

**PRODUCCIÓN DE UN ABONO LÍQUIDO (BIOL) EN FORMA ARTESANAL Y
EVALUACIÓN DE SU CONTENIDO NUTRICIONAL**



XIMENA PRIETO SALAMANCA

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2018**

**PRODUCCIÓN DE UN ABONO LÍQUIDO (BIOL) EN FORMA ARTESANAL Y
EVALUACIÓN DE SU CONTENIDO NUTRICIONAL**

XIMENA PRIETO SALAMANCA

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Químico

Director

Ph.D. EDIER HUMBERTO PÉREZ

Asesor

MSc. CLAUDIA XIMENA MARTÍNEZ VALENCIA

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2018**

Nota de Aceptación

Director _____
Edier Humberto Pérez Ph.D.

Jurado _____
Paola A. Gómez Ph.D.

Jurado _____
Diana M. Chito Ph.D.

Fecha de sustentación: 12 de Abril del 2018.

DEDICATORIA

A Dios por ser mi guía, mi fuerza y fortaleza en mi caminar.

A mis padres por su amor, cariño, apoyo, dedicación, confianza.

A mis hermanas por ser mis compañeras y cómplices.

A mi tío y su familia por su apoyo.

A mis amigos por permitirme ser parte de sus vidas.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por la vida, por mi familia, por darme la oportunidad de emprender, superar y culminar esta meta.

A mis padres, Nancy Salamanca e Idelver Prieto por ser mi apoyo incondicional, mi ejemplo a seguir, porque siempre están para mí, brindándome su amor.

A mis hermanas Yesil, Adriana, Astrid, por su compañía y cariño.

A mi director, Dr. Edier Humberto Pérez por darme la oportunidad de emprender este proyecto, por su tiempo y dedicación en el desarrollo y culminación de este trabajo.

A mi asesora, MSc. Claudia Ximena Martínez, por guiarme acertadamente, por su tiempo y dedicación en el desarrollo y culminación de este trabajo.

A la MSc. Yenifer Tovar, por la orientación y colaboración en los análisis microbiológicos.

A los tecnólogos y personal de los laboratorios Geovanny Vivas, Juan Pablo, Yenny, Oscar Pabón, Mélida, Maribel Rosero, Clandia, Magaly, Betty, por su colaboración a lo largo de mi formación.

A mis compañeros del grupo de agroquímica por su amistad, apoyo, compañerismo en el desarrollo de este trabajo, un agradecimiento especial a James Muñoz, Álvaro Catuche, Alexander Jiménez, Andrés Parra, Leidy Conú, y Johana Samboni.

A mis amigos de carrera, especialmente a Daira Ipaz, Diana Correa, Hamilton Martínez, Diana Gómez, Ximena Correa, Eymi Ramírez, Alejandro Salamanca, Melisa Noriega, Yeny Guevara, Carolay Forero, Marcela Muñoz, Diana Agredo, a los cuales les agradezco todo el tiempo compartido, las enseñanzas, anécdotas, risas. ¡Los llevo en mi corazón!

A los chicos del barrio Yeny, Marta, Luis, Oscar, Loreni, Alexis, Arley, Armando, Carlitos, Paola, Brayán, Eric. A mi tío Luis H. Macías, Rocío Espinoza, Eder Rengifo, Keitel Macías, Libey lasso, por su apoyo.

A mis profesoras de secundaria Jackeline Muñoz, Liliana Tróchez, quienes me inculcaron esta bonita profesión, por sus enseñanzas y amistad.

Al departamento de química, a sus profesores, y a la unidad de análisis industriales.

Al departamento de Biología, especialmente a la profesora Msc. Nilsa Velazco por su colaboración en el préstamo de las instalaciones de los laboratorios, para los análisis microbiológicos.

A la Universidad del Cauca, al laboratorio de agroquímica.

A la Federación Campesina del Cauca (FCC), por su apoyo para la ejecución de este proyecto, especialmente a Arlen Segura, Cecilia Tobar, Miguel, Wilian y flia.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	13
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
2. OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.....	19
3.1 AGRICULTURA ORGÁNICA	19
3.2 ABONOS ORGÁNICOS	20
3.3 ABONOS LÍQUIDOS FERMENTADOS O FERTILIZANTES ORGÁNICOS FERMENTADOS.....	21
3.3.1 Estiércol.....	22
3.3.2 Suero.....	22
3.3.3 Melaza de caña	23
3.3.4 Pasto fermentado:	24
3.3.5 Microorganismos de montaña (MM)	24
3.3.6 Residuos orgánicos	24
3.4 SISTEMAS DE ELABORACIÓN DE BIOLES	25
3.4.1 Sistema aerobio.....	25
3.4.2 Sistema anaerobio.....	26
3.5 USO Y APLICACIÓN DE LOS BIOLES	27
3.5.1 Fertilización foliar.....	27
3.6 INOCUIDAD Y MICROBIOLOGÍA DE LOS BIOLES.....	28
3.6.1 <i>Escherichia coli</i>	28
3.6.2 Coliformes totales.....	29
3.6.3 Coliformes fecales	30
3.6.4 <i>Salmonella</i>	30
4. METODOLOGÍA	31
4.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA.....	31
4.1.1 Fase de campo:.....	31
4.1.2 Fase experimental	32
4.2 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE ELABORACIÓN Y PRODUCCIÓN DE LOS BIOLES	32

4.2.1 Sistema de Elaboración del Biol	32
4.3 TOMA DE MUESTRAS	33
4.3.1 Análisis físicos y químicos	33
4.4 SEGUIMIENTO DEL PROCESO FERMENTATIVO EN LA PRODUCCIÓN DE BIOLES	34
4.4.2 Temperatura.....	34
4.4.3 pH.....	34
4.4.4 Conductividad Eléctrica	35
4.4.5 Determinación del Carbono Orgánico.....	35
4.4.6 Nitrógeno total (NT):	35
4.4 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO NUTRICIONAL DE LOS BIOLES ..	36
4.5.1 Fósforo total	37
4.5.2 Potasio, calcio, magnesio, sodio, hierro, cobre, manganeso, zinc, y metales pesados mercurio, plomo y cromo	37
4.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS BIOLES OBTENIDOS	38
4.6.1 Coliformes totales y fecales.....	38
4.6.2 Salmonella y Shigella	39
4.7 FORMULACIÓN DEL BIOL	39
4.8 COSTO DE PRODUCCIÓN	39
4.9 DISEÑO EXPERIMENTAL	39
4.9.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	40
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS	41
5.1 SEGUIMIENTO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN.....	41
5.1.1 Temperatura.....	41
5.1.2 pH.....	42
5.1.3 Conductividad Eléctrica.	43
5.1.4 Carbono Orgánico	45
5.1.5 Nitrógeno Total.....	46
5.1.6 Relación carbono nitrógeno (C/N)	47
5.2 ANÁLISIS NUTRICIONAL DE LOS BIOLES.....	49
5.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	52
6. FORMULACIÓN DEL BIOL.	53
7. COSTO DE PRODUCCIÓN DEL BIOL.....	54

8. CONCLUSIONES.....	56
9. RECOMENDACIONES	58
10. BIBLIOGRAFÍA	59

LISTA DE ACRÓNIMOS

- ANOVA:** Análisis de Varianza
- C/N:** Relación carbono/nitrógeno
- Ca:** Calcio
- CaO:** Óxido de calcio
- CE:** Conductividad eléctrica
- Cd:** Cadmio
- CO:** Carbono orgánico
- Cr:** Cromo
- Cu:** Cobre
- DAP:** Fosfato diamónico
- EAA:** Espectroscopia de Absorción Atómica
- FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura
- Fe:** Hierro
- FCC:** Federación Campesina del Cauca
- FOF:** Fertilizante orgánico fermentado
- Hg:** Mercurio
- IFOAM:** Federación internacional de movimientos de agricultura orgánica
- IMTA:** Instituto mexicano de tecnología del agua
- K:** Potasio
- K₂O:** Óxido de potasio
- Mg:** Magnesio
- Mn:** Manganeseo
- MO:** Materia orgánica

- MgO:** Óxido de magnesio
- NMP:** Número más probable
- NT:** Nitrógeno total.
- NTC:** Norma técnica colombiana
- N:** Nitrógeno
- Na:** Sodio
- OCADE:** Organización de control ambiental y desarrollo empresarial
- OMS:** Organización mundial de la salud.
- P:** Fósforo
- P₂O₅:** Óxido de fósforo
- Pb:** Plomo
- T°:** Temperatura
- T1:** Tratamiento biol número 1
- T2:** Tratamiento biol número 2
- T3:** Tratamiento biol número 3
- T4:** Tratamiento biol número 4
- UFC:** Unidades formadoras de colonias
- Zn:** Zinc

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Composición química del estiércol y de residuos de cosecha de frutas.....	21
Tabla 2. Composición de la melaza de caña	23
Tabla 3. Requisitos microbiológicos.....	28
Tabla 4. Composición de los tratamientos.....	32
Tabla 5. Resultados de los análisis microbiológicos de T1 - T4	53
Tabla 6. Composición de los fertilizantes formulados y el fertilizante comercial	54
Tabla 7. Costo de producción para la elaboración del Biol.....	55

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Esquema de las reacciones de digestión anaeróbicas del material orgánico.....	26
Figura 2 Ubicación geográfica de la Planta de Procesamiento de Abonos orgánicos (Piendamó, Cauca).....	31
Figura 3. Elaboración, diseño y distribución de los tratamientos en el área de producción de Abonos Orgánicos (Federación Campesina del Cauca- Piendamó Cauca).....	33
Figura 4. Diagrama del diseño experimental con relación a la composición de los tratamientos de biol.....	40
Figura 5. Temperatura de los tratamientos T1 a T4 con respecto al tiempo	41
Figura 6. pH de los tratamientos T1 a T4 respecto al tiempo.....	42
Figura 7. Medida de conductividad eléctrica de los tratamientos con respecto al tiempo.....	44
Figura 8. Variación del contenido de CO respecto al tiempo de los tratamientos T1 a T4.....	45
Figura 9. Variación del contenido de NT respecto al tiempo de los tratamientos T1 a T4.....	47
Figura 10. Evolución de la relación C/N de los diferentes tratamientos respecto al tiempo.....	49
Figura 11. Contenido de Carbono de los tratamientos a los 20 y 30 días.....	50
Figura 12. Cantidad promedio de macro y micronutrientes, de los tratamientos T1 – T4 a los 20 y 30 días.....	51

RESUMEN

La agricultura convencional ha utilizado insumos sintéticos, los cuales aportan nutrientes a la planta para incrementar el rendimiento de sus cultivos y mejorar la producción; sin embargo, los monocultivos, el uso del suelo a largo plazo, y la aplicación excesiva de los fertilizantes ha ocasionado degradación, erosión y contaminación del recurso no renovable suelo. Por lo anterior, es importante buscar alternativas que minimicen los efectos negativos para la nutrición de los cultivos y el ambiente. Los abonos orgánicos son una alternativa para la nutrición de los cultivos, además de ser una opción amigable para el medio ambiente, incorporando residuos orgánicos, excesos de producción de sus cultivos, residuos agroindustriales, entre otros, para su elaboración. El objetivo de este trabajo fue elaborar abonos orgánicos líquidos artesanales (bioles), utilizando estiércol y residuos de cosecha; realizar el seguimiento al proceso de fermentación aplicando cuatro tratamientos: T1 (mango), T2 (banano), T3 (guayaba) y T4 (estiércol), a través de la evaluación de parámetros físicos y químicos tales como pH, T^o, relación C/N entre otros, y evaluar el contenido nutricional en N, P, K, Ca, Na y Mg del producto obtenido como base para investigaciones posteriores. Durante el proceso de fermentación para los 4 tratamientos, no se observó diferencias significativas en la temperatura, en cambio se evidenció una diferencia significativa en el pH entre T4 respecto a T1, T2 y T3, presentando T4 un valor superior durante y al final del proceso. El tratamiento que presentó mayor contenido de P, Ca, Mg, N, fue T4, y T1, T2 y T3 presentaron mayor contenido de K. En todos los tratamientos los análisis microbiológicos dieron como resultado ausencia de patógenos.

INTRODUCCIÓN

El uso de sustancias agrícolas sintéticas en suelos se registra desde la mitad del siglo XIX con las investigaciones realizadas por el químico alemán Justus Liebig, quien realizó muchos aportes a la agroquímica; consideró a los minerales como esenciales para las plantas, implemento el concepto de deficiencia para dar una explicación de la importancia a los rones en los cultivos, además fue el primero en formular una teoría sobre el nitrógeno en las plantas (Shortridge, 1978).

La revolución verde empieza en los años cincuenta del siglo XX, con el objetivo de generar altos porcentajes de productividad agrícola y solucionar la escasez de alimentos, utilizando para ello una producción extensiva y uso de alta tecnología de la época, ocasionando una reforma radical en las prácticas agrícolas tradicionales utilizadas hasta entonces, por lo que estos procesos fueron sustituidos por técnicas modernas, con el uso de máquinas e insumos agrícolas (Trovo *et al.*, 2010). Al obtener altas tasas de producción por el uso exagerado y sin control de fertilizantes químicos, plaguicidas, pesticidas, herbicidas, etc., y maquinarias; estas prácticas al pasar del tiempo han traído graves consecuencias a los suelos agrícolas, como la degradación, la erosión, reducción de la población microbiana y fauna del suelo, pérdida de fertilidad, transformando el suelo en simples sustratos de sustentación de plantas que exigen técnicas artificiales con costos cada vez más elevados, para obtener buena productividad (Briggs, 2009; Eliane, 2008).

Por lo anterior, la agricultura orgánica en sus sistemas de producción se limita a evitar, o sustituir ampliamente el uso de fertilizantes sintéticos, agroquímicos y aditivos para la alimentación animal (De Aquino & Linhares, 2007); debido a que sus sistemas de gestión promueven la mejora y conservación de la salud de los agroecosistemas, la biodiversidad, los ciclos y la actividad biológica (Herath & Wijekoon, 2013). En la actualidad se ha venido incorporando esta forma de agricultura a tal punto que han empezado a surgir los denominados “mercados orgánicos”, los cuales demandan productos cultivados con estas prácticas, pero que deben cumplir con las respectivas certificaciones de calidad y características de los productos orgánicos (De Aquino & Linhares, 2007; Suárez & Bonilla, 2009).

La Federación Campesina del Cauca (FCC) es una organización conformada por familias campesinas caucanas de diferentes municipios, dedicadas

principalmente al cultivo de café. La FCC incorpora tecnologías desarrolladas con base en un conocimiento propio adquirido y que son de fácil manejo en la elaboración de abonos orgánicos, biofertilizantes y algunos bioinsumos para fomentar el uso de sistemas más limpios de producción y amigables con el medio ambiente. Estas tecnologías involucran el aprovechamiento de residuos agrícolas, agroindustriales y son aplicadas en sus prácticas de cultivo obteniendo resultados satisfactorios en producción y calidad.

Pese a que la FCC cuenta con una metodología para la producción y elaboración de los abonos orgánicos, la implementación de las diferentes prácticas debe ser evaluada para tener conocimiento de la calidad de los insumos a utilizar y de los productos orgánicos generados con visión a la certificación y comercialización. Uno de los métodos es la elaboración de bioles a partir de residuos orgánicos de cosecha, residuos agroindustriales y microorganismos de montaña.

Por lo anterior con este trabajo se pretende evaluar la evolución y la calidad de abonos orgánicos líquidos obtenidos en forma artesanal en la planta de procesamiento de abonos orgánicos de la FCC, realizando el seguimiento de los procesos de acuerdo a Normatividad Técnica Colombiana mediante parámetros químicos y cuantificando la concentración de nutrientes en los diferentes productos.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las plantas como ser vivo necesitan nutrientes para su crecimiento y desarrollo, de estos depende la calidad y cantidad del cultivo, por lo que es necesario el uso de fertilizantes para restituir los nutrientes al suelo (Timilsena *et al.*, 2015). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), el consumo mundial de fertilizantes sobrepasará los 200 millones de toneladas en el 2018 (FAO, 2017).

Los fertilizantes químicos tienen costos elevados y presentan baja eficiencia ($\leq 50\%$) para ser absorbidos por los cultivos, el fertilizante no asimilado por la planta ejerce cambios sobre las características físicas y químicas del suelo, incrementando la acidificación, pérdida de las bases intercambiables (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+), incremento de micronutrientes (Fe^{3+} , Mn^{2+} , Cd), hasta niveles tóxicos para las plantas, erosión del suelo y pérdida de la diversidad biológica (Armenta *et al.*, 2010; Sadeghian, 2003). Su uso ha traído consecuencias negativas para el ambiente, con la liberación a la atmósfera de gases que contribuyen al efecto invernadero, además contaminación por escorrentía o drenaje de las aguas superficiales y subterráneas (Armenta *et al.*, 2010; Ito & Soto, 2006; Zhang *et al.*, 2017).

Sin embargo, se debe garantizar la producción de alimentos para la seguridad de los consumidores; es por ello que en la actualidad es importante buscar alternativas que reduzcan los costos de producción y los riesgos de contaminación al ambiente; siendo la agricultura orgánica una opción que pretende sostener y promover la salud del suelo, planta, animal, persona y planeta como una unidad indivisible (Céspedes, 2009; De Aquino & Linhares, 2007).

La agricultura orgánica presenta diversas tecnologías de fácil manejo, rendidoras para el cultivo, económicas y beneficiosas con el ámbito agrícola (Romero & Pereda, 2017). El uso de abonos orgánicos como fuente de nutrimentos se convierte en una opción amigable con el ambiente, incorporando residuos, especialmente los agrícolas, como también el exceso de producción de cultivos para su elaboración, los cuales constituyen una fuente importante de elementos indispensables para el desarrollo de la planta; además los abonos orgánicos mejoran las propiedades químicas y biológicas del suelo, aumentando su fertilidad y expandiendo el potencial productivo de

estos (Plazas & García, 2014). Teniendo en cuenta la importancia de los abonos orgánicos en la FCC se pretende tener un amplio conocimiento de la evolución del proceso de elaboración de los abonos orgánicos líquidos artesanales (bioles) y de la calidad del mismo, además de los costos de producción.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el proceso de fermentación de un abono líquido (biol) y determinar su contenido nutricional mediante técnicas químicas convencionales.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar un abono líquido (biol) utilizando como materia prima residuos agroindustriales y excesos de cosecha.
- Realizar el seguimiento del proceso fermentativo a través de análisis físicos y químicos.
- Realizar el análisis nutricional del producto fermentado obtenido (biol) según NTC 5167 (segunda actualización) y parámetros establecidos por la sociedad internacional de sustancias húmicas.
- Evaluar la inocuidad de los productos obtenidos y determinar su costo de producción, para estimar su aplicación en el cultivo de café.
- Formular un abono líquido de acuerdo al fertilizante comercial utilizado por la FCC para el cultivo de café.

3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

La necesidad de producir alimentos diariamente para aproximadamente seis mil millones (6.000.000.000) de personas sin acabar con los recursos naturales, es el más grande reto del siglo XXI a nivel mundial. Los pequeños productores, junto con los movimientos agroecológicos en los países andinos, han desarrollado funciones importantes en el sostenimiento y promoción de iniciativas para promover la seguridad alimentaria, y al mismo tiempo conservar la biodiversidad; la agricultura familiar se convierte en una de ellas, definida por la FAO como la actividad social y económica con mayor potencial, por medio de la cual se puede aumentar la oferta de alimentos, y al mismo tiempo disminuir el desempleo, la pobreza y la desnutrición de la población más vulnerable de las zonas rurales (UPRA, 2014).

3.1 AGRICULTURA ORGÁNICA

El Codex Alimentarius define la agricultura orgánica como un sistema de manejo de producción, que promueve y mejora la salud del ecosistema, incluyendo los ciclos biológicos y la actividad biológica del suelo (FAO *et al.*, 2003). La agricultura orgánica se identifica como una técnica, la cual se basa en el mínimo uso de insumos externos y evita los fertilizantes y plaguicidas sintéticos, por lo que utiliza métodos para reducir al mínimo la contaminación del aire, el suelo y el agua. La FAO y la OMS describen: “*La meta principal de la agricultura orgánica es lograr un nivel óptimo de la salud y productividad de las comunidades interdependientes de organismos del suelo, plantas, animales y personas*” (FAO/OMS, 2005). Según la IFOAM (Federación Internacional de Movimientos de Agricultura Orgánica), los principios básicos que rigen a esta agricultura son: el principio de la salud, el cual tiene como objetivo mantener y mejorar la salud de los ecosistemas y organismos, de los más pequeños en el suelo, hasta los seres humanos, produciendo alimentos nutritivos de alta calidad que contribuyan a la salud y bienestar de los consumidores; el principio de la ecología se fundamenta en trabajar con materiales que puedan ser utilizados de nuevo y materias primas recicladas de las fincas o de otro lugar; principio de la equidad caracterizado por la equidad, respeto y justicia, entre las personas que se involucran directa e indirectamente en los procesos de la agricultura orgánica (agricultores, trabajadores, procesadores, distribuidores, comerciantes y consumidores), así como también con los animales, los recursos naturales y ambientales, que se

utilicen para la producción, distribución y comercio; y el principio de cuidado, en el cual se establece la precaución y la responsabilidad en el desarrollo de opciones tecnológicas en la agricultura orgánica, por lo que se considera que los estudios científicos deben ser necesarios para asegurar que la producción de los productos orgánicos sean saludables, seguros y ecológicos (Calderón, 2006; Luttkholt, 2007).

Este tipo de agricultura ha sido aplicada a una variedad de cultivos y de plantas superiores, entre ellas el café, que requiere 16 o más elementos que se consideran esenciales para su crecimiento (N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cl, Cu, Fe, Mn, Zn, Mo, C, H, O) (Sadeghian, 2008); teniendo en cuenta que los requerimientos nutricionales del café varían según la etapa del cultivo (etapa de germinación, etapa de almácigo, crecimiento vegetativo) y la fertilización debe comenzar a partir del primero o segundo mes después de la siembra, y reiterar, cada cuatro meses, considerando la necesidad del nutriente por la planta; generalmente para esta fertilización se utilizan fertilizantes edáficos orgánicos, en estado sólido, los cuales mejoran las propiedades físicas de los suelos y sus estructura. Como complemento a este tipo de fertilización, es importante realizar la fertilización foliar con fertilizantes líquidos que conllevan a la absorción de los nutrientes (Sadeghian, 2008) y contribuyen en la etapa de floración.

3.2 ABONOS ORGÁNICOS

Los abonos orgánicos son sustancias o materiales benéficos para el suelo y la planta, resultantes de la descomposición natural de la materia orgánica de origen animal, vegetal o mixto por acción de los microorganismos presentes en el medio (Portocarrero & Orozco, 2014; Ramos & Terry, 2014). Según el efecto en la nutrición vegetal, los abonos orgánicos pueden ser fertilizantes o acondicionadores del suelo; los fertilizantes tienen un efecto directo, al ser fuente de nutrimentos disponibles rápidamente para las plantas; los acondicionadores al aplicarse al suelo, estimulan el crecimiento de las plantas de manera indirecta, mejorando sus propiedades físicas (Alvarez *et al.*, 2006).

Los abonos orgánicos pueden clasificarse de muchas formas, una de ellas es según su estado físico: sólido o líquido; entre los sólidos se encuentran residuos vegetales, residuos de animales y coberturas; y en los líquidos están los efluentes: de pulpa de café, residuos de origen animal u otros residuos líquidos, té de compost, ácidos húmicos, té de estiércol, extracto de algas y

bioles (Ramos & Terry, 2014). El proceso de elaboración de abonos orgánicos debe ser controlado, para obtener un producto estable y de buena calidad, y este a su vez puede ser aeróbico o anaerobio (Ramos & Terry, 2014).

3.3 ABONOS LÍQUIDOS FERMENTADOS O FERTILIZANTES ORGÁNICOS FERMENTADOS

Se define como abonos líquidos fermentados, fertilizantes orgánicos fermentados (FOF), biofertilizantes, biofermentos o bioles a las sustancias que además de su contenido nutricional (macronutrientes y micronutrientes), contienen microorganismos vivos (Yilmaz & Sönmez, 2017; Criollo *et al.*, 2011), generalmente se preparan a partir de fermentaciones de materias orgánicas (Herazo & Morelo, 2008). A diferencia de la fertilización mineral, los fertilizantes orgánicos estimulan los procesos microbianos del suelo después de su aplicación a corto y largo plazo, aumentando la biodiversidad, y mejorando la fertilidad del suelo (Canfora *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2015).

Las principales materias primas que se utilizan para la elaboración de bioles son: estiércol, suero o leche cruda, pasto fermentado, melaza o jugo de caña, microorganismos de montaña, residuos orgánicos vegetales (residuos de cosecha de frutas, de café, etc); debido a que estas aportan nutrientes como N, P, K, y microorganismos ruminales y lácteos (Ito & Soto, 2006; Suárez & Bonilla, 2009).

En la Tabla 1, se presenta la composición química del estiércol y de residuos de cosecha de frutas.

Tabla 1. Composición química del estiércol y de residuos de cosecha de frutas, por 100 g de peso (ICBF, 2015; Tapia, 2007).

Parámetro	unidad	Material Orgánico			
		Mango	Banano	Guayaba	Estiércol
*N	%	0.06	0.24	0.14	0.29
P	mg	21.0	27.0	33.0	74.3
K	mg	382.0	328.0	337.0	83.0
Ca	mg	15.0	8.0	17.0	249.7
Mg	mg	24.0	29.0	12.0	78.4

*El % de N se obtuvo de los valores de proteína, utilizando el factor de conversión de 6.25 (ICBF, 2015).

3.3.1 Estiércol

Dentro de la economía de la alimentación humana se encuentra los rumiantes, y entre estos están animales domésticos como las vacas, ovejas y cabras. Según Peralta *et al.* (2016), aproximadamente una vaca lechera de 600 kg de peso produce 18 - 300 kg de estiércol total al año y un vacuno de carne de 350 kg de peso produce 10 - 950 kg/año.

Los animales excretan al ambiente entre 60 y 80% del nitrógeno (N) y el fósforo (P) que ingieren, a través de la orina y las heces. El estiércol de ganado ocasiona problemas ambientales como contaminación de aguas subterráneas causada por nitratos y aguas superficiales (eutrofización); contaminación del aire por amonio, metano y malos olores (Peralta *et al.*, 2016).

Por lo anterior, es importante implementar técnicas y tratamientos para el uso y aprovechamiento de estos residuos. En la elaboración de abonos orgánicos el uso de estiércol es común, por lo que en la técnica del compostaje el estiércol es madurado, ayudando a la formación de un material pre-humificado fácilmente mineralizable y con importante carga bacteriana beneficiosa; otra técnica es el aprovechamiento del estiércol vacuno en la producción de abonos líquidos o bioabonos, aportando nutrimentos importantes para los cultivos y el suelo, además de microorganismos (Ito & Soto, 2006; Peralta *et al.*, 2016).

3.3.2 Suero

El lactosuero, suero lácteo o suero de queso es un derivado de la leche obtenido de la coagulación de la caseína, mediante la acción de enzimas coagulantes de origen animal, vegetal o microbiano. Según Valencia & Ramirez (2009), el suero representa aproximadamente 90% del volumen de la leche, el cual contiene la mayor parte de los compuestos hidrosolubles; su composición varía dependiendo del origen de la leche y el tipo de queso elaborado. Teniendo en cuenta lo anterior, el contenido aproximado es de 93.1% de agua, 4.9% de lactosa, 0.9% de proteína cruda, 0.6% de cenizas (minerales), 0.3% de grasa, 0.2% de ácido láctico; alrededor del 70% de la proteína cruda que se encuentra en el suero, corresponden a proteínas con un valor nutritivo superior al de la caseína, como son β -lactoglobulina, α -lactoglobulina (Gordón & Yambay, 2013).

3.3.3 Melaza de caña

La Norma Técnica Colombiana NTC 587 define como miel fina o melaza (no cristizable), al jarabe o líquido denso y viscoso de la masa cocida al final, y de la cual no es posible cristalizar más azúcar por métodos usuales.

Esta, es una mezcla compleja, que contiene sacarosa, azúcares y otros compuestos solubles en álcali que normalmente están presentes en el jugo de caña localizado; a continuación, en la Tabla 2, se presenta la composición más detallada de melaza de caña (Fajardo & Sarmiento, 2007).

Tabla 2. Composición de la melaza de caña de azúcar (Fajardo & Sarmiento, 2007)

COMPONENTES	CONSTITUYENTES	CONTENIDO (% p/p)
Mayores	Materia seca	78%
	Proteínas	3%
	Sacarosa	60-63%
	Azúcares reductores	3-5%
	Sustancias disueltas (diferentes azúcares)	4-8%
	Agua	16%
	Grasas	0.40%
	Cenizas	9%
Minerales	Ca	0.74%
	Mg	0.35%
	P	0.08%
	K	3.67%
Aminoácidos	Glicina	0.10%
	Leucina	0.01%
	Lisina	0.01%
	Treonina	0.06%
	Valina	0.02%
Vitaminas	Niacina	48.86 ppm
	Ácido pantoténico	42.90 ppm
	Piridoxina	44 ppm
	Riboflavina	4.40 ppm
	Tiamina	0.88 ppm

La melaza es fuente de energía para los microorganismos que descomponen los materiales orgánicos en el proceso de fermentación; favorece la

multiplicación de la actividad biológica; es buena fuente de potasio, calcio, magnesio etc. (Pymerrural & Pronagro, 2011).

3.3.4 Pasto fermentado:

El pasto es un residuo común en las fincas, por lo que es necesario darle un adecuado aprovechamiento; una opción, es utilizarlo como ingrediente en la elaboración de abonos. Generalmente para la elaboración de abonos orgánicos líquidos se utiliza pasto fermentado.

El pasto fermentado es fuente de lignina que al ser degradada deja disponibles los carbohidratos, para su obtención se utiliza microorganismos de montaña, melaza, harina y pasto picado, posteriormente se suministra condiciones anaerobias (Segura *et al.*, 2008).

3.3.5 Microorganismos de montaña (MM)

En los años 80 el Dr. Teruo Higa desarrolló la tecnología de microorganismos para la agricultura (Chiari *et al.*, 2015). Los microorganismos de montaña son un cultivo mixto líquido de microorganismos benéficos (*Rhodopseudomonas*, *Lactobacillus*, *Sacharomyces*, actinomicetos y hongos fermentadores), constituidos por colonias de hongos, bacterias y levaduras benéficas que se encuentran de forma natural en distintos ecosistemas (Suchini, 2012), a los cuales no se les realiza modificaciones genéticas, y se relacionan de forma simbiótica, lo cual ha proporcionado efectos positivos para un ambiente en equilibrio (Campo *et al.*, 2014). Las funciones de los MM son: a) descomponer la materia orgánica, b) reciclar los nutrientes para las plantas, c) fijar el nitrógeno en el suelo, d) degradar las sustancias tóxicas (pesticidas) y e) producir sustancias y componentes naturales que mejoren las propiedades del suelo (Chiari *et al.*, 2015).

3.3.6 Residuos orgánicos

Los residuos orgánicos son compuestos que contienen carbono de origen biológico (Franzluebbbers, 2005); se encuentran en materiales procedentes de actividades como la agricultura, ganadería, mataderos, residuos forestales, domésticos, lodos de aguas residuales, abarcando también a los originados en las industrias agroalimentarias y afines (OCADE, 2007).

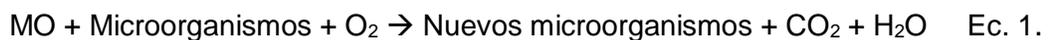
- **Residuos agrícolas:** restos de cosechas y derivados, siendo los más abundantes y dispersos, de difícil control (OCADE, 2007).
- **Residuos de cosecha:** Son materiales orgánicos que desde la perspectiva comercial carecen de valor, no obstante, conservan componentes nutritivos y contenido energético que puede ser utilizados para la elaboración de abonos orgánicos (Franzluebbers, 2005).
- **Residuos ganaderos de cría:** en este grupo están los excrementos, camas y lechos (OCADE, 2007).
- **Residuos forestales:** biomasa forestal residual, restos de poda; este material leñoso corresponde principalmente a ramas, hojas y secciones de diámetro menor del tronco (Díaz de Santos *et al.*, 2009).

3.4 SISTEMAS DE ELABORACIÓN DE BIOLES.

Los sistemas aerobios y anaerobios constituyen las dos grandes alternativas de depuración biológica de aguas residuales y residuos orgánicos fermentables; el hecho de no necesitar aireación y la generación de biogás que se puede utilizar con finalidades energéticas hacen que la digestión anaerobia resulte económicamente más favorable (Lorenzo & Obaya, 2005).

3.4.1 Sistema aerobio

En un sistema aerobio la asimilación de la materia orgánica biodegradable se puede representar en la ecuación 1:



Los tratamientos aeróbicos se pueden clasificar en tratamientos con biomasa suspendida, por ejemplo, aquellos que utilizan lodos activados y lagunas aireadas, y tratamientos con biomasa fija que son aquellos que trabajan los biofiltros y los contactores (Vega de Kuyper, 1999).

Estos sistemas son utilizados generalmente en plantas de tratamiento biológico, donde la degradación aerobia normalmente se lleva a cabo con

múltiples organismos que pueden trabajar de forma independiente y de forma paralela (Levin & Gealt, 1998).

3.4.2 Sistema anaerobio

La digestión anaerobia es un proceso biológico que en ausencia de oxígeno y mediante la acción de microorganismos, transforma y descompone la materia orgánica contenida en un sustrato, en biogás y en fertilizante orgánico (Martí, 2006).

El proceso de digestión o fermentación anaeróbica se lleva a cabo por medio de cuatro etapas (Bouallagui *et al.*, 2005; Martí, 2006):

- Hidrólisis
- Etapa fermentativa o acidogénica
- Etapa acetogénica
- Etapa metanogénica

En la Figura 1 se presenta las fases del proceso de digestión anaeróbica a partir de la materia orgánica compleja, pasando por la acidogénesis y finalizando con la metanogénesis (Bouallagui *et al.*, 2005).

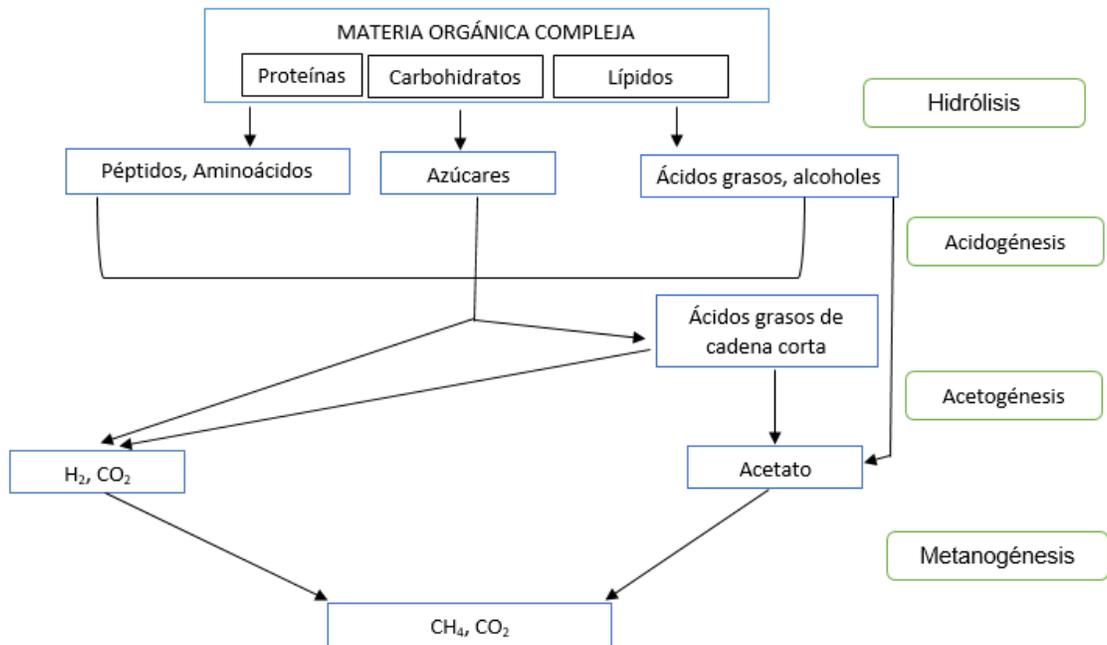


Figura 1. Esquema de las reacciones de digestión anaeróbicas del material orgánico.

La primera etapa consiste en la hidrólisis de la materia orgánica polimérica (proteínas, carbohidratos, lípidos) a compuestos solubles o monómeros (aminoácidos, azúcares y ácidos grasos de cadena larga) por la acción de enzimas extracelulares producidas por los microorganismos hidrolíticos, proporcionando sustratos orgánicos para la digestión anaerobia, ya que los microorganismos únicamente pueden utilizar materia orgánica soluble, la cual puede atravesar su pared celular.

En la etapa fermentativa o acidogénica se produce la fermentación de las moléculas orgánicas solubles en compuestos que pueden ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas; los microorganismos asociados a la degradación de la glucosa en ácido butírico, ácido acético, CO₂ y H₂ pertenecen al género *Clostridium* (Martí, 2006)

En la fermentación de aminoácidos se obtienen como productos principales ácidos grasos de cadena corta, succínico, aminovalérico y H₂; las bacterias responsables de este proceso son las bacterias proteolíticas (*Clostridium*, *Peptococcus* y *Bacteroides*).

En la etapa acetogénica productos como etanol, ácidos grasos volátiles (butírico, propiónico, etc) y algunos compuestos aromáticos, deben ser transformados por bacterias acetogénicas (*Syntrophomonas wolfei* y *Syntrophobacter wolini*) en productos más sencillos (acetato y H₂), para que puedan ser metabolizados por los organismos metanogénicos. Por último, en la etapa metanogénica los microorganismos metanogénicos (Archaea, hidrogenotróficos, acetoclásticos) completan el proceso de digestión anaeróbica mediante la formación de metano a partir de sustratos mono o dicarbonados (H₂/CO₂, formato, metanol y algunas metilaminas) (Martí, 2006).

3.5 USO Y APLICACIÓN DE LOS BIOLES

Por su estado, solubilidad y contenido nutricional los bioles pueden ser utilizados para un mejor aprovechamiento en la fertilización foliar.

3.5.1 Fertilización foliar

La práctica de fertilización foliar tiene sus inicios desde la época Babilónica, sin embargo, es reportada en la literatura en 1844. Se basa en la aplicación

de una solución nutritiva al follaje de las plantas; es utilizada como complemento de la fertilización edáfica, para suplir las necesidades nutricionales de las plantas. (Santos & Manjarrez, 1999).

El proceso de fertilización foliar se basa en la absorción de nutrimentos sobre la superficie de la hoja, por medio de la aspersion de gotas muy finas de una solución acuosa que lleva en cantidades adecuadas la concentración de nutrientes; el transporte de iones a través de la membrana de la célula, es un proceso activo que es mediado a través de la energía de respiración y la fotosíntesis (Santos & Manjarrez, 1999).

3.6 INOCUIDAD Y MICROBIOLOGÍA DE LOS BIOLES

Los abonos orgánicos presentan como principal riesgo biológico la presencia de microorganismos patógenos (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, etc.). La NTC 5167, 2011 (segunda actualización) establece los siguientes niveles máximos de patógenos (Tabla 3):

Tabla 3. Requisitos microbiológicos en abonos orgánicos.

Patógeno	Concentración, cantidad o NMP
<i>Salmonella sp</i>	Ausente en 25 g
<i>Coliformes totales</i>	< 1000 NMP o UFC/g ó mL
<i>Escherichia coli</i> y <i>Shigella</i>	< 1,000 NMP/g *

*Ito & Soto, 2006

Donde: NMP (número más probable); UFC (unidades formadoras de colonias)

3.6.1 *Escherichia coli*.

Escherichia coli es una bacteria gram negativa de la familia de las enterobacterias, se puede clasificar en tres grupos: 1) organismos que habitan normalmente en el tracto gastrointestinal pero no causan ninguna enfermedad; 2) cepas que causan enfermedad intestinal diarreica (*E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregante (EAEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) y *E. coli* difusamente adherente (DAEC)); y 3) cepas que usualmente causan enfermedades fuera del tracto intestinal (agrupadas bajo el término *E. coli* o ExPEC patógeno extraintestinal) (Poolman, 2017).

Escherichia coli es indicador común de contaminación fecal en los sistemas acuáticos, y en muchas ocasiones transmitido por los alimentos, causando enfermedades en la población que los consume. La contaminación en los alimentos se puede presentar en la pre-cosecha a través de la fertilización orgánica con estiércol, el agua de riego, como también después de la cosecha en el lavado, y manipulación de los alimentos. Generalmente en las granjas familiares que producen sus productos para autoconsumo, la calidad microbiológica no es controlada (Araujo *et al.*, 2017).

Los alimentos frescos pueden estar contaminados con varios patógenos, causando brotes de enfermedades transmitidas por el consumo de alimentos contaminados, causando un problema de salud pública; entre los patógenos bacterianos se encuentra *Escherichia coli* O157:H7 (*E. coli* O157:H7) la cual presenta baja dosis infecciosa (tan sólo diez células), alta patogenicidad y capacidad de sobrevivir bajo condiciones de congelación, causando enfermedades gastrointestinales (Yao *et al.*, 2015).

La supervivencia reportada para *E. coli* O157:H7 en el suelo puede ser de varios días a más de 6 meses, teniendo en cuenta las propiedades y factores ambientales. Yao *et al.*, 2015 reportan que *E. coli* sobrevivió más tiempo en los suelos enmendados con el estiércol de cerdo. El uso de materiales orgánicos como estiércol y residuos de granja, son la opción más asequible, económica y práctica para mejorar la calidad del suelo (propiedades físicas, químicas y biológicas) pero es de vital importancia que estos y sus productos elaborados se encuentren libres de patógenos.

3.6.2 Coliformes totales

La definición de coliformes totales está basada en reacciones bioquímicas específicas o en la apariencia de colonias características en medios selectivos o diferenciales; se caracterizan por ser gramnegativas, aerobias o anaerobias facultativas, no formadoras de endosporas, fermentan la lactosa con producción de ácido y gas en 24-48 horas a 36°C (IMTA, 1991); son indicadores de higiene en alimentos e indicadores bacteriológicos de calidad del agua, por lo que a mayor contenido de coliformes totales, la higiene es más deficiente. Este grupo incluye los géneros *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Escherichia*, los cuales proceden del ambiente o del contenido intestinal (Monroy *et al.*, 2009).

3.6.3 Coliformes fecales

Los coliformes fecales son un indicador de la contaminación por la materia de origen fecal, se encuentran en las heces de los animales de sangre caliente, por ende, reflejan mejor la presencia de contaminación fecal que los totales.; se designa como coliformes fecales a las bacterias de los géneros *Escherichia* y *Klebsiella* (Pascual & Calderón, 2000).

3.6.4 Salmonella

Salmonella es un género de la familia *Enterobacteriaceae*; las bacterias que pertenecen a este género se caracterizan como bacterias gramnegativas, anaerobias, anaerobias facultativas, asporógenas. La mayoría de estas bacterias se encuentran en el tracto intestinal del hombre y de los animales (Sánchez *et al.*, 2009).

Generalmente se encuentra asociada a problemas gastrointestinales, septicémicos, gracias a su invasión celular y supervivencia intrafagocítica, por lo que son capaces de infectar al hombre y a los animales, los cuales pueden persistir como portadores durante largos periodos de tiempo; estas bacterias son un riesgo significativo para la salud pública, manifiestan una elevada capacidad de supervivencia en el medio ambiente, y su capacidad infectiva se mantiene durante semanas en el agua y en el suelo durante años (Arosema, 2008).

4. METODOLOGÍA

4.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

4.1.1 Fase de campo:

El experimento de investigación se implementó en la planta de Procesamiento de Abonos Orgánicos de la Federación Campesina del Cauca (FCC), ubicada en el corregimiento de Tunía, Municipio de Piendamó, departamento del Cauca a 36 kilómetros de Popayán, situada a 1.800 m.s.n.m con clima templado – húmedo y temperatura promedio de 18 °C (Figura 2).

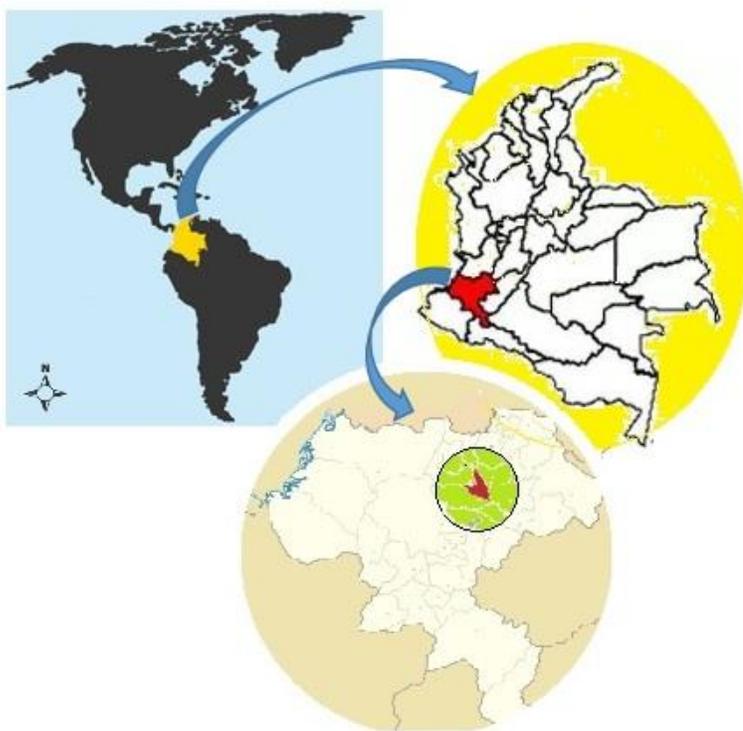


Figura 2. Ubicación geográfica de la Planta de Procesamiento de Abonos orgánicos (Piendamó, Cauca).

4.1.2 Fase experimental

Los materiales orgánicos de partida fueron recolectados con ayuda del personal técnico de la Federación Campesina del Cauca, teniendo en cuenta sus diversas fuentes. Para la producción de los Bioles se utilizó melaza de caña, pasto fermentado, suero, microorganismos eficientes (extraídos del suelo), estiércol y residuos de exceso de cosecha de frutas como: banano, mango y guayaba. La caracterización física y química de los diferentes bioles se realizó mediante las metodologías establecidas y estandarizadas en el Laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca (Bravo & Giraldo, 2003) y la Norma Técnica Colombiana NTC 5167, (2011) (Segunda actualización). Los análisis microbiológicos se desarrollaron en el Laboratorio de Biología de la Universidad del Cauca (Rodríguez *et al.*, 2003; Rivas & Giraldo).

4.2 DESCRIPCION DEL PROCESO DE ELABORACIÓN Y PRODUCCIÓN DE LOS BIOLES.

4.2.1 Sistema de Elaboración del Biol

Para la preparación de los abonos orgánicos líquidos (Bioles), se utilizó recipientes plásticos con capacidad de 200L bajo sombra; se realizaron cuatro tratamientos con tres repeticiones. En la tapa de cada contenedor se instaló una manguera transparente, con el fin de evacuar los gases que se forman durante el proceso de fermentación, como H₂ y CO₂, con salida a una botella con agua, en la que se visualiza el burbujeo de dichos gases; la composición de cada tratamiento se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4. Composición de los tratamientos

Tratamiento	ME (kg)	PF (kg)	S (kg)	MC (kg)	A (kg)	M (kg)	B (kg)	G (kg)	E (kg)
T1	40	20	10	10	96	10	-	-	-
T2	40	20	10	10	96	-	10	-	-
T3	40	20	10	10	96	-	-	10	-
T4	40	20	10	10	96	-	-	-	10

Dónde: ME (Microorganismo eficientes); PF (Pasto fermentado); S (Suero); MC (Melaza de caña); A (Agua); M (Mango); B (banano); G (Guayaba); E (Estiércol).

Los componentes en su mayoría fueron líquidos, en el caso de las frutas se cortaron, se maceraron y posteriormente se adicionaron todas las materias primas a los recipientes, y se mezclaron hasta obtener una homogenización de los mismos (Figura 3).



Figura 3. Elaboración, diseño y distribución de los tratamientos en el área de producción de Abonos Orgánicos (Federación Campesina del Cauca- Piendamó Cauca).

4.3 TOMA DE MUESTRAS

4.3.1 Análisis físicos y químicos

Con el fin de evaluar los parámetros físicos y químicos del proceso de fermentación (Densidad, pH, T^o, CE, CO, NT, relación C/N, macro – micronutrientes y metales pesados), se agitaron y se mezclaron bien los componentes de cada tratamiento, recolectando muestras representativas (400 – 500mL) de todas las réplicas en frascos de polietileno completamente limpios y secos para su posterior caracterización.

Para el seguimiento de las variables de pH y temperatura durante el proceso de fermentación, la toma de muestras se efectuó durante los cinco primeros días y luego cada dos días, hasta completar los treinta días.

El seguimiento de las variables de conductividad Eléctrica (C.E), Carbono (C), Nitrógeno (N) se realizó en una muestra de cada tratamiento a los 5, 10, 15, 20, 25 y 30 días.

El muestreo para el contenido nutricional de los bioles se realizó a los veinte y treinta días.

4.3.1.1 Tratamiento de las muestras: Una vez tomadas las muestras, se llevaron al laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca y se almacenaron a 4°C para los respectivos análisis.

4.3.2 Análisis microbiológicos

Para los análisis microbiológicos las muestras de cada tratamiento se recolectaron a los 30 días, en frascos de vidrio ámbar completamente limpios, secos y esterilizados.

4.3.2.1 Tratamiento de la muestra: Recolectada la muestra, se analizó antes de cumplir cuatro horas de su recolección.

4.4 SEGUIMIENTO DEL PROCESO FERMENTATIVO EN LA PRODUCCIÓN DE BIOLES

Con el fin de realizar el seguimiento y evaluación del proceso de fermentación para producción de los bioles, se determinaron las siguientes propiedades físicas y químicas.

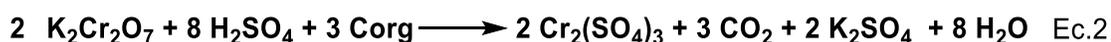
4.4.1 Densidad: Se utilizó un picnómetro calibrado, limpio y seco, posteriormente se adiciona el fertilizante, y se tapó el picnómetro, dejando abierto el orificio de rebose, evitando la formación de burbujas; se limpia y se seca muy bien en su exterior, a continuación, se pesa (NTC 5527, 2007).

4.4.2 Temperatura: Para determinar la variabilidad de la temperatura en el proceso, se destapó el recipiente e inmediatamente se introdujo el termómetro de mercurio (escala -10 – 110°C, marca Brand) sobre el biol y se registró el dato (Quinde & Acurio, 2014).

4.4.3 pH: Se determinó por método potenciométrico, equipo Metrohm Meter 744. Este parámetro se midió durante los cinco primeros días y luego cada dos días, hasta completar los 30 días (NTC 5527, 2007).

4.4.4 Conductividad Eléctrica: La C.E se determinó mediante el conductímetro, modelo 105 marca Orion en unidades de mS/cm (NTC 5527, 2007).

4.4.5 Determinación del Carbono Orgánico: Para determinar el contenido de carbono orgánico en las muestras se utilizó el método de Walkley Black colorimétrico a 585 nm en un espectrómetro UNICO 1205. El método consiste en oxidar el carbono orgánico presente en la muestra con un oxidante en medio ácido, utilizado como oxidante dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) y como medio, ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). En la reacción de oxidación el Cr^{+6} se transforma en Cr^{+3} y la cantidad formada de este último es equivalente al CO oxidado en la reacción. Primero se pesó 0.18 g de muestra y se adicionó 5 mL de dicromato de potasio 1 N y 10 mL de ácido sulfúrico concentrado (98 – 99 % de Pureza). Se agitó por 30 segundos y se dejó enfriar por 30 minutos; seguidamente se adicionó 135 mL de agua destilada, se agitó vigorosamente y se dejó decantar durante 12 horas. Luego se tomó del sobrenadante una alícuota para medir la absorbancia a una longitud de onda de 585 nm. El contenido de carbono orgánico en la muestra se obtiene al interpolar el valor de la absorbancia en una curva de calibración realizada con patrón de sacarosa a seis concentraciones diferentes. La reacción se muestra en la ecuación 2 (Bravo & Giraldo, 2003).



4.4.6 Nitrógeno total (NT): Se determinó por el método de Kjeldhal el cual se basa en tres etapas. Para el análisis se utilizó una unidad de digestión B-426, Scrubber B-414 y Destilación K-314.

El método consta de 3 etapas de acuerdo con Bravo & Giraldo (2003):

1) Oxidación de la muestra

En la primera etapa se toma 0,14 g de muestra y se adiciona 1g de mezcla catalizadora. Luego se pasa a un tubo de digestión y se adiciona 10 mL de ácido sulfúrico concentrado (98 – 99 % de Pureza) para oxidar la materia orgánica y convertir el nitrógeno en sulfato ácido de amonio. En el proceso se lleva un blanco de muestra el cual consiste en pesar 1g de mezcla catalizadora y un patrón realizado con 0,01 g de glicina, ecuación 3.



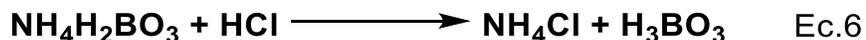
2) Descomposición del sulfato ácido de amonio:

Al completarse la digestión se deja enfriar y se adicionan 50 mL de agua destilada. El sulfato ácido de amonio se descompone por medio de la adición en exceso de hidróxido de sodio al 32 % para liberar el amoniaco, el cual se recoge por destilación sobre 100 mL de ácido bórico al 2 %, formando el borato de amonio. Las reacciones que se presentan en esta etapa se representan en las ecuaciones 4 y 5:



3) Titulación del borato de amonio:

El borato de amonio formado en la etapa 2, se valora con ácido clorhídrico (HCl) 0.1N utilizando 3 gotas de indicador mixto (azul de metileno y rojo de metilo). La reacción es la siguiente (ver ecuación 6).



4.4.7 Relación C/N: Se calculó mediante el contenido de carbono orgánico (g/L) y de nitrógeno total (g/L) de cada tratamiento.

4.4 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO NUTRICIONAL DE LOS BIOLES

Con el fin de analizar la calidad del producto obtenido de acuerdo a los parámetros requeridos por la NTC 5167, (2011) (segunda actualización) se hicieron las determinaciones de Temperatura, pH, Conductividad eléctrica, Carbono Orgánico, Nitrógeno total mencionadas en la sesión 4.4 y la determinación del contenido total de Fósforo, Potasio, Calcio, Magnesio, Sodio, Hierro, Cobre, Manganeso, Zinc, y Metales Pesados Mercurio, Plomo y Cromo, como se describe a continuación:

A los productos obtenidos a los veinte y treinta días se les realizó un proceso de mineralización por vía húmeda, el cual consiste en realizar una digestión con ácido perclórico-nítrico. Se pesa 1g de muestra, se adiciona 5mL de ácido nítrico, se lleva a ebullición hasta eliminación de humos amarillos. Luego se dejó enfriar la solución, se adicionó 3mL de ácido perclórico y se calentó hasta que la solución quedo incolora. Posteriormente se enfrió, se adicionó 10mL de agua des-ionizada y se calentó hasta ebullición por unos pocos minutos. Finalmente, se enfrió, se llevó a un volumen de 50mL y se filtró. El fósforo se determinó por espectroscopia UV visible de acuerdo con Bravo y Giraldo (2003) y los restantes elementos mediante Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA) así:

4.5.1 Fósforo total: La determinación de fósforo total se realizó mediante el método colorimétrico Bray II, previa extracción de las muestras por mineralización vía húmeda. El método se basa en la formación de un complejo de fósforo con ácido molibídico, reducido con ácido ascórbico, el complejo coloreado absorbe a una longitud de onda de 660nm. El heterocompuesto incoloro $H_3[P(Mo_3O_{10})_4]$ formado por reducción con ácido ascórbico, forma un compuesto de color azul que absorbe a 660 nm (Ecuación 7) (NTC 5167, 2011; Bravo & Giraldo, 2003) .



El equipo utilizado en este procedimiento fue el Espectrofotómetro visible UNICO 1205.

4.5.2 Potasio, calcio, magnesio, sodio, hierro, cobre, manganeso, zinc, y metales pesados mercurio, plomo y cromo: Para la determinación de cada uno de los siguientes elementos K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Mn, Zn, Pb, Cr se realizó una curva de calibración, partiendo de un estándar de 1000 ppm, mediante la técnica espectrofotométrica de absorción atómica (EAA) a las siguientes longitudes de onda 740, 422.7, 285.2, 589, 248.3, 324.8, 279.5, 213.9, 217, 357.9 nm, respectivamente, en un equipo de absorción atómica Thermo Scientific ICE 3000 (NTC 1369, 2009).

La determinación de Mercurio se realizó utilizando el mismo equipo de EAA con su respectiva lámpara de cátodo hueco y el generador de hidruros

VP100, se realizó una curva de calibración partiendo de un estándar de 1000 ppm a una longitud de onda de 253.7nm (Muñoz, 2016).

4.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS BIOLES OBTENIDOS

Con el propósito de analizar los requisitos microbiológicos de la NTC 5167, 2011 (segunda actualización) para productos obtenidos por fermentación anaerobia se realizaron las siguientes determinaciones.

4.6.1 Coliformes totales y fecales: La determinación se realizó por medio del método de sustrato definido, utilizando el medio de cultivo caldo Fluorocult LMX. Este método es sensible y específico, al tener sustratos cromógenos y fluorógenos (D-galactopiranosida (X-GAL) y 4-Metilumbeliferil-B-D-glucorónido (MUG)), que son utilizados por enzimas del grupo coliformes y *E. coli* (β -galactosidasa y β -D-glucuronidasa) respectivamente; al ocurrir las reacciones enzimáticas se libera al medio el compuesto cromogénico y/o fluorogénico, produciendo un cambio de color o el desarrollo de fluorescencia.

A partir de cada muestra se realizaron tres diluciones (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}) en 9 mL de agua peptonanda al 0.1%, posteriormente se sembró por triplicado 1 mL de cada una de las diluciones en 9 mL del caldo cultivo Fluorocult LMX, y se incubó a 37°C durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de incubación, los tubos que presentaban cambio de color a azul se tomaban como positivos para coliformes totales, al exponerlos a luz ultravioleta y emitir fluorescencia se registraban como positivos para coliformes fecales.

La prueba confirmatoria de *Escherichia coli* se realizó adicionando 0.2 mL del reactivo de Kovac's a los tubos que presentaban fluorescencia, tomando como positivos aquellos en los que de 2 a 10 segundos formaban un anillo color fucsia en la parte superior del caldo (Rodríguez & Mieres, 2003; Rivas & Giraldo).

4.6.2 Salmonella y Shigella: Para evidenciar la presencia del género *Salmonella* se realizaron diluciones seriadas de cada una de las muestras (10^{-1} - 10^{-3}) en 9 mL de agua peptonada al 0.1%. A partir de cada dilución se sembró por duplicado 0.1mL en cajas de Petri con agar *Salmonella Shigella* (SS) por extensión y se llevó a incubar a 37°C durante 48 horas. Al terminar el tiempo de incubación se realizaron las lecturas en cada una de las cajas, por unidades formadoras de colonias (Rodríguez & Mieres, 2003; Rivas & Giraldo).

4.7 FORMULACIÓN DEL BIOL

Con base en el análisis nutricional de los productos obtenidos (bioles) se formula un abono líquido, para aplicación foliar, teniendo en cuenta las relaciones óptimas entre los diferentes elementos y el fertilizante foliar comercial que normalmente se aplica al cultivo de café Quimifoliar 10-30-10 (registro de venta ICA N° 3899). Para ello se utilizan algunas sales como complemento de nutrientes y se hace la estabilización si es el caso.

4.8 COSTO DE PRODUCCIÓN

Con el objeto de determinar el costo de producción y aplicación del biol, se realiza la evaluación económica del abono elaborado.

4.9 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para este ensayo se utilizó un sistema en bloques completos al azar, se realizan cuatro tratamientos con tres replicas cada uno (Figura 4). Para cada tratamiento se utiliza la misma cantidad de microorganismos eficientes, pasto fermentado, suero, melaza de caña y agua, y varían en solo un componente sea fruta o estiércol, por lo tanto, el factor es la composición.

Se efectúa un análisis comparativo nutricional y microbiológico entre los bioles producidos.

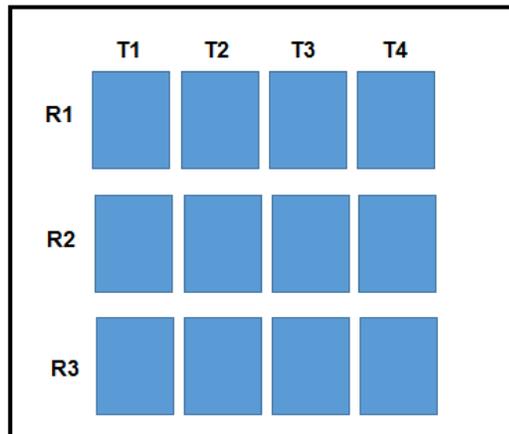


Figura 4. Diagrama del diseño experimental con relación a la composición de los tratamientos de biol. Dónde: T₁, T₂, T₃, T₄ son los tratamientos y R₁, R₂ y R₃ las réplicas.

4.9.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los resultados obtenidos se utilizó el programa SPSS versión 23.0. Se realizó el análisis estadístico descriptivo, incluidas las pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y de homogeneidad de varianzas (Levene); posteriormente se realizó el análisis comparativo, a través de la prueba de comparación de medias ANOVA monofactorial (Prueba Paramétrica), complementada con la respectiva prueba de comparaciones múltiples (Tukey). Se realizaron correlaciones bivariadas como correlación de Pearson para determinar grado de asociación entre variables.

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1 SEGUIMIENTO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN

Con el fin de realizar el seguimiento y evaluación del proceso de fermentación para producción de los bioles, se determinaron los siguientes parámetros físicos y químicos a diferentes tiempos de fermentación.

5.1.1 Temperatura

En el proceso de fermentación anaeróbica se puede presentar tres rangos de temperatura Psicrófico (10 - 20 °C), Mesófilo (30 - 45 °C) y Termófilo (50 - 60°C) (Nutiu, 2014). La medida de temperatura a través del tiempo de producción, se presenta en la Figura 5, para los tratamientos T1 a T4, y se observa que en cada tratamiento la temperatura de 1 a 30 días no presenta una variación significativa (Anexo A, Tabla 1) e incluso los cuatro tratamientos presentan un comportamiento similar, con un máximo de 21 °C y una temperatura mínima de 16°C.

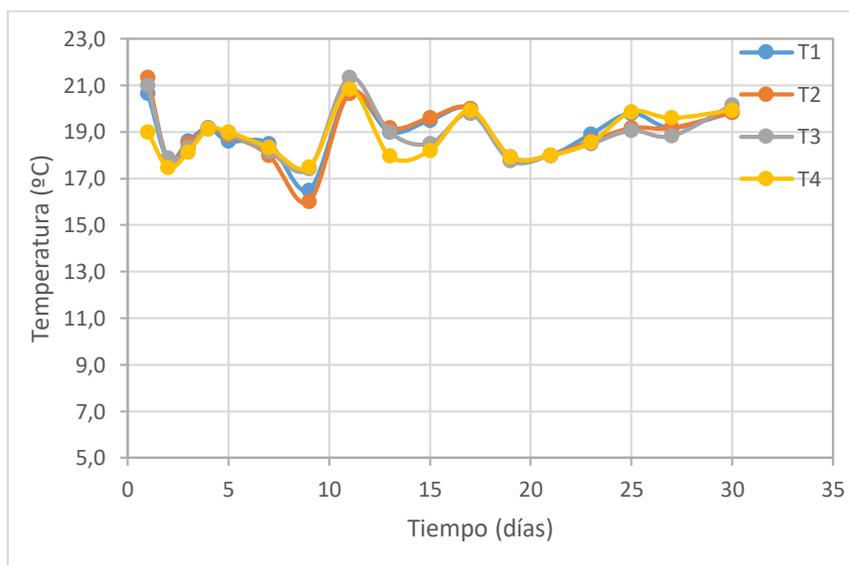


Figura 5. Temperatura de los tratamientos T1 a T4 respecto al tiempo

Estos resultados obtenidos evidencian que la producción del biol sigue la etapa Psicrófica, en la cual microorganismos como hongos y levaduras se ven

favorecidos, además de las bacterias mesófilas, debido a que pueden completar su ciclo biológico dado que su mayor actividad se presenta a temperaturas de 15 a 40 °C, favoreciendo la elaboración de los productos (Zagoya *et al.*, 2015).

5.1.2 pH

Los valores de pH en el tiempo se muestran en la Figura 6. Los tratamientos inician en un rango promedio de 3.84 a 3.96, teniendo pH más alto T4 y el pH más bajo T3, encontrándose diferencia significativa entre ellos (Anexo A, Tabla 2 - 3). En los cinco primeros días del proceso de fermentación, se presenta una disminución del pH manteniendo una diferencia entre el tratamiento T4 y T1,T2,T3; posteriormente, se observa una estabilidad del pH hacia los veinte días siendo mayor el pH de T4 alcanzando un valor de 3.66, terminando a los 30 días el proceso de todos los tratamientos con un pH mayor que a los 20 días entre 3.61 y 3.79, lo que indica que a mayor tiempo de fermentación incrementa el pH; (Anexo A, Tabla 4) en este periodo de los 20 a los 30 días, se observa que el pH en los tratamientos empieza a incrementarse demostrado por la correlación positiva altamente significativa (0.503**). Los valores obtenidos coinciden con lo reportado por Criollo *et al.* (2011) en un estudio similar de producción de un biol usando dentro de sus componentes suero y alimentos lácteos entre otros.

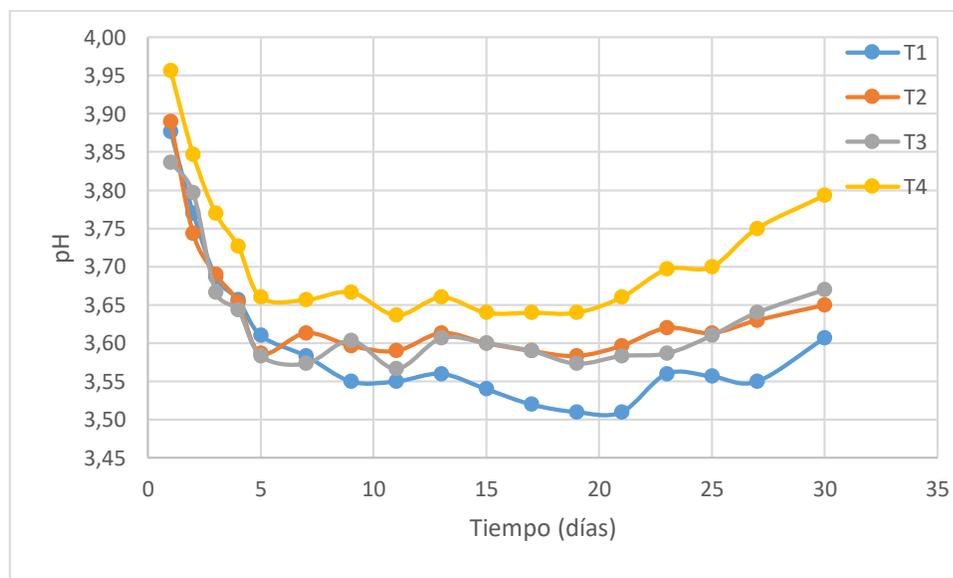


Figura 6. pH de los tratamientos T1 a T4 respecto al tiempo

Según lo indicado por Ito & Soto (2006), los componentes utilizados para la preparación del biol y la cantidad de oxígeno influyen en el pH, por lo cual la diferencia inicial en el valor de pH de T4 respecto a T3 es debido probablemente al mayor contenido de calcio que aporta el estiércol presente en T4, además Bouallagui *et al.* (2005) reportan una rápida acidificación de los residuos de frutas y hortalizas lo que se evidencia con el descenso inicial del pH; a partir de estos dos reportes se deduce que la disminución se puede atribuir a una mayor producción de ácido láctico y ácidos grasos volátiles de cadena corta, los cuales inhiben la actividad de bacterias metanogénicas.

El pH de los bioles obtenidos tanto a los 20 como a los 30 días favorece la estabilidad de la solubilidad de los nutrientes para las plantas de acuerdo a lo citado por Criollo *et al.* (2011), además pH's ligeramente ácidos benefician la disponibilidad de macro y micronutrientes (N, P, S, Cu, Zn y Fe), por lo que a pH básicos los micronutrientes (Fe, Zn, Mn, Cu) son insolubles, y se forman precipitados, disminuyendo así la disponibilidad para ser absorbidos por las plantas (Meléndez & Molina, 2002).

5.1.3 Conductividad Eléctrica.

La conductividad eléctrica es una medida de la concentración de sales disueltas en un sustrato (Soria *et al.*, 2001), cuanto más alto es el valor de las mismas mayor es la CE de dicha solución (Meléndez & Molina, 2002). Los resultados dependen de la composición de los materiales y de las proporciones utilizadas. Según la norma NTC 5167, (2011) (segunda actualización) no existe un valor apropiado de conductividad eléctrica para un abono orgánico.

En la Figura 7 se presenta las medidas de CE respecto al tiempo (Anexo B, Tabla 1 – 4), la conductividad en todos los tratamientos al final del proceso no muestra diferencia significativa, en cambio sí existe diferencias significativas entre T1, T2, y T4 respecto a T3 (Anexo B, Tabla 5 - 6). La disminución de la conductividad eléctrica en algunos días del proceso para los tratamientos, se puede presentar por la descomposición de la materia orgánica, que genera compuestos orgánicos más simples, y atraen estos compuestos algunos iones, para obtener moléculas iónicas (Isaza *et al.*, 2009).

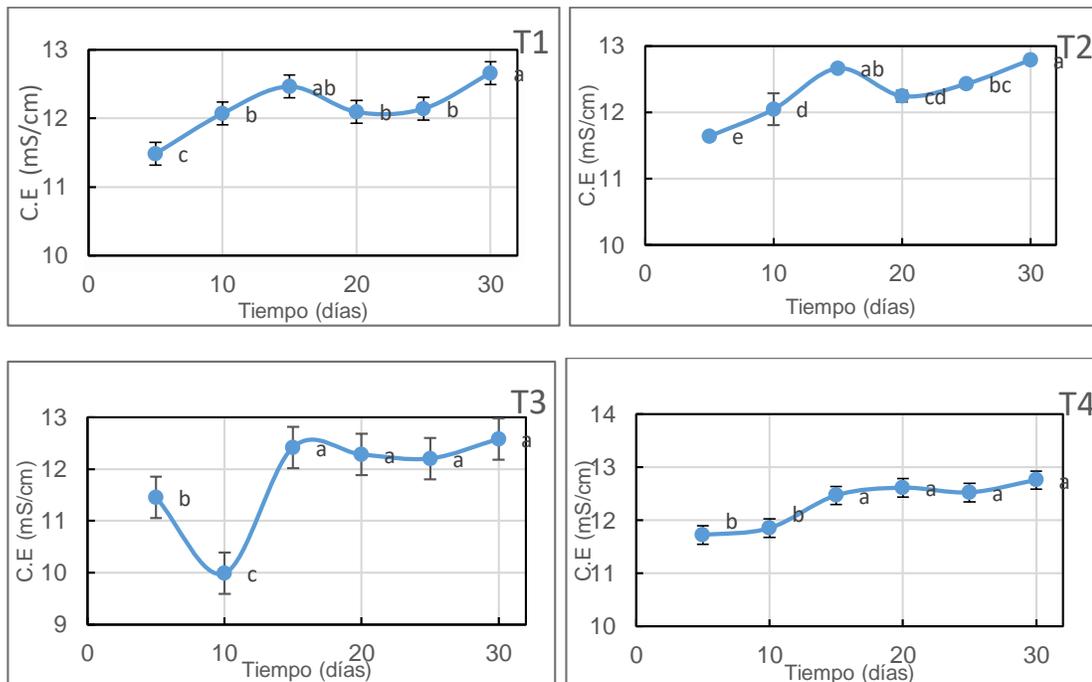


Figura 7. Medida de conductividad eléctrica de los tratamientos con respecto al tiempo. Prueba de Tukey. Letras diferentes indican diferencia significativa. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$)

Se presenta en la Tabla 7 del Anexo B una correlación negativa altamente significativa en todos los tratamientos entre la relación C/N y la conductividad (-0.486**), esto debido a que probablemente a medida que los microorganismos descomponen la materia orgánica, se aumenta la cantidad de elementos disponibles en la solución. Con relación al tiempo hay diferencias significativas en todos los tratamientos, encontrándose un valor mayor a los 30 días, indicando que en este tiempo hay mayor disponibilidad de los nutrientes para poder ser aprovechados por las plantas, además de una correlación altamente significativa (0.644**) entre la CE y el tiempo.

Comparando los valores de CE de los productos obtenidos en los cuatro tratamientos, con un estudio realizado por Gamboa *et al.*, (2015), se encuentran valores muy similares cercanos a 12 mS/cm, indicando un alto contenido de sales solubles, provenientes de calcio, magnesio y principalmente de potasio.

5.1.4 Carbono Orgánico

El carbón orgánico (CO) en la materia orgánica forma parte de azúcares, hemicelulosas, sustancias fenólicas, aminoácidos, péptidos y otras sustancias fácilmente degradables; este es descompuesto por microorganismos, ayudando a sostener la actividad microbiana en los procesos de descomposición (Saldarriaga, 2009).

En la Figura 8 se presenta los resultados de la evolución del contenido de carbono orgánico en los tratamientos con respecto al tiempo (Anexo B, Tabla 8 – 11), donde T1, T2, T3 y T4 inician con valores aproximadamente de 8.000 mg/L. De acuerdo a la estadística, la evolución en el tiempo de cinco a treinta días, evidencia que T1 y T2 presentaron mayor contenido de CO respecto a T3 (Anexo B, Tabla 12 - 13), por lo que en T3 hay una mayor mineralización de la MO por parte de los microorganismos presentes en el medio.

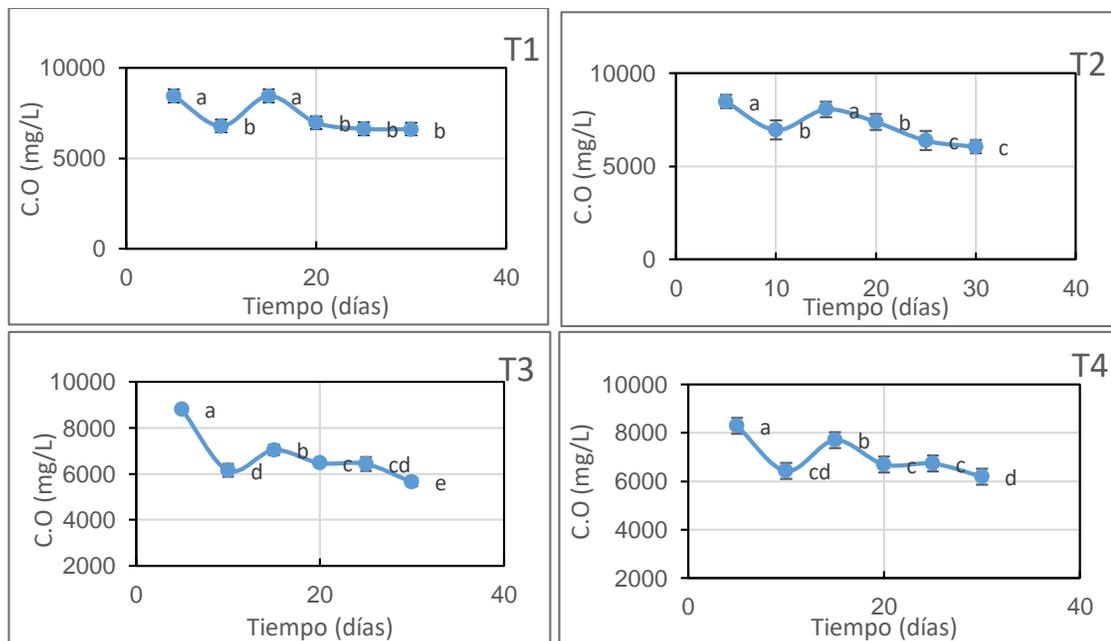


Figura 8. Variación del contenido de CO respecto al tiempo de los tratamientos T1 a T4. Prueba de Tukey. Letras diferentes indican diferencia significativa. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$).

En el seguimiento del proceso de fermentación la tendencia del CO en todos los tratamientos tiende a disminuir con respecto a su valor inicial, por lo que se presenta una correlación negativa altamente significativa (Anexo B, Tabla

14) en todos los tratamientos entre el CO y el tiempo (-0,659**), lo cual indica que a medida que se descompone la materia orgánica los microorganismos utilizan los compuestos solubles como fuente de energía, además de transformar las estructuras más complejas, en compuestos más simples de carbono, los cuales pueden ser objeto de resíntesis proporcionando una estabilidad de la materia orgánica en el producto final (Biol). También se observa en todos los tratamientos que en el día 15 hay un aumento de carbono orgánico con respecto a los días 10, 20, 25 y 30, tal vez, esto se presente debido a las variaciones de la biodegradabilidad de la fracción orgánica de los sustratos sólidos empleados, presentando un aporte de carbono orgánico de la fase sólida a la fase líquida. Cabe resaltar que en todos los tratamientos los valores de CO obtenidos se encuentran por debajo del valor mínimo (15 g/L) reportado por la norma.

5.1.5 Nitrógeno Total

En la Figura 9 se presenta el seguimiento de la evolución del nitrógeno total (NT) en todos los tratamientos, observándose diferencias significativas en cada tratamiento con respecto al tiempo (Anexo B, Tabla 15 – 18); T1 y T4 presenta mayor contenido inicial de NT con relación a T3 y T2 (Anexo B, Tabla 19), por lo que el estiércol y los residuos de mango aportan más de este nutriente al biol; además, se observa que de los 5 a los 10 días, en T1 hay un incremento de Nitrógeno significativo; en T2 y T3, también se presenta un incremento de NT no tan significativo; en el intervalo de 10 a 15 días T3 y T4 presentan un incremento significativo, siendo este mayor en T4 hasta los 20 días.

Para T1 y T2 después de los 10 días se observa que el contenido de NT disminuye, con pequeñas variaciones, y en todos los tratamientos se observa que, a partir de los 20 días, las variaciones de C y N son pequeñas, lo que indica que el producto se está estabilizando, por lo que la degradación y mineralización de la MO favorece la concentración de este nutriente en el producto (Peralta *et al.*, 2016).

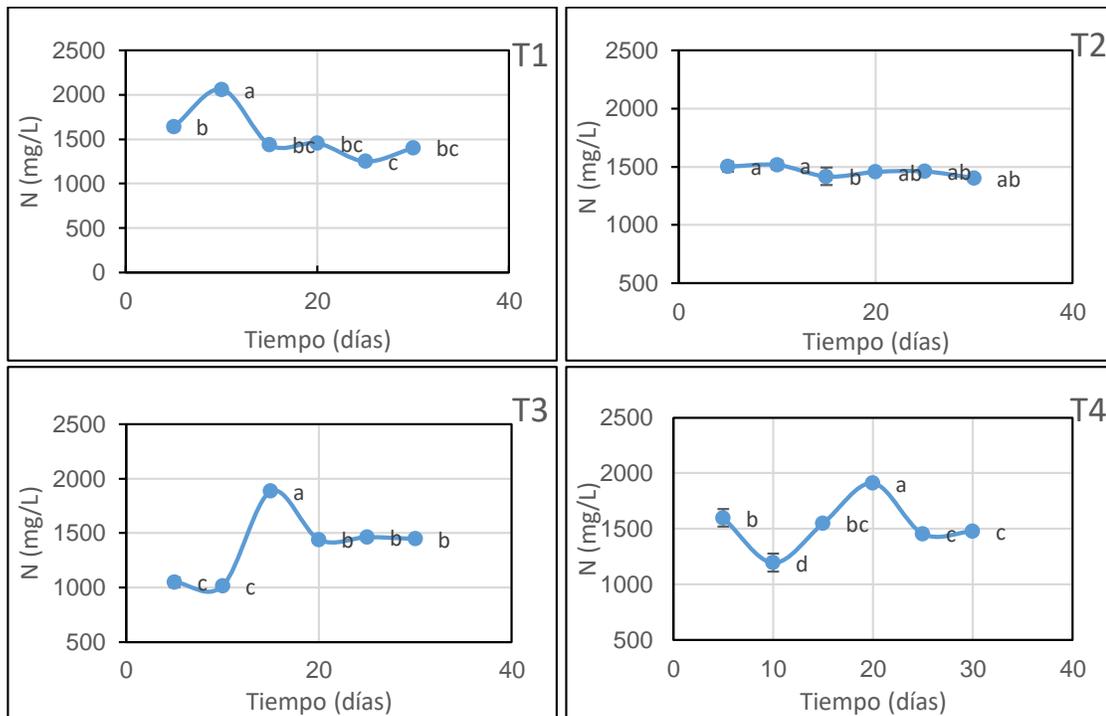


Figura 9. Variación del contenido de NT respecto al tiempo de los tratamientos T1 a T4. Prueba de Tukey. Letras diferentes indican diferencia significativa. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$).

La disminución del NT al final de proceso en el T1, T2 y T4 en comparación a su contenido inicial, así como la disminución de este nutriente en algunos días del proceso, se presenta por la conversión de una forma a otra del N, realizada por la actividad microbiana (Zagoya *et al.*, 2015).

5.1.6 Relación carbono nitrógeno (C/N)

La figura 10 registra la evolución de la relación C/N durante el proceso de fermentación para los cuatro tratamientos (Anexo B, Tabla 20-23).

El análisis estadístico con respecto al tiempo indicó diferencias significativas en los cuatro tratamientos, probablemente por la degradación de las fuentes de materia orgánica (residuos de frutas, estiércol), en el proceso de fermentación anaeróbica.

Aunque la norma NTC 5167, 2011 (segunda actualización), no presenta un rango establecido para enmiendas o abonos orgánicos en relación a este parámetro; algunos autores como Ito & Soto, (2006) y Suárez & Bonilla, (2009) afirman que la relación C/N se puede utilizar como un parámetro de

calidad del fertilizante en la contribución real del N, de modo que cuando es elevada, los microorganismos requieren del nitrógeno adicional para descomponer el carbono y se producirá inmovilización del nitrógeno en forma orgánica; en cambio, un valor bajo de la relación C/N indica contenidos elevados de nitrógeno amoniacal. Adicionalmente, la relación C/N es importante para los microorganismos que usan carbono como fuente de energía y nitrógeno como elemento básico para la formación de proteínas y otros constituyentes del protoplasma celular. Según Soria *et al.*, (2001) la relación óptima de C/N es de 30, por lo que valores de 10 presentan pérdidas de nitrógeno asimilable, y valores de 40 afecta el crecimiento de microorganismos, por la falta de nitrógeno. De acuerdo con Leblanc *et al.*, (2007), si la relación C/N de un fertilizante es menor a 20, el N inmovilizado inicialmente por microorganismos, al liberarse es fácilmente degradado.

La relación C/N de los bioles en los tratamientos T1, T2 y T3 disminuyó en los primeros diez días de fermentación, para T4 se tuvo un leve aumento hasta los diez días; en todos los tratamientos se observa que la relación C/N tiende a estabilizarse después de los 20 días de fermentación.

La disminución de la relación C/N de los bioles se atribuye a que se presenta la conversión de NT a las formas nítrica ($N-NO_3^-$) y amoniacal ($N-NH_4^+$), realizada por la actividad microbiana (Peralta *et al.*, 2016), estos resultados coinciden con los reportados por Suárez & Bonilla, (2009). Además, Ito & Soto, (2006) sugieren que una forma común de pérdida de N es a través del proceso de desnitrificación, el cual ocurre cuando el fertilizante nitrogenado, en particular en forma de nitrato, se convierte en formas gaseosas del N (N_2O , N_2), especialmente cuando hay falta de aireación.

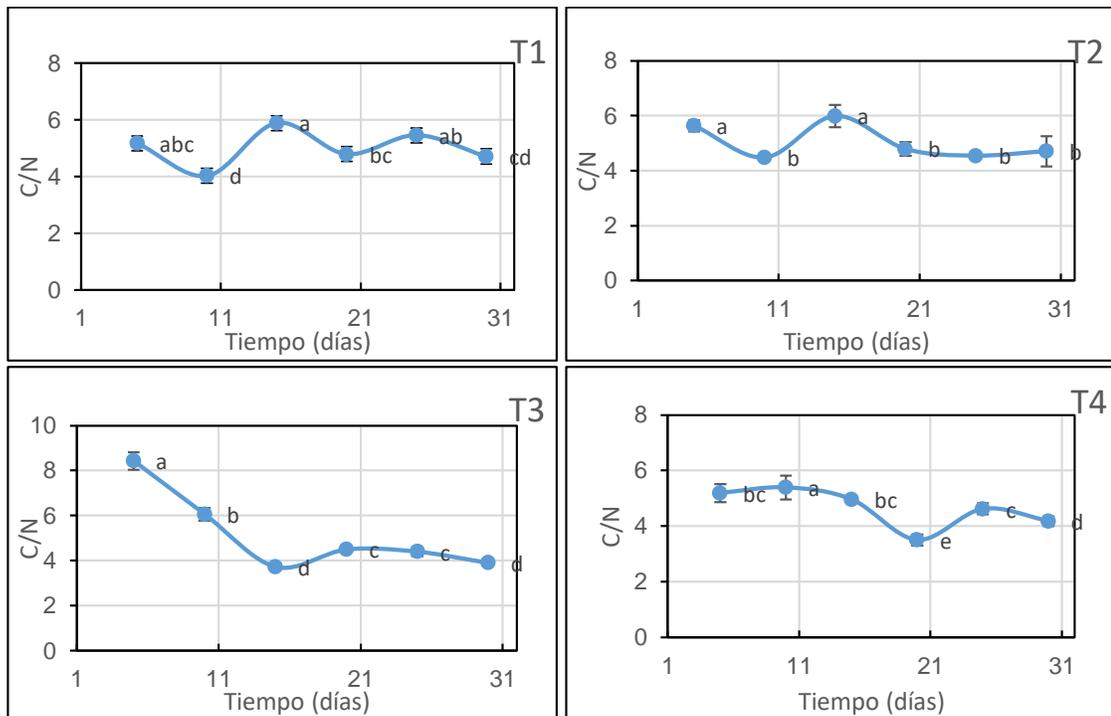


Figura 10. Evolución de la relación C/N de los diferentes tratamientos respecto al tiempo. Prueba de Tukey. Letras diferentes indican diferencia significativa. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$).

5.2 ANÁLISIS NUTRICIONAL DE LOS BIOLES

En la Figura 11 se observa que los tratamientos a los veinte días presentan un contenido de carbono aproximadamente de 7.000 mg/L, disminuyendo este contenido a los treinta días, en un rango aproximado de 6.000 mg/L. El contenido nutricional de los bioles a los veinte y treinta días de fermentación de los cuatro tratamientos se presenta en la Figura 12, observándose la estabilidad del contenido nutricional en este rango de tiempo, porque no presenta diferencias significativas, a excepción del contenido de carbono, en donde se observa para los cuatro tratamientos un mayor contenido de carbono orgánico a los veinte días, con respecto a los treinta días.

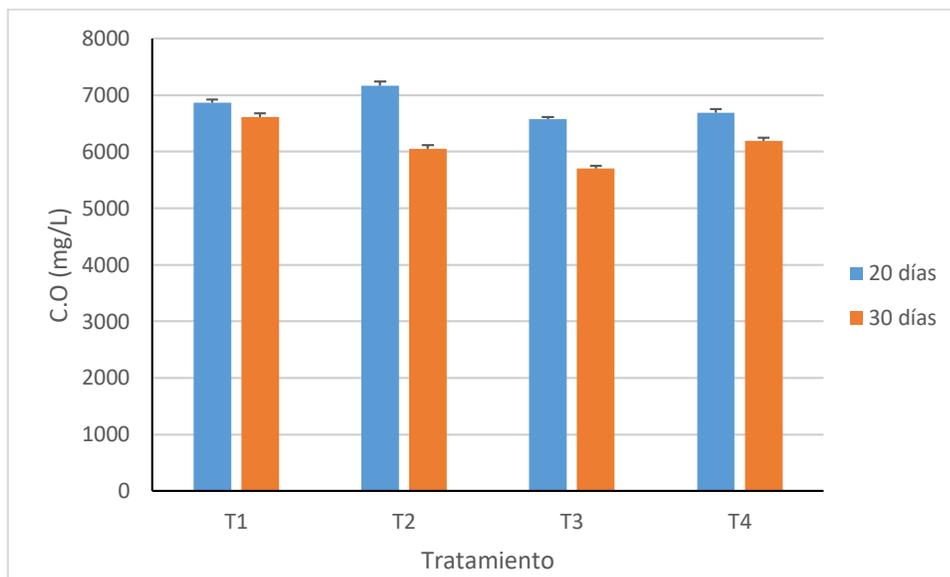


Figura 11. Contenido de Carbono de los tratamientos a los 20 y 30 días.

El contenido nutricional de macro y micronutrientes presenta diferencias significativas entre los tratamientos a los veinte y a los treinta días, Anexos C, presentando T4 mayor contenido de N (Tabla 1), P (Tabla 2), Ca (Tabla 3), Mg (Tabla 4), Fe (Tabla 5), Zn (Tabla 6), Mn (Tabla 7). El estiércol aporta menor acidez, por lo tanto, T4 presenta mayor pH, que T1, T2 y T3, favoreciendo una mayor actividad de microorganismos, para la transformación de la materia orgánica y liberación de los nutrientes. Los bioles elaborados con residuos de mango (T1), banano (T2), y guayaba (T3), presentaron mayor contenido de K (Tabla 8), con respecto a T4 (estiércol), debido a que los residuos de fruta aportan mayor contenido de este nutriente al biol, con respecto al estiércol.

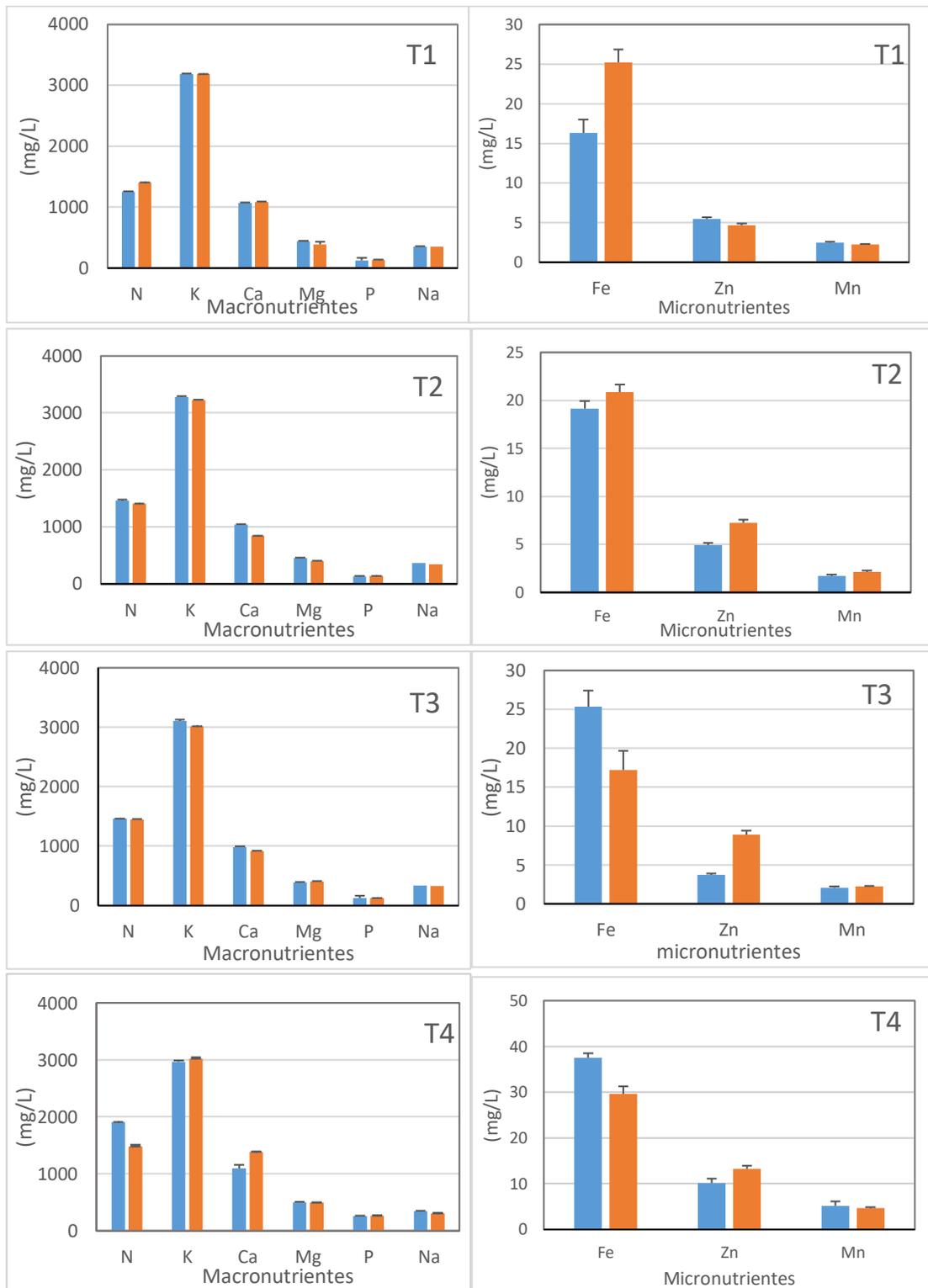


Figura 12. Cantidad promedio de macro y micronutrientes, de los tratamientos T1 – T4 a los 20 y 30 días.

Los resultados obtenidos para los macronutrientes en todos los tratamientos se encuentran por debajo del rango permitido, según NTC 5167, (2011) (Segunda actualización), es decir no alcanza el parámetro a garantizar por la norma, sin embargo todos los tratamientos presentan contenido de nitrógeno y potasio adecuados según Suárez y Bonilla, (2009) que sugieren para bioles elaborados en forma artesanal un contenido de Nitrógeno (N) mayor a 700 mg/L, Fósforo (P) 170 mg/L, Potasio (K) 1300 mg/L, Calcio 1800 mg/L. De acuerdo a estos rangos, todos los tratamientos cumplen con un contenido de nitrógeno y potasio adecuados.

Para el contenido de micronutrientes como Fe, Mn, Cu y Zn la NTC 5167 (segunda actualización) no establece niveles críticos. Sin embargo, el contenido de Cu no es detectado; los valores de Zn obtenidos (5.04 – 11.68 mg/L) son mayores a los reportados por Suárez y Bonilla, (2009); los contenidos de Fe (19.5 – 32.6 mg/L) y Mn (1.0 – 4.87 mg/L), están dentro de los rangos reportados por Suárez y Bonilla, (2009) en bioles obtenidos en forma artesanal.

Es de resaltar que no se detectó contenido de metales pesados: Cr, Pb < 0.2 ppm y Hg <1 ppb, lo cual favorece la calidad del producto final y se ajusta a la norma de calidad.

Todos los tratamientos no presentaron residuo insoluble en ácido, debido a que su presencia generalmente se da por minerales como arena y este material no fue utilizado en la elaboración de bioles; por lo que el producto líquido garantiza la solubilidad de todos los nutrientes.

5.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

Los resultados obtenidos en el análisis microbiológico para coliformes totales y fecales, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, presentaron resultados negativos en todos los tratamientos (Tabla 5), lo cual favorece la calidad e inocuidad del producto final. Según Robalino & Ortega, (2011), el pH óptimo para el desarrollo de *Salmonella* es de 6.2 a 7.2; por los pH obtenidos en los tratamientos T1 a T4, se favorece la inhibición de las bacterias patogénicas.

Tabla 5. Resultados de los análisis microbiológicos de T1 - T4.

Tratamiento	Coliformes totales	Coliformes fecales	E. Coli	Salmonella
T1	-	-	-	-
T2	-	-	-	-
T3	-	-	-	-
T4	-	-	-	-

Dónde: - Negativo.

Estos resultados obtenidos, coinciden con lo reportado por (Robalino & Ortega, 2011), quienes resaltan que productos obtenidos con pH promedios a 3.8 bajo condiciones anaerobias son las principales causas de la ausencia de coliformes en los fertilizantes orgánicos fermentados analizados en sus trabajos.

Por lo anterior, los bioles cumplen con los requisitos microbiológicos de la NTC 5167 (segunda actualización).

6. FORMULACIÓN DEL BIOL.

Al presentar los productos obtenidos en los diferentes tratamientos variación en su contenido nutricional, se realiza la formulación, con el fin de obtener un fertilizante con un contenido óptimo de nutrientes necesarios para el cultivo de café. Para ello se tuvo en cuenta la composición del fertilizante foliar comercial Quimifoliar 10-30-10 (registro de venta ICA N° 3899), según la dosis de preparación sugerida (5g/L), la cual debe ser aplicada en la fase del desarrollo reproductivo del cafeto, con la aparición de las primeras flores, luego en el desarrollo del fruto (en total 2 dosis).

En todos los tratamientos se presenta deficiencia de P, Mn, Fe y Zn, por lo tanto, es necesario complementar los bioles, con la adición de DAP ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, MnSO_4 y $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, de esta manera, con base en el contenido nutricional de cada biol, se formulan cuatro fertilizantes, cuya composición final se describe en la Tabla 6.

Tabla 6. Composición final de los fertilizantes formulados y el fertilizante comercial.

Fertilizante comercial Quimifoliar 10-30-10		Bioles (mg/L)			
Nutriente	Concentración (mg/L)	T1	T2	T3	T4
NT	500,0	849,4	844,4	847,2	897,6
P ₂ O ₅	1488,0	1494,5	1497,3	1492,7	1554,1
K ₂ O	500,0	767,1	767,1	767,1	767,1
CaO	100,0	280,3	252,3	252,3	336,4
MgO	99,5	137,3	140,9	131,0	163,5
Fe	10,0	12,1	11,8	12,4	14,6
Mn	5,0	5,0	5,1	5,0	5,6
Zn	25,0	25,0	25,2	25,2	26,3

7. COSTO DE PRODUCCIÓN DEL BIOL.

En la elaboración de los bioles a los treinta días, se obtuvo 120 Litros de biol, teniendo en cuenta que para alcanzar la concentración descrita en la Tabla 6, es necesario realizar una dilución (1/5), esta cantidad alcanzaría para producir 600 litros de fertilizante. El costo de producción del Biol se presenta en la Tabla 7, considerando el valor de todos los materiales que se utilizaron para su elaboración (tanques, mangueras y materias primas), la formulación, el costo de la mano de obra en la recolección de los residuos y en el montaje para la elaboración de los bioles, este basado en el precio del jornal de los trabajadores de la planta de abonos orgánicos de la FCC (\$25.000). Los valores presentados a continuación, se basan en la inversión y en los egresos utilizados para el montaje y la preparación del proceso realizado en el año 2017.

Tabla 7. Costo de producción para la elaboración del Biol.

Materias primas	Cantidad	Unidad de medida	Valor unitario	Valor total
ME	40	kg	\$ 201	\$ 8.040
PF	20	kg	\$ 137	\$ 2.740
S	10	kg	\$ 48	\$ 480
MC	10	kg	\$ 662	\$ 6.620
Residuos de frutas o estiércol	10	kg	\$ 625	\$ 6.250
Formulación	120	L	\$ 28	\$ 3.360
TOTAL COSTO MATERIAS PRIMAS				\$ 27.490
Materiales				
Tanques	1	Unidad	\$ 70.000	\$ 70.000
Manguera	1	Unidad	\$ 2.000	\$ 2.000
TOTAL COSTO MATERIALES				\$ 72.000
Mano de obra	1	Hora	\$ 3.125	\$ 3.125
TOTAL COSTO MANO DE OBRA				\$ 3.125
TOTAL COSTO DE PRODUCCION				\$ 102.615

Dónde: ME (Microorganismo eficientes); PF (Pasto fermentado); S (Suero); MC (Melaza de caña). Precios del año 2017.

8. CONCLUSIONES.

El contenido nutricional de los bioles obtenidos a los 20 y 30 días, no muestran variación significativa, por lo que se puede considerar que después de los veinte días de fermentación, los productos se empiezan a estabilizar y se podrían aplicar en campo después de este tiempo.

Los bioles de los tratamientos T1, T2 y T3 presentaron mayor contenido de K respecto al T4; mientras que T4 presenta mayor contenido de N, P, Ca, por lo que todos los bioles podrían ser utilizados para la fertilización foliar, teniendo en cuenta las necesidades y la etapa de la planta.

Según los parámetros establecidos por la NTC 5167 para abonos orgánico-minerales líquidos, el contenido nutricional de los bioles en N, P, K está por debajo del límite, pero al compararlo con el fertilizante comercial para aplicación foliar en cultivo de café, los bioles presentan un contenido nutricional adecuado en N, K, Ca, Mg. Sin embargo, los productos tienen deficiencia en P, Mn, Fe y Zn, los cuales pueden ser suplidos mediante la formulación de acuerdo al contenido nutricional del fertilizante que se utiliza de manera comercial, quedando más enriquecidos los bioles en algunos elementos, y con una calidad inocua.

Los bioles elaborados a partir de los residuos de frutas (T1, T2, T3) y estiércol (T4), no reportar contenido de metales pesados (Hg, Cr, Pb), por lo garantizan la calidad e inocuidad del producto al ser aplicado a los cultivos; los resultados se ajustan a los parámetros establecidos por la NTC 5167 (2011) (segunda actualización).

Los resultados de los análisis microbiológicos para T1, T2, T3 y T4 indicaron ausencia de *Salmonella*, coliformes totales y fecales, *Escherichia coli* y *Shigella* ajustándose a los requisitos microbiológicos de acuerdo a la NTC 5167 (2011) (segunda actualización).

Los bioles obtenidos a partir de residuos de frutas y estiércol por su estado líquido y su contenido nutricional, son un buen complemento en la fertilización de cultivos.

Los bioles son una opción muy favorable para los agricultores, por su economía, técnica, y manejo, beneficiando a los cultivos y al medio ambiente, al utilizar residuos agroindustriales y excesos de cosecha para su elaboración, de manera que el contenido nutricional del producto dependerá del aporte nutricional de la materia prima utilizada.

9. RECOMENDACIONES

Se recomienda adicionar algunos materiales como roca fosfórica o sales minerales de zinc, magnesio, cobre, hierro, cobalto, o molibdeno, en el proceso de elaboración de los bioles para enriquecer su contenido nutricional y comprobar el efecto de este tipo de bioles, en cultivos de ciclo corto como tomate, maíz, frijol, etc.

Realizar una caracterización e identificación de microorganismos benéficos para la agricultura (Hongos, bacterias, levaduras etc.), a partir de la cual se potencie y mejore la eficiencia en la producción y por ende en el uso de los mismos, para fines agrícolas.

Realizar investigaciones sobre el efecto del uso del biosol obtenido como una alternativa de material enriquecedor en el proceso de compostaje, el cual puede favorecer el crecimiento y desarrollo de las plantas, ayudando a mejorar las propiedades físicas y químicas del suelo.

Debido a la poca información científica que se encuentra reportada para estos procesos, se recomienda continuar con otras investigaciones, ya que los bioles se pueden convertir en una opción muy favorable para los agricultores, por su economía, técnica, y manejo, beneficiando a los cultivos y al medio ambiente.

10. BIBLIOGRAFÍA

AGRICULTURA ORGÁNICA: UNA HERRAMIENTA PARA EL DESARROLLO RURAL SOSTENIBLE Y LA REDUCCIÓN DE LA POBREZA. (1: 19 – 21, Mayo, 2003: Turrialba, Costa Rica). Memoria del taller. Turrialba: FAO, FIDA, RUTA & CATIE, 2003. 111 p.

ÁLVAREZ, E; VÁZQUEZ, A.; CASTELLANOS, J. Z. y CUETO, J. Efectividad biológica de abonos orgánicos en el crecimiento de trigo. En: Terra Latinoamericana. Abril-junio, 2006. vol 24, no 2, p. 261-268.

ARAÚJO, S; SILVA, I; TACAO, M; PATINHA, C; ALVES, A & HENRIQUES, I. Characterization of antibiotic resistant and pathogenic *Escherichia coli* in irrigation water and vegetables in household farms. En: International Journal of Food Microbiology. 2017. vol 257, p. 192–2017.

ARMENTA, A; GARCÍA, C; CAMACHO, R; APODACA, M. Á; GERARDO, L. y NAVA, E. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. En: Ra Ximhai. Enero – Abril, 2010. vol 6, no 1, p. 51-56.

AROSEMA, E; CALVO, M; MANTECA, L; ORDÓÑEZ, G; PONSÁ, Felix; PONTES, M; ZEKARIA, D. y ADELANTADO, C. La *Salmonella*, de actualidad desde siempre. Editorial Real Escuela de Avicultura, 2008. 13-21 p. ISBN 10: 8492097876.

BIZZOZERO, F. Biofertilizantes nutriendo cultivos sanos. Montevideo (Uruguay): Centro Uruguayo de tecnologías apropiadas (CEUTA), 2006, 31 p.

BOUALLAGUI, H; TOUHAMI, Y; CHEIKH, R Ben & HAMDÍ, M. Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. En: Process Biochemistry. 2005. vol 40, p. 989–995.

BRAVO, I. & GIRALDO, E. Manual de prácticas de química agrícola: análisis de suelos. 2003. Universidad del Cauca. p. 77.

BRIGGS J. Green Revolution. En: International Encyclopedia of Human Geography. 2009. p. 634 – 638.

CALDERÓN, J. La política de fomento a la agricultura orgánica. En: El Cotidiano.. 2006; vol 21, no 138, p. 101–6.

CAMPO, A; ACOSTA, R. L; MORALES, S y PRADO, F. Evaluación de microorganismos de montaña (mm) en la producción de acelga en la meseta de Popayán. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 2014. vol 12, no 1, p. 79-87.

CAMPOS, M; BELTRÁN, L. F; MURILLO, B; BELTRÁN, F. A; GARCÍA, J. y VALDEZ, R. Agotamiento hidro-agrícola a partir de la Revolución Verde: extracción de agua y gestión de la tecnología de riego en Baja California Sur, México. En: Estudios Sociales. Octubre,2010. vol 18, no 36, p. 180-201.

CANFORA, L.; MALUSÀ, E.; SALVATI, L.; RENZI, G.; PETRARULO; M.; BENEDETTI; A. Short-term impact of two liquid organic fertilizers on *Solanum lycopersicum* L. rhizosphere Eubacteria and Archaea diversity. En: Applied Soil Ecology. 2015. vol 88, p. 50–59.

CECCON, E. La revolución verde tragedia en dos actos. En: Ciencias. septiembre, 2008. vol 1, no 91, p. 21-29.

CÉSPEDES, M. Campo Agricultura Ecológica: Principios y Manejo Sustentable del Suelo. En: Primer Simposium Internacional de Agricultura Ecológica. Memorias. Obregón, Sonora, México. Institución Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 2009. 23 p.

CHIARI, P; VILLANUEVA, C. y JANET, A. Evaluación de forrajes enriquecidos con microorganismos de montaña en la producción y calidad de leche caprina. Tesis de Magister en Agroforestería Tropical. Turrialba: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, 2015. 13, 14 p.

COLOMBIA. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL, DIRECCION DE DESARROLLO SECTORIAL SOSTENIBLE/ORGANIZACIÓN DE CONTROL AMBIENTAL Y DESARROLLO EMPRESARIAL OCADE. Gestión integral de residuos o desechos peligrosos. Bases conceptuales. Bogotá D. C. : Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 2007. 10 -17 p.

CRIOLLO, H; LAGOS, T; PIARPUEZAN, E. and PÉREZ, R. The effect of three liquid bio-fertilizers in the production of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata). En: Agronomía Colombiana. 2011. vol 29, no 3, p. 415-421.

DE AQUINO, A. & LINHARES DE ASSIS, R. AGRICULTURA ORGÂNICA EM ÁREAS URBANAS E PERIURBANAS COM BASE NA AGROECOLOGIA. En: Ambiente & Sociedades Campinas. Junio, 2007. vol 10, no 1, p. 137-150.

DIAZ DE SANTOS, X; LOPEZ M; MAGRI, A; MAÑÁ, F; MOLINA, J; POMBO DE LA TORRE, S; PUIG, R; RIGOLA, M; ROCA, M; SOLIVA, M. y MENENDES, J. B. Residuos sólidos urbanos y fangos de depuradora. 2ª ed. Editorial Diaz de Santos Xavier Elias, 2009. 679, 741 p.

ELIANE C. La revolución verde tragedia en dos actos. En: Ciencias. 2008. vol 1, no 91, p. 21–29.

FAJARDO, E. & SARMIENTO, S. Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*. Trabajo de grado Microbiólogo Industrial. Bogotá D. C. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. 2007. 120 p.

FAO-NOTICIAS: El uso de fertilizantes sobrepasará los 200 millones de toneladas en 2018. 2017. [online]. Available at: <http://www.fao.org/news/story/es/item/277654/icode/> [Accessed 16 Oct. 2017].

FERTILIZACIÓN FOLIAR: PRINCIPIOS Y APLICACIONES. (02, 2002: Universidad de Costa Rica). Memorias: Gloria Meléndez & Eloy Molina, 2002. 26 – 35 p.

FRANZLUEBBERS, A. Organicresidues, decomposition. En: Encyclopedia of Soils in the Environment. 2005. p. 112–118.

GAMBOA, C., BELTRÁN, P., MOLANO, J. & COBOS J. Efecto de los fertilizantes orgánicos líquidos fermentados en la conductividad eléctrica y concentración de micronutrientes en el suelo cultivado con *Lactuca sativa L* y *Spinnacca oleraceae L*. En: V Congreso latinoamericano de agroecología. Menorías. La Plata, Argentina. 2015. p. 1 – 5. ISBN 978-950-34-1265-7.

GORDÓN, P. & YAMBAY, J. Utilización del suero de leche para la elaboración de abono orgánico (biol). Trabajo de grado Ingeniero en Desarrollo Integral Agropecuario. Tulcán, Ecuador. Escuela de desarrollo integral agropecuario. Facultad de industrias agropecuarias y ciencias ambientales, 2013. 150 p.

HERATH, C. S., & WIJEKOON, R. Study on attitudes and perceptions of organic and non-organic coconut growers towards organic coconut farming. En: Idesia. 2013. vol 31, no 2, p. 5–14.

HERAZO, R & MORELO, C. M. Evaluación del crecimiento vegetativo, rendimiento y calidad del cultivo de pasto guinea mombaza (*Panicum maximun*, jacq) bajo cuatro fuentes de abonamientos en la finca Pekín, municipio de Sincé, Sucre - Colombia. Trabajo de grado Zootecnista. Sincelejo: Universidad de Sucre. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Programa de Zootecnia, 2008. 34 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE BIENESTAR FAMILIAR, ICBF. Tabla de composición de alimentos colombianos (TCAC). Universidad Nacional de Colombia, 2015. ISBN: 978-958-623-186-2.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Industrias alimentarias e industrias de bebidas. melaza de caña. NTC 587. Bogotá D. C.: El instituto, 2003. 6 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Fertilizantes. Determinación de Boro, Calcio, Cobalto, Cobre, Hierro, Manganeso, Molibdeno, Níquel, Silicio y Zinc por Absorción Atómica. NTC 1369. Bogotá D. C.: El instituto, 2009. 7 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Productos para la industria agrícola. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas o acondicionadores de suelo. NTC 5167. Bogotá D. C.: El instituto, 2011. 32 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Fertilizantes. Análisis físicos. NTC 5527. Bogotá D. C.: El instituto, 2007. 14 p.

INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA IMTA. MANUAL No. 7 Determinación de Coliformes Fecales. 1ª ed. 1991. 8 p.

ISAZA, G., PERÉZ, M., LAINES, J. & CASTAÑÓN, G. Comparación de dos técnicas de aireación en la degradación de la materia orgánica. En: Universidad y Ciencia. 2009. vol 25, no 3, p. 233-243.

ITO, S. & SOTO, G. Caracterización y Evaluación de los factores que determinan la calidad nutricional e inocuidad en la producción de fertilizantes orgánicos fermentados. Tesis de Magister en Agricultura ecológica. Turrialba-Costa Rica:Centro Agrónomo Tropical de Investigación y Enseñanza. 2006. 1, 2, 8, 10, 12 p.

LEBLANC, H., CERRATO, M., MIRANDA, A., & VALLE, G. Determinación de la calidad de abonos orgánicos a través de bioensayos. En: Tierra Trop. 2007. vol 3, no 1, p. 97-107.

LEVIN, A. & GEALT, M. Biotratamiento de residuos tóxicos y peligros. Madrid: McGraw-Hill. 1998. 70, 741. p.

LORENZO, Y. & OBAYA, M. C. La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. En: ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar. 2005. vol XXXIX, no 1, p. 35-48.

LUTTIKHOLT, L.W.M. Principles of organic agriculture as formulated by the International Federation of Organic Agriculture Movements. En: NJAS – Wagening en Journal of Life Sciences. 2007. vol 54, no 4, p. 347 -360.

MARTÍ, Nuria. Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process by Nuria Martí Ortega. Boca Raton, Florida: DISSERTATION.COM, 2006. 3 p. ISBN: 1-58112- 332-9.

MONROY, F.; AIRA, M.; DOMÍNGUEZ, J. Reduction of total coliform numbers during vermicomposting is caused by short-term direct effects of earth worms on microorganisms and depend son the do se of application of pigs lurry. En: Science of the Total Environment. 2009. vol 407, p. 5411–5416.

MUÑOZ, F. Implementación y validación de una metodología analítica para la determinación de mercurio (Hg) por espectroscopia de absorción atómica-vapor frio en el laboratorio ambiental de la corporación autónoma regional del Cauca C.R.C. S. Trabajo de grado Químico. Popayán, Cauca. Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. 2016. 83 p.

NINCO, F., & SANCHÉZ, J. Propuesta para la producción de abono orgánico mediante el compostaje de los residuos sólidos del municipio el Rosal, Cundinamarca. Trabajo de grado Ingeniero Químico. Bogotá D. C. Fundación Universidad de América, Facultad de Ingenierías. 2017. 150 p.

NUTIU, E. Anaerobic purification installation with production of biogas and liquid fertilizers. En: Procedia Technology. 2014. vol 12, p. 632–636.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO) Y ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Codex Alimentarius: Alimentos producidos orgánicamente. 2 ed. Roma, 2005. 2-3 p.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. Agricultura Orgánica, Ambiente y Seguridad Alimentaria. Roma, 2003. 3 p. ISBN 92-5-304819-0.

PASCUAL, M; CALDERÓN, V. Microbiología alimentaria. 2ª ed. Madrid: Diaz de Santos, 2000. 17 p. ISBN 84-7978-424-5.

PERALTA, L.; JUSCAMAITA, J. & MEZA V. Obtención y caracterización de abono Orgánico Líquido a través del tratamiento de excretas del ganado vacuno de un establo lechero usando un consorcio microbiano ácido láctico. En: Ecología Aplicada. Julio, 2016. vol 15, no 1, p. 1-10.

PLAZAS, N. & GARCÍA, J. F. Los abonos orgánicos y la agremiación campesina: una respuesta a la agroecología. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 2014. vol 12, no 2, p. 170–6.

POOLMAN, J. Escherichiacoli. En: International Encyclopedia of PublicHealth, 2ª Ed. 2017. vol 2, p. 585-593.

PORTOCARRERO, A. & OROZCO, J. Análisis comparativo de tres sustratos orgánicos, en el desarrollo de plantulas de café de la variedad castillo. Tesis de Magister en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente. Manizales: Universidad de Manizales, 2014. 18-19 p.

PYMERURAL & PRONAGRO. Abonos Orgánicos. 2011. [online] Available at: <http://www.metrocert.com/files/abonos%20organicos%2024-05-2011.pdf>. [Accessed 24 Oct. 2017].

QUINDE, F. & ACURIO, L. Evaluación de la incidencia de la aplicación foliar de un biofertilizante elaborado a base de frutas en el nivel de clorofila a y b y en la calidad del follaje de tomate riñón (*Solanum lycopersicum L.*), fresa

(*Fragaria vesca*), y rosas (*Rosae sp.*). Trabajo de Ingeniera Bioquímica. Ambato (Ecuador). Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias e Ingeniera en Alimentos. 2014. 165 p.

RAMOS, D. & TERRY, E. Generalidades de los abonos orgánicos: importancia del bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas. En: Cultivos Tropicales. Diciembre, 2014. vol. 35, no 4, p. 52-59.

RIVAS, S., & GIRALDO, C. I. Manual práctico de microbiología básica. 2015. Universidad del Cauca. p. 60.

ROBALINO, S. Evaluación de la Actividad Biológica y Nutricional del Biol en Diferentes Formulaciones y la Respuesta a su Aplicación en Cultivos de Arroz (*Oriza sativa*) y Maíz (*Zae mays*), en Guayas. Tesis de Magister en Biotecnología Agrícola con mención en Agricultura Orgánica. Guayaquil, Ecuador. Escuela Superior Politécnica del Litoral. 2011. 53 p.

RODRIGUEZ, A., NOVOA, M. DEL C., & MIERES, M. Determinación de coliformes totales y *E. coli* en aguas utilizando el Fluorocult LMX (MERCK) II. Valoración económica. En: Ingeniería Hidráulica Y Ambiental. 2003. vol 24, no 3, p. 22–29.

ROMERO, A. y PEREDA, I. Biofertilizantes a partir de residuos agrícolas. 2017. Anon, (2017). [online] Available <http://www.cubasolar.cu/biblioteca/ecosolar/Ecosolar49/HTML/Articulo06N.htm> I [Accessed 16 Oct. 2017].

SADEGHIAN, S. Efecto de la fertilización con nitrógeno, fósforo, potasio y magnesio sobre las propiedades químicas de suelos cultivados en café. En: Cenicafé. 2003. vol 54, no 3, p. 242-257.

SADEGHIAN, S. Fertilidad del suelo y nutrición del café en Colombia. Cenicafé. 32 Bolet. Chinchiná, Caldas.; 2008. 6 p. ISSN 0120-047 X.

SALDARRIAGA, J. F. Compuestos orgánicos volátiles (VOCs) en el proceso de compostaje de los residuos sólidos urbanos con separación en la fuente y su efecto en la salud Humana. Tesis de Magister en Ingeniería Urbana. Medellín, Colombia. Universidad de Medellín, Facultad de Ingenierías. 2009. 90 p.

SÁNCHEZ, J.; SERRANO, S.; MARFIL, R. & JODRAL, M. Patógenos emergentes en la línea de sacrificio de porcino: fundamentos de seguridad

alimentaria. Madrid: Ediciones Díaz de santos, S.A, 2009. 55 p. 978-84-7978-566-6.

SANTOS, A & MANJARREZ, D. Fertilización foliar, un respaldo importante en el rendimiento de los cultivos. En: Terra Latinoamericana. 1999. vol 17, no 3, p. 247-255.

SEGURA, F; ECHEVERRI, R y MEJÍA, A. DELIGNIFICACIÓN SELECTIVA DEL PASTO *Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides* USANDO BASIDIOMICETOS LIGNINOLÍTICOS. En: Vitae. 2008. vol 15, no 1, p. 41-50.

SHORTRIDGE, J. The emergence of agricultural science: Justus Liebig and the Americans, 1840–1880: MARGARET W. ROSSITER, (New Haven and London: Yale University Press, 1975. Pp. xiv + 275. \$15-00). En: Journal of Historical Geography. January, 1978. vol 4, no1, p. 92-93.

SORIA, M., FERRERA, R., ETCHEVERS, J., GONZÁLEZ, A., SANTOS, J., BORGES, L. & PEREYDA, G. Producción de biofertilizantes mediante biodigestión de excreta líquida de cerdo. En: Terra. 2001. vol 19, no 4, p. 353-362.

SUÁREZ, D. & BONILLA, C. Caracterización de un compuesto orgánico producido en forma artesanal por pequeños agricultores en el departamento del Magdalena. Tesis de Magister en Ciencias Agrarias con Énfasis en Suelos. Santa Marta: Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira convenio con la Universidad del Magdalena, 2009. 19, 30 p.

SUCHINI, J. Innovaciones agroecológicas para una producción agropecuaria sostenible en la región del Trifinio. San José (Costa Rica): Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), 2012, 40 p.

TAPIA, M. & FRIES, A. Guía de campo de los cultivos andinos. Lima, 2007. 198 p. ISBN 978-92-5-305682-8.

TIMILSENA, Y; ADHIKARI, R; CASEY, P; MUSTER, T; GILL, H. and ADHIKARI, B. Enhanced efficiency fertilisers: a review of formulation and nutrient release patterns. En: J Sci Food Agric. 2015. vol 95, p. 1131–1142.

TROYO, E; CRUZ, A; NORZAGARAY, M; BELTRÁN, L. F; MURILLO, B; BELTRÁN, F. A; GARCÍA, J. y VALDEZ, R. D. Agotamiento hidro-agrícola a partir de la Revolución Verde: extracción de agua y gestión de la tecnología

de riego en Baja California Sur, México. En: Estudios Sociales. Octubre,2010. vol 18, no 36, p. 180-201.

UNIDAD DE PLANIFICACIÓN RURAL AGROPECUARIA, UPRA. Lineamientos de agricultura familiar con base agroecológica. Bogotá D. C.: Imprenta Nacional, 2014. 16-21 p. ISBN: 978-958-59189-0-0.

VALENCIA, E. & RAMIREZ, L. La industria de la leche y la contaminación del agua. En: Elementos. 2009. vol 73, p. 27–31.

VEGA DE KUYPER, J. C. Manejo de Residuos de la Industria Química y Afín. 2ª ed. Santiago de Chile.: Ediciones Universidad Católica de Chile, 1999. 107 p.

WU, Y.; ZHAO, C.; FARMER, J. & SUN, J. Effects of bio-organic fertilizer on pepper growth and Fusarium wilt biocontrol. En: Scientia Horticulturae. 2015. vol 193, p. 114–120.

YAO, Z; YANG, L; WANG; H, WU; J.& XU, J. Fate of *Escherichia coli* O157: H7 in agricultural soils amended with different organic fertilizers. En: Journal of Hazardous Materials. 2015. vol 296, p. 30–36.

YILMAZ, E. & SÖNMEZ, M. The role of organic/bio–fertilizer amendment on aggregate stability and organic carbon content in different aggregate scales. En: Soil & Tillage Research. 2017. vol 168, p.118–124.

ZAGOYA, J., OCAMPO, J., OCAMPO, I., MACÍAS, A. & DE LA ROSA P. Caracterización fisicoquímica de biofermentados elaborados artesanalmente. En: Rev Ciencias biológicas y la Salud. 2015. vol 17, no 1, p.14–9.

ZHANG, N; PANB, R; SHENA, Y; YUANA, J; WANGA, L; LUOA, X; RAZAA, W; LINGA, N; HUANGA, Q and SHEN, Q. Development of a novel bio-organic fertilizer for plant growth promotion and suppression of rhizomerot in ginger. En: Biological Control. 2017. vol 114, p. 97–105.

ANEXOS

ANEXO A

Tabla 1. Prueba de ANOVA para los tratamientos en función de la temperatura y el tiempo de fermentación.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tiempo (días)	Entre grupos	,000	3	,000	,000	1,000
	Dentro de grupos	16894,588	200	84,473		
	Total	16894,588	203			
Temperatura (°C)	Entre grupos	1,017	3	,339	,271	,846
	Dentro de grupos	250,349	200	1,252		
	Total	251,366	203			

Tabla 2. Prueba de ANOVA para los tratamientos T1 – T4 en función del pH.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,347	3	,116	15,488	,000
Dentro de grupos	1,494	200	,007		
Total	1,841	203			

Tabla 3. Prueba de Tukey para los tratamientos T1 – T4 en función del pH.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
T1	51	3,5996	3,7122
T3	51	3,6306	
T2	51	3,6398	
T4	51		
Sig.		,091	1,000

Tabla 4. Correlaciones de Pearson del pH en función de los tratamientos y el tiempo de fermentación

		Tratamiento	Tiempo (días)	pH
Tratamiento	Correlación de Pearson	1	,000	,762**
	Sig. (bilateral)		1,000	,000
	N	72	72	72
Tiempo (días)	Correlación de Pearson	,000	1	,503**
	Sig. (bilateral)	1,000		,000
	N	72	72	72
pH	Correlación de Pearson	,762**	,503**	1
	Sig. (bilateral)	,000	,000	
	N	72	72	72

ANEXO B

Tabla 1. Prueba de Tukey T1, C.E con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
5	3	11,4833		
10	3		12,0700	
20	3		12,0933	
25	3		12,1400	
15	3		12,4633	12,4633
30	3			12,6600
Sig.		1,000	,081	,651

Tabla 2. Prueba de Tukey T2, C.E con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
5	3	11,6433				
10	3		12,0500			
20	3		12,2467	12,2467		
25	3			12,4300	12,4300	
15	3				12,6633	12,6633
30	3					12,7900
Sig.		1,000	,311	,378	,173	,723

Tabla 3. Prueba de Tukey T3, C.E con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
10	3	9,9900		
5	3		11,4500	
25	3			12,2000
20	3			12,2767
15	3			12,4167
30	3			12,5767
Sig.		1,000	1,000	,068

Tabla 4. Prueba de Tukey T4, C.E con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
5	3	11,7267	
10	3	11,8567	
15	3		12,4700
25	3		12,5267
20	3		12,6133
30	3		12,7600
Sig.		,916	,311

Tabla 5. Prueba de ANOVA para T1 – T4, con respecto a la C.E.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8,820	3	2,940	9,005	,000
Conductividad Eléctrica (mS/cm) Dentro de grupos	69,210	212	,326		
Total	78,030	215			

Tabla 6. Prueba de Tukey para los tratamientos T1 – T4 en función de la C.E.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
T3	54	11,8207	
T1	54		12,1550
T2	54		12,3052
T4	54		12,3256
Sig.		1,000	,409

Tabla 7. Correlaciones de Pearson del C.E en función de la relación C/N.

		Tratamiento	Tiempo (días)	Conductividad Eléctrica (mS/cm)	Relación C/N
Conductividad Eléctrica (mS/cm)	Correlación de Pearson	,005	,644**	1	-,486**
	Sig. (bilateral)	,941	,000		,000
	N	216	216	216	216
Relación C/N	Correlación de Pearson	-,054	-,463**	-,486**	1
	Sig. (bilateral)	,430	,000	,000	
	N	216	216	216	216

Tabla 8. Prueba de Tukey T1, C.O con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
30	9	6613,8744	
25	9	6637,5311	
10	9	6782,3222	
20	9	6973,4644	
5	9		8450,1078
15	9		8457,5589
Sig.		,306	1,000

Tabla 9. Prueba de Tukey T2, C.O con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
30	9	6052,4867		
25	9	6382,1544		
10	9		6959,7733	
20	9		7391,6356	
15	9			8065,2244
5	9			8481,3311
Sig.		,230	,051	,066

Tabla 10. Prueba de Tukey T3, C.O con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
30	9	5649,4042				
10	9		6158,9183			
25	9		6436,1333	6436,1333		
20	9			6478,5550		
15	9				7036,9533	
5	9					8816,9075
Sig.		1,000	,093	,998	1,000	1,000

Tabla 11. Prueba de Tukey T4, C.O con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
30	9	6189,8611			
10	9	6427,8944	6427,8944		
20	9		6691,5544		
25	9		6728,7178		
15	9			7691,1922	
5	9				8286,5256
Sig.		,450	,204	1,000	1,000

Tabla 12. Prueba de ANOVA para T1 – T4, con respecto a la C.O.

CO (mg/L)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	9932355,510	3	3310785,170	3,968	,009
Dentro de grupos	176876015,862	212	834320,830		
Total	186808371,372	215			

Tabla 13. Prueba de Tukey T1 – T4, C.O con respecto al contenido de CO.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
T3	54	6762,8128	
T4	54	7002,6243	7002,6243
T2	54		7222,1009
T1	54		7319,1431
Sig.		,523	,276

Tabla 14. Correlaciones de Pearson del C.O en función tiempo.

		Tiempo	CO
Tiempo (días)	Correlación de Pearson	1	-,659**
	Sig. (bilateral)		,000
	N	54	54
CO	Correlación de Pearson	-,659**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	N	54	54

Tabla 15. Prueba de Tukey T1, NT con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
25	6	1,2517		
15	6	1,4365	1,4365	
30	6	1,4531	1,4531	
20	6	1,4546	1,4546	
5	6		1,6402	
10	6			2,0562
Sig.		,111	,108	1,000

Tabla 16. Prueba de Tukey T2, NT con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
15	6	1,3269	
30	6	1,4037	1,4037
20	6	1,4558	1,4558
25	6	1,4598	1,4598
5	6		1,5004
10	6		1,5143
Sig.		,075	,197

Tabla 17. Prueba de Tukey T3, NT con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
10	6	1,0161		
5	6	1,0482		
20	6		1,4404	
30	6		1,4474	
25	6		1,4627	
15	6			1,8866
Sig.		,331	,705	1,000

Tabla 18. Prueba de Tukey T4, NT con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
10	6	1,1967			
25	6		1,4564		
30	6		1,4800		
15	6		1,5500	1,5500	
5	6			1,5990	
20	6				1,9106
Sig.		1,000	,076	,673	1,000

Tabla 19. Prueba de Tukey para los tratamientos T1 – T4 en función de la NT.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
T3	36	1,3835	
T2	36	1,4435	1,4435
T4	36		1,5321
T1	36		1,5487
Sig.		,711	,246

Tabla 20. Prueba de Tukey T1, C/N con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
15	6	1,4365		
10	6		3,3101	
30	6			4,5529
20	6			4,7186
5	6			5,1824
25	6			5,5361
Sig.		1,000	1,000	,152

Tabla 21. Prueba de Tukey T2, C/N con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
30	6	4,3121		
25	6	4,3453		
10	6	4,7361		
20	6	4,9223	4,9223	
5	6		5,6586	5,6586
15	6			6,0813
Sig.		,200	,075	,580

Tabla 22. Prueba de Tukey T3, C/N con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
15	6	3,7308		
30	6	4,0192		
20	6	4,2664		
25	6	4,4000		
10	6		6,0641	
5	6			8,0150
Sig.		,244	1,000	1,000

Tabla 23. Prueba de Tukey T4, C/N con respecto al tiempo de fermentación

Tiempo (días)	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
20	6	3,5024			
30	6		4,1837		
25	6		4,6768	4,6768	
15	6			4,9624	4,9624
5	6			5,1973	5,1973
10	6				5,3977
Sig.		1,000	,099	,072	,185

ANEXO C

Tabla 1. Prueba de Tukey T1 – T4, con respecto al contenido de N (mg/L)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
T3	9	1440,4000		
T2	9		1454,6222	
T1	9		1455,8111	
T4	9			1910,6111
Sig.		1,000	,989	1,000

Tabla 2. Prueba de Tukey T1 – T4, con respecto al contenido de P (mg/L)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
T3	9	123,2778	
T1	9	124,5333	
T2	9	129,3111	
T4	9		254,2222
Sig.		,469	1,000

Tabla 3. Prueba de Tukey T1 – T4, con respecto al contenido de Ca (mg/L)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
T3	9	977,2444		
T1	9		1036,4778	
T2	9		1071,8444	1071,8444
T4	9			1094,5333
Sig.		1,000	,142	,498

Tabla 4. Prueba de Tukey T1 – T4, con respecto al contenido de Mg (mg/L)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
T3	9	389,9667	439,3889	495,0889
T1	9			
T2	9			
T4	9			
Sig.		1,000	,463	1,000

Tabla 5. Prueba de Tukey T1 – T4, con respecto al contenido de Fe (mg/L).

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
T1	9	16,3222	19,1544	25,3456	37,5256
T2	9				
T3	9				
T4	9				
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Tabla 6. Prueba de Tukey T1 – T4, con respecto al contenido de Zn (mg/L)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
T3	9	3,7533	4,9344	5,4311	10,0856
T2	9				
T1	9				
T4	9				
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Tabla 7. Prueba de Tukey T1 – T4, con respecto al contenido de Mn (mg/L).

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
T2	9	1,7033			
T3	9		2,0800		
T1	9			2,4444	
T4	9				5,1167
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Tabla 8. Prueba de Tukey T1 – T4, con respecto al contenido de K (mg/L).

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
T4	9	2968,2667			
T3	9		3102,8444		
T1	9			3186,1778	
T2	9				3280,5444
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000