación homoláctica si es posible influir en el pH, dada la alta cantidad de ácido láctico que se genera, pues se puede llegar hasta un rendimiento de 90 por ciento de producción de ácido láctico a partir de glucosa (Frioni, 2005).

La Tabla 26 y Tabla 27 presentan los valores promedio de pH y acidez como ácido láctico (%) de los tratamientos evaluados, respectivamente. Los valores de pH y acidez iniciales de cada tratamiento fueron influenciados directamente por el pH y la concentración de melaza y Bio-lac, dando valores diferentes desde el inicio (día cero). En el caso del pH, los valores fluctuaron entre 5,21 (T9) y 5,49 (T1); mientras que la acidez se encontró en el rango 0,49 (T1) y 0,70 (T9). Los menores valores de pH y mayores valores de acidez los presentaron los tratamientos T8 y T9, debido a las mayores proporciones de melaza y Bio-lac.

Tabla 26: Valores promedio de pH de los tratamientos (biofermentos)

Tratamiento			Tiempo (días)					
Notación	Melaza (g)	Bio-lac (g)	0	1	2	3	4	5
T1 (control)	0	0	5,49 ± 0,00	3,81 ± 0,01	3,80 ± 0,01	3,76 ± 0,00	3,75 ± 0,01	3,77 ± 0,01
T2	0	25	5,44 ± 0,00	3,76 ± 0,02	3,76 ± 0,01	3,72 ± 0,01	3,68 ± 0,01	3,72 ± 0,00
T3	0	50	5,39 ± 0,01	3,72 ± 0,01	3,72 ± 0,02	3,68 ± 0,02	3,65 ± 0,02	3,69 ± 0,01
T4	25	0	5,41 ± 0,01	3,69 ± 0,02	3,53 ± 0,01	3,49 ± 0,03	3,46 ± 0,02	3,44 ± 0,03
T5	25	25	5,33 ± 0,01	3,62 ± 0,02	3,53 ± 0,02	3,48 ± 0,01	3,45 ± 0,01	3,43 ± 0,01
T6	25	50	5,29 ± 0,01	3,64 ± 0,02	3,54 ± 0,01	3,46 ± 0,01	3,45 ± 0,01	3,43 ± 0,02
T7	50	0	5,30 ± 0,01	3,64 ± 0,02	3,55 ± 0,01	3,47 ± 0,01	3,47 ± 0,01	3,43 ± 0,01
T8	50	25	5,25 ± 0,00	3,62 ± 0,02	3,53 ± 0,02	3,46 ± 0,02	3,47 ± 0,01	3,40 ± 0,01
T9	50	50	5,21 ± 0,00	3,74 ± 0,01	3,51 ± 0,02	3,44 ± 0,02	3,46 ± 0,01	3,40 ± 0,01

FUENTE: Elaboración Propia

Tabla 27: Valores promedio de acidez como ácido láctico (%) de los tratamientos (biofermentos)

Tratamiento			Tiempo (días)					
Notación	Melaza (g)	Bio-lac (g)	0	1	2	3	4	5
T1 (control)	0	0	0,49 ± 0,02	1,66 ± 0,04	1,75 ± 0,02	1,90 ± 0,04	1,88 ± 0,02	1,95 ± 0,05
T2	0	25	0,51 ± 0,04	1,74 ± 0,01	1,76 ± 0,01	1,86 ± 0,04	1,89 ± 0,04	1,98 ± 0,03
T3	0	50	0,53 ± 0,01	1,60 ± 0,10	1,74 ± 0,07	1,82 ± 0,04	1,84 ± 0,03	1,97 ± 0,04
T4	25	0	0,61 ± 0,04	2,00 ± 0,12	2,58 ± 0,11	2,51 ± 0,06	2,52 ± 0,10	2,60 ± 0,08
T5	25	25	0,64 ± 0,03	2,09 ± 0,01	2,64 ± 0,03	2,45 ± 0,04	2,59 ± 0,08	2,59 ± 0,07
T6	25	50	0,65 ± 0,01	2,03 ± 0,07	2,37 ± 0,05	2,46 ± 0,07	2,49 ± 0,05	2,53 ± 0,09
T7	50	0	0,67 ± 0,02	2,32 ± 0,10	2,42 ± 0,10	2,69 ± 0,08	2,88 ± 0,06	2,94 ± 0,10
T8	50	25	0,69 ± 0,03	2,21 ± 0,06	2,30 ± 0,06	2,62 ± 0,08	2,74 ± 0,04	2,85 ± 0,09
T9	50	50	0,70 ± 0,03	2,06 ± 0,08	2,46 ± 0,13	2,72 ± 0,01	2,74 ± 0,07	2,83 ± 0,03

FUENTE: Elaboración Propia

Las variaciones de pH y acidez de los tratamientos se muestran en la Figura 8 y Figura 9 respectivamente. La presencia de un medio anaeróbico y un sustrato adecuado son las condiciones ideales para la inmediata acción de los microorganismos productores de ácido láctico (Betancourt, citado por Aldón 2008). Esto se evidenció desde el primer día, con el descenso drástico de pH, en la que se logró valores menores a 4,00 (Figura 8), así como también en el incremento sustancial de la acidez (Figura 9). Similares resultados fueron reportados por Román (2012); Buchelli (2014) y Quiñonez (2016) quienes trabajaron con estiércol de otros animales y evidenciaron la disminución de pH (<4) y aumento de ácido láctico desde el primer día.

A partir del día dos (48 horas) se observa que el valor de pH fluctuó ligeramente, incluso se puede considerar que desde el día 3 fue estable, pues las variaciones fueron muy pequeñas. Por otra parte, la acidez también tuvo poca variación desde el día dos, siendo menor en los últimos días. En el caso de la acidez, es posible evidenciar una “mayor variación” en comparación a la del pH debido a que ésta lleva consigo la influencia de experimentador en su determinación, por lo que los valores son relativamente menos exactos que los del pH que se determina de forma directa.

A pesar de que el tratamiento control (T1) no contenía ninguno de los componentes en evaluación (0 g melaza, 0 g Bio-lac), se pudo observar una disminución de pH considerable desde el día 1, menor a 4,00, la que se mantuvo los días restantes. Esto se debe a la existencia de bacterias ácido lácticas en la Mezcla Base provenientes tanto del estiércol vacuno (Tabla 37) así como del efluente cervecero (Tabla 38). Esta misma explicación se puede dar al comportamiento de los tratamientos T4 y T7, quienes no contenían Bio-lac, pero mostraron valores de pH ácidos (<4) desde el día 1.

El comportamiento de pH (Figura 8) y de acidez (Figura 9) muestra que al pasar de los días se fueron diferenciando dos grupos, aquellos que no contenían melaza (T1, T2 y T3) y aquellos que si la contenían (T3 hasta T9). Si bien los valores de pH de los primeros llegaban a ser menores a 4,00 y se mantenían hasta el día 5, estos fueron relativamente mayores a los del otro grupo (que si contenían melaza); y en cuanto a la producción de ácido láctico, los valores del primer grupo fueron mucho menores. Esto se debe a que, por la ausencia de melaza (fuente de carbono), los *Lactobacillus* presentes en la Mezcla Base (Tabla 37) y Bio-lac (Tabla 12) consumieron la fuente de carbono de la Mezcla Base y

luego no tuvieron otra fuente de nutrientes para seguir produciendo ácido láctico y predominar en el medio (Buchelli 2014; Quiñonez 2016).

La presencia de sustratos, ya sea Mezcla Base y/o melaza, junto con condiciones anaerobias propiciaron la fermentación inmediata; lo cual se evidenció con hinchazón en las bolsas protectoras de los envases el día 1, siendo más marcada en aquellas que tenían más Bio-lac y melaza (T6, T8 y T9). El Bio-lac es un reavivador y activador de la fermentación láctica, considerado además como un acelerador fermentativo, dado que en pocos días, generalmente en cinco, puede generar una predominancia de *Lactobacillus*, dando como efecto una disminución de pH a valores menores a 4,00 (altamente ácido) resultado de la alta concentración de ácidos orgánicos (Peralta 2010; Román 2012). Es así que al término del día 5, la fermentación homoláctica permitió valores de pH por debajo de 4,00 en casi todos los tratamientos, siendo los más ácidos los correspondientes a T7, T8 y T9, y que, además, tuvieron los mayores porcentajes de ácido láctico.

La Figura 8 y Figura 9 muestra claramente la correspondencia entre acidez y pH, es decir a mayor acidez menor pH. Sin embargo, existe una distinción en cuanto a los tres últimos. El tratamiento T7 tuvo una mayor producción de ácido láctico en comparación con los tratamientos T8 y T9. A razón de ello, se esperaría que tuviera el menor valor de pH, pero tuvo un valor de pH ligeramente mayor que los otros dos. Los tres tratamientos tuvieron la misma cantidad de sustrato, tanto de melaza (50 g) como de Mezcla Base, la diferencia estuvo en la concentración de Bio-lac. Una posible explicación es que en el tratamiento T8 (50 g Bio-lac) pudiera haberse dado una competencia entre los microorganismos por los nutrientes, los presentes en el Bio-lac como en la Mezcla Base; mientras que en el tratamiento T7 (25 g Bio-lac) solo estaban presentes los *Lactobacillus* de la Mezcla Base, por tanto no tuvieron mayor competencia y pudieron formar más ácido láctico.

Los *Lactobacillus* mediante la síntesis de ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico, garantizan su predominancia en el medio, debido a que estos ácidos logran penetrar en la célula sin disociarse y dentro liberan los protones que alteran el pH de las células generando lisis de las mismas. Además, producen bacteriocinas, péptidos que inhiben cepas muy relacionadas a través de la desestabilización de su citoplasma (Frioni 2005). Incluso pueden controlar hongos como el *Fusarium* (CEDECO 2005).

La reducción del pH como consecuencia de la acumulación de ácido láctico y otros ácidos orgánicos también tiene un efecto inhibitorio de bacterias gram-positivas y gram-negativas. Mientras que las bacterias ácido lácticas continúan desarrollándose, debido a su tolerancia a pH ácidos, otras bacterias no pueden.

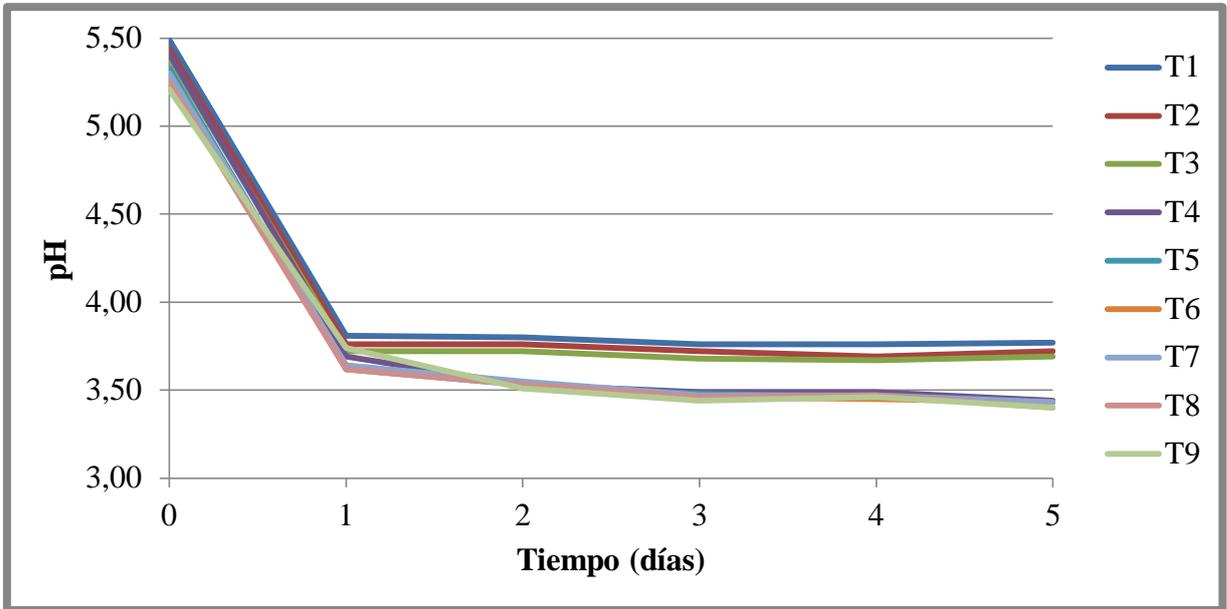


Figura 8: Comportamiento de la media del pH de los tratamientos

FUENTE: Elaboración Propia

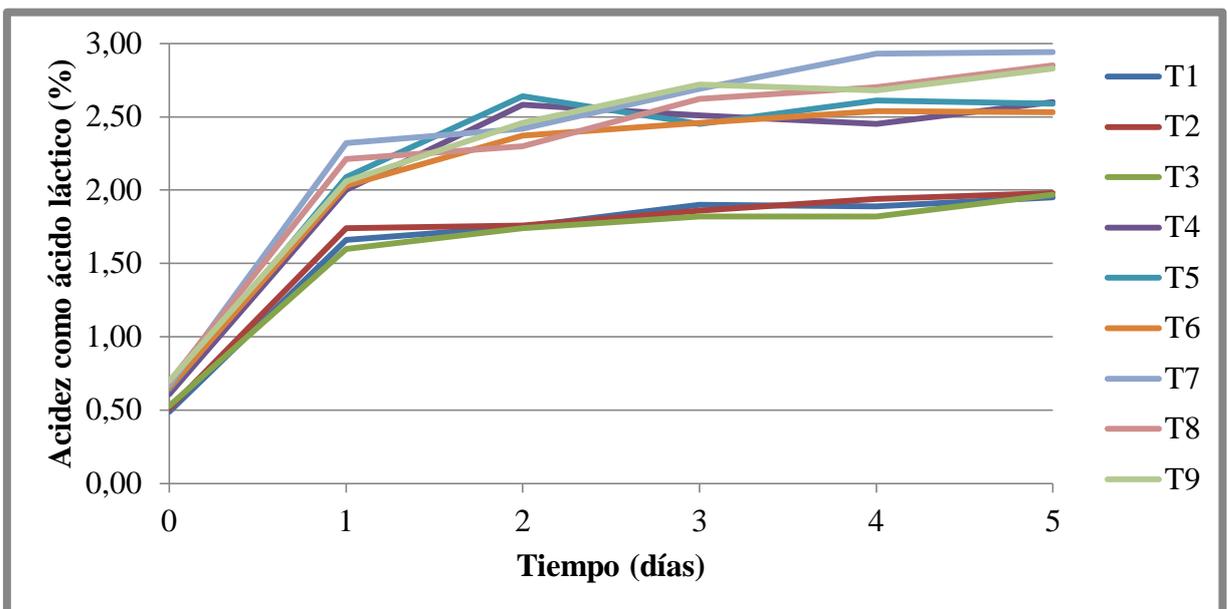


Figura 9: Comportamiento de la media de la acidez expresada como porcentaje de ácido láctico de los tratamientos

FUENTE: Elaboración Propia

En vista que todos los tratamientos tenían pH ácidos se puede asumir que gases como amoníaco y sulfuro de hidrógeno no estuvieron presentes. Barrington y García, citados por Cornejo (2011) sostienen que a pH ácido se inhibe la enzima ureasa (pH óptimo 7-10), por lo que no se forma amoníaco, mientras que la formación de sulfuro de hidrógeno disminuye a medida que se reduce el pH del medio.

4.2. Determinación del mejor tratamiento

4.2.1. Primera Selección

A. pH

Los valores de pH de todos los tratamientos al día 5 fueron menores a 4,00, tal como se muestra en la Tabla 26 y Figura 8. Esto debido a la acción del consorcio Bio-lac que formó ácidos orgánicos, en mayor proporción ácido láctico. También se puede considerar que la acidez del efluente cervecero contribuyó en cierta medida.

B. Acidez

La acidez de los primeros tres tratamientos (T1-control, T2 y T3) fue menor a 2,00 por ciento, debido a que, por la ausencia de melaza, las bacterias ácidas lácticas consumieron los primeros días los carbohidratos presentes en la Mezcla Base y luego no tuvieron nutriente. Mientras los demás mostraron una acidez mayor a 2,00 por ciento, gracias a la presencia de la fuente de carbono soluble (melaza). Mayor detalle en la Tabla 27 y Figura 9.

C. Olor

El Olor de los tratamientos T1, T2 y T3 fue desagradable. Estos tratamientos carecieron de melaza, componente que otorgó un olor agradable a las muestras, por lo que la Mezcla Base fue la que caracterizó este fétido olor, pues estaba compuesto de estiércol y efluente cervecero. Los demás tratamientos evidenciaron olores dulces por la presencia de melaza.

D. Mohos y levaduras

Ninguno de los tratamientos mostró presencia de mohos y levaduras durante los cinco días. Esta ausencia se puede atribuir al pH ácido de las muestras.

E. Análisis Estadísticos

El Análisis de Varianza (ANVA) resultó significativo tanto para pH y acidez en el día 5 (Anexo 4) lo cual significa que existieron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Comprobada la significancia, se aplicó la prueba de comparación múltiple LSD Fisher y la agrupación se muestra en la Tabla 28.

Tabla 28: Comparación múltiple con LSD Fisher para pH y acidez en el día 5

Tratamiento	pH		Acidez	
	Media	Agrupación	Media	Agrupación
T1	3,77	A	1,95	A
T2	3,72	B	1,98	A
T3	3,69	C	1,97	A
T4	3,44	D	2,60	B
T5	3,43	D	2,59	B
T6	3,43	D	2,53	B
T7	3,43	D	2,94	C
T8	3,40	E	2,85	C
T9	3,40	E	2,83	C

FUENTE: Elaboración Propia

Nota:

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

Las características que debía reunir el mejor tratamiento fueron: menor valor de pH y mayor porcentaje de acidez. Según el análisis estadístico, de acuerdo al pH, los mejores tratamientos fueron T8 y T9. Mientras que por la acidez, los mejores tratamientos fueron T7, T8 y T9. Tomando en cuenta ambos parámetros, los mejores tratamientos fueron T8 y T9.

El resumen de la primera selección se muestra en la Tabla 29.

Tabla 29: Valores y calificación de la primera selección

Tratamiento	pH		Acidez		Olor		Mohos y levaduras		Análisis Estadístico			
									pH		Acidez	
T1	1	A	2	I	4	I	1	A	2	I	2	I
T2	1	A	2	I	3	I	1	A	2	I	2	I
T3	1	A	2	I	3	I	1	A	2	I	2	I
T4	1	A	1	A	2	A	1	A	2	I	2	I
T5	1	A	1	A	2	A	1	A	2	I	2	I
T6	1	A	1	A	2	A	1	A	2	I	2	I
T7	1	A	1	A	1	A	1	A	2	I	1	A
T8	1	A	1	A	1	A	1	A	1	A	1	A
T9	1	A	1	A	1	A	1	A	1	A	1	A

FUENTE: Elaboración Propia

Nota:

A: Aceptable. I: Inaceptable.

De esta primera selección, los tratamientos con resultados aceptables a todos los criterios fueron T8 y T9. No obstante, también se consideró el tratamiento T7, pues, si bien no mostró resultados aceptables en el análisis estadístico (respecto al pH), en todos los demás parámetros si obtuvo resultados favorables.

4.2.2. Segunda Selección

A. Rendimiento

El peso de los productos obtenidos se muestra en la Tabla 30. En todos los tratamientos, el peso de la melaza fue constante, lo que varió fue el peso del Bio-lac (0, 50 y 75 g). Si bien se esperaba que los rendimientos aumentaran conforme aumentaran los niveles de Bio-lac, los pesos de los productos obtenidos en los tratamientos T8 y T9 no distaron mucho. El valor faltante para llegar al total del peso incorporado al inicio corresponde a la merma y las muestras extraídas para la determinación de la acidez.

Tabla 30: Rendimiento de los mejores tratamientos de la primera selección

Tratamientos	Peso insumos (g)				Productos finales (g)	
	Melaza	Bio-lac	Mezcla Base	Total	Bf. Líquido	Bf. Sólido
T7	150	0	1500	1650	1080,3	346,1
T8	150	75	1500	1725	1176,2	324,3
T9	150	150	1500	1800	1197	349,6

FUENTE: Elaboración Propia

Nota: Bf.: Biofertilizante

B. Nutrientes

El contenido de los nutrientes se muestra en la Tabla 31. En cuanto a macronutrientes, los tratamientos T8 y T9 destacaron por sus altos contenidos. Mientras que el tratamiento T7 presentó valores altos en lo que respecta a micronutrientes. Siendo los primeros, macronutrientes, los que poseen mayor importancia para el crecimiento de las plantas.

Tabla 31: Contenido de nutrientes de los mejores tratamientos de la primera selección

Parámetro		Unidad	T7	T8	T9
Físico-químicos	pH	--	3,57	3,56	3,57
	CE	dS/m	13,4	13,9	13,6
	S.T. (g/L)	g/L	93,59	90,99	148,64
	M.O. disuelta	g/L	77,01	72,99	112,12
Macronutrientes	N total	mg/L	9 772	9 408	9 352
	P total	mg/L	775,74	826,53	732,76
	K total	mg/L	2745	3405	3935
	Ca total	mg/L	795	1070	1500
	Mg total	mg/L	720	735	725
	Na total	mg/L	305	225	190
Micronutrientes	Fe total	mg/L	101,45	89,1	77,85
	Cu total	mg/L	4,35	4,2	4,1
	Zn total	mg/L	23,2	23,15	18,75
	Mn total	mg/L	13	13,15	12,55

Parámetro		Unidad	T7	T8	T9
	B total	mg/L	6,32	5,58	6,12

FUENTE: Elaboración Propia

C. Metales

La concentración de metales de los tratamientos en evaluación se muestra en la Tabla 32. Los tratamientos T7 y T8 presentaron las menores concentraciones de Pb y Cr. En tanto que, las menores concentraciones de Cd se registraron en los tratamientos T8 y T9.

Tabla 32: Contenido de metales de los mejores tratamientos de la primera selección

Metal	Unidad	T7	T8	T9
Pb total	mg/L	5,5	5,7	5,8
Cd total	mg/L	0,85	0,6	0,55
Cr total	mg/L	1,5	1,85	2,05

FUENTE: Elaboración Propia

4.2.3. Costos

Los costos detallados, según los tratamientos, se muestran en el Anexo 6 y en la Tabla 33 se presenta un resumen de los costos totales. La diferencia entre tratamientos fue de S/450,00 soles, correspondiente a la variación de Bio-lac en los tratamientos. Los valores de Bio-lac aumentaron en orden creciente y del mismo modo lo hizo el costo. De esta manera, el tratamiento más caro fue el T9, el más barato, el tratamiento T7 y el intermedio, el tratamiento T8.

Tabla 33: Costos totales de los mejores tratamientos de la primera selección

Insumos	T7 (Melaza:Bio-lac:Mezcla Base; 1:0:10, m/m)	T8 (Melaza:Bio-lac:Mezcla Base; 1:0,5:10, m/m)	T9 (Melaza:Bio-lac:Mezcla Base; 1:1:10, m/m)
Melaza	S/180,00	S/180,00	S/180,00
Bio-lac	S/0,00	S/450,00	S/900,00
Efluente cervecero	S/22,50	S/22,5,00	S/22,5,00
Estiércol vacuno	S/9,00	S/9,00	S/9,00
Total	S/211,50	S/661,50	S/1111,50

FUENTE: Elaboración Propia

En el siguiente cuadro, se muestra un resumen de los resultados de la segunda selección.

Tabla 34: Valores y calificación de la segunda selección

Tratamiento	Rendimiento		Macronutrientes		Micronutrientes		Metales		Costos	
T7	3	I	3	I	1	A	1	I	3	A
T8	2	A	2	A	2	A	2	A	2	A
T9	1	A	1	A	3	I	3	A	1	I

FUENTE: Elaboración Propia

Nota:

A: Aceptable. I: Inaceptable.

De acuerdo al análisis de los criterios considerados para la segunda selección se determinó que el mejor tratamiento fue el T8. Si bien el tratamiento T9 presentó mejor rendimiento y contenido de nutrientes, sus valores no se diferenciaron mucho del tratamiento T8; además, el tratamiento T9 fue el más caro, representando un costo adicional de 68 por ciento respecto al tratamiento T8.

4.3. Evaluación de las características iniciales de los insumos

4.3.1. Caracterización físico-químicas

El estiércol es un insumo que aporta nutrientes y materia orgánica en suelos agrícolas. En agricultura orgánica, se puede utilizar composta de estiércol o estiércol crudo, con ciertas restricciones, para aportar nutrimentos, mejorar la estructura del suelo e incrementar la materia orgánica (Figuroa *et al.* 2009). Esto se demuestra en la Tabla 35, donde se muestra el contenido de nutrientes y materia orgánica del estiércol vacuno, usado en la presente investigación, comparado con el estiércol de otros animales.

Tabla 35: Caracterización físico-química del estiércol de ganado vacuno y el estiércol de otros animales

Parámetro	Unidad	Vacuno ¹	Alpaca ²	Cuy ³	Gallina ⁴	Ovino ⁵	Porcino ⁶
pH	--	8,48	8,66	7,97	6,45	7,88	6,47
CE	dS/m	5,82	7,39	21,90	18,30	7,99	8,39
Humedad	%	85,09	71,13	39,91	60,88	38,15	4,31
M.O.	%	75,35	78,11	69,16	54,66	77,51	78,38
N	%	2,27	1,59	2,39	3,24	1,22	2,62
P ₂ O ₅	%	0,99	1,12	4,58	4,77	1,61	4,72
K ₂ O	%	1,12	0,86	6,32	3,14	2,63	1,98
CaO	%	2,21	1,85	6,04	22,60	1,86	5,87
MgO	%	1,25	0,6	1,99	1,35	0,68	1,78
Na	%	0,52	0,04	0,67	0,73	0,42	0,37
Fe	ppm	623	2 481	1 867	-	-	550
Cu	ppm	62	20	31	-	-	938
Zn	ppm	76	92	235	-	-	67
Mn	ppm	172	698	255	-	-	364
B	ppm	28	24	139	-	-	47
Pb	ppm	24,35	13,64	-	-	4,01	16,88
Cd	ppm	2,05	1,76	-	-	1,44	0,63
Cr	ppm	6,75	0,10	-	-	11,74	8,63

FUENTE:

¹ Estiércol del ganado vacuno de la granja de la Unidad Experimental de Zootecnia (UEZ) del Programa de Investigación y Proyección Social (PIPS) en Leche de la Facultad de Zootecnia de la UNALM-Lima. LASPAF (2017).

² Estiércol del ganado alpaquero de la Sociedad Agrícola de Interés Social (SAIS). Pachacútec SAC-Junín, Quiñonez (2017).

³ Estiércol de los cuyes de la granja de Cieneguilla de la UNALM-Lima, Román (2012)

⁴ Estiércol de las gallinas en jaula de la granja de aves del Programa de Investigación y Proyección Social (PIPS) en aves y animales menores de la Facultad de Zootecnia de la UNALM-Lima, Carhuancho (2012).

⁵ Estiércol de ganado ovino del establo del Programa de Investigación de Ovinos y Camélidos Americanos (POCA) de la Facultad de Zootecnia de la UNALM-Lima, Medina (2013).

⁶ Excretas de cerdos de los corrales de la Unidad Experimental en Cerdos (UEC) de la Facultad de Zootecnia de la UNALM-Lima, Noa (2013).

El contenido de nutrientes del estiércol de un animal depende del animal mismo, de la dieta y del agua que consume (CEDECO 2005). Según se observa el estiércol vacuno posee buenas características para su uso como fertilizante, destacando por sus altos contenidos de N (2,27 por ciento) y materia orgánica (75,35 por ciento). La eficiencia de uso de N por el bovino lechero es alrededor del 30 por ciento, por lo que el 70 por ciento restante es excretado. En el caso de P, la excreción llega a ser de 50 a 80 por ciento del P ingerido en la dieta (Figueroa *et al.* 2009).

El uso directo de estiércol animal no tratado (sin proceso de formación de abono) en la producción de productos vegetales comestibles da lugar a un mayor riesgo de contaminación que el uso de estiércol tratado y, por lo tanto, no se recomienda. Si se utiliza, se sugiere ser añadido a la tierra durante la preparación del suelo y antes de la siembra (García *et al.* 2009). El Programa Nacional Orgánico del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (NOP, sigla en inglés) sostiene que de incorporarse directamente el estiércol, debe ser para cultivos que no tengan como destino el consumo humano o, de serlo, aplicarse 90 ó 120 días antes de la cosecha. Mientras que La Ley 2092/91 de la regulación europea es más rigurosa y prohíbe totalmente el uso el uso de excretas de animales estabuladas.

En la Tabla 36 se muestra los resultados de la caracterización físico-química del efluente cervecero, Mezcla Base y Mezcla Global. Se consideraron estos tres en una solo tabla debido a que están expresadas en las mismas unidades y es posible su comparación.

Tabla 36: Caracterización físico-química del efluente cervecero, Mezcla Base y Mezcla Global

Parámetro	Unidad	Efluente	Mezcla Base	Mezcla Global
pH	--	3,62	3,90	3,88
CE	dS/m	4,54	6,91	15,80
Humedad	%	-	93,93	-
M.O. en solución	g/L	51,15	83,03	118,78
N total	mg/L	1 946,56	4 704,00	5 096,00
P total	mg/L	374,14	627,42	793,48
K total	mg/L	885,00	1 045,00	5 355,00
Ca total	mg/L	92,00	1 455,00	3 090,00
Mg total	mg/L	141,00	420,00	660,00
Na total	mg/L	34,00	450,00	345,00
Fe total	mg/L	2,16	52,90	43,70
Cu total	mg/L	0,13	4,55	13,40
Zn total	mg/L	1,86	19,05	23,70
Mn total	mg/L	0,61	11,75	13,90
B total	mg/L	0,94	5,72	5,36
Pb total	mg/L	0,23	20,60	7,20
Cd total	mg/L	0,05	1,96	0,07
Cr total	mg/L	0,05	6,20	0,10

FUENTE: LASPAF (2017).

Una características del efluente cervecero es su acidez y se constató con el bajo valor de pH que presentó (3,62). Esto se debe a que durante la fermentación cervecera no solo se produce etanol y dióxido de carbono, sino también alcoholes superiores, ácidos orgánicos, esterres, aldehídos y cetonas compuestos de azufre, quienes juegan un papel importante en el perfil de la cerveza y que disminuyen el pH (Ferreira *et al.* 2010). Del mismo modo, la Mezcla Base y Mezcla global tuvieron pH ácidos, debido a la inmediata acción de las bacterias ácido lácticas del consorcio Bio-lac y la influencia del efluente cervecero.

En cuanto al contenido de nutrientes, el efluente cervecero se distinguió en muchos de ellos, sobretodo en N, P y K, esto es porque, en la fermentación cervecera, la levadura

aporta altas cantidades de nitrógeno y fósforo (Schleenstein 2002; Simate *et al.* 2011). La Mezcla Base mostró una diferencia notable de concentración de nutrientes respecto al efluente cervecero, esto correspondió a la contribución del estiércol vacuno. Confirmándose una vez más las virtudes de éste como aportante de nutrientes. En lo que respecta a la Mezcla Global, también se observó un claro aumento de nutrientes y esto fue por el aporte del Bio-lac y la melaza. Por tanto, se comprobó que estos últimos no solo fueron importantes para la fermentación homoláctica, sino que, además, contribuyeron con el contenido de nutrientes.

4.3.2. Caracterización microbiológica

La caracterización de la Mezcla Base y de sus componentes se muestra en las siguientes tablas (se organizaron según las unidades).

Se observa claramente que el estiércol vacuno tuvo un alto contenido de coliformes totales y fecales, y *E. coli*, mientras que el efluente cervecero no presentó estos microorganismos dado su pH ácido el cual inhibió todo patógeno. La Mezcla Base también presentó estos microorganismos entéricos, por la contribución del estiércol vacuno.

Los *Lactobacillus* estuvieron presentes tanto en el estiércol vacuno como en el efluente cervecero y, lógicamente, en la Mezcla Base. Estos fueron los responsables de la fermentación homoláctica en los tratamientos en los que no se incorporó Bio-lac.

También se detectó presencia de mohos y levaduras en la Mezcla Base y sus constituyentes. En el caso de la *Salmonella*, se registró ausencia en la Mezcla Base. Si bien estuvo presente en el estiércol vacuno, al contacto con el efluente cervecero fue eliminado por la acidez de este.

Tabla 37: Caracterización microbiológico del estiércol vacuno

Parámetro	Unidad	Estiércol de ganado vacuno
Enumeración de coliformes totales	(NMP/g)	50x10 ⁵
Enumeración de coliformes fecales	(NMP/g)	50x10 ⁵
Enumeración de <i>E. coli</i>	(NMP/g)	15x10 ⁴
Recuento de <i>Lactobacillus sp.</i>	(UFC/g)	15x10 ⁴
Recuento de mohos y levaduras	(UFC/g)	34x10 ⁴
Detección <i>Salmonella sp.</i>	Presencia/en 25 g	Presencia

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

Tabla 38: Caracterización microbiológico del efluente cervecero y Mezcla Base

Parámetro	Unidad	Efluente cervecero	Mezcla Base
Enumeración de coliformes totales	(NMP/ml)	< 3	11x10 ⁵
Enumeración de coliformes fecales	(NMP/ml)	< 3	11x10 ⁵
Enumeración de <i>E. coli</i>	(NMP/ml)	< 3	90x10 ⁴
Recuento de <i>Lactobacillus sp.</i>	(UFC/ml)	15x10 ⁴	19x10 ⁵
Recuento de mohos y levaduras	(UFC/ml)	45x10 ³	28x10 ⁴
Detección <i>Salmonella sp.</i>	Presencia/en 25 ml	Ausencia	Ausencia

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

Nota:

< 3 indica ausencia de microorganismos en ensayo.

Tanto la Mezcla Base como sus constituyentes estuvieron exentos de formas parasitarias. El ganado del establo cuenta con un sistema de sanidad animal y el efluente cervecero proviene de un proceso que exige el máximo control de cualquier microorganismo, patógeno o parasitario, pues se produce para el consumo humano.

Tabla 39: Caracterización parasitológica de la Mezcla base y sus componentes

Parámetro	Unidad	Estiércol vacuno	Efluente cervecero	Mezcla Base
Huevos de helmintos	Huevos/g	Ausencia	--	--
	Huevos/L	--	Ausencia	Ausencia

FUENTE: Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Zootecnia-UNALM (2017)

4.4. Análisis de pH y acidez titulable del mejor tratamiento (escala piloto)

Los valores de pH y acidez obtenidos en la escala piloto guardan relación con los obtenidos en la escala laboratorio. Desde el primer día los valores de pH descendieron drásticamente, logrando estabilizarse a partir del tercer día y llegando al quinto día con un pH de 3,50. Las diferencias con los valores de la escala laboratorio fueron mínima.

En la acidez, hubo un incremento desde el primer día y se mantuvo por encima del 2,00 por ciento, aunque, los valores fueron menores a los reportados en la escala laboratorio. Una posible explicación pudo ser la dilución, pues, en la escala piloto se tuvo la concentración de los ácidos orgánicos en una mayor cantidad de material. No obstante, es importante recalcar que el factor con mayor influencia en el crecimiento de microorganismos es el pH, más que la acidez (Barreiro y Sandoval 2006).

Tabla 40: Valores de pH y acidez a escala laboratorio y piloto

Parámetro	Escala	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
pH	Laboratorio	5,25	3,62	3,53	3,46	3,47	3,40
	Piloto	4,60	3,61	3,54	3,52	3,50	3,51
Acidez	Laboratorio	0,69	2,21	2,30	2,62	2,70	2,85
	Piloto	0,95	2,03	2,19	2,16	2,14	2,13

FUENTE: Elaboración Propia

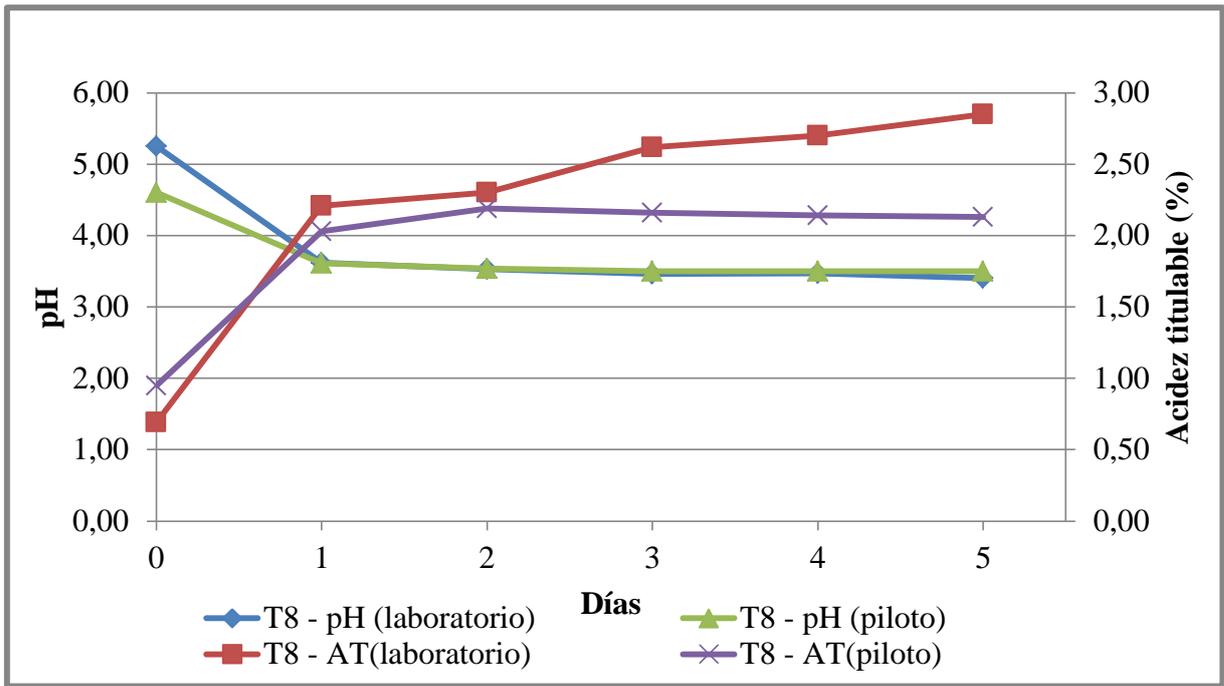


Figura 10: Comportamiento de pH y acidez a escala laboratorio y piloto

FUENTE: Elaboración Propia

Si bien ambas escalas fueron trabajadas a 40 °C, por ser el óptimo, en investigaciones anteriores se obtuvo resultados destacables cuando se trabajó a temperatura de ambiente. Buchelli (2014) escaló su mejor tratamiento hasta 1000 L durante 30 días y logró un pH de 3,72 y una acidez de 3,39 por ciento. Quiñonez (2016) hizo un escalamiento de su mejor tratamiento hasta 50 kg a temperatura ambiental y a 40 °C, en el primer caso obtuvo un pH de 3,55 y acidez de 3,2 por ciento y en el segundo, obtuvo un pH de 3,42 y una acidez de 3,2. No habiendo mucha diferencia en los valores de ambas temperaturas. Por lo tanto, esta biotecnología se puede generalizar en cualquier ámbito, incluso en zonas de campo donde la energía térmica es una limitante.

4.5. Evaluación de la calidad del biofertilizante obtenido de la escala piloto

4.5.1. Caracterización físico-químicas

El Biofertilizante Líquido Cevafer y el Biofertilizante Sólido Cevafer presentan características notables en cuanto a contenido de nutrientes y parámetros físico-químicos. Considerando de forma referencial los valores mínimos de nutrientes citados por Suárez (2009) para los bioles, el Biofertilizante Líquido Cevafer sobrepasa tremendamente los

valores mínimos para el N, P, K y Ca, sin embargo, en el caso del B, el valor es cercano mas no supera el mínimo estipulado (Tabla 41).

Tabla 41: Comparación del Biofertilizante Líquido Cevafer con el requerimiento mínimo de bioles

Nutriente	Unidad	Concentración Mínima ¹	Biofertilizante Líquido Cevafer ²
Nitrógeno	mg/L	700	4 508
Fosforo	mg/L	170	671,69
Potasio	mg/L	1300	5 475,00
Calcio	mg/L	1800	3 160,00
Boro	mg/L	7	5,79

FUENTE: ¹Suárez (2009); ²LASPAF (2017)

La comparación del contenido de nutrientes y características físico-químicas del Biofertilizante Líquido Cevafer con otros biofertilizantes líquidos obtenidos por fermentación homoláctica en anteriores investigaciones se muestra en la Tabla 42.

Todos los biofertilizantes presentan valores de pH ácidos, debido al proceso homofermentativo por el que fueron obtenidos, sin embargo el Biofertilizante Líquido Cevafer presenta uno de los menores valores (3,70). La conductividad eléctrica también es la menor por lo que no será necesario realizar muchas diluciones para llegar a un valor adecuado de la misma. La materia orgánica disuelta no es de las mayores, pero es un valor significativo (97,21 mg/L). Ésta contribuiría al mantenimiento y/o renovación de la materia orgánica del suelo, la cual es indispensable para mejorar la fertilidad y propiedades del suelo, tales como agregación y capacidad de retención (Muñoz *et al.* 2014) De ahí que su incorporación en forma de abono es indispensable en sistemas de producción ecológica (CEDECO 2005).

Dentro del grupo I, biofertilizantes obtenidos a partir de estiércol y un componente adicional mediante fermentación homoláctica, el Biofertilizante Líquido Cevafer presenta el mayor valor en Nitrógeno total (4 508 mg/L) y en Cobre total (5,6 mg/L). En los demás nutrientes los valores fueron muy cercanos al de los demás. Es importante destacar que el

biofertilizante obtenido a partir de gallinaza y suero de leche reporto valores notables en cuanto a fósforo, potasio y calcio.

Considerando el grupo II, biofertilizantes obtenidos a partir de solo estiércol a través de fermentación homoláctica, el Biofertilizante Líquido Cevafer presenta los valores más altos en N, P, Ca y Mg después del biofertilizante de estiércol de cuy. Mientras que en Fe y Mn total presenta los mayores valores. Respecto a los demás nutrientes los valores son parecidos al de los otros biofertilizantes.

En la Tabla 43 se muestra la comparación del Biofertilizante Líquido Cevafer con biofertilizantes obtenidos por digestión anaerobia (bioles). El pH ácido (3,70) del Biofertilizante Líquido Cevafer representa una ventaja sobre el pH alcalino de los bioles, pues garantiza la ausencia de organismos patógenos. Los valores de conductividad eléctrica son cercanos entre sí, mientras que en contenido de materia orgánica disuelta es el mayor de todos con una notable diferencia.

En cuanto a los macronutrientes, el Biofertilizante Líquido Cevafer supera en gran medida a los bioles en lo que respecta a N, P, Ca y Mg, también posee un valor alto en K, pero menor al del biol de cuyinaza. El Na estuvo acorde con los otros, sin embargo el biol de estiércol porcino posee un valor bastante elevado.

Considerando los valores reportados en cuanto a micronutrientes, el Biofertilizante Líquido Cevafer muestra las concentraciones más elevadas de Cu, Zn, y B, mientras que para el caso de Fe y Mn tiene valores considerables, pero menores al del biol de estiércol porcino.

Tabla 42: Comparación de Biofertilizante Líquido Cevafer con biofertilizantes líquidos por fermentación homoláctica

Parámetro		Unidad	Grupo I				Grupo II			
			Biofertilizante Líquido Cevafer ¹	Bf. de Gallinaza y suero de leche ²	Alpa-biol ³	Bf de Estiércol vacuno, bagazo y suero ⁴	Bf. de Estiércol porcino ⁵	Bf. de Estiércol ovino ⁶	Bf. de cuyinaza ⁷	Bf. de Estiércol vacuno ⁸
Físico-químicos	pH	--	3,70	4,40	3,83	3,72	4,52	3,70	4,54	3,75
	CE	dS/m	18,30	31,1	23,40	22,2	27,1	27,2	41	25,7
	S.T. (g/L)	g/L	124,81	215,68	177,88	95,4	210	-	248	232,98
	M.O. disuelta	g/L	97,21	158,56	137,02	72,5	161	108,6	162,4	181,1
	C:N		8,62	-	21,50	11,86	15,55	33	12,89	25,01
Macronutrientes	N total	mg/L	4 508,00	2 520	3 696,00	3 546,7	5320	1876,00	7 308	4 200
	P total	mg/L	671,69	1 817,87	658,10	955,26	2 964	203,40	3 518	744
	K total	mg/L	5 475,00	12 950	8 700,00	5 190	8 850	9 005,60	5 880	17 200
	Ca total	mg/L	3 160,00	5 350	3 335,00	2 440	6 310	1 523,10	6 400	5 200
	Mg total	mg/L	755,00	1 575	12 500,00	755	1 950	1 044,40	2 940	1 740
	Na total	mg/L	655,00	860	590,00	755	970	590,80	2 220	1 040
Micronutrientes	Fe total	mg/L	33,85	99,7	280,45	33,15	166	-	140,4	516
	Cu total	mg/L	5,60	5,4	2,40	3,15	104	-	3,7	14
	Zn total	mg/L	27,05	42,4	11,65	21,6	15,23	-	26,8	60
	Mn total	mg/L	11,50	42,7	71,80	12,3	41,00	-	35,8	28
	B total	mg/L	5,79	8,82	7,80	8,74	4,5	-	11,4	19

FUENTE: ¹LASPAF (2017), ²Egúsquiza (2017); ³Quiñonez (2016); ⁴Buchelli (2014); ⁵Noa (2013); ⁶Medina (2013); ⁷Román (2012); ⁸Peralta (2010)

Nota: Bf: Biofertilizante

Tabla 43: Comparación de Biofertilizante Líquido Cevafer con biofertilizantes líquidos por digestión anaerobia (bioles)

Parámetro		Unidad	Biofertilizante Líquido Cevafer ¹	Biol de estiércol ovino ²	Biol de estiércol vacuno ³	Biol de estiércol porcino ⁴	Biol de gallinaza ⁵	Biol de cuyinaza ⁶
Físico-químicos	pH	--	3,70	7,23	7,15	7,89	5,08	8,2
	CE	dS/m	18,30	-	9,69	19,28	20,6	15,3
	S.T. (g/L)	g/L	124,81	-	22,76	-	35	-
	M.O. disuelta	g/L	97,21	1,8	13,73	5,3	19,6	5,4
	C:N		8,62	3,25	6,67	1,64	6,27	3,2
Macronutrientes	N total	mg/L	4508,00	321	1194,7	1876	1813	980
	P total	mg/L	671,69	55,4	336,6	71,2	164,76	121
	K total	mg/L	5475,00	1993	1594,2	1940	2500	6760
	Ca total	mg/L	3160,00	601	649,17	104,8	2534	220,4
	Mg total	mg/L	755,00	243	270,83	27,6	460	53,4
	Na total	mg/L	655,00	560	510,83	3400	392	542
Micronutrientes	Fe total	mg/L	33,85	-	-	0,16	101	-
	Cu total	mg/L	5,60	-	-	2,28	0,82	-
	Zn total	mg/L	27,05	-	-	1,36	3,92	-
	Mn total	mg/L	11,50	-	-	14,08	10,7	-
	B total	mg/L	5,79	-	-	5,2	5,72	-

FUENTE: ¹LASPAF (2018), ²Medina (2013); ³Cárdenas (2012), citado por Torres *et al* (2013); ⁴Carhuancho (2012); ⁵Avibiol Salam-La Calera, citado por Medina (2013); ⁶Biol de Agricultura Casablanca con excretas de cuy, citado por Torres *et al.* (2013)

El Biofertilizante Líquido Cevafer goza de múltiples bondades comparado con fertilizantes líquidos comerciales, como Avibiol Salam de la Empresa Calera y biol de cuyinaza de Casa Blanca (Tabla 44). El Biofertilizante Líquido Cevafer tiene las mayores concentraciones en la mayoría de nutrientes. En el caso del fósforo, posee un valor alto (671,69 mg/L) pero mucho menor al del biol de Casa Blanca (3 800 mg/L), y en el caso de K (5 475 mg/L) que, si bien es notablemente alto, es menor a la concentración reportada por Avibiol (6 760 mg/L).

En el caso de materia orgánica disuelta, el valor del Biofertilizante Líquido Cevafer (97 mg/L) supera por una gran diferencia a los valores reportados por el Avibiol Salam (21,3 mg/L) y el Biol de Casa Blanca (15,3 mg/L). El valor de conductividad eléctrica es intermedio, y el pH es el menor de todos, haciendo necesario una dilución antes de ser incorporada al suelo para que no afecte la planta.

Tabla 44: Comparación entre el Biofertilizante Líquido Cevafer y bioles comerciales

Parámetro		Unidad	Biofertilizante Líquido Cevafer ¹	Avibiol Salam-La Calera ²	Biol de cuyinaza-Casa Blanca ³
Físico-químicos	pH	--	3,7	7,2	8,2
	CE	dS/m	18,3	21,3	15,3
	M.O. disuelta	g/L	97,21	17,2	5,4
	C:N		8,62	5,87	3,2
Macronutrientes	N total	mg/L	4 508	1 700	980
	P total	mg/L	671,69	3 800	121
	K total	mg/L	5 475	5 200	6 760
	Ca total	mg/L	3 160	3 500	220,4
	Mg total	mg/L	755	1 200	53,4
	Na total	mg/L	655	-	542

FUENTE: ¹LASPAF (2017), ²Avibiol Salam-La Calera, citado por Medina (2013); ³Biol de Agricultura Casablanca con excretas de cuy, citado por Torres *et al.* (2013).

Gracias al proceso de biofermentación, el biofertilizante, además de nutrientes, aporta vitaminas, enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, y una gran riqueza microbial que

contribuye a equilibrar dinámicamente el suelo y la planta. Asimismo, hace resistente a la planta frente a insectos dañinos y enfermedades (CEDECO 2005).

Como se sabe el Biofertilizante Sólido Cevafer fue un subproducto del proceso, por lo tiene un potencial como abono orgánico. Por ello, se hizo la comparación con otros subproductos sólidos provenientes de la fermentación homoláctica del estiércol de distintos animales, estos resultados se muestran en la Tabla 45.

Debido al proceso homofermentativo por el que se obtuvieron estos abonos sólidos, todos presentan pH ácido. El Biofertilizante Líquido Cevafer presenta uno de los menores valores en pH (3,89) y conductividad eléctrica (6,61 dS/m). Mientras que en porcentaje de materia orgánica posee el mayor valor (90,06 por ciento). En cuanto a los nutrientes, es superado por los otros biofertilizantes sólidos, sin embargo en N, P y K presenta valores considerables.

También se hizo la comparación con un abono comercial de la empresa San Fernando (Mallki) y se presenta en la Tabla 46. Claramente se observa que el contenido de nutrientes del abono comercial supera notablemente a Cevafer Sólido, siendo comparable solo en contenido de nitrógeno, con un rango de 1,0-2,0 por ciento en el caso de Mallki y de 1,84 en el caso del Biofertilizante Sólido Cevafer. En todos los demás, Mallki tiene gran ventaja, no obstante, se puede destacar la cantidad de materia orgánica (90,06 por ciento) que sobrepasó al de Mallki (40-45 por ciento). Es importante mencionar que Mallki proviene de fuentes muy ricas en nutrientes tales como residuos sólidos de crianza de aves, restos vegetales y componentes orgánicos, que además se generan en enormes volúmenes dada la crianza intensiva de la empresa San Fernando.

En ambas comparaciones, el Biofertilizante Sólido Cevafer presentó los menores valores. Esto demuestra que la mayor cantidad de nutrientes se concentró en el Biofertilizante Líquido Cevafer. Si bien no tuvo valores notables en cuanto a nutrientes, si se podría usar dado su alto contenido de materia orgánica, recomendado para mejorar la fertilidad y propiedades físicas del suelo (Muñoz *et al.*2014).

Tabla 45: Comparación de Biofertilizante Sólido Cevafer con biofertilizantes sólidos por fermentación homoláctica

Parámetro		Unidad	Biofertilizante sólido Cevafer ¹	Gallinaza y suero de leche ²	Alpa-biosol ²	Estiércol vacuno, bagazo y suero ⁴	Estiércol porcino ⁵	Estiércol de cuy ⁶	Estiércol vacuno ⁷
Físico-químicos	pH	--	3,89	4,84	4,25	3,90	4,69	4,73	4,48
	CE	dS/m	6,61	13,40	12,80	12,50	16,70	21	10,64
	M.O.	%	90,06	67,15	83,50	66,64	78,66	81,24	80,4
	Humedad	%	69,29	2,43	77,46	77,83	65,84	3,17	3,19
	C:N	%	27,20	27,62	15,82	11,2	31,25	22,23	32,61
Macronutrientes	N	%	1,84	1,41	3,06	3,45	1,46	2,12	1,43
	P ₂ O ₅	%	0,98	2,55	0,40	0,87	1,71	2,38	0,62
	K ₂ O	%	1,67	2,50	2,62	1,99	0,37	4,00	3,03
	CaO	%	0,91	6,86	1,21	1,08	2,01	2,34	2,04
	MgO	%	0,26	0,55	0,51	0,45	0,83	0,87	0,5
	Na	%	0,16	0,13	0,14	0,27	0,27	0,27	18
Micronutrientes	Fe	ppm	278	903	1454	679	1081	760	2000
	Cu	ppm	26	25	14	26	363	26	45
	Zn	ppm	73	248	50	126	2763	148	75
	Mn	ppm	32	177	180	42	116	152	70
	B	ppm	24	29	55	17	39	42	35

FUENTE: ¹LASPAF (2017); ²Egúsquiza (2017); ³Quiñonez (2016); ⁴Buchelli (2014); ⁵Noa (2013); ⁶Román (2012); ⁷Peralta (2010)

Tabla 46: Comparación de Biofertilizante Sólido Cevafer con un abono orgánico comercial (Malki)

Parámetro		Unidad	Biofertilizante Sólido Cevafer ¹	Malki ²
Físico-químicos	pH	--	3,89	7,0-8,9
	C.E.	dS/m	6,61	9,0-12,5
	M.O.	%	90,06	25-45
	Humedad	%	69,29	18-21
Macronutrientes	N	%	1,84	1,2-2,5
	P ₂ O ₅	%	0,98	1,0-2,0
	K ₂ O	%	1,67	2,1-3,5
	CaO	%	0,91	3,0-3,5
	MgO	%	0,26	0,8-1,2
Micronutrientes	Fe	ppm	278	3 500-8 500
	Cu	ppm	26	65-90
	Zn	ppm	73	400-600
	Mn	ppm	32	500-650
	B	ppm	24	70-100

FUENTE: ¹LASPAF (2017). ²Unidad de Abonos para Agricultura-San Fernando (2017)

4.5.2. Contenido de metales pesados

La comparación de los valores de metales pesados (Cd, Cr y Pb) del Biofertilizante Líquido Cevafer y las normas internacionales se muestra en la Tabla 47. También se consideró al Biofertilizante Sólido Cevafer de manera referencial.

En el Biofertilizante Líquido Cevafer, las concentraciones de los metales pesados están por debajo de los máximos permisibles de las normas internacionales, incluso las más estrictas (Clase A/A⁺) que se consideran de alta calidad. El contenido de metales pesados es una preocupación en diversos países debido a que muchos compost se elaboran a partir de lodos urbanos o biosólidos, sin embargo los generados a partir de residuos vegetales no presentan riesgos tan altos de contaminación (Soto y Meléndez 2004).

En cuanto al Biofertilizante Sólido Cevafer, presenta valores por debajo de los límites en lo que respecta a Pb y Cr para todas las normas. Sin embargo, en el caso del Cadmio solo no se cumplió para los abonos de alta calidad, tal es el caso de Compost de clase A⁺ (Austria), *Very Clean* Compost (Holanda), Fertilizante orgánico-Clase A (España) y la norma de Dinamarca. En líneas generales, se observa que el biofertilizante sólido presentó mayor contenido que el líquido, lo cual indica que la mayor parte de los metales durante el proceso quedaron retenidos en la parte sólida. Los metales fueron aportados principalmente por la melaza y por el estiércol vacuno (Anexo 11) que representaron el 43,48 por ciento y 8,70 por ciento aproximadamente de la Mezcla Global.

Tabla 47: Comparación del contenido de metales del Biofertilizante Líquido Cevafer con legislación internacional

País	Especificaciones	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)
Mezcla Base		20,60	1,96	6,20
Mezcla Global		7,20	0,07	0,10
Biofertilizante Líquido Cevafer		1,20	0,07	0,55
Biofertilizante Sólido Cevafer		24,55	0,70	1,70
Austria	Compost de clase A ^{1.a}	45	0,7	70
	Compost de clase A ^{1.b}	120	1	70
	Compost de clase B ^{1.c}	200	3	250
Bélgica ²		120	1,5	70
Dinamarca ³		120	0,4	--
Finlandia ⁴		150	3	--
Holanda ⁵	Compost	100	1	50
	Very Clean Compost	65	0,7	50
España ^{6,7}	Fertilizante orgánico-Clase A	45	0,7	70
	Fertilizante orgánico-Clase B	150	2	250
	Fertilizante orgánico-Clase C	200	3	300
Chile ⁸	Compost-Clase A	100	2	120
	Compost-Clase B	300	8	600
USA ⁹	Compost-Clase AA	150	10	600
	Compost-Clase A	300	39	1200
U.E. ¹⁰	Abonos con etiqueta ecológica	100	1	100

FUENTE: Medina (2013)

1 Reglamento 292/2001. Ministerio de Agricultura, Silvicultura, Medio Ambiente y el Agua. Requisitos de calidad para el compost a partir de residuos.

1.a Máxima calidad, apto para agricultura ecológica

1.b Alta calidad, producido a partir de la recogida selectiva de la fracción orgánica y apropiada para su uso en agricultura.

1.c Baja calidad, producido a partir de la recogida selectiva de la fracción orgánica y apto para usos no agrícola.

2 Ministerio de Agricultura – Decreto Real 07.01.1998.

3 Compost – Ministerio de Agricultura. Después del 01.06.200.

4 *Decisions of the Ministry of Agriculture and Forestry* (46/94)

5 *Decision on quality and use of other organic fertilisers*. 1991.

6 Decreto Real 824/2005. Uso de productos Fertilizantes.

7 Decreto Real 1310/1990. Regulación de la utilización de lodos de depuración de aguas residuales en el sector agrario.

8 Norma Chilena 2880. Compost. Clasificación y requisitos. 2005.

9 *Interim Guidelines for Compost Quality – WA State Dept of Ecology*. 1994.

10 UE. Decisión 98/488/CE: Criterios ecológicos para la concesión de etiqueta ecológica comunitaria los materiales a ser incorporados al suelo para mejorar sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Agosto, 2001.

4.5.3. Caracterización microbiológica

En la Tabla 48, se muestra los análisis microbiológicos de la Mezcla Base, el Biofertilizante Líquido Cevafer (post-pasteurización) y el biofertilizante antes de la pasteurización (pre-pasteurizado).

En el biofertilizante líquido pre-pasteurización, se verifica que se removi6 totalmente los microorganismos pat6genos de la Mezcla Base, pasando de 11×10^5 NMP/L de coliformes totales, 11×10^5 NMP/L de coliformes fecales y 90×10^4 NMP/L de *E. coli*, a valores por debajo del l6mite de detecci6n en todos los casos, lo cual significa ausencia. Por tanto, se puede aseverar que la eliminaci6n total de dichos microorganismos fue gracias al proceso fermentativo l6ctico. En investigaciones precedentes, se obtuvieron resultados similares Peralta (2010), Rom6n (2012), Medina (2013), Buchelli (2014) y Qui6n6nez (2016).

La reducci6n de otras bacterias se debe a tres razones importantes. La primera es la producci6n de 6cidos org6nicos por las bacterias 6cido l6cticas que ingresan por la pared celular en su forma no disociada y causa la desestabilizaci6n de las c6lulas, interfiriendo con varios procesos vitales y causando finalmente la muerte. La segunda es el pH 6cido por la alta concentraci6n de 6cidos que limita el crecimiento de muchos microorganismos, en tanto que las bacterias 6cido l6cticas se ven favorecidas pues son tolerantes a bajos valores pH. La tercera es la producci6n de bacteriocinas y metabolitos por la bacterias 6cido l6cticas que tienen un amplio efecto antimicrobiano.

Si bien los mohos y levaduras no se eliminaron, estos se redujeron 1 000 veces y es que las bacterias 6cido l6cticas tambi6n inhiben las levaduras, en especial la formaci6n de moho (Ram6rez 2005).

Como era de esperarse, los resultados del Biofertilizante L6quido Cevafer (biofertilizante pasteurizado) indican total ausencia de microorganismos. Esto garantizar6 mayor estabilidad y vida 6til del producto si es que se comercializa.

Tabla 48: Comparación de la carga microbiana entre la Mezcla Base, el Biofertilizante líquido (pre-pasteurización) y el Biofertilizante Líquido Cevafer

Parámetro	Unidad	Mezcla Base	Biofertilizante líquido (pre-pasteurización)	Biofertilizante Líquido Cevafer ¹
Enumeración de coliformes totales	(NMP/ml)	11x10 ⁵	< 3 (Ausencia)	< 3 (Ausencia)
Enumeración de coliformes fecales	(NMP/ml)	11x10 ⁵	< 3 (Ausencia)	< 3 (Ausencia)
Enumeración de <i>E. coli</i>	(NMP/ml)	90x10 ⁴	< 3 (Ausencia)	< 3 (Ausencia)
Recuento de <i>Lactobacillus sp.</i>	(UFC/ml)	19x10 ⁵	14x10 ³	< 10 (Ausencia)
Recuento de mohos y levaduras	(UFC/ml)	28x10 ⁴	37x10	< 10 (Ausencia)
Detección <i>Salmonella sp.</i> en 25 ml	Presencia/ en 25 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia

FUENTE: Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología “Marino Tabusso” (2017)

Nota:

¹El Biofertilizante Líquido Cevafer corresponde al producto luego de la pasteurización (post-pasteurización).

La Tabla 49 muestra el contraste entre los valores microbiológicos del Biofertilizante Líquido Cevafer y algunas normas tomadas como referencia. El biofertilizante cumple con los estándares debido a la ausencia total de los microorganismos en todos los parámetros estipulados. Las normas internacionales solo fueron referenciales dado que no se comparten las mismas unidades.

Tabla 49: Comparación de la carga microbiana del Biofertilizante Líquido Cevafer con los estándares

Parámetros	Unidad	Mezcla Base	Biofertilizante líquido (pre-pasteurización) ¹	Biofertilizante Líquido Cevafer ¹ (*)	Clase III ²	Unidad	Decreto español ³	NCh 2880 ⁴	EPA ⁵	
									Clase A	Clase B
Enumeración de coliformes totales	(NMP/ml)	11x10 ⁵	< 3 (Ausencia)	< 3 (Ausencia)	--	NMP/g	--	--	<10 ³	--
Enumeración de coliformes fecales	(NMP/ml)	11x10 ⁵	< 3 (Ausencia)	< 3 (Ausencia)	1000	NMP/g	<10 ³	<10 ³	<10 ³	<2x10 ⁶
Enumeración de <i>E. coli</i>	(NMP/ml)	90x10 ⁴	< 3 (Ausencia)	< 3 (Ausencia)	1000	NMP/g	--	--	--	--
Detección <i>Salmonella</i> sp. en 25 ml	Presencia/ en 25 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	--	NMP/g	--	--	<3	--

FUENTE: ¹LASPAF (2017), ²ECA Agua-Categoría 3, Riego de vegetales no restringido (D.S. N° 004-2017-MINAM); ³Real Decreto Español 824 (2005); ⁴Norma Chilena 2880 (2005); ⁵Agencia de Protección del medio ambiente-USA (1999), citado por Carhuancho (2012).

Nota:

(*) El Biofertilizante Líquido Cevafer corresponde al producto luego de la pasteurización (post-pasteurización).

El análisis parasitológico arrojó ausencia en ambos casos. Esto era evidente, por una parte, por la ausencia de parásitos en los insumos usados (Tabla 39) y, por otra, por el pH ácido que elimina cualquier forma parasitaria.

Tabla 50: Análisis parasitológico del biofertilizante líquido (pre-pasteurización) y el Biofertilizante Líquido Cevafer

Parámetro	Unidad	Mezcla Base	Biofertilizante líquido (pre-pasteurización)	Biofertilizante Líquido Cevafer¹
Huevos de helmintos	Huevos/L	Ausencia	Ausencia	Ausencia

FUENTE: Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Zootecnia-UNALM (2017)

Nota:

¹El Biofertilizante Líquido Cevafer corresponde al producto luego de la pasteurización (post-pasteurización).

4.5.4. Evaluación de características organolépticas

El color del Biofertilizante Líquido Cevafer fue marrón oscuro lo cual es benéfico pues mientras más oscuros sean los abonos mejor absorben la radiación solar y los nutrientes que se aplican vía foliar o radicular contribuyendo a una mayor tasa fotosintética (Soto y Meléndez 2004).

Respecto al olor, el biofertilizante desprendía aromas agradables y un olor sutil a azúcar fermentada. Esto debido principalmente a la producción de exopolisacáridos, amilasa, generación de aromas, endulzantes como homoalanina y galactosa (Axelson, citado por Quiñonez 2016).

4.5.5. Tipo de fermentación

El grado alcohólico del Biofertilizante Líquido Cevafer fue de 2,0 por ciento y del efluente cervecero, de 3,0 por ciento. En la Tabla 51, se muestra los detalles.

Tabla 51: Concentración de etanol en el Biofertilizante Líquido Cevafer y el efluente cervecero

Ensayo	Efluente del proceso de fermentación cervecera	Biofertilizante Líquido Cevafer
Grado alcohólico a 20 °C (v/v) %	3,0	2,0

FUENTE: LASAC (2017)

De acuerdo al balance alcohólico teórico (Figura 11), el contenido de alcohol obtenido en el Biofertilizante Líquido Cevafer sumado al del Biofertilizante Sólido Cevafer y la merma representó la misma cantidad de alcohol ingresado en la Mezcla Global, cuyo insumo aportante de alcohol fue el efluente cervecero. De esta forma, se demostró que el alcohol presente en el Biofertilizante Líquido Cevafer provino únicamente de la fuente inicial de alcohol (efluente cervecero) mas no del proceso fermentativo. Por ende, se comprobó que el tipo de fermentación fue la homoláctica.

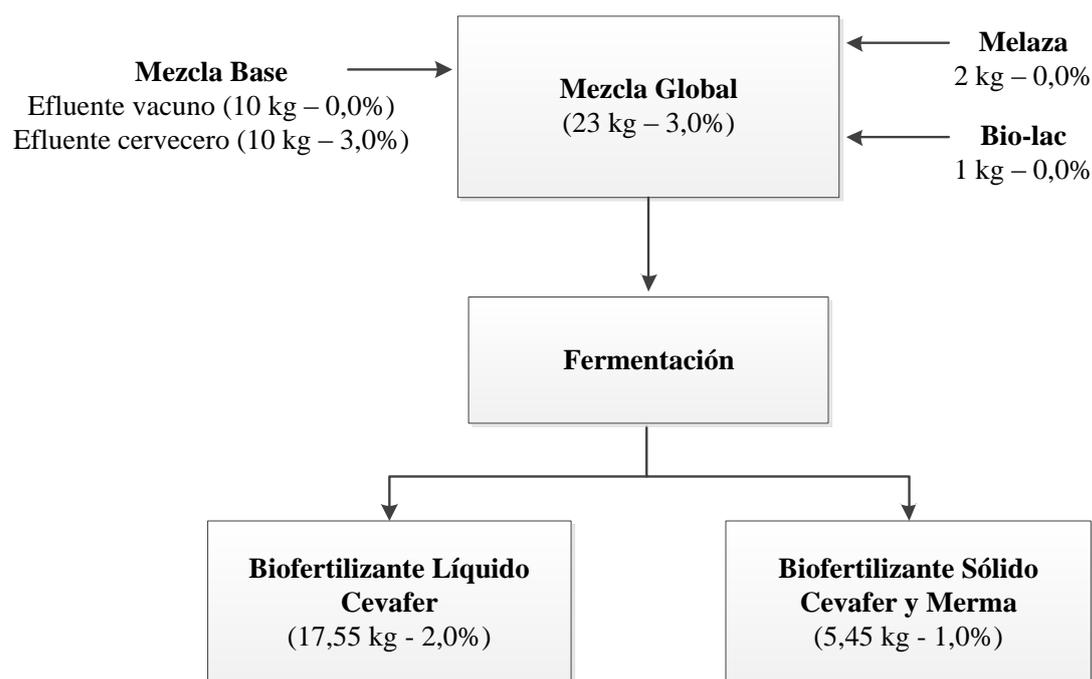


Figura 11: Balance teórico de grado alcohólico del proceso

FUENTE: Elaboración Propia

4.5.6. Rendimiento

Se inició con 23 kg de Mezcla Global, finalizado el proceso fermentativo, al quinto día, se obtuvo 17,55 kg de Biofertilizante Líquido Cevafer y 3,47 kg de Biofertilizante Sólido Cevafer lo que representó un rendimiento de 76,30 por ciento y 15,09 por ciento respectivamente (Tabla 52). Peralta (2010), Noa (2013) Buchelli (2014), Quiñonez (2016) obtuvieron rendimientos de biofertilizante líquido de 70,2 por ciento, 77,21 por ciento, 83,1 por ciento y 57,0 por ciento, respectivamente. Restrepo, citado por Quiñonez (2016), sostiene que los biofertilizantes varían en cuanto a su composición nutricional y rendimiento, debido a la calidad y cantidad de insumos y eficiencia del prensado.

Por otra parte, se tuvo una merma de 8,61 por ciento (1,98 kg). Aparcana citado por Quiñonez (2016) señala que es posible obtener una pérdida de hasta 10 por ciento en la preparación de biol, cosechado a los 3 meses.

Tabla 52: Rendimiento del Biofertilizante Líquido Cevafer

Componente final	Composición	
	En peso (kg)	En porcentaje (%)
Biofertilizante Líquido Cevafer	17,55	76,30
Biofertilizante Sólido Cevafer	3,47	15,09
Merma	1,98	8,61
Total	23,00	100,00

FUENTE: Elaboración Propia

4.5.7. Estabilidad

A. Relación C/N

La relación C/N del Biofertilizante líquido es 8,62 (Tabla 42) el cual se encuentra dentro del rango tomado como referencia (8-12), lo cual permitirá una mayor disponibilidad del nitrógeno y una correcta liberación del mismo (Uribe 2003; García-Serrano 2009).

B. Actividad microbiana

El pH y acidez presentó una mínima variación a partir del día 3 (Figura 10). Anteriores investigaciones comprobaron que biofertilizantes obtenidos por fermentación homoláctica tuvieron un pH ácido (<4) y acidez de 2-4 por ciento (expresado como ácido láctico) estables hasta 30 días (Peralta 2010; Román 2012; Buchelli 2014; Quiñonez 2016). Incluso Egúsquiza (2017) comprobó una estabilidad hasta 90 días. La melaza fue el sustrato que permitió que las bacterias sigan formando ácido láctico, en tanto continuara presente, se mantendrían las condiciones ácidas del biofertilizante. Lógicamente, aquellos tratamientos que no contenían melaza aumentaron en pH y disminuyeron en acidez, ya que los *Lactobacillus* consumieron la fuente inicial de carbono presente en el residuo o mezcla de residuos trabajados y luego ya no formaron los ácidos orgánicos.

En esta investigación, se aplicó un procedimiento adicional que fue la pasteurización. Esto con el fin de garantizar la total inactividad microbiana y que las condiciones del quinto día se mantuvieran por un mayor tiempo, y, de esta forma, el producto tendría las características para ser comercializado. El tiempo de vida del biofertilizante no se evaluó, pero como se comentó en el párrafo anterior, investigaciones anteriores obtuvieron fertilizantes que duraron hasta 3 meses, sin pasar por un proceso de pasteurización. Entonces, este producto se esperaba que tuviera una mayor duración.

Un detalle importante es que los nutrientes también se mantienen disponibles. Buchelli (2014) obtuvo un biofertilizante por fermentación homoláctica de la mezcla de estiércol vacuno, bagazo de cebada y suero de quesería y pudo constatar que la concentración de nutrientes del día 5 y día 30 fueron muy similares.

4.5.8. Inocuidad

El Biofertilizante Líquido Cevafer fue inocuo, debido a su baja concentración de metales y ausencia de microorganismos patógenos. La concentración de metales pesados (Pb, Cd y Cr) fue mucho menor a los límites máximo permisibles por diversas normas internacionales (Tabla 47). Mientras que en el caso de los microorganismos, en la Tabla 49 se muestra ausencia de microorganismos patógenos tales como *Escherichia coli*, *Salmonella*, coliformes fecales y totales tanto en el Biofertilizante Líquido Cevafer (post-

pasteurización) como en el biofertilizante líquido (pre-pasteurización), esto se debió al pH ácido y el contenido de ácidos orgánicos producidos por las BAL del consorcio Bio-lac. Por lo expuesto, se comprobó que el Biofertilizante Líquido Cevafer fue un producto inocuo.

4.5.1. Análisis costo-beneficio

La escala piloto arrojó como rendimiento 76,30 por ciento de Biofertilizante Líquido Cevafer (Tabla 52). Entonces, considerando 900 kg de Mezcla Base, 90 kg de Melaza y 45 kg de Bio-lac, se produciría 789,75 kg de Biofertilizante Líquido Cevafer, lo que equivaldría a 759,33 L (densidad: 1,04 g/ml). Por cuestiones prácticas se consideró solo 759 litros.

El precio de venta estimado fue de S/3,00, dado los valores de costos unitarios. Este precio es bastante bajo, considerando que el mercado se puede encontrar fertilizantes líquidos cuyos precios no bajan de S/10,00.

En la Tabla 53, se muestra el análisis de costo-beneficio considerando la inversión, el cual corresponde a los materiales y se haría solo la primera vez. Es así que para recuperar la inversión se necesitaría dos generaciones de producción de Biofertilizante Líquido Cevafer de 759 litros a un precio de S/3 por litro. En este periodo se ganaría alrededor de S/0,60, lo que representa el 25 por ciento del costo unitario.

Tabla 53: Análisis costo-beneficio (considerando inversión)

Descripción	Unidad	Valor
Cantidad producida	L	759
Costo de inversión	S/	870
Costo de producción	S/	791,5
Costo total	S/	1661,5
Costo de producción (unitaria)	S/	2,19 (2,20)
Precio de venta (unitaria)	S/ por L	3
Ganancia Bruta	S/	2277
Ganancia Neta	S/	615,5

FUENTE: Elaboración Propia

En la Tabla 54, se muestra un análisis de costo y beneficio sin considerar la inversión, pues para esta etapa ya se recuperó el monto invertido. La ganancia en este caso sería de S/1,9 lo que representaría 172,73 por ciento del costo unitario (S/1,1). Esto hace evidente el potencial comercial de este producto.

Tabla 54: Análisis costo-beneficio (con inversión recuperada)

Descripción	Unidad	Valor
Cantidad producida	L	759
Costo de producción (total)	S/	791,5
Costo de producción (unitaria)	S/	1,04 (~1,1)
Precio de venta (unitaria)	S/ por L	3
Ganancia Bruta	S/	2 277
Ganancia Neta	S/	1 485,5

FUENTE: Elaboración Propia

4.6. Evaluación fitotóxica del biofertilizante

Los resultados de la prueba de fitotoxicidad se muestran en la Tabla 55. Las diluciones de 100:100 y 10:100 no produjeron la germinación de ninguna semilla, en el caso del primero se debió a su pH ácido (3,87) y elevada conductividad eléctrica (18,70 mS/cm), mientras

que en el segundo se debió sobre todo a su pH ácido (4,04) más que a su conductividad eléctrica (3,72 mS/cm). El mínimo pH tolerable para la lechuga es de 5,5 y en el caso de la conductividad, va desde 3 hasta 5 dS/cm (Infoagro, 2014; Honorato, 2000). Mientras, Carrasco e Izquierdo (1996) sostienen que el rango óptimo para pH es 5,5-6 y en el caso de conductividad eléctrica debe ser menor a 1,5 mS/cm (o hasta 2,5 mS/cm). Es por ello que se observó germinación desde la dilución 1:100 hasta 0,001:100, ya que presentaron los valores dentro del rango de pH y conductividad eléctrica.

Los Índices de Germinación (IG) de las diluciones menores de 1:100 presentaron valores superiores a 100:100 lo que indicó que no solo había ausencia de compuestos fitotóxicos sino que, incluso, benefició el desarrollo vegetal. Por el contrario, las diluciones de 10:100 y 100:100 no lograron la germinación de ninguna semilla, pues la salinidad y acidez que presentaron fueron los agentes fitotóxicos que evitaron la germinación de las semillas.

Las longitudes de radícula (LR) de las diluciones 1:100 y 0,1:100 fueron las mayores, incluso superaron al control. Lo que indica que estas concentraciones favorecieron el crecimiento vegetal. Tanto así que las plántulas de la dilución 1 por ciento presentaron la radícula más robusta en comparación a las demás diluciones.

La dilución de 1:100 presentó un pH de 5,24 cercano al rango propuesto por Carrasco e Izquierdo (1996) y una conductividad de 0,86 mS/cm valor dentro del rango señalado por los mismos autores. Debido a estas características, generó los mejores efectos en las plántulas: germinación de la totalidad de semillas, radículas de mayor longitud y robustez y el mayor índice de germinación. Por lo que esta dosis sería recomendada para su aplicación en campo.

Tabla 55: Efecto de las diluciones en variables determinación de lechuga

Dilución (v/v)	pH	C.E. (mS/cm)	SG	LR	PGR (%)	CRR (%)	IG (%)
0:100 (Control)	7,80	0,53	19,33	14	100	100	100
0,001:100	7,75	0,53	19,33	16	100	109	109
0,01:100	7,68	0,54	18,33	16	95	115	132
0,1:100	7,39	0,56	18,33	19	95	132	125
1:100	5,24	0,86	20,00	19	103	131	135
10:100	4,04	3,72	0	0	0	0	0
100:100	3,87	18,70	0	0	0	0	0

FUENTE: Elaboración Propia

Nota:

PGR: Porcentaje de Germinación Radicular;

CRR: Crecimiento de Radícula Relativo;

IG: Índice de Germinación

En investigaciones anteriores se obtuvo resultados similares (Tabla 56), en las concentraciones de 10:100 y 100:100 no hubo germinación debido a la acidez y la alta conductividad. Las concentraciones menores a 10:100 lograron la germinación de las semillas. Sin embargo, las diluciones de 1:100 y 0,1:100 fueron las que presentaron IG mayores a 80 por ciento lo que evidencia ausencia de compuestos fitotóxicos, siendo ideales para su aplicación en campo.

Tabla 56: Comparación de Índices de Germinación con otras investigaciones

Dosis	Bf. Líquido Cevafer	Alpa biol	Fast biol 20	Bf. estiércol vacuno	Bf. Cuyinasa	Biol II G
0,01:100	132	73,34	-	112,5	99,5	94,7
0,1:100	125	94,25	84,5	80,1	98,8	85,8
1:100	135	18,61	65,8	21,8	54	67,1
10:100	0	0	0,41	0	0	0
100:100	0	0	0	0	0	0

FUENTE: Elaboración Propia

Nota:

Bf.: Biofertilizante

V. CONCLUSIONES

- La fermentación homoláctica del estiércol de ganado vacuno y el efluente del proceso de fermentación cervecera produce un biofertilizante líquido de alta calidad nutricional, estable e inocuo.
- Los tratamientos evaluados a escala laboratorio, luego del proceso de fermentación homoláctica, presentan valores de pH por debajo de 4 y acidez por encima de 2,00 por ciento (expresada como porcentaje de ácido láctico) desde el primer día. Al quinto día los que más destacan son los tratamientos con mayor cantidad de melaza y Bio-lac (T7, T8 y T9).
- El mejor tratamiento de la escala laboratorio es el Tratamiento 8, logrando al quinto día un pH de 3,40 y acidez de 2,85 por ciento (expresada como porcentaje de ácido láctico).
- En la escala piloto, la fermentación homoláctica de la réplica del mejor tratamiento muestra valores de pH por debajo de 4 y acidez por encima de 2,00 por ciento (expresada como porcentaje de ácido láctico) desde el primer día. El comportamiento de pH y acidez guarda relación con los obtenidos en la escala laboratorio, obteniéndose al quinto día un pH de 3,50 y una acidez de 2,13 por ciento.
- La Mezcla Base, así como sus constituyentes, presentan destacables valores de nutrientes y materia orgánica. La caracterización microbiana indica presencia de coliformes fecales, totales y *E.coli* en la Mezcla Base proveniente del estiércol vacuno. No se evidencia formas parasitarias ni en la Mezcla Base ni en sus constituyentes.
- El biofertilizante (denominado Biofertilizante Líquido Cevafer) es un producto de alta calidad. Presenta un notable contenido de nutrientes, sobrepasando incluso a los comerciales. Es un producto estable e inocuo desde el punto de vista microbiológico y de contenido de metales. Es potencialmente comercial por los sustanciales beneficios que se pueden obtener, alcanzando ganancias hasta de 172,73 por ciento.

- La fitotoxicidad del biofertilizante se produce a concentraciones de 10/100 y 100/100. Siendo la dosis de 1/100 la que genera mejores resultados en todos los indicadores de germinación evaluados.

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar los efectos de la aplicación del Biofertilizante Líquido Cevafer en diferentes cultivos con el fin de conocer las dosis y frecuencia de aplicación de cada especie considerando los requerimientos nutricionales, etapas fenológicas, factores geográficos y condiciones de manejo. De esta forma se conocerá los beneficios de éste biofertilizante en campo.
- Evaluar el uso del Biofertilizante Sólido Cevafer en campo dado su alto contenido de materia orgánica.
- Evaluar la estabilidad del biofertilizante líquido (con y sin pasteurización) por un periodo igual o superior a 6 meses.
- Realizar un estudio de mercado para determinar el potencial de la comercialización del Biofertilizante Líquido Cevafer.
- Promover esta tecnología dada su rapidez, sencillez y eficacia. Además que se ha demostrado su efectividad con distintos residuos, resolviendo el tema de su disposición y dándoles un valor agregado.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, Y; Cayama, J; Gómez, E; Reyes, N; Dickon, R; García, E. 2006. Respiración microbiana y prueba de fitotoxicidad en el proceso de compostaje de una mezcla de residuos orgánicos. *Revista Multiciencias* 6(3):220–227.
- Acosta, Y; El Zauahre, M; Rodríguez, L; Reyes; N, Rojas, D. 2012. Indicadores de calidad bioquímica y estabilidad de la materia orgánica durante el proceso de compostaje de residuos orgánicos. *Revista Multiciencias* 12(4):390–399.
- Acuña, O. 2003. El uso de biofertilizantes en la agricultura. *In* Taller de abonos orgánicos (2003, San José, Costa Rica). Meléndez, G, Soto, G (eds.). Memoria. San José, Costa Rica, Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica, Cámara de Insumos Agropecuarios No Sintéticos.
- AINIA (Instituto Tecnológico Agroalimentario). 1996. Mejores técnicas disponibles en el sector cervecero. España.
- Aldón, D. 2008. Estrategia Ambiental de aprovechamiento de la macroalga *Ulva lactuca* (lechuga de mar) a través del proceso de ensilaje. Tesis Ing. Ambiental. Lima, Perú, UNALM.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2016. Official Methods of Analysis. AOAC 942.15. 20 ed. Editado por Latimer G. Estados Unidos.
- Arellano, L; Cruz, M; Huerta, C. 2016. El estiércol, material de desecho, de provecho y algo más. Instituto de Ecología A.C. México.
- Arévalo, G; Castellano, M. 2009. Manual de fertilizantes y enmiendas. Programa para la Agricultura Sostenible en Laderas de América Central. Escuela Agrícola Panamericana. Honduras.
- Artavia, S; Uribe, L; Saborío, F; Arauz, L; Castro, L. 2010. Efecto de la aplicación de abonos orgánicos en la supresión de *Pythium myriotylum* en las plantas de tiquisque (*Xanthosoma sagittifolium*). *Agronomía Costarricense* 34(1):17-29.
- Barreiro, J; Sandoval, A. 2006. Capítulo III: Aspectos Microbiológicos. *In* Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Valle de Sartenejas, Venezuela. Editorial Equinoccio - Universidad Simón Bolívar.

- Barrera, J. 2012. Determinación de Vida Útil de la Leche Cruda Envasada y Después Pasteurizada (LTLT) vs. Leches Pasteurizadas y Envasadas por Procedimientos Tradicionales. Tesis Lic. Ciencia de los Alimentos. Valdivia, Chile, Universidad Austral de Chile.
- Ben, M. 2015. Producción de polihidroxicanoatos a partir de agua residual de la industria cervecera. Tesis de Doctorado. La Coruña, España, Universidad da Coruña.
- Buchelli, H. 2014. Producción de biofertilizante de bagazo de cebada, excretas de vacuno y suero de quesería mediante fermentación homoláctica. Tesis Ing. Ambiental. Lima, Perú, UNALM.
- Campos, B. 2011. Metodología para determinar los parámetros de diseño y construcción de biodigestores para el sector cooperativo y campesino. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias 20(2):37-41.
- Carhuacho, L. 2012. Aprovechamiento del estiércol de gallina para la elaboración de biol en biodigestores tipo batch como propuesta al manejo de residuo avícola. Tesis Ing. Ambiental. Lima, Perú, UNALM.
- Carrasco, G; Izquierdo, J. 1996. Manual técnico: La empresa hidropónica de mediana escala: La técnica de solución nutritiva recirculante («NFT»). Talca, Chile, Universidad de Talca.
- Castillo, G (ed). 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Centro Internacional de Investigación para el Desarrollo. México.
- Castro, F. 2003. Estudio de los residuos industriales líquidos y evaluación de las alternativas de mejoras para la industria Cervecera Valdivia. Tesis Lic. Valdivia, Chile, Universidad Austral de Chile.
- CEDECO (Corporación Educativa para el Desarrollo Costarricense). 2005. Preparación y uso de abonos orgánicos sólidos y líquidos (Serie Agricultura Orgánica N°7). San José, Costa Rica.
- CEPES (Centro Peruano de Estudios Sociales). 2009. Evolución de la ganadería en las últimas décadas. Revista Agraria (110):2. Consultado 18 oct. 2017. Disponible en <http://www.larevistaagraria.org/content/agrodata-evolución-de-la-ganadería-en-las-últimas-décadas>

- Cornejo, M. 2011. Efecto de un bioprotector comercial en la reducción de pH y carga microbiana putrefactiva en efluentes porcinos. Tesis Ing. Ambiental. Lima, Perú, UNALM.
- Cuno, H. 2015. Automatización y monitoreo de una planta de pasteurización de leche. Tesis Ing. Electrónico. Arequipa, Perú, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.
- De Vuyst, L; Leroy, F. 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: Production, purification, and food applications. *Molecular Microbiology and Biotechnology* 13(4):194-199.
- Di Schiavi, M; Rebagliati J; Libonatti, C. 2015. Tesis de Veterinario. Análisis comparativo entre ácido láctico y ácido cítrico en la desinfección de las carcasas de pollos en el sector de trozado, en una planta de faena. Buenos Aires, Argentina, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires
- Driessen, W; Vereijken, T. 2003. Recent development in biological treatment of brewery effluent. The Institute and Guild of Brewing Covention. Livingstone, Zambia, March 2-7
- Egúsqüiza, R. 2017. Aprovechamiento de suero de leche y gallinaza para la elaboración de un abono líquido mediante fermentación láctica. Tesis Ing. Ambiental. Lima, Perú, UNALM.
- Fajardo, E; Sarmiento, S. 2007. Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis Microb. Industrial. Bogotá, Colombia. Pontificia Universidad Javeriana.
- FAO (Organización de las naciones unidas para la agricultura y alimentación). 1999. Guía para el manejo eficiente de la nutrición de las plantas. Dirección de Fomento de Tierras y Aguas. Roma, Italia
- FAO (Organización de las naciones unidas para la agricultura y alimentación); IFA (Asociación Internacional de la Industria de los Fertilizantes). 2002. Los fertilizantes y su uso. Roma, Italia.
- Ferreira, I; Pinho, O; Vieira, E; Tavarela, J. 2010. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. *Trends in Food Science and Technology* 21:77-84.
- Figueroa, J; Núñez, G; Delgado, J; Cueto, J; Flores, J. 2009. Estimación de la producción de estiércol y de la excreción de nitrógeno, fósforo y potasio por bovino

- lechero en la Comarca Lagunera. *In* Agricultura orgánica. Orona, C; Salazar, E; Fortis, M (eds.). 2da edición. Facultad de Agronomía y Zootecnia de la UJED, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, COCyTED. México.
- Frioni, L. 2005. Microbiología: básica, ambiental y agrícola. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía de la República Oriental de Uruguay.
 - García, C., Arrázola, G., Durango, A. 2010. Producción de ácido láctico por vía biotecnológica. *Revista Temas Agrarios* 15(2):9-26.
 - García, L. 2008. Uso de bacterias probióticas en el ensilado de residuos de pescado. Tesis Ing. Ambiental. Lima, Perú, UNALM.
 - García, L; Suárez; Y., Hernández; R; Betancourt; A. 2009. Estiércol Bovino: Mitos y realidades. *Revista ACPA (Asociación Cubana de Producción Animal)* 4:36-37.
 - García-Serrano, P; Lucena, J; Ruano, S; Nogales. 2009. Guía Práctica de la Fertilización Racional de los Cultivos en España (Parte I). España, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino de España.
 - Gómez, I; Fernández, J; Olivera, Y; Arias, R. 2007. Efecto del estiércol vacuno en el establecimiento y la producción de semillas de *Teramnus labialis*. *Revista Pastos y Forrajes* 30(2):213-220.
 - González, Y; Rodríguez, E; Fernández, I; Argota, G. 2015. Evaluación ecotoxicológica de las aguas del refugio de fauna “San Miguel de Parada” mediante los biomodelos *Lactuca sativa L.* y *Artemia sp.* en Santiago de Cuba, Cuba. *Revista Cátedra Villarreal* 3(2):133-142.
 - Gordón, P. 2013. Utilización de suero de leche para la elaboración de abono orgánico (biol). Tesis Ing. de desarrollo integral agropecuario. Tulcán. Ecuador, Universidad Politécnica Estatal de Cardich.
 - Guccione, L. 2009. Tratamiento de los residuos orgánicos del comedor universitario de la UNALM para su uso como alimento para cerdos en crecimiento. Lima, Perú, UNALM.
 - Holguín, M, Caicedo, L, Veloza, L. 2009. Estabilidad de almacenamiento de ensilados biológicos a partir de residuos de pescado inoculados con bacterias ácido-lácticas. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia* 56(2):95-104.
 - Honorato, R. 2000. Manual de Edafología 4 ed. México D.F., México, Alfaomega Grupo Editor S.A.

- IFC (Corporación Financiera Internacional). 2007. Guías sobre medio ambiente, salud y seguridad para las fábricas de cerveza. s. l.
- Iglesias, L. 1995. El estiércol y las prácticas agrarias respetuosas con el medio ambiente. Hoja divulgadora N° 1/94. Madrid, España, Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación de España.
- IICA (Instituto de Cooperación para La Agricultura); AECI (Agencia Española de Cooperación Internacional) (eds.). 1999. Industria de la Cerveza. Guía para la aplicación de Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos (ARCPC). San José, Costa Rica (Series Agroalimentarias. Cuadernos de Calidad)
- Infoagro; Fertilización en cultivos intensivos. 2014. Análisis de Suelo 1ª Parte (en línea curso). Consultado 03 ago. 2017. Disponible en http://www.infoagro.com/abonos/analisis_suelos.htm
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (INCOTEC). 2004. Productos para la industria agrícola. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas de suelo. Norma Técnica Colombiana (NTC) 5167. Bogotá, Colombia.
- Instituto Nacional de Calidad (Inacal). 2016. Productos para la industria agrícola. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas de suelo. Norma Técnica Peruana (NTP) 213.014:2016. Lima, Perú.
- Instituto Nacional de Normalización (INN). 2005. Compost – Clasificación y requisitos. Norma Chilena (NCh) 2880. Santiago de Chile, Chile
- Irañeta, J; Sánchez, L; Malumbres, A; Torrecilla, J; Díaz, E. 2011. Abonos minerales : tipos y uso. Revista Navarra Agraria 45-54.
- Ito, S. 2006. Caracterización y evaluación de los factores que determinan la calidad nutricional e inocuidad en la producción de fertilizantes orgánicos fermentados. Tesis Mg. Sc. en Agricultura Ecológica. Turrialba, Cosa Rica, CATIE.
- Kerby, C; Vriesekoop, F. 2017. An Overview of the Utilisation of Brewery By-Products as Generated by British Craft Breweries. Revista Beverages 3(2) 24.
- Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos. Decreto Legislativo N° 1278. Diario El Peruano. Perú. 22 dic. 2016
- Ley de Promoción de la Producción Orgánica Ecológica. Ley N° 29196. Diario El Peruano. 24 ener. 2008.

- Longoria, C. 2000. Fertilización orgánica con estiércol bovino en diferentes fechas y dosis de aplicación en maíz blanco hualahuises. Tesis Mg. Sc. en Producción Agrícola. Nueva León, México, Universidad Autónoma de Nuevo León
- Madigan, M; Martinko, J; Parker, J. 2004. Brock Biología de los Microorganismos. Décima edición. Madrid, España, Pearson Education.
- Martín, A. 2002. Capacidad antagonista frente a *Listeria monocytogenes* de dos sustancias tipo bacteriocina utilizadas en la combinación de NaCl y CO₂. Tesis Lic. en Ingeniería de Alimentos. Valdivia, Chile, Universidad Austral de Chile.
- Martínez, L. 2008. Uso de la melaza en la alimentación de ovinos. Revista Tecnología para ovinocultores (Serie Alimentación) 10-12.
- Martínez, R. 2010. Descontaminación de efluentes de la industria cervecera mediante el uso de membranas UF arrolladas en espiral como barrera de seguridad. Tesis de doctorado. En tecnología de aguas residuales. Murcia, España, UCAM
- Medina, A. 2013. Evaluación de la calidad de biol de segunda generación de estiércol de ovino producido a través de biodigestores. Tesis Ing. Ambiental. Lima, Perú, UNALM.
- MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). 2017. Diagnóstico de Crianzas para el Plan Ganadero 2017-2021. Lima, Perú
- Ministerio de Medio Ambiente de España. 2005. Guía de Mejores Técnicas Disponibles en España del sector cervecero. España.
- Muñoz, J; Velásquez, M; Salvador, E; Macías, H. 2014. El uso de abonos orgánicos en la producción de hortalizas bajo condiciones de invernadero. Revista Chapingo (Serie Zonas Áridas) 13(2):27–32
- Naranjo, E. 2013. Aplicación de microorganismos para acelerar la transformación de desechos orgánicos en compost. Tesis Ing. Agrónomo. Ambato, Ecuador. Universidad Técnica de Ambato.
- Navarro, A; Arrueta, R; Maldonado, M. 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.
- Núñez, P. 2009. Caracterización de RILES de acuerdo a actividad industrial del Gran Santiago. Ing. Civil Químico. Santiago de Chile, Chile, Universidad de Chile.
- Ochoa, R; Peña, D. 2017. Informe de Pacific Credit Rating para Unión de Cervecerías Peruanas Backus y Johnson. Consultado 10 oct. 2017. Disponible en

<https://www.bvl.com.pe/hhii/B30021/20170518155001/UCP4520161245FF45ACC OACCIN.PDF>

- Olivares, M; Hernández, A; Vences, C; Jáquez J; Ojeda, D. 2012. Lombricosta y composta de estiércol de ganado vacuno lechero como fertilizantes y mejoradores de suelo. *Revista Universidad y Ciencia* 28(1):27–37.
- Ossa, J; Vanegas, M; Badillo, A. 2010. Evaluación de la melaza de caña como sustrato para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación científica* 13(1):97–104.
- Otero, M; Cabello, A; Vasallo, M; García, L; López, J. 2000. Tecnología para la utilización integral de la levadura de cerveza en la industria alimenticia. *Revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)* 50(4):361-365
- Parra, R. 2010. Review Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Revista Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial* 8(1):93–105.
- 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 Ing. Ambiental. Lima, Perú, UNALM.
- Pinos, J; García, J; Peña, L; Rendón, J; González, C; Tristán; F. 2012. Impactps y regulaciones ambientales del estiércol generado por los sistemas ganaderos de algunos países de América. *Revista Agrociencia* 46(4):359-370.
- Pueyo, F; Betrán, A; Iguácel, F; Loéz, M. 2011. Fertilización con subproductos orgánicos (Hacia una gestión sostenible de los nutrientes en la agricultura). Información Técnica N° 232 del Departamento de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente de Gobierno de Aragón. Zaragoza, España.
- Quiñonez, H. 2016. Producción de abono líquido acelerado con heces de alpaca, lactosuero bovino y melaza mediante fermentación homoláctica. Tesis Ing. Zootecnista. Lima, Perú, UNALM.
- Ramírez, J; Ulloa, P; Velázquez, M., Ulloa, Romero, F. 2011. Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente* Año 2(7):1-16
- Ramírez, M. 2005. Actividad inhibitoria de cepas de bacterias ácido lácticas frente a bacterias patógenas y deterioradoras de alimentos. Tesis Lic. Químico en Alimentos. Pachuca de Soto, México, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

- Real decreto sobre productos fertilizantes. Real Decreto 506/2013. Boletín Oficial del Estado. 28 jun. 2013.
- Redacción El Comercio. 2017. Backus y las marcas con las que domina el mercado cervecero en el Perú. El Comercio, Lima, Perú; 5 ago. Consultado 9 sept 2017. Disponible en <http://elcomercio.pe/economia/backus-marcas-domina-mercado-cervezero-peru-fotos-noticia-447675?foto=13>
- Redacción Gestión. 2017. Peruanos gastan S/ 100 soles más en consumo de cerveza que hace 5 años. Gestión, Lima, Perú; 8 ago. Consultado 20 ago 2017. Disponible en <https://gestion.pe/economia/peruanos-gastan-s-100-soles-consumo-cerveza-5-anos-141006>
- Redacción La República. 2016. Monopolio. AB Inbev oficializa fusión con Backus y concentra el 99% del mercado cervecero. La República, Lima, Perú; 12 oct. 2016 Consultado 15 ago 2017. Disponible en: <https://larepublica.pe/economia/811349-monopolio-ab-inbev-oficializa-fusion-con-backus-y-concentra-el-99-del-mercado-cervezero>
- Reglamento de la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos. Decreto Supremo N° 014-2017-MINAM. Diario El Peruano. Perú. 20 dic. 2017.
- Reglamento de Manejo de los Residuos Sólidos del Sector Agrario. Decreto Supremo N° 016-2012-AG. Diario El Peruano. 13 nov. 2012.
- Reglamento Técnico para los productos orgánicos. Decreto Supremo N° 044-2006-AG. Diario El Peruano. 06 jul. 2006.
- Restrepo, J. 2001. Elaboración de abonos orgánicos fermentados y biofertilizantes foliares. San José, Costa Rica, Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura (IICA).
- Ribó, M. 2013. Balance de macronutrientes y materia orgánica en el suelo de agrosistemas hortícolas con manejo integrado ecológico. Tesis de doctorado. Valencia, España, Universidad de Valencia.
- Rico, A; Pérez, R. 2013. Nutrientes para las plantas. Ciudad de México, México, Colegio de Ciencias y Humanidades. Consultado 20 sept. 2017. Disponible en https://portalacademico.cch.unam.mx/materiales/prof/matdidac/sitpro/exp/quim/qui_m2/quimicaII/L_nutrplants.pdf
- Rodríguez, C. 2002. Residuos ganaderos. *In* Cursos de Introducción a la Producción Animal. Córdoba, Argentina, Universidad Nacional de Río Cuarto

- Rodríguez, H. 2003. Determinación de Parámetros Físico-Químicos para la Caracterización de Cerveza Tipo *Lager* Elaborada por Compañía Cervecería Kunstmann S.A. Tesis Lic. Ingeniería en Alimentos. Vadhilvia, Chile, Universidad Austral de Chile
- Rodríguez, M; Flórez, V. 2004. Elementos esenciales y beneficiosos. *In Ferti-riego: Tecnologías y Programación en Agroplasticultura*. Guzmán, J López, J (eds.). Curso de Formación sobre Plasticultura y Tecnología de Riego (2002, Bogotá, Colombia). Taller de fertirrigación (2004, México). Almería, España. p. 25–36.
- Román, C. 2012. Tratamiento biológico a través de un proceso de fermentación homoláctica. Tesis Ing. Ambiental. Lima, Perú, UNALM.
- Romero, A; Pereda, I. 2005. Biofertilizantes a partir de residuos agrícolas. La Haba, Cuba.
- Sarandón, J. 2008. ¿Es sustentable la agricultura actual? *In Jornadas de Investigación del Centro de Investigaciones Geográficas y del Departamento de Geografía* (10, 2008, La Plata, Argentina). Panel “La cuestión rural en Argentina: Aportes desde las Ciencias Sociales”, La Plata, Argentina
- Schleenstein, G. 2002. Puesta en Marcha y Operación de una Planta Anaerobia-Aerobia a Escala de Laboratorio para el Tratamiento de RILES de la Industria Cervecería. Tesis Ing. Química. Temuco, Chile, Universidad de La Frontera
- Seluy, L. 2015. Procesos de tratamiento y valorización de efluentes líquidos de la industria cervecera. Tesis de doctorado. Santa Fe, Argentina, Universidad Nacional del Litoral.
- Serna, L; Rodríguez, A. 2005. Producción biotecnológica de ácido láctico: Estado del arte. *Revista Ciencia y Tecnología Alimentaria* 5(1) 54–65
- Silva, B; Toapanta, D. 2011. Elaboración de vino de remolacha a partir de dos variedades (*beta vulgaris*), conditiva y macrohiza, utilizando dos endulzantes naturales stevia (*stevia rebaudiana*) y miel de abeja. Tesis Ing. Agroindustrial. Latacunga, Ecuador, UTC.
- Simate, G; Cluett, J; Iyuke, S; Musapatika, E; Ndlovu, S; Walubita, L; Alvarez, A. 2011. The treatment of brewery wastewater for reuse: State of the art. *Revista Desalination* 273(2-3):235–247
- Sobrero, M; Ronco, A. 2008. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa L.* *In Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias*

químicas en agua y suelo: La experiencia en México. Ramírez, P; Mendoza, A (comp). México, Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología. p. 55–67

- Soto, G 2003. Abonos orgánicos: el proceso de compostaje. *In* Taller de abonos orgánicos (2003, San José, Costa Rica). Meléndez, G, Soto, G (eds.). Memoria. San José, Costa Rica, Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica, Cámara de Insumos Agropecuarios No Sintéticos.
- Soto, G; Meléndez, G. 2003. Compost: abono o enmienda. Como medir la calidad de un compost. *In* Taller de abonos orgánicos (2003, San José, Costa Rica). Meléndez, G, Soto, G (eds.). Memoria. San José, Costa Rica, Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica, Cámara de Insumos Agropecuarios No Sintéticos.
- Soto, G; Meléndez, G. 2004. Cómo medir la calidad de los abonos orgánicos. *Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 72(48):91–97.
- Suárez, D. 2009. Caracterización de un compuesto orgánico producido en forma artesanal por pequeños agricultores en el departamento de Magdalena. Tesis Mg. en Ciencias Agrarias con énfasis en suelos. Santa Marta, Colombia, Universidad Nacional de Colombia sede Palmira convenio con la Universidad de Magdalena.
- Toribio, K. 2015. Evaluación de la estabilidad como starter de *Saccharomyces pastorianus ssp. carlsbergensis* para la producción de cerveza tipo lager. Tesis Blgo. Lima, Perú, UNALM.
- Unidad de abonos para Agricultura – San Fernando. 2017. Abono Mejorador de suelos: Mallki (en línea, sitio web). Consultado 14 oct. 2017. Disponible en <https://mallki.pe/industria#bloque-productos>
- Universidad de Zulia. 2003. Guía práctica de Eficiencia de la pasteurización y homogenización. Maracaibo, Venezuela.
- Uribe, L. 2003. Inocuidad de abonos orgánicos. *In* Taller de abonos orgánicos (2003, San José, Costa Rica). Meléndez, G, Soto, G (eds.). Memoria. San José, Costa Rica, Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica, Cámara de Insumos Agropecuarios No Sintéticos.
- Valín, L. 2001. Procedimiento para la fabricación de un fertilizante orgánico a partir de excreta ganadera. Madrid, España, Oficina española de patentes y marcas. Pat. Es 2151845. 1 ener. 10 p.

- Varnero, M; Rojas, C; Orellana, R. 2007. Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Revista de La Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal* 7(1):28–37.
- Vázquez, C; Salazar, E; Trejo, H; Rodríguez, J; Gallegos, A. 2003. Introducción a la lombricultura. *In* Abonos orgánicos y plasticultura. Salazar, E; Fortis, M; Vázquez, A; Vázquez, C (eds). México, Facultad de Agricultura y Zootecnia de la UJED, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C. p. 22–41.
- Villar, P. 2017. Produce: El pisco es la tercera bebida alcohólica de mayor consumo en el Perú. *El Comercio*, Lima, Perú; 22 jul. Consultado 10 sept. 2017. Disponible en <https://elcomercio.pe/economia/peru/pisco-tercera-bebida-mayor-consumo-peru-443902>
- Xelhuanzi, J; Salazar, G; Domínguez, G; Arias, L; Chávez, A; Galindo, A. 2012. Manual para la elaboración de abonos orgánicos a partir de técnicas de composta y lombricomposta. Jalisco, México, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 56 p. (Serie Agrícola).

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Ficha Técnica del Consorcio Microbiano Bio-lac

Innovadora línea de biofertilizantes líquidos desarrollados por NOGA-FER PERÚ, producidos en base al aprovechamiento de recursos hidrobiológicos y subproductos orgánicos agroindustriales hidrolizados y fermentados mediante un proceso controlado por un consorcio de microorganismos benéficos GRAS.



Biofertilizante líquido orgánico 100% natural y acidificante orgánico

Biolac es un concentrado líquido de amplio uso en el sector agropecuario obtenido mediante un consorcio de microorganismos benéficos o GRAS (Generalmente Reconocidos como Seguros).

Biolac presenta un complejo metabolitos que mejoran el pH del suelo, acelerando el proceso de descomposición de la materia orgánica e incrementando la población microbiana benéfica del suelo, optimiza la solubilidad de los nutrientes y activa y estimula los procesos fisiológicos de las plantas.

Biolac protege el medio ambiente, no contamina el agua y restaura el suelo en el agro ecosistema.

PROPIEDADES Y VENTAJAS:

Pecuario:

Biolac acelera el proceso de descomposición de la materia orgánica en el suelo y en procesos de compostaje.

Biolac en el tratamiento de agua en bebederos de animales para mejorar el sistema inmune y la biota del tracto digestivo.

Biolac reduce los malos olores en crianza de animales, evitando el incremento de moscas.

Biolac mejora el tratamiento de aguas residuales.

Agrícola:

Biolac es un acidificante orgánico, presenta un pH de 3,8.

Biolac aumenta la solubilidad de los nutrientes del suelo y su absorción por las plantas.

Biolac estimula el proceso de germinación de las semillas y las protege de microorganismos fitopatógenos del suelo.

Biolac optimiza el aprovechamiento de los fertilizantes químicos ayudando a disminuir su uso.

Biolac incrementa la población de microorganismos benéficos del suelo como bacterias promotoras de crecimiento.

Biolac suprime el desarrollo de microorganismos fitopatógenos.

Biolac promueve la secreción de exudados radiculares.

Biolac es compatible con los plaguicidas de uso común.

Biolac mejora la resistencia a plagas, enfermedades y factores climáticos adversos. **Biolac** es compatible con el uso de otros microorganismos benéficos como entomopatógenos y hongos antagonistas.

Biolac es efectivo para el tratamiento sanitario en pastizales.

COMPOSICIÓN

pH.....3,80

Bacterias probióticas.

Ácidos orgánicos como ácido láctico, péptidos, factores de crecimiento y activadores del metabolismo vegetal.

APLICACIÓN

- En compost: Aplicaciones al 2% con el agua en la preparación de rastrojos y después de cada volteo.
- En bebederos de animales: 1 - 2 mL por 1 L de agua.
- En aplicación al suelo: Aspersión dirigida en la línea de siembra o zona de raíces activas, sobre suelo húmedo, a través del sistema de riego tecnificado (goteo, micro aspersión).

RECOMENDACIONES DE USO

- No necesita condiciones especiales de aplicación y manejo.
- No necesita adherente ni acidificante adicional.
- Agítelo antes de usar.
- Una vez preparada la solución nutritiva usarlo inmediatamente.
- Después de usar **Biolac** tápelo herméticamente.
- Almacenar en ambientes ventilados y evitar la exposición directa al sol.

CONTACTO E INFORMACIÓN

Biologo Steve Loveday P.

stelovpflu@gmail.com

FUENTE: NOGA – FER PERÚ.

Anexo 2: Registro de valores de pH de los tratamientos

Tratamiento			Día de fermentación						
Notación	Composición (g)		Repetición	0	1	2	3	4	5
	Melaza	Bio-lac							
T1	0	0	R1	5.49	3.81	3.80	3.76	3.74	3.76
			R2	5.49	3.82	3.80	3.76	3.76	3.77
			R3	5.49	3.80	3.79	3.76	3.76	3.78
Promedio				5.49	3.81	3.80	3.76	3.75	3.77
Desviación estándar				0.00	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01
T2	0	25	R1	5.44	3.73	3.76	3.72	3.68	3.71
			R2	5.44	3.77	3.77	3.72	3.67	3.73
			R3	5.44	3.77	3.76	3.73	3.69	3.73
Promedio				5.44	3.76	3.76	3.72	3.68	3.72
Desviación estándar				0.00	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
T3	0	50	R1	5.39	3.72	3.70	3.66	3.64	3.68
			R2	5.38	3.72	3.73	3.68	3.64	3.69
			R3	5.39	3.73	3.72	3.70	3.67	3.70
Promedio				5.39	3.72	3.72	3.68	3.65	3.69
Desviación estándar				0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01
T4	25	0	R1	5.42	3.67	3.54	3.46	3.45	3.42
			R2	5.41	3.69	3.54	3.49	3.45	3.43
			R3	5.40	3.70	3.52	3.52	3.49	3.47
Promedio				5.41	3.69	3.53	3.49	3.46	3.44
Desviación estándar				0.01	0.02	0.01	0.03	0.02	0.03
T5	25	25	R1	5.32	3.61	3.54	3.48	3.45	3.42
			R2	5.33	3.62	3.51	3.49	3.44	3.43
			R3	5.33	3.64	3.54	3.48	3.46	3.44
Promedio				5.33	3.62	3.53	3.48	3.45	3.43
Desviación estándar				0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
T6	25	50	R1	5.30	3.66	3.54	3.45	3.44	3.41
			R2	5.29	3.65	3.54	3.45	3.45	3.43
			R3	5.29	3.62	3.55	3.47	3.45	3.44

«continuación»

Promedio				5.29	3.64	3.54	3.46	3.45	3.43
Desviación estándar				0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02
T7	50	0	R1	5.31	3.62	3.56	3.46	3.46	3.43
			R2	5.31	3.66	3.55	3.46	3.47	3.43
			R3	5.29	3.64	3.55	3.48	3.47	3.44
Promedio				5.30	3.64	3.55	3.47	3.47	3.43
Desviación estándar				0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
T8	50	25	R1	5.25	3.60	3.54	3.44	3.47	3.41
			R2	5.25	3.63	3.55	3.46	3.48	3.41
			R3	5.25	3.63	3.51	3.47	3.47	3.39
Promedio				5.25	3.62	3.53	3.46	3.47	3.40
Desviación estándar				0.00	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01
T9	50	50	R1	5.21	3.74	3.50	3.43	3.46	3.41
			R2	5.21	3.74	3.53	3.43	3.45	3.39
			R3	5.21	3.73	3.50	3.46	3.46	3.40
Promedio				5.21	3.74	3.51	3.44	3.46	3.40
Desviación estándar				0.00	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01

**Anexo 3: Registro de acidez titulable de los tratamientos
(expresada como porcentaje de ácido láctico)**

Tratamiento			Día de fermentación						
Notación	Composición (g)		Repetición	0	1	2	3	4	5
	Melaza	Bio-lac							
T1	0	0	R1	0.47	1.62	1.76	1.90	1.90	2.01
			R2	0.49	1.69	1.76	1.93	1.86	1.91
			R3	0.50	1.68	1.72	1.86	1.89	1.94
Promedio				0.49	1.66	1.75	1.90	1.88	1.95
Desviación estándar				0,02	0,04	0,02	0,04	0,02	0,05
T2	0	25	R1	0.47	1.75	1.77	1.85	1.86	1.94
			R2	0.54	1.73	1.75	1.82	1.87	2.00
			R3	0.53	1.73	1.75	1.90	1.94	1.99
Promedio				0.51	1.74	1.76	1.86	1.89	1.98
Desviación estándar				0,04	0,01	0,01	0,04	0,04	0,03
T3	0	50	R1	0.54	1.71	1.78	1.79	1.87	2.01
			R2	0.52	1.53	1.66	1.86	1.84	1.94
			R3	0.53	1.55	1.78	1.81	1.82	1.95
Promedio				0.53	1.60	1.74	1.82	1.84	1.97
Desviación estándar				0,01	0,10	0,07	0,04	0,03	0,04
T4	25	0	R1	0.61	1.86	2.47	2.50	2.64	2.68
			R2	0.58	2.05	2.60	2.58	2.48	2.58
			R3	0.65	2.09	2.68	2.46	2.45	2.53
Promedio				0.61	2.00	2.58	2.51	2.52	2.60
Desviación estándar				0,04	0,12	0,11	0,06	0,10	0,08
T5	25	25	R1	0.67	2.10	2.61	2.42	2.50	2.67
			R2	0.62	2.09	2.64	2.49	2.65	2.54
			R3	0.64	2.09	2.66	2.45	2.61	2.56
Promedio				0.64	2.09	2.64	2.45	2.59	2.59
Desviación estándar				0,03	0,01	0,03	0,04	0,08	0,07
T6	25	50	R1	0.64	2.00	2.35	2.44	2.44	2.44
			R2	0.64	2.11	2.33	2.53	2.50	2.54

«continuación»

			R3	0.66	1.98	2.43	2.40	2.54	2.62
Promedio				0.65	2.03	2.37	2.46	2.49	2.53
Desviación estándar				0,01	0,07	0,05	0,07	0,05	0,09
T7	50	0	R1	0.68	2.23	2.30	2.60	2.82	2.87
			R2	0.65	2.43	2.45	2.75	2.88	2.90
			R3	0.68	2.30	2.50	2.71	2.93	3.05
Promedio				0.67	2.32	2.42	2.69	2.88	2.94
Desviación estándar				0,02	0,10	0,10	0,08	0,06	010
T8	50	25	R1	0.69	2.20	2.31	2.55	2.77	2.77
			R2	0.67	2.16	2.24	2.60	2.74	2.83
			R3	0.72	2.27	2.35	2.70	2.70	2.94
Promedio				0.69	2.21	2.30	2.62	2.74	2.85
Desviación estándar				0,03	0,06	0,06	0,08	0,04	0,09
T9	50	50	R1	0.70	2.15	2.45	2.73	2.73	2.81
			R2	0.72	2.05	2.34	2.71	2.82	2.86
			R3	0.67	1.99	2.60	2.72	2.68	2.83
Promedio				0.70	2.06	2.46	2.72	2.74	2.83
Desviación estándar				0,03	0,08	0,13	0,01	0,07	0,03

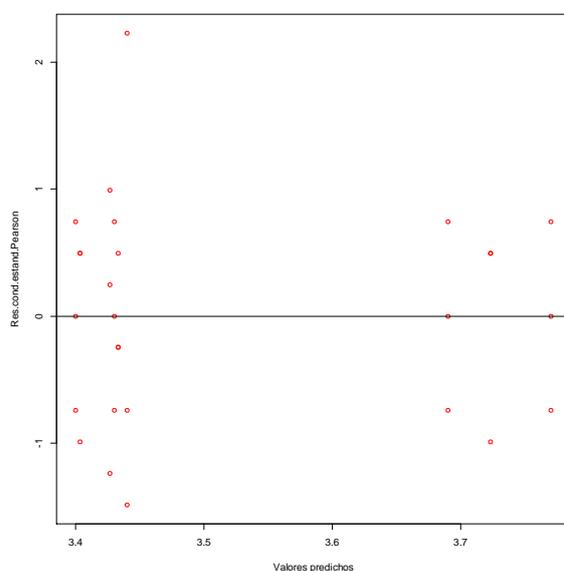
Anexo 4: Análisis estadístico

1. Análisis estadístico para los valores de pH

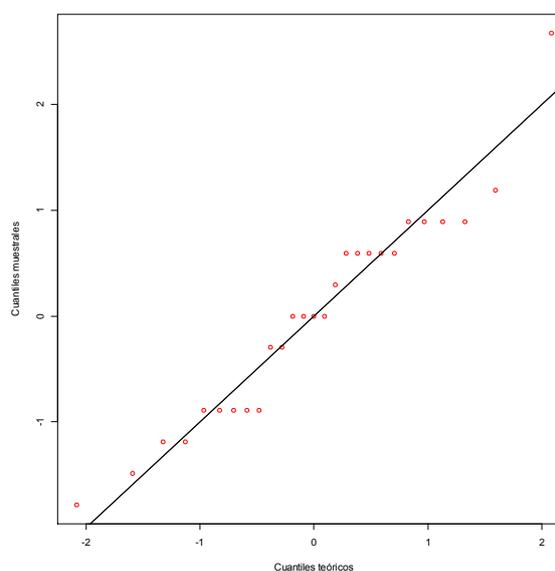
Pruebas		Resultado	Interpretación
1.1 Cumplimiento de supuestos	Homogeneidad de varianza	Ver gráfico 1.1	Si cumple los supuesto
	Normalidad de errores	$R \geq 0,94$. Ver gráfico 1.1	Si cumple supuesto
1.2 Análisis de varianza		$p < 0,0001$. Ver gráfico 1.2	Al menos un tratamiento es diferente
1.3 Prueba de comparación múltiple con LSD Fisher ($\alpha=0,05$)		Ver tabla y gráfico 3	Se alcanza los menores valores de pH con los tratamientos T8 y T9

1.1 Cumplimiento de supuestos

Homogeneidad de varianzas



Normalidad de errores



1.2 Análisis de Varianza (ANVA)

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	1847657.65	<0.0001
Tratamiento	8	395.35	<0.0001

1.3 Prueba de comparación múltiple LSD Fisher

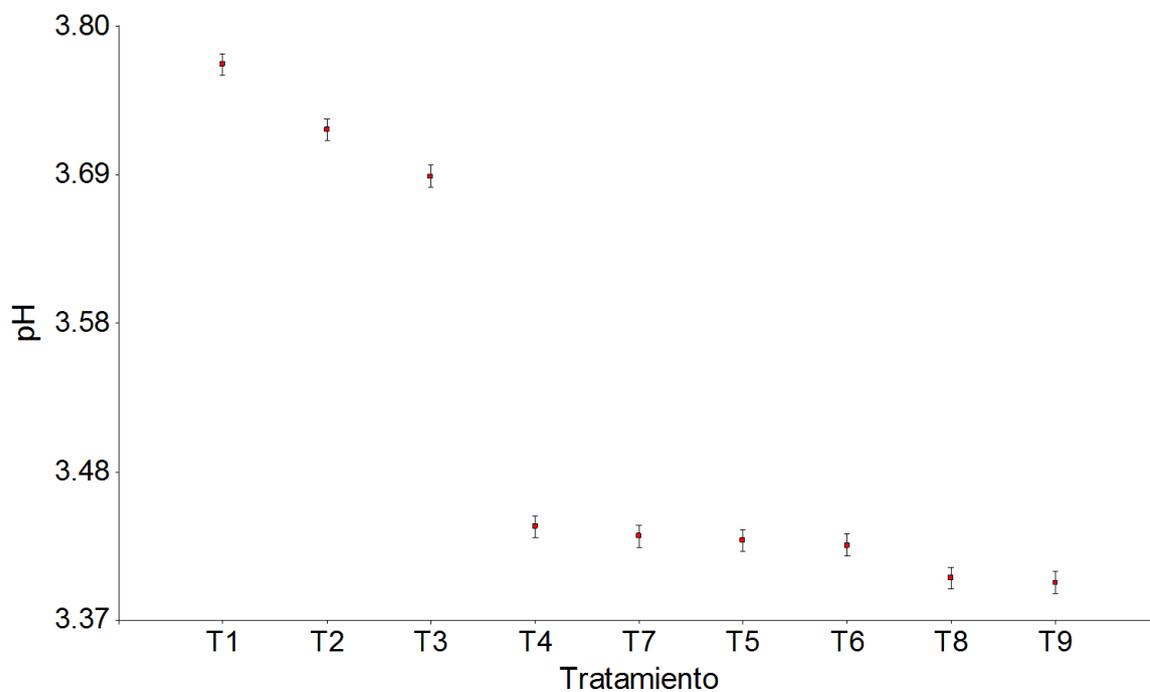
pH - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento	Medias	E.E.	
T1	3.77	0.01	A
T2	3.72	0.01	B
T3	3.69	0.01	C
T4	3.44	0.01	D
T7	3.43	0.01	D
T5	3.43	0.01	D
T6	3.43	0.01	D
T8	3.40	0.01	E
T9	3.40	0.01	E

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

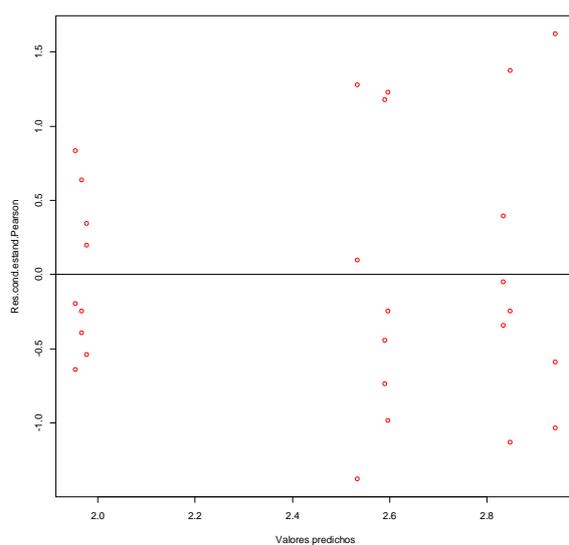


2. Análisis estadístico para los valores de acidez

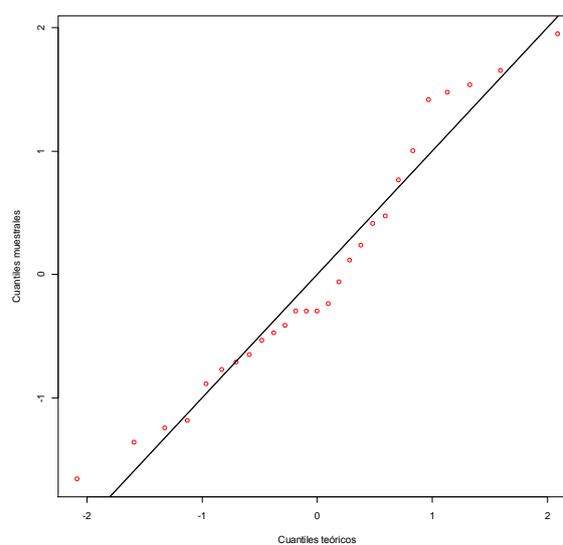
Pruebas		Resultado	Interpretación
1.1 Cumplimiento de supuestos	Homogeneidad de varianza	Ver gráfico 2.1	Si cumple los supuesto
	Normalidad de errores	$R \geq 0,94$. Ver gráfico 2.1	Si cumple supuesto
1.2 Análisis de varianza		$p < 0,0001$. Ver gráfico 2.2	Al menos un tratamiento es diferente
1.3 Prueba de comparación múltiple con LSD Fisher ($\alpha=0,05$)		Ver tabla y gráfico 2.3	Se alcanza los menores valores de pH con los tratamientos T8 y T9

2.1 Cumplimiento de supuestos

Homogeneidad de varianzas



Normalidad de errores



2.2 Análisis de Varianza (ANVA)

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	35888.90	<0.0001
Tratamiento	8	105.57	<0.0001

2.3 Prueba de comparación múltiple LSD Fisher

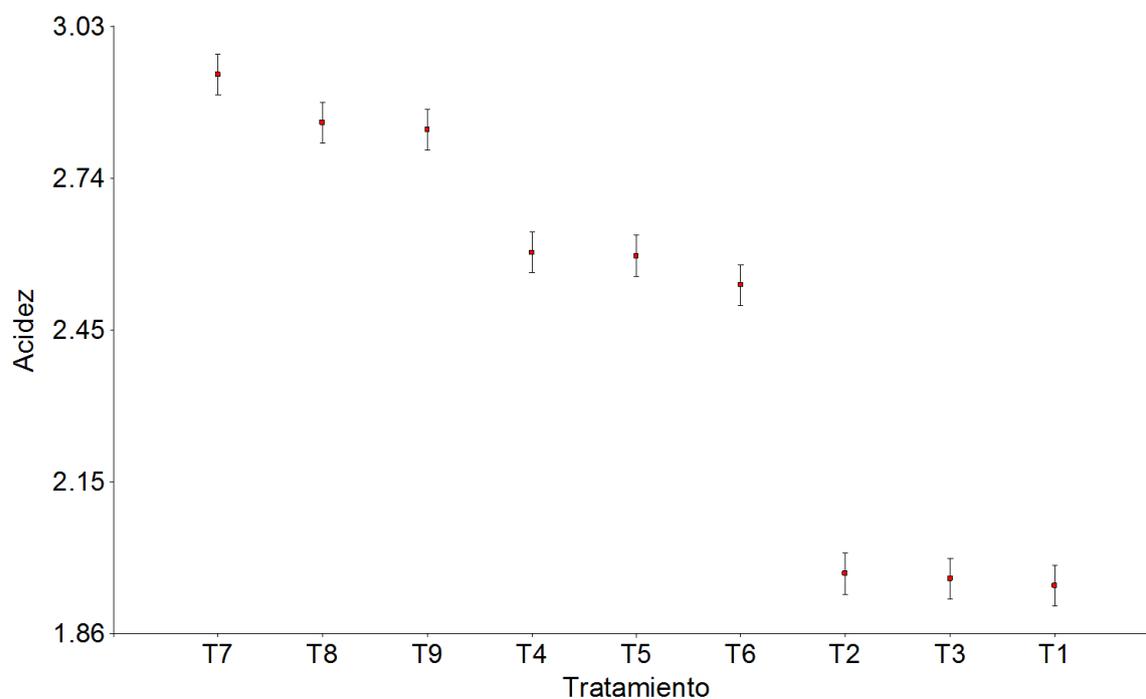
Acidez - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento	Medias	E.E.	
T7	2.94	0.04	A
T8	2.85	0.04	A
T9	2.83	0.04	A
T4	2.60	0.04	B
T5	2.59	0.04	B
T6	2.53	0.04	B
T2	1.98	0.04	C
T3	1.97	0.04	C
T1	1.95	0.04	C

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



Anexo 5: Ficha Técnica de Mallki

	SISTEMA INTEGRADO	CÓDIGO : TICAL001 VERSIÓN : 1																																			
FICHA TÉCNICA DE PRODUCTO: MALLKI MEJORADOR DE SUELOS																																					
Elaborado por: Pablo Montoya Tapia Asesor Técnico Mallki I & D N. N. 03/11/2017	Revisado por: Mario Chujandama Torres Jefe de Planta de Abonos I & D.N.N. 03/11/2017	Aprobado por: Christian Villavicencio Gerente de I & D N.N. 03/11/2017																																			
1. DESCRIPCIÓN																																					
<p>Mallki es un abono mejorador de suelos 100% natural, producido a partir de la degradación controlada de residuos sólidos de crianza de aves, restos vegetales y otros componentes orgánicos. Es un producto libre de impurezas que ayuda a incrementar la retención de agua, aporta microorganismos benéficos al suelo, e incrementa la capacidad de intercambio catiónico. Resalta la riqueza de microelementos indispensables en los procesos fisiológicos del cultivo y el aporte de extractos húmicos característicos de una Materia Orgánica de alto estándar.</p>																																					
2. INGREDIENTES/ COMPOSICIÓN																																					
<p>Ingredientes: residuos orgánicos animales y vegetales seleccionados</p> <p>Composición :</p>																																					
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="3">Macro Nutriente</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Nitrógeno</td> <td>(N)</td> <td>1.2 – 2.5 %</td> </tr> <tr> <td>Fósforo</td> <td>(P₂O₅)</td> <td>1.0 – 2.0 %</td> </tr> <tr> <td>Potasio</td> <td>(K₂O₅)</td> <td>2.1 - 3.5 %</td> </tr> <tr> <td>Calcio</td> <td>(CaO)</td> <td>3.0 - 3.5 %</td> </tr> <tr> <td>Magnesio</td> <td>(MgO)</td> <td>0.8 - 1.2 %</td> </tr> </tbody> </table>	Macro Nutriente			Nitrógeno	(N)	1.2 – 2.5 %	Fósforo	(P ₂ O ₅)	1.0 – 2.0 %	Potasio	(K ₂ O ₅)	2.1 - 3.5 %	Calcio	(CaO)	3.0 - 3.5 %	Magnesio	(MgO)	0.8 - 1.2 %	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="3">Micro Nutriente</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Manganeso</td> <td>(Mn)</td> <td>500 - 650 ppm</td> </tr> <tr> <td>Boro</td> <td>(B)</td> <td>70 - 100 ppm</td> </tr> <tr> <td>Zinc</td> <td>(Zn)</td> <td>400 - 600 ppm</td> </tr> <tr> <td>Cobre</td> <td>(Cu)</td> <td>65 - 90 ppm</td> </tr> <tr> <td>Hierro</td> <td>(Fe)</td> <td>3500 - 8500 ppm</td> </tr> </tbody> </table>	Micro Nutriente			Manganeso	(Mn)	500 - 650 ppm	Boro	(B)	70 - 100 ppm	Zinc	(Zn)	400 - 600 ppm	Cobre	(Cu)	65 - 90 ppm	Hierro	(Fe)	3500 - 8500 ppm
Macro Nutriente																																					
Nitrógeno	(N)	1.2 – 2.5 %																																			
Fósforo	(P ₂ O ₅)	1.0 – 2.0 %																																			
Potasio	(K ₂ O ₅)	2.1 - 3.5 %																																			
Calcio	(CaO)	3.0 - 3.5 %																																			
Magnesio	(MgO)	0.8 - 1.2 %																																			
Micro Nutriente																																					
Manganeso	(Mn)	500 - 650 ppm																																			
Boro	(B)	70 - 100 ppm																																			
Zinc	(Zn)	400 - 600 ppm																																			
Cobre	(Cu)	65 - 90 ppm																																			
Hierro	(Fe)	3500 - 8500 ppm																																			
Metales pesados por debajo de los límites máximos exigidos en la NTC 2880.																																					
3. ESPECIFICACIONES FÍSICAS																																					
Apariencia : Gránulos finos de 0.3 – 0.6 mm Color : Marrón Oscuro Olor : Característico a materia orgánica																																					
4. ESPECIFICACIONES QUÍMICAS																																					
pH en agua : 7.7 - 8.9 Humedad : 18 - 21 Conductividad eléctrica : 9.0 - 12.5 dS/m Relación C/N : 11 - 15 Materia Orgánica : 25% - 45%																																					
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="3">EXTRACTOS HÚMICOS</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Acidos Fúlvicos</td> <td>(%)</td> <td>2.0 – 10.0</td> </tr> <tr> <td>Acidos Humicos</td> <td>(%)</td> <td>2.0 – 8.0</td> </tr> </tbody> </table>			EXTRACTOS HÚMICOS			Acidos Fúlvicos	(%)	2.0 – 10.0	Acidos Humicos	(%)	2.0 – 8.0																										
EXTRACTOS HÚMICOS																																					
Acidos Fúlvicos	(%)	2.0 – 10.0																																			
Acidos Humicos	(%)	2.0 – 8.0																																			
03/11/2017		Pág. 1 de 2																																			

	SISTEMA INTEGRADO	CÓDIGO : TICAL001												
		VERSIÓN : 1												
FICHA TÉCNICA DE PRODUCTO														
5. ESPECIFICACIONES MICROBIOLÓGICAS														
Organismos patógenos :														
Coliformes termotolerantes (NMP/ml)	< 3													
<i>Escherichia coli</i> (NMP/ml)	< 3													
<i>Salmonella sp</i> (NMP/ml)	Ausencia													
6. USO/ PREPARACIÓN/ CONSUMO/ APLICACIÓN														
<p>USO: En caso de siembra, el producto se aplica en el hoyo al momento del trasplante. Para plantas en producción, cuando la pendiente es inclinada se aplica en media luna. Cuando no es pronunciada la pendiente se aplica en proyección a la copa de la planta.</p> <p>Dosis de aplicación:</p>														
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Etapa fenológica</th> <th>Dosis</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Siembra Frutales: En hoyo</td> <td>3 – 5 Kg/planta - (1.5 – 4.0 TM/Ha)</td> </tr> <tr> <td>Siembra Frutales: En banda</td> <td>20 – 60 TM/Ha (Dependiendo de tipo de suelo y cultivo)</td> </tr> <tr> <td>Producción Frutales</td> <td>3 - 40 Kg/planta (Dependiendo de la edad y densidad del cultivo)</td> </tr> <tr> <td>Cultivos anuales</td> <td>3 -8 TM/Ha</td> </tr> <tr> <td>Hortalizas</td> <td>2 – 5 TM/Ha</td> </tr> </tbody> </table>			Etapa fenológica	Dosis	Siembra Frutales: En hoyo	3 – 5 Kg/planta - (1.5 – 4.0 TM/Ha)	Siembra Frutales: En banda	20 – 60 TM/Ha (Dependiendo de tipo de suelo y cultivo)	Producción Frutales	3 - 40 Kg/planta (Dependiendo de la edad y densidad del cultivo)	Cultivos anuales	3 -8 TM/Ha	Hortalizas	2 – 5 TM/Ha
Etapa fenológica	Dosis													
Siembra Frutales: En hoyo	3 – 5 Kg/planta - (1.5 – 4.0 TM/Ha)													
Siembra Frutales: En banda	20 – 60 TM/Ha (Dependiendo de tipo de suelo y cultivo)													
Producción Frutales	3 - 40 Kg/planta (Dependiendo de la edad y densidad del cultivo)													
Cultivos anuales	3 -8 TM/Ha													
Hortalizas	2 – 5 TM/Ha													
7. PRESENTACIÓN (ES)														
Cód. Artículo	Presentación	Envase												
81045	Compost MA2030 de 25 kg	Polietileno coextruido microperforado y termosellado												
8. ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE														
Almacenar en lugar fresco, seco y bajo sombra.														
9. VIDA ÚTIL Y CONSERVACIÓN														
El producto mantiene sus propiedades cuando se encuentra en las condiciones requeridas de almacenamiento y transporte. Se recomienda no almacenar sin usar por más de 6 meses para mantener las propiedades del producto.														
10. OTRAS ESPECIFICACIONES														
Nombre comercial: Mallki Mejorador de Suelos														
03/11/2017		Pág. 2 de 2												

FUENTE: Unidad de Abonos para Agricultura – San Fernando (2017)

Anexo 6: Costos de los tratamientos elegidos en la primera selección

Costo considerando solo insumos y una producción aproximada de 1000 kg

Tratamiento T7 (Melaza:Bio-lac:Mezcla Base; 1:0:10, m/m)				
Concepto	Unidad	Costo Unitario (S/)	Cantidad	Total (S/)
Melaza	Kg	2	90	180
Bio-lac	Kg	10	0	0
Efluente cervecero	Kg	0.05	450	22,5
Estiércol vacuno	Kg	0.02	450	9
			Total	211,5

Tratamiento T8 (Melaza:Bio-lac:Mezcla Base; 1:0,5:10, m/m)				
Concepto	Unidad	Costo Unitario (S/)	Cantidad	Total (S/)
Melaza	Kg	2	90	180
Bio-lac	Kg	10	45	450
Efluente cervecero	Kg	0.05	450	22,5
Estiércol vacuno	Kg	0.02	450	9
			Total	661,5

Tratamiento T9 (Melaza:Bio-lac:Mezcla Base; 1:1:10, m/m)				
Concepto	Unidad	Costo Unitario (S/)	Cantidad	Total (S/)
Melaza	Kg	2	90	180
Bio-lac	Kg	10	90	900
Efluente cervecero	Kg	0.05	450	22,5
Estiércol vacuno	Kg	0.02	450	9
			Total	1111,5

Anexo 7: Costos y cantidades de la producción de Biofertilizante Líquido Cevafer

7.1. Costo de inversión

Concepto	Capacidad	Costo Unitario (S/)	Cantidad	Total (S/)
Tanque de agua	1100 L	380	1	380
Balde de plástico	20 L	20	2	40
Balanza	300 kg	350	1	350
Prensa mecánica	--	100	1	100
			Total	870

7.2. Costos por generación de biofertilizante

Concepto	Unidad	Costo Unitario (S/)	Cantidad	Total (S/)
Melaza	Kg	2	90	180
Bio-lac	Kg	10	45	450
Efluente cervecero	Kg	1	450	22,5
Estiércol vacuno	Kg	3	450	9
Mano de obra	Persona/día	40	1	80
Consumo de combustible	---	---	---	50
			Total	791,5

Anexo 8: Información adicional

Densidad del Biofertilizante Líquido Cevafer

Muestra	Masa (g)	Volumen (ml)	Densidad (g/cm³)
M1	104,3	100	1,043
M2	104	100	1,04
M3	104,3	100	1,042
Densidad promedio (g/cm ³)			1,04

Anexo 9: Índice de germinación

A. Número de semillas germinadas

Dilución	Control (0:100)			D1 (0,001:100)			D2 (0,01:100)			D3 (0,1:100)			D4 (1:100)			D5 (10:100)			D6 (100:100)		
Repetición	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
N° semillas germinadas	19	19	20	18	20	20	19	16	20	18	17	20	20	20	20	-	-	-	-	-	-

B. Longitud de la radícula (mm)

Diluciones	Control (0:100)			D1 (0,001:100)			D2 (0,01:100)			D3 (0,1:100)			D4 (1:100)			D5 (10:100)			D6 (100:100)		
Repetición	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	28	23	28	30	24	25	31	32	26	24	21	26	26	22	23	-	-	-	-	-	-
2	22	18	21	25	15	25	29	30	28	25	20	23	31	34	26	-	-	-	-	-	-
3	22	24	23	30	24	27	25	33	24	27	22	28	28	23	27	-	-	-	-	-	-
4	26	24	22	30	20	26	23	21	26	23	27	22	26	25	25	-	-	-	-	-	-
5	25	23	24	29	22	25	25	27	23	10	27	25	29	26	25	-	-	-	-	-	-
6	21	22	28	26	26	32	28	28	28	23	23	21	25	22	26	-	-	-	-	-	-
7	25	21	24	31	27	22	22	21	19	21	26	26	26	25	22	-	-	-	-	-	-
8	21	22	25	25	22	26	23	23	24	19	25	25	15	24	25	-	-	-	-	-	-
9	22	22	21	25	26	23	26	25	27	20	26	23	22	27	25	-	-	-	-	-	-
10	18	25	25	25	23	27	23	24	20	28	20	21	26	26	19	-	-	-	-	-	-

«continuación»

11	20	23	29	25	18	22	32	32	23	16	20	22	23	26	24	-	-	-	-	-	-
12	16	25	21	26	21	27	27	23	23	26	19	22	24	28	22	-	-	-	-	-	-
13	23	24	23	32	20	27	25	27	21	27	20	24	23	25	22	-	-	-	-	-	-
14	21	20	24	31	22	24	25	24	27	22	24	23	16	23	20	-	-	-	-	-	-
15	23	26	22	28	20	16	26	23	23	25	24	22	24	22	26	-	-	-	-	-	-
16	16	25	21	25	25	20	20	28	23	25	25	25	22	20	25	-	-	-	-	-	-
17	22	27	29	26	22	29	29	-	19	23	22	26	22	28	26	-	-	-	-	-	-
18	17	26	24	25	24	23	20	-	15	20	-	29	25	11	24	-	-	-	-	-	-
19	23	23	16	-	25	18	24	-	27	-	-	27	26	28	21	-	-	-	-	-	-
20	-	-	25	-	17	27	-	-	25	-	-	27	24	28	20	-	-	-	-	-	-
Promedio	22	23	24	27	22	25	25	26	24	22	23	24	24	25	24	-	-	-	-	-	-
Promedio global	23			25			25			23			24			-			-		

Anexo 10: Análisis físico-químicos de los tratamientos elegidos en la primera selección (T7, T8 y T9)



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



**INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE
 MATERIA ORGANICA**

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
 PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
 MUESTRA DE : BIOL
 REFERENCIA : H.R. 61121
 FACTURA : 1682
 FECHA : 02/11/17

N° LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	Sólidos Totales g/L	M.O. en Solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L
771	T-7	3.57	13.40	93.59	77.01	9772.00	775.74	2745.00
772	T-8	3.56	13.90	90.99	72.99	9408.00	826.53	3405.00
773	T-9	3.57	16.60	148.64	112.12	9352.00	732.76	3935.00

N° LAB	CLAVES	Ca Total mg/L	Mg Total mg/L	Na Total mg/L	Pb Total mg/L	Cd Total mg/L	Cr Total mg/L
771	T-7	795.00	720.00	305.00	5.50	0.85	1.50
772	T-8	1070.00	735.00	225.00	5.70	0.60	1.85
773	T-9	1500.00	725.00	190.00	5.80	0.55	2.05

LAB	CLAVES	Fe Total mg/L	Cu Total mg/L	Zn Total mg/L	Mn Total mg/L	B Total mg/L
771	T-7	101.45	4.35	23.20	13.00	6.32
772	T-8	89.10	4.20	23.15	13.15	5.58
773	T-9	77.85	4.10	18.75	12.55	6.12



Sady García Bendezú
 Sady García Bendezú
 Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM
 Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Anexo 11: Análisis físico-químico de los insumos



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



INFORME DE ANALISIS DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
MUESTRA DE : ESTIERCOL DE GANADO VACUNO
REFERENCIA : H.R. 61526
FACTURA : 1876
FECHA : 27/11/17

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	M.O. %	N %	P ₂ O ₅ %	K ₂ O %
918		8.48	5.82	75.35	2.27	0.99	1.12

Nº LAB	CLAVES	CaO %	MgO %	Hd %	Na %
918		2.21	1.25	85.09	0.52

Nº LAB	CLAVES	Fe ppm	Cu ppm	Zn ppm	Mn ppm	B ppm
918		623	62	76	172	28

Nº LAB	CLAVES	Pb ppm	Cd ppm	Cr ppm
918		24.35	2.05	6.75

Dr. Sady García Bendezú
Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe



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



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
MUESTRA DE : EFLUENTE DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN CERVECERA
REFERENCIA : H.R. 61527
FACTURA : 1876
FECHA : 27/11/17

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	Sólidos Totales g/L	M.O. en Solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L
919		3.62	4.54	55.86	51.15	1946.56	374.14	885.00

Nº LAB	CLAVES	Ca Total mg/L	Mg Total mg/L	Na Total mg/L	Pb Total mg/L	Cd Total mg/L	Cr Total mg/L
919		92.00	141.00	34.00	0.23	0.05	0.05

LAB	CLAVES	Fe Total mg/L	Cu Total mg/L	Zn Total mg/L	Mn Total mg/L	B Total mg/L
919		2.16	0.13	1.86	0.61	0.94



Dr. Sady García Bendeziú
Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Anexo 12: Análisis físico-químico de la Mezcla Base



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



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
 PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
 MUESTRA DE : MEZCLA BASE (ESTIERCOL FRESCO DE GANADO VACUNO: EFLUENTE DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN CERVECERA, 1:1, m/m)
 REFERENCIA : H.R. 61528
 FACTURA : 1876
 FECHA : 18/12/17

N° LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	Sólidos Totales g/L	M.O. en Solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L
920		3.90	6.91	93.93	83.03	4704.00	627.42	1045.00

N° LAB	CLAVES	Ca Total mg/L	Mg Total mg/L	Na Total mg/L	Pb Total mg/L	Cd Total mg/L	Cr Total mg/L
920		1455.00	420.00	450.00	20.60	1.96	6.20

LAB	CLAVES	Fe Total mg/L	Cu Total mg/L	Zn Total mg/L	Mn Total mg/L	B Total mg/L
920		52.90	4.55	19.05	11.75	5.72



Dr. Sady García Bendezi
Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM
 Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Anexo 13: Análisis físico-químico de la Mezcla Global



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



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
 PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
 MUESTRA DE : MEZCLA GLOBAL (MEZCLA BASE: MELAZA: BIOLAC, 20:2:1, m/m)
 REFERENCIA : H.R. 61556
 FACTURA : 1888
 FECHA : 27/11/17

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	Sólidos Totales g/L	M.O. en Solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L
930		3.88	15.60	144.40	118.78	5096.00	793.48	5355.00

Nº LAB	CLAVES	Ca Total mg/L	Mg Total mg/L	Na Total mg/L	Pb Total mg/L	Cd Total mg/L	Cr Total mg/L
930		3090.00	660.00	345.00	7.20	0.07	0.10

LAB	CLAVES	Fe Total mg/L	Cu Total mg/L	Zn Total mg/L	Mn Total mg/L	B Total mg/L
930		43.70	13.40	23.70	13.90	5.36



 Dr. Sady García Bendejú
 Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM
 Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Anexo 14: Análisis físico-químico del Biofertilizante Líquido Cevafer



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



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
 PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
 MUESTRA DE : BIOFERTILIZANTE LIQUIDO CEVAFER
 REFERENCIA : H.R. 61641
 FACTURA : 1949
 FECHA : 07/12/17

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	Sólidos Totales g/L	M.O. en Solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L
940		3.70	18.30	124.81	97.21	4508.00	671.69	5475.00

Nº LAB	CLAVES	Ca Total mg/L	Mg Total mg/L	Na Total mg/L	Pb Total mg/L	Cd Total mg/L	Cr Total mg/L
940		3160.00	755.00	655.00	1.20	0.07	0.55

LAB	CLAVES	Fe Total mg/L	Cu Total mg/L	Zn Total mg/L	Mn Total mg/L	B Total mg/L
940		33.85	5.60	27.05	11.50	5.79



Dr. Sady García Bendezi
 Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM
 Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe



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



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
MUESTRA DE : BIOFERTILIZANTE LIQUIDO CEVAFER
REFERENCIA : H.R. 62379
FACTURA : 2314
FECHA : 14/02/18

Nº LAB	CLAVES	Carbono orgánico g/L
082		38.86



Dr. Saúl García Bendezi
Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Anexo 15: Análisis físico-químico del Biofertilizante Sólido Cevafer



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



INFORME DE ANALISIS DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
 PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
 MUESTRA DE : BIOFERTILIZANTE SOLIDO CEVAFER
 REFERENCIA : H.R. 61642
 FACTURA : 1949
 FECHA : 07/12/17

Nº LAB	CLAVES	pH	C.E. dS/m	M.O. %	N %	P ₂ O ₅ %	K ₂ O %
941		3.89	6.61	90.06	1.84	0.98	1.67

Nº LAB	CLAVES	CaO %	MgO %	Hd %	Na %
941		0.91	0.26	69.29	0.16

Nº LAB	CLAVES	Fe ppm	Cu ppm	Zn ppm	Mn ppm	B ppm
941		278	26	73	32	24

Nº LAB	CLAVES	Pb ppm	Cd ppm	Cr ppm
941		24.55	0.70	1.70


 D. Sally García Bendezi
 Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM
 Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe



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



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
MUESTRA DE : BIOFERTILIZANTE SOLIDO CEVAFER
REFERENCIA : H.R. 62380
FECHA : 20/02/18

N° LAB	CLAVES	C org. %
083		50.04



Dr. Sady García Bendejú
Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Anexo 16: Análisis microbiológico de los insumos



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

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



INFORME DE ENSAYO N° 1711679- LMT

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO
MUESTRA : ESTIERCOL DE GANADO VACUNO
1711679)
PROCEDENCIA : La Molina
TIPO DE ENVASE : Frasco de plástico
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra x 01 und. x 100 g. aprox.
ESTADO Y CONDICIÓN : En buen estado y cerrado
FECHA DE MUESTREO : 2017 - 11 - 15
FECHA DE RECEPCIÓN : 2017 - 11 - 17
FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 2017 - 11 - 17
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 2017 - 12 - 03

RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Análisis Microbiológico	Muestra 1711679
¹ Enumeración de coliformes totales (NMP/g)	50 x 10 ⁵
¹ Enumeración de coliformes fecales (NMP/g)	50 x 10 ⁵
¹ Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	15 x 10 ⁴
¹ Recuento de <i>Lactobacillus</i> sp. (UFC/g)	15 x 10 ⁴
¹ Recuento de Mohos y levaduras (UFC/g)	34 x 10 ⁴
¹ Detección de <i>Salmonella</i> sp. en 25 g.	Presencia

Métodos:

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

Observaciones:

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

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

Validez del documento:

Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 14 de diciembre de 2017



DRA. DORIS ZÚÑIGA DÁVILA

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

Teléfono: 6147800 anexo 274
E-mail: lmt@lamolina.edu.pe

LABORATORIO DE ECOLOGÍA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGÍA "MARINO TABUSSO"

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

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



INFORME DE ENSAYO N° 1711678- LMT

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO
MUESTRA : EFLUENTE DE PROCESO FERMENTATIVO CERVECERO
(1711678)
PROCEDENCIA : La Molina
TIPO DE ENVASE : Frasco de plástico
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra x 01 und. x 100 ml. aprox.
ESTADO Y CONDICIÓN : En buen estado y cerrado
FECHA DE MUESTREO : 2017 - 11 - 15
FECHA DE RECEPCIÓN : 2017 - 11 - 17
FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 2017 - 11 - 17
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 2017 - 12 - 03

RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Análisis Microbiológico	Muestra 1711678
¹ Enumeración de coliformes totales (NMP/mL)	< 3
¹ Enumeración de coliformes fecales (NMP/mL)	< 3
¹ Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP/mL)	< 3
¹ Recuento de <i>Lactobacillus</i> sp. (UFC/mL)	15 x 10 ⁴
¹ Recuento de levaduras (UFC/mL)	45 x 10 ³
¹ Detección de <i>Salmonella</i> sp. en 25 ml.	Ausencia

Métodos:

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

Observaciones:

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

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

Validez del documento:

Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 14 de diciembre de 2017

DRA. DORIS ZÚÑIGA DÁVILA

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

Teléfono: 6147800 anexo 274

E-mail: imt@lamolina.edu.pe



LABORATORIO DE ECOLOGÍA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGÍA "MARINO TABUSSO"

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

Anexo 17: Análisis microbiológico de la Mezcla Base



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

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



INFORME DE ENSAYO N° 1711680- LMT

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO
MUESTRA : MEZCLA BASE (ESTIERCOL DE GANADO VACUNO: EFLUENTE DE PROCESO FERMENTATIVO CERVECERO, 1:1, m/m) (1711680)
PROCEDENCIA : La Molina
TIPO DE ENVASE : Botella de plástico
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra x 01 und. x 100 ml. aprox.
ESTADO Y CONDICIÓN : En buen estado y cerrado
FECHA DE MUESTREO : 2017 - 11 - 15
FECHA DE RECEPCIÓN : 2017 - 11 - 17
FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 2017 - 11 - 17
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 2017 - 12 - 03

RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Análisis Microbiológico	Muestra 1711680
¹ Enumeración de coliformes totales (NMP/mL)	11 x 10 ⁵
¹ Enumeración de coliformes fecales (NMP/mL)	11 x 10 ⁵
¹ Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP/mL)	90 x 10 ⁴
¹ Recuento de <i>Lactobacillus</i> sp. (UFC/mL)	19 x 10 ⁵
¹ Recuento de Mohos y levaduras (UFC/mL)	28 x 10 ⁴
¹ Detección de <i>Salmonella</i> sp. en 25 ml.	Ausencia

Métodos:

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

Observaciones:

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

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

Validez del documento:

Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 14 de diciembre de 2017



p. Zúñiga Dávila

DRA. DORIS ZÚNIGA DÁVILA

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

Teléfono: 6147800 anexo 274

E-mail: imt@lamolina.edu.pe

LABORATORIO DE ECOLOGÍA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGÍA "MARINO TABUSSO"

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

Anexo 18: Análisis microbiológico del Biofertilizante Líquido Cevafer (post-pasteurización)



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

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



INFORME DE ENSAYO N° 1710695- LMT

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO
MUESTRA :
1710695) BIOFERTILIZANTE LÍQUIDO CEVAFER (CON PASTEURIZACIÓN)

PROCEDENCIA : La Molina - UNALM
TIPO DE ENVASE : Frasco de plástico estéril
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra x 01 und. x 100 ml. aprox.
ESTADO Y CONDICIÓN : En buen estado y cerrado
FECHA DE MUESTREO : 2017 - 11 - 22
FECHA DE RECEPCIÓN : 2017 - 11 - 22
FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 2017 - 11 - 22
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 2017 - 12 - 04

RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Análisis Microbiológico	Muestra 1710695
¹ Enumeración de coliformes totales (NMP/ml.)	< 3
¹ Enumeración de coliformes fecales (NMP/ml)	< 3
¹ Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP/ml)	< 3
¹ Recuento de <i>Lactobacillus sp.</i> (UFC/ml)	< 10
¹ Recuento de Mohos y levaduras (UFC/ml)	< 10
¹ Detección de <i>Salmonella sp.</i> en 25 ml.	Ausencia

Nota: Los valores <3 y <10 indican ausencia de microorganismos en ensayo.

Métodos:

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

Observaciones:

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

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

Validez del documento:

Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 04 de diciembre de 2017



DRA. DORIS ZÚÑIGA DÁVILA

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

Teléfono: 6147800 anexo 274

E-mail: imt@lamolina.edu.pe

LABORATORIO DE ECOLOGÍA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGÍA "MARINO TABUSSO"

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

Anexo 19: Análisis microbiológico del biofertilizante líquido (pre-pasteurización)



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

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



INFORME DE ENSAYO N° 1710694-LMT

SOLICITANTE : BRIGITTE FABIOLA LEIVA TRUJILLO
DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO
MUESTRA :
1710694) BIOFERTILIZANTE LÍQUIDO CEVAFER (SIN PASTEURIZACIÓN)

PROCEDENCIA : La Molina - UNALM
TIPO DE ENVASE : Frasco de plástico estéril
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra x 01 und. x 100 ml. aprox.
ESTADO Y CONDICIÓN : En buen estado y cerrado
FECHA DE MUESTREO : 2017 - 11 - 22
FECHA DE RECEPCIÓN : 2017 - 11 - 22
FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 2017 - 11 - 22
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 2017 - 12 - 04

RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Análisis Microbiológico	Muestra 1710694
¹ Enumeración de coliformes totales (NMP/ml.)	< 3
¹ Enumeración de coliformes fecales (NMP/ml)	< 3
¹ Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP/ml)	< 3
¹ Recuento de <i>Lactobacillus sp.</i> (UFC/ml)	14 x 10 ³
¹ Recuento de Mohos y levaduras (UFC/ml)	37 x 10
¹ Detección de <i>Salmonella sp.</i> en 25 ml.	Ausencia

Métodos:

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

Observaciones:

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

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

Validez del documento:

Este documento tiene validez sólo para la muestra descrita.

La Molina, 04 de diciembre de 2017



DRA. DORIS ZÚÑIGA DÁVILA

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

Teléfono: 6147800 anexo 274

E-mail: imt@lamolina.edu.pe

LABORATORIO DE ECOLOGÍA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGÍA "MARINO TABUSSO"

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

Anexo 20: Análisis parasitológico de los insumos y la Mezcla Base



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE ZOOTECNIA – DEPARTAMENTO ACADEMICO DE NUTRICION
LABORATORIO DE PARASITOLOGIA
Telf. 6147800 Anexo 495 – LA MOLINA – LIMA -PERU



INFORME DE RESULTADOS

FECHA: 7 de Diciembre del 2017

MUESTRA: Materia prima

EXAMEN PARASITARIO: Técnica de Flotación

PROPIETARIO: Brigitte Leiva Trujillo

PROCEDENCIA: Laboratorio de Biorremediación (Facultad de Ciencias - UNALM)

REMITENTE: Tesis de Pregrado de la Facultad de Ciencias- UNALM

FECHA DE MUESTREO: 15 de Noviembre del 2017

FECHA DE RECEPCION: 15 de Noviembre del 2017

RESULTADOS:

Código de muestra	Descripción	Resultados
E01	Estiercol de ganado vacuno	No se observo ninguna forma parasitaria
E02	Efluente del proceso de fermentación cervecera	
E03	Mezcla Base	




Daniel A. Zárate Rendón, MV, MS
Profesor Asociado
Responsable del laboratorio de Parasitología
Facultad de Zootecnia – UNALM

Anexo 21: Análisis parasitológico del Biofertilizante Líquido Cevafer (post-pasteurización) y biofertilizante líquido (pre-pasteurización)



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE ZOOTECNIA – DEPARTAMENTO ACADEMICO DE NUTRICION

LABORATORIO DE PARASITOLOGIA

Telf. 6147800 Anexo 495 – LA MOLINA – LIMA -PERU



INFORME DE RESULTADOS

FECHA: 7 de Diciembre del 2017

MUESTRA: Biofertilizante líquido CEVAFER

EXAMEN PARASITARIO: Técnica de Flotación

PROPIETARIO: Brigitte Leiva Trujillo

PROCEDENCIA: Laboratorio de Biorremediación (Facultad de Ciencias - UNALM)

REMITENTE: Tesis de Pregrado de la Facultad de Ciencias- UNALM

FECHA DE MUESTREO: 22 de Noviembre del 2017

FECHA DE RECEPCION: 22 de Noviembre del 2017

RESULTADOS:

Código de muestra	Descripción	Resultados
B01	Sin pasteurización	No se observó ninguna forma parasitaria
B02	Con pasteurización	


Daniel A. Zárate Rendón, MV, MS
Profesor Asociado
Responsable del laboratorio de Parasitología
Facultad de Zootecnia – UNALM



Anexo 22: Registro fotográfico



Fotografía 1: Mezcla Base y componentes de los tratamientos (Melaza y Bio-lac)



Fotografía 2: Tratamientos y sus repeticiones



Fotografía 3: Fermentación anaeróbica a 40°C por 5 días (Escala laboratorio)



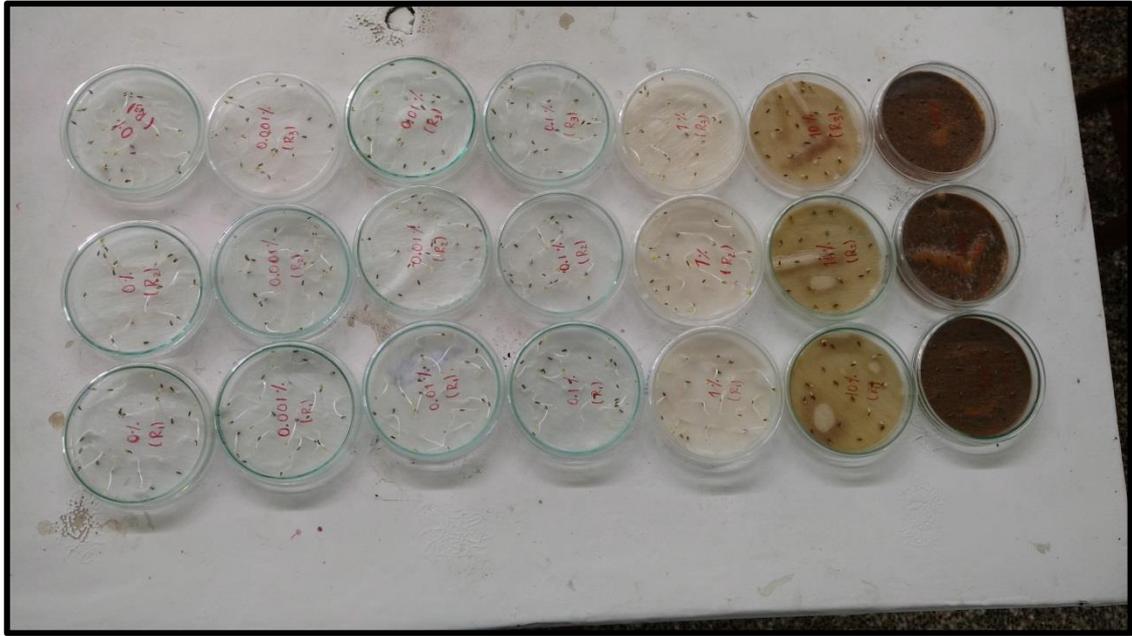
Fotografía 4: Muestras para envío a los laboratorios



Fotografía 5: Fermentación anaeróbica a 40°C por 5 días (Escala piloto)



Fotografía 6: Diluciones para la prueba de toxicidad aguda con *Lactuca sativa*



Fotografía 7: Prueba de toxicidad aguda con *Lactuca sativa L*