

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE BIOL DE SEGUNDA Y
TERCERA GENERACIÓN DE ESTIÉRCOL DE CUY PRODUCIDO
EN UN BIODIGESTOR INSTALADO EN EL INSTITUTO REGIONAL
DE LA COSTA DE LA UNALM”**

Presentada por:

JOSÉ ISMAEL ZANABRIA AYCHO

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERO AMBIENTAL

Lima-Perú

2019

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
FACULTAD DE CIENCIAS**

**“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE BIOL DE SEGUNDA Y
TERCERA GENERACIÓN DE ESTIÉRCOL DE CUY PRODUCIDO
EN UN BIODIGESTOR INSTALADO EN EL INSTITUTO REGIONAL
DE LA COSTA DE LA UNALM”**

Presentada por:

JOSÉ ISMAEL ZANABRIA AYCHO

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERO AMBIENTAL

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Dr. Víctor Meza Contreras
PRESIDENTE

Dra. Rosemary Vela Cardich
MIEMBRO

Ph. D. Lizardo Visitación Figueroa
MIEMBRO

Biol. Juan Juscamaita Morales
ASESOR

Ing. Lawrence Quipuzco Ushñahua
Co - ASESOR

A mis queridos padres, Justa Aycho e Ismael Zanabria por el apoyo constante e incondicional durante el presente trabajo de investigación y por la orientación durante mis años académicos.

A mis hermanas Zahína, Carmen y Mónica por estar siempre a mi lado entregándome la fuerza emocional.

Al amor de mi vida Martha Elena y a nuestro hijo Joaquín fruto de nuestro amor, por el apoyo, la paciencia y la comprensión.

AGRADECIMIENTO

A mi querida universidad, mi alma mater Universidad Nacional Agraria La Molina por ser tan hermosa y acogedora.

Al biólogo Juan Juscamaita Morales por compartir sus conocimientos, por permitir el ingreso y el uso de los equipos en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental-Biorremediación del Departamento de Biología.

Al Ing. Lawrence Quipuzco Usñahua por el tiempo y los consejos que compartió en el desarrollo de trabajo de campo en el Instituto Regional de Desarrollo Fundo Don Germán y por permitir el uso del Laboratorio de Ingeniería Ambiental.

Al Ing. Emerson Castro por acogerme en el IRD fundo don Germán y permitir el uso de los recursos necesarios para el desarrollo del presente trabajo.

Al Señor Abilio encargado de la crianza de cuyes en el fundo Don Germán por el apoyo y la compañía durante los días de trabajo en el fundo.

Al Señor Vicente encargado del laboratorio de Biotecnología Ambiental-Biorremediación del Departamento de Biología por el apoyo durante los meses de trabajo en el laboratorio.

A toda mi familia y amigos por los ánimos, buenos deseos y a todos aquellos que me ayudaron para poder culminar con éxito el presente trabajo.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1	ABONOS O FERTILIZANTES	4
2.1.1	ABONOS O FERTILIZANTES ORGÁNICOS.....	8
2.1.2	FERTILIZANTES MINERALES	12
2.1.3	FERTILIZANTES ORGANICO MINERALES	14
2.2	DIGESTIÓN O FERMENTACION ANAERÓBICA	15
2.2.1	CARACTERISTICAS DE LA DIGESTIÓN ANAERÓBICA.....	15
2.2.2	ETAPAS DE LA DIGESTIÓN ANEROBICA	17
2.3	BIODIGESTOR.....	21
2.3.1	BIOL	21
2.4	BIOL DE SEGUNDA GENERACIÓN	23
2.4.1	FERMENTACIÓN ÁCIDO LÁCTICA	23
2.4.2	BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS	25
2.4.3	CONSORCIO MICROBIANO B-LAC.....	26
2.4.4	MELAZA	27
2.5	BIOL DE TERCERA GENERACIÓN.	29
2.5.1	NITRATO DE AMONIO	29
2.6	MARCO LEGAL PARA LA GESTIÓN DE RESIDUOS AGRÍCOLAS.....	31
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	32
3.1	LUGAR DE EJECUCIÓN	32
3.2	MATERIALES	32
3.2.1	MATERIA PRIMA E INSUMO	32
3.2.2	MATERIALES DE CAMPO.....	33

3.3	METODOLOGÍA.....	36
3.3.1	TIPO DE INVESTIGACIÓN	36
3.3.2	FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....	36
3.3.3	IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES.....	37
3.3.4	TOMA DE MUESTRA DE ESTIERCOL DE CUY.....	37
3.3.5	FUNCIONAMIENTO DEL BIODIGESTOR INSTALADO EN EL IRD CAÑETE.....	37
3.3.6	ELABORACIÓN DE BIOL DE SEGUNDA GENERACIÓN.....	38
3.3.7	ELABORACIÓN DE BIOL DE TERCERA GENERACIÓN.....	39
3.3.8	MEDICIÓN DE pH	40
3.3.9	MEDICIÓN DEL PORCENTAJE DE ACIDEZ TITULABLE.....	41
3.3.10	CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	41
3.3.11	ANÁLISIS AGRONÓMICO.....	42
3.3.12	CARACTERIZACIÓN DE METALES PESADOS.	42
3.3.13	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	43
3.3.14	ANÁLISIS ECONÓMICO DE PRODUCCIÓN.....	43
3.3.15	SELECCIÓN DE LOS MEJORES TRATAMIENTOS.....	43
3.3.16	ENSAYO DE FITOTOXICIDAD EN SEMILLAS DE LECHUGA.....	44
3.3.17	CALIDAD DE BIOL.....	47
3.3.18	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	47
3.3.19	PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	48
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
4.1	PRODUCCIÓN DE BIOL DE PRIMERA GENERACIÓN	49
4.1.1	CONDICIONES INICIALES	49
4.1.2	ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL BIOL Y BIOGÁS.	50

4.2	PRODUCCIÓN DE BIOL DE SEGUNDA GENERACIÓN	52
4.2.1	CONDICIONES INICIALES.....	52
4.2.2	ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN DE ESTABILIDAD DE pH	54
4.2.3	ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN Y ESTABILIDAD DEL PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO	55
4.2.4	ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN DE LA TEMPERATURA	57
4.2.5	ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA.....	58
4.2.6	EVALUACIÓN ECONÓMICA DE PRODUCCIÓN.....	59
4.2.7	SELECCIÓN DEL MEJOR TRATAMIENTO.....	60
4.3	BIOL DE TERCERA GENERACIÓN	60
4.4	CARACTERIZACIÓN DE LOS BIOLES.....	61
4.4.1	CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICAS DE INTERÉS AGRONÓMICO	61
4.4.2	CARACTERIZACIÓN DE METALES PESADOS	65
4.4.3	CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA.....	67
4.5	EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL BIOL EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE LECHUGA.	68
4.5.1	EVALUACIÓN DEL ÍNDICE DE GERMINACIÓN	72
V.	CONCLUSIONES	74
VI.	RECOMENDACIONES	76
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
VIII.	ANEXOS.....	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Nutrientes que necesitan las plantas.....	6
Tabla 2: Requisitos que deben cumplir los fertilizantes orgánicos líquidos.	10
Tabla 3: Límites máximos de metales pesados.	11
Tabla 4: Requisitos microbiológicos.	11
Tabla 5: Rango de temperatura para la digestión anaeróbica.	16
Tabla 6: Características generales del biogás.	20
Tabla 7: Composición del consorcio microbiano B-Lac.	27
Tabla 8: Características físicas y químicas de la melaza de caña.....	28
Tabla 9: Características del nitrato de amonio estabilizado.	30
Tabla 10: Concentración de insumos para la elaboración del Biol II-G.	38
Tabla 11: Metodología de análisis de los parámetros agronómicos.....	42
Tabla 12: Condiciones para la prueba de ensayo de toxicidad aguda.	44
Tabla 13: Diluciones para el ensayo de fitotoxicidad.....	45
Tabla 14: Características de estiércol de cuy.....	49
Tabla 15: Características iniciales del Biol I-G.....	50
Tabla 16: Características promedio del Biol I-G.....	50
Tabla 17: Características Promedio del Biogás.....	51
Tabla 18: Valor de pH de los insumos empleados.	52
Tabla 19: Valores iniciales de pH, porcentaje de acidez titulable, conductividad eléctrica y temperatura del Biol II-G.	53
Tabla 20: Precio de los insumos.....	59
Tabla 21: Precio final de los insumos por tratamiento.	60
Tabla 22: Características del Biol III-G.	61
Tabla 23: Resultados fisicoquímico de los biofertilizantes líquidos obtenidos.	62
Tabla 24: Comparación de parámetros físico-químicos con otros biofertilizantes líquidos.....	64
Tabla 25: Caracterización de metales pesados para algunos biofertilizantes.....	65
Tabla 26: Valores máximos de metales pesados en abonos orgánicos.....	66

Tabla 27: Caracterización microbiológica del Biol I-G y Biol II-G.....	67
Tabla 28: Características de pH y CE en las diluciones de los biofertilizantes líquidos.....	69
Tabla 29: Índice de Germinación IG de semillas de lechuga.	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Esquema de clasificación para los fertilizantes y acondicionadores del suelo según NTP 311.520, 2015	7
Figura 2: Diagrama de flujo de la producción de fertilizantes sintéticos	13
Figura 3: Reacciones de la digestión anaeróbica de materiales poliméricos.....	18
Figura 4: Morfología de la semilla y planta de lechuga.	45
Figura 5: Flujo del proceso de elaboración del Biol I-G, Biol II-G y Biol III-G	48
Figura 6: Variación del pH promedio en el proceso de fermentación homoláctica.	54
Figura 7: Variación del porcentaje de ácido láctico	56
Figura 8: Variación de la temperatura Biol II-G	57
Figura 9: Variación de la conductividad eléctrica.	58
Figura 10: Medición promedio de la elongación de la radícula y del hipocótilo	70

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1 Control de características del Biol I-G	84
ANEXO 2 Producción del Biol II-G	85
ANEXO 3 Resultados del ensayo de fitotoxicidad en semillas de lechuga.	94
ANEXO 4 Informe de análisis de laboratorio	98
ANEXO 5 Análisis Estadístico	108
ANEXO 6 Registro fotográfico.....	117

RESUMEN

El presente trabajo de investigación evaluó la calidad de dos abonos orgánicos y uno orgánico-mineral, los tres en estado líquido producidos a partir de estiércol de cuy, mediante procesos consecutivos; el primero de una digestión anaeróbica en un biodigestor instalado en el Instituto Regional de Desarrollo fundo Don Germán (Biol I-G), segundo de una fermentación láctica denominado Biol II-G y el tercero de la mezcla de este último con el fertilizante sintético nitrato de amonio al 33 por ciento estabilizado (Biol III-G), estos dos últimos procesos dentro del Laboratorio de Biotecnología Ambiental-Biorremediación del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias.

A lo largo del proceso de investigación los fertilizantes se sometieron a un análisis de pH conductividad eléctrica, temperatura, sólidos totales, materia orgánica en solución, macro nutrientes (N, P y K), micronutrientes (Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Zn, Mn y B), Metales pesados (Cd, Cr y Pb), microbiológico (Coliformes fecales, coliformes totales, *E. coli*, *Salmonella sp*); además, se evaluó los efectos fitotóxicos en semillas de lechuga en un ensayo de Fitotoxicidad Aguda. A sí mismo, durante la etapa de fermentación láctica del Biol II-G se evaluó el parámetro de acidez láctica titulable.

El Biol I-G fue extraído del biodigestor en funcionamiento en el IRD Fundo Don Germán previo monitoreo de parámetros para obtener un biol maduro, es así, que se registró valores de: pH en promedio 7.06 und, conductividad eléctrica 7.45 dS/m, temperatura 24°C, concentración de gas metano promedio de 67.5 por ciento.

El Biol II-G se obtuvo de cuatro tratamientos a base de combinaciones diferentes de Biol I-G, Melaza y el consorcio microbiano B-Lac, Además de la muestra control de Biol I-G al 100 por ciento, los diferentes tratamientos fueron expuestos a temperatura ambiente durante un periodo de 30 días, los cuatro tratamientos resultaron con pH menor a cuatro para el cuarto día de tratamiento, ninguno presento malos olores, de estos cuatro tratmientos se escogió

la concentración melaza 20 por ciento, B-lac 10 por ciento y el resto Biol I-G ya que es la que mayor cantidad de melaza que se adicionó y por ende mayor cantidad de nutrientes.

Para la obtención del Biol III-G se procedió a la mezcla del Biol II-G con nitrato de amonio estabilizado con fósforo en concentraciones de 33 por ciento de nitrógeno y tres por ciento de fósforo (P_2O_5) incrementando los valores nutricionales.

Los resultados obtenidos evidencian que a medida que se aplica un tratamiento se incrementa los valores nutricionales principalmente los macro nutrientes, Así mismo, los metales pesados aumentan su concentración, pero ninguno sobrepasa los límites máximos permisibles para abonos orgánicos. Por otro lado, los resultados microbiológicos para el Biol II-G registran valores menores a tres NMP/mL indicando ausencia de estos microorganismos patógenos, considerando al Biol II-G y III-G fertilizantes inocuos. Para finalizar el ensayo de fitotoxicidad indica que las dosis altas inhiben la germinación de la semilla y el crecimiento de la plántula como la dilución al 1 por ciento del Biol III-G, la dosis óptima para el Biol I-G es de 0,01 por ciento, para el Biol II-G fue de 0,1 por ciento y para el Biol III-G 0,001 por ciento según el índice de germinación (90,17, 91,99 y 91,53 por ciento) respectivamente.

Palabras clave: Biodigestor, fertilizante orgánico, Biol, Biol I-G, Biol II-G, Biol III-G, melaza, fermentación láctica, bacterias lácticas, consorcio microbiano láctico, B-lac, nitrato de amonio.

ABSTRACT

The present study evaluated the quality of two organic fertilizers and one organic-mineral, the three in liquid state, produced from domestic guinea pig manure by means of consecutive processes. The first fertilizer developed from an anaerobic digestion in a biodigester installed in the Regional Institute of Development “Don Germán” (Biol I-G); the second from a lactic acid fermentation of Biol I-G called Biol II-G, and the third from the mixture of the latter with a synthetic fertilizer - Stabilized Ammonium nitrate (Biol III-G), at the facilities of the Biotechnology Environmental-Bioremediation Laboratory of the Department of Biology Faculty of Sciences.

Throughout the research process the fertilizers were subjected to an analysis of pH, electrical conductivity, temperature, total solids, organic matter in solution, presence of macronutrients (N, P and K), micronutrients (Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Zn, Mn and B), heavy metals (Cd, Cr and Pb), and microbiological indicators (Fecal coliforms, total coliforms, *E. coli*, *Salmonella sp*). In addition, the phytotoxic effects in lettuce seeds were evaluated in an Acute Phytotoxicity test, as well as the titratable lactic acidity parameter, during the homolactic fermentation stage of Biol II-G.

The analysis of the mature Biol I-G, extracted from the biodigester in operation at the IRD Fundo Don Germán was the following: pH on average: 7.06 und; Electrical conductivity; 7.45 dS / m; Temperature: 24 ° C; and Average methane gas concentration of 67.5 percent.

Biol II-G- obtained from four treatments based on different combinations of Biol I-G, molasses and the microbial consortium B-Lac, plus a control sample, and exposed at room temperature during a period of 30 days. The results for the four treatments showed a pH of less than four on the fourth day of treatment, lack of bad odors. Of the four treatments the one with 20 percent the molasses and 10 percent B-lac was chosen for the next stage, since it provided more nutrients to the Biol.

To obtain Biol III-G, the selected Biol II-G was mixed with stabilized ammonium nitrate at concentrations of 33 percent nitrogen and three percent phosphorus (P_2O_5), increasing its nutritional values.

The results obtained show that as the treatment is applied, the nutritional values increase, mainly the macro nutrients, similarly the heavy metals increase their concentration, but none of them exceeds the maximum permissible limits for organic fertilizers. On the other hand, the microbiological results for the Biol II-G register values lower than three NMP / mL indicating the absence of pathogenic microorganisms, making the Biol II-G and III-G innocuous fertilizers. Finally, the phytotoxicity test indicates that high doses inhibit seed germination and seedling growth at one percent dilution of Biol III-G. According to the germination index, the optimal dose for Biol I-G is 0.01 percent, for the Biol II-G was 0.1 percent and for the Biol III-G 0.001 percent (90,17, 91,99 y 91,53 percent) respectively.

Key Words: Biodigester, organic fertilizer, organic liquid fertilizer, Biol I-G, Biol II-G, Biol III-G, molasses, homolactic fermentation, lactic bacteria, lactic microbial consortium, B-lac, ammonium nitrate.

I. INTRODUCCIÓN

El cuy (*Cavia porcellus*), una especie originaria de la zona Andina del Perú, Ecuador, Colombia y Bolivia, es un producto alimenticio nativo, de alto valor nutritivo y de bajo costo de producción, que contribuye a la seguridad alimentaria de la población rural de escasos recursos. La población de cuyes en los países andinos se estima en 36 millones de animales (MINAGRI, 2015). De acuerdo a los resultados del Censo Nacional Agropecuario, realizado el año 2012, hay 12 695 030 cuyes en el Perú, siendo las regiones que concentran la mayor crianza: Cajamarca, Arequipa, Áncash, Cusco, Junín y Ayacucho; mientras en la costa sobresalen Lima y Lambayeque, y en selva, Amazonas y Loreto.

La crianza de cuyes, que tiene como finalidad la producción de carne, genera cantidades significativas de estiércol, lo que podría generar impactos ambientales negativos tales como la contaminación del aire, agua y suelo, si no se lleva a cabo una adecuada gestión de residuos sólidos. Estos impactos negativos además de generar un deterioro del medio ambiente, son un peligro para la salud, debido a la generación de vectores biológicos.

Un ejemplo de un adecuado aprovechamiento de estos residuos, es la generación de fertilizantes orgánicos mediante biodigestores anaeróbicos; ya que, durante el último siglo, la agricultura moderna intensiva, como consecuencia de los altos insumos de plaguicidas y fertilizantes sintéticos y de la especialización del monocultivo; ha tenido un impacto nocivo sobre la diversidad de los recursos genéticos de las variedades de cultivos y de razas de animales, sobre la diversidad de las especies silvestres de la flora y de la fauna y sobre la diversidad de los ecosistemas.

El Perú es uno de los doce países considerados como megadiversos y se estima que posee entre 60 y 70 por ciento de la diversidad biológica. Esta ventajosa situación se puede ver amenazada por un inadecuado manejo de los recursos, llevándolo, a niveles críticos de deterioro en ciertas zonas del país generando problemas de desertificación, deforestación, salinización, degradación de ecosistemas y desaparición de especies silvestres. Siendo una de las causas de la situación de pobreza de la mayor parte de los campesinos y pequeños productores agropecuarios, explican en parte por la utilización inadecuada y degradación de los recursos naturales debido a la aplicación de sistemas productivos que generan desequilibrios negativos entre el proceso de extracción y regeneración de los recursos naturales (MINAGRI, 2018).

En el Perú 1 370 000 productores agropecuarios, que representan el 62 por ciento del total, utilizan algún tipo de abono orgánico. En la sierra, 1 075 000 de productores son los que más aplican este tipo de producto; mientras que en la región de la costa y la selva, lo utiliza un menor número. Del total de productores que utilizan abonos orgánicos en cantidad suficiente, el 75,7 por ciento corresponden a la región Sierra, el 19,9 por ciento a la costa y el 4,4 por ciento restante a la Selva (IV CENSO AGROPECUARIO, 2012).

Es por ello que el presente estudio evaluará la calidad de Biol de segunda y tercera generación denominado así por ser el segundo y tercer producto obtenido de Biol. El biodigestor anaeróbico tiene como uno de los productos finales el Biol (para el presente estudio se le denomina Biol de primera generación I-G), que es el fertilizante orgánico líquido. Al Biol de primera generación se le aplicará una segunda fermentación anaeróbica o también llamada fermentación ácido láctica, con ayuda de un Consorcio Microbiano Ácido Láctico llamado B-lac y un sustrato llamado melaza, para que el consorcio pueda producir ácido láctico que ayuda a reducir el pH y elimine agentes patógenos. El proceso de esta segunda fermentación tiene una duración de cinco días aproximadamente y se le denomina Biol de segunda generación II-G. Al Biol de segunda generación se le aplicará un fertilizante mineral, el cual tendrá una composición órgano-mineral con mayor cantidad de nutrientes, que se le denominará Biol de tercera generación III-G.

El objetivo general del estudio es evaluar la calidad del abono orgánico líquido (Biol de segunda generación) y el abono orgánico-mineral líquido (Biol de tercera generación) producido a partir del estiércol de cuy, mediante tres procesos consecutivos: primero la digestión anaeróbica en un biodigestor en funcionamiento en el Instituto Regional de Desarrollo de Costa, segundo la fermentación ácido láctica sobre el Biol obtenido y tercero la dilución de un fertilizante mineral en el último Biol obtenido en laboratorio dentro de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Los objetivos específicos son los siguientes.

- Monitorear los procesos de producción de los abonos orgánicos en función a los tiempos y características que estos requieran.
- Analizar los parámetros fisicoquímicos, metales pesados y microbiológicos del mejor Biol II-G y Biol III-G producido como resultado de las metodologías aplicadas.
- Identificar los efectos fitotóxicos de la aplicación del Biol II-G y Biol III-G en el proceso de germinación y desarrollo de plántulas durante los primeros días de crecimiento en semillas de lechugas.
- Analizar la estabilización del Biol de segunda generación durante un mes.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ABONOS O FERTILIZANTES

Producto que aplicado al suelo o a las plantas, suministra a éstas uno o más nutrientes esenciales necesarios para su crecimiento y desarrollo (NTP 311.521, 2014).

Los abonos o fertilizantes son productos orgánicos o inorgánicos, naturales o sintéticos, con contenido de nutrientes destinados a la alimentación de las plantas que se pueden aplicar directa e indirectamente, para favorecer su crecimiento, aumentar su producción o mejorar su calidad. Ello quiere decir favorecer la multiplicación de la masa vegetal, como la regulación de su aumento, limitar el crecimiento de algunas partes para favorecer la producción neta en hojas o en fruto, incrementando la calidad nutritiva, resistencia de la planta ante cualquier sustancia nociva y un mejoramiento de la calidad comercial (Finck, 2009; Madrid *et al.*, 1996).

El Real Decreto 506 (2013), define producto fertilizante aquel utilizado en agricultura o jardinería que, por su contenido en nutrientes, facilita el crecimiento de las plantas, aumenta su rendimiento y mejora la calidad de las cosechas o que, por su acción específica, modifica, según convenga, la fertilidad del suelo o sus características físicas, químicas o biológicas, que cumpla con los siguientes requisitos: (a) Aporte nutrientes a las plantas de manera eficaz o mejore las propiedades del suelo (b) Que se disponga, para el producto, de métodos adecuados de toma de muestras, de análisis y de ensayo para poder comprobar sus riquezas y cualidades (c) Que, en condiciones normales de uso, no produzca efectos perjudiciales para la salud y el medio ambiente. Se incluyen en esta definición los abonos, los productos especiales y las enmiendas.

Las plantas superiores pueden contener hasta 60 elementos nutritivos, de los cuales solamente 16 se consideran esenciales para su normal crecimiento y reproducción, de tal forma que cuando falta alguno de ellos las plantas no completan su ciclo vegetativo

De los 16 elementos, el carbono, el oxígeno y el hidrógeno son suministrados por el aire, mientras que los 13 restantes son suministrados por el suelo, clasificándolos de la siguiente manera (Fuentes, 1999).

- Elementos Primarios o Macroelementos. En la mayoría de los cultivos, las necesidades de las plantas son superiores a las existencias en forma asimilable de dichos elementos en el suelo. Estos son nitrógeno, potasio y fósforo.
- Elementos Secundarios. Las existencias de estos elementos suelen cubrir las necesidades de los cultivos, por lo que, en general, no es preciso hacer aportaciones. Estos son el calcio, el azufre y el magnesio.
- Microelementos u Oligoelementos. esenciales para las plantas son manganeso, hierro, boro, cobre, zinc, molibdeno, cobalto y cloro.

La clasificación de los fertilizantes según la Norma Técnica Peruana NTP 311.520, 2015 se detalla la Figura 1 en el cual clasifica en tres tipos de fertilizantes los cuales son: inorgánicos, orgánicos y de origen mixto.

Así mismo la NTP 311.521 (2014) términos y definiciones, define como un acondicionador o enmienda toda sustancia cuya acción fundamental consiste en el mejoramiento, de por lo menos, una característica física, química o biológica del suelo.

En la Tabla 1 se menciona a los elementos mayores, primarios, secundarios, oligoelementos que las plantas necesitan para su buen desarrollo.

Tabla 1: Nutrientes que necesitan las plantas.

Elementos	Símbolo	Funciones que desempeña en las planta
Carbono	C	Forma parte de los hidratos de carbono, grasas y proteínas. Indispensable para la fotosíntesis por formar parte del dióxido de carbono.
Hidrógeno	H	Forma parte de la materia orgánica. Forma parte del agua, es indispensable para la fotosíntesis y para otras reacciones bioquímicas.
Oxígeno	O	Forma parte de la materia orgánica. Por formar parte del dióxido de carbono y del agua, es indispensable para la fotosíntesis, indispensable para la respiración.
Nitrógeno	N	Entra a formar parte de la composición de todas las proteínas y todos los aminoácidos de las plantas
Fósforo	P	Regulación de la presión osmótica. Transferencia de hidratos de carbono entre partes distintas de la misma planta. Interacción en reacciones enzimáticas y concretamente en la síntesis proteica.
Potasio	K	Involucrado en la formación de enzimas, aminoácidos y proteínas, juega un papel importante en la absorción del agua y afecta directamente la tasa de transpiración mediante el cierre y apertura estomática. Es un elemento crítico para que las plantas puedan resistir a los ataques de patógenos.
Azufre	S	Entra a formar parte de la composición de algunas proteínas, de algunos aminoácidos y algunos aceites.
Calcio	Ca	Activación enzimática. Forma parte del pectato de calcio de las paredes celulares. Indispensable para la división celular. Regulación de presión osmótica.
Magnesio	Mg	Constituyente de la clorofila. Activación enzimática. Regulación de la presión osmótica.
Manganeso Hierro Boro Cobre Zinc Molibdeno Cobalto Cloro	Mn Fe B Cu Zn Mo Co Cl	Funciones específicas diversas sobre todo en sistemas enzimáticos indispensables para la fotosíntesis, para la asimilación de nitrógeno o para la síntesis proteica

FUENTE: Simpson (1991), citado por Peralta (2010).

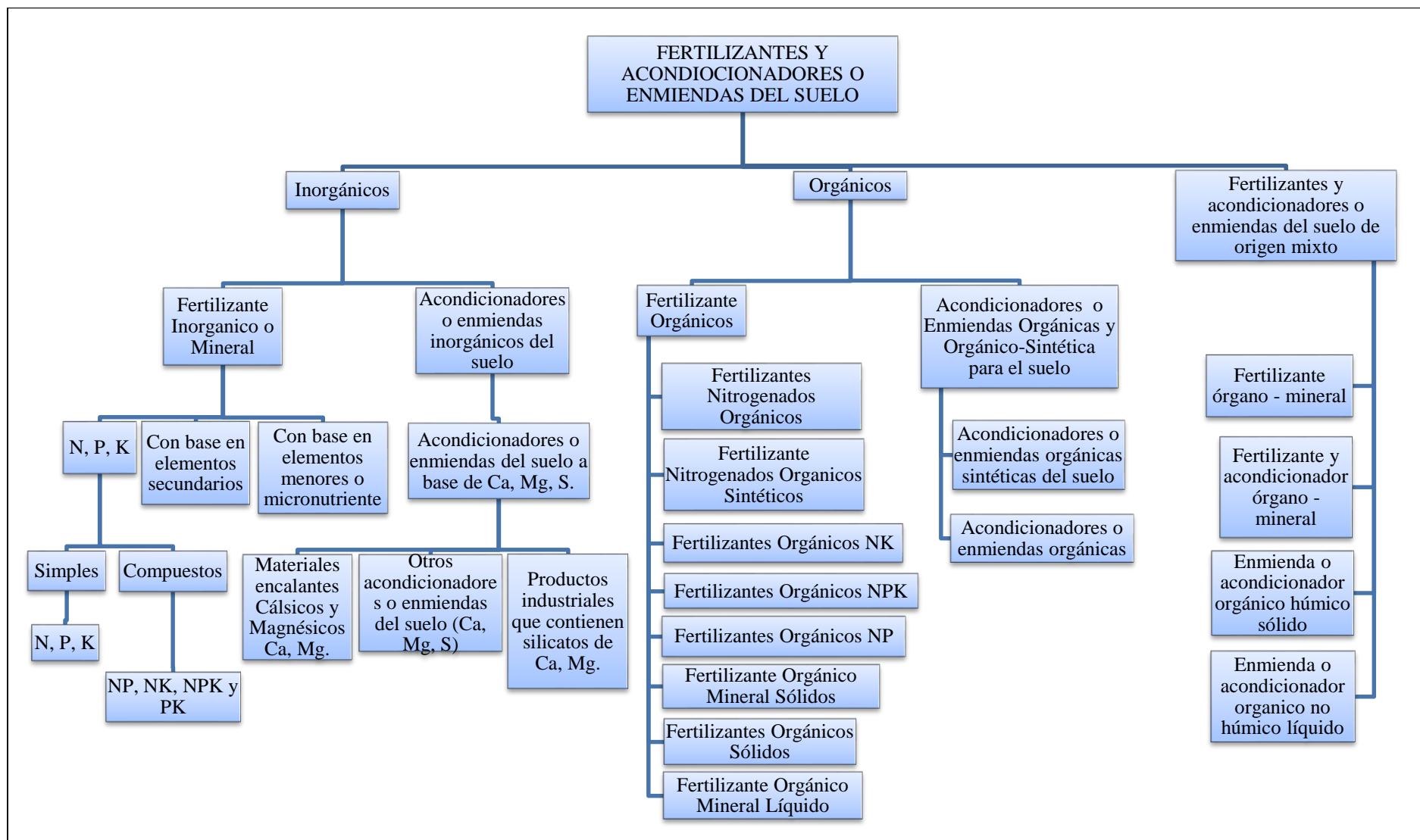


Figura 1: Esquema de clasificación para los fertilizantes y acondicionadores del suelo según NTP 311.520, 2015

2.1.1 ABONOS O FERTILIZANTES ORGÁNICOS

Material de origen vegetal y/o animal añadidos al suelo o aplicados de forma foliar para la nutrición de las plantas (NTP 311.521, 2014).

Materiales orgánicos, generalmente de origen vegetal y/o animal procesado y manejado de manera ambientalmente limpia, tanto en el procesamiento como en el transporte, que es agregado al suelo principalmente para la nutrición de las plantas (NTP 311.520, 2015).

En el Perú la legislación nacional según el DS 044-2006-AG del reglamento técnico para los productos orgánicos, define como Producto Orgánico a todo aquel producto originado en un sistema de producción agrícola o que en su transformación emplee tecnologías agrícolas que, en armonía con el medio ambiente, y respetando la integridad cultural, optimicen el uso de los recursos naturales y socio-económicos, con el fin de garantizar una producción agrícola sostenible.

La composición de estos fertilizantes es muy irregular, debido, sobre todo, al origen de los materiales; también varía mucho el contenido de humedad. Algunos fertilizantes orgánicos, debido a su carácter residual, pueden contener niveles peligrosos de microelementos y otros elementos que obligan a establecer una normativa de niveles máximos permitidos (Fuentes, 1999).

Un acondicionador o enmienda orgánica no puede ser clasificado como fertilizante debido a su bajo contenido de nutrientes primarios (NPK) en forma individual, el cual es generalmente menor a dos por ciento (p/p) del producto terminado, en base seca. Si bien los nutrientes contenidos en estos productos pueden ser declarados, no se altera su clasificación como acondicionador orgánico de suelos (NTP 311.520, 2015).

Enmiendas o acondicionadores orgánicos húmicos líquidos: producto orgánico líquido obtenido mediante la solubilización en medio alcalino o por oxidación química de un material de origen pedogenético, que aporta ácido húmicos y fúlvicos y que cumplen las especificaciones que se indican en la NTP 311.557.

Enmiendas o acondicionadores orgánicos no húmicos líquidos: producto orgánico líquido obtenido a partir de la solubilización y estabilización de residuos provenientes de las plantas industriales y de tratamientos de aguas residuales agroindustriales y domiciliarias y que cumplen las especificaciones técnicas NTP 311.557.

2.1.1.1 CLASIFICACION DE LOS PRODUCTOS ORGÁNICOS USADOS COMO FERTILIZANTES Y ENMIENDAS SEGÚN NTP 311.557, 2013

Los productos orgánicos empleados como abonos o fertilizantes y enmiendas o acondicionadores del suelo se clasifican de la siguiente forma:

- A. Abonos o fertilizantes orgánicos sólidos.
- B. Abonos o fertilizantes orgánico-minerales sólidos.
- C. Abonos o fertilizantes orgánico-minerales líquidos.
- D. Enmiendas o acondicionadores orgánicos húmicos sólidos.
- E. Enmiendas o acondicionadores orgánicos húmicos líquidos.
- F. Enmiendas o acondicionadores orgánicos no húmicos sólidos.
- G. Enmiendas o acondicionadores orgánicos no húmicos líquidos.

Así mismo los requisitos generales para dichos productos deben ser:

- Presentarse en forma sólida como granulados, polvos o agregados o líquida como concentrados solubles, suspensiones o dispersiones.
- Todo producto cuyo origen sea materia orgánica fresca debe ser sometido a procesos de transformación que aseguren su estabilización agronómica tales como: compostaje o fermentación.
- Deberá declararse el origen (clase y procedencia) de las materias primas y los procesos de transformación empleados.

En la Tabla 2 se puede apreciar los requisitos que se deben cumplir para considerar como abonos orgánicos y orgánicos - minerales según la NTP 311557, 2013 y el Real decreto 506, 2013.

Tabla 2: Requisitos que deben cumplir los fertilizantes orgánicos líquidos.

Parámetro	Norma Técnica Peruana			Real Decreto 506	
	Fertilizante Orgánico Solido	Fertilizante orgánico – mineral líquido	Enmienda húmico líquido	Abonos Orgánicos NK líquido de origen vegetal	Abonos Orgánico – Mineral Nitrogenado Líquido
Carbono Orgánico Oxidable	mínimo 15 %	Mínimo 20 g/L	Mínimo 40 g/L	Reportar	C orgánico:5%
Relación de C/N	Reportar	-	-	≤15	-
CE		Reportar en dS/m	Reportar	-	-
pH	Entre 4 y 9	Máximo 8,5	9 a 12	Reportar	Reportar
Solidos Insolubles	-	Máximo 40 g/L	Máximo 40 g/L	-	-
Nutrientes (NPK)	N, P ₂ O ₅ , K ₂ O, totales (reportarlos si cada uno es mayor de 1 %)	El contenido mínimo en el caso de N total o P ₂ O ₅ o K ₂ O Total: 15 g/L.	El contenido mínimo en el caso de N total o P ₂ O ₅ o K ₂ O: 15 g/L.	N + K ₂ O :6% N total: 2% K ₂ O total: 3% -	N total: 8% N orgánico: 1% P ₂ O ₅ o K ₂ O: Reportar si superan el 1%

FUENTE:

(1) Norma Técnica Peruana 311.557 (2013).

(2) Real Decreto 506 (2013).

En la Tabla 3 se aprecia las concentraciones máximas que deben presentar los compost y compuestos para algunos metales pesados según la Norma Técnica Peruana y Real Decreto Español.

Tabla 3: Límites máximos de metales pesados.

Parámetro	Perú ¹ en mg/kg (ppm)		España ² Sólidos: mg/kg de base seca Líquidos: mg/kg		
	Fertilizante orgánico – mineral líquido	Enmienda húmica líquido	Case A	Clase B	Clase C
Arsénico	41	41	-	-	-
Cadmio	39	39	0,7	2	3
Cromo total	1200	1200	70	250	300
Cobre	-	-	70	300	400
Mercurio	17	17	0,4	1,5	2,5
Níquel	420	420	25	90	100
Plomo	300	300	45	150	200
Zinc	-	-	200	500	1000

FUENTE:

(1) Norma Técnica Peruana 311.557, 2013. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas o acondicionadores de suelo.

(2) Real Decreto 506/2013 sobre productos fertilizantes.

Mientras que los requisitos microbiológicos que se deban cumplir se observan en la Tabla 4 según la NTP 311.557:2013 y el Real Decreto 506/2013 de España.

Tabla 4: Requisitos microbiológicos.

Parámetro	NTP	Real Decreto
Coliformes Totales en NMP/g (en base seca)	<1000	-
<i>E. Coli</i> en NMP/g	-	<1000
<i>Salmonella sp</i>	Ausente en 25 g	Ausencia en 25 g.
Huevos de Helmintos viables	< 1 en 4 g (en base seca)	-

FUENTE:

(1) Norma chilena 2880 Compost-clasificación y requerimientos 2005

(2) Norma Ambiental para el distrito federal nadf-020-ambt-2011, México.

Así mismo la NTP 311.557 indica las cantidades máximas de macro-contaminantes de los productos orgánicos sólidos empleados como abonos o fertilizantes y enmiendas o acondicionadores del suelo.

- Plástico, metal, caucho > 2 mm: < 0,2 por ciento en m.s.
- Vidrio > 2 mm: < 0,02 por ciento en m.s.
- Piedras > 5 mm: < 2 por ciento en m.s.
- Vidrio > 16 mm detección (si/no): no en m.s.

En el Perú cuenta con normas técnicas que son documentos de carácter voluntario, establecido para uso común y repetido, que facilita la adaptación de los productos, procesos y servicios a los fines a los que se destinan, protegiendo la salud y el medio ambiente.

2.1.2 FERTILIZANTES MINERALES

Cualquier material natural o industrializado, que contenga al menos cinco por ciento de uno o más de los tres nutrientes primarios (N, P₂O₅, K₂O), puede ser llamado fertilizante. Fertilizantes fabricados industrialmente son llamados fertilizantes minerales. La presentación de los fertilizantes minerales es muy variada. Dependiendo del proceso de fabricación, las partículas de los fertilizantes minerales pueden ser de muy diferentes tamaños y formas: gránulos, píldoras, «perlados», cristales, polvo de grano grueso / compactado o fino. La mayoría de los fertilizantes es provista en forma sólida. Los fertilizantes líquidos y de suspensión son importantes principalmente en América del Norte (FAO, 2002).

En la Figura 2 se puede apreciar la síntesis de los diferentes fertilizantes minerales, la fuente de la cual se extraer y los compuestos de los que está formado alguno de los fertilizantes minerales.

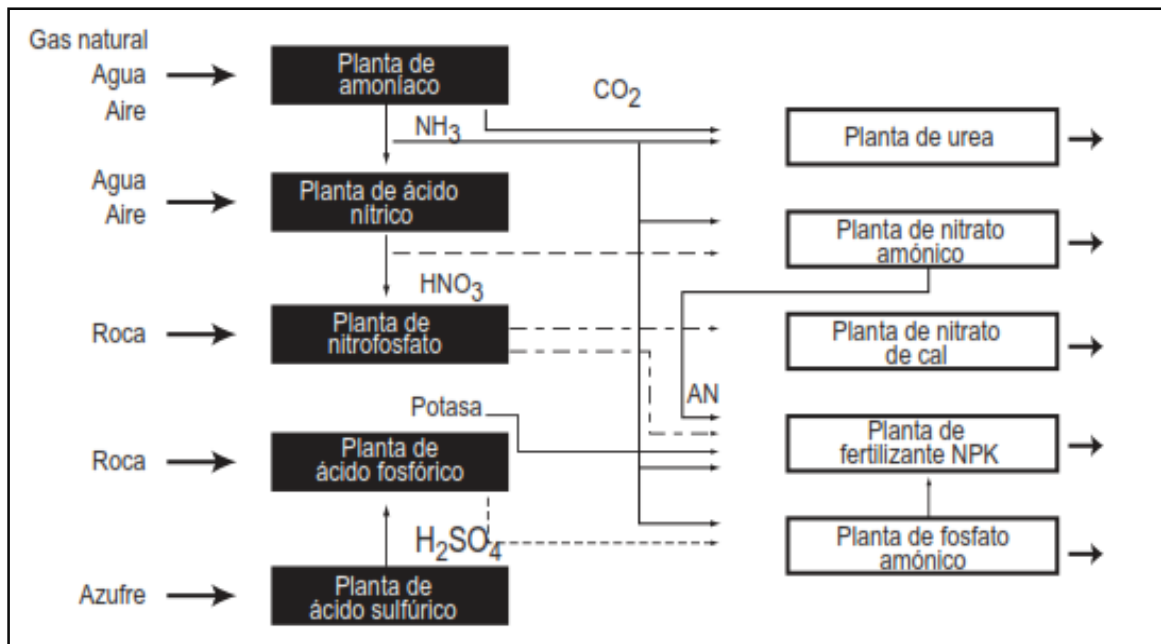


Figura 2: Diagrama de flujo de la producción de fertilizantes sintéticos

FUENTE: (FAO, 2002).

Además de su contenido nutritivo específico, la calidad física de un fertilizante es determinada por el rango del tamaño de sus partículas (productos tamizados), su densidad / dureza, su resistencia a la humedad y al daño físico, y su libertad de apelmazarse – los fertilizantes de alta calidad gozan de un tratamiento especial de la superficie / recubrimiento. Respecto al transporte, almacenamiento y aplicación en el campo, la densidad / peso específico de un fertilizante es también importante. Normalmente la urea tiene un volumen más grande por unidad de peso que la mayoría de los otros fertilizantes (FAO, 2002).

Los nutrientes primarios son expresados comúnmente en porcentajes N-P₂O-K₂O. Ellos son dados siempre en esta secuencia. De este modo, en una fórmula 17-17-17, el primer número es el porcentaje de N, el segundo número el porcentaje de P₂O₅ y el tercero el porcentaje de K₂O₂ (FAO, 2002).

Para el presente estudio se utilizó el nitrato de amonio estabilizado (NH_4NH_3): el cual se define como una sal amoniacal de ácido nítrico, del cual la mitad se encuentra en forma amoniacal y la otra mitad en forma nítrica, sin considerar impurezas. Este producto es estabilizado químicamente con fosfato u otros elementos químicos para disminuir su poder detonante (NTP 311.521, 2014).

2.1.3 FERTILIZANTES ORGANICO MINERALES

Abono órgano-mineral: producto cuya función principal es aportar nutrientes para las plantas, los cuales son de origen orgánico y mineral, y se obtiene por mezcla o combinación química de abonos inorgánicos con materiales carbonados de origen animal o vegetal o abonos orgánicos (Real Decreto 506, 2013)

Fertilizante órgano – mineral: producto en los que los nutrientes declarables son a la vez de origen orgánico e inorgánico, obtenido por mezcla física o combinación química o bioquímica de fertilizantes orgánicos e inorgánicos (NTP 311.520, 2014).

Fertilizante orgánico-minerales líquidos: Producto líquido estabilizado, obtenido por fermentación o por adición de agua a un fertilizante orgánico, orgánico mineral sólido o mezcla de los anteriores, con posterior extracción, al que se puede o no añadir un fertilizante mineral y que cumple con los parámetros que se indican en la NTP 311.557.

Así mismo, el Ing. Agrónomo Rafael Gomes trabajador de la Asociación Española de Fabricantes de Agronutrientes (AEFA, 2016) indica que los fertilizantes órgano-minerales, son como indica su nombre, combinación de materiales orgánicos y minerales, es decir, contienen materia orgánica y nutrientes minerales en el mismo producto. Durante su fabricación se adicionan a los componentes orgánicos, abonos minerales, de tal manera que cuando se aportan al suelo, incorporan materia orgánica y nutriente de origen mineral. Son un camino intermedio entre los fertilizantes orgánicos y los fertilizantes minerales. Dependiendo de las materias primas que se usen, pueden emplearse para agricultura ecológica o no. La principal ventaja de estos fertilizantes es que con una sola aplicación se incorpora materia orgánica y nutrientes por lo que se favorece la asimilación de éstos.

2.2 DIGESTIÓN O FERMENTACION ANAERÓBICA

La digestión anaerobia es la degradación biológica, mediante un consorcio complejo de microorganismos, de substratos orgánicos, y ocasionalmente inorgánicos, en ausencia de una fuente de oxígeno. Durante el proceso, la materia orgánica es convertida principalmente en metano, dióxido de carbono y biomasa. El nitrógeno no utilizado en el crecimiento es, generalmente, reducido y liberado como amonio y el fósforo permanece bajo forma de fosfato. Casi el 90 por ciento de la energía contenida en la materia orgánica puede ser transformada en biogás (fuente potencial de energía eléctrica), mientras que, un 5-7 por ciento es usado para el crecimiento celular y un 3-5 por ciento se pierde como calor (McInemey et al., 1979, citado por Paucar, 2015).

La población microbiana juega un importante papel en las transformaciones de estos residuos orgánicos especialmente si se considera que disponen de un amplio rango de respuestas frente a la molécula de oxígeno, componente universal de las células. Esto permite establecer bioprocesos en función de la presencia o ausencia de oxígeno, con el objeto de tratar adecuadamente diversos residuos orgánicos (Varnero, 2011).

2.2.1 CARACTERÍSTICAS DE LA DIGESTIÓN ANAERÓBICA

La digestión anaeróbica es un proceso biológico complejo y degradativo en el cual parte de los materiales orgánicos de un substrato (residuos animales y vegetales) son convertidos en biogás, mezcla de dióxido de carbono y metano con trazas de otros elementos, por un consorcio de bacterias que son sensibles o completamente inhibidas por el oxígeno o sus precursores. En la digestión anaerobia más del 90 por ciento de la energía disponible por oxidación directa se transforma en metano, consumiéndose sólo un 10 por ciento de la energía en crecimiento bacteriano frente al 50 por ciento consumido en un sistema aeróbico (Varnero, 2011). A continuación se detallan las características que se debe tener en cuenta para una buena digestión anaeróbica:

- **Temperatura:** Los procesos anaeróbicos, al igual que muchos otros sistemas biológicos, son fuertemente dependientes de la temperatura. La velocidad de reacción de los procesos biológicos depende de la velocidad de crecimiento de los

microorganismos involucrados que a su vez, dependen de la temperatura. Es de suma importancia el conocimiento de este parámetro para determinar el tiempo de fermentación de la materia orgánica, así como, el tiempo de retención hidráulica. En la Tabla 5 se detalla las temperaturas mínimas, máximas, óptima y el tiempo de fermentación.

Tabla 5: Rango de temperatura para la digestión anaeróbica.

Fermentación	Mínimo	Óptimo	Máximo	Tiempo de fermentación
Psicrófila	4-10 °C	15-18 °C	20-25 °C	Sobre los 100 días
Mesófila	15-20 °C	25-35 °C	35-45 °C	30-60 días
Termófila	25-45 °C	50-60 °C	75-80 °C	10-15 días

FUENTE: Lagrange, (1979), citado por Varnero 2011.

- pH: En las diferentes fases de la digestión, el pH fluctúa entre los valores 6,0 y 8,0. La disminución de los valores de pH por debajo de 6,0 puede significar una concentración demasiado fuerte de ácidos grasos volátiles y por lo tanto una inhibición de la metanogénesis. Mientras que por encima de pH 8,0 se comprueba la formación de hidrógeno, de hidrógeno sulfurado y de amoníaco. El pH óptimo para cultivos mixtos se encuentra en el rango entre 6.8 y 7.4, siendo el pH neutro el ideal (Scriban, 1985).
- El potencial redox: Los ensayos realizados en cultivos puros han demostrado que las bacterias metanogénicas sólo actúan a un bajo potencial redox: -300 a -330 mV (Scriban, 1985). Por esto es conveniente evitar la introducción al digestor de elementos oxidantes y particularmente de asegurar una buena hermeticidad.
- Los nutrientes y los inhibidores: El carbono y el nitrógeno son las principales fuentes de alimentación de las bacterias metanogénicas. El carbono constituye la fuente de energía y el nitrógeno es utilizado para la formación de nuevas células. Estas bacterias consumen 30 veces más carbono que nitrógeno, por lo que la relación óptima de estos dos elementos en la materia prima se considera en un rango de 30:1 hasta 20:1 (Varnero, 2011)

- La agitación: La agitación permite mejorar la productividad asegurando una buena homogeneidad del contenido en el digestor y favorece los intercambios térmicos. Por otra parte, permite asegurar, en parte, la desgasificación de los lodos.

2.2.2 ETAPAS DE LA DIGESTIÓN ANEROBICA

A continuación se detalla los procesos de la digestión anaerobia y los cambios que sufre la materia orgánica.

2.2.2.1 Hidrólisis

La hidrólisis es el primer paso necesario para la degradación anaeróbica de sustratos orgánicos complejos. Por tanto, es el proceso de hidrólisis el que proporciona sustratos orgánicos para la digestión anaeróbica. La hidrólisis de estas moléculas complejas es llevada a cabo por la acción de enzimas extracelulares producidas por microorganismos hidrolíticos.

En la Figura 3 se puede observar el proceso de la digestión anaeróbica, la transformación que sufre la materia prima hasta convertirse en gas metano, dióxido de carbono, biosol la parte sólida que no logró degradarse y biol la parte líquida.

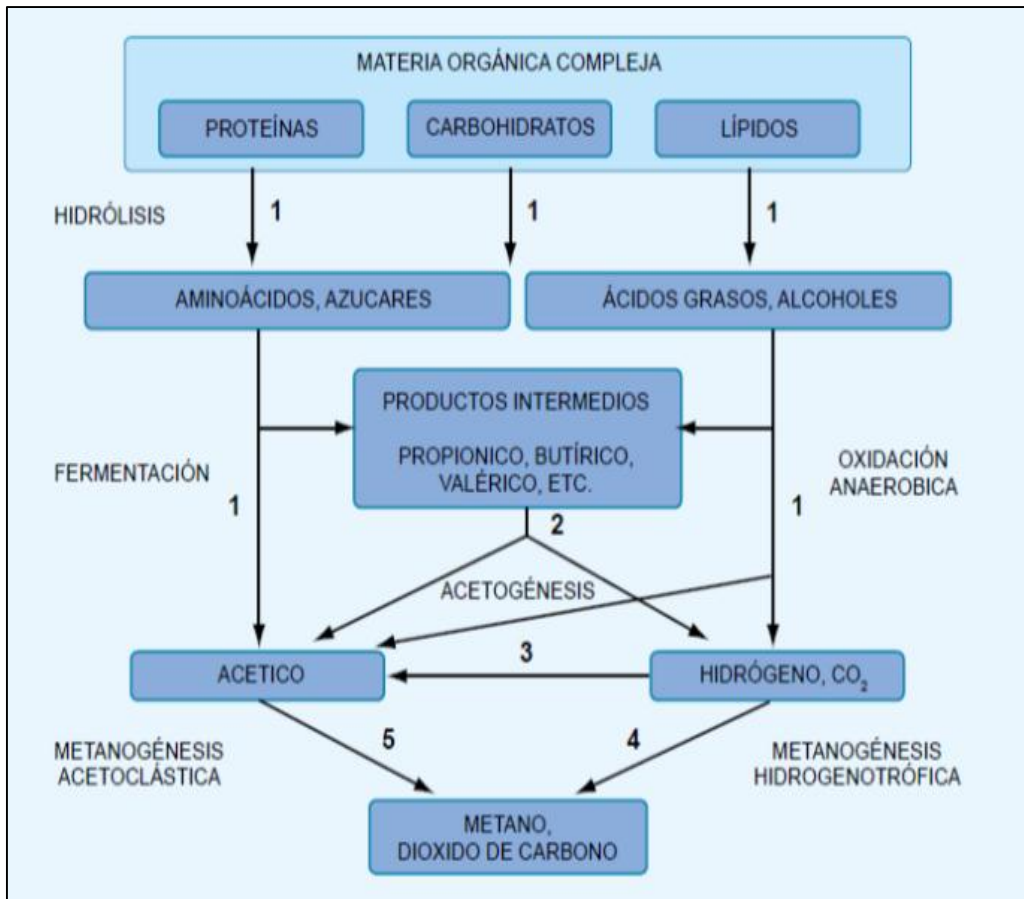


Figura 3: Reacciones de la digestión anaeróbica de materiales poliméricos.

FUENTE: (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991). Citado por Varnero (2011). Los números indican la población bacteriana responsable del proceso: 1: bacterias fermentativas; 2: bacterias acetogénicas que producen hidrógeno; 3: bacterias homoacetogénicas; 4: bacterias metanogénicas hidrogenotróficas; 5: bacterias metanogénicas acetoclásticas.

La etapa hidrolítica puede ser el proceso limitante de la velocidad global del proceso sobre todo cuando se tratan residuos con alto contenido de sólidos. Además, la hidrólisis depende de la temperatura del proceso, del tiempo de retención hidráulico, de la composición bioquímica del sustrato (porcentaje de lignina, carbohidratos, proteínas y grasas), del tamaño de partículas, del nivel de pH, de la concentración de iones amonio y de la concentración de los productos de la hidrólisis. Cualquier sustrato se compone de tres tipos básicos de macromoléculas: hidratos de carbono, proteínas y lípidos (Varnero, 2011).

2.2.2.2 Acidogénesis

Los compuestos solubles obtenidos en la etapa anterior son transformados por las bacterias acidogénicas en ácidos grasos de cadena corta (ácidos grasos volátiles), alcoholes, amoníaco, hidrógeno y dióxido de carbono. Los ácidos grasos volátiles son principalmente

ácido acético, propiónico, butírico y valérico. Esta fase pone en juego una población compleja de bacterias, en su mayoría anaerobias estrictas (*Bacteroides rumenicola*, *Clostridium*, *Bifido bacterium*) aislables en cultivos puros (Scriban, 1985).

2.2.2.3 Acetogénesis

Mientras que algunos productos de la fermentación pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos (H_2 y acético), otros (etanol, ácidos grasos volátiles y algunos compuestos aromáticos) deben ser transformados en productos más sencillos, como acetato e hidrógeno, a través de las bacterias acetogénicas. Representantes de los microorganismos acetogénicos son *Syntrophomonas wolfei* y *Syntrophobacter wolini*.

Un tipo especial de microorganismos acetogénicos, son los llamados homoacetogénicos. Este tipo de bacterias son capaces de crecer heterotróficamente en presencia de azúcares o compuestos monocarbonados (como mezcla H_2/CO_2) produciendo como único producto acetato. Al contrario que las bacterias acetogénicas, éstas no producen hidrógeno como resultado de su metabolismo, sino que lo consumen como sustrato. Según se ha estudiado, el resultado neto del metabolismo homoacetogénico permite mantener bajas presiones parciales del hidrógeno y, por tanto, permite la actividad de las bacterias acidogénicas y acetogénicas.

2.2.2.4 Metanogénesis

En esta etapa, un amplio grupo de bacterias anaeróbicas estrictas, actúa sobre los productos resultantes de las etapas anteriores. Los microorganismos metanogénicos pueden ser considerados como los más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación del medio de los productos de los grupos anteriores, siendo, además, los que dan nombre al proceso general de biometanización.

Los microorganismos metanogénicos completan el proceso de digestión anaeróbica mediante la formación de metano a partir de sustratos monocarbonados o con dos átomos de

carbono unidos por un enlace covalente: acetato, H₂/CO₂, formato, metanol y algunas metilaminas (Varnero, 2011).

Se pueden establecer dos grandes grupos de microorganismos, en función del sustrato principal que metabolizan: hidrogenotróficos, que consumen H₂/CO₂ y fórmico acetoclásticos, que consumen acetato, metanol y algunas aminas.

Se ha demostrado que un 70 por ciento del metano producido en los reactores anaeróbicos se forma a partir de la descarboxilación de ácido acético, a pesar de que, mientras todos los organismos metanogénicos son capaces de utilizar el H₂ como aceptor de electrones, sólo dos géneros pueden utilizar acetato. Los dos géneros que tienen especies acetotróficas son Methanosarcina y Methanothrix. El metano restante proviene de los sustratos ácido carbónico, ácido fórmico y metanol. El más importante es el carbónico, el cual es reducido por el hidrógeno, también producido en la etapa anterior (Varnero, 2011). En la Tabla 6 se detallan las características del biogás generado de un biodigestor anaeróbico.

Tabla 6: Características generales del biogás.

Composición	<ul style="list-style-type: none"> • 55 – 70% metano (CH₄) • 30 – 45% dióxido de carbono (CO₂) • Trazas de otros gases
Contenido energético	6,0 – 6,5 kWh/m ³
Equivalente de combustible	0,60 – 0,65 L petróleo/m ³ biogás
Límite de explosión	6 – 12 % de biogás en el aire
Temperatura de ignición	650 – 750 °C (con el contenido de CH ₄ mencionado)
Presión crítica	74 – 88 atm
Temperatura crítica	-82,5 °C
Densidad normal	1,2 kg m ⁻³
Olor	Huevo podrido (el olor del biogás desulfurado es imperceptible)
Masa molar	16,043 kg kmol ⁻¹

FUENTE: Deublein y Steinhauser (2008), citado por Varnero 2011.

2.3 BIODIGESTOR

Un biodigestor es un sistema en el cual se genera un ambiente adecuado para que la materia orgánica se descomponga en ausencia de oxígeno, a este fenómeno se le llama digestión anaeróbica. Esta descomposición se produce por bacterias que habitan en el interior del biodigestor y proceden principalmente del estiércol fresco, las cuales se alimentan de la materia orgánica produciendo como sub productos biogás y fertilizantes llamados biol en estado líquido y biosol en estado sólido (MINAGRI, 2011).

El biodigestor está compuesto por un depósito donde se coloca el estiércol con agua también denominado reactor. También se le puede agregar otro tipo de residuos (de cultivos u otra biomasa) siempre y cuando hayan tenido un tratamiento previo. Este está conformado por una entrada, que es donde se deposita el estiércol y los residuos de biomasa; el biodigestor, que es el espacio donde se realiza el proceso anaerobio y la salida que va conectada al depósito de biol; La salida de biogás, ubicada en la parte superior va conectada a un reservorio donde se almacena el biogás para su posterior uso en cocinas o pequeñas lámparas a gas. También tiene otros componentes como la válvula de seguridad, que evita problemas por sobre presión del gas y filtro de sulfuro de Hidrogeno (MINAGRI, 2011).

2.3.1 BIOL

Es el abono orgánico líquido, resultado de la descomposición de los residuos animales y vegetales: guano, rastrojos de cosecha, en ausencia de oxígeno. Contiene nutrientes que son asimilados fácilmente por las plantas haciéndolas más vigorosas y resistentes según el Instituto Nacional de Investigación agraria, producción y uso del biol, 2008. Barrios (2001) cita a Suquilanda (1995) indicando que el biol es una fuente orgánica fitorreguladora que a diferencia de los nutrientes, en pequeñas cantidades es capaz de promover actividades fisiológicas y estimular el desarrollo de las plantas. Influyendo sobre actividades agronómicas como: en el enraizamiento (aumenta y favorece la base radicular), acción sobre el follaje (amplía la base foliar), mejora la floración y activa el vigor y el poder germinativo de las semillas, traduciéndose todo esto en un aumento significativo de las cosechas.

Peralta 2010 cita a Aedes 2006 indicando que en la actualidad la elaboración de biol se realiza en forma artesanal, y su riqueza en cuanto al contenido nutricional, depende de la materia con el que se ha elaborado. Así la asociación especializada para el desarrollo sostenible a través de la difusión del manual de elaboración de abono foliar Biol menciona los diferentes tipos de biol. Ellos son **biol bioácida**, utilizado para el control de plagas y enfermedades, repeliendo o matando a las plagas y nutriendo la planta; **biol para suelo y hojas**, nutre a la planta y a la vez repone al suelo de nutrientes extraídos por la planta, mejorando la fertilidad del suelo y el **biol abono foliar**, el más utilizado por los agricultores ya que nutre directamente a la planta, contando con un mayor número de macro y micro nutrientes que la planta requiere para producir, un acelerado crecimiento de las planta y mejora e incrementa los rendimientos.

A continuación se presentan las ventajas y desventajas de la generación y producción del biol según el manual técnico de Producción y uso de abonos orgánicos: biol, compost y humus, (2014).

2.3.1.1 VENTAJAS DEL BIOL

- No contamina el suelo, el agua, el aire, ni los cultivos.
- Es de fácil preparación y puede adecuarse a diversos tipos de envase.
- Es de bajo costo, se produce en la misma parcela y emplea insumos que encontramos en la chacra.
- Permite incrementar la producción.
- Revitaliza las plantas que tienen estrés, por el ataque de plagas y enfermedades, sequías, heladas o granizadas, si aplicamos en el momento adecuado. Tiene sustancias (fitohormonas) que aceleran el crecimiento de la planta.

2.3.1.2 DESVENTAJAS DEL BIOL

- No contar con insumos para su preparación
- Su preparación es lenta, demora entre 3 a 4 meses, dependerá de la temperatura del ambiente, por lo que se debe planificar su producción antes del inicio de la campaña agrícola.

- Necesita un ambiente oscuro y fresco para el almacenaje, de lo contrario perderá sus propiedades biológicas y nutritivas.
- Sólo se puede usar entre 3 a 6 meses de su cosecha, después disminuye sus propiedades.
- Se necesita contar con una mochila para su aplicación.
- El mal manejo durante su aplicación puede quemar las plantas.

2.4 BIOL DE SEGUNDA GENERACIÓN

Peralta 2010 informa que se han elaborado abonos orgánicos líquidos, estos no son llamados bioles, sin embargo fueron el resultado de un proceso de fermentación anaeróbica, estos bioabonos hicieron uso de microorganismos como el consorcio microbiano B-lac.

Medina en el 2013 informa que el biol de segunda generación se le denomina por ser el segundo producto consecutivo biotecnológico fermentativo. El primero, la digestión anaeróbica de la materia orgánica en un biodigestor convencional. Y el segundo un proceso fermentativo homoláctico conducido por un consorcio microbiano.

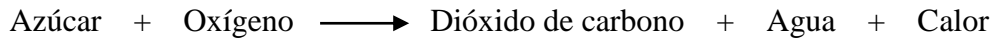
Este segundo proceso se denomina fermentación ácido láctica esta conducido por un consorcio microbiano, dando como resultado un biofertilizante de carácter ácido que contiene factores de crecimiento, macro y micro nutrientes, ácidos orgánicos principalmente ácido láctico y metabolitos benéficos para el crecimiento, desarrollo y protección de los cultivos (Juscamaita 2011, citado por Medina 2013).

2.4.1 FERMENTACIÓN ÁCIDO LÁCTICA

La fermentación láctica se emplea desde tiempos antiguos, tan antiguos como la fermentación alcohólica. Además se emplea para la obtención de Sauerkraut, pepinillos y ensilaje para la alimentación animal. La moderna preparación industrial de ácido láctico puro para la alimentación y farmacia utiliza esta vía de fermentación, siendo bacterias las responsables de esta fermentación (Bruchmann, 1980)

a) Etapa previa a la fermentación láctica

En esta etapa el oxígeno atmosférico que ha podido quedar atrapado en el sistema es consumido rápidamente por la respiración de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos facultativos presentes, dicha respiración produce dióxido de carbono, agua y calor 3,8 Mcal / kg de azúcar (Wattiaux 1999, citado por Aldon 2008).



b) Fermentación Homoláctica

A medida que el oxígeno es consumido y la fermentación comienza. Las bacterias que se vuelven predominantes son aquellas con habilidad de vivir tanto con ausencia y presencia de aire (Bacterias anaerobias facultativas)

Al producirse un ambiente anaeróbico, las bacterias ácido lácticas (B-LAC) comienzan a dominar el proceso de fermentación. Algunas especies de estas bacterias producen solo ácido láctico (Homofermentativas), otras especies de bacterias lácticas producen ácido láctico y otros productos terminales como acético y alcohol (heterofermentativas) (Bossio, 2007, citado por Aldon, 2008).



Para Wattiaux 1999 citado por Aldon en el 2008 la correcta producción de ácido láctico dependerá de tres factores.

1. El número de bacterias ácido lácticas presentes en el sistema de fermentación láctica.
2. Cantidad suficiente de azúcares fermentables.
3. Ausencia de oxígeno durante el proceso de fermentación láctica.

2.4.2 BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

Las bacterias ácido lácticas son un grupo de microorganismos que son débilmente proteolíticas y lipolíticas, significando que son suaves en cuanto a su tolerancia a producir sabores amargos. Están presentes en forma natural, y el tracto reproductor por lo que no sorprende que hablemos de prebióticos y probióticos en el contexto de enriquecimiento del nivel de bacterias del ácido láctico en el intestino. Los probióticos son microorganismos, destacan los lactobacilos y bifidobacterias que se añaden a la dieta para aumentar la flora del intestino grueso. Los prebióticos son nutrientes que estimulan el crecimiento de estos microorganismos (Bruchmann, 1980).

Estas bacterias están representadas por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. En general son cocos o bacilos gran positivos, no esporulados, no móviles, y anaeróbicos, aerotolerantes. Carecen de citocromos, no reducen el nitrato a nitrito y producen ácido láctico como principal producto de la fermentación de carbohidratos (Ramírez *et al*, 2011).

Al igual que las levaduras del pan y la cerveza los microorganismos ácido lácticos suelen ser GRAS (Generalmente reconocidos como seguros siglas en inglés Generally Recognised As Safe) aunque algunas cepas son patógenas. Estos microorganismos son mesofílicos pero pueden soportar temperaturas bajas de 4 °C hasta 45 °C, son ácido tolerantes desarrollando la mayoría entre valores de pH de 4 a 4,5 pero algunas cepas pueden tolerar pH mayor a 9 y valores tan bajos de pH como 3,2 (Bruchmann, 1980).

2.4.2.1 CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

Según el producto final de la fermentación de la glucosa se clasifican en: homofermentativas (*Lactococcus*, *streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*) producen principalmente ácido láctico como el producto final de la fermentación de la glucosa utilizando la vía Embden-Meyerhof-Parnas y heterofermentativas (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*,) este grupo contienen las enzimas fosfoetolasa, pero carece de aldosa y hexosa isomerasa, produciendo

además de ácido láctico, cantidades significantes de otros productos como acetato , etanol, y dióxido de carbono (Parra, 2010).

2.4.2.2 COMPONENTES ANTIMICROBIANOS PRODUCIDOS POR LAS BACTERIAS LÁCTICAS.

La acción conservadora de las bacterias ácido lácticas es debido a la inhibición de un gran número de microorganismos patógenos y dañinos por varios productos finales de la fermentación. Las bacteriocinas son moléculas que tienen estructura tipo péptido o proteína biológicamente activas, las cuales presentan acción bactericida sobre receptores específicos de las células; además, la composición química de estas sustancias es muy variada y su modo de acción específico. Por otra parte, la acumulación de ácido láctico y otros ácidos orgánicos producidos por las bacterias lácticas, reducen el pH del ambiente con un efecto inhibitorio de bacterias Gran Positivas y gran Negativas. En ese sentido, la forma no disociada del ácido láctico puede penetrar con mayor facilidad la pared celular microbiana donde el pH más alto del contenido celular promueve la disociación, dando lugar a la liberación de iones hidrógeno y el anión correspondiente; de modo que ambos iones interfieren en el metabolismo e inhiben el crecimiento celular (Vázquez *et al.*, 2009).

2.4.3 CONSORCIO MICROBIANO B-LAC

Es un Consorcio microbiano ácido láctico, elaborado de cepas probióticas del género *Lactobacillus* (Guccione, 2009). García (2008) indicó que es un consorcio microbiano ácido láctico, originando un producto denominado B-lac que contienen bacterias del grupo de las homolácticas (García, 2008). En la Tabla 7 se observa la composición microbiológica del consorcio microbiano B-lac.

Tabla 7: Composición del consorcio microbiano B-Lac.

Descripción	Concentración
Recuento de Lactobacillus UFC/ml	7×10^7
Recuento de Levaduras (UFC/ml)	$2,5 \times 10^5$
Recuento de mohos (UFC/ml)	< 10
Recuento de bacterias mesófilas viables (UFC/ml)	$3,3 \times 10^4$

FUENTE: Modificado de García (2008).

García (2008), indica que en este consorcio hay total ausencia de coliformes totales y fecales debido al pH ácido (pH de 3,5) del entorno por la formación de ácido láctico producido por las bacterias lácticas, además producen bacteriocinas y peróxido de hidrógeno previniendo el crecimiento de microorganismos patógenos. Las levaduras comúnmente se encuentran junto con las bacterias ácido lácticas, pero estas no son perjudiciales.

2.4.4 MELAZA

La miel final o melaza, subproducto o producto final residual de la producción de azúcar de su refinación, es por definición, el licor separado de los cristales por medios mecánicos y del cual no es posible recuperar azúcar en forma económica. Siendo la producción de azúcar cruda el producto de mayor volumen. La formación de melaza es una consecuencia de la producción de azúcar siendo entonces al mismo tiempo sub producto y una fuente de materia prima para otros usos (Flores, C. y Dreifuss, W. 1972).

Piccioni 1970 citado por Ñaupary en 1996, describe a la melaza como un líquido viscoso, de color pardo, olor agradable, sabor dulce, con una densidad aproximada de 1,4 kg por litro, en grados Baume de 45 a 47, es decir de 82 a 85 grados Brix (contenido real de materia seca en 100 gramos de melaza). A continuación se muestra en la Tabla 8 las características físicas y químicas de la melaza de caña analizadas por Aldón en el 2008.

Tabla 8: Características físicas y químicas de la melaza de caña.

Datos Físicos y Químicos	
Materia seca	76,50%
Agua	23,50%
Materia orgánica	62,50%
Cenizas	16,00%
Relación C/N	27 Aproximadamente
Densidad	1,41 kg/l
pH	4,9-5,4
Minerales	
Calcio	0,8%
Fosforo	0,08%
Potasio	4,20%
Cloro	2,10%
Magnesio	0,27
Azufre	0,78
Sodio	0,09
Cobre	14 ppm
Hierro	130ppm
Manganeso	5 ppm
Zinc	8 ppm

FUENTE: Aldon, 2008

Mediante ensayos adecuados con soluciones diluidas de melaza se ha demostrado que éstas, a pesar de su bajo contenido en fosforo constituyen un buen medio de cultivo para muchos microorganismos, tales como levadoras, mohos y bacterias (Ariza y Gonzales 1997, citado por Fajardo y Sarmiento, 2007)

Según el boletín técnico de producción de Junio (2007) de Honduras indica que la melaza mejora la estructura del suelo, ya que forma enlaces entre coloides y diferentes partículas del suelo. Esta estructura que se forma rápidamente beneficia a los suelos pobres en estructura y materia orgánica. Aumenta la materia orgánica del suelo, debido a que la melaza es una

materia orgánica líquida que se puede aplicar por el sistema de riego, lo cual facilita su aplicación. A pesar de su corta vida, estimula la microflora del suelo que a su vez forma materia orgánica. Se ha encontrado que con el uso continuo de la melaza en los cultivos se aumenta el contenido de materia orgánica del suelo de un 0,5 a 1,0 por ciento por año.

2.5 BIOL DE TERCERA GENERACIÓN.

Es un abono órgano-mineral cuya función principal es aportar nutrientes para las plantas, los cuales son de origen orgánico y mineral (Real decreto 506, 2013). Se le denomina Biol de tercera generación por ser el producto de tres procesos consecutivos, siendo el primero resultado de una fermentación anaeróbica Biol I-G, el segundo de una fermentación ácido láctica Biol II-G y el tercero al producto de la combinación del Biol II-G con un fertilizante mineral para este estudio Nitrato de Amonio con la finalidad de mejorar las condiciones nutritivas principalmente el nitrógeno. Es así que el Biol III-G posibilita no solamente el suministro de nitrógeno, sino, se puede adicionar otros macro y micronutrientes dependiendo de la necesidad fisiológica de la planta.

2.5.1 NITRATO DE AMONIO

El uso de nitrato de amonio como fertilizante se ve incrementado a finales de la segunda guerra mundial y particularmente por los EE.UU, debido a que su producción estaba orientada a la fabricación de explosivos. Desde entonces su producción ha ido incrementando, y hoy es, junto con el amoniaco líquido, el fertilizante nitrogenado más importante.

El nitrato de amonio resulta de la reacción del ácido nítrico con el amoniaco, inyectando amoniaco gaseoso a disoluciones de ácido nítrico del 60 por ciento.



Después de la urea, el nitrato de amonio es el fertilizante nitrogenado de mayor riqueza: 33 por ciento, de la que la mitad se encuentra en forma nítrica y la otra mitad en la amoniacal. Por tener todas las fracciones de nitrógeno, tiene un efecto inmediato debido a la fracción

nítrica 50 por ciento, y un efecto de más largo plazo representado por el amonio 50 por ciento, el cual por su carga positiva queda retenido por los coloides inorgánicos del suelo. No recomendando para suelos de textura gruesa por los mayores riesgos de pérdida por lavado.

Hasta la década de los noventa era fabricado en el Perú (Fertisa y Cachimayo), pero ahora es prácticamente 100 por ciento importado para uso agrícola, estabilizado con 3 por ciento de P_2O_5 y así no pueda ser utilizado para actos terroristas. Sus principales características se detallan en la Tabla 9.

Tabla 9: Características del nitrato de amonio estabilizado.

Características	Valores
Nitrato de amonio	33%
Nitrógeno nítrico	16,5%
Nitrógeno amoniacal	16,5%
Estabilizado con P_2O_5	3%
Solubilidad a 20°C (en agua)(g/100 ml)	190
Densidad (g/cm ³)	1,725
Punto de fusión °C	170
Humedad relativa (a 30°C) (%)	59
Índice de acidez	60
Índice de salinidad	105
Presentación	Granulado

FUENTE: Villagarcia, et al. 2014; Navarro, et al. 2014.

En estado puro no puede utilizarse para la agricultura, debido a su higroscopicidad y su tendencia al apelmazamiento. Para obviar este inconveniente se mezcla el nitrato de amonio con diversas sustancias inertes, más o menos importantes como la dolomita, superfosfato triple de calcio, etc.

2.6 MARCO LEGAL PARA LA GESTIÓN DE RESIDUOS AGRÍCOLAS

Según el reglamento del Decreto Legislativo N° 1278 que aprueba la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos según el Decreto Supremo N° 014-2017-MINAN establece que las autoridades con competencia sobre las actividades en cuyo desarrollo se genera los residuos, deben exigir todas las medidas que resulten necesarias para asegurar el manejo selectivo, la prevención de impactos y riesgos ambientales, así como el uso de equipos, instalaciones e infraestructuras adecuadas para su manejo ambiental y sanitariamente adecuado. Los residuos generados de la actividad agropecuaria están dentro de la categorización no municipales, estos tipos de residuos está a cargo del generador de los mismos, estando obligado a contratar a alguna empresa operadora de residuos sólidos (EO-RS) o alguna empresa comercializadora (EC-RS) de residuos sólidos para el manejo y disposición de estos.

Además, el reglamento de manejo de los residuos sólidos del sector agrario aprobado bajo D.S. N° 016-2012-AG tiene el objetivo de 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, teniendo responsabilidad el generador y la Empresa Prestadora de Servicios de Residuos Sólidos (EPS-RS) y/o la Empresa Comercializadora de Residuos Sólidos (EC-RS). Los residuos orgánicos, que se generen en las actividades del Sector Agrario, deben recibir tratamiento con la finalidad de reducir o neutralizar las sustancias peligrosas que contienen, recuperar materia o sustancias valorizables, facilitar su uso como fuente de energía, favorecer la disposición del rechazo y en general, mejorar la gestión del proceso de valorización. El tratamiento de los residuos peligrosos puede ser realizado por el generador y de no contar con un sistema de tratamiento, deberá utilizar los servicios de una EPS-RS autorizada para tal fin.

Por otro lado, el reglamento técnico para los productos orgánicos D.S. N° 044 2006 AG menciona en el artículo 23 que el manejo de las excretas animales deben completar un proceso de fermentación para prevenir focos infecciosos. El artículo 11 indica que el uso de abonamiento del suelo con estiércol animal preferentemente debe ser con un tratamiento previo.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

El periodo experimental se llevó en dos instalaciones diferentes. La primera etapa en el fundo Don Germán del IRD de la costa para la producción del Biol I-G y la segunda etapa en laboratorios de la Universidad Nacional Agraria La Molina para la producción del Biol II-G y Biol III-G. A continuación se detalla las localizaciones.

- Instituto Regional de Desarrollo de la Costa en el fundo Don Germán. Ubicado en el kilómetro 145,5 de la panamericana sur. Distrito y Provincia de Cañete, Región Lima,
- Laboratorio del Departamento de Ingeniería Ambiental, Física y Meteorología UNALM,
- Laboratorio de Biotecnología Ambiental – Biorremediación del Departamento de Biología UNALM,
- Laboratorio de Análisis de Suelo, Plantas, Agua y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía UNALM y
- Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología Marino Tabusso del Departamento de Biología UNALM.

3.2 MATERIALES

3.2.1 MATERIA PRIMA E INSUMO

a. Estiércol de cuy

Extraído de la granja de cuyes del Instituto Regional de Desarrollo de la Costa fundo Don Germán de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Excreta tomada en condiciones húmedas de las pozas de crianza después de 15 a 20 días de acumulación.

b. Consorcio de Bacterias Acido Láctica (B-Lac)

Proporcionado por el laboratorio de Biotecnología Ambiental - Biorremediación del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias de la UNALM.

c. Melaza de caña

Fuente de carbohidratos solubles, se obtuvo del establo de la Facultad de Zootecnia de la UNALM.

d. Nitrato de amonio

El Nitrato de amonio es un fertilizante químico - sintético nitrogenado simple que se obtiene en los centros comerciales, viveros forestales y en las tiendas del rubro fertilizantes agrícolas. Para el trabajo de investigación se obtuvo del centro de ventas de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

3.2.2 MATERIALES DE CAMPO.

3.2.2.1 BIODIGESTOR DE PRIMERA GENERACIÓN.

Al presentar algunas deficiencias en su mantenimiento fue necesario realizar reparaciones a dicho biodigestor para ello se utilizó los siguientes materiales.

- Tubo de PVC de 3”.
- Reductor de PVC 3” a 2”
- Reductor de PVC 2” a 1”
- Geomembrana de PVC 1.00 mm.
- Tuerca unión hidráulica de 1”
- Manguera para gas 3/8”.
- Abrazaderas.
- Llaves de paso para gas.
- Cinta teflón de media pulgada.

- Pegamento para tuberías de PVC Oatey color Azul.
- Flotador para toma de muestras de biogás
- Hoja de sierra manual
- Lija

3.2.2.2 ELABORACION DEL BIOL DE SEGUNDA GENERACIÓN.

Se instaló 15 prototipos de bioreactores tipo *batch* utilizando los siguientes materiales:

- 15 recipientes plásticos de 1 L con tapa.
- 1 paquete de bolsas de polietileno de 1 kg de capacidad
- Ligas de caucho
- Guantes de látex.

3.2.2.3 ELABORACIÓN DEL BIOL DE TERCERA GENERACIÓN

Se instaló 3 probetas para la combinación de Biol de segunda generación con Nitrato de amonio.

- Nitrato de amonio,
- Probetas de 50 ml,
- Guantes de látex,
- Bolsas de polietileno.

3.2.2.4 ENSAYO DE FITOTOXICIDAD.

Se utilizó semillas de lechuga (*Lactuca sativa L.*) variedad tipo Duett obtenidas del Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral de la UNALM; semillas en las cuales no se aplica plaguicidas o fungicidas, con buen poder germinativo (>90 por ciento) y baja variabilidad de elongación de la radícula e hipocotílo. Los materiales a utilizar para este ensayo fueron:

- Placa Petri esterilizadas de 10 cm.
- Pinzas
- Fiolas de 50 mL
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 5 y 10 mL
- Matraces de 50 mL
- Bolsas negras de gran capacidad
- Papel milimetrado
- Caja de tecnopor

3.2.2.5 INSTRUMENTOS DE LABORATORIO

Estos instrumentos fueron obtenidos en calidad de préstamo temporal por el laboratorio de Biotecnología Ambiental - Biorremediación de la Facultad de Ciencias de la UNALM.

- Pipeta
- Bureta
- Probeta
- Matraz
- Agitador de vidrio

3.2.2.6 REACTIVOS Y SOLUCIONES

- Solución buffer de pH 7,01 Hanna Instruments HI 7007
- Solución buffer de pH 4,01 Hanna instruments HI 7004
- Solución buffer de pH 10,01 Hanna instruments HI 7004
- Solución de calibración de conductímetro C.E. 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$
- Hidróxido de sodio normalizado 0.1 N
- Fenolftaleína concentrada.
- Agua destilada

3.2.2.7 EQUIPO

- Potenciómetro Hanna Instruments HI8424 microcomputer
- Conductímetro, Wissenschaftlich Technische Werkstätten WTW 330i/SET
- Equipo Gas Extractions Monitor LANDTEC GEM-500
- Brixometro
- Balanza electrónica Henkel BSY30
- Balanza analítica Electronic Scala
- Termómetro de Mercurio.
- Cámara fotográfica

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación que se llevó a cabo es de tipo “Explicativo – Experimental”, ya que mediante la experimentación a través de ensayos con sus repeticiones se busca evaluar la calidad de Biol de segunda y tercera generación mediante procesos continuos, el primero de digestión anaeróbica, el segundo de fermentación láctica y el tercero de una combinación con el fertilizante mineral dentro de los laboratorios de la UNALM.

3.3.2 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS

La aplicación de un segundo proceso al Biol de primera generación mediante la fermentación ácido láctica y la aplicación de la combinación de éste último con el fertilizante mineral nitrato de amonio para la generación del Biol de tercera generación incrementa las concentraciones de los principales nutrientes, Nitrógeno y Fósforo, generando una estabilidad del Biol de segunda y tercera generación para posterior utilización.

3.3.3 IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES

Se pueden identificar variables dependientes e independientes, siendo las siguientes:

3.3.3.1 VARIABLES DEPENDIENTES

- Calidad de Biol de segunda generación en base a parámetros biológicos y químicos
- Calidad de Biol de tercera generación en base de parámetros agronómicos.

3.3.3.2 VARIABLES INDEPENDIENTES

- Concentración de consorcio microbiano B-Lac.
- Concentración de fertilizante mineral (Nitrato de amonio)
- Temperatura Ambiente.

3.3.4 TOMA DE MUESTRA DE ESTIERCOL DE CUY

Se tomó una muestra de 500 g de excreta de cuy del área de almacenamiento del Instituto Regional de Desarrollo de Costa fundo Don Germán, cantidad mínima solicitada por el laboratorio de Análisis de Suelo, Plantas, Agua y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la UNALM para caracterizar y evaluar los parámetros de humedad, porcentaje de carbono orgánico volátil, porcentaje de nitrógeno y calcular la relación C/N.

3.3.5 FUNCIONAMIENTO DEL BIODIGESTOR INSTALADO EN EL IRD CAÑETE

El biodigestor instalado en el Instituto Regional de Desarrollo de Costa fundo Don Germán es de tipo tubular de geomembrana de PVC y está ubicado cerca de la granja de cuyes, donde se cuenta con aproximadamente 350 ejemplares. Se encontró con deficiencias en el mantenimiento y alimentación como se puede observar en las Fotografías 2, 3 y 4 en el Anexo 6.

Luego se procedió a dar un mantenimiento al biodigestor el cual consistió en lo siguiente:

- El biodigestor presento dos orificios en la geomembrana el cual se procedió a tapar los orificios pegando con pedazos de geomembrana de PVC de 1 mm con pegamento de tubería marca OATEY color azul.
- Se cambió la conexiones de tubería que trasporta el biogás desde el biodigestor a la cámara de gas, cañería que se encontró rota, se colocó el filtro de viruta de fierro para la captura de sulfuro de hidrogeno.
- Se procedió a una descarga parcial de biosol y biol.

Las dimensiones del biodigestor son de ocho metros de largo por 1 metro de diámetro generando una capacidad de 6,28 m³. Se hizo mantenimiento y reparación de los componentes del biodigestor (Geomenbrana, cambio de filtro de viruta de hierro, tuberías de gas, etc.) y para su análisis de funcionamiento se tomó muestras del Biol y Biogás para determinar el pH de la solución y la concentración de metano respectivamente.

3.3.6 ELABORACIÓN DE BIOL DE SEGUNDA GENERACIÓN

Tomada la muestra de Biol de primera generación se pasó a la elaboración de Biol de segunda generación, en recipientes de 1L herméticamente cerrados y en cuatro concentraciones diferentes con sus tres repeticiones. A continuación en la Tabla 10 se detalla las concentraciones de insumos que se requirió para la elaboración del Biol II-G y su respectiva codificación.

Tabla 10: Concentración de insumos para la elaboración del Biol II-G.

Insumos	Melaza 20%	Melaza 15%
B-lac 15%	Biol I-G al 65%. Código M20B15	Biol I-G al 70%. Código M15B15
B-lac 10%	Biol I-G al 70%. Código M20B10	Biol I-G al 75%. Código M15B10

Los recipientes fueron cerrados durante los 30 días de evaluación con bolsas de polietileno a nivel de la solución asegurados con ligas para evitar el ingreso de aire, abriendo los recipientes solo para la medición de temperatura, pH, conductividad eléctrica y para analizar el gasto de hidróxido de sodio para la determinación de acidez titulable.

3.3.7 ELABORACIÓN DE BIOL DE TERCERA GENERACIÓN

La elaboración del Biol de tercera generación es producto de la mezcla del Biol de segunda generación con un fertilizante sintético, que para este estudio se utilizó nitrato de amonio estabilizado, para obtener un fertilizante órgano-sintético con mayor concentración de nutrientes.

Se denomina como Biol de segunda generación al producto de la fermentación láctica del Biol I-G, melaza y consorcio microbiano B-Lac en relación de 70, 20 y 10 por ciento respectivamente.

Se utilizó el fertilizante mineral nitrato de amonio estabilizado, que presenta una composición de 33 por ciento de nitrógeno y un 3 por ciento de fósforo disponible, cabe mencionar que el nitrógeno se encuentra una mitad en forma nítrica y la otra mitad en forma amoniacal. Por tener todas las fracciones de nitrógeno tiene un efecto inmediato debido a la fracción nítrica 50 por ciento y un efecto de más largo plazo representado por el amonio 50 por ciento, el cual por su carga positiva queda retenido en los coloides inorgánicos (Navarro *et al.*, 2014).

Para la elaboración del Biol III-G se tuvo en cuenta la concentración inicial de nitrógeno en el Biol II-G para luego proceder a realizar cálculos y llegar a una concentración del 10 por ciento de nitrógeno.

3.3.7.1 CÁLCULO PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOL III-G

La concentración de nitrógeno del Biol II-G es de 0,267 por ciento nitrógeno total, el cual, se quiere obtener un Biol III-G con una concentración de 10 por ciento de nitrógeno. Para ello se realizaron los siguientes cálculos, teniendo en cuenta que la concentración del fertilizante nitrato de amonio es de 33 por ciento de nitrógeno.

Se tiene 0,267 por ciento de nitrógeno total y faltaría 9,733 por ciento de nitrógeno total para alcanzar un 10 por ciento de nitrógeno total en la solución, para ellos se realizó el siguiente cálculo;

Se disolvió 100 g del fertilizante nitrato de amonio en 100 ml de agua destilada obteniendo un una concentración de 33 por ciento en solución de nitrógeno total.

Se aplicó la fórmula: $C_1V_1 + C_2V_2 = C_FV_F$

Donde:

C_1 , C_2 y C_F : Concentraciones de las soluciones.

V_1 , V_2 y V_F : Volúmenes de la soluciones.

Para la obtención de una solución al 10% de nitrógeno total.

$$0,267\% \times V_1 + 33\% (1L - V_1) = 10\% \times 1L.$$

De ello se obtiene:

$$\text{Volumen del Biol II - G (V1)} = 0,703 \text{ Litros}$$

$$\text{Volumen de Fertilizante (V2)} = 0,297 \text{ Litros}$$

$$\text{Volumen Final (VF)} = 1 \text{ Litro}$$

El resultado fue enviado al Laboratorio de Análisis de Suelo, Plantas, Aguas y Fertilizante de la Facultad de Agronomía de la UNALM para el análisis agronómico.

3.3.8 MEDICIÓN DE pH

La medición del pH se realizó utilizando un potenciómetro marca HANNA HI 8424, utilizando el método de medición directa como indica la NTP 311,557 del 2013, introduciendo el electrodo del potenciómetro dentro de la solución de la muestra. Para ello el potenciómetro se calibró todas las veces antes de su utilización con soluciones buffer de 4,01 y 7,01 de pH.

3.3.9 MEDICIÓN DEL PORCENTAJE DE ACIDEZ TITULABLE

Se determina mediante la medición indirecta del ácido láctico titulable siguiendo la metodología de la AOAC (1998). Este método potenciométrico consiste en determinar por titulación del ácido presente en la muestra con el hidróxido de sodio 0,1 N teniendo como punto final al cambio de pH del indicador fenolftaleína a un viraje de pH 8,1 +/-0,2 el método consiste en expresar en gramos de ácido por 100 gramos de productos usando el factor del ácido apropiado.

Se pesó 10 g de la muestra y se enrazó en una probeta a 50 ml de agua destilada, para luego tomar una alícuota de 10 ml, añadiéndose unos 0,3 ml de fenolftaleína y se procedió a titular con hidróxido de sodio 0,1 N. El porcentaje de ácido láctico titulable en las muestras se calculó con la fórmula:

$$\% \text{ de ácido láctico titulable} = \frac{G \times N \times 0,090 \times 100}{M}$$

Donde:

G = Gasto de hidróxido de sodio en ml

M = masa de la muestra en gramos

N = Normalidad del Hidróxido de Sodio

0,090 = Factor de conversión para ácido láctico

3.3.10 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

Se determinó por medición directa, por el método de conductimetría introduciendo el electrodo del conductímetro marca Wissenschaftlich Technische Werkstätten WTW 330i/SET en la parte de la solución de la muestra con previa calibración del equipo con la solución 1413 $\mu\text{S/cm}$ (Chapman y Pratt, 1988).

3.3.11 ANÁLISIS AGRONÓMICO

Los análisis de composición natural química y fisicoquímica del Biol I-G, Biol II-G y Biol III-G se analizaron en el Laboratorio de Análisis de Suelo, Planta, Agua y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la UNALM. En la Tabla 11 se puede apreciar la metodología de análisis para la medición de los diferentes parámetros.

Tabla 11: Metodología de análisis de los parámetros agronómicos.

Parámetro	Metodología de análisis	Referencia
pH	Potenciometría	Métodos de análisis para suelo, plantas y agua (Chapman y Pratt, 1988)
Conductividad	Conductimetría	
Sólidos totales	Gravimetría	
Materia orgánica	Walkley y Black ó dicromato de potasio	
Carbono Orgánico	Walkley y Black ó dicromato de potasio	
Nitrógeno	Kjeldahk modificado para incluir nitratos	
Fósforo	Amarillo del vanadato molibdato	
Potasio, calcio, magnesio y sodio	Espectrometría de absorción atómica	
Hierro, cobre, zinc y manganeso	Espectrometría de absorción atómica	
Boro	Curmina	

FUENTE: Laboratorio de Análisis de Suelo, Planta, Agua y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la UNALM (2016).

3.3.12 CARACTERIZACIÓN DE METALES PESADOS.

Se realizó la determinación de la concentración de los metales pesados plomo, cadmio y cromo hexavalente en la composición de las muestras de los bioles de primera, segunda y tercera generación en el Laboratorio de Análisis de Suelo, Plantas, Agua y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la UNALM, mediante la metodología de espectrofotometría de absorción atómica.

3.3.13 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

El análisis microbiológico de los biofertilizantes fueron realizados en el Laboratorio de Ecología Microbiana “Mariano Tabusso”, el cual sigue la metodología de la International Commission on Microbiological Specifications for Food (ICMSF) 1983, este análisis se realizó para el Biol I-G y Biol II-G incluye la numeración de Coliformes totales, fecales y *Salmonella sp*, para determinar la inocuidad de los biofertilizante. Para el Biol III-G no fue necesario la medición de dichos parámetros microbiológicos debido a que el Biol II-G presentó ausencia de estos organismos patógenos, el cual nos garantiza la inocuidad del Biol II-G y Biol III-G.

3.3.14 ANÁLISIS ECONÓMICO DE PRODUCCIÓN

El análisis del costo de producción se realizó para la elección del mejor tratamiento del Biol II-G para la etapa de laboratorio, se tomó en cuenta el costo de producción de los mejores tratamientos, eligiéndose aquel cuyo costo de producción sea menor al resto. Para analizar los costos de producción se tomó como referencia los costos de cada insumo y materiales que se utilizaron.

3.3.15 SELECCIÓN DE LOS MEJORES TRATAMIENTOS

Para la selección de los mejores tratamientos se tomó en cuenta el criterio de Peralta (2010), los cuales se especifican a continuación.

- El pH debe ser menor a 4.5, si es menor o cercano a 4 se considera un buen tratamiento.
- No debe presentar un mal olor.
- En cuanto a la apariencia de los tratamientos se buscó que sea sin formación de capas de microorganismos sea mohos, o levaduras.
- Menor costo de producción.

3.3.16 ENSAYO DE FITOTOXICIDAD EN SEMILLAS DE LECHUGA

El bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa L.*) variedad Duett es una prueba estática de toxicidad aguda (120 horas de exposición) en el que se pueden evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas complejas 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 hipocótilo (Sobrero y Ronco, 2004).

El ensayo se llevó a cabo bajo las condiciones que se detallan en la Tabla 12.

Tabla 12: Condiciones para la prueba de ensayo de toxicidad aguda.

Tipo de ensayo	Estático
Temperatura	Temperatura ambiente $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$
Calidad de luz	Oscuridad
Volumen de la solución de prueba	4 ml
Agua de dilución	Agua de mesa
Número de semillas por replica	20
Número de replicas	3
Duración de la prueba	120 horas
Efecto Medido	Inhibición de la elongación de la radícula e hipocotílo, inhibición de la germinación.
Aceptabilidad de los resultados	Germinación > 90% en el control

FUENTE: Sobrero y ronco, 2004.

El ensayo de fitotoxicidad se realizó en 51 placas petri con discos de papel toalla en la base (debidamente esterilizadas). Cada placa petri fue rotulada de acuerdo con la dilución y tipo de biol que le corresponda, es así, que se añadió 4 ml de la dilución correspondiente al rótulo, evitando dejar espacios de aire entre el papel toalla y la placa petri.

A continuación se procedió con la siembra de las semillas, con ayuda de una pinza esterilizada se colocó 20 semillas en cada placa petri, siendo un total de 1020 semillas. En

la Tabla 13 se detalla las diluciones que se evaluaron para los tres biofertilizantes en estudio para el ensayo de fitotoxicidad.

Tabla 13: Diluciones para el ensayo de fitotoxicidad.

Tratamiento	Biol I	Biol II	Biol III
Biol puro 100:100	100%	100%	100%
Dilución de Biol 10:100	10%	10%	10%
Dilución de Biol 1:100	1%	1%	1%
Dilución de Biol 0,1:100	0,1%	0,1%	0,1%
Dilución de Biol 0,010:100	0,01%	0,01%	0,01%
Dilución de Biol 0,001:100	-	-	0,001%

La duración de la germinación de las semillas fue de 120 horas tiempo en el cual se mantuvo en una caja de tecnopor para mantener una temperatura promedio de 20 °C y en un ambiente cerrado para obtener la oscuridad que el proceso requiere.

En la Figura 4 se detalla la morfología de la planta de lechuga el cual culminado el tiempo establecido se procede a la cuantificación de las semillas germinadas y a la medición cuidadosa de la elongación del hipocótilo y la radícula en una hoja milimetrada.

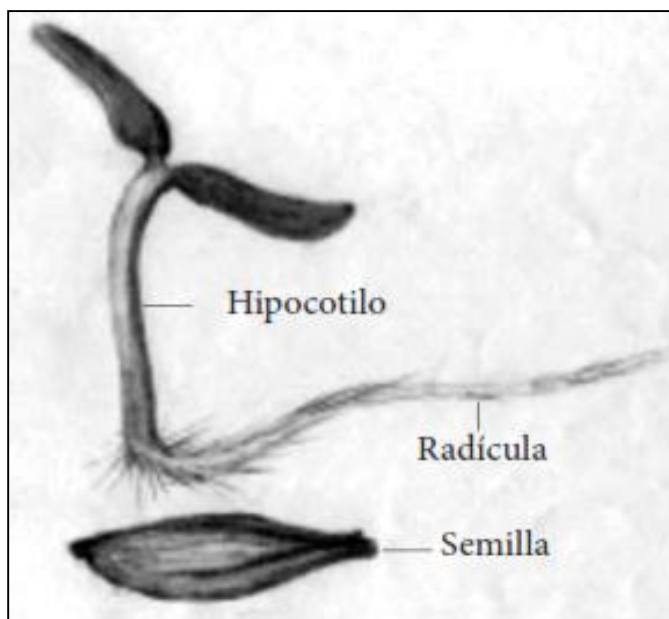


Figura 4: Morfología de la semilla y planta de lechuga.

3.3.16.1 CÁLCULO DEL ÍNDICE DE GERMINACIÓN IG

El índice de germinación (IG) es un indicador más completo para describir el potencial fitotóxico de un material orgánico, ya que integra el porcentaje de germinación relativo y el crecimiento relativo de raíces y se calculará para evaluar el efecto fitotóxico de los bioles I-G, II-G y III-G, como detalla la metodología de Tiquia (2000), citado por Varnero *et al.* (2007).

El Índice de Germinación (IG) se calcula de la siguiente manera:

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

PGR = Porcentaje de germinación Relativo

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

CRR= Crecimiento de radícula relativo

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

Varnero *et al.* (2007) apreciaron que la CRR es un indicador más sensible que PGR encontrando las mayores diferencias en CRR, asociadas a la presencia de metabolitos fitotóxicos moderados, que no impedirían la germinación de las semillas utilizadas, pero si limitarían el desarrollo de la radícula. Por otra parte, Zucconi *et al.* (1981) citado por Varnero *et al.* (2007) establece el siguiente criterio de interpretación: valores de IG ≥ 80 por ciento indicarían que no hay sustancias fitotóxicas o están en muy baja concentración; si el IG ≤ 50 por ciento indicaría que hay una fuerte presencia de sustancias fitotóxicas y si se obtiene un valor entre 50 y 80 por ciento se interpretaría como la presencia moderada de estas sustancias.

3.3.17 CALIDAD DE BIOL

La calidad de los Bioles se evaluó mediante análisis de Laboratorio para determinar la concentración de los macronutrientes (N, P y K), micronutrientes (Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Zn, Mn y B total), metales pesados (Cd total, Pb total, Cr total), materia orgánica en mg/L según la metodología que se detalla en la Tabla 11, y mediante un análisis microbiológico se determinará el Número de Coliformes Fecales, Coliformes Totales, *E. coli* y *Salmonella* sp. Siguiendo la metodología ICMSF de 1983. Además se realizó comparaciones con las NTP 311.557 (2013) y Real Decreto 506 (2013).

3.3.18 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se usó el Diseño Completo al Azar de cuatro tratamientos y tres repeticiones como diseño estadístico empleado para comparar los datos de pH, acidez láctica, conductividad eléctrica, de los tratamientos según la dosis de B-Lac, melaza y Biol en la elaboración y selección del biofertilizante. Igualmente se usó el mismo diseño experimental para la comparación del porcentaje de germinación y del índice de germinación de las diferentes dosificaciones del tratamiento comparadas con el blanco control.

Se utilizaron modelos lineales generales y mixtos para considerar una posible heterogeneidad de varianza durante el período analizado. (Di Rienzo *et al.*, 2017). Luego se seleccionó el modelo más apropiado utilizando los valores del criterio de Akaike (AIC), Schwarz (BIC) y la prueba de máxima verosimilitud (LRT). Para todas las variables medidas se analizó la normalidad de los errores usando la prueba de Shapiro-Francia (Shapiro & Francia, 1972). Para analizar la homogeneidad de varianzas, se usó un gráfico de dispersión de residuos versus valores predichos, se debió observar una nube de puntos sin patrón alguno (Di Rienzo *et al.*, 2008).

De encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó la prueba LSD de Fisher ($\alpha=5\%$), en todos los casos donde se halló diferencias significativas.

Para los análisis estadísticos se utilizó el software estadístico InfoStat versión actualizada 13 de septiembre del 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2008).

3.3.19 PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

En la Figura 5 se presenta el flujo del proceso de elaboración del biofertilizante de segunda y tercera generación, producto del estiércol de cuy:

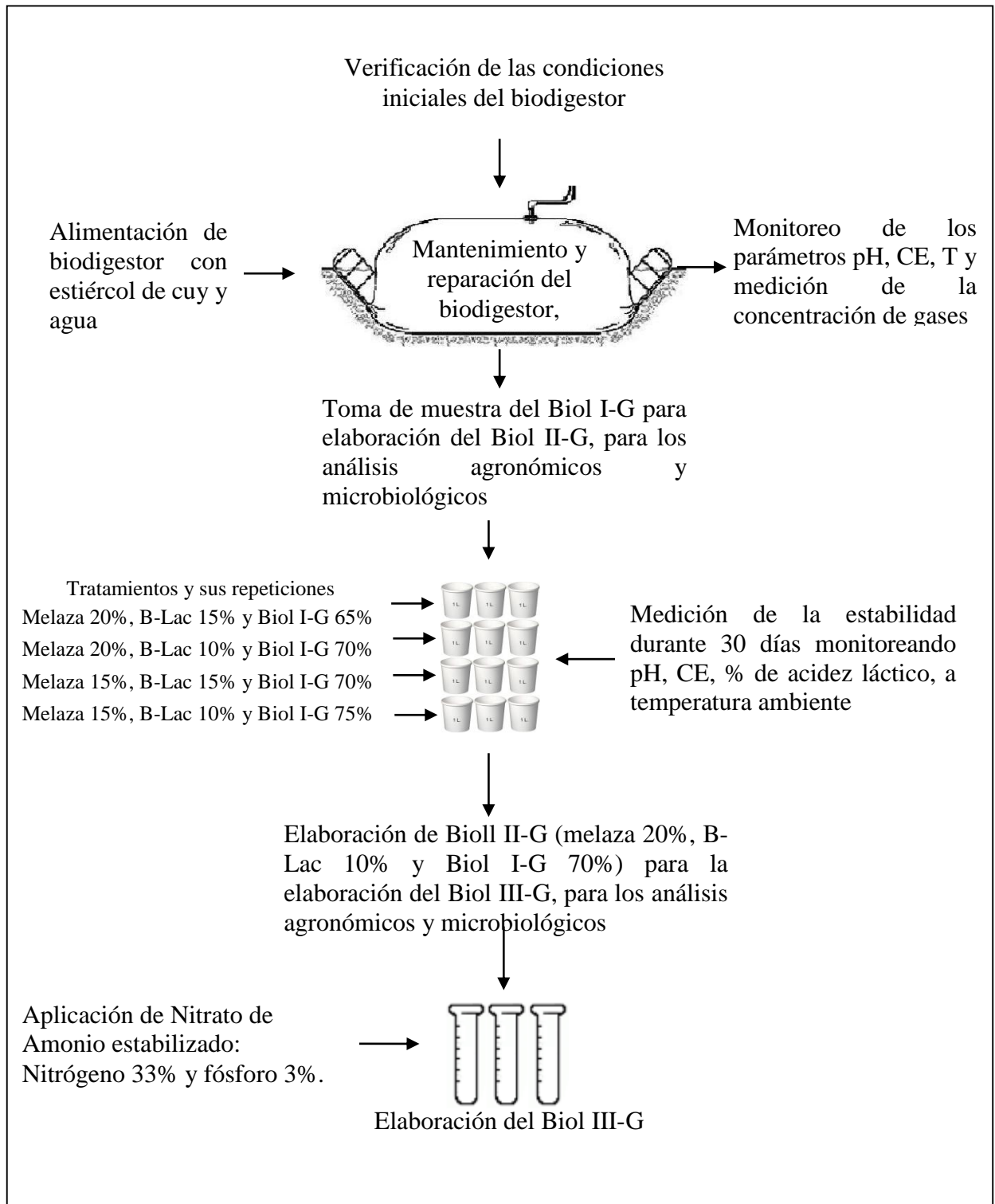


Figura 5: Flujo del proceso de elaboración del Biol I-G, Biol II-G y Biol III-G

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 PRODUCCIÓN DE BIOL DE PRIMERA GENERACIÓN

4.1.1 CONDICIONES INICIALES

La alimentación del biodigestor se realizó con una mezcla homogenizada de estiércol de cuy, restos de su alimentación y agua. Cabe mencionar que cualquier sobrenadante como la mazorca de maíz desgranado, hojas de choclo de gran tamaño fueron extraídos de la mezcla para evitar el mal funcionamiento del biodigestor. En la Tabla 14 presentamos las características de estiércol de cuy que se utilizó para dicho estudio.

Tabla 14: Características de estiércol de cuy.

C %	N %	Hd %	MS %	C/N
43,15	1,90	47,38	52,62	22.71

FUENTE: Laboratorio de Análisis Suelos, plantas, Agua y Fertilizantes - UNALM

El carbono y el nitrógeno son la principal fuente de alimentación de las bacterias metanogénicas. El carbono contribuye la fuente de energía y el nitrógeno es utilizado para la formación de nuevas células. Es por ello que la relación de estos dos elementos es de importancia para que el proceso anaeróbico, el cual el rango óptimo se encuentra entre 30:1 hasta 20:1 (Varnero, 2011). Es por ello que la Tabla 14 muestra los resultados del análisis del estiércol de cuy, encontrando una relación C/N de 22.71, valor dentro del rango óptimo.

Asimismo se tomaron mediciones en muestras de Biol después del mantenimiento y recarga del biodigestor el cual se obtuvo los resultados que se detallan en la Tabla 15.

Tabla 15: Características iniciales del Biol I-G.

pH	CE en dS/m	T °C
7,07	8,3	21

La Tabla 15 muestra las características iniciales del Biol I-G en el que se puede observar un valor de pH neutro encontrándose dentro del rango óptimo 6,5 y 8,0 (Scriban, 1985). La temperatura que se observó fue de 21 °C encontrándose en una fermentación mesofílica como se muestra en la Tabla 5, en el cual el tiempo de fermentación de la materia orgánica podría encontrarse entre los 30 a 60 días.

Cabe indicar que no se pudo tomar muestra de biogás para determinar su composición ya que la cámara de almacenamiento se encontró vacía, a los pocos días la presencia de gas indicó que el biodigestor se encontraba en proceso metanogénico. Se realizó monitoreos de control cada dos semanas durante 2 meses.

4.1.2 ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL BIOL Y BIOGÁS.

4.1.2.1 BIOL.

Los microorganismos metanogénicos son más susceptibles a las variaciones de pH que los otros microorganismos de la comunidad microbiana anaeróbica. Los diferentes grupos bacterianos presentes en el proceso de digestión anaeróbica presentan unos niveles de actividad óptimos entre 5.5 y 6.5 para acidogénicos y entre 7.8 y 8.2 para metanogénicos. El pH óptimo para cultivos mixtos se encuentra en el rango entre 6.8 y 7.4, siendo el pH neutro el ideal. A continuación se presenta la Tabla 16 características promedio del Biol I-G y en el Anexo 1 se presenta a detalle todos los resultados de las mediciones.

Tabla 16: Características promedio del Biol I-G.

pH	CE en dS/m	T °C
7,08	9,13	23,5

Como se observa en la Tabla 16 el pH promedio presenta un valor de 7,08 considerando un valor neutro, óptimo e ideal para la producción de biol y biogás. La conductividad eléctrica presenta un valor promedio de 9,13 dS/m encontrándose dentro de lo normal. La temperatura presenta un promedio de 23,5 °C encontrándose en un rango mesofílico según el manual de biodigestores, además Lagrange (1979) indica que el tiempo de fermentación es de 30 a 60 días y donde el óptimo de temperatura es de 25°C a 35°C. La temperatura que presenta el biodigestor se debe principalmente a la temperatura ambiente, debido a ello se debe tener en cuenta que existe una variación durante el día y la noche y conforme cambien las estaciones del año. Para tal estudio estas medidas fueron tomadas en la estación de invierno.

4.1.2.2 BIOGÁS

El valor del pH en el digestor no sólo determina la producción de biogás sino también su composición. Una de las consecuencias de que se produzca un descenso del pH a valores inferiores a 6 es que el biogás generado es muy pobre en metano y, por tanto, tiene menor calidad energética. Debido a que la metanogénesis se considera la etapa limitante del proceso, es necesario mantener el pH del sistema cercano a la neutralidad. En la Tabla 17 se puede apreciar la composición del biogás después del primer y segundo mes de monitoreo.

Tabla 17: Características Promedio del Biogás.

Parámetros	Biogás Mes 1	Biogás Mes 2
% CH ₄	66,8	68,2
% CO ₂	31	30,0
% Otros	2,2	1,8

De estos resultados se puede apreciar que la producción de biogás se encuentra en óptimas condiciones, teniendo en cuenta que el rango de concentración de CH₄ es de 50-70 por ciento y la concentración de CO₂ se encuentra entre 30-40 por ciento, es por ello que se procede a tomar la muestra de Biol I-G para la elaboración bajo el procedimiento de fermentación ácido láctica del Biol II-G.

Medina (2013) registra valores bajos de metano promedio de 30 por ciento biodigestor alimentado a base de estiércol de ovino, Paucar 2015 registra valores entre 30 y 40 por ciento de metano biodigestor alimentado a base de estiércol de codorniz. La composición del biogás depende de varios factores, pero esencialmente del sustrato a digerir (IDEA 2007, citado por Medina 2013).

4.2 PRODUCCIÓN DE BIOL DE SEGUNDA GENERACIÓN

4.2.1 CONDICIONES INICIALES.

La elaboración del Biol de segunda generación proviene de la mezcla de Biol I-G, melaza y el consorcio microbiano B-Lac, en cuatro diferentes concentraciones las cuales son: (a) Melaza 20%, B-Lac 15% y Biol I-G 65% con código M20B15; (b) Melaza 20%, B-Lac 10% y Biol I-G 70% con código M20B10; (c) Melaza 15%, B-Lac 15% y Biol I-G 70% con código M15B15; (d) Melaza 15%, B-Lac 10% y Biol I-G 75% con código M15B10. En la Tabla 18 se presenta el pH de cada insumo de la mezcla.

Tabla 18: Valor de pH de los insumos empleados.

Biol I-G	Melaza	Consorcio B-lac
7,08	4,7	3,79

Los valores de pH para los insumos empleados en la fermentación ácido láctica son muy parecidos a los valores reportados por Medina (2013) y Peralta (2010) que indican un pH de: 7,23 y 6,5 a 7,5 respectivamente. Asimismo el pH para de la melaza esta reportado por Medina (2013) y Buchelli (2014) con valores de 4,6 y 4,61. El consorcio B-lac muestra valores muy cercanos a los reportados por Medina y Ricse ácidos de 3,7 y 3,6 respectivamente. Posterior a la homogenización de dichas mezclas se procedió a medir el pH, acidez titulable, conductividad eléctrica y temperatura de cada concentración y de cada repetición, estos valores registrados fueron detallados en la Tabla 19.

Tabla 19: Valores iniciales de pH, porcentaje de acidez titulable, conductividad eléctrica y temperatura del Biol II-G.

Concentración	Repetición.	pH	% Ácido Láctico	Conductividad Eléctrica dS/m	Temperatura °C
M20B15	R1	6,11	0,37	26,9	23,0
	R2	6,11	0,37	27,0	
	R3	6,13	0,37	27,1	
M20B10	R1	6,21	0,36	25,6	24,0
	R2	6,20	0,38	25,7	
	R3	6,21	0,36	25,6	
M15B15	R1	6,25	0,32	24,3	25,0
	R2	6,25	0,32	24,4	
	R3	6,27	0,32	24,2	
M15B10	R1	6,38	0,28	24,2	26,0
	R2	6,38	0,28	24,3	
	R3	6,38	0,29	24,1	
Biol I-G	R1	7,20	0,01	11,2	26,5
	R2	7,19	0,01	11,1	
	R3	7,19	0,01	11,1	

Los biorreactores que se instalaron fueron recipientes de capacidad de un litro en el cual se agregaron los insumos (Melaza, B-Lac y Biol I-G) previamente pesados en una balanza de precisión electrónica, homogenizado y sellado herméticamente generando un ambiente anaeróbico para que se efectuó la fermentación ácido láctica. Se realizaron 3 repeticiones por cada concentración diferente, incluyendo a la muestra control de Biol I-G al 100 por ciento denominado Blanco.

En la Tabla 19 se observa para todos los tratamientos que el pH se encuentra por encima de los valores de 6,11 al igual que en el estudio que realizó Buchelli (2014) y Peralta en el 2010.

Respecto al parámetro de temperatura, los estudios de Peralta (2010), Ricse (2013) y Buchelli (2014) realizaron la fermentación ácido láctica a una temperatura de 40 °C mientras que en nuestro estudio se realizó a temperatura ambiente que para el estado inicial fluctúa entre 23 y 26,5 °C durante el día.

4.2.2 ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN DE ESTABILIDAD DE pH

El período de monitoreo de la etapa de fermentación ácido láctica fue de 30 días a temperatura ambiente, de los cuales, los primeros 5 días fueron monitoreos diarios, luego al séptimo y décimo día, analizando pH, acidez titulable, conductividad eléctrica y temperatura. Posterior a ello, el monitoreo fue cada 5 días considerando los mismo parámetros. En la Figura 6 se aprecia la variación de pH promedio de cada concentración durante los primeros 5 días.

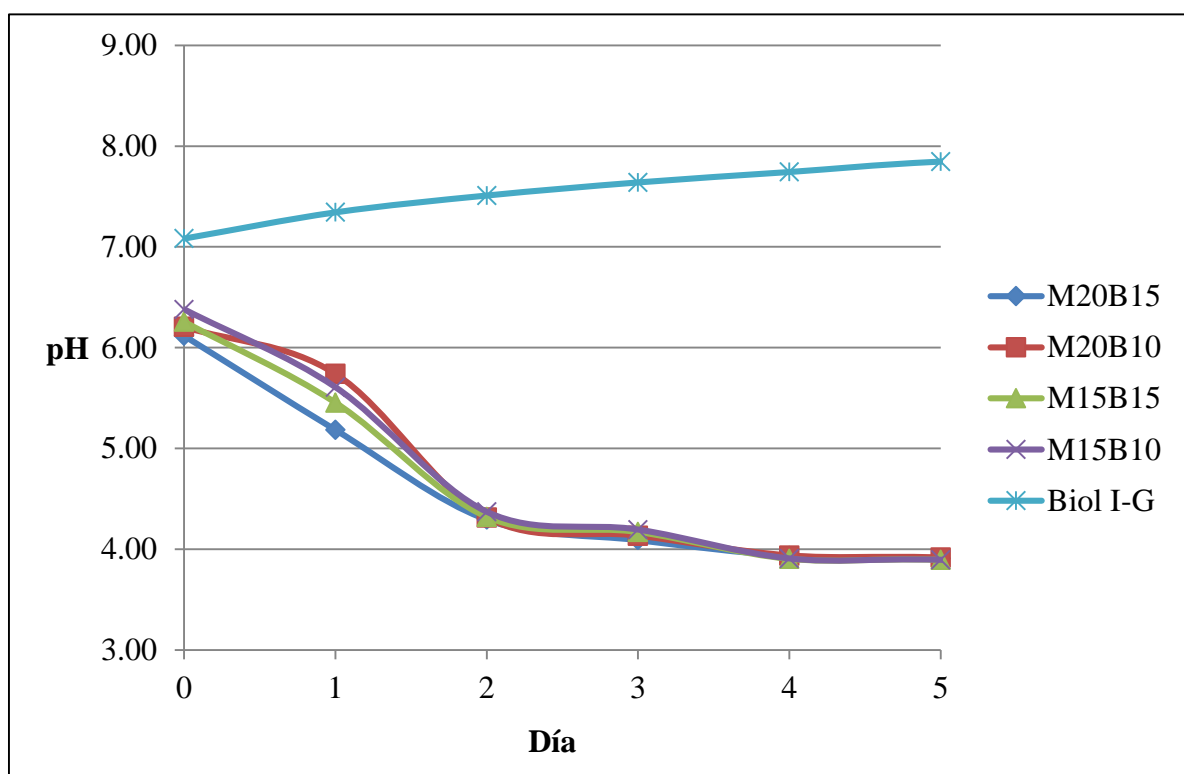


Figura 6: Variación del pH promedio en el proceso de fermentación homoláctica.

Como se puede observar en la Figura 6 los valores de las concentraciones de Biol II-G de pH promedio al iniciar la fermentación ácido láctica se encuentran en un rango de 6,11 a 6,38, mientras que la muestra control Biol I-G inicia con un pH neutro de 7,08 el cual presenta un incremento de pH debido a la ausencia del consorcio microbiano B-Lac y ausencia además de una fermentación ácido láctica.

Todas las concentraciones tienen un mismo comportamiento de descenso de pH durante los 30 días de monitoreo (Ver Anexo 2). Según la Figura 6 se puede apreciar que la muestra de

concentración M15B15 presenta el valor más bajo para el cuarto día 3,90 de pH y las demás muestras también presentan valores por debajo de 4, además se observa un descenso brusco de pH durante los primeros días y posterior a ello un descenso decimal y centesimal conforme pasan los días. Estos valores presentan un similar comportamiento al presentado por Medina en el 2013, valores menores a 4,0 a partir del cuarto día teniendo en consideración que el presente estudio se llevó a cabo a temperatura ambiente.

Este comportamiento se debe al consumo del consorcio microbiano B-Lac de los azúcares presente en la melaza, generando ácido láctico y en consecuencia aumentando la acidez de la mezcla como detalla Peralta, 2010.

En el proceso de fermentación se observó la generación de un gas, probablemente dióxido de carbono por la alcalinidad del Biol I-G que al reaccionar con el ácido láctico genera gas de dióxido de carbono.

Ricse (2013), concluye con respecto a la estabilidad de los bioles, mientras más bajo sea los valores de pH que alcance el Biol II-G al quinto día, el tiempo de estabilidad será mayor. Teniendo en cuenta que el análisis se realizó a temperatura ambiente durante los 30 días de monitoreo, se puede apreciar que el Biol II-G presenta una alta estabilidad llegando a obtener valores de pH entre 3,66 y 3,71 al finalizar los 30 días de estudio.

4.2.3 ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN Y ESTABILIDAD DEL PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO

La presencia de ácido láctico es el resultado del buen desarrollo del consorcio microbiano B-Lac en las diferentes repeticiones. En la Figura 7 se puede apreciar la variación del porcentaje de acidez titulable promedio expresado como ácido láctico titulable para todas las concentraciones.

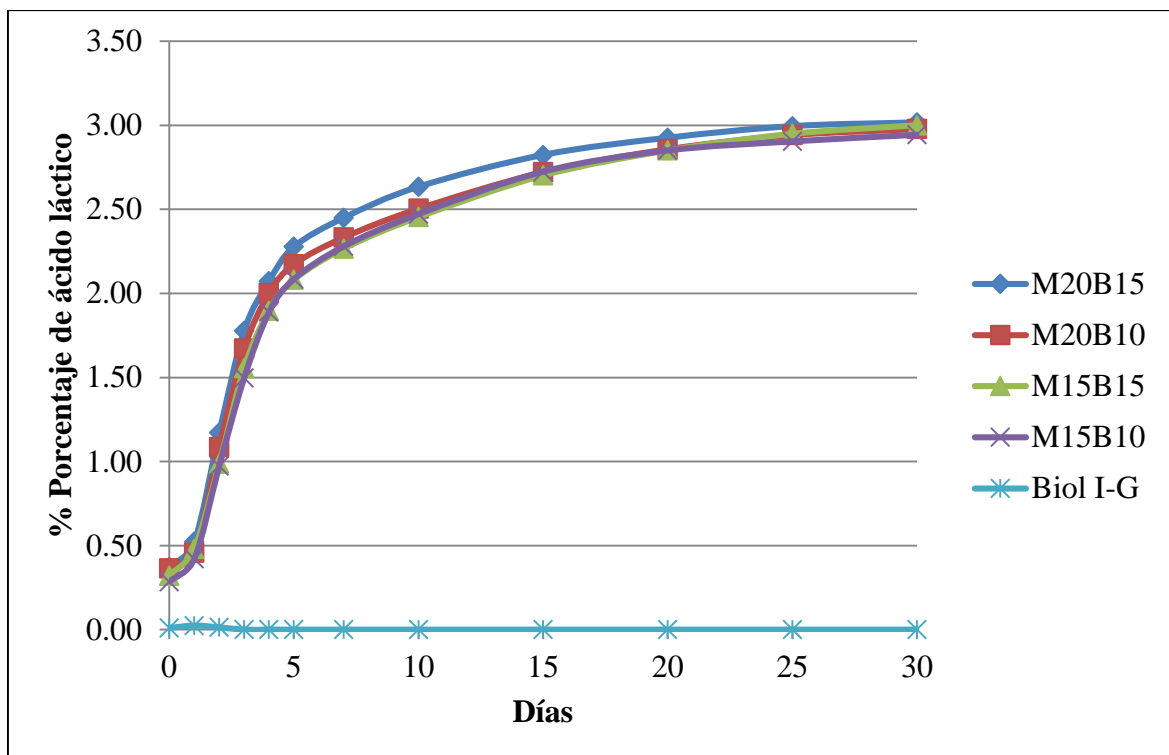


Figura 7: Variación del porcentaje de ácido láctico

Como se observa en la Figura 7 el aumento del porcentaje de acidez se debe al proceso de fermentación ácido láctica donde las bacterias transforman el azúcar presente en la solución en ácido láctico. Se debe apreciar además que el incremento de ácido láctico titulable y la variación de pH tienen una relación inversamente proporcional.

En la Figura 7 se observa que del día uno al día cuatro existe una producción mayor de ácido láctico, la muestra que presentó mayor incremento fue la de concentración M20B15 con 1,78 por ciento, posterior a ello, hasta el quinto día el incremento de acidez láctica por la misma muestra M20B15 fue de 2,29 y luego finalizado los 30 días de evaluación se llegó a un incremento de ácido láctico total de 3,02 por ciento para la muestra M20B15 y presentando el menor incremento total de 2,94 de promedio para la muestra M15B10.

Estos resultados son similares al comparar la acidez láctica con biofertilizantes de Peralta (2010), Medina (2013) que fluctúan en promedio de 2 y 2,5 por ciento de ácido láctico al quinto día, pero supera los valores obtenidos a base de residuos de fresas (Herrera, 2017) reportando valores de 0,9 por ciento de ácido láctico.

4.2.4 ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN DE LA TEMPERATURA

El Biol II-G fue elaborado a temperatura ambiente promedio de 20,04 °C, temperatura máxima de 27,4 °C y temperatura mínima de 13,4 °C según la estación meteorológica Alexander Von Humboldt ubicado dentro de la UNALM, así mismo, se tomaron medidas del Biol II-G durante los 30 días de evaluación. En la Figura 8 se puede apreciar la variación de la temperatura del Biol II-G durante el periodo de evaluación.

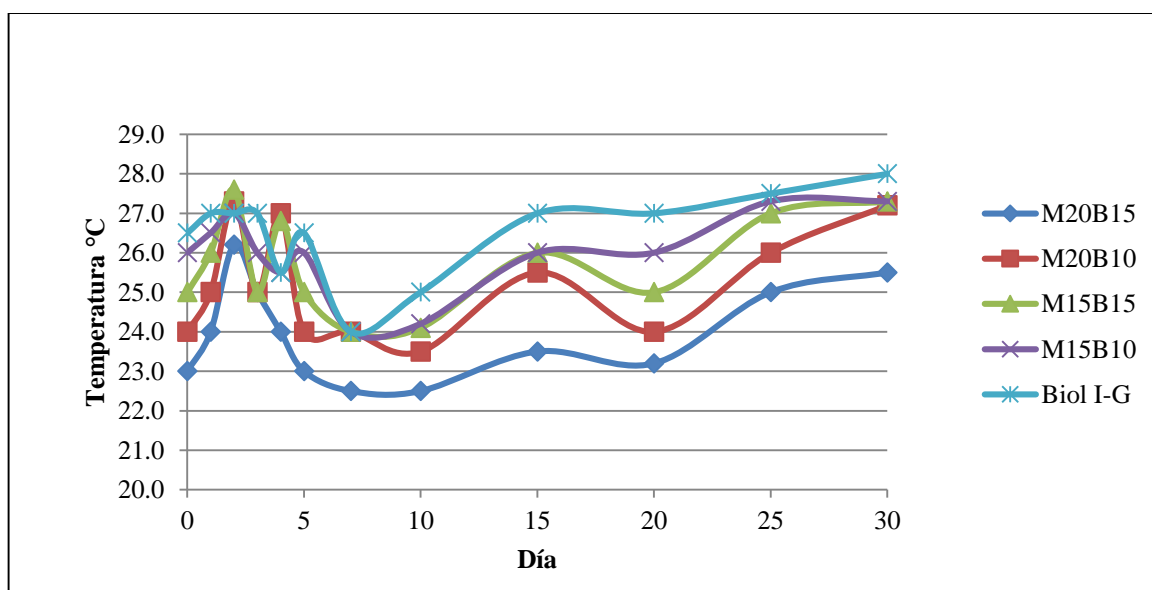


Figura 8: Variación de la temperatura Biol II-G

En la Figura 8 se aprecia las temperaturas registradas durante el día en el Biol II-G obteniendo un valor promedio de 25,5°C, temperatura máxima de 28°C y temperatura mínima de 22,5°C. La variación de la temperatura en las muestras se debe fundamentalmente a la variación de la temperatura ambiental, todas las repeticiones presentan temperaturas mayores a las ambientales debido a que el ambiente del laboratorio de biorremediación se encuentra cerrado, el cual, con un poco de brillo solar la temperatura se incrementa rápidamente, se recuerda que las pruebas se realizaron de noviembre a diciembre, eso quiere decir que se encuentra finalizando la estación de primavera por ello que las temperaturas se incrementan.

Algunos estudios como el de Ricse (2013), Medina (2013), Peralta (2010) y Herrera (2017) realizaron la fermentación homoláctica en una estufa a una temperatura de 40°C obteniendo al quinto un fertilizante líquido estabilizado al igual que en nuestro estudio.

4.2.5 ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

La concentración de sales solubles presentes en la solución del sustrato se mide mediante la CE. La CE es la medida de la capacidad de un material para conducir la corriente eléctrica, el valor será más alto cuanto más fácil se mueve la corriente a través del mismo. Esto significa que a mayor CE, mayor es la concentración de sales (Barbaro *et al.* 2014). En la Figura 9 se observa la variación de la conductividad eléctrica durante los 30 días.

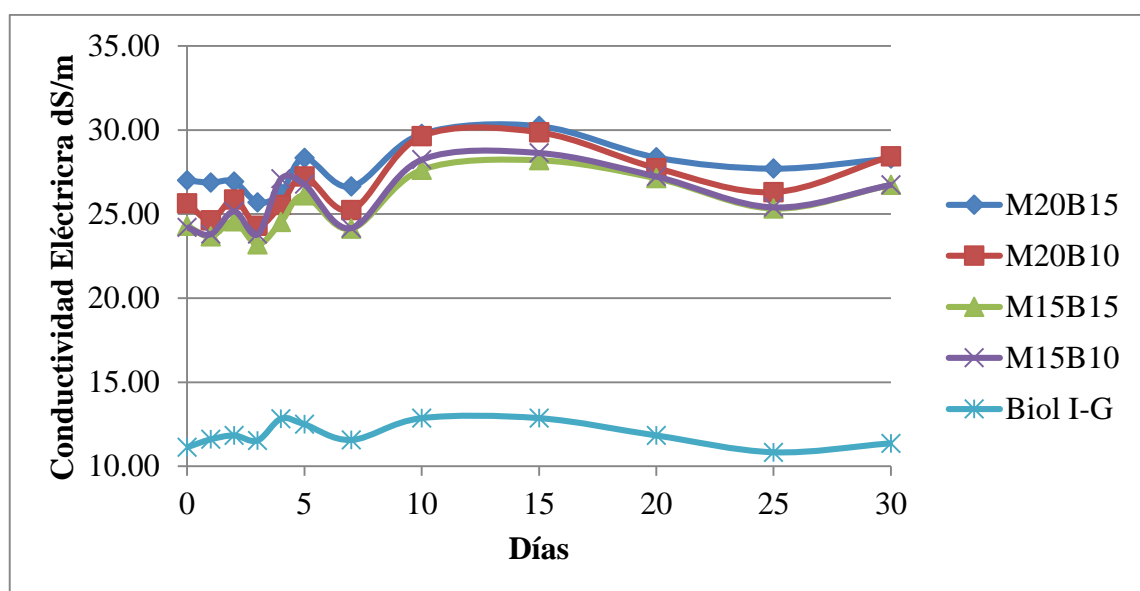


Figura 9: Variación de la conductividad eléctrica.

En la Figura 9 se observan los diferentes valores de conductividad eléctrica encontrados para los diferentes tratamientos y sus respectivas repeticiones, los cuales oscilan entre 23,2 y 30,6 dS/m. observando que oscila directamente proporcional a las variaciones de temperatura. Además, se puede apreciar una variación entre las diferentes concentraciones, estos valores se encuentran relacionados con las altas concentraciones de sales presentes en Biol I-G (11,13 dS/m), consorcio microbiano B-Lac (13,0 dS/m) y melaza.

Según Aldón (2008) indica que la alta conductividad que se presenta en los tratamientos (ensilados) hace imposible utilizarlos directamente al suelo, indica que es necesario diluirlos en agua a fin de evitar efectos dañinos a las plantas.

Por otro lado el Biol III-G muestra una conductividad eléctrica bastante alta de 37,80 dS/m diluido al 10 por ciento, esto se debe principalmente a la concentración de nitrato de amonio por ser una sal amoniacal de ácido nítrico. Por lo que se deben realizar diluciones para la aplicación a la planta o al suelo.

4.2.6 EVALUACIÓN ECONÓMICA DE PRODUCCIÓN.

La producción del Biol II-G se muestra como una alternativa potencial dando un valor agregado a los residuos generados en la crianza de cuyes y un valor nutricional al Biol I-G. Para la generación del Biol I-G se debe considerar que los insumos estiércol de cuy y agua fueron proporcionados por el fundo Don Germán, proveniente de la granja de cuyes y el canal de regadío que pasa por dicho fundo, siendo el único costo la mano de obra.

Para la elaboración del Biol II-G se analizará los costos de los insumos ya que todos los tratamientos cuentan con diferentes porcentajes de estos insumos los cuales son: melaza y B-lac ya que los costos de transporte, materiales, mano de obra, etc., son los mismos para cualquier tratamiento y fueron analizados más adelante en la investigación. Los precios de los insumos se muestran en la Tabla 20.

Tabla 20: Precio de los insumos

Insumos	Unidad	Precio Unitario en (S/.)
Melaza	Kg	2
B-lac	L	10

Los costos de producción se detallan en la Tabla 21 para la producción de un litro de Biol II-G para todos los tratamientos aplicados en el estudio.

Tabla 21: Precio final de los insumos por tratamiento.

Insumos	Tratamiento			
	M20B15	M20B10	M15B15	M15B10
Melaza (S/.)	0,40	0,40	0,3	0,3
B-lac (S/.)	1,5	1	1,5	1
Total (S/.)	1,90	1,40	1,80	1,30

En la Tabla 21 se observa, que los costos más bajos de producción son del tratamiento M20B10 y M15B10 eligiendo el tratamiento M20B10 por presentar mayor contenido de melaza, siendo este último insumo el principal aportante de nutrientes al Biol II-G.

4.2.7 SELECCIÓN DEL MEJOR TRATAMIENTO.

Como se detalla en el subtítulo **3.3.15** selección del mejor tratamiento según Peralta, (2010). Podemos concluir que los 4 tratamientos que se analizaron M20B15, M20B10, M15B15 y M15B10 cumplen con las condiciones de un buen Biol II-G, por el cual escogemos el tratamiento M20B10 de todas las demás concentraciones con la finalidad que el Biol II-G presente mayor cantidad de nutrientes y utilizar la menor cantidad del consorcio microbiano B-Lac, para que el costo de producción sea el menor posible.

4.3 BIOL DE TERCERA GENERACIÓN

La elaboración del Biol de tercera generación es producto de la mezcla del Biol de segunda generación con un fertilizante sintético, que para este estudio se utilizó nitrato de amonio estabilizado, para obtener un fertilizante órgano-mineral con mayor concentración de nutrientes.

Los resultados del Biol de tercera generación son Las cuales sus características se detallan en la Tabla 22:

Tabla 22: Características del Biol III-G.

pH	CE dS/m	CE diluido al 10% dS/m
3,67	>199,9	24,5

Se puede observar en la Tabla 22 que el Biol III-G presenta una solución ácida con un valor de pH 3,67 manteniendo los valores de pH al igual que el Biol II-G, debido a que el proceso químico de la mezcla es endotérmico presenta temperaturas bajas para posteriormente adquirir la temperatura ambiente. La conductividad eléctrica presenta valores altos de 24,5 diluido al 10 por ciento eso quiere decir que requiere de una dilución para la aplicación directa a la planta. La Norma Técnica Peruana indica que si el producto es comercializado, tiene que reportarse los valores en 1:200, Así mismo, el Real Decreto 506 solicita reportar las concentraciones de conductividad eléctrica para abonos órgano-minerales.

Las demás características del Biol III-G fueron reportados por el Laboratorio de Análisis de Suelo, Plantas, Aguas y Fertilizante de la Facultad de Agronomía de la UNALM para el análisis agronómico y concentración de metales pesados.

4.4 CARACTERIZACIÓN DE LOS BIOLES

4.4.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICAS DE INTERÉS AGRONÓMICO

En la Tabla 23 se puede apreciar el resultado fisicoquímico de interés agronómico con el objetivo de evaluar la calidad de los bioles orgánicos I-G y II-G y biol orgánico-mineral III-G que se tiene en las diferentes etapas de producción. Para ellos se requirió el análisis en el Laboratorio de Análisis de Suelo, Plantas, Aguas y Fertilizante de la Facultad de Agronomía de la UNALM de: potencial de hidrogeno, Conductividad eléctrica, Sólidos Totales, Materia Orgánica en solución, macronutrientes (N, P y K) y micronutrientes (Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Zn, Mn y B)

Tabla 23: Resultados fisicoquímico de los biofertilizantes líquidos obtenidos.

Parámetros	Unidad	Biol I-G	Biol II-G	Biol III-G
pH	---	7,17	3,65	3,66
C.E.	dS/m	9,69	24,30	37,80*
Sólidos Totales	g/L	8,04	116,26	359,40
M.O. en Solución	g/L	3,29	91,42	338,90
N Total	mg/L	851,20	2674,00	78288,00
P Total	mg/L	88,30	118,96	2824,00
K Total	mg/L	610,00	6650,00	7350,00
Ca Total	mg/L	139,00	1055,00	1695,00
Mg Total	mg/L	125,50	920,00	710,00
Na Total	mg/L	243,00	580,00	445,00
Fe Total	mg/L	2,13	29,80	37,00
Cu Total	mg/L	0,13	1,30	0,95
Zn Total	mg/L	0,48	3,00	2,70
Mn Total	mg/L	0,56	2,80	2,45
B Total	mg/L	0,96	5,81	5,37

FUENTE: Laboratorio de Agua, Suelo, Plantas y Fertilizantes- UNALM (2013).

*La conductividad eléctrica del Biol III-G analizada al 10 por ciento.

Como se puede apreciar en la Tabla 23 el Biol II-G presenta un mejor contenido de macronutrientes y micronutrientes con referencia al Biol de primera generación, éste incremento de nutrientes se debe principalmente al aporte de nutrientes que hace la melaza y el trabajo de las bacterias ácido lácticas liberando los nutrientes de la fase sólida a la fase líquida, así mismo, el Biol III-G presenta mejor contenido de macronutrientes principalmente nitrógeno y fósforo con respecto al Biol II-G y al Biol I-G, esto se debe al principal aporte del fertilizante nitrato de amonio estabilizado con fósforo.

El pH del Biol II-G y III-G son más ácido que el Biol I-G. Medina (2014) indica que esta es una característica que beneficia a estos bioles ya que esta acidez inhibe el crecimiento y desarrollo de microorganismos que inducen a la putrefacción, con lo que no conlleva riesgo microbiológico en su aplicación y almacenamiento.

También se puede apreciar en los resultados de materia orgánica que el Biol III-G presenta un incremento con respecto al Biol II-G y este a su vez presenta mayor concentración que el Biol I-G, las diferencias entre las cantidades del Biol I-G, II-G y III-G son altamente significativos. Según Ricse (2013), este resultado es bueno ya que la materia orgánica determina el poder nutritivo del suelo, siendo un almacenamiento que posteriormente suministrará nutrientes en forma lenta a las plantas.

Los resultados del Biol III-G correspondientes al nitrógeno son de 7,8 por ciento de nitrógeno total, siendo lo esperado un 10 por ciento esto se puede deber a que la fracción de amonio se adhiere a los coloides de la solución quedando retenido.

En la Tabla 24 se presenta una comparación de parámetros físico-químico de los bioles generados con otros bioles producto de estiércol vacuno, gallinaza, ovino.

Tabla 24: Comparación de parámetros físico-químicos con otros biofertilizantes líquidos

Parámetros	Biol I-G	Biol II-G	Biol III-G	Biol CB ¹	Biol LC ²	Fast Biol 20 ³	Biol II-G Medina ⁴	Cuyinaza
pH	7,2	3,7	3,7	8,2	7,2	3,8	3,7	4,54
C.E. en dS/m	9,7	24,3	37,8 ⁵	15,3	21,3	25,7	27,2	21.5
M.O.en Solución	3,3	91,4	338,9	5,4	17,2	181,1	108,6	162,40
N Total mg/L	851,2	2674,0	78288,0	980,0	1700,0	4200,0	1876,0	7308,00
P Total mg/L	88,3	119,0	2824,0	121,0	3800,0	744,2	203,4	3517,64
K Total mg/L	610,0	6650,0	7350,0	6760,0	5200,0	17200,0	9005,6	5880,00
Ca Total mg/L	139,0	1055,0	1695,0	220,4	3500,0	5200,0	1523,1	6400,00
Mg Total mg/L	125,5	920,0	710,0	53,4	1200,0	1740,0	1044,4	2940,00
Na Total mg/L	243,0	580,0	445,0	542,0	-	1040,0	590,8	2220,00

FUENTE:

- (1) Biol Casa Blanca (Estiercol de cuy), citados por Medina, (2013)
- (2) Biol La Calera (Gallinaza), Carhuancho (2010).
- (3) Fast Biol 20 (Estiércol Vacuno), Peralta (2010).
- (4) Biol II-G (Estiércol Ovino), Medina (2014).
- (5) C.E al 10 por ciento en dS/m
- (6) Fermentación homoláctica de cuyinza. Roman 2012.

Referente a la conductividad eléctrica, el Biol III-G es el que presenta un valor más alto, esto se debe principalmente a la incorporación del fertilizante nitrato de amonio siendo esta una sal formada por iones nitrato y amonio.

Cabe indicar que la concentración de los nutrientes del Biol III-G es mayor en M.O y nitrógeno. Las concentraciones de fósforo total presenta alta concentración junto con el Biol La Calera (Gallinaza). El potasio total presenta menor concentración que el Biol II-G producto del estiércol de ovino y el fas biol 20 de estiércol vacuno y mayor concentración de la gallinaza. Las concentraciones de Mg total y Na total presenta menores concentraciones que los bioles producto de la gallinaza, fast biol 20 y Biol II-G de estiércol de ovino. Román (2012) obtiene resultados de nitrógeno ampliamente superiores a la concentración del Biol de segunda generación esto se puede presentar debido a que este último proviene de la digestión anaeróbica, en donde el nitrógeno es utilizado para el crecimiento de bacterias anaeróbicas y la riqueza de nitrógeno presente en las excretas de cuy.

4.4.2 CARACTERIZACIÓN DE METALES PESADOS

Los resultados de caracterización de los metales pesados fue obtenido en el Laboratorio de Análisis de Suelo, Planta, Agua y Fertilizantes (LASPAF) de la Facultad de Agronomía de la UNALM, se realizaron análisis para los tres bioles obtenidos Biol I-G, II-G y III-G, se debe tomar importancia a esta caracterización ya que los metales pesados son potencialmente tóxico tanto para el ecosistema como para el ser humano según cuales sean las vías de exposición, además debido al carácter acumulativo de estos puede alterar la cadena trófica (Ferré-Huguet, *et al* 2007).

En la Tabla 25 se puede apreciar los valores obtenidos de los metales pesados en los tres biofertilizantes líquidos obtenidos en el presente estudio.

Tabla 25: Caracterización de metales pesados para algunos biofertilizantes.

Parámetros	Unidad	Biol I-G	Biol II-G	Biol III-G
Pb Total	mg/L	0,08	2,15	0,40
Cd Total	mg/L	0,02	0,22	0,20
Cr Total	mg/L	0,20	0,82	7,60

Se puede apreciar que el Biol I-G presenta menor concentración de metales pesados que en el Bioles II-G debido a la reacción del sulfuro de hidrogeno con los metales en el biodigestor haciendo que en el líquido se reduzca y probablemente se encuentre acumulado en el biosol. Esta diferencia, además, se debe principalmente a los insumos que se requieren para producir el Biol II-G principalmente al aporte de la melaza siendo esta el principal insumo en la producción. Esta contaminación de la melaza con metales pesados puede originarse por múltiples motivos, desde el tipo de suelo donde fue sembrada la caña, si hubo o no fertilización química y/o aplicación de plaguicidas, por contaminación en el proceso de producción o a través de fuentes de transporte o almacenamiento (Medina, 2013), cabe indicar que se realizó una análisis de Cr total para el nitrato de amonio conteniendo una concentración de 2,57 mg/L siendo el único insumo requerido para obtener el Biol III-G es por ello que se puede apreciar el incremento del Biol II-G al Biol III-G. Mientras la concentración de Cd total mantiene la concentración de 0,22 mg/L en el Biol II-G a 0,20 mg/L en el Biol III-G, por otro lado la concentración de plomo total presenta un descenso en su concentración, esto puede deberse a que los metales interactúan con la parte sólida del Biol siendo adsorbidos. En la Tabla 26 se observa los valores máximos permisibles para metales pesados para todos los abonos orgánicos que se detalla en la Norma Técnica Peruana y Real Decreto supremo 506.

Tabla 26: Valores máximos de metales pesados en abonos orgánicos.

País	Especificaciones	Pb	Cd	Cr
Peru¹	Abonos Orgánicos	300	39	1200
España²	Clase A (mg/kg)	45	0,7	70
	Clase B (mg/kg)	150	2	250
	Clase C (mg/kg)	200	3	300
	Biol I-G	0,08	0,02	0,20
	Biol II-G	2,15	0,22	0,82
	Biol III-G	0,40	0,20	7,60
	Medina (2013)	4,41	0,76	0,57
	Buchelli (2014)	0,12	0,1	1,08

FUENTE:

(1) Norma Técnica Peruana 311.557 2013: Fertilizantes. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas o acondicionadores de suelo.

(2) Real Decreto 506/2013 para productos fertilizantes. Sólidos en materia seca y líquidos.

Se puede observar que el Biol I-G, Biol II-G y Biol III-G se encuentran dentro de los límites máximos permisibles dentro de la normativa peruana y también de la normativa española el Real decreto 506, 2013. Por otro lado los tres fertilizantes en estudio presentan menor cantidad de plomo que los valores presentados por Medina (2013), esto puede presentarse por el tipo de alimentación de los animales y producto de ello generación de estiércol. El Biol III-G presenta mayor concentración de cromo que los demás biofertilizantes líquidos, esto se debe a la adición de nitrato de amonio el cual contiene 2,57 mg/L de cromo total según el análisis realizado al fertilizante.

4.4.3 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA

En la Tabla 27 se muestra los resultados del análisis microbiológico del Biol I-G y Biol II-G que se analizaron en Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología “Mariano Tabusso” para verificar la presencia o ausencia de microorganismos patógenos, ya que, estos podrían resultar perjudiciales para la salud de las personal como para la actividad biológica en el suelo.

Tabla 27: Caracterización microbiológica del Biol I-G y Biol II-G.

Parámetro	NTP	R.D 506	Biol I-G	Biol II-G
Enumeración de Coliformes totales (NMP/mL)	< 1000	-	11 x 10 ²	< 3
Enumeración de Coliformes fecales (NMP/mL)	-	-	43	< 3
Enumeración de <i>Escherichia coli</i> . (NMP/mL)	-	< 1000	< 3	< 3
Detección de <i>Salmonella sp</i> en 25 mL. (Ausencia/Presencia)	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

FUENTE: Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología Mariano Tabusso-UNALM
Nota los valores de < 3 indican ausencia de microorganismos

Como se puede apreciar en la Tabla 27 el Biol I-G muestra presencia de Coliformes totales y coliformes fecales en bajas concentraciones, mientras que los resultados para la bacteria *Escherichia coli* fue de <3 el cual indica ausencia de este patógeno, así mismo, la determinación de *Salmonella sp* indica como resultado ausencia de esta bacteria. El Biol II-G muestra ausencia para estos organismos patógenos Coliformes totales, Coliformes Fecales, *E. coli* registrando valores menores a 3 NMP/mL y para la *Salmonella sp*. Registra ausencia de este microorganismo, esto se debe a los valores bajos de pH que inhiben toda

actividad microbiana según Medina (2013), así mismo, los resultados obtenidos por Peralta (2010), Medina (2013), Ricse (2013) y Buchelli (2014) luego de la generación de biofertilizante líquido con el consorcio microbiano B-Lac no presentan ninguno de estos organismos patógenos.

4.5 EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL BIOL EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE LECHUGA.

El bioensayo de fitotoxicidad con semillas de lechuga se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental – Biorremediación del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias siguiendo la metodología de Sobrero y Ronco (2004), para el cual se utilizaron diluciones decimales de 100/100, 10/100, 1/100, 0,1/100 y 0,01/100 para los Bioles I-G y II-G mientras que para el Biol III-G se utilizó además de dichas diluciones la dilución 0,001/100 el cual nos permitió establecer valores de toxicidad entre 100 y 0 por ciento, cabe indicar que para la dilución se realizó agua tratada para consumo humano (agua de mesa), al igual que para la muestra control.

En la Tabla 28 se muestran las condiciones fisicoquímicas de pH y conductividad eléctrica de las diferentes diluciones.

Tabla 28: Características de pH y CE en las diluciones de los biofertilizantes líquidos.

Tratamiento	Diluciones	pH	CE dS/m
Agua de Mesa	al 100%	7,74	830
Biol I-G	al 100%	7,47	11 100
	al 10%	7,55	2 020
	al 1%	7,58	985
	al 0.1%	7,60	851
	al 0.01%	7,63	842
Biol II-G	al 100%	3,69	28 500
	al 10%	3,87	5 350
	al 1%	4,48	1 364
	al 0.1%	6,78	920
	al 0.01%	7,17	885
Biol III-G	al 100%	3,57	>199 900
	al 10%	3,83	43 400
	al 1%	4,40	5 790
	al 0.1%	6,50	1 348
	al 0.01%	6,83	891
	al 0.001%	6,87	823

FUENTE: Elaboración propia

En la Tabla 28 se puede apreciar que la variación de pH en el Biol I-G es mínima mientras que la conductividad eléctrica presenta una disminución considerable de 11 100 dS/m al 100 por ciento a 842 dS/m al 0,01 por ciento, por otra parte, se aprecia en el Biol II-G que el pH aumenta progresivamente de una solución acida a una solución neutra según disminuya la concentración de Biol II-G, incrementándose el pH de 3,69 al 100 por ciento a 7,17 al 0,01 por ciento, ya que, la solución utilizada para la dilución es agua de mesa con un valor de pH 7,74. Así mismo, el Biol III-G sufre la misma variación que el Biol II-G en los parámetros de conductividad eléctrica disminuyendo de un valor >199 900 dS/m al 100 por ciento

a 823 dS/m a una dilución al 0,001 por ciento y un valor de pH que incrementa de 3,57 al 100 por ciento a 6,87 al 0,001 por ciento.

La norma chilena NCh 2880 clasificación y requerimiento de compost 2005 establece como adecuado para un material que será agregado al suelo como abono orgánico valores de pH entre (5,0 y 8,5), así mismo, la conductividad eléctrica debe ser menor o igual a 5 dS/m para abonos orgánicos de Clase A.

Para el análisis del efecto del Biol I-G, Biol II-G y Biol III-G en la germinación de semillas de lechuga con respecto a cada dilución, detallada en el párrafo anterior, el periodo de exposición fue de 120 horas, para ello se registró el número de semillas germinadas y las dimensiones de la radícula y el hipocótilo como indican Sobrero y Ronco (2004). Dichos resultados se muestran en el Anexo 3.

En la Figura 10 se puede observar la elongación de la radícula y el hipocótilo en el Biol I-G, Biol II-G y Biol III-G y la muestra control que fue a base de agua de mesa. Además, se puede apreciar que las semillas en las diluciones del Biol I-G al 100 por ciento, del Biol II-G al 100 por ciento y al 10 por ciento y del Biol III-G al 100 por ciento y 10 por ciento no germinaron, presentando unas manchas verdes oscuras alrededor de todas estas semillas.

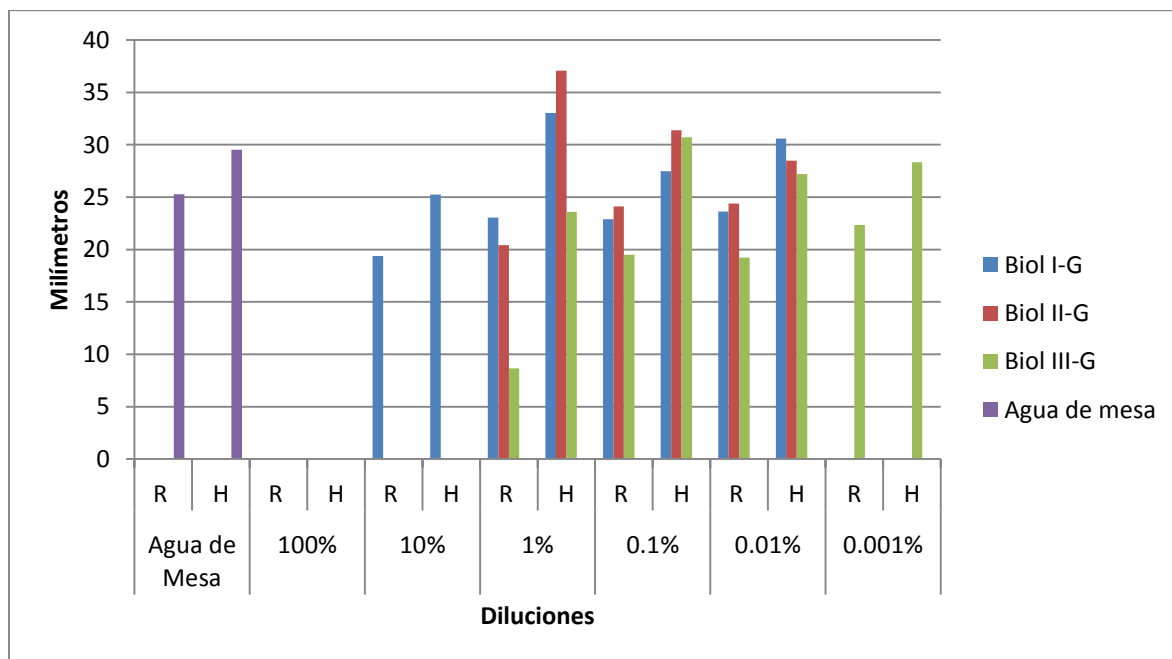


Figura 10: Medición promedio de la elongación de la radícula y del hipocótilo

Se puede apreciar que en todas las diluciones y en los tres diferentes fertilizantes líquidos la radícula es menor que el hipocótilo, así mismo, se aprecia en la muestra control (agua de mesa). Por otro lado, la dilución al 0,01 por ciento del Biol I-G muestra el mayor crecimiento de la radícula y mientras la dilución uno por ciento muestra el mayor crecimiento del hipocótilo. Cabe indicar que a medida la dilución fue mayor el tamaño incrementó, esto probablemente se deba al pH bajo que presentan los Bioles II-G y III-G y a la alta conductividad que presentan los biofertilizantes líquidos en estudio. Para el caso del Biol II-G la dilución que presentó mayor crecimiento de radícula fue de 0,01 por ciento y el crecimiento mayor del hipocótilo fue para la dilución del uno por ciento presentando mayor crecimiento que la muestra control. Para el caso del Biol III-G se realizaron 6 diluciones las cuales las diluciones del 100 y 10 por ciento no presentaron germinación de semillas como se puede apreciar en la Fotografía 15 y la dilución al uno por ciento inhibe el crecimiento radicular de la germinación, por otro lado se observó que ninguna de las diluciones presentaron mayor crecimiento radicular que la muestra control (Agua de mesa). Cabe mencionar que en la dilución del uno por ciento del Biol III-G la radícula es bastante menor que las demás germinaciones esto puede ser un factor de inhibición generada por la alta conductividad eléctrica de 5 790 dS/m.

4.5.1 EVALUACIÓN DEL ÍNDICE DE GERMINACIÓN

Siguiendo la metodología descrita para la determinación del índice de germinación se presenta en la Tabla 29 los valores obtenidos del porcentaje de germinación relativo (PGR), crecimiento radicular relativo (CRR) e índice de germinación (IG).

Tabla 29: Índice de Germinación IG de semillas de lechuga.

Diluciones	N° de semillas Germinadas	PGR %	Elongación de la Radícula	CRR (%)	IG (%)
Agua de meza	19	100,00	25,28	100,00	100,00
BIOL I-G					
100%	0	0,00	0	0,00	0,00
10%	15,33	80,70	19,4	76,72	61,92
1%	17,50	92,11	23,0	91,13	83,93
0.1%	18,33	96,49	22,9	90,60	87,42
0.01%	18,33	96,49	23,6	93,45	90,17
BIOL II-G					
100%	0	0,00	0	0,00	0,00
10%	0	0,00	0	0,00	0,00
1%	18,67	98,25	20,4	80,83	79,41
0.1%	18,33	96,49	24,1	95,34	91,99
0.01%	18,00	94,74	24,4	96,51	91,43
BIOL III-G					
100%	0	0,00	0	0,00	0,00
10%	0	0,00	0	0,00	0,00
1%	17,00	89,47	8,7	34,24	30,64
0.1%	18,00	94,74	19,5	77,09	73,03
0.01%	19,00	100,00	19,2	76,06	76,06
0.001%	19,67	103,51	22,4	88,43	91,53

Como detalla Varnero et al. (2007) en el estudio de fitotoxicidad en residuos orgánicos en el compostaje existe mayores diferencias entre el CRR y PGR asociado a la presencia de

metabolitos fototóxicos moderados, que no impedirían la germinación de las semillas utilizadas, pero si limitarían el desarrollo de la radícula. Por otro lado, Según Zucconi et al. (1981) citado por Varnero et al. (2007) el Índice de Germinación (IG) indica que si es ≥ 80 por ciento no hay sustancias fitotóxicas o se encuentran en bajas concentración y si se encuentra ≤ 50 por ciento indicaría que hay una fuerte presencia de sustancias fototóxicas y si se encuentra dentro de estos valores se puede decir que existe una presencia moderada de sustancias fitotóxicas. Teniendo en cuenta que los bioles generados provienen de una fuente orgánica y natural a excepción del Biol III-G el propósito de esta prueba es determinar la dosificación óptima de los biofertilizantes líquidos producidos.

De acuerdo a lo expuesto en el párrafo anterior y observando la Tabla 29 se puede apreciar que a medida la dilución incrementa el índice de germinación aumenta debido al bajo valor del pH y la alta conductividad de las soluciones, el cual inhibe la germinación en las soluciones más concentradas, siendo invadidas por hongos alrededor de la semilla como se puede apreciar en la Fotografía 15 del Anexo 6. Es así que la dilución 0,01 por ciento presenta el mayor índice de germinación para el Biol I-G pero también se encuentra dentro del rango óptimo las diluciones uno por ciento y 0,1 por ciento. Para el Biol II-G la dilución que presenta mejor IG es la dilución 0,1 por ciento con un valor de 91,99 por ciento también encontrándose un valor muy parecido la dilución 0,01 por ciento. Mientras, la dilución al uno por ciento presenta un valor de 79,41 por ciento encontrándose por debajo del óptimo, sin embargo, presenta el hipocótilo con medida promedio mayor a todos a todas las demás diluciones el cual podría ser de suma importancia en productos germinados. Para finalizar el Biol III-G presenta como una única dilución a la concentración 0,001 por ciento con un valor de índice de germinación aceptable de 91,53 por ciento, mientras las demás diluciones presentan valores menores al 80 por ciento indicando sustancias tóxicas para la germinación.

V. CONCLUSIONES

- Los abonos líquidos obtenidos a partir de estiércol de cuy presenta un importante aporte nutricional para las plantas, y a medida que se aplica un proceso o tratamiento se incrementa sus valores nutricionales (macronutrientes, elementos secundarios y micronutrientes), primero el Biol I-G producto principal de la fermentación anaeróbica de estiércol de cuy, segundo el Biol II-G producto de la fermentación ácido láctica con el consorcio microbiano B-Lac y para finalizar el tercer proceso el Biol III-G producto de la mezcla con el fertilizante sintético Nitrato de Amonio.
- La producción del Biol I-G presenta un periodo de producción más largo que el Biol II-G y Biol III-G con un tiempo promedio de 3 a 4 meses dependiendo de la temperatura ambiental. La producción del Biol II-G requiere de un tiempo de 4 a 5 días como mínimo. Por otro lado el Biol III-G requiere de un tiempo menor hasta que la solución este homogénea.
- El valor de pH registrado para el Biol I-G fue de 7,17, valor que se encuentran dentro del rango óptimo. El Biol II-G registra 3,92 de pH al quinto día, presentando un leve descenso al día 30 de iniciado el proceso (pH: 3,65). El Biol III-G presenta valores similares al Biol II-G (pH: 3,66). Así mismo, se determinó que la conductividad eléctrica del Biol I-G fue de 9,69 dS/m, del Biol II-G 24,30 dS/m y del Biol III-G 37,8 dS/m al 10 por ciento de la solución, conductividades bastante altas, por su contenido nutricional. La elaboración del Biol I-G, Biol II-G y Biol III-G fue a temperatura ambiente para el caso del Biol II-G se realizó a una temperatura ambiente promedio de 25,5°C durante el proceso de fermentación ácido láctica, el tiempo fue corto al igual que diferentes estudios llevándolo a una estufa a temperatura de 40°C.

- Las concentraciones de metales pesados analizados para este estudio (Pb, Cd y Cr) se encuentra por debajo de las concentraciones máximas permitidas según la NTP 311.557:2013 y el Real Decreto 506/2013 de España.
- Los análisis microbiológicos realizados a los bioles indican que el Biol II-G ya es un producto inocuo libre de microorganismos patógenos producto de estiércol de cuy, mientras que el Biol I-G aún presenta microorganismos como Coliformes totales y fecales pero que no superan los estándares de calidad ambiental para agua categoría III. Cabe indicar que el Biol III-G no se realizaron análisis microbiológicos ya que presenta características similares al Biol II-G. Siendo abonos de fuente orgánica que no presentan ningún riesgo a la salud.
- Se demostró según el ensayo de fototoxicidad que la dilución óptima para el Biol I-G fue al 0,01 por ciento, para el Biol II-G fue 0,1 por ciento y por último para el Biol III-G la dilución óptima fue 0,001 por ciento según el índice de germinación. Cabe indicar que las dosis altas inhiben la germinación de las semillas y el crecimiento radicular como el caso de la dilución al uno por ciento del Biol III-G.
- El Biol II-G muestra una estabilidad a partir del día quinto hasta el día 30 días de monitoreo, presentando un leve descenso de pH alrededor de 3,65 debido a la generación del ácido láctico. La conductividad eléctrica presento valores similares y temperatura fluctuó de acuerdo a la temperatura ambiental.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios en la elaboración de fertilizantes orgánicos-minerales en diferentes etapas de crecimiento de la planta que nos ayude a mejorar la producción agrícola.
- Realizar más estudios con de la producción del Biol III-G para poder encontrar una mayor compatibilidad con otros fertilizantes inorgánicos.
- Evaluar la dosis óptima de los biofertilizantes generados a base de estiércol de cuy Biol I-G, Biol II-G y Biol III-G en los diferentes tipos de cultivo.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agricultura Orgánica y Biodiversidad. Visitado Junio 2015 En línea: <http://www.fao.org/docrep/005/y4137s/y4137s06.htm>
2. AEFA (Asociación Española de Fabricantes de Agronutrientes). Visitado Noviembre 2016. En línea: <http://aeфа-agronutrientes.org/fertilizantes-organicos-organo-minerales-y-enmiendas-organicas>.
3. Aldón, D. 2008. Estrategia Ambiental de aprovechamiento de la macroalga *Ulva Lactuca* lechuga de mar a través del proceso de ensilaje. Tesis para optar el título de ingeniero ambiental UNALM. Lima Perú. 81p.
4. Barbaro, L; Karlanian, M; Mata, D. 2014. Importancia del pH y la conductividad eléctrica en los sustratos para plantas. Ministerio de agricultura ganadería y pesca. Argentina 11 p.
5. Barrios, F. 2001. Efecto de diferentes concentraciones de biol aplicados al suelo y foliarmente en el cultivo de vainita. Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo UNALM Lima Perú 70 p.
6. Boletín técnico de producción de Honduras. Visitado Julio 2015 En línea: http://www.mcahonduras.hn/documentos/publicacioneseda/Manuales%20de%20produccion/EDA_Produccion_Uso%2520de%2520Melaza_07_07.pdf
7. Bruchmann, E. 1980. Química alimentaria, fermentación y agrícola. Bioquímica técnica, Editorial Acriba España 233 p.

8. Carhuacho, L. 2012. Aprovechamiento del estiércol de gallina para la elaboración del biol en biodigestores tipo batch como propuesta al manejo de residuos avícolas. Tesis para optar el título de ingeniera ambiental UNALM. Lima Perú. 133 p.
9. Chapmann, H; Pratt, P. 1988. Método de análisis para suelos, plantas y agua. Editorial Trillas. México 196 p.
10. Decreto Legislativo N° 1278 que aprueba la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos 2017. Lima Perú.
11. Decreto Supremo N° 016-2012-AG que aprueba el Manejo de los Residuos Sólidos del Sector Agrario.
12. Di Rienzo, J; Macchiavelli, F; Casanoves, F. 2017. Modelos Lineales Mixtos Aplicaciones en InfoStat. Primera edición, 3.
13. Di Rienzo, J; Casanoves, F; Balzarini, M; Gonzalez, L; Tablada, M; Robledo, CW. (2008). InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 115
14. FAO (organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación). 2002 Los fertilizantes y su uso. Roma Italia. 87 p.
15. Ferré-Huguet, N; Schuhmacher1, M; Llobet, J; Domingo, JL. 2007. Metales pesados y salud. Barcelona, España.
16. Finck, A. 2009. Fertilizantes y Fertilización. Reverte, Barcelona, España. 434 p.
17. Flores, C; Dreifuss, W. 1972. Consideraciones técnicas preliminares para el mejor aprovechamiento económico de la melaza de caña de azúcar. Estudio elaborado por encargo de: central de cooperativas agrarias de producción azucarera del Perú (CECOAAP). Lima, Perú. 194 p.

18. Fuentes, J. 1999. El suelo y los fertilizantes. Editado por Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
19. FONCODES (Fondo de Cooperación para el Desarrollo Social). 2014. Manual técnico “Producción y uso de abonos orgánicos: biol, compost y humus”. Lima, Perú 43 p.
20. García, L. 2008. Uso de bacterias prebióticas en el ensilado de residuos de residuos de pescado. Tesis para optar el título de biólogo, UNALM. Lima Perú, 142 p.
21. Herrera, R. 2017. Elaboración de un abono líquido a partir de residuos de fresa (*Fragaria x ananassa*) por fermentación láctica. Tesis para optar el título de ingeniero ambiental, UNALM. Lima Perú, 90 p.
22. ICMSF (International Commission on Microbiological for Food). 1993. Segunda Edición. Vol.1 Part II. Editorial Acribia.
23. INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática). 2012. Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI), IV Censo Nacional Agropecuario. 47 p.
24. INIA (Instituto Nacional de Investigación agraria). 2008. Producción y uso del biol, 11 p.
25. Madrid, A; R. Madrid; Vicente, J.M. 1996. Fertilizantes. Primera edición Mundi Prensa, Madrid, España. 436 p.
26. Medina, A. 2013. Evaluación de la calidad de biol de segunda generación de estiércol del ovino producido a través de biodigestores. Tesis para optar el título de ingeniero ambiental, UNALM. Lima, Perú. 142 p.
27. Ministerio de agricultura, 2011. Biodigestores en el Perú, guía de principales experiencias desarrolladas en el Perú 12 p.

28. Ministerio De Agricultura Y Riego, 2015. Sector Pecuario en el Perú: Cuy. En línea: <http://minagri.gob.pe/portal/objetivos/40-sector-agrario/situacion-de-las-actividades-de-crianza-y-producci/300-cuyes?limitstart=0>.
29. Navarro, G; NAVARRO, S. 2014. Fertilizantes: Química y acción. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 241 p.
30. NCh 2880 (Norma chilena 2880). 2005. Compost clasificación y requerimientos, oficializada a través del Decreto Exento N° 89 de 22 de febrero del año. 7 p.
31. NTP 311.520 (Norma Técnica Peruana 311.520). 2015. Fertilizantes y acondicionadores o enmiendas del suelo. Clasificación 2ª Edición
32. NTP 311.521 (Norma Técnica Peruana 311.521). 2014. Fertilizantes y acondicionadores o enmiendas del suelo. Término y definiciones. 2ª Edición.
33. NTP 311.557 (Norma Técnica Peruana 311.557). 2013. Fertilizantes. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas o acondicionadores de suelo. 1ª Edición.
34. Ñaupari, J. 1996. Efecto de diferentes niveles de melaza de caña en el consumo de alimentos y balance de nitrógeno en alpacas y ovinos. Tesis para optar el título de ingeniero Zootecnista, UNALM. Lima, Perú. 61 p.
35. Parra, R. 2010. Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos. Grupo de investigación en química y tecnología de los alimentos. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.
36. Peralta, R. 2010. Determinación de parámetros óptimos en la producción de fast biol usando excretas de ganado lechero del establo de la UNALM. Tesis para optar el título de biólogo, UNALM. Lima, Perú. 120 p.

37. Ramírez, R; Rosas, U; Velázquez, G; Armando, Ulloa; Arce, R. 2011. Bacterias Lácticas: Importancia en los alimentos y sus efectos en la salud. Universidad Autónoma de Nayarit.
38. Real Decreto 506/2013, del 28 de junio del 2013, sobre productos fertilizantes. BOE España, núm. 164, p. 51119 a 51207 (89 p.).
39. Ricse, Y. 2013. Elaboración de biofertilizante acelerado vía fermentación homoláctica del residuo de rocoto. Tesis para optar el título de Ingeniero Ambiental, UNALM. Lima, Perú. 113 p.
40. Román, C. 2012. Tratamiento biológico de la cuyinaza a través de un proceso de fermentación homoláctica. Tesis para optar el título de Ingeniero Ambiental, UNALM. Lima, Perú. 207 p.
41. Scriban, R. 1985. Biotecnología. Traducción de la segunda edición por Dra. M. Hidalgo y Mondragón. París. Editorial El Manual Moderno, S.A. p. 543-582.
42. Shapiro, SS; Francia, RS. 1972. An approximate analysis of variance test for normality. Journal of the American Statistical Association. 67 p.
43. SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria). Decreto Supremo 004-2006-AG. En línea http://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/jer/SUB_SECC/DS_044-2006-AG.pdf
44. Sobrero, M; Ronco, A. 2004. Ensayo de Toxicidad Aguda con Semillas de Lechuga *Lactuca Sativa L.* Ensayos Toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización intercalibración, resultados y aplicaciones. IDRC, IMTA, Canadá. 202 p.
45. Varnero, M. 2011. Manual de Biogás. Gobierno de Chile, Ministerio de Energía. Santiago de Chile. 120 p.

46. Varnero M; Rojas C. y Orellana R. 2007. Índice de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante compostaje.
47. Vázquez, S; Suarez, H; Zapata, S. 2009. Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. Revista Chilena de nutrición.
48. Villagarcia, H; Aguirre, G. 2014. Manual de uso de fertilizantes para las condiciones del Perú. Fondo editorial - UNALM. Lima, Perú. 168 p.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1 Control de características del Biol I-G

Parámetros de pH, conductividad eléctrica y temperatura del Biol I-G

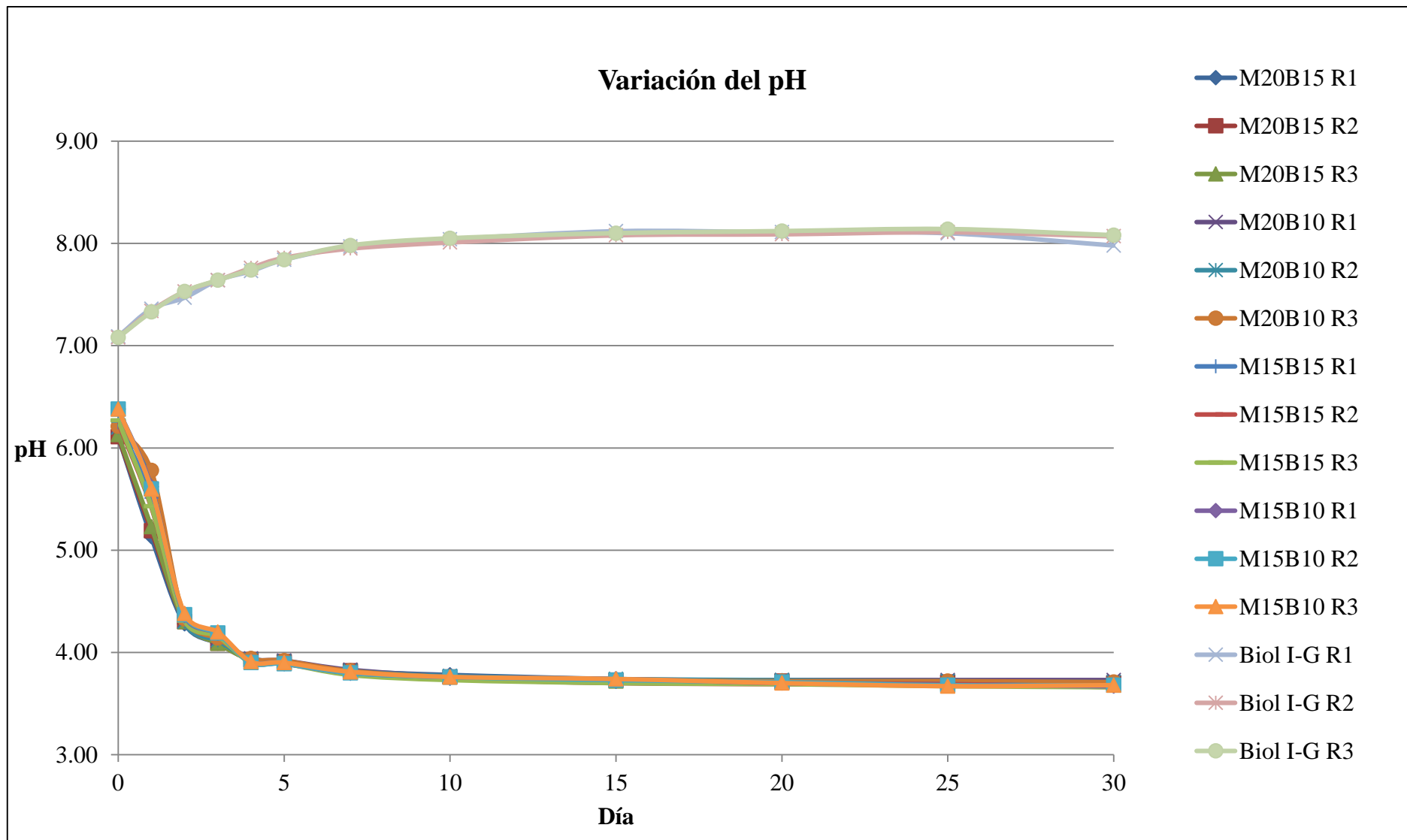
Semana	pH	CE en dS/m	T °C
Condiciones iniciales	7.07	8.3	21
semanas 1	7.07	8.85	24
semanas 2	7.06	9.01	23
semanas 3	7.08	9.23	25
semanas 4	7.04	9.45	22
semanas 5	7.1	9.34	24
semanas 6	7.08	9.23	23
semanas 7	7.07	9.16	23
semanas 8	7.12	9.31	24
semanas 9	7.1	9.42	26
Promedio	7.07	9.13	23.5

ANEXO 2 Producción del Biol II-G

Se tomaron la medición de las cuatro concentraciones diferentes para la elaboración del Biol II-G y Biol I-G

Registro de Valores de pH durante 30 días

Fecha	Día	Concentraciones														
		M20B15			M20B10			M15B15			M15B10			Biol I-G		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
10/11/2016	0	6,11	6,11	6,13	6,21	6,20	6,21	6,25	6,25	6,27	6,38	6,38	6,38	7,09	7,08	7,08
11/11/2016	1	5,13	5,19	5,23	5,72	5,72	5,78	5,51	5,42	5,43	5,62	5,60	5,60	7,36	7,34	7,33
12/11/2016	2	4,28	4,30	4,30	4,31	4,30	4,33	4,34	4,31	4,31	4,36	4,37	4,38	7,47	7,53	7,53
13/11/2016	3	4,09	4,09	4,09	4,14	4,12	4,14	4,18	4,17	4,16	4,19	4,19	4,20	7,64	7,64	7,64
14/11/2016	4	3,94	3,93	3,93	3,94	3,93	3,94	3,91	3,90	3,90	3,91	3,90	3,91	7,73	7,76	7,74
15/11/2016	5	3,91	3,91	3,90	3,92	3,91	3,92	3,90	3,89	3,89	3,89	3,89	3,90	7,84	7,86	7,84
17/11/2016	7	3,82	3,82	3,81	3,83	3,82	3,82	3,79	3,79	3,78	3,80	3,80	3,81	7,97	7,95	7,98
20/11/2016	10	3,78	3,76	3,76	3,77	3,77	3,76	3,74	3,74	3,73	3,76	3,76	3,76	8,04	8,01	8,05
25/11/2016	15	3,74	3,73	3,72	3,73	3,74	3,73	3,71	3,70	3,70	3,74	3,73	3,74	8,12	8,08	8,10
30/11/2016	20	3,72	3,72	3,71	3,73	3,73	3,72	3,70	3,69	3,69	3,70	3,71	3,70	8,11	8,09	8,12
05/12/2016	25	3,71	3,71	3,70	3,73	3,72	3,72	3,69	3,69	3,67	3,68	3,68	3,67	8,10	8,11	8,14
10/12/2016	30	3,70	3,70	3,70	3,73	3,71	3,71	3,67	3,66	3,66	3,67	3,68	3,68	7,98	8,07	8,08



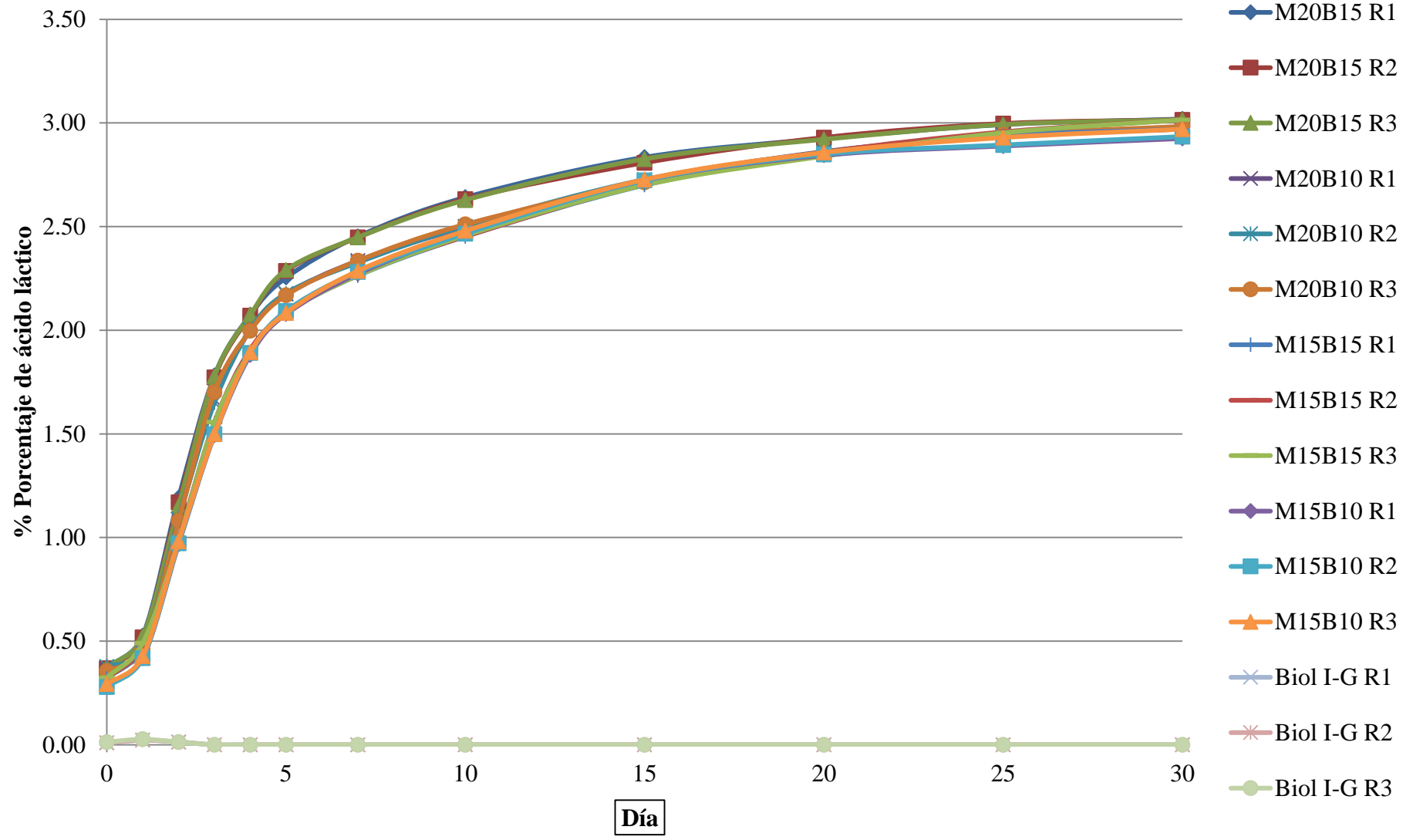
Registro del Gasto de NaOH durante 30 días

Fecha	Día	Gasto de NaOH según las concentraciones														
		M20B15			M20B10			M15B15			M15B10			Biol I-G		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
10/11/2016	0	0,83	0,82	0,83	0,80	0,84	0,79	0,71	0,71	0,72	0,63	0,62	0,65	0,02	0,02	0,03
11/11/2016	1	1,17	1,15	1,16	1,02	1,01	1,02	1,05	1,07	1,09	0,93	0,93	0,95	0,05	0,05	0,06
12/11/2016	2	2,65	2,60	2,56	2,42	2,42	2,40	2,18	2,21	2,19	2,15	2,16	2,18	0,03	0,03	0,03
13/11/2016	3	3,96	3,94	3,95	3,70	3,67	3,78	3,45	3,46	3,46	3,32	3,33	3,33	0,00	0,00	0,00
14/11/2016	4	4,61	4,60	4,61	4,45	4,45	4,44	4,20	4,24	4,21	4,18	4,20	4,21	0,00	0,00	0,00
15/11/2016	5	5,01	5,08	5,09	4,83	4,84	4,82	4,63	4,62	4,63	4,62	4,65	4,63	0,00	0,00	0,00
17/11/2016	7	5,45	5,44	5,44	5,19	5,17	5,19	5,03	5,05	5,03	5,05	5,07	5,08	0,00	0,00	0,00
20/11/2016	10	5,87	5,85	5,84	5,55	5,56	5,58	5,45	5,45	5,46	5,49	5,48	5,51	0,00	0,00	0,00
25/11/2016	15	6,30	6,24	6,28	6,05	6,06	6,03	6,00	6,01	6,00	6,05	6,05	6,06	0,00	0,00	0,00
30/11/2016	20	6,50	6,51	6,49	6,36	6,35	6,34	6,34	6,35	6,31	6,32	6,33	6,35	0,00	0,00	0,00
05/12/2016	25	6,65	6,66	6,65	6,54	6,53	6,54	6,53	6,57	6,56	6,42	6,43	6,51	0,00	0,00	0,00
10/12/2016	30	6,71	6,70	6,70	6,62	6,60	6,63	6,60	6,70	6,70	6,50	6,52	6,60	0,00	0,00	0,00

Cálculo del porcentaje de acidez titulable durante 30 días

Fecha	Día	% de acidez titulable Concentraciones														
		M20B15			M20B10			M15B15			M15B10			Biol I-G		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
10/11/2016	0	0,37	0,37	0,37	0,36	0,38	0,36	0,32	0,32	0,32	0,28	0,28	0,29	0,01	0,01	0,01
11/11/2016	1	0,53	0,52	0,52	0,46	0,45	0,46	0,47	0,48	0,49	0,42	0,42	0,43	0,02	0,02	0,03
12/11/2016	2	1,19	1,17	1,15	1,09	1,09	1,08	0,98	0,99	0,99	0,97	0,97	0,98	0,01	0,01	0,01
13/11/2016	3	1,78	1,77	1,78	1,67	1,65	1,70	1,55	1,56	1,56	1,49	1,50	1,50	0,00	0,00	0,00
14/11/2016	4	2,07	2,07	2,07	2,00	2,00	2,00	1,89	1,91	1,89	1,88	1,89	1,89	0,00	0,00	0,00
15/11/2016	5	2,25	2,29	2,29	2,17	2,18	2,17	2,08	2,08	2,08	2,08	2,09	2,08	0,00	0,00	0,00
17/11/2016	7	2,45	2,45	2,45	2,34	2,33	2,34	2,26	2,27	2,26	2,27	2,28	2,29	0,00	0,00	0,00
20/11/2016	10	2,64	2,63	2,63	2,50	2,50	2,51	2,45	2,45	2,46	2,47	2,47	2,48	0,00	0,00	0,00
25/11/2016	15	2,84	2,81	2,83	2,72	2,73	2,71	2,70	2,70	2,70	2,72	2,72	2,73	0,00	0,00	0,00
30/11/2016	20	2,93	2,93	2,92	2,86	2,86	2,85	2,85	2,86	2,84	2,84	2,85	2,86	0,00	0,00	0,00
05/12/2016	25	2,99	3,00	2,99	2,94	2,94	2,94	2,94	2,96	2,95	2,89	2,89	2,93	0,00	0,00	0,00
10/12/2016	30	3,02	3,02	3,02	2,98	2,97	2,98	2,97	3,02	3,02	2,93	2,93	2,97	0,00	0,00	0,00

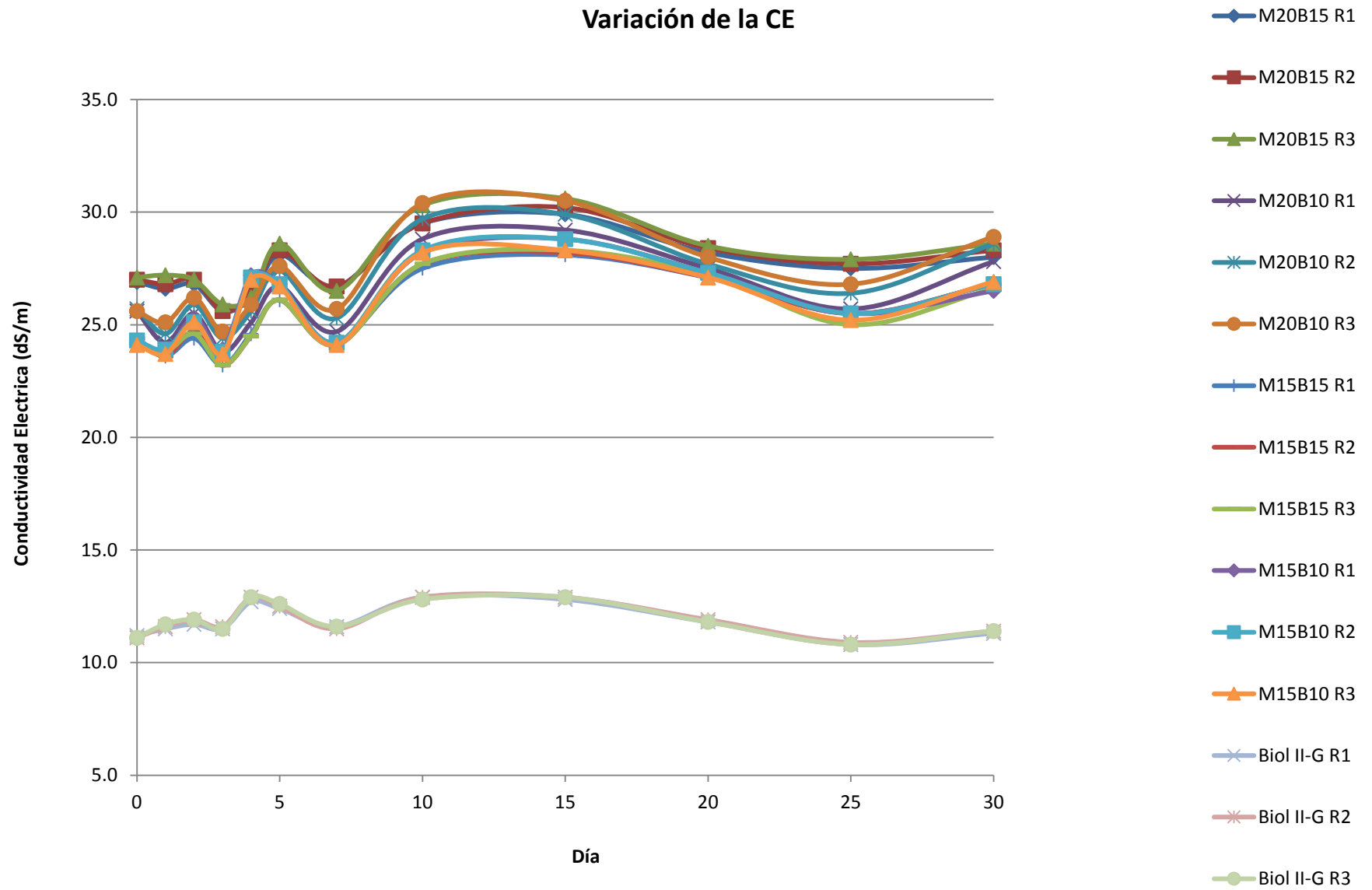
Variación del porcentaje de ácido láctico



Conductividad eléctrica durante 30 días

Fecha	Día	Conductividad eléctrica dS/m														
		M20B15			M20B10			M15B15			M15B10			Biol I-G		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
10/11/2016	0	26,9	27	27,1	25,6	25,7	25,6	24,3	24,4	24,2	24,2	24,3	24,1	11,2	11,1	11,1
11/11/2016	1	26,6	26,8	27,2	24,2	24,6	25,1	23,6	23,6	23,8	23,8	23,9	23,7	11,5	11,6	11,7
12/11/2016	2	26,8	27	27	25,5	25,9	26,2	24,4	24,7	24,6	25,3	25,1	25,1	11,7	11,9	11,9
13/11/2016	3	25,6	25,6	25,9	23,8	24,4	24,7	23,2	23,2	23,2	23,9	23,8	23,7	11,5	11,6	11,5
14/11/2016	4	26,2	26,3	26,2	25,1	25,6	25,9	24,6	24,5	24,5	27,2	27,1	27	12,7	12,9	12,9
15/11/2016	5	28,1	28,3	28,6	26,7	27,4	27,6	26,1	26,1	26,1	26,8	26,8	26,7	12,4	12,5	12,6
17/11/2016	7	26,7	26,7	26,5	24,7	25,3	25,7	24,2	24,1	24,1	24,2	24,2	24,1	11,6	11,5	11,6
20/11/2016	10	29,5	29,5	30,3	28,8	29,7	30,4	27,5	27,7	27,7	28,2	28,3	28,2	12,9	12,9	12,8
25/11/2016	15	29,9	30,2	30,6	29,2	29,9	30,5	28,1	28,2	28,3	28,8	28,8	28,3	12,8	12,9	12,9
30/11/2016	20	28,2	28,4	28,5	27,5	27,7	28	27,1	27,1	27,2	27,3	27,3	27,1	11,8	11,9	11,8
05/12/2016	25	27,5	27,7	27,9	25,7	26,4	26,8	25,5	25,5	25	25,5	25,5	25,2	10,8	10,9	10,8
10/12/2016	30	28	28,3	28,6	27,8	28,6	28,9	26,8	26,8	26,6	26,5	26,8	26,9	11,3	11,4	11,4

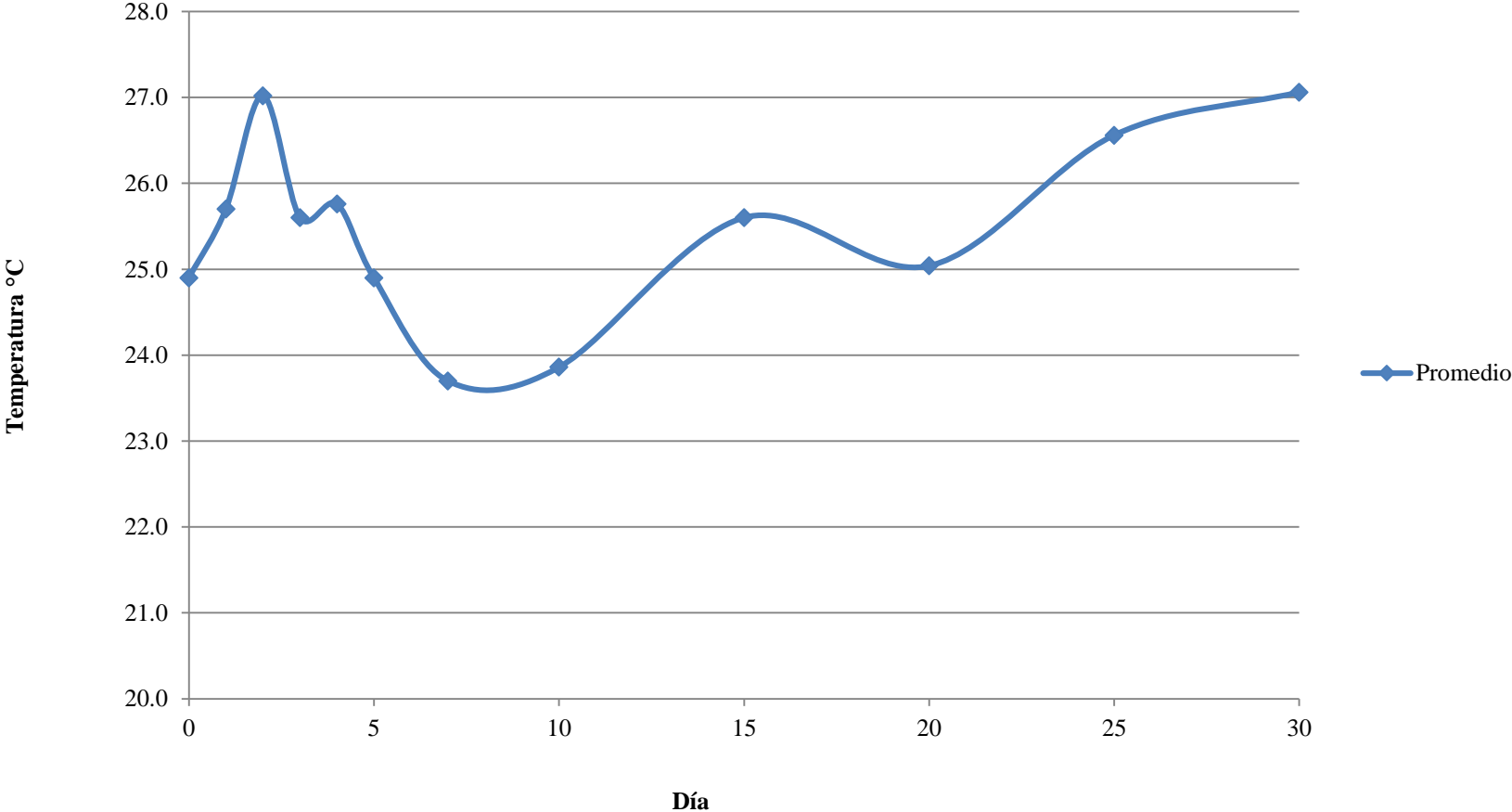
Variación de la CE



Valores de temperatura durante los 30 días de evaluación

Fecha	Día	Temperatura					
		M20B15	M20B10	M15B15	M15B10	Biol I-G	Promedio
10/11/2016	0	23,0	24,0	25,0	26,0	26,5	24.9
11/11/2016	1	24,0	25,0	26,0	26,5	27,0	25.7
12/11/2016	2	26,2	27,3	27,6	27,0	27,0	27.0
13/11/2016	3	25,0	25,0	25,0	26,0	27,0	25.6
14/11/2016	4	24,0	27,0	26,8	25,5	25,5	25.8
15/11/2016	5	23,0	24,0	25,0	26,0	26,5	24.9
17/11/2016	7	22,5	24,0	24,0	24,0	24,0	23.7
20/11/2016	10	22,5	23,5	24,1	24,2	25,0	23.9
25/11/2016	15	23,0	25,5	26,0	26,0	27,0	25.6
30/11/2016	20	24,0	24,0	25,0	26,0	27,0	25.0
05/12/2016	25	25,0	26,0	27,0	27,3	27,5	26.6
10/12/2016	30	25,5	27,2	27,3	27,3	28,0	27.1

Variación de la temperatura



ANEXO 3 Resultados del ensayo de fitotoxicidad en semillas de lechuga.

N° Semilla	BIOL I-G 100%						BIOL I-G 10%						BIOL I-G 1%						BIOL I-G 0.1%						BIOL I-G 0.01%						
	R1		R2		R3		R1		R2		R3		R1		R2		R3		R1		R2		R3		R1		R2		R3		
	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R
1	0	0	0	0	0	0	24	27	17	24	19	26	25	38	20	36	24	33	31	34	29	24	27	27	27	27	24	29	24	29	
2	0	0	0	0	0	0	14	24	25	29	18	25	22	35	20	29	22	30	18	30	23	24	25	26	20	32	29	28	19	24	
3	0	0	0	0	0	0	23	31	25	29	22	21	25	25	23	36	23	32	19	19	18	23	22	28	27	36	18	21	15	28	
4	0	0	0	0	0	0	24	25	23	30	14	20	30	34	26	40	21	36	23	26	29	32	18	18	18	35	30	34	26	25	
5	0	0	0	0	0	0	19	25	21	28	20	29	20	34	25	31	22	32	21	34	23	30	22	29	24	31	20	35	26	32	
6	0	0	0	0	0	0	19	27	22	35	19	24	24	36	23	30	25	26	23	26	23	32	18	23	21	35	34	27	21	33	
7	0	0	0	0	0	0	14	25	21	28	24	29	22	35	24	39	24	36	23	30	32	32	25	32	32	39	26	34	20	24	
8	0	0	0	0	0	0	16	23	22	31	20	23	24	31	22	28	24	37	21	31	26	31	22	32	23	31	27	34	24	27	
9	0	0	0	0	0	0	21	24	19	26	19	21	22	34	24	37	22	36	24	32	25	23	27	32	20	34	22	32	25	30	
10	0	0	0	0	0	0	17	20	15	23	16	25	22	31	30	28	25	37	22	27	19	28	24	27	21	30	26	32	22	31	
11	0	0	0	0	0	0	15	18	13	22	15	21	23	32	21	29	23	38	21	28	17	32	30	29	16	32	22	33	29	34	
12	0	0	0	0	0	0	22	31	19	27	31	30	25	29	25	36	24	28	22	27	27	30	24	28	29	39	33	36	20	32	
13	0	0	0	0	0	0	20	30	12	24	19	23	18	25	25	31	19	38	22	29	16	13	18	26	14	30	24	35	27	35	
14	0	0	0	0	0	0	15	21	14	23	17	26	22	32	18	30	24	39	18	27	28	32	32	36	24	34	34	32	22	33	
15	0	0	0	0	0	0	24	29	14	16	-	-	23	31	19	33	19	34	17	17	22	26	20	33	16	22	30	34	30	37	
16	0	0	0	0	0	0	22	23	28	22	-	-	25	38	20	30	21	33	19	22	28	13	21	31	25	24	11	18	28	35	
17	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	25	35	31	32	25	34	23	29	22	27	23	30	19	26	29	34	24	29	
18	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	22	30	-	-	-	-	20	26	26	30	18	19	25	27	14	18	19	25	
19	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	19	30	-	-	-	-	-	-	-	-	24	30	23	30	-	-	-	-	
20	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

N° Semilla	BIOL II-G 100%						BIOL II-G 10%						BIOL II-G 1%						BIOL II-G 0.1%						BIOL II-G 0.01%					
	R1		R2		R3		R1		R2		R3		R1		R2		R3		R1		R2		R3		R1		R2		R3	
	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	40	20	37	22	40	20	34	20	32	19	35	18	30	20	29	33	36
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	39	22	43	20	37	23	34	22	34	26	32	31	30	18	14	27	30
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	41	19	34	19	36	21	30	24	34	25	32	28	30	25	34	29	29
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	32	22	34	21	36	20	35	28	31	23	33	19	24	29	33	32	36
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	38	22	38	19	38	25	34	24	33	25	31	20	29	25	30	28	32
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	37	19	39	20	34	22	33	23	31	22	32	20	32	23	28	29	30
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	37	20	38	21	36	21	31	22	32	28	37	24	32	28	36	24	27
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	32	26	35	19	42	28	30	22	29	28	31	23	30	22	22	27	28
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	37	18	34	20	36	23	30	29	35	19	21	22	27	28	31	23	26
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	40	26	38	19	36	23	30	22	32	30	31	20	27	30	32	19	24
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	34	21	34	19	36	25	35	28	30	23	30	20	28	24	35	19	23
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	36	19	32	19	33	28	32	22	31	27	39	26	31	27	30	26	21
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	45	26	37	20	38	20	30	21	31	24	26	24	29	28	28	23	28
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	38	24	38	21	40	22	33	25	35	30	28	22	25	20	20	24	19
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	40	22	39	17	34	25	33	28	28	28	28	26	30	30	38	25	28
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	36	23	33	20	36	22	35	25	25	20	26	22	27	20	25	18	26
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	43	23	39	22	39	21	30	27	28	27	37	35	32	21	25	20	25
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	39	20	33	18	36	20	30	25	25	28	33	25	29	23	27	-	-
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	21	35	20	37	-	-	28	29	-	-	-	-	25	32	-	-
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

N° Semillas	BIOL III-G 100%						BIOL III-G 10%						BIOL III-G 1%						BIOL III-G 0.1%						BIOL III-G 0.01%					
	R1		R2		R3		R1		R2		R3		R1		R2		R3		R1		R2		R3		R1		R2		R3	
	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	26	7	23	8	24	20	30	19	34	12	30	18	28	21	28	19	33
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	25	8	26	7	15	25	34	21	32	13	29	15	22	16	27	20	27
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	21	7	27	9	22	19	30	17	27	14	27	22	26	21	30	21	26
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	26	8	25	6	24	21	32	17	30	23	29	22	27	18	29	23	28
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	29	12	29	9	28	20	28	15	30	18	31	15	22	16	23	22	27
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	29	8	24	6	17	20	30	19	36	24	29	19	30	17	31	22	31
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	24	5	23	8	24	15	32	14	31	16	29	24	26	19	31	21	24
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	25	7	25	7	25	20	30	18	32	18	31	23	29	18	30	22	27
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	19	8	23	7	24	24	34	17	32	19	29	21	26	16	27	21	24
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	28	5	23	8	19	22	28	18	28	22	31	18	26	18	24	19	29
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	25	8	20	6	24	21	30	19	28	26	36	20	21	18	25	20	28
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	25	7	26	7	25	28	35	20	32	16	34	19	27	19	26	20	30
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	27	10	19	5	21	18	31	18	32	22	29	18	28	20	26	20	32
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	29	8	23	8	20	20	31	19	30	25	27	19	31	18	25	23	32
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	31	8	20	6	24	25	36	20	30	19	28	15	23	20	30	18	32
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	24	7	20	6	16	19	35	23	33	16	30	16	24	19	29	22	29
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	20	-	-	7	21	21	31	20	28	13	28	19	29	22	24	19	29
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	24	-	-	-	-	21	35	22	28	-	-	20	24	16	26	16	29
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	24	28	-	-	-	-	15	24	17	23	21	26
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

N° Semillas	BIOL III-G 0.001%						Agua de Meza 100%					
	R1		R2		R3		R1		R2		R3	
	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H
1	24	30	22	31	26	28	24	30	29	30	19	31
2	22	27	17	28	25	31	29	29	20	17	34	32
3	21	24	21	33	25	24	26	33	32	33	16	27
4	24	29	23	28	25	28	26	30	32	32	22	32
5	21	28	23	35	20	29	27	28	22	26	28	30
6	25	27	21	31	19	29	18	27	20	29	22	27
7	25	26	24	29	23	29	33	30	24	35	31	35
8	27	31	21	29	22	27	38	35	28	33	20	29
9	26	26	23	31	22	27	30	29	22	26	20	30
10	24	30	17	30	24	30	28	32	30	30	27	32
11	24	24	17	21	19	26	17	19	27	32	24	32
12	17	23	20	32	28	28	18	18	32	35	35	31
13	22	28	25	33	24	30	23	34	20	30	24	24
14	28	32	25	28	18	24	23	24	24	30	36	33
15	25	32	21	30	22	25	30	25	31	30	24	32
16	24	28	22	32	18	26	20	20	29	22	34	30
17	20	28	22	30	22	27	22	26	20	29	18	18
18	23	26	22	21	24	30	20	23	23	31	22	20
19	22	31	20	28	19	26	24	28	22	31	24	24
20	19	24	25	34	-	-	-	-	-	-	-	-

ANEXO 4 Informe de análisis de laboratorio



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 : JOSÉ ISMAEL ZANABRIA AYCHO
PROCEDENCIA : LIMA/ CAÑETE/ FUNDO DON GERMÁN
MUESTRA DE : ESTIÉRCOL DE CUY
REFERENCIA : H.R. 56230
BOLETA : 13625
FECHA : 07/11/16

Nº LAB	CLAVES	N %	C %	Hd %
878		1.90	43.15	47.38



Dr. Sady García Bendeziú
Jefe de Laboratorio



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 : JOSÉ ISMAEL ZANABRIA AYCHO
PROCEDENCIA : LIMA/ CAÑETE/ FUNDO DON GERMAN
MUESTRA DE : BIOL
REFERENCIA : H.R. 56571
FECHA : 16/11/16

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
958		7.17	9.69	8.04	3.29	851.20	88.30	610.00

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
958		139.00	125.50	243.00	0.08	0.02	0.20

LAB	CLAVES	Fe Total mg/L	Cu Total mg/L	Zn Total mg/L	Mn Total mg/L	B Total mg/L
958		2.13	0.13	0.48	0.56	0.96



Sady García Bendezú
Sady García Bendezú
Jefe de Laboratorio



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 : JOSÉ ISMAEL ZANABRIA AYCHO
 PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
 MUESTRA DE : BIOL 2DA. GENERACIÓN
 REFERENCIA : H.R. 56991
 BOLETA : 13839
 FECHA : 19/12/16

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
1054		3.65	24.30	116.26	91.42	1988.00	118.96	6650.00

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
1054		1055.00	920.00	580.00	2.15	0.22	0.82

LAB	CLAVES	Fe Total mg/L	Cu Total mg/L	Zn Total mg/L	Mn Total mg/L	B Total mg/L
1054		29.80	1.30	3.00	2.80	5.81

Sady García Bendezi
 Jefe de Laboratorio



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 : JOSE ISMAEL ZANABRIA AYCHO
PROCEDENCIA : LIMA
MUESTRA DE : BIOL II - G
REFERENCIA : H.R. 63875
BOLETA : 1617
FECHA : 25/06/18

N° LAB	CLAVES	N mg/L
574		2674.00



Dr. Sady Garcia Bendezu
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



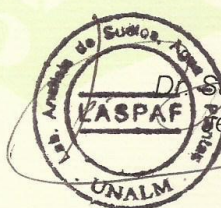
INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : JOSÉ ISMAEL ZANABRIA AYCHO
PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
MUESTRA DE : BIOL DE III GENERACIÓN
REFERENCIA : H.R. 57088
BOLETA : 13860
FECHA : 03/01/17

N° LAB	CLAVES	pH	C.E. al 10% dS/m	Sólidos Totales g/L	M.O. en Solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L
1083		3.66	37.80	359.40	338.90	33824.00	2824.00	7350.00

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
1083		1695.00	710.00	445.00	0.40	0.20	7.60

LAB	CLAVES	Fe Total mg/L	Cu Total mg/L	Zn Total mg/L	Mn Total mg/L	B Total mg/L
1083		37.00	0.95	2.70	2.45	5.37



Dr. Sandy 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



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



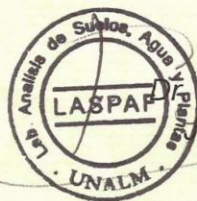
INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : JOSÉ ISMAEL ZANABRIA AYCHO
PROCEDENCIA : LIMA
MUESTRA DE : BIOL III G
REFERENCIA : H.R. 64734
BOLETA : 1843
FECHA : 07/09/18

N° LAB	CLAVES	Nitrógeno amoniacal mg/L	Nitrógeno nítrico mg/L	Nitrógeno orgánico mg/L
720		42672.00	27328.00	8288.00

Metodologías Empleadas:

- Nitrógeno Nítrico: Destilación con Aleación de Devarda.
- Nitrógeno Amoniacal: Destilación con Oxido de Magnesio.
- Nitrógeno Orgánico: Kjeldahl.



Sady García Bendezu
Jefe de Laboratorio



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



INFORME DE ANALISIS - ESPECIAL EN FERTILIZANTE

SOLICITANTE : JOSE ISMAEL ZANABRIA AYCHO
MUESTRA : NITRATO DE AMONIO
PROCEDENCIA : LIMA
REFERENCIA : H.R. 63882
BOLETA : 1618
FECHA : 04/07/2018

N° LAB	CLAVES	N %
067		33.00

Metodologías Empleadas:

- Nitrógeno Nítrico: Destilación con Aleación de Devarda



Sady García Bendezu
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 EN FERTILIZANTE

SOLICITANTE : JOSE ISMAEL ZANABRIA AYCHO
MUESTRA : NITRATO DE AMONIO
PROCEDENCIA : LIMA
REFERENCIA : H.R. 63882
BOLETA : 1618
FECHA : 04/07/2018

N° LAB	CLAVES	Cr ppm
067		2.57

Metodologías Empleadas:

- Cromo Total: Espectrofotometría de Absorción Atómica.


Sady García Bendeza
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

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



INFORME DE ENSAYO N° 1611625 - LMT

SOLICITANTE : JOSE ISMAEL ZANABRIA AYCHO

DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO

MUESTRA : BIOL DE ESTIERCOL DE CUY
1611625)

PROCEDENCIA : I. R. D. Cañete
TIPO DE ENVASE : Botella de plástico
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra x 01 und. x 1 000 mL. aprox.
ESTADO Y CONDICIÓN : En buen estado y cerrado
FECHA DE MUESTREO : 2016 - 11 - 07
FECHA DE RECEPCIÓN : 2016 - 11 - 07
FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 2016 - 11 - 07
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 2016 - 11 - 30

RESULTADOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Análisis Microbiológico	Muestra 1611625
¹ Enumeración de coliformes totales (NMP/g.)	11 x 10 ²
¹ Enumeración de coliformes fecales (NMP/g.)	43
¹ Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP/g.)	< 3
¹ Detección de <i>Salmonella</i> sp. en 25 g.	Ausencia

Nota: El valor < 3 indica ausencia de microorganismos en ensayo

Método:

¹ International 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 muestra proporcionada 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, 06 de diciembre de 2016

DRA. DORIS ZÚÑIGA DÁVILA

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

Teléfono: 614 7800 anexo 274

E-mail: lmt@lamolina.edu.pe



LABORATORIO DE ECOLOGIA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGIA "MARINO TABUSSO"

☐ (511) 6147800 anexo 274 - E-mail: lmt@lamolina.edu.pe
Apartado Postal 456 - Lima 12 - PERU



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

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



INFORME DE ENSAYO N° 1612704- LMT

SOLICITANTE : JOSÉ ISMAEL ZANABRIA AYCHO

DESCRIPCIÓN DEL OBJETO ENSAYADO

MUESTRA : BIOL DE SEGUNDA GENERACION
1612704)

PROCEDENCIA : UNALM
TIPO DE ENVASE : Botella de plástico
CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra x 01 und. x 1 000 mL. aprox.
ESTADO Y CONDICIÓN : En buen estado y cerrado
FECHA DE MUESTREO : 2016 - 12 - 09
FECHA DE RECEPCIÓN : 2016 - 12 - 09
FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 2016 - 12 - 09
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 2016 - 12 - 14

RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Análisis Microbiológico	Límite de detección	Muestra 1612704
¹ Enumeración de coliformes totales (NMP/mL)	< 3; 11 x 10 ² >	< 3
¹ Enumeración de coliformes fecales (NMP/mL)	< 3; 11 x 10 ² >	< 3
¹ Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP/mL)	< 3; 11 x 10 ² >	< 3
¹ Detección de <i>Salmonella</i> sp. en 25 mL.	Ausencia/Presencia	Ausencia

Métodos:

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

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, 20 de febrero 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 5 Análisis Estadístico

Análisis de varianza (ANOVA) con un intervalo de confianza de 95%

Evaluación de la calidad de Biol II-G producido a través de fermentación ácido láctica

Variable dependiente pH

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
12	-42.13	-41.73	26.07	0.01	0.93

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	3266388.17	<0.0001
Tratamiento	3	33.94	0.0001

Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento	Medias	E.E.			
20M10B-Lac70Biol I-G	3.72	4.1E-03	A		
20M15B-Lac65Biol I-G	3.70	4.1E-03		B	
15M10B-Lac75Biol I-G	3.68	4.1E-03			C
15M15B-Lac70Biol I-G	3.66	4.1E-03			D

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

Variable dependiente acidez láctica

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
12	-26.56	-26.17	18.28	0.02	0.78

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	305664.02	<0.0001
Tratamiento	3	9.61	0.0050

Hay diferencias entre tratamientos

Acidez Láctica - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento	Medias	E.E.			
20M15B-Lac65Biol I-G	3.02	0.01	A		
15M15B-Lac70Biol I-G	3.00	0.01	A	B	
20M10B-Lac70Biol I-G	2.98	0.01		B	C
15M10B-Lac75Biol I-G	2.94	0.01			C

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

Variable dependiente Conductividad Eléctrica

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2
12	19.97	20.36	-4.98	0.34	0.90

AIC y *BIC* menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	77515.15	<0.0001
Tratamiento	3	22.78	0.0003

CE - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento	Medias	E.E.	
20M10B-Lac70Biol I-G	28.43	0.20	A
20M15B-Lac65Biol I-G	28.30	0.20	A
15M15B-Lac70Biol I-G	26.73	0.20	B
15M10B-Lac75Biol I-G	26.73	0.20	B

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

Análisis estadístico para los resultados de fitotoxicidad de los Bioles I-G, II-G y III-G

Análisis para el Biol I-G

Se excluyó el Biol al 100 por ciento dado que no produjo ningún crecimiento.

Variable dependiente Hipocótilo

Medidas de ajuste del modelo

<u>N</u>	<u>AIC</u>	<u>BIC</u>	<u>logLik</u>	<u>Sigma</u>	<u>R2</u>	<u>0</u>
12	32.91	33.31	-11.46	0.77	0.96	

AIC y *BIC* menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	<u>numDF</u>	<u>F-value</u>	<u>p-value</u>
(Intercept)	1	17140.76	<0.0001
Biol I-G	3	59.21	<0.0001

Hipocótilo - Medias ajustadas y errores estándares para Biol I-G

LSD Fisher (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

<u>Dilución %</u>	<u>Medias</u>	<u>E.E.</u>			
1	33.03	0.44	A		
0.01	30.60	0.44		B	
0.1	27.47	0.44			C
10	25.27	0.44			D

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

Variable dependiente Raíz

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2
12	31.98	32.62	-7.99	0.10	0.83

AIC y *BIC* menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	6034.57	<0.0001
Biol I-G	3	178.18	<0.0001

Raíz - Medias ajustadas y errores estándares para Biol I-G

LSD Fisher (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Dilución %	Medias	E.E.	
1	23.73	0.19	A
0.01	23.63	0.85	A
0.1	22.93	0.76	A
10	19.40	0.06	B

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

Análisis para el Biol II-G

Se excluyó las diluciones al 100 y 10 por ciento dado que no produjo ningún crecimiento.

Variable dependiente Hipocótilo

Medidas de ajuste del modelo

<u>N</u>	<u>AIC</u>	<u>BIC</u>	<u>logLik</u>	<u>Sigma</u>	<u>R2</u>
9	25.85	25.02	-8.93	0.81	0.97

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	<u>numDF</u>	<u>F-value</u>	<u>p-value</u>
(Intercept)	1	14178.94	<0.0001
Biol II-G	2	85.87	<0.0001

Hipocótilo - Medias ajustadas y errores estándares para Biol.II.G

LSD Fisher (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

<u>Dilución %</u>	<u>Medias</u>	<u>E.E.</u>	
1	37.03	0.47	A
0.1	31.40	0.47	B
0.01	28.47	0.47	C

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

Variable dependiente Radícula

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
9	28.96	28.12	-10.48	1.05	0.81

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	4276.62	<0.0001
Biol II-G	2	13.17	0.0064

Raiz - Medias ajustadas y errores estándares para Biol II-G

LSD Fisher (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Dilución %	Medias	E.E.	
0.01	24.40	0.61	A
0.1	24.10	0.61	A
1	20.43	0.61	B

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

Análisis para el Biol III-G

Se excluyó las diluciones al 100 y 10 por ciento dado que no produjo ningún crecimiento.

Variable dependiente Hipocótilo

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2
12	41.70	42.10	-15.85	1.33	0.85

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	5087.64	<0.0001
Biol III-G	3	14.75	0.0013

Hipocótilo - Medias ajustadas y errores estándares para Biol III-G

LSD Fisher (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Dilución %	Medias	E.E.		
0.1	30.70	0.77	A	
0.001	28.33	0.77	A	B
0.01	27.20	0.77		B
1	23.60	0.77		C

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

Variable dependiente Radícula

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2
12	43.55	43.94	-16.77	1.50	0.95

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	1631.87	<0.0001
Biol III-G	3	48.69	<0.0001

Raíz - Medias ajustadas y errores estándares para Biol III-G

LSD Fisher (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Dilución %	Medias	E.E.	
0.001	22.40	0.86	A
0.1	19.50	0.86	B
0.01	19.23	0.86	B
1	8.67	0.86	C

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

ANEXO 6 Registro fotográfico



Fotografía 1: Fundo Don Germán ubicado en el Km 145.5 de la panamericana sur antigua, Distrito y Provincia de Cañete, Región Lima



Fotografía 2: Condición que se encontró el Biodigestor anaeróbico



Fotografía 3: Condición que se encontró la Cámara de Gas



Fotografía 4: Restauración de la Geomenbrana del biodigestor



Fotografía 5: Reparación de las tuberías de Biogás



Fotografía 6: Biodigestor restaurado al 100 por ciento



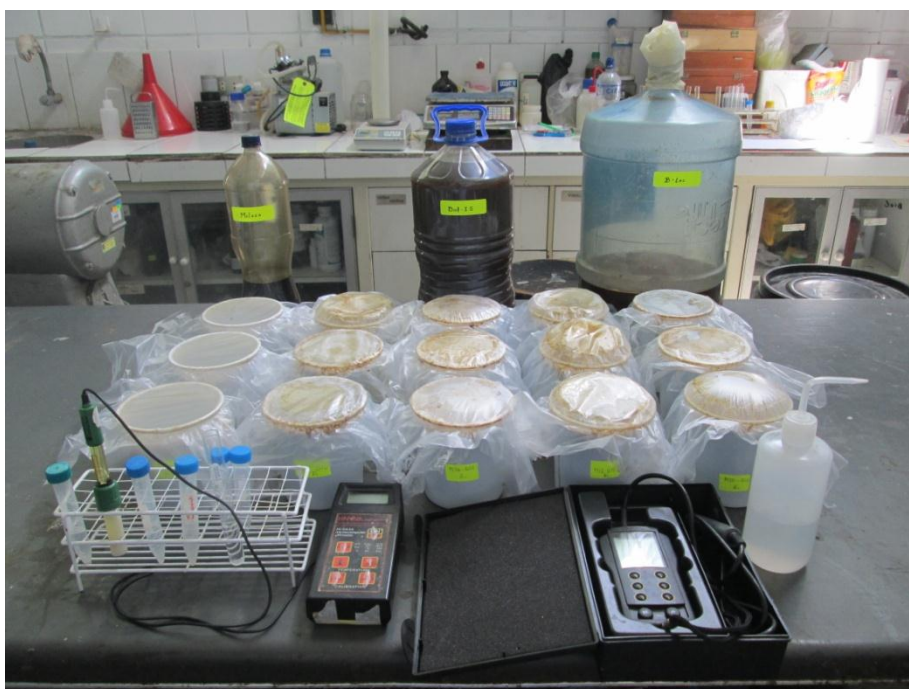
Fotografía 7: Alimentación de los biodigestores



Fotografía 8: Toma de muestra del Biol I-G.



Fotografía 9: Toma de muestra de biogás



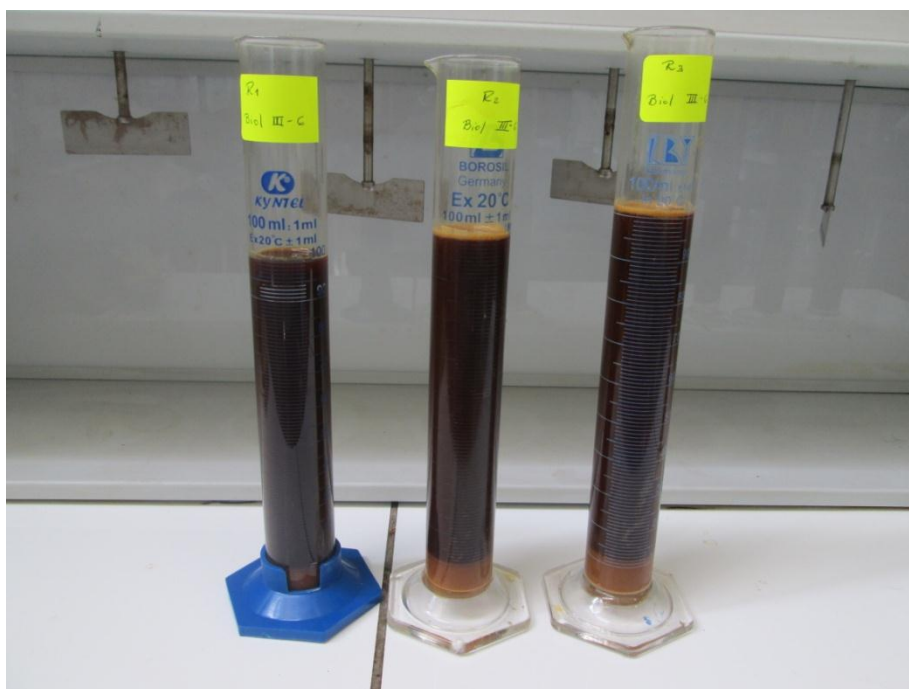
Fotografía 10: Elaboración del Biol II-G, insumos y equipos que se utilizó



Fotografía 11: Comportamiento similares entre las concentraciones diferentes



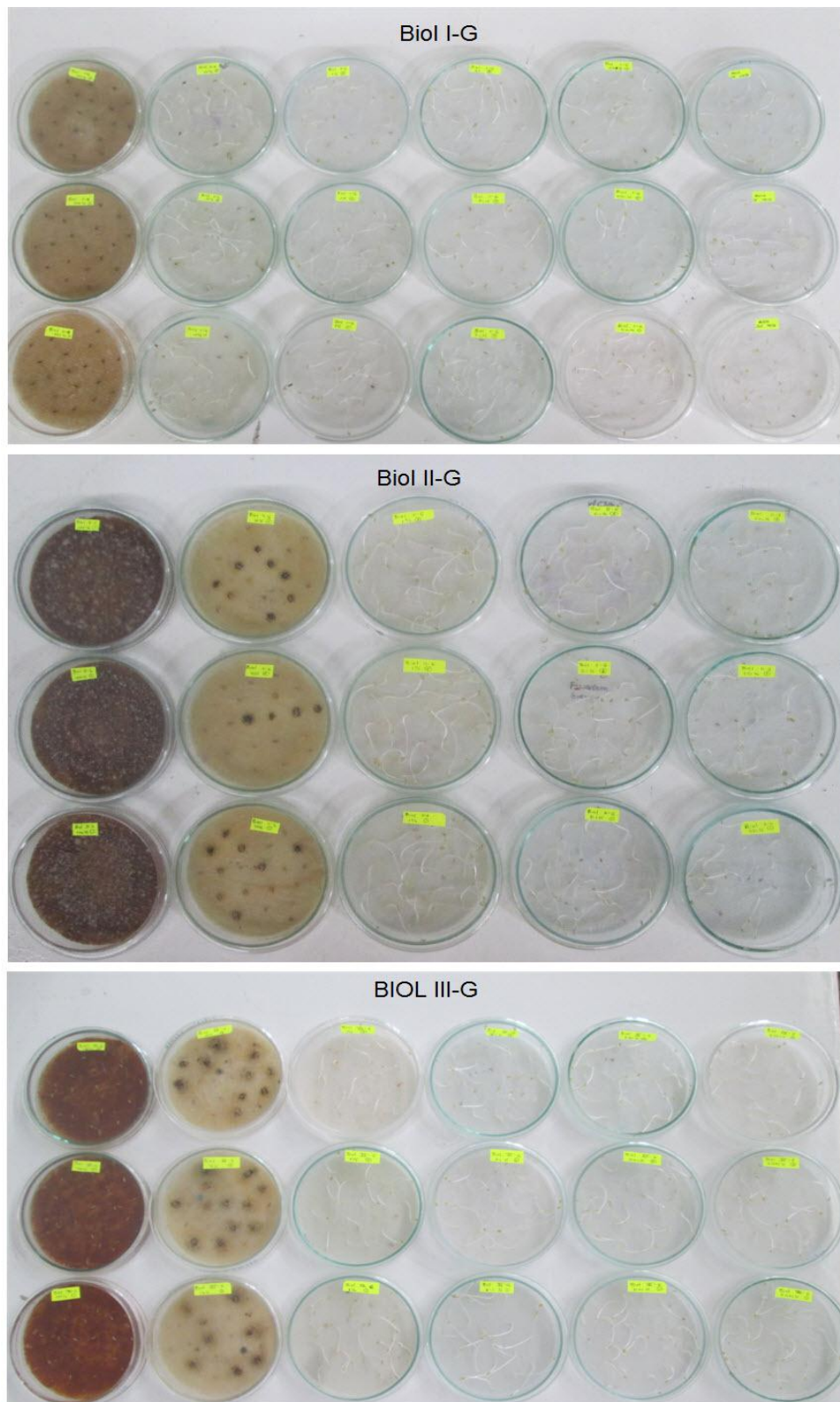
Fotografía 12: Laboratorio de biorremediación, determinación de acidez láctica



Fotografía 13: Mezcla de Biol II-G con nitrato de plata



Fotografía 14: Diluciones del Biol III-G para el ensayo de fitotoxicidad



Fotografía 15: Germinación de semillas de lechuga en los biofertilizantes líquidos