



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“PRODUCCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DEL
BIOL DE LA EMMAIPC-EP, CAÑAR, A PARTIR DE RESIDUOS
ORGÁNICOS URBANOS, EN PASTIZALES GANADEROS”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORAS: CATAGÑA CHASIPANTA ALICIA JAZMÍN
NOBOA TAPIA DIANA PAMELA
TUTOR: ING. BYRON DÍAZ MONROY, Ph.D

Riobamba - Ecuador

2016

©2016, Alicia Jazmín Catagña Chasipanta; Diana Pamela Noboa Tapia

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: “PRODUCCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DEL BIOL DE LA EMMAIPC-EP, CAÑAR, A PARTIR DE RESIDUOS ORGÁNICOS URBANOS, EN PASTIZALES GANADEROS”, de responsabilidad de las señoritas Alicia Jazmín Catagña Chasipanta y Diana Pamela Noboa Tapia, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

ING. BYRON DÍAZ, PhD

DIRECTOR DE TRABAJO

DE TITULACIÓN

ING. JUAN CARLOS GONZALEZ

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Nosotras, Alicia Jazmín Catagña Chasipanta y Diana Pamela Noboa Tapia, declaramos que el presente trabajo de titulación es de nuestra autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autoras, asumimos la responsabilidad legal y académicas de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 03 de febrero de 2016.

Alicia Jazmín Catagña Chasipanta
150066539-1

Diana Pamela Noboa Tapia
060323721-5

Nosotras, Alicia Jazmín Catagña Chasipanta y Diana Pamela Noboa Tapia somos responsables de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Proyecto de Titulación y el patrimonio intelectual del Proyecto de titulación, pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

ALICIA JAZMÍN CATAGÑA CHASIPANTA

DIANA PAMELA NOBOA TAPIA

DEDICATORIA

- El presente proyecto de titulación está dedicada a Dios por las bendiciones que día a día he recibido sin falta alguna, ya que cada paso universitario me ha llenado de fuerza, coraje y voluntad y gracias a él he logrado concluir mi carrera universitaria.
- *A mis amados padres Polivio Catagña y Teresa Chasipanta*, quienes con su lucha diaria me han sabido apoyar en todo momento, sin dejar a un lado su amor, cariño y esperanza; por sus consejos, por sus palabras emotivas que no me han dejado vencer y sobre todo por ser ejemplo de constancia y perseverancia para así cumplir con éxito mis ideales.
- *A mi hermana Belén Catagña* quien ha sido mi fuente de inspiración, motivación e incentivo para lograr esta meta y para que la vida nos depare un futuro mejor; promoviendo hacia ella la virtud del aprendizaje y formación profesional.
- *A mis familiares y amigos*, que siempre estuvieron dispuestas a brindarme su apoyo y sus consejos en todo el camino de esta etapa, con todo cariño esta tesis se las dedico a ustedes.

“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar” **Thomas Chalmers**

Alicia

- Todo gran logro nace como una idea y se forja hasta ser una realidad, dedico este trabajo de titulación *a Dios* por ser quién me ha dado todo lo que hasta hoy conozco.
- *A mi padre Luis* por enseñarme el valor de la responsabilidad y humildad, *a Ximena* mi madre por ser una mujer luchadora que ha sembrado en mi amor y bondad, estoy segura de trascender y dejar un legado de amor, trabajo y lucha.
- *A mis hermanos Patricio, Gaby, Luis y Dennyse* porque llenan mi vida de felicidad y han estado presentes en cada momento de mi vida, aprendo de ustedes, y son mi gran ejemplo de superación. *A mis abuelitos* por enseñarme que nunca dejas de aprender.
- *A mi amiga y compañera Ali* por haber compartido juntas esta trayectoria, momentos que nunca olvidaré.
- Todo esfuerzo, sacrificio y alegrías han valido la pena sin olvidar que *Yo soy una líder amorosa, responsable, luchadora y libre*, que no se rendirá hasta cumplir sus sueños

“A veces sentimos que lo que hacemos es tan solo una gota en el mar, pero el mar sería menos si le faltara una gota” **Madre Teresa de Calcuta**

Diana

AGRADECIMIENTO

Estamos agradecidas con Dios por haber guiado nuestro caminar durante la vida universitaria, llenándonos de sabiduría y fortaleza para cumplir uno de los tantos propósitos profesionales que tenemos planteado alcanzar.

A nuestros queridos padres reconocerlos por confiar en nosotras y tener esa predisposición de apoyarnos sin falta alguna, brindándonos su amor y paciencia incondicional y ser nuestra inspiración y ejemplo para alcanzar esta meta.

A nuestros hermanos por enseñarnos que no hay límites para los sueños, que con dulzura y firmeza seremos capaces de trascender; siendo un ejemplo a seguir, tomando decisión y rompiendo barreras seremos mujeres y hombres de bien.

Agradecemos a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por haber forjado en nosotras valores de responsabilidad, visión, liderazgo e investigación, por medio de los docentes comprometidos en enaltecer esta grata institución.

Al Ingeniero Byron Díaz, por acogernos y brindarnos su confianza día a día, para el desarrollo de este proyecto de titulación, de igual manera al Ing. Juan Carlos González por su guía y colaboración.

A la empresa EMMAIPC-EP, por darnos la apertura para la realización de este proyecto, en especial a su gerente Ing. Ramiro Padilla, forjando espacios de vinculación universitarios, para apostar al desarrollo del Ecuador.

Al Equipo de LABIMA, por habernos permitido realizar nuestro trabajo en un ambiente acogedor, por tener la predisposición de colaborar y aprender junto a nosotras, creando lazos fraternos.

A nuestros amigos por brindarnos su apoyo desinteresado y formar parte de nuestra vida.

Alicia y Diana

TABLA DE CONTENIDO

	Páginas
RESUMEN	xx
SUMMARY	xxi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1. Los residuos sólidos en el Ecuador	3
<i>1.1.1. Generación de residuos sólidos</i>	3
<i>1.1.2. Composición de residuos sólidos en el Ecuador</i>	4
<i>1.1.3. Impacto de los residuos sólidos</i>	5
<i>1.1.3.1. Contaminación atmosférica</i>	5
<i>1.1.3.2. Afecciones a la flora y fauna</i>	5
<i>1.1.3.3. Contaminación de los recursos hídricos</i>	6
<i>1.1.3.4. Contaminación del suelo</i>	6
<i>1.1.3.5. El aspecto socio-cultural tiene un papel crítico en el manejo de los residuos</i>	6
<i>1.1.3.6. Amenazas a la salud de la población</i>	7
<i>1.1.4. Manejo de residuos sólidos en el Ecuador</i>	7
<i>1.1.5. Tratamientos y aprovechamiento</i>	8
1.2. Los residuos sólidos en la zona de influencia del proyecto	10
<i>1.2.1. Caracterización de los residuos sólidos</i>	10
<i>1.2.2. Gestión Integral de Residuos Sólidos EMMAIPC-EP</i>	11
<i>1.2.2.1. Plan de educación ciudadana para la gestión integral de residuos sólidos</i>	11
<i>1.2.3. Tratamiento de los Residuos Sólidos Urbanos EMMAIPC-EP</i>	11
1.3. Biol	12
<i>1.3.1. Materias Primas</i>	12
<i>1.3.2. Características del biol</i>	13
<i>1.3.3. Composición del Biol</i>	13
<i>1.3.4. Microorganismos Eficientes EM</i>	14
<i>1.3.4.1. El uso de EM en agricultura tiene efectos positivos</i>	15
<i>1.3.4.2. Composición microbiológica</i>	16
<i>1.3.4.3. Usos</i>	16
<i>1.3.5. Usos del biol</i>	17
<i>1.3.6. Tecnologías de producción de biol</i>	18
<i>1.3.6.1. Biodigestor</i>	18

1.3.6.2.	<i>Tipos de Biodigestores:</i>	19
1.4.	Uso y evaluación de bioles en la fertilización orgánica de plantas	20
1.4.1.	<i>Descripción agrobotánica de la alfalfa (Medicago sativa)</i>	20
1.4.1.1.	<i>Genero Medicago</i>	20
1.4.2.	<i>Descripción organográfica</i>	21
1.4.3.	<i>Requerimientos ambientales</i>	22
1.4.4.	<i>Distribución y zonas de cultivo</i>	22
1.4.4.1.	<i>Tipo de cultivo</i>	22
1.4.5.	<i>Implantación y persistencia</i>	22
1.4.6.	<i>Interés forrajero</i>	22
1.4.7.	<i>Exigencias del cultivo</i>	23
1.4.7.1.	<i>Requerimiento de Agua</i>	23
1.4.8.	<i>Exigencias de Suelo</i>	23
1.4.9.	<i>Requerimientos Edafoclimáticos</i>	23
1.4.9.1.	<i>Radiación solar</i>	23
1.4.9.2.	<i>Temperatura</i>	24
1.4.9.3.	<i>Salinidad</i>	24
1.4.10.	<i>Siembra</i>	24
1.4.11.	<i>Fertilización</i>	24
1.4.12.	<i>Trabajos realizados con Bioles aplicados en plantas.</i>	25
1.5.	Importancia biofertilizantes	26
1.5.1.	<i>Importancia económica</i>	26
1.5.2.	<i>Importancia ecológica</i>	28
1.5.3.	<i>Importancia social</i>	29
1.5.4.	<i>Uso de biofertilizantes</i>	30
1.6.	Empresa Pública Municipal Mancomunada de Aseo Integral del Pueblo Cañari	30
1.6.1.	<i>Integrantes</i>	31
1.6.2.	<i>Misión</i>	32
1.6.3.	<i>Visión</i>	32
1.6.4.	<i>Objetivos</i>	32
1.6.5.	<i>Estructura</i>	33
1.6.6.	<i>Ubicación</i>	34
CAPÍTULO II		36
2.	MARCO METODOLÓGICO	36
2.1.	Lugar del proyecto	36
2.2.	Proceso de producción del Biol	37

2.2.1.	Cantidad de materia orgánica generada	37
2.2.2.	Descripción de producción.....	37
2.2.3.	Tratamiento de lixiviados para la obtención de biol.....	38
2.2.3.1.	Sistema de drenes de recolección de lixiviados.....	38
2.2.3.2.	Sistema de almacenamiento y tratamiento de lixiviados.....	39
2.2.4.	Manejo de lixiviados.....	39
2.2.5.	Materiales e insumos utilizados dentro del proceso.....	39
2.2.6.	Volumen promedio de bioles generados.....	39
2.2.7.	Diagrama de flujo.....	40
2.3.	Cuantificación de la muestra.....	41
2.3.1.	Toma de la muestra:.....	41
2.3.1.1.	Materiales.....	41
2.3.1.2.	Método.....	41
2.4.	Análisis Físicos	41
2.4.1.	Densidad	42
2.4.1.1.	Materiales.....	42
2.4.1.2.	Método.....	42
2.4.2.	Biomasa	42
2.4.2.1.	Materiales.....	42
2.4.2.2.	Método.....	43
2.4.3.	Temperatura	43
2.4.3.1.	Materiales.....	43
2.4.3.2.	Método.....	43
2.4.4.	pH.....	43
2.4.4.1.	Materiales.....	43
2.4.4.2.	Método.....	44
2.5.	Análisis Bioquímicas	44
2.6.	Análisis Microbiológicos	45
2.6.1.	<i>E. coli</i>.....	45
2.6.1.1.	Materiales.....	45
2.6.1.2.	Reactivos y muestra.....	45
2.6.1.3.	Equipo.....	45
2.6.1.4.	Método.....	46
2.6.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>.....	46
2.6.2.1.	Materiales.....	46
2.6.2.2.	Reactivos y muestra.....	47
2.6.2.3.	Equipo.....	47

2.6.2.4.	<i>Método</i>	47
2.6.3.	<i>Coliformes totales</i>	48
2.6.3.1.	<i>Materiales</i>	48
2.6.3.2.	<i>Reactivos y muestra</i>	48
2.6.3.3.	<i>Equipo</i>	48
2.6.3.4.	<i>Método</i>	49
2.6.4.	<i>Clostridium perfringens</i>	49
2.6.4.1.	<i>Materiales</i>	49
2.6.4.2.	<i>Reactivos y muestra</i>	49
2.6.4.3.	<i>Equipo</i>	49
2.6.4.4.	<i>Método</i>	50
2.6.5.	<i>Salmonella</i>	51
2.6.5.1.	<i>Materiales</i>	51
2.6.5.2.	<i>Reactivos y muestra</i>	51
2.6.5.3.	<i>Equipo</i>	51
2.6.5.4.	<i>Método</i>	51
2.6.6.	<i>Fusarium sp.</i>	52
2.6.6.1.	<i>Materiales</i>	52
2.6.6.2.	<i>Reactivo y muestra</i>	52
2.6.6.3.	<i>Equipo</i>	52
2.6.6.4.	<i>Método</i>	52
2.7.	Alternativas tecnológicas de corrección para la eliminación de la contaminación microbiana patógena.	53
2.6.7.	<i>Biológicas:</i>	53
2.6.7.1.	<i>Tricobiol - 4E (Fungicida): Trichoderma sp.</i>	53
2.6.7.2.	<i>Agro VerdeBacter (Bactericida – Fungicida – Estimulante): Bacterfín Super</i>	54
2.6.8.	<i>Filtración</i>	55
2.6.8.1.	<i>Unidad de filtración Millex-GP de 0.22 µm (Millipore).</i>	55
2.6.8.2.	<i>Filtro de membrana de 0.2 µm y papel filtro para análisis cualitativos (Rundfilter MN 615 Ø 15 cm)</i>	56
2.6.9.	<i>Térmico a 121°C</i>	57
2.6.10.	<i>Acidez: (Ácido acético, ácido Cítrico y ácido Sulfúrico).</i>	57
2.6.10.1.	<i>Ácido Cítrico</i>	58
2.6.10.2.	<i>Ácido acético</i>	58
2.6.10.3.	<i>Ácido Sulfúrico</i>	58
2.7.	Evaluación de Biol en el pasto <i>Medicago sativa</i> (Alfalfa)	59
2.7.1.	<i>Localización de la prueba de campo</i>	59

2.7.2.	<i>Tratamientos evaluados</i>	59
2.7.3.	<i>Unidades experimentales de evaluación</i>	59
2.7.3.1.	<i>Tipo del diseño</i>	59
2.7.3.2.	<i>Repeticiones</i>	60
2.7.4.	<i>Dosis aplicadas en campo</i>	60
2.7.5.	<i>Producción agronómica Medicago sativa (Alfalfa)</i>	62
2.7.5.1.	<i>Producción de Forraje verde por corte, Kg.ha⁻¹</i>	62
2.8.	Análisis Costo de aplicación	62
CAPÍTULO III		63
3.	RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	63
3.1.	Análisis, interpretación y discusión de resultados	63
3.1.1.	<i>Análisis de la densidad</i>	63
3.1.2.	<i>Análisis de la biomasa en peso</i>	63
3.1.3.	<i>Análisis del pH</i>	64
3.1.4.	<i>Análisis de la temperatura</i>	64
3.1.5.	<i>Análisis Bioquímicos del biol</i>	65
3.1.5.1.	<i>Conductividad eléctrica</i>	66
3.1.5.2.	<i>Nitrógeno</i>	66
3.1.5.3.	<i>Fósforo</i>	66
3.1.5.4.	<i>Potasio</i>	66
3.1.6.	<i>Análisis microbiológico del biol</i>	67
3.1.6.1.	<i>Para E. coli</i>	67
3.1.6.2.	<i>Para Staphylococcus aureus</i>	68
3.1.6.3.	<i>Para Coliformes totales</i>	68
3.1.6.4.	<i>Para Clostridium perfringens</i>	69
3.1.6.5.	<i>Para Salmonella</i>	70
3.1.6.6.	<i>Para Fusarium sp.</i>	71
3.2.	Tecnologías de corrección para la eliminación de la contaminación microbiana patógena	72
3.2.1.	<i>Tratamiento biológico</i>	72
3.2.2.	<i>Tratamiento físico (filtración)</i>	77
3.2.3.	<i>Tratamiento Térmico</i>	78
3.2.4.	<i>Tratamiento químico (acidez)</i>	78
3.2.5.	<i>Matriz de comparación de análisis Post-tratamiento para eliminar la contaminación microbiana patógena</i>	80
3.3.	Evaluación de las diluciones de biol en el pasto alfalfa (Medicago sativa)	82
3.3.1.	<i>Producción de Forraje verde Kg.ha⁻¹</i>	82

3.4.	Evaluación económica de la aplicación del tratamiento térmico en el pasto alfalfa (<i>Medicago sativa</i>).....	84
	CONCLUSIONES.....	85
	RECOMENDACIONES.....	86
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1-1	Composición de residuos sólidos en el Ecuador.....5
Tabla 2-1	Caracterización de Residuos sólidos urbanos de la EMMAIPC-EP.....10
Tabla 3-1	Toneladas anuales de residuos sólidos urbanos del territorio Mancomunado Cañari en el año 2014.....10
Tabla 4-1	Valores aproximados de relación carbono/nitrógeno C/N de algunos tipos de materiales orgánicos.....13
Tabla 5-1	Composición química del Biol.....14
Tabla 6-1	Diluciones de Biol para aplicación al follaje (En una bomba de 20 litros).....17
Tabla 1-2	Condiciones Meteorológicas cantón Cañar.....36
Tabla 2-2	Cantidad semanal de residuos orgánicos Relleno Sanitario Yuracasha.....37
Tabla 3-2	Condiciones meteorológicas de la Estación Experimental de Tunshi-ESPOCH.....59
Tabla 4-2	Esquema del experimento de evaluación.....60
Tabla 5-2	Diluciones de aplicación en las unidades experimentales.....61
Tabla 1-3	Resultado de la densidad del biol.....63
Tabla 2-3	Resultado de la biomasa en peso.....63
Tabla 3-3	Temperatura promedio de la muestra de biol.....64
Tabla 4-3	Resultados bioquímicos iniciales y finales del biol.....65
Tabla 5-3	Resultados de la caracterización microbiana del biol.....67
Tabla 6-3	Pruebas experimentales con dosis (0,40-0,80%) de <i>Trichoderma sp.</i> y (1-2%) AgroVerdeBacter en el biol de la EMMAIPC-EP y con verificación a los 5-12-21 días.....72

Tabla 7-3	Pruebas experimentales de dosis (8%) de <i>Trichoderma sp.</i> y (20%) Agro VerdeBacter (Aceite esenciales) en el biol de la EMMAIPC-EP y con verificación a los 5-12 días.....	73
Tabla 8-3	Pre ensayos de ácidos aplicados al biol.....	78
Tabla 9-3	Matriz de comparación de análisis Post-tratamientos para eliminar la contaminación microbiana patógena.....	80
Tabla 10-3	Costos de los tratamientos tecnológicos de corrección.	81
Tabla 11-3	Producción de Forraje verde por corte, Kg.ha ⁻¹ (PMV).....	83
Tabla 12-3	Costo de aplicación de la tecnología por calor (121°C).....	84

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1-1	Biodigestor de régimen continuo.....19
Figura 2-1	Biodigestor de régimen continuo.....20
Figura 3-1	Planta de alfalfa <i>Medicago sativa</i>21
Figura 4-1	Estructura orgánica EMMAIPC-EP.....34
Figura 5-1	Áreas del relleno Sanitario de Yuracasha.....35
Figura 1-2	Ubicación del Relleno Sanitario de Yuracasha.....36
Figura 2-2	Diagrama de flujo de producción de Biol-EMMAIPC-EP.....40
Figura 3-2	Toma de muestra.....41
Figura 4-2	Distribución de la muestra en el placas Petrifilm™ de <i>E. coli</i>46
Figura 5-2	Disco de confirmación para <i>Staphylococcus aureus</i>48
Figura 6-2	Caja de anaerobiosis.....50
Figura 7-2	Siembra anaeróbica del biol en el medio PDA.....53
Figura 8-2	Productos Biosagro-Tratamiento biológico.....55
Figura 1-3	Medición de la densidad del biol.....63
Figura 2-3	Caracterización de <i>E. coli</i>67
Figura 3-3	Caracterización de <i>Staphylococcus aureus</i>68
Figura 4-3	Caracterización de Coliformes totales.....69
Figura 5-3	Caracterización de <i>Clostridium perfringens</i>69
Figura 6-3	A) Tinción de Gram para <i>Clostridium perfringens</i> . B) Bacilos Gram positivos.....70
Figura 7-3	Siembra del biol en el medio <i>Salmonella-Shigella</i>70
Figura 8-3	Tinción de azul metileno para la identificación de <i>Fusarium</i>71

Figura 9-3	Tratamiento biológico con dosis de 0,40-0,80% (<i>Trichoderma sp.</i>), con verificación a los 5-12-21 días(*).....	74
Figura 10-3	Tratamiento biológico con dosis de 8% (<i>Trichoderma sp.</i>) con verificación a los 5-12 días(*).....	74
Figura 11-3	Resultado positivo en una placa con dosis de 2% AgroVerdeBacter (Aceite esenciales), con verificación a los 5 días*.....	75
Figura 12 -3	Tratamiento biológico con dosis de 20% AgroVerdeBacter (Aceite esenciales), con verificación a los 5-12 días (*).....	76
Figura 13-3	Filtración: A) Millipore 0,22 µm B) filtros de membrana de 0.2 µm C) papel filtro para análisis cualitativos (Rundfilter MN 615 Ø 15 cm).....	77
Figura 14-3	Siembra de biol esterilizado para identificación de <i>Clostridium perfringens</i>	78
Figura 15-3	Siembra de biol tratado con ácido sulfúrico a 0,25 M para identificación de <i>Clostridium perfringens</i>	79
Figura 16-3	Aplicación del tratamiento en el pasto Alfalfa.....	83
Figura 17-3	A) Pasto alfalfa sin aplicación del biol. B) Efectos del poder caustico del biol.....	83

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Páginas
Gráfico 1-1	Consumo mundial de fertilizantes químicos.....27
Gráfico 2-1	Toneladas de fertilizante consumido en diferentes continentes.....27
Gráfico 1-2	Composición de Residuos recolectado por la EMMAIPC-EP 2012.....37
Gráfico 1-3	Resultados negativos a los 5-12-21 días de acción de <i>Trichoderma sp.</i> en el biol.....74
Gráfico 2-3	Resultados 5-12 días de acción de <i>Trichoderma sp.</i> en el biol.....75
Gráfico 3-3	Resultados a los 5-12-21 días de acción de AgroVerdeBacter en el biol.....76
Gráfico 4-3	Resultados negativos al 20% a 5y 12 días de acción de AgroVerdeBacter en el biol.....76
Gráfico 5-3	Disminución del pH del biol con ácido sulfúrico.....79

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A	Visita Técnica al relleno sanitario sector Yuracasha-Cañar.
ANEXO B	Carga total de microorganismos
ANEXO C	Alternativas de corrección para tratamiento del biol
ANEXO D	Realización del primer corte en la estación experimental de Tunshi- “ESPOCH”
ANEXO E	Aplicación del tratamiento de esterilización.
ANEXO F	Resultados bioquímicos iniciales del biol (INIAP)
ANEXO G	Resultados bioquímicos finales del biol (INIAP)
ANEXO H	Certificado de aprobación del Proyecto de Titulación en la EMMAIPC- EP-Cañar
ANEXO I	Simbología ANSI - diagrama de flujo

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue analizar las cualidades del biol para aplicarlo mediante una prueba de campo en alfalfa (*Medicago sativa*). Se realizaron análisis físicos, bioquímicos y microbiológicos. Durante la caracterización microbiológica del biol se identificó *Clostridium perfringens*, cuya presencia limita la posibilidad de convertirse en un fertilizante apto para el sector agrícola. Para corregir este problema microbiano se evaluaron cuatro técnicas: tratamiento térmico (121°C), tratamiento biológico (*Trichoderma sp.* y aceites esenciales) tratamiento químico (Ácido acético, ácido cítrico y ácido sulfúrico 0,25 M) y tratamiento de filtración (Filtro Millipore 0,22 µm); considerando la facilidad de ejecución, el uso de equipamiento y destrezas manuales del operador. La mejor alternativa para eliminar la contaminación por *Clostridium perfringens*, fue el tratamiento térmico, por presentar resultados eficientes en cuanto a la eliminación del patógeno y el costo económico; lo cual permitió su aplicación en alfalfares en el campo para comprobar sus bondades como biofertilizante, en concentraciones de 600, 800 y 1000 L.ha⁻¹, reportándose efectos corrosivos en las hojas de la planta, con coloración de tono marrón, característico de este tipo de quemaduras. Se concluye, que el producto en sus condiciones actuales no es apto para la agricultura y se recomienda la corrección al sistema de producción por la Empresa Pública Municipal Mancomunada de Aseo Integral del Pueblo Cañari (EMMAIPC-EP), para obtener un producto que garantice la salubridad y aplicabilidad del biol.

PALABRAS CLAVES

<BIOL> <BIOFERTILIZANTE> <*Clostridium perfringens*> <ALFALFA [*Medicago sativa*]>
<BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL>

SUMMARY

The goal of this research was to analyze the qualities of biol in order to apply by means of a field test in alfalfa (*Medicago sativa*). Physical, biochemical and microbiological analyses were carried out. During the microbiological characterization of biol *Clostridium perfringens* was identified, whose presence limits the possibility of becoming a fertilizer suitable for the agricultural sector. In order to correct this microbial problem four techniques were evaluated: thermal treatment (121 ° C), biological treatment (*Trichoderma sp.* and essential oils) chemical treatment (acetic acid, citric acid and sulphuric acid 0,25 M) and filtration treatment (Filter Millipore 0,22 µm); considering the facility of execution, the use of equipment and manual workmanship of the operator. The best alternative to eliminate the contamination by *Clostridium perfringens*, was the thermal treatment, for presenting efficient results as for the elimination of the pathogenic one and the economic cost; which allowed its application in the alfalfares in the field to verify its kindness like biofertilizer, in concentrations of 600, 800 and 1000 L.ha-1, corrosive effects were brought in the sheets of the plant, with the coloration of brown tone, typical of this type of burns. It is concluded, that the product in its current condition is not suitable for agriculture and it is recommended the correction of the system of production for the Empresa Pública Municipal Mancomunada de Aseo Integral del Pueblo Cañari (EMMAIPC-EP), to obtain a product that guarantees the healthiness and applicability of biol.

KEY WORDS

< BIOL > < BIO FERTILIZER > < *Clostridium perfringens* > < ALFALFA [*Medicago sativa*] >
< ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGY >

INTRODUCCIÓN

Identificación del Problema

En todos los países existen grandes cantidades de subproductos orgánicos de diversas fuentes susceptibles de transformarse y utilizarse como abonos orgánicos; sin embargo, su utilización es mínima debido, entre otras causas, a la carencia de técnicas eficientes para la recolección, elaboración y uso de estos materiales. (FAO, 2010, <http://www.fao.org/3/a-ar127s.pdf>)

El reciclaje de materia orgánica ha recibido un fuerte impulso en los últimos años, debido al alto costo de los fertilizantes químicos y de la energía, lo que ha llevado a buscar alternativas no tradicionales. (FAO, 2012, <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/229459/>)

En Ecuador solo en el 34% de las ciudades se realizan programas de reciclaje, según la Asociación de Municipalidades del Ecuador (AME) y el 26% procesos de recuperación de materia orgánica en Gobiernos Autónomos Descentralizados. (MAE, 2013, <http://www.ambiente.gob.ec/programa-pngids-ecuador/>)

La aplicación de los biofertilizantes en pastos tienen una alta tendencia en los mercados actuales por la cual los productores se esfuerzan cada vez más en emplear los mismos; pero la falta de investigaciones para su correcto empleo hace que el productor se cohíba en confiar en ellos BIOL generado por el aprovechamiento de residuos orgánicos urbanos. La inexistencia de experimentos de aplicación ligada a la falta de información ha ocasionado que se desperdicie esta tecnología. De continuar con esta situación se provee que este producto siga siendo desperdiciado en los centros de tratamiento de residuos orgánicos urbanos como es el caso de la Empresa Municipal Mancomunada de Aseo Integral del pueblo Cañari.

Formulación del problema

¿La producción, caracterización y evaluación del biol de la EMMAIPC-EP, Cañar, nos permitirá conocer las bondades nutricionales y calidad de este producto para su aplicación en pastizales ganaderos?

Justificación de la investigación

Los residuos sólidos generan un impacto al ambiente tanto al aire, al agua, al suelo y al ser humano por la manipulación directa al mismo ocasionando riesgos ocupacionales. La falta de educación ambiental de los ciudadanos generan un impacto de contaminación, por ende se ha visto la necesidad de contribuir al buen manejo de los residuos orgánicos como un recurso útil y beneficioso considerando una alternativa para la obtención de biofertilizantes.

La cantidad significativa de residuos sólidos urbanos recolectados por la Empresa Municipal Mancomunada de Aseo Integral del pueblo Cañari, permite el uso de alternativas seguras y sostenibles como es la generación de abonos verdes, el biol es una estrategia prometedora, permite obtener beneficios de los residuos orgánicos para el aprovechamiento agrícola, siendo un fertilizante que presenta altos niveles nutricionales, disminuye el uso de productos químicos costosos mejorando la productividad de la zona y a su vez presenta la oportunidad de obtener réditos económicos para EMMAIPC-EP por la producción de este, por ello es de vital importancia ejecutar este trabajo de investigación que busca ajustar la producción de Biol con parámetros técnicos, caracterizar el producto final para determinar sus bondades y potencialidades, así como evaluarlo como biofertilizante en pastizales de uso ganadero en la Sierra Ecuatoriana para una futura transferencia de tecnología hacia ese sector productivo.

Objetivos de la investigación

Objetivo General

Producir, caracterizar y evaluar el biol de la EMMAIPC-EP, Cañar, a partir de residuos orgánicos urbanos, en pastizales ganaderos.

Objetivos Específicos

- ✚ Identificar la tecnología de producción de un biol a partir de residuos orgánicos urbanos.
- ✚ Realizar la caracterización bioquímica y microbiológica del biol obtenido
- ✚ Evaluar diferentes alternativas tecnológicas de corrección del biol en base a los resultados de la caracterización.
- ✚ Realizar una prueba de campo para determinar las bondades de este biofertilizante.
- ✚ Determinar el costo de la aplicación de esta tecnología.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Los residuos sólidos en el Ecuador

La OPS/OMS auspició el Análisis Sectorial de Residuos Sólidos del Ecuador en el año 2002, el mismo que permitió evaluar la eficiencia de metodologías y estrategias establecidas por el Gobierno Ecuatoriano para el manejo de los mismos, por lo que indicó que era de significativa importancia conocer los niveles de desarrollo socio económico de cada región del país.

El COOTAD en su artículo 55 constituye que los Gobiernos Autónomos Descentralizados municipales son los responsables directos del manejo de sus desechos sólidos. (MAE, 2010, <http://www.ambiente.gob.ec/programa-pngids-ecuador/>)

Ecuador en el año 2012 según un estudio realizado por el instituto nacional de estadísticas y censos se conoció que la generación de residuos es 406,8 Kg per cápita al año, representando la mitad de la generación a comparación con los Estados Unidos. Según la UIEM Ecuador presenta un resultado significativamente elevado frente a países sudamericanos como Chile, Brasil, Perú y Colombia. (INEC, 2014, http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Hogares_2014/)

1.1.1. Generación de residuos sólidos

En el año 2010, con una actividad progresiva desde el año 2002, podemos indicar que de 221 municipios 160 disponían sus desechos en botaderos a cielo abierto, perjudicando y contaminando los recursos suelo, agua y aire; y como una reacción del mismo la afección directa a la salud de la población.

Con apenas el 24% de los Gobiernos Autónomos Descentralizados iniciando procesos de separación en la fuente, 26% procesos de recuperación de materia orgánica y 32% de recolección diferenciada de desechos hospitalarios, Ecuador en el 2010 constaba con una población de 14.483.499 millones de habitantes, registrándose que un 77% de los hogares elimina la basura a través de carros recolectores y el restante 23% la elimina de diversas formas (INEC-ENEMDU, 2013, http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Hogares-2013) (INEC, 2014, http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Hogares_2014/)

Frente a este panorama y debido a los impactos generados, el Ministerio del Ambiente empezó con el control y seguimiento permanente a estos sitios. A partir del año 2009, el mecanismo adoptado por la Institución fue el inicio de procesos administrativos a los municipios que no mejoraran los métodos de disposición final de los residuos y que no aplicaran cambios para encuadrarse en una política de respeto ambiental, que abarque cada proceso desde la generación de desechos en los hogares hasta la disposición final.

1.1.2. Composición de residuos sólidos en el Ecuador

Los residuos sólidos siempre han existido en la Tierra desde que el hombre nace genera residuos, no obstante se genera un problema ambiental cuando se comienzan a acumular en la biósfera mediante la velocidad de generación o por la naturaleza química de los propios residuos, que combinado con la acción directa del hombre como generador, obstaculiza la descomposición e incorporación a los ciclos naturales sobre la Tierra. Los residuos sólidos se clasifican según su origen en: Residuo domiciliario, residuo comercial, residuo de limpieza o espacios públicos, residuos de establecimientos de atención de salud, residuo industrial, residuos de las actividades de construcción, residuos agropecuarios, residuo de instalaciones o actividades especiales. Por residuo sólido se entiende como las sustancias, productos o subproductos en estado sólido o semisólido en los que su generador dispone o está obligado a disponer según normatividad a fin de evitar los riesgos que causen a la salud y el ambiente. (INEI, 2014, pp 311-348)

Ecuador por ser un país agrícola produce una cantidad notable de residuos orgánicos, los residuos urbanos están compuestos por:

- Papel y cartón: Cajas, hojas, cuadernos, entre otros.
- Materia orgánica: Remanentes procedentes de actividades agrícolas, jardineras y del consumo de alimentos.
- Vidrio: Botellas, pocillos, envases.
- Plástico: De alta densidad y baja densidad.
- Metales: Varillas, latas.
- Otros. (Muñoz, 2008, s.n.)

Tabla 1-1: Composición de residuos sólidos en el Ecuador

Material	Porcentaje (%)	Producción (Ton/día)
Materia Orgánica	71,4	5298
Papel y cartón	9,6	709
Plástico	4,5	336
Vidrio	3,7	274
Metales	0,7	53
Total	100	6669

Fuente: (Muñoz, 2008)

Realizado por: Catagña, A; Noboa, D, 2015

1.1.3. Impacto de los residuos sólidos

Actualmente la generación de residuos en el país es de 4,06 millones de toneladas métricas al año y una generación per cápita de 0,74 kg. Se estima que para el año 2017 el país generará 5,4 millones de toneladas métricas anuales, por lo que se requiere de un manejo integral planificado de los residuos.

1.1.3.1. Contaminación atmosférica.

Lo olores desagradables emanados por la descomposición de los residuos sólidos urbanos en los puntos de acopio generan malestar a las poblaciones aledañas a los rellenos sanitarios o botaderos de basura, además de la generación de gases producidos por acción de la actividad microbiana.

La incineración o quema indiscriminada de los residuos sólidos sin controles o equipos especializados para los diferentes remanentes de actividades antrópicas, genera derivados de dioxinas, polvo, material particulado y derivados organoclorados, los mismos que son dirigidos hacia la atmósfera, la mayoría de estos son expedidos por la quema de plásticos.

1.1.3.2. Afecciones a la flora y fauna.

Para realizar el tratamiento y disposición final de los residuos sólidos es indispensable constar de un área destinada específicamente para la actividad, la flora y fauna se ven afectados, ya que la construcción de grandes instalaciones provoca la pérdida de bosques y la fauna existente, haciendo de sus alrededores nichos sensibles y poco productivos.

1.1.3.3. Contaminación de los recursos hídricos.

Las aguas superficiales en cualquier actividad siempre son las más afectadas, se realizan vertimientos de residuos sólido, al verse comprometidas por acción de la erosión e infiltración estos lixiviados y compuestos nuevos son capaces de contaminar las aguas subterráneas además de interceptar drenajes y el alcantarillado ocasionando inundaciones.

La presencia de residuos en cuerpos de agua, generan contaminación significativa y directa con aguas superficiales, disminuyendo el oxígeno disuelto, existiendo el aumento de la materia orgánica, y afectando severamente en la apariencia estética las fuentes de agua.

Los lugares destinados para la disposición final; por acción de la descomposición y pérdida de vida útil de los residuos sólidos generan lixiviados los mismos que por la escorrentía son incorporados a las aguas superficiales, como son los lagos, acuíferos y ríos que en su mayoría son considerados como fuentes de agua potable, pierden su calidad con la presencia de sustancias tóxicas y materia orgánica elevada.

Los beneficios del agua para consumo humano o recreacionales pueden perderse si están contaminados, ya que generarían la muerte de fauna acuática y el deterioro del medio, se deberán tomar medidas de mitigación eficientes y defender los derechos de la naturaleza generando planes de manejo eficientes de residuos.

1.1.3.4. Contaminación del suelo.

Material particulado, malos olores e impacto visual provocan la acumulación y descarga de residuos de zonas rurales y urbanas.

Además, los desechos sólidos depositados en un botadero a cielo abierto o en un relleno sanitario, contamina el suelo que subyace con microorganismos patógenos, metales pesados, sustancias tóxicas e hidrocarburos que están presentes en el lixiviado de los desechos.

1.1.3.5. El aspecto socio-cultural tiene un papel crítico en el manejo de los residuos.

Uno de los principales problemas es la falta de conciencia colectiva y/o conductas sanitarias por parte de la población para disponer sus residuos, dejándolos abandonados en calles, áreas verdes, márgenes de los ríos, playas, deteriorando así las condiciones del paisaje existente y comprometiendo a la estética y al medio.

1.1.3.6. Amenazas a la salud de la población.

La salud humana siempre se ve perjudicada si no existe un buen manejo de los residuos sólidos, estos se convierten en un foco de transmisión de enfermedades; vectores como las moscas, roedores o la contaminación de los cuerpos hídricos están relacionados con las alteraciones a la salud pública. Algunas enfermedades no pueden ser atribuidas a la exposición de los seres humanos a los residuos sólidos, el inadecuado manejo de los mismos puede crear condiciones en los hogares que aumentan la susceptibilidad a contraer dichas enfermedades.

Contaminantes biológicos y químicos de los residuos son transportados por el aire, agua, suelos, y pueden contaminar residencias y alimentos (por ejemplo: carne de cerdo criados en botaderos que transmite cisticercosis) representando riesgos a la salud pública y causando contaminación de los recursos naturales.

Los asentamientos pobres en zonas marginales urbanas que no poseen condiciones adecuadas de servicios básicos o recolección de desechos, son poblaciones sensibles para ser afectadas, a su vez las personas que viven de manera clandestina en vertederos, botaderos sin tener al menos un conocimiento de la severidad de vivir en estos lugares, representan riesgo de afectar a su salud.

La población más expuesta a los riesgos directos son los recolectores y los minadores que tienen contacto directo con los residuos, muchas veces sin protección adecuada, así como también a las personas que consumen restos de alimentos extraídos de la basura. Los recicladores, y sus familias, que viven en la proximidad de los vaciaderos pueden ser, a su vez, propagadores de enfermedades al entrar en contacto con otras personas.

El polvo transportado por el viento desde un botadero a cielo abierto puede portar patógenos y materiales peligrosos. En estos sitios, durante la biodegradación o quema de la materia orgánica se generan gases orgánicos volátiles, tóxicos y algunos potencialmente carcinógenos (por ejemplo, bencina y cloruro vinílico), así como subproductos típicos de la biodegradación (metano, sulfuro de hidrógeno y bióxido de carbono). (Zambrano, 2015, <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/8068>)

1.1.4. Manejo de residuos sólidos en el Ecuador

En el Ecuador mediante la información proporcionada en el último censo poblacional, podemos hacer una distinción sobre el manejo y eliminación de residuos sólidos, comprobando que el 77% de los hogares elimina la basura empleando el servicio de vehículos recolectores y el 23% restante

realiza acciones ajenas al cuidado ambiental como arrojar la basura en terrenos baldíos o quebradas cercanas, la entierran, queman o acumulan en los cuerpos de agua.

Según datos del Programa Nacional de Gestión integral de Desechos Sólidos, el Ministerio de Desarrollo Urbano y Vivienda determinaron que el servicio de recolección de residuos sólidos tiene cobertura nacional promedio del 84,2% en las áreas urbanas y el 54,1% en el área rural, la fracción no recolectada contribuye directamente a la creación de micro basurales descontrolados.

La disposición de los residuos en Ecuador demuestra que solo el 28% de los mismos son dispuestos en rellenos sanitarios controlados, y el 72% en botaderos a cielo abierto, como consecuencia de ello existen inconvenientes e impactos directos e indirectos, como la proliferación de plagas, obstrucción de alcantarillas y desagües, posibles deslaves e inconvenientes ambientales, sociales y sanitarios.

1.1.5. Tratamientos y aprovechamiento

PNGIDS Programa Nacional para la Gestión Integral de Residuos Sólidos que inicio como una alternativa para llevar a cabo planes de gestión de residuos con la ayuda de la OPS/OMS, se basaba en el apoyo al desarrollo de la gestión de los desechos con un enfoque sistemático, multidisciplinario e intersectorial, pero en el país es ejecutado desde el 2002 por el Ministerio del Ambiente del Ecuador.

Desarrollar y brindar soporte técnico, así como la toma de decisiones sobre el manejo de desechos sólidos y las políticas relacionadas a este tema. Responsabilidad de los GAD's es también implementar el modelo de Gestión Integral de los Desechos Sólidos diseñado por el PNGIDS MAE de acuerdo a su propia realidad poblacional y de caracterización de residuos y administrativo financiera.

Las estrategias basadas en posibles asociaciones público privadas. Inversión privada, trabajo, y gestión comunitaria serán esenciales a la hora de desarrollar un modelo para la Gestión de Residuos Sólidos por parte de los gobiernos locales, de conformidad con el Plan Nacional del Buen Vivir.

La sostenibilidad se mantendrá en base a los acuerdos y convenios realizados entre los gobiernos locales y el Ministerio del Ambiente, tomando en cuenta que el objeto de la administración pública es prestar servicios permanentes, regulares, continuos iguales, eficientes y eficaces para satisfacer las necesidades e intereses generales. (MAE, 2013, <http://www.ambiente.gob.ec/programa-pngids-ecuador/>.)

Dentro del plan de gestión integral que promueve el PNGIDS, se encuentra la minimización de residuos generados y la separación de residuos sólidos y reciclaje en la fuente; capacitaciones y socialización sobre la importancia de la implementación de plantas de separación en los distintos municipios. Bajo estos parámetros, la meta es construir en Ecuador una conciencia clara de la importancia y la responsabilidad ciudadana de separar los residuos en la fuente y los beneficios que se generan para la industria del reciclaje.

Los estudios son priorizados en Cuenca, Guayaquil y Quito debido a que estas ciudades generan el 46% de residuos sólidos a escala nacional, con una producción de 5 147 toneladas al día. El potencial de residuos a recuperarse es de aproximadamente un 20%. Por esta razón, el Ministerio del Ambiente y el PNGIDS respaldan la gestión de estos municipios con estudios que permitan la instalación de plantas de separación. (Gallegos, 2013, p 8)

Para el tratamiento de residuos sólidos urbanos existe un conjunto de operaciones aplicables para el aprovechamiento y eliminación de recursos recuperables, algunas tecnologías a ser aplicadas son:

- ✓ Tecnologías de procesamiento
- ✓ Tecnologías de transformación
- ✓ Tecnologías de recuperación de materiales
- ✓ Tecnologías de eliminación fina o vertedero controlado

Además en este tipo de sistemas se debe considerar el manejo de productos y subproductos generados durante el manejo y manipulación de los desechos, como son los lixiviados, gas, malos olores por lo que se considera que es necesario considerar cuatro etapas para tomar el mayor provecho de estos:

- ✓ Recepción
- ✓ Selección granulométrica
- ✓ Selección manual de subproductos
- ✓ Expedición

Además de tener en cuenta alternativas de recuperación de materiales y de disposición final en rellenos sanitarios, en Ecuador varias municipalidades han seguido estrictamente estas metodologías para generar un beneficio colectivo, pero aún existen GAD's que realizan estos procesos por medio de contratos colectivos con otros. (Ormaza, 2015, <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/8979>)

1.2. Los residuos sólidos en la zona de influencia del proyecto

1.2.1. Caracterización de los residuos sólidos.

La generación de los residuos sólidos de los cantones Cañar, El tambo, Biblián y Suscal, permiten establecer medidas adecuadas para la gestión de residuos sólidos, así como también las tipologías y cantidades diferentes de residuos sólidos; en base a los diseños y estudios se instituye la caracterización de producción de residuos sólidos:

Tabla 2-1: Caracterización de Residuos sólidos urbanos de la EMMAIPC-EP

Componente	%
Orgánicos	70,11
Papel y Cartón	5,01
Madera	0,69
Plástico	7,53
Metales	1,26
Vidrios	2,09
Basura inservible	12,97

Fuente: (Ormaza, 2015, p. 22).

El 70,11% representa a la cantidad de residuos orgánicos, que son aprovechados para la obtención de composta y el 29,55 constituye a los residuos inorgánicos y de esta cantidad el 12,97 % no puede darse un valor de utilización por lo que es compactado y transportado al relleno sanitario.

Tabla 3-1: Toneladas anuales de residuos sólidos urbanos del territorio Mancomunado Mancomunado Cañari en el año 2014.

Comunidad:	Tonelada Anuales (Ton/año)
Cañar	8869,5
Biblián	2299,5
Suscal	492
Compostaje y recuperación del material reciclable	1296
TOTAL	12957

Fuente: (Padilla, 2015, p. 48)

1.2.2. Gestión Integral de Residuos Sólidos EMMAIPC-EP

1.2.2.1. Plan de educación ciudadana para la gestión integral de residuos sólidos.

En el Plan de educación ciudadana para la gestión integral de residuos sólidos, el objetivo principal de la EMMAIPC-EP (Padilla, 2015, p. 11, <http://www.emmaipc-ep.gob.ec/>), se basa en desarrollar las siguientes estrategias de acción comunicativas, de socialización y capacitación, sobre la responsabilidad ambiental integral y participativa en el manejo y gestión de los residuos sólidos:

- Estrategias de comunicación interna para una buena conectividad del equipo de la EMMAIPC-EP con la ciudadanía, sobre todo de los propósitos de la empresa a largo plazo.
- Estrategias de comunicación externa desde la EMMAIPC-EP hacia y/o con todos los actores organizacionales, institucionales, gremiales del territorio mancomunado.
- Estrategias de comunicación para el manejo de los desechos sólidos, directamente vinculada con los centros educativos, apostando a la generar ciudadanía ambiental a partir de la trilogía Profesor - Alumno - Padre de familia, de manera que un profesor bien informado y capacitado, pueda orientar muy bien a los alumnos, y estos con un buen nivel de conocimiento puedan incidir directamente en la familia llevando a la práctica lo aprendido.

1.2.3. Tratamiento de los Residuos Sólidos Urbanos EMMAIPC-EP

“El tratamiento de los desechos sólidos orientado bajo los siguiente criterios: prevención, minimización, reutilización, reciclaje, valorización / tratamiento, disposición final y cierre técnico o clausura de los mismos.” (Padilla, 2015, p. 4, <http://www.emmaipc-ep.gob.ec/>)

Técnicas para los residuos sólidos:

- ✘ Las técnicas de reducción en origen (minimización, reciclado, valorización)
- ✘ Tecnología de empaqueo en seco o de balas compactadas, permite reducir el volumen de desechos que va a la disposición final del relleno sanitario.
- ✘ Transformación de residuos domiciliarios orgánicos urbanos a través de la técnica del Compost.
- ✘ Planta de tratamiento de desechos inorgánicos, se distribuye por medio de una banda de clasificación de residuos como papel, cartón, plástico, botellas, chatarras, entre otros, estos son separados en recipientes específicos para luego ser transportados a una compactadora y por consiguiente a las fábricas de reciclaje.

- ✗ Se considera obtener una mini cargadora para el manejo interno de los desechos orgánicos, facilitará el movimiento permanente de los mismos que garantiza la aireación necesaria para el control de los malos olores producidos por fermentos de la descomposición.

1.3. Biol

Gomero (2005, p. 27, <http://www.agriculturesnetwork.org/>), menciona que “el biol es una fuente orgánica de fitoreguladores de crecimiento como el ácido indol acético (auxinas) y giberelinas que promueven actividades fisiológicas y estimulan el desarrollo de las plantas”; se obtiene a partir de la descomposición anaeróbica de los microorganismos que actúan para dar un proceso de fermentación de los diferentes sustratos orgánicos como restos vegetales y estiércol de animales.

1.3.1. Materias Primas

Según Restrepo (2007, pp. 53-56, <http://www.agriculturaorganica.org/>), la función de los ingredientes para la preparación del biofertilizante líquido es aumentar la sinergia fermentativa con el fin de obtener una mayor disponibilidad de nutrientes del suelo y la planta:

- Suero o leche.- su función es reavivar el biopreparado; aporta vitaminas, proteínas, aminoácidos y grasas para la formación de otros compuestos orgánicos; ayuda a la reproducción de la microbiología por ser un medio propicio para la fermentación del biofertilizante.
- Melaza.- aporta la energía necesaria para activar el metabolismo microbiano, al igual que aporta con minerales en menor cantidad: calcio, boro, fósforo, potasio, azufre, hierro, manganeso, magnesio y zinc.
- Sales minerales.- enriquecen y activan la fermentación, estas sales suelen ser: zinc, magnesio, cobre, cobalto, molibdeno y hierro. La función principal es fertilizar y nutrir las plantas y el suelo.
- Ceniza.- activa y enriquece la fermentación del biofertilizante por medio de los minerales y elementos trazas. Las cenizas se originan a partir de las gramíneas: cascara de arroz, maíz y bagazo de caña.
- Estiércol de vaca.- contiene una diversa cantidad de microorganismos importantes para la fermentación, aportando inóculos de hongos, levaduras, protozoos y bacterias.
- El agua.- Tiene la función de facilitar el medio líquido donde se multiplican las reacciones bioenergéticas y químicas de la fermentación anaeróbica; así transfiriéndose fácilmente los productos sintetizados como las vitaminas, péptidos y enzimas.

1.3.2. Características del biol

- ✓ El biol está constituido en cierta parte por sólidos disueltos (agua y nutrientes solubles), al igual que en un porcentaje de 0,5% - 1,5% de sólidos en suspensión y la temperatura de digestión entre 25-35°C. (Moscoso, 2010, p. 9, <http://bdigital.zamorano.edu/>)
- ✓ El biol presenta un contenido de nitrógeno (N) del 2 al 3%, de fosforo (P) del 1 al 2%, de potasio (K) en torno al 1%, materia orgánica con un 85% y un pH entre 6,0 y 7,5. (Avendaño, 2010, p. 7, http://www.gessa-ex.es/documentos/publicaciones/guia_odt.pdf)
- ✓ Según Suquilanda (1995, pp. 242-243). Los sustratos que sirven de alimento para los microorganismos deben tener una relación de carbono/nitrógeno que esté entre 20:1 a 30:1 respectivamente. La relación de la materia seca y agua implica el grado de partículas en solución; la cantidad de agua debe considerarse alrededor de 90% en peso del contenido total, de acuerdo con la materia prima destinada a la fermentación, para la obtención del biol.

Tabla 4-1: Valores aproximados de relación carbono/nitrógeno C/N de algunos tipos de materiales orgánicos.

MATERIALES	CARBONO %	NITRÓGENO %	RELACIÓN C/N
Panca de arroz	42	0,63	67:1
Caña de maíz	40	0,75	53:1
Tallos de soya	41	1,30	32:1
Estiércol bovino fresco	7,3	0,29	25:1
Estiércol ovino fresco	16	0,55	29:1
Estiércol equino fresco	10	0,42	24:1
Estiércol porcino fresco	7,3	0,60	13:1
Alfalfa	35	2,90	12:1

Fuente: (Suquilanda, 1995, p. 242).

1.3.3. Composición del Biol

“La composición bioquímica del Biol obtenido del estiércol de ganado lechero estabulado, que recibe en promedio una ración diaria de 60% de alfalfa, 30% de maíz ensilado y 10% de alimentos concentrados” (Suquilanda, 1995, pp. 240-241)

Tabla 5-1: Composición química del Biol

Componente	Biol 1	Biol 2	Biol 3	Biol 4	Biol 5
pH	8,1	6,5	6,7	6,5	6,3
Materia Orgánica	35%	-	-	38%	35%
Materia seca	4,2%	-	1,4%	5,6%	-
Nitrógeno total	2,03%	1,5%	1,4%	1,6%	1,6%
Nitrógeno Amoniacal	0,8%	0,4%	0,9%	0,3%	0,31%
Fosforo	0,15%	0,076%	0,24%	0,2%	0,1%
Potasio	2,6%	2,9%	1,9%	1,5%	0,35%
Calcio	1,5%	0,5%	0,135%	0,2%	0,6%
Magnesio	380 ppm	-	310 ppm	320 ppm	170 ppm
Sodio	-	2,4 ppm	-	-	-
Azufre	0,2%	-	0,06%	0,2%	-
Boro	56 ppm	-	-	48 ppm	35 ppm
Hierro	-	-	-	50 ppm	-
Manganeso	-	-	-	1 ppm	2,3 ppm
Cobre	-	-	8 ppm	8 ppm	-
Zinc	-	-	-	32 ppm	-

Biol1: Biol de estiércol vacuno

Biol 2: Biol de mezcla de sustratos: estiércol de vacuno y restos de comida casera

Biol 3: Biol de estiércol vacuno con banano promedio Hojas, tallos y frutos

Biol 4: Biol de estiércol bovino

Biol 5: Biol de estiércol bovino enriquecido con roca fosfórica

Fuente: (Jiménez, 2012, p. 28)

1.3.4. *Microorganismos Eficientes EM*

En la década de los 70, se formuló el primer indicio sobre el desarrollo de los microorganismos eficientes, en la Facultad de Agricultura de la Facultad de la Universidad de Ryukyus en Okinawa, Japón. Hipotéticamente este sustrato se encuentra formado por tres tipos de microorganismos: levaduras, bacterias fotosintéticas y bacterias ácido lácticas, las cuales desarrollan una relación sinérgica, permitiendo de esta manera ser aplicadas en cualquier medio, con beneficios relevantes, inicialmente fueron aplicados para el mejoramiento de suelos y tratamiento de aguas.

EM es la abreviatura mediante la cual se puede reconocer a los microorganismos eficientes, los mismos que forman un exuberante grupo de microorganismos existentes en los ecosistemas naturales, seleccionados por sus beneficios y compatibilidad en cultivos mixtos. El yogurt, queso

y salsa de soya son algunos ejemplos del uso de EM en la industria alimenticia, siendo aprobado su uso por CCOF (California Certified Organic Farmers).

En la industria agropecuaria, en la producción de abonos y fertilizantes orgánicos se deben controlar algunas condiciones, un ejemplo de ellos es el compost que es el resultado de la humificación de la materia orgánica, además de los compuestos orgánicos, excretas entre otros componentes que conforman el compost, existen microorganismos especializados en esta actividad, los microorganismos eficientes de acuerdo a su metabolismo son capaces de controlar condiciones como el pH, temperatura las mismas que permiten el procesamiento óptico del compostaje.

1.3.4.1. El uso de EM en agricultura tiene efectos positivos

- ✓ Promueve la germinación, crecimiento, florecimiento, fructificación y maduración de las plantas cultivadas.
- ✓ Realiza la capacidad fotosintética de las plantas.
- ✓ Incrementa la eficiencia de la materia orgánica como fertilizante.
- ✓ Desarrolla resistencia de las plantas a plagas y enfermedades.
- ✓ Mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.
- ✓ Suprime patógenos y plagas del suelo. (Webmaster, 2009, pp 1-4)

Debido a las ventajas mencionadas, EM mejora los rendimientos de los cultivos bajo sistemas de producción orgánica y presenta los siguientes beneficios económicos:

La necesidad de usar EM disminuye con el tiempo, porque los microorganismos se propagan por sí solos; la microflora del suelo se vuelve abundante, desarrollando un sistema microbiano balanceado. Cuando las condiciones facilitan la propagación de los microorganismos, las aspersiones serán ocasionales, para mantener las poblaciones. (Vásquez, 2008, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/handle/123456789/1503/17T0873.pdf>)

Su uso requiere menores aplicaciones de materia orgánica, porque la proveniente de los residuos de cosecha, plantas arvenses y vegetación circundante, es suficiente para mantener un suelo fértil.

Se evita el uso de fertilizantes químicos para la nutrición de plantas.

- ✓ Facilita la liberación de mayores cantidades de nutrientes a las plantas.
- ✓ Desarrolla inmunidad en las plantas.

En suelos donde ha sido aplicado, EM forma una simbiosis con las raíces de las plantas, donde éstas últimas, secretan sustancias como carbohidratos, aminoácidos, ácidos orgánicos y enzimas activas, mientras los microbios de EM usan estos compuestos para su crecimiento, produciendo también, aminoácidos, ácidos nucleicos, vitaminas y hormonas para las plantas. (Webmaster, 2009, pp 1-4)

1.3.4.2. Composición microbiológica

Los principales tipos de microorganismos presentes en el EM comprenden:

✦ **Bacterias fotosintéticas** (*Rhodospseudomona spp*)

Son un grupo de microorganismos que sintetizan sustancias útiles (aminoácidos, ácidos nucleicos, compuestos bioactivos y azúcares), a partir de las secreciones de las raíces y la materia orgánica, promoviendo el crecimiento y desarrollo de las plantas. Son consideradas el eje central de la actividad del EM, pues dan sostén a otros microorganismos, también coexisten con *Azotobacter* y *Rhizobium*, que fijan nitrógeno atmosférico.

✦ **Bacterias ácido lácticas** (*Lactobacillus spp*)

Originan ácido láctico a partir de azúcares y otros carbohidratos, producidos por las bacterias fotosintéticas y levaduras. Los *Lactobacillus* promueven la fermentación y desdoblamiento de lignina y celulosa, permitiendo una más rápida descomposición de los materiales vegetales. También, tienen la habilidad de suprimir microorganismos causantes de enfermedades, como los hongos del género *Fusarium*, que debilitan las plantas, exponiéndolas al ataque de otras enfermedades y plagas.

✦ **Levaduras** (*Saccharomyces spp*)

Sintetizan tanto sustancias antimicrobiales, como compuestos útiles para el crecimiento de las plantas, partiendo de aminoácidos y azúcares (secretados por las bacterias fotosintéticas), así como de materia orgánica. Los elementos producidos por las levaduras (hormonas y enzimas), promueven la división activa de células, siendo también, sustratos útiles para las bacterias ácido lácticas y los actinomicetos. (Vásquez, 2008, <http://dspace.epoch.edu.ec/bitstream/handle/17T0873.pdf>)

1.3.4.3. Usos

Reducción de olores

La materia orgánica, produce olor cuando la descomponen microorganismos de tipo putrefactivo; al aplicar EM, empiezan a predominar los fermentativos, que eliminarán el olor, ya que segregan ácidos orgánicos, enzimas, antioxidantes y quelatos metálicos. (Vásquez, 2008, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/handle/123456789/1503/17T0873.pdf>)

1.3.5. Usos del biol

- ✓ Permite un intercambio catiónico en el suelo, ayuda a mantener la humedad, al igual que disponibilidad de nutrientes y la creación de un microclima adecuado para las plantas.
- ✓ El biol al encontrarse como fertilizante líquido, sirve para la aplicación por rociado o junto con el agua de riego en sistemas automáticos de irrigación.
- ✓ Promueve actividades fisiológicas por ser una fuente orgánica de fitorreguladores y ayuda a estimular el desarrollo de las plantas: acción sobre el follaje (amplía la base foliar), enraizamiento (fortalece y aumenta la base radicular), mejora la floración y el poder germinativo.
- ✓ Pruebas realizadas del biol en diferentes cultivos muestran que usar este tipo de fertilizante sería suficiente para lograr la misma o mayor productividad del cultivo que empleando fertilizantes sintéticos. (Aparcana, 2008, <http://www.german-profec.com/>)
- ✓ Sirve de alimento para peces así como también fuente de inóculo 10% de carga para otros digestores. (Moscoso, 2010, p. 9, <http://bdigital.zamorano.edu/>)
- ✓ Biol al follaje de las plantas debe aplicarse en disoluciones recomendadas entre el 25 al 75%.

Tabla 6-1: Disoluciones de Biol para aplicación al follaje (En una bomba de 20 litros).

SOLUCIÓN	BIOL/lit.	AGUA/lit.	TOTAL/lit.
25%	5	15	20
50%	10	10	20
75%	15	5	20

Fuente: (Suquilanda, 1995, p. 248).

- ✓ Biol al suelo en pequeñas parcelas se recomienda una dosis de Biol/agua con una relación es de 1/100.
- ✓ Biol a la semilla, de acuerdo al cultivo se remoja previamente a la siembra en una solución de 25 al 50% para semillas de cubierta gruesa y el 10 al 20% para semillas de cubierta delgada. (Suquilanda, 1995, pp. 247-249)

1.3.6. Tecnologías de producción de biol.

1.3.6.1. Biodigestor

El biodigestor es un sistema de digestión anaeróbica, que permite producir biogás y fertilizante orgánico, debido a la fermentación y descomposición de la materia orgánica (excrementos de animales, residuos vegetales).

Digestión anaeróbica

La digestión anaeróbica es un proceso degradativo y biológico de la materia orgánica contenida de un sustrato, que es convertida en una mezcla de gases como el dióxido de carbono (CO₂), metano (NH₄) y biogás mediante la acción de microorganismos anaeróbicos.

Fases de digestión anaeróbica:

De acuerdo con la FAO (2011, p. 19, <http://www.fao.org/docrep/019/as400s/as400s.pdf>), las fases de fermentación y/o descomposición se divide en:

1. Hidrolisis.-la primera etapa es la hidrólisis de partículas y moléculas complejas (lípidos, hidratos de carbono y proteínas) que son hidrolizadas por enzimas extracelulares producidas por los microorganismos acidogénicos o fermentativos.
2. Etapa fermentativa o acidogénica.- Como resultado a lo anterior se producen compuestos solubles más sencillos (azúcares, ácidos grasos de cadena larga, aminoácidos) que serán metabolizados por las bacterias acidogénicas dando lugar, principalmente, a ácidos grasos de cadena corta, hidrógeno, alcoholes, dióxido de carbono y otros productos intermedios.
3. Etapa acetogénica.- los ácidos grasos de cadena corta son transformados en ácido acético, dióxido de carbono e hidrógeno, mediante la acción de los microorganismos acetogénicos.
4. Etapa metanogénica.-los microorganismos metanogénicos producen metano a partir de ácido acético, H₂ y CO₂.

1.3.6.2. Tipos de Biodigestores:

Biodigestor de régimen estacionario o discontinuo

Biodigestor de “régimen estacionario son muy utilizados para obtener fertilizantes orgánicos y consiste de tanques herméticos con una salida de gas. Se carga una sola vez y se descarga cuando han dejado de generar gas” (CEMAT, 1977, citado en Soria, *et al.*, 2001, p. 356, <http://www.chapingo.mx/>)

Biodigestor de régimen semicontinuo.

Son aquellos que se carga una vez al día, con un cierto volumen de alimento, extrayendo la misma cantidad de carga con el objetivo de mantener un volumen constante dentro del reactor. (Cuadros, *et al.*, 2011, http://www.aepro.com/files/congresos/2011huesca/CIIP11_1760_1773.3371.pdf)

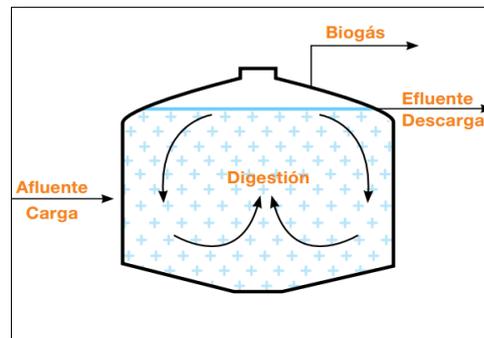


Figura 1-1: Biodigestor de régimen continuo.

Fuente: (Svetlana, *et al.*, 2012, p. 15)

Biodigestor de régimen continuo.

Se cargan todos los días para obtener una producción de biogás permanente y bioabono. (Ediciones Cultural Ltda., CE, 2004, p. 49)

De acuerdo con (Svetlana, *et al.*, 2012, p. 14) “se caracterizan porque el flujo de materia que ingresa es constante, la disposición de biomasa para alimentar estos sistemas es prácticamente diaria y los tiempos en que esta se retiene son menores en comparación a los sistemas discontinuos.”

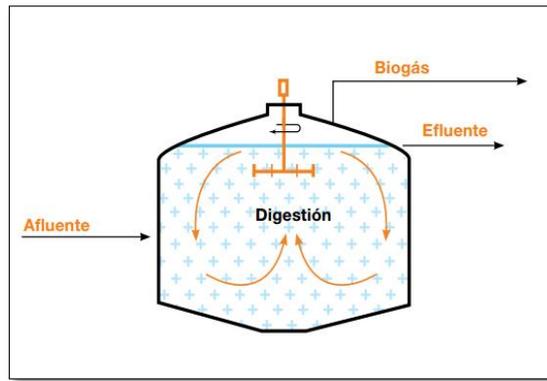


Figura 2-1: Biodigestor de régimen continuo.

Fuente: (Svetlana, *et al.*, 2012, p. 14)

1.4. Uso y evaluación de bioles en la fertilización orgánica de plantas

1.4.1. Descripción agrobotánica de la alfalfa (*Medicago sativa*)

Planta utilizada como forraje, pertenece a la familia de las leguminosas, tiene un ciclo vital de entre cinco y doce años, dependiendo de la variedad utilizada, así como el clima; llega a alcanzar una altura de 1 metro, desarrollando densas agrupaciones de pequeñas flores púrpuras. Como principios activos contiene sales minerales en especial calcio, potasio, hierro y fósforo. Gran cantidad de aminoácidos betacaroteno y vitaminas C, D, E y K B.

Son plantas que pueden contribuir a la mejora de la estructura de los suelos y a su enriquecimiento nitrogenado por sus activos rizobios.

1.4.1.1. Genero *Medicago*

Plantas herbáceas que son a veces muy parecidas a los tréboles. Tallos erectos con hojas trifoliadas, cuyos folíolos pueden ser de forma, tamaño y color muy diferentes, aunque son siempre más o menos dentados hacia el ápice, con un nervio central destacado.

Los géneros *M. sativa* y la lupina *M. lupulina*, son plantas de porte erecto y constituyen un grupo muy variable de plantas perennes, diploides o tetraploides y son híbridos.

La alfalfa común como es conocida en nuestro medio *Medicago sativa* ha recibido diferentes denominaciones entre las cuales citamos algunas: Castellano: Mielga (la silvestre); alfalfe; alfalfez (Aragón), alforfa (Galicia); melgo; alcacer (Aragón), Inglés: Alfalfa, lucerne, Alemán:

Luzerne, Francés: Luzerne. Y Italiano: Medica, erba media, erba Spagna. (Mateo-Box, 2005, pp. 362-365)

1.4.2. Descripción organográfica

✓ La raíz

La raíz principal de este cultivo es pivotante, robusta y muy desarrollada (hasta 5m de longitud) con numerosas raíces secundarias. Posee una corona que sale del terreno, de la cual emergen brotes que dan lugar a los tallos.

✓ El tallo

Son delgados y erectos para soportar el peso de las hojas y de las inflorescencias además son muy consistentes, por tanto es una planta muy adecuada para la realización de los cortes.

✓ Las hojas

Las trifoliadas, aunque las primeras hojas verdaderas son unifoliadas. Los márgenes son lisos y con los bordes superiores ligeramente dentados.

✓ La flor

La flor característica de esta familia es de la subfamilia Papilionoidea. Son de color azul o púrpura, con inflorescencias en racimos que nacen en las axilas de las hojas.

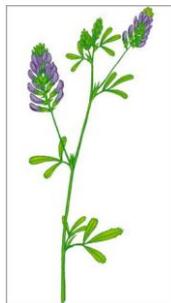


Figura 3-1: Planta de alfalfa *Medicago sativa*

Fuente: (Mundo tema, 2007, <http://www.mtplantas.com/imagenes/mielga-alfalfa.jpg>)

1.4.3. Requerimientos ambientales

Amplio rango climático. Tolera el calor y es bastante resistente a la sequía. Puede soportar bajas temperaturas (*subsp. falcata*). Necesita terrenos profundos y permeables, de reacción neutra o básica (pH óptimo de 7,5). Tolera la salinidad pero no el encharcamiento.

1.4.4. Distribución y zonas de cultivo

Endémica de Asia Menor y la cuenca mediterránea (*Medicago sativa subsp. sativa*) y del norte de Eurasia (*M. sativa subsp. falcata*). Cultivada mundialmente. En la Península Ibérica existen importantes superficies cultivadas en el valle del Ebro y en el valle del Duero.

1.4.4.1. Tipo de cultivo

Se establece en regadío como cultivo monófito y en secano sola o mezclada con una gramínea (avena, cebada, dátilo). En la Península, las mayores superficies de regadío se siembra con alfalfa de ecotipo Aragón (población natural de alfalfa erecta adaptada por selección natural al medio climático y edáfico del Valle medio del Ebro). Existen otros ecotipos como Tierra de Campos y Ampurdán, más adecuados para secanos frescos.

1.4.5. Implantación y persistencia

Rápida germinación e implantación. Dosis de siembra: 20-25 kg/ha. El establecimiento puede ser problemático por invasión de vegetación espontánea en los terrenos más fértiles (resulta útil la aplicación de herbicidas en esta primera fase o la realización de una siega precoz al final del invierno si la invasión es importante). En regiones de inviernos muy fríos pueden hacerse siembras primaverales. La vida productiva media de un alfalfar es de 4-5 años. No se conocen con precisión las causas del decaimiento productivo tras estos años de cultivo aunque se barajan diferentes hipótesis (infestaciones de nematodos del suelo, fenómenos autotóxicos, etc.).

1.4.6. Interés forrajero

En regadío es una planta muy productiva y de crecimiento sostenido a lo largo del verano. La producción anual oscila entre 15-28 t ms/ha. En secano sus producciones son menores y dependen en buena parte del régimen pluviométrico y de las características texturales del suelo. Su valor nutritivo es excelente debido a su alto contenido proteico (hasta 22% PB) y su elevada

digestibilidad. Presenta el inconveniente de provocar meteorismo si no se pasta con precaución. (Universidad Pública de Navarra, 2007, http://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Medi_sati_p.htm.)

1.4.7. Exigencias del cultivo

1.4.7.1. Requerimiento de Agua

La alfalfa tiene un alto coeficiente de transpiración, es decir presenta una baja eficiencia de conversión de agua en materia seca. Requiere alrededor de 850 litros de agua por Kg de materia seca (MS) formada, lo que supone una demanda de 0.085 mm/Kg MS (Jarsum, 1996), pudiendo variar según las estaciones del año de acuerdo a la demanda evaporativa. (Ochoa, 1997), p. 32)

1.4.8. Exigencias de Suelo

El cultivo de alfalfa se adapta a diferentes condiciones de suelo siendo los más aptos los de textura franca. Una condición importante es que tengan buen drenaje y que sean lo suficientemente profundos para permitir un normal desarrollo radicular. La alfalfa no prospera satisfactoriamente cuando existe algún impedimento en el perfil que pueda restringir su desarrollo. Los impedimentos pueden ser de tipo: mecánico (tosca, horizontes densos), físico (falta de aireación, exceso de humedad) o químico (acidez, alcalinidad elevada). Estos factores no sólo disminuyen la producción sino también la persistencia, ya que las plantas están imposibilitadas de acumular reservas suficientes para un aprovechamiento intensivo. (Culot, 1986, p. 27)

La alfalfa es muy sensible al anegamiento, sobre todo de aguas estancadas. Esto limita la oxigenación a nivel radicular, provocando los mayores daños en estado de plántula y con altas temperaturas. Las plantas adultas son algo más tolerantes, siempre que la temperatura del suelo no sea elevada y el tiempo no sea prolongado; en estas condiciones se ha calculado que 8 días de anegamiento disminuyen la fotosíntesis en un 30%. (Culot, 1986, p. 27)

1.4.9. Requerimientos Edafoclimáticos

1.4.9.1. Radiación solar

Es un factor muy importante que influye positivamente en el cultivo de la alfalfa, pues el número de horas de radiación solar aumenta a medida que disminuye la latitud de la región. La radiación

solar favorece la técnica del presecado en campo en las regiones más cercanas al Ecuador, y dificulta el secado en las regiones más hacia el norte. (Baldrich, 2000, p. 30)

1.4.9.2. Temperatura

La semilla germina a temperaturas de 2-3 °C, siempre que las demás condiciones ambientales lo permitan. A medida que se incrementa la temperatura la germinación es más rápida hasta alcanzar un óptimo a los 28-30 °C. Temperaturas superiores a 38 °C resultan letales para las plántulas. La temperatura media anual para la producción forrajera está en torno a los 15 °C. Siendo el rango óptimo de temperaturas, según las variedades de 18-28 °C. El factor limitante en el cultivo de la alfalfa es la acidez, excepto en la germinación. (Japón, 2012, pp. 24-28)

1.4.9.3. Salinidad

La alfalfa es muy sensible a la salinidad, cuyos síntomas comienzan con la palidez de algunos tejidos, la disminución del tamaño de las hojas y finalmente la parada vegetativa con el consiguiente achaparrado. El incremento de la salinidad induce desequilibrios entre la raíz y la parte aérea. (Japón, 2012, pp. 24-28)

1.4.10. Siembra

Los métodos de siembra son a voleo o con sembradoras específicas de pratenses. La mayoría de las siembras se hacen sólo con alfalfa, pero también puede asociarse a otras gramíneas las fechas de siembra están condicionadas por la alternancia de los cultivos que se sigue en la explotación. (Japón, 2012, pp. 24-28)

1.4.11. Fertilización

La alfalfa es un cultivo mejorante, en la mayor parte de los casos es imprescindible conocer previamente a la siembra la composición físico-química del suelo donde vaya a establecerse y actuar en consecuencia mediante una o varias fertilizaciones con abonos orgánicos y minerales. También, posteriormente a la siembra, en los años sucesivos que puede durar el cultivo (máximo recomendable cinco años), se debe vigilar el grado de fertilidad, ya que se podría considerar como planta exigente.

Existe una regla general en la que aunque la alfalfa enriquece la materia orgánica del suelo, cuando se trata de utilizar su cultivo para mejorar sus características debe tenerse en cuenta que

un contenido de humus menor del 1% deberá corregir mediante estercolados o incorporación de compost, así mismo sucede con la Caliza activa, además el pH debe ser menor al 6,5. (Mateo-Box, 2005, pp. 362-365)

1.4.12. Trabajos realizados con Bioles aplicados en plantas.

“Aplicación de biol en el cultivo establecido de alfalfa (*Medicago sativa*). Los resultados de la elaboración del biol de bovino, reportó; un pH de 5,8, nitrógeno total de 1,8%, un alto contenido de fósforo 679,0 ppm, potasio 0,3%. El tratamiento (biol de bovino – 5cc/l – 15 días después del corte) reporto una altura de planta de 96,32cm, en toda parcela que se aplicó este tratamiento, un número de brotes con un promedio de 18,53 y mayor número de hojas por rama y un incremento en el rendimiento, en el cultivo de alfalfa.” (Guanopatín, 2012, p. 55, <http://repo.uta.edu.ec/>)

“Dosificación de biol en pasto Transvala (*Digitaria eriantha Steud.*) como fuente de nitrógeno en suelo franco, Zamorano Honduras. La utilización de biol como fertilizante orgánico líquido a una dosis equivalente a 400 kg de N/ha/año es efectivo al aplicarlo en pasto Transvala ya que promueve su desarrollo; la longitud, el número promedio de ramificaciones primarias por tallo y el número promedio de tallos por yema respondieron efectivamente a la dosis a los 22, 30 y 45 días después de siembra respectivamente.” (Sánchez, 2013, p. 15, <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1708/1/IAD-2013-007.pdf>)

“Producción de pasto orgánico: Brachiaria (*Brachiaria decumbes*) Tanzania (*Panicum máximum*) y Maní forrajero (*Arachis pintoi*) con la aplicación de abonos orgánicos en la zona de Santo Domingo de los Colorados. En el rendimiento forrajero el pasto que mejor respondió a los abonos orgánico fue el Brachiaria frente a los demás pastos, teniendo un promedio de 475.8 kg. El abono que más responde a esta variable en todas las etapas de una forma significativa es el humus-biol superando el fertilizado y el testigo; los pastos para mejorar su rendimiento deben ser abonados y de mejor forma con humus-biol.” (Zambrano, 2010, <http://dspace.unl.edu.ec/>)

“Producción y evaluación de cuatro tipos de bioabonos como alternativa biotecnológica de uso de residuos orgánicos para la fertilización de pastos. La producción de Forraje Verde del *Lolium perenne* mostro un nivel 9.8 Tn/ha tras la aplicación de compost y 6.2 Tn/ha, 5 Tn/ha y 4.27 Tn/ha para el bocashi, biol y té de estiércol respectivamente. El mejor índice de Beneficio/Costo al producir bioabonos se obtuvo con el Biol con 1.17 USD, y en la producción de pastos el mejor índice lo tuvo el bocashi con 1.40 USD, por lo que se recomienda su utilización

de bioabonos en la fertilización de pastos.” (Vásquez, 2008, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/handle/123456789/1503/17T0873.pdf?sequence=1>)

1.5. Importancia biofertilizantes

Los biofertilizantes, son sustancias compuestas de microorganismos benéficos que sirven de estimulantes en el crecimiento y fortalecimiento de las plantas y enriquecimiento del suelo, representan una importancia significativa en todo el mundo siendo principalmente considerados como alternativas de sostenibilidad en la agricultura; por su fácil tecnología de producción, rentabilidad y cualidades ambientales se han establecidos grandes proyectos en la creación de estos productos. La incorporación de un biofertilizante puede reducir los costos de la mano de obra, ya que elimina la necesidad de mezclar y monitorear los fertilizantes solubles en agua, y limita la necesidad de equipos de inyección caros.

El mayor beneficio a largo plazo de la incorporación de biofertilizantes es posiblemente lo que se refiere al medio ambiente. Puesto que los nutrientes se liberan lentamente y, en forma ideal, a la velocidad con que las plantas los usan. (PRO-MIX, 2015, <http://www.pthorticulture.com/es/centro-de-formacion/ventajas-y-desventajas-del-uso-de-fertilizantes>)

El uso indiscriminado de fertilizantes químicos presenta daños ecológicos, inversión económica abundante e incluso afectos en la salud humana, siendo necesario el uso y búsqueda de alternativas replazantes de estos.

Los productores cada vez sienten mayor interés en el cuidado de sus ingresos y egresos pero también conocen que el uso de biofertilizantes permite la reducción en costos de producción, constituyendo el crecimiento en su rendimiento, dándole frente al actual mercado, además de su preocupación en la reducción del impacto ambiental. (Avendaño, 2010, <http://eleconomista.com.mx/columnas/agro-negocios>)

1.5.1. Importancia económica

El costo de los productos y el de producción evidentemente son bajos, pero es necesario realizar un estudio exhaustivo sobre los posibles parámetros a tener en cuenta.

- Contenido de nutrientes y pérdidas o disminución esperada a mediano y largo plazo en función de las prácticas y cultivos agrícolas tradicionales.
- Control ex-post del contenido de microorganismos ensayando paquetes tecnológicos alternativos en los cuales se incluyan nuevos productos y procesos.

- Datos básicos imprescindibles para demostrar al productor resultados económicos, que son en última instancia, el único motor que impulsa a cambiar las actividades y prácticas tradicionales que se van tomando cada vez menos rentables (Alejandro, *et al.*, 1995)

El precio de la producción de alimentos incluidos los insumos químicos, ya sean los mismos para producción agrícola o ganadera siempre han sido elevados, generando una larga lista de costos y esperando una mínima ganancia a futuro.

De acuerdo a los datos de la FAO sobre el consumo de fertilizantes químicos en el mundo en las últimas décadas señala que la demanda en toneladas cada vez es mayor.

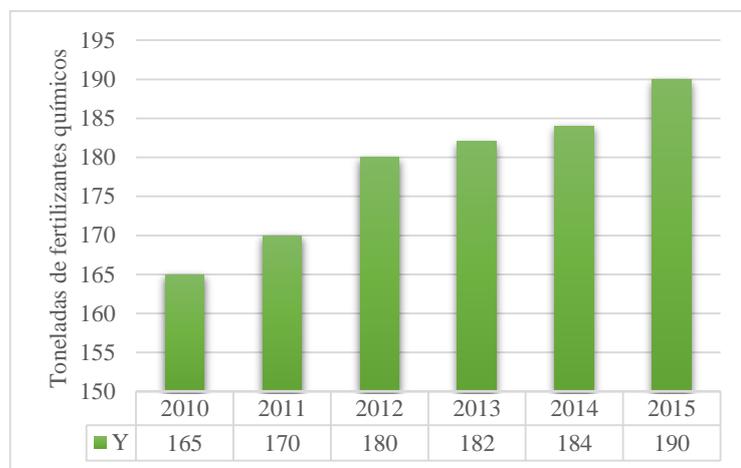


Gráfico 1-1: Consumo mundial de fertilizantes químicos

Fuente: (FAO, 2014, <http://www.fao.org/news/story/es/item/277654/icode/>)

Realizado por: Catagña, A; Noboa, D, 2015

En nuestro continente se consume toneladas elevadas de fertilizantes una muestra de ello es la presentación de los siguientes porcentajes.

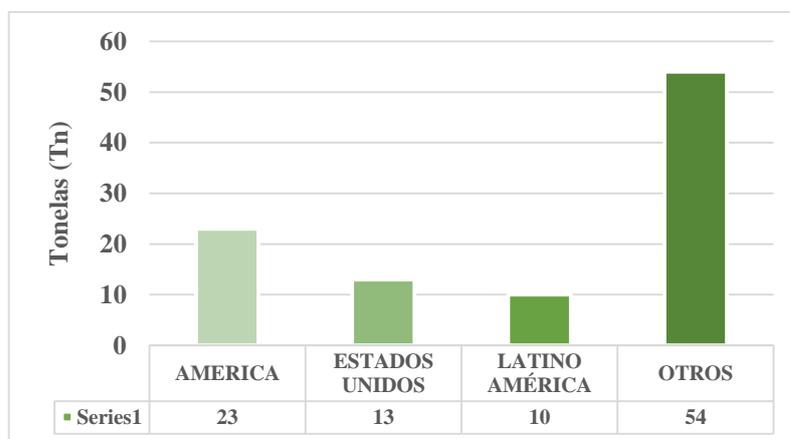


Gráfico 2-1: Toneladas de fertilizante consumido en diferentes continentes

Fuente: (FAO, 2014, <http://www.fao.org/news/story/es/item/277654/icode/>)

Realizado por: Catagña, A; Noboa, D, 2015

1.5.2. Importancia ecológica

Los fertilizantes químicos requieren ser aplicados en condiciones acuosas o de riego debido a su composición requieren ser solubilizados, permitiendo la absorción de las plantas, los biofertilizantes son adecuados para ser aplicados en praderas de temporal, ya que ayudan a disminuir el estrés hídrico y mejoran la absorción nutricional. Los biofertilizantes usados actualmente en su mayoría representan inocuidad para el ambiente y el ser humano, demostrando que existe efectividad en suelos de casi nula fertilidad. (Ortega, 2012, pp 205 - 208)

Sin embargo los fertilizantes químicos pueden mostrar un efecto rápido y saludable en los cultivos, pero a largo plazo presentan consecuencias degradantes, las fuentes de agua resultan mayormente contaminadas, y como efecto de ello también los suelos erosionados. Mostrando un ciclo de efectos negativos en la flora, fauna, recursos naturales y salud pública.

Los biofertilizantes no manifiestan estas secuelas, al contrario fortalecen el perfil del suelo, dejan las fuentes de agua sin contaminantes y edifican el crecimiento de las plantas sin efectos secundarios perjudiciales. (Aguado, *et al.*, 2012, p 32)

El uso de fertilizantes de origen químico están asociados a la eutrofización de aguas superficiales, los mismos que son aprovechados en las actividades agrícolas dado que los mismos por acción del riego y la precipitación escurren hacia cuerpos de agua proveyendo de nutrientes, aumentando la actividad microbiana, la proliferación de algas, disminuyendo la calidad del agua, el oxígeno del medio y evitando el paso directo de la radiación solar.

Varias enfermedades han sido provocadas por el consumo de alimentos y agua contaminada con concentraciones significativas de compuestos químicos expedidos en los lixiviados provenientes de los fertilizantes químicos.

Gases de efecto invernadero como dióxido de carbono CO₂, son aportados a la atmósfera en consecuencia de los fertilizantes químicos, un claro ejemplo de ello es La aplicación de urea a los suelos conduce a la pérdida de CO₂ que se ha fijado por el proceso de producción industrial. La urea CO(NH₂)₂ se convierte en amonio NH₄⁺ el ion hidroxilo (OH⁻) y bicarbonato (HCO₃⁻) en la presencia de agua y enzimas (Snyder, *et al.*, 2009, pp. 247-266)

En la biotecnología y la microbiología se considera que uno de sus grandes logros es el uso de su tecnología en la producción de biofertilizantes conocidos a su vez como inoculantes microbianos

o bioinoculantes, principalmente son aprovechados en el aumento de la producción de los cultivos.

Los biofertilizantes constituyen una alternativa viable para reducir costos de producción y el impacto ambiental asociado a la fertilización química. Esta tecnología permite incrementar el valor agregado y rendimiento de los cultivos de 17% a 50%, mejorando la fertilidad del suelo y reduciendo las poblaciones de microorganismos nocivos para los cultivos. Dentro del contexto de agricultura sostenible, la inoculación de plantas con microorganismos que reducen la incidencia de enfermedades y disminuyen la dependencia de agroquímicos es una alternativa biotecnológica real y particularmente atractiva para incrementar la productividad de los cultivos (Aguado, *et al.*, 2012, p 32)

1.5.3. Importancia social

La agricultura y la ganadería son algunas de las principales fuentes de ingresos económicos en el mundo, por lo que se ha buscado conocer alternativas para que el uso de sus ganancias sea mínimo. Los sistemas sostenibles son herramientas para lograr el éxito en la agricultura, puesto que se pretende aprovechar toda materia prima incluyendo los residuos generados, consiguiendo el mantenimiento del ambiente ecológico.

Las naciones latinas tienden a preocuparse más por el cuidado ambiental, las tradiciones ancestrales y el ánimo de transferir sus conocimientos y tierras a sus generaciones futuras, el uso de fertilizantes químicos ha permitido que algunas de sus cosechas muestren resultados acelerados y productos exuberantes a simple vista. Pero no hace mucho ellos han conocido el verdadero precio de su uso, perjudicando sus tierras, su ambiente y en algunos casos su salud.

La importancia de conservar fértiles sus tierras para seguir con su producción y generación de empleo para un mejor vivir en su comunidad se encuentran buscando constantemente los medios necesarios y naturales para hacer surgir su emporio orgánico, como los biofertilizantes siendo una de las soluciones a sus preocupaciones, garantizando así el cuidado de todo su entorno y economía.

El productor asume una conducta racional, busca maximizar beneficios. Adoptaría un nuevo insumo que le ofrece el mercado como alternativa para aumentar el rendimiento del factor tierra y hacer uso de un mayor aprovechamiento de los recursos, obteniendo un mayor volumen de producto.

1.5.4. Uso de biofertilizantes

Desde la antigüedad los fertilizantes orgánicos eran utilizados por las civilizaciones (2000 a 2500 a.c.), la agricultura como principal fuente de desarrollo estaban cercanas a los ojos de agua o vertientes, en las que esas tierras presentaban mayor fertilidad, por la característica concentración de materia orgánica, hace algunos años se realizó la primera clasificación de los abonos orgánicos entre ellos tenemos aguas negras para la producción agrícola y abonos verdes. (Jiménez, 2011, p 28, <http://181.198.77.140:8080/bitstream/123456789/15/1/057>)

Las fuentes orgánicas de nutrientes para las plantas están constituidas por residuos de plantas, animales y humanos. Algunas de las fuentes más importantes son los estiércoles, el compost, los abonos verdes y varios tipos de residuos de procedencia animal. (Eusse, 1994, pp. 123, 126, 127, 138, 139)

Su principal valor consiste en el mejoramiento de las propiedades físicas de algunos nutrimentos en cantidades menores, por lo que a través de las dosis enriquecidas se puede lograr mayor aprovechamiento y efecto en el rendimiento. La materia orgánica, agregada en forma de estiércol desempeña otras funciones importantes; promueve la actividad microbial en el suelo y mejora su estructura, aireación y capacidad de retención de humedad y adecúa al suelo para que responda a la aplicación de tecnologías modernas incluyendo la fertilización, siembra de variedades mejoradas e irrigación. (Eusse, 1994, pp. 123, 126, 127, 138, 139)

El compost en el suelo aumenta la retención de agua, la temperatura en el suelo, favorece la germinación de las semillas, además de retener con mayor facilidad elementos nutritivos como el nitrógeno y potasio, formando sales orgánicas más asimilables; incorpora microorganismos benéficos, destruye parásitos y bacterias patógenas por su acción antibiótica. (Millar, 1961, pp 270)

Los abonos verdes pueden aumentar el fósforo asimilable, así como el potasio y otros elementos, y todo ello hace que los microorganismos se desarrollen de forma notable tras el abono verde. (Jiménez, 2011, <http://181.198.77.140:8080/bitstream/123456789/15/1/057>)

1.6. Empresa Pública Municipal Mancomunada de Aseo Integral del Pueblo Cañari

La necesidad de poseer un adecuado tratamiento de los Residuos sólidos, gestión integrada del agua, soberanía alimentaria, patrimonio cultural y turismo llevaron a la creación de la Mancomunidad del Pueblo Cañari integrada por los cantones Cañar, Biblián, El Tambo y Suscal. Los problemas de salud debido a la contaminación por basura, hace que estos pueblos busquen

soluciones, mediante la creación de un organismo que se responsabilice del tratamiento de los desechos sólidos de estos pueblos.

La Empresa Pública Municipal Mancomunada de Aseo Integral del Pueblo Cañari EMMAIPC-EP, creada para implementar la Gestión Integrada de los Desechos Sólidos, estableciendo nexos con la ciudadanía del territorio Mancomunado crea, propicia, fortalece y consolida una cultura ambiental y consecuentemente dota de un mejor estilo de vida. Su responsabilidad es trabajar en la limpieza, recolección y disposición final de los desechos sólidos, mediante el tratamiento técnico.

Una vez que la empresa Pública Municipal Mancomunada de Aseo Integral del pueblo Cañari, aplique las recomendaciones sugeridas de esta investigación se podrán contrarrestar la contaminación del aire, agua y suelo debido a que los desechos serán tratados de manera adecuada, generando una buena imagen al sector contribuyendo con el medio ambiente. (Guasco & Jaramillo, 2015, pp. 29-35)

Constituyen los cantones de Cañar, El Tambo, Suscal y Biblián, con 15 parroquias rurales y una población de 94.361 habitantes en una superficie de alrededor de los 2.300 Km². (INEC, 2010, <http://www.ecuadrencifras.gob.ec/censo-de-poblacion-y-vivienda/>)

1.6.1. Integrantes

El frente administrativo de la Empresa Pública Municipal Mancomunada de Aseo Integral del Pueblo Cañari EMMAIPC-EP está constituido por:

- ✓ Ing. Ramiro Padilla, Gerente
- ✓ Lcdo. Freddy Lema, Comunicador Social
- ✓ Ing. Franklin Rivera, Director Técnico.
- ✓ Eco. María Alexandra Niveló, Directora Financiera Administrativa.
- ✓ Abg. Xavier Cárdenas. Asesor Jurídico.
- ✓ Ing. Santiago Ortiz, Ing. Rubén Bustos, Ing. Miguel Pichizaca, Teg. Lorenzo Loja, Técnicos Zonales
- ✓ Ing. Rafael Vázquez, Técnico Centro de Gestión.
- ✓ Además de los alcaldes de la administración vigente pertenecientes a la mancomunidad.

1.6.2. Misión

Somos una empresa con estrategias y políticas necesarias para implementar La gestión integrada de los residuos sólidos en el territorio mancomunado del pueblo Cañari, a fin alcanzar calidad en el servicio, disminución de los riesgos ambientales, satisfacción de los usuarios y la conservación y manejo sostenido de los recursos naturales; generando información, difusión y educación con la sociedad civil para lograr una cultura ambiental y así contribuir al mejoramiento de la calidad de vida de sus habitantes en armonía con la naturaleza (EMMAIPC-EP, 2012, <http://www.emmaipc-ep.gob.ec/index.php/servicios/caracterizacion>)

1.6.3. Visión

La Empresa Pública Mancomunada del Pueblo Cañari, en los próximos 5 años construirá un territorio en donde todos sus actores estarán trabajando participativa y coordinadamente a través de un proceso de concertación, cambio de actitud con ciudadanía ambiental e implementando la gestión integrada de los desechos sólidos, en el marco del desarrollo sostenible, promoviendo la reducción, la reutilización y el reciclaje de residuos sólidos en el territorio mancomunado, constituyéndose en un referente nacional (EMMAIPC-EP, 2012, <http://www.emmaipc-ep.gob.ec/index.php/servicios/caracterizacion>)

1.6.4. Objetivos

- a) Reducir la cantidad de desechos sólidos para la disposición final en el relleno sanitario, con los siguientes proyectos:
 - ✓ Separar adecuadamente los desechos sólidos desde la fuente hasta su disposición final.
 - ✓ Optimizar la disposición final de los desechos sólidos no reciclables.
 - ✓ Alianzas con el sector privado para la recolección, clasificación, procesamiento y comercialización de desechos.
 - ✓ Procesamiento y comercialización los desechos sólidos generados
- b) Asegurar la continuidad, sostenibilidad y crecimiento de cobertura de los servicios
 - ✓ Servicio de recolección
 - ✓ Gestión del barrido y limpieza
 - ✓ Gestión del mantenimiento.
 - ✓ Gestión del relleno sanitario.
- c) Acreditar a la empresa como modelo de gestión
 - ✓ Gestión administrativa/tecnológica.

- ✓ Gestión del talento humano.
- ✓ Obtener la certificación ISO 9000 e ISO 14000
- d) Impulsar una educación y cultura ciudadana responsable e innovadora para la gestión de desechos sólidos y protección de la salud pública.
- ✓ Campañas de información, derechos, obligaciones y servicios.
- ✓ Generar y participar en espacios de coordinación interinstitucional.
- ✓ Establecer alternativas ciudadanas que integren y mejoren el sistema de limpieza y barrido y promoción de la salud. (EMMAIPC-EP, 2014, <http://www.emmaipc-ep.gob.ec/images/rendicion-de-cuentaspdf>)

1.6.5. Estructura

Se crearon algunas responsabilidades que la empresa como tal tiene que cumplir en el marco del código de trabajo, la ley de empresas públicas y la legislación ambiental en vigencia; luego con estas recomendaciones y por mandato del Directorio de la EMMAIPC-EP, se procedió a la realización de la Restructuración funcional de la empresa pública municipal mancomunada de aseo integral de los cantones de Cañar, Biblián, El Tambo y Suscal a partir de un diagnóstico institucional, las competencias constitucionales y legales y las demandas operativas de la empresa" vía consultoría, cuyo objetivo principal es el de definir una Propuesta para la Restructuración Orgánico funcional de la EMMAIPC-EP; a partir de un diagnóstico Institucional y en concordancia con la competencia y la normativa vigente; estudio que, igualmente fue presentado y aprobado. (EMMAIPC-EP, 2014, <http://www.emmaipc-ep.gob.ec/images/rendicion-de-cuentaspdf>)

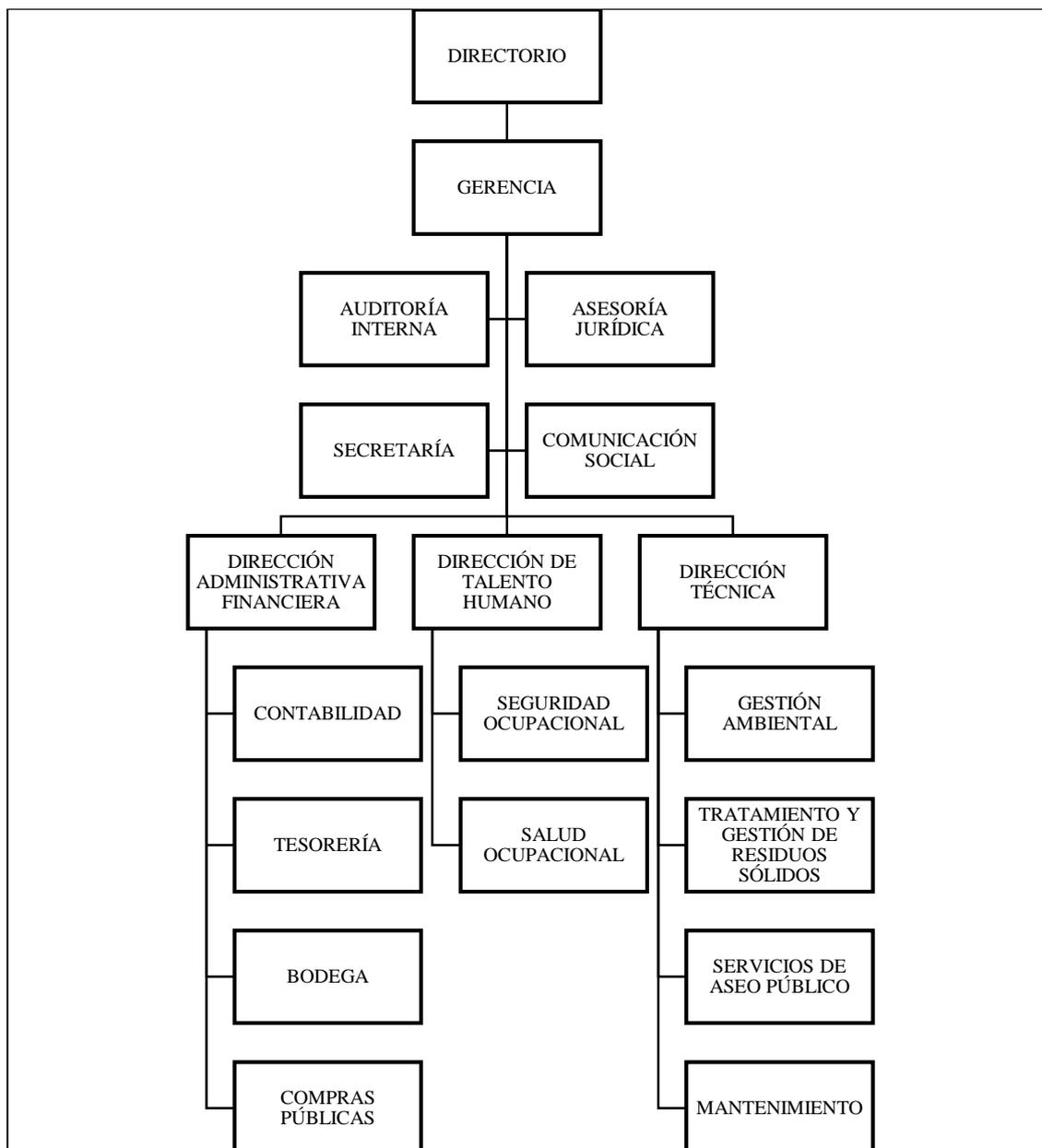


Figura 4-1: Estructura orgánica EMMAIPC-EP

Fuente: (EMMAIPC-EP, 2014.)

1.6.6. Ubicación

El proyecto se encuentra implantado en la provincia de Cañar, cantón Cañar, el sistema se basa en la recolección y almacenamiento de los residuos sólidos de los cantones pertenecientes a la mancomunidad, en el almacenamiento se realiza la separación permitiendo clasificar los materiales reciclables y con los desechos orgánicos se procede con la realización de pilas (agrupamiento de residuos en montones, con una altura recomendada menor de 2,7 metros, y sin una limitación en cuanto a su longitud). En el sector de Yuracasha se posee un lugar extenso para

realizar esta actividad, no todos los días tenemos afluencia de materia orgánica, ello permite que el área de composteo de la empresa conste de un sistema de aireación abierta.

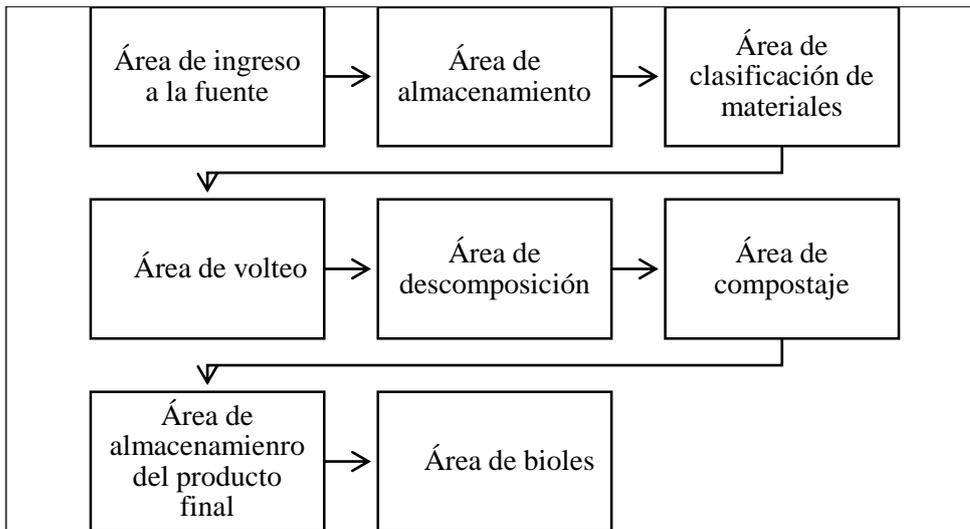


Figura 5-1: Áreas del relleno Sanitario de Yuracasha

Fuente: (EMMAIPC-EP, 2014)

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Lugar del proyecto

El relleno sanitario Yuracasha se encuentra ubicado en la Provincia Cañar, Cantón Cañar, Parroquia Cañar, comunidad Yuracasha. La ubicación geográfica del relleno son las siguientes coordenadas: longitud este (X) 725578 y latitud norte (Y) 9720365 UTM, WGS84. El proyecto cuenta con un área de 4954,05 m² y se encuentra a una altura aproximada de 3120 msnm.

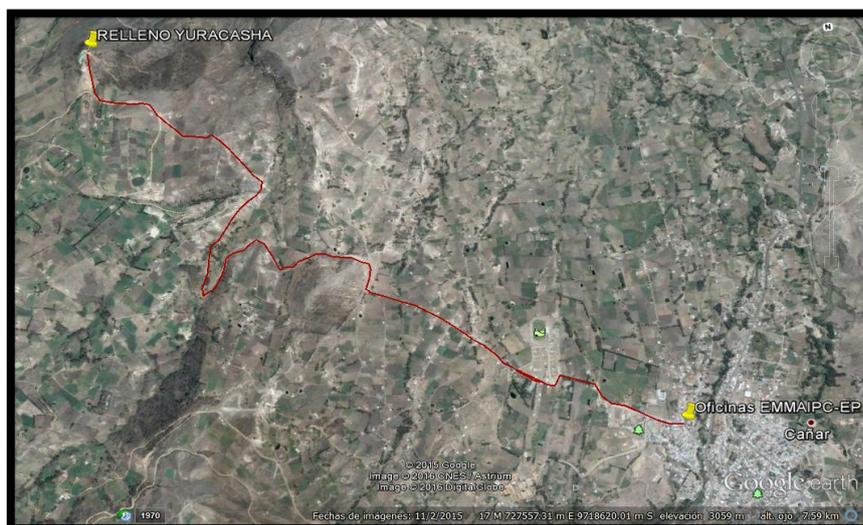


Figura 1-2: Ubicación del Relleno Sanitario de Yuracasha

Realizado por: Catagña, A; Noboa, D, 2015

Las condiciones meteorológicas en las que se desarrolla el proyecto de generación de biol se detallan a continuación.

Tabla 1-2: Condiciones Meteorológicas cantón Cañar

Parámetros	Valores Promedio
Temperatura (°C)	11
Precipitación mm/año	560,4
Humedad relativa %	73,8

Fuente: (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, 2015)

Realizado por: Catagña, A; Noboa, D, 2015

2.2. Proceso de producción del Biol

2.2.1. Cantidad de materia orgánica generada

La EMMAIPC-EP por medio de su actividad de recolección y clasificación obtiene una producción de 30 toneladas diarias, de las cuales de acuerdo al informe anual de la empresa son recuperables 26 toneladas, a continuación presentamos la composición de los residuos.



Gráfico 1-2: Composición de Residuos recolectado por la EMMAIPC-EP 2012

Fuente: (Ormaza, 2015, p. 22).

El 70,11% representa la cantidad de residuos orgánicos de los cantones de Cañar, Suscal, El Tambo y Biblián.

La materia orgánica recolectada de los cantones El Tambo y Cañar, llega al relleno sanitario de Yuracasha, la cantidad receptada se presenta en la tabla 2-2.

Tabla 2-2: Cantidad semanal de residuos orgánicos Relleno Sanitario Yuracasha

El Tambo	Cañar	Total semanal
5,33 Ton/sem	5,37 Ton/sem	10,70 Ton/sem

Fuente: (EMMAIPC-EP, 2014)

2.2.2. Descripción de producción

Los desechos en su mayoría son clasificados en los domicilios, luego los mismos son transportados por los vehículos recolectores de basura o volquetes destinados a esa actividad, el proceso se realiza lunes y viernes, en el centro de acopio los minadores tienen la misión de separar

los residuos inorgánicos de los orgánicos, aquellos que no pueden ser reciclados o ya no representan valor son dirigidos al relleno sanitario; por su parte los orgánicos son transportados en una mini cargadora al galpón destinado para los mismos, en el cual se forman pequeños montículos y dependiendo de su cantidad, humedad se los volteará para que adquieran oxígeno necesario para que los microorganismos interventores en el proceso continúen con su actividad; teniendo un control de la temperatura y los olores siendo para este la adición de cal y zeolita.

El proceso de generación de compost se lo realiza en cuatro fases consecutivas, y el movimiento de los montículos de residuos se lo realiza cada tres meses, para la producción final de biol el tiempo aproximado es de un año.

Por la acción de los microorganismos en la degradación de los residuos orgánicos afiliado a la temperatura generada, se expiden lixiviados los mismo que son conducidos por drenes desde el galpón hacia los tanques de almacenamiento los que cumplirán la función de biodigestores para así producir el biol.

2.2.3. Tratamiento de lixiviados para la obtención de biol

Existe un sistema diseñado para el manejo de los lixiviados y su posterior uso en la obtención de biol este contará con algunas etapas.

2.2.3.1. Sistema de drenes de recolección de lixiviados

El área destinada para los residuos orgánicos ha sido adaptada para la conducción de los lixiviados, para lo cual existe un sistema de drenes perimetrales, en el cual estos remanentes son captados y depositados en el sistema de almacenamiento y tratamiento de lixiviados. Evitando de esta manera la generación de malos olores y la incorrecta descomposición de la materia orgánica evitando que su proceso de fermentación no se cumpla con normalidad.

Con canales de hormigón simple de 180kg/cm², son conducidos los lixiviados, a su vez existen cajas de empates de drenes, en las que los drenes secundario y principal son conectados permitiendo de esta manera transportas los lixiviados al sistema de almacenamiento.

2.2.3.2. Sistema de almacenamiento y tratamiento de lixiviados

La caja de empate de drenes está ubicada en la parte inferior del galpón, desde esta los lixiviados son trasladados mediante tubería de PVC de 110 mm de diámetro, hacia los contenedores.

2.2.4. Manejo de lixiviados

El área de tratamiento de lixiviados se realiza a través de la incorporación de tanques de 600 L, de material plástico de alta densidad, con un total de 16 tanques conectados entre sí, tienen una capacidad volumétrica de 9600 L.

Una vez depositados los lixiviados en los tanques cumplen la función de biodigestor, puesto que en su interior se realizará el proceso de fermentación, obteniendo finalmente el biol, para ello se realiza la incorporación de microorganismos eficientes autóctonos (EMA), teniendo una dosis de 1 galón de estos microorganismos por cada 200L de lixiviado a ser tratado. Las funciones principales de estos microorganismos pueden describirse como:

- ✘ Transforman y sintetizan la materia orgánica.
- ✘ Reducen los valores de DBO y DQO.
- ✘ Incrementa los valores de oxígeno disuelto.
- ✘ Reduce producción de lodos.

2.2.5. Materiales e insumos utilizados dentro del proceso

- ✘ Microorganismos eficientes autóctonos (EMA).
- ✘ 16 tanques de 600 L de capacidad.
- ✘ Tubería de PVC de 110 mm de diámetro.
- ✘ Embudo.
- ✘ Cubetas.
- ✘ EPP (mascarilla, guantes, gafas de seguridad, botas, overol, entre otros.)

2.2.6. Volumen promedio de bioles generados

El volumen promedio de biol generado hasta la actualidad es de 9600 litros almacenados.

2.2.7. Diagrama de flujo

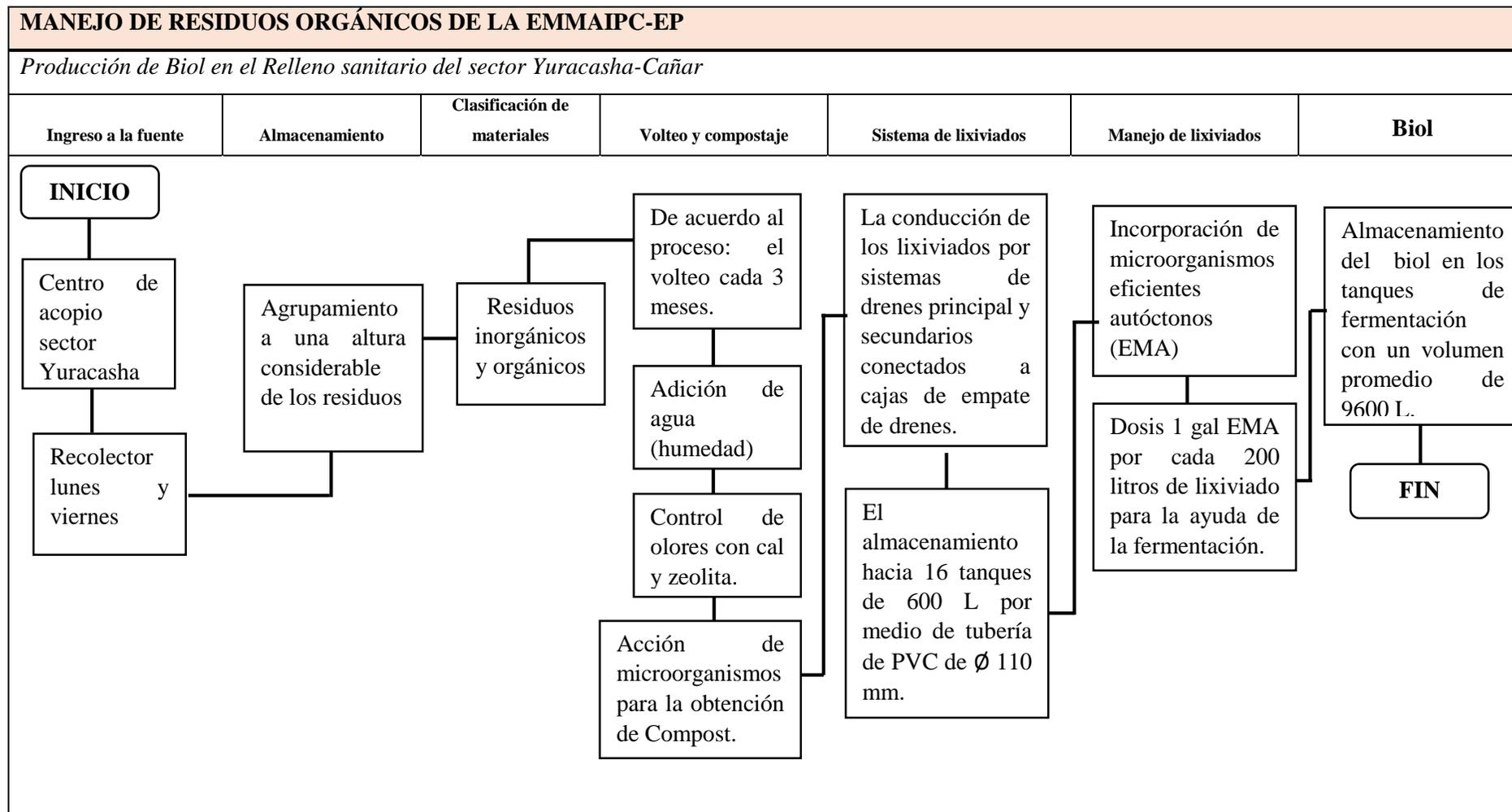


Figura 2-2: Diagrama de flujo de producción de Biol-EMMAIPC-EP

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

2.3. Cuantificación de la muestra.

2.3.1. Toma de la muestra:

2.3.1.1. Materiales

- ✓ Envases de plásticos esterilizados
- ✓ Cooler
- ✓ Equipo de protección personal: guantes, mascarilla, botas de caucho, casco.

2.3.1.2. Método

El muestreo simple fue el método aplicado para la toma de muestra, teniendo a consideración el equipo de protección personal, dicho método consistió en hacer fluir el efluente (biol) por la tubería de los biodigestores durante dos a tres minutos, luego de ello se aforó el envase esterilizado con una cantidad considerable para tomar la cantidad de 10 litros de biol, estos fueron guardados en los dos coolers para conservar la temperatura de 11 °C del sector Yuracasha del cantón Cañar y su composición, con el propósito de no alterar sus componentes para las consiguientes pruebas de laboratorio. Las primeras muestras se tomaron en el mes de octubre de 2015, las siguientes en el mes de noviembre del mismo año y las ultimas se consideró una cantidad de 30 litros en el mes de enero de 2016 siendo esta para la aplicación en campo.



Figura 3-2: Toma de muestra

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

2.4. Análisis Físicos

Los análisis físicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Química General de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicado en el Km 1 ½ de la Panamericana Sur en la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo.

2.4.1. Densidad

La medición fue directa con el uso de un densímetro.

2.4.1.1. Materiales

- ✓ Probeta de 1000 mL
- ✓ Densímetro
- ✓ 1000 mL de Biol

2.4.1.2. Método

Densímetro.- Son varillas flotadoras huecas, con lastre en la parte inferior y graduadas en densidades. Se fundamentan en el principio de Arquímedes. Cuanto menor es la densidad de un líquido tanto más se hunde en él los densímetros.

- ✚ Se colocó una cantidad de biol (1000 mL) en una probeta graduada.
- ✚ Con las manos limpias tomamos el densímetro de la parte superior y se lo sumergió en el biol, de tal manera que su posición sea vertical.
- ✚ Al ser introducido, dejó de flotar en la muestra hasta que finalmente quedó en reposo.
- ✚ Se realizó la lectura, y se identificó la densidad marcada en el borde superior del menisco.
- ✚ En una probeta de vidrio de capacidad de 1000 mL, colocamos el biol, con la ayuda de un densímetro, observamos la graduación indicada por el densímetro sumergido.

2.4.2. Biomasa

La biomasa fue determinada mediante cálculos, conociendo la densidad del fertilizante, y el volumen aplicado en el método antes utilizado para la determinación de la densidad.

2.4.2.1. Materiales

- ✓ Probeta de 1000 mL
- ✓ Densímetro
- ✓ 1000 mL de Biol

2.4.2.2. Método

- ✚ Se anotó el volumen a ser evaluado.
- ✚ Se verificó la densidad en el densímetro de la muestra evaluada.
- ✚ Se interpretó la fórmula física de la densidad, misma con la que se pudo determinar la relación entre el volumen y la densidad antes obtenidos.

$$\delta = \frac{m}{V}$$

- ✚ Se realizó el cálculo de la biomasa.

$$m = \delta * V$$

2.4.3. Temperatura

2.4.3.1. Materiales

- ✓ Termómetro

2.4.3.2. Método

Para la medición de la temperatura se tomó una muestra de 100 mL, en la misma se introdujo un termómetro graduado y se identificó los grados señalados por el mercurio.

Para las pruebas de laboratorio, se realizó un seguimiento de 10 días de la temperatura del biol, con ello se procuró tener una idea de la actividad fermentativa de los microorganismos en el fertilizante.

2.4.4. pH

Mediante el método normalizado 4500B de la APHA-AWWA-WPFC, se realizó la medición directa, por sumersión del electrodo de pH en una muestra homogénea.

2.4.4.1. Materiales

- ✓ Potenciómetro
- ✓ Vaso de precipitación

2.4.4.2. Método

Potenciómetro

En la medición del pH de una solución se debe tener en cuenta que el valor es relativo, puesto que para la medición se tomó una solución Buffer de pH conocido, con la que al medir el pH de nuestra sustancia se realiza una comparación de la concentración de H^+ , Al entrar en contacto la solución con el electrodo se establece un potencial a través de la membrana de vidrio.

Papel indicador

Ciertas concentraciones se pueden definir con el uso del papel indicador, puesto que este está impregnado de sustancias químicas que reaccionan.

Las tiras indicadoras de pH, se sumergen en soluciones, y de acuerdo al nivel de pH que tenga darán como resultado tonos y coloraciones distintos, se deja actuar por 10 segundos y se comparan las coloraciones con las señaladas en la escala de colores, reconociendo si la misma posee un nivel de acidez o alcalinidad.

2.5. Análisis Bioquímicas

Microelementos, macroelementos, conductividad eléctrica y materia orgánica:

Los análisis fueron realizados en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Santa Catalina-Quito.

Método para pH y C.E medición directa (INIAP)

Método para la materia orgánica (INIAP):

Walkley Black

El método Walkley y Black establecido en la valoración con dicromato (VI) en medio ácido; el análisis del carbono orgánico se realiza oxidando el carbono del sedimento con un volumen conocido de dicromato de potasio, en ácido sulfúrico concentrado y en presencia de sulfato de plata.

En un Erlenmeyer de 250 ml, se colocó un volumen de 30 ml de fertilizante foliar (biol), este con anterioridad debe ser filtrado con una malla de 0,25 mm de diámetro, se añadió 5 ml de solución

de dicromato de potasio de concentración 1N, y 10 ml de ácido sulfúrico concentrado, se mezcló y dejó reposar por un espacio de 30 minutos. Después de la espera se añade al mismo 70 mL de agua destilada, 3ml de ácido fosfórico 85%, y finalmente se agrega 0,5 ml de difenilamina, para la titulación se agregará sulfato de plata hasta que el viraje permita visualizar una coloración verde brillante.

2.6. Análisis Microbiológicos

Los análisis microbiológicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal (LABIMA) de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicado en el Km 1 ½ de la Panamericana Sur en la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo a una superficie de 979,7 Km² y a una latitud de 9807000 UTM y longitud de 764600 UTM.

Identificación de microorganismos

2.6.1. E. coli

2.6.1.1. Materiales

- ✓ Botella de esterilización 250 mL
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Gradilla de plástico
- ✓ Pipetas 1 mL
- ✓ Vaso de precipitación de 250 mL
- ✓ Mechero de alcohol
- ✓ Fosforo
- ✓ Pera de goma
- ✓ Placas Petrifilm™ E. coli

2.6.1.2. Reactivos y muestra

- ✓ Alcohol industrial
- ✓ Agua destilada
- ✓ Biol (líquido)

2.6.1.3. Equipo

- ✓ Cabina de flujo laminar

- ✓ Estufa
- ✓ Agitador de tubos de ensayo

2.6.1.4. Método

Se utilizó placas Petrifilm™ de *E. coli* para la determinación del mismo, con tres repeticiones. La siembra consistió en una dilución de la muestra de alimentación en tres tubos etiquetados desde la 10^{-1} a la 10^{-3} , añadidos a cada uno 9 mL de agua destilada y 1 mL de la muestra de Biol puro en el tubo 10^{-1} y del mismo tubo volvemos a coger con una nueva pipeta 1mL de la disolución, así hasta la 10^{-3} ; a los tubos se agitaron durante 60 segundos para que exista una homogeneidad del contenido. Se dispuso al film inferior un 1mL del último tubo correspondiente de la muestra disuelta y de manera suave se realizó una presión del dispensor en el film superior para distribuir el inóculo por la zona circular. Se esperó 1 minuto para que se solidifique el gel, para luego proceder a ser incubado a 35 °C durante 24 a 48 horas.



Figura 4-2: Distribución de la muestra en las placas Petrifilm *E. coli*
Realizado por: Catagña, A; Noboa, D, 2015

2.6.2. *Staphylococcus aureus*

2.6.2.1. Materiales

- ✓ Botella de esterilización 250 mL
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Gradilla de plástico
- ✓ Pipetas 1 mL
- ✓ Vaso de precipitación de 250 mL
- ✓ Mechero de alcohol
- ✓ Fosforo
- ✓ Pera de goma

- ✓ Placas Petrifilm™ Staph Express
- ✓ Disco Petrifilm Staph Express

2.6.2.2. *Reactivos y muestra*

- ✓ Alcohol industrial
- ✓ Agua destilada
- ✓ Biol (líquido)

2.6.2.3. *Equipo*

- ✓ Cabina de flujo laminar
- ✓ Estufa
- ✓ Agitador de tubos de ensayo

2.6.2.4. *Método*

Las placas Petrifilm™ de Staph Express (*Staphylococcus aureus*), se utilizaron para la determinación del mismo, con tres repeticiones. La siembra consistió en una dilución de la muestra de alimentación en tres tubos etiquetados desde la 10^{-1} a la 10^{-3} , añadidos a cada uno 9 mL de agua destilada y 1 mL de la muestra de Biol puro en el tubo 10^{-1} , de este mismo tubo volvemos a coger con una nueva pipeta 1mL de la disolución, así hasta la 10^{-3} . A los tubos se agitaron durante 60 segundos para que exista una homogeneidad del contenido. Se dispuso al film inferior un 1mL de la muestra 10^{-3} y de manera suave se realizó una presión del dispersor en el film superior, para distribuir el inóculo esperando 1 minuto hasta que solidifique el gel. Se incubó a 37 °C durante 24 horas.

Para confirmar la presencia de *Staphylococcus aureus* se utilizó el disco Petrifilm Staph Express donde fue colocado en la parte del film inferior, deslizando los dedos sobre el film superior para tener un contacto entre el disco y el gel, evitando la presencia de burbujas de aire. Luego de ello se incubó a una temperatura de 37°C durante 3 horas.



Figura 5-2: Disco de confirmación para *Staphylococcus aureus*.

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

2.6.3. *Coliformes totales*

2.6.3.1. *Materiales*

- ✓ Botella de esterilización 250 mL
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Gradilla de plástico
- ✓ Pipetas 1 mL
- ✓ Vaso de precipitación de 250 mL
- ✓ Mechero de alcohol
- ✓ Fosforo
- ✓ Pera de goma
- ✓ Placas Petrifilm™ de Coliformes totales

2.6.3.2. *Reactivos y muestra*

- ✓ Alcohol industrial
- ✓ Agua destilada
- ✓ Biol (líquido)

2.6.3.3. *Equipo*

- ✓ Cabina de flujo laminar

- ✓ Estufa
- ✓ Agitador de tubos de ensayo

2.6.3.4. Método

Se realizó tres repeticiones utilizando placas Petrifilm™ de Coliformes totales para la determinación del mismo. La siembra consistió en una dilución de la muestra de alimentación; en tres tubos etiquetados desde la 10^{-1} a la 10^{-3} , añadidos a cada uno 9 mL de agua destilada y 1 mL de la muestra de Biol puro en el tubo 10^{-1} y del mismo tubo volvemos a coger con una nueva pipeta 1mL de la disolución, así hasta la 10^{-3} . A los tubos se agitaron durante 60 segundos para que exista una homogeneidad del contenido. Se dispuso al film inferior un 1mL de la muestra 10^{-3} y de manera suave se realizó una presión del dispersor en el film superior, para distribuir el inóculo por el área circular. Se esperó 1 minuto para que se solidifique el gel y luego de ello se incubó a 32 °C durante 24 horas.

2.6.4. *Clostridium perfringens*

2.6.4.1. Materiales

- ✓ Botella de esterilización
- ✓ Pipetas 1 mL y 2 mL
- ✓ Vaso de precipitación de 50 mL
- ✓ Pera de goma
- ✓ Placas petri
- ✓ Espátula
- ✓ Porta y cubreobjetos

2.6.4.2. Reactivos y muestra

- ✓ Agua destilada
- ✓ Biol (líquido)
- ✓ *Clostridium perfringens* Agar base

2.6.4.3. Equipo

- ✓ Cabina de flujo laminar

- ✓ Estufa
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Microscopio

2.6.4.4. Método

Se preparó una solución de 2.25 gramos del medio *Clostridium perfringens* Agar Base, en 50 mL de agua destilada, para ser disuelta y calentada en el agitador magnético a una velocidad de 7-8 rpm con una temperatura de 35 °C durante 5 minutos. De acuerdo a la técnica de preparación el medio fue autoclavado a una temperatura de 121°C con una presión de 103 kPa; de acuerdo al número de placas se preparó la solución, en este caso la siembra se realizó con tres repeticiones, una vez esterilizada la muestra se comenzó a realizar la siembra en la cámara de flujo laminar de manera anaeróbica. Se colocó 1 mL de Biol en la parte inferior de la caja petri, seguidamente adicionando el medio preparado, las mismas se incubaron en la estufa a 37 °C durante 24 horas, después de este tiempo se dio lectura a las placas correspondientes.



Figura 6-2: Caja de anaerobiosis.

Realizado por: Catagña, A; Noboa, D., 2015

La técnica de Tinción de Gram se realizó para la verificación del *Clostridium perfringens*, la misma consistió en:

Fijación: Se colocó una gota de agua en el portaobjetos desinfectado, para luego añadir mediante la asa de siembra esterilizada la colonia aislada y con la ayuda de una pinza flameamos la muestra en el mechero hasta que el agua seque por completo.

Coloración: En la placa fijada se puso una gota de cristal de violeta, dejando actuar durante 1 minuto; pasado el tiempo estimado se lavó con agua para añadir yodo Gram, dejando el mismo

tiempo de reposo que el anterior para luego volver a lavar con agua. Luego de ello se añadió una gota de lugol y una gota de alcohol acetona dejando hasta que tome una decoloración, luego se enjuagó con agua para añadir la tinción de contraste safranina, se dejó reposar por 1 minuto para nuevamente lavar con agua y quitamos el exceso del mismo con papel absorbente.

Observación: A la muestra se colocó una gota de aceite de inmersión para ser vista en el microscopio con el lente 100x.

2.6.5. *Salmonella*

2.6.5.1. Materiales

- ✓ Botella de esterilización 150 mL
- ✓ Pipetas 1 mL
- ✓ Vaso de precipitación de 50 mL
- ✓ Pera de goma
- ✓ Placas petri
- ✓ Espátula

2.6.5.2. Reactivos y muestra

- ✓ *Salmonella-Shigella* Agar
- ✓ Agua destilada
- ✓ Biol (líquido)

2.6.5.3. Equipo

- ✓ Cabina de flujo laminar
- ✓ Estufa
- ✓ Balanza analítica

2.6.5.4. Método

Se preparó 6 gramos de *Salmonella-Shigella* Agar en 100 mL de agua destilada, para continuar ubicando en el agitador magnético con el objetivo de disolver el soluto en el solvente, con un control de velocidad de 7-8 rpm durante 5 minutos. El medio preparado fue enfriado

aproximadamente a 45 °C en la cual la misma se dispuso a la cámara de flujo laminar, donde se realizó la siembra por estrías con tres repeticiones, de 1 mL de Biol en cada placa petri, las mismas se incubaron en la estufa a 37 °C durante 18 a 24 horas, luego de este tiempo determinado se interpreta los resultados.

2.6.6. *Fusarium sp.*

2.6.6.1. Materiales

- ✓ Botella de esterilización 150 mL
- ✓ Pipetas 1 mL
- ✓ Vaso de precipitación de 50 mL
- ✓ Pera de goma
- ✓ Placas petri
- ✓ Espátula
- ✓ Porta y cubreobjetos

2.6.6.2. Reactivo y muestra

- ✓ Papa dextrosa Agar (PDA)
- ✓ Agua destilada
- ✓ Biol (líquido)

2.6.6.3. Equipo

- ✓ Cabina de flujo laminar
- ✓ Estufa
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Microscopio

2.6.6.4. Método

Se preparó una solución de 3.12 gramos de Papa Dextrosa Agar en 80 mL de agua destilada, dicha solución se ubicó en el agitador magnético con el objetivo de disolver el soluto en el solvente, con un control de velocidad de 7-8 rpm durante 5 minutos. El medio preparado fue autoclavado a una temperatura de 121°C con una presión de 103 kPa. Una vez autoclavada la muestra, se

prepara para sembrar de manera anaeróbica con 1 mL de Biol en las placas petri adicionando el agar preparado con tres repeticiones, las mismas teniendo una incubación a 28 °C durante 24 horas y luego de ello ser interpretadas.



Figura 7-2: Siembra anaeróbica del biol en el medio PDA.

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015.

El reconocimiento del *Fusarium sp.* se realizó:

- ✚ Se aisló una colonia de la caja Petri con una asa previamente esterilizada
- ✚ La muestra se colocó en el portaobjetos y se le añadió azul de metileno para proceder a la observación en el microscopio con el lente de 40X.

2.7. Alternativas tecnológicas de corrección para la eliminación de la contaminación microbiana patógena.

2.6.7. Biológicas:

2.6.7.1. Tricobiol - 4E (Fungicida): *Trichoderma sp.*

Materiales

- ✓ Botellas de vidrio esterilizadas
- ✓ Vaso de precipitación de 500 mL
- ✓ Pera de goma
- ✓ Espátula
- ✓ Placas Petri

Reactivos y muestra

- ✓ Alcohol industrial

- ✓ Biol (líquido)

Equipo

- ✓ Estufa
- ✓ Balanza analítica

Método

Se realizó las siguientes dosificaciones:

- + La dosificación mínima y máxima del Tricobiol a los 5 días de acción en el biol fue de 0,4% (4g/L) y 0,8 % (8g/L) más los 3 días de cultivo; para comprobar la efectividad de dicho producto se realizó el método de caracterización de *Clostridium perfringens*, expresado en el apartado 2.6.4. y de igual forma se verificó con la misma dosis a los 12 días y 21 días.
- + Otra dosificación del Tricobiol fue del 8 % (8g/100mL) adicionado al biol, con 5 y 12 días de acción más los 3 días de cultivo; que de igual forma al transcurrir el tiempo estimado se procedió a la siembra en el agar para la identificación de ausencia o presencia del *Clostridium perfringens*.

2.6.7.2. Agro VerdeBacter (Bactericida – Fungicida – Estimulante): Bacterfín Super

Materiales

- ✓ Botellas de vidrio esterilizadas con tapa.
- ✓ Vaso de precipitación de 250 mL
- ✓ Pera de goma
- ✓ Pipetas de 2 mL
- ✓ Placas Petri

Reactivo y muestra

- ✓ Alcohol industrial
- ✓ Biol (líquido)

Equipo

- ✓ Estufa

Método

Se realizó distintas dosificaciones:

- ✚ La dosificación del Agro VerdeBacter mínima y máxima a los 5-12-21 días de acción en el biol fue de 1 % (10mL/L) y 2 % (20 mL/L) incluido los 3 días de cultivo correspondientes, para la identificación del *Clostridium perfringens*, según el método descrito anteriormente.
- ✚ Otra dosis fue al 20 % (20 mL/100mL) con 5 días de acción más los 3 días de cultivo, donde se realizó de acuerdo al tiempo estimado la siembra e incubación para la observación de la presencia del patógeno *Clostridium perfringens*, realizada de acuerdo al método correspondiente y con la misma dosis se realizó otra siembra a los 12 días de acción del AgroVerdeBacter.



Figura 8-2: Productos Biosagro-Tratamiento biológico

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

2.6.8. Filtración

2.6.8.1. Unidad de filtración Millex-GP de 0.22 μm (Millipore).

Materiales

- ✓ Vaso de precipitación de 50 mL
- ✓ Pera de goma
- ✓ Pipetas de 1 mL
- ✓ Placas petri
- ✓ Jeringa 5 mL

Reactivos y muestra

- ✓ Alcohol industrial
- ✓ Biol (líquido)

Equipo

- ✓ Estufa

Método

Con la ayuda de la jeringa esterilizada de 10 mL acoplado a la unidad de filtración Millex-GP de 0.22 μm (Millipore), se filtró una adecuada cantidad de biol, para proceder a realizar el método del *Clostridium perfringens* descrito en el apartado 2.6.4

2.6.8.2. *Filtro de membrana de 0.2 μm y papel filtro para análisis cualitativos (Rundfilter MN 615 Ø 15 cm)*

Materiales

- ✓ Vasos de precipitación de 250 mL
- ✓ Matraz erlenmeyer 500 mL
- ✓ Pera de goma
- ✓ Pipetas de 1 mL
- ✓ Placas petri
- ✓ Manguera de laboratorio

Reactivos y muestra

- ✓ Alcohol industrial
- ✓ Biol (líquido)

Equipo

- ✓ Estufa
- ✓ Equipo de filtración por membrana

Método

Se instaló el equipo de filtración por membrana donde el filtro de membrana de 0.2 µm se colocó encima del embudo de filtración y la bomba de succión permitió absorber el biol (líquido), siendo conectada por una manguera de laboratorio al matraz erlenmeyer y así quedando en el papel filtro la parte sólida y el mismo proceso se realizó para el papel filtro para análisis cualitativos - Rundfilter MN 615- Ø 15 cm con espesor de 0,16 mm. La cantidad obtenida se utilizó para realizar el método del apartado 2.6.4

2.6.9. Térmico a 121°C

Materiales

- ✓ Frascos de vidrio refractarios de 500mL

Equipos

- ✓ Autoclave SANOclav B-ECZ

Método

El equipo es útil para esterilizar materiales, medios de cultivo y sustancias mediante presión de vapor y altas temperaturas 121°C, durante 15 a 20 minutos.

- ✚ Colocamos el frasco con el contenido de biol a esterilizar.
- ✚ Cerramos el autoclave.
- ✚ Encendimos y esperamos la señal que será emitida por el autoclave.
- ✚ Desde el instante que el autoclave emite la señal se tomará el tiempo de 15 minutos.
- ✚ Luego de haber cumplido con el tiempo requerido, se apagó el autoclave.
- ✚ Se procedió a liberar la presión del interior del autoclave, abriendo la válvula del equipo.
- ✚ Una vez realizado eso, pudimos destapar y proceder a retirar el biol ya esterilizado.

2.6.10. Acidez: (Ácido acético, ácido Cítrico y ácido Sulfúrico)

Materiales

- ✓ Vasos de precipitación de 500 mL
- ✓ Tiras de pH
- ✓ Potenciómetro

Reactivos y muestra

- ✓ Ácido cítrico
- ✓ Ácido Acético comercial Doña Petra
- ✓ Ácido Sulfúrico 0,25 M

Método

2.6.10.1. *Ácido Cítrico*

En la determinación de la concentración necesaria de ácido cítrico y su influencia en el pH de una muestra, primero se realizó una prueba en agua, reconociendo que la composición del biol es muy diferente.

- ✚ Con 1 g de ácido cítrico en agua en 1000 mL de agua, existió una variación del pH.
- ✚ En las pruebas con el biol hemos utilizado un volumen de 300 mL.
- ✚ Para el mismo se añadió proporcionalmente las cantidades calculadas en relación al adicionamiento al agua.

2.6.10.2. *Ácido acético*

- ✚ En un vaso de precipitación de 1000ml colocamos 100 mL de biol.
- ✚ Se toma una escala experimental de 15 mL, para ser añadidos de manera diferencial.
- ✚ Medir el pH, de forma secuencial, en cada adición de ácido acético.

2.6.10.3. *Ácido Sulfúrico*

- ✚ Verificamos con el pH el ácido sulfúrico de 0,25 M, mediante el potenciómetro o tiras de medición de pH.
- ✚ Añadimos 100 mL en un vaso de precipitación de 250mL.
- ✚ Añadiremos el ácido sulfúrico 0,25 M, en rangos de 1 mL y 10 mL.
- ✚ Verificamos la variación de pH con cada adición en el biol.

2.7. Evaluación de Biol en el pasto *Medicago sativa* (Alfalfa)

2.7.1. Localización de la prueba de campo

La prueba de campo se realizó en la Estación Experimental Tunshi, de la Facultad de Ciencias Pecuarias perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada a 12 Km vía Riobamba-Licto de la Parroquia Licto, Cantón Riobamba - Provincia de Chimborazo. Las condiciones meteorológicas donde se realizó el experimento se detallan en la siguiente tabla 3-2.

Tabla 3-2: Condiciones meteorológicas de la Estación Experimental de Tunshi-ESPOCH

Parámetros	Unidad	Medición
Temperatura anual	°C	13,4 °C
Precipitación anual	mm	421,2 mm
Humedad relativa anual	%	66,4%

Fuente: (Inca, 2015, p. 31)

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

2.7.2. Tratamientos evaluados

T0: Tratamiento testigo sin ninguna aplicación de fertilizante.

T1: Fertilización mediante aplicación de biol con una concentración de 600 L.ha⁻¹

T2: Fertilización mediante aplicación de biol con una concentración de 800 L.ha⁻¹

T3: Fertilización mediante aplicación de biol con una concentración de 1000 L.ha⁻¹

2.7.3. Unidades experimentales de evaluación

Se desarrolló dentro de la investigación 12 unidades experimentales constituidas de pasto *Medicago sativa* (Alfalfa). La cantidad de biofertilizante aplicado se lo realizó en una superficie total de 48 m² siendo cada unidad experimenta de 4 m² (2x2 m).

2.7.3.1. Tipo del diseño

Diseño de bloques completamente al azar

2.7.3.2. Repeticiones

Por cada tratamiento se realizó tres repeticiones.

- × Número de unidades experimentales: Doce
- × Área de las unidades experimentales: 48 m²
- × Largo: 8m.
- × Ancho: 6m.
- × Forma de la U.E*: Rectangular
- × Área total del ensayo: 70 m²
- × Largo: 10m.
- × Ancho: 7m.
- × Forma del ensayo: Rectangular con 3 repeticiones

El esquema del experimento de evaluación se detalla en la tabla 4-2

Tabla 4-2: Esquema del experimento de evaluación.

Nivel de Biol	Código	Repetición	Superficie/U.E*	m ² /tratamiento
Testigo	T0	3	4	12
600 L.ha ⁻¹	T1	3	4	12
800 L.ha ⁻¹	T2	3	4	12
1000 L.ha ⁻¹	T3	3	4	12
<i>Total del área de experimento</i>				48

U.E*: Unidad experimental

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

2.7.4. Dosis aplicadas en campo

Las dosis aplicadas en las unidades experimentales se determina por medio de las concentraciones (L.ha⁻¹), para los 48 m² que representa el área total de las unidades experimentales, se detallan en la tabla 5-2.

Tabla 5-2: Diluciones de aplicación en las unidades experimentales.

CONCENTRACIONES L.ha⁻¹			
	600	800	1000
D1*	1:0,5	1:0,5	1:0,5
D2*	1:1	1:1	1:1
D3*	1:1,5	1:1,5	1:1,5
D4*	1:2	1:2	1:2
D5*	1:5	1:5	1:5
D6*	1:10	1:10	1:10
D7*	1:15	1:15	1:15
D8*	1:20	1:20	1:20

(*): Diluciones

Fuente: (Chacón, 2011)

Realizado por: Catagnia, A.; Noboa, D., 2015

Materiales

- ✓ Flexómetro
- ✓ Libreta de apuntes
- ✓ Esferográficos
- ✓ Hoz
- ✓ Guantes industriales
- ✓ Machete
- ✓ Piola de cabuya
- ✓ Fundas plásticas
- ✓ Estacas
- ✓ Cuadrante 1x1m
- ✓ Bomba de mochila de 20 L
- ✓ Balde de 20 L

Reactivos y muestra

- ✓ Agua
- ✓ Biol (líquido)

Equipos

- ✓ Balanza electrónica de 1000 Kg de capacidad

- ✓ Cámara fotográfica
- ✓ Computador
- ✓ Calculadora

2.7.5. Producción agronómica *Medicago sativa* (Alfalfa)

2.7.5.1. Producción de Forraje verde por corte, Kg.ha⁻¹

Se realizó lanzamientos al azar por medio de un cuadrante de 1 m² para el primer y segundo corte de cada parcela respectiva, dejando para el rebote de la planta una altura de tallo de 5 cm, las 12 muestras cortadas se enfundaron para su posterior pesaje y se realizó la comparación a partir del cálculo del primer y segundo corte de producción de forraje verde en Kg.ha⁻¹.

$$\text{PMV/ha} = \frac{\text{PMV}}{\text{Área total del experimento}} \times 10000$$

Donde:

PMV: Producción de Materia verde por corte, Kg.ha⁻¹

2.8. Análisis Costo de aplicación

Se determinó el costo de aplicación a partir de la tecnología de corrección del biol considerando gastos como:

- ✚ Mano de obra
- ✚ Transporte
- ✚ Servicios básicos
- ✚ Depreciación del equipo

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1. Análisis, interpretación y discusión de resultados

3.1.1. Análisis de la densidad

Tabla 1-3: Resultado de la densidad del Biol.

Equipo	Método	Volumen (cm ³)	Densidad (g/cm ³)
Densímetro	Medición Directa	1000	1,5

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

La densidad como propiedad física, consiste en la correlación de la masa con el volumen, el contenido de sólidos disueltos en el biol está íntimamente relacionada con la densidad, se evidencia que la δ_{biol} es de 1,5 g/cm³ siendo una densidad superior a la del agua, ligeramente viscosa, por la presencia de sólidos disueltos, generados por la descomposición de materia orgánica en el proceso de producción.



Figura 1-3: Medición de la densidad del biol.

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.1.2. Análisis de la biomasa en peso

Tabla 2-3: Resultado de la biomasa en peso.

Método	Volumen (cm ³)	Densidad (g/cm ³)	Biomasa (g)
Matemático	1000	1,5	1500

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

Se determinó la biomasa utilizando el método matemático, obteniendo el resultado a partir de un volumen y densidad conocidos del biol, con ellos la biomasa que se encontró en este sustrato es de 1500 g, que es un resultado representativo por el contenido de materia orgánica contenida en él.

3.1.3. *Análisis del pH*

Se evidencia que el valor de pH de la muestra inicial sin ningún tipo de tratamiento es de 5,17, indica que es un valor ligeramente ácido; en los tratamientos aplicados como son el térmico, acidez y filtración, se presentó el aumento y una disminución del pH, por la aplicación de calor a la muestra se ocasiona que exista una ligera volatilización de los componentes nutricionales además de la formación de precipitados, generando finalmente que exista un aumento del pH, obtenido así un valor de 5,38; La adición de ácido a la solución de biol, genera una pérdida de cationes básicos como Calcio, Magnesio, Boro y Manganeso, elevando el contenido de Hidrógeno obteniendo en este tratamiento un valor de 2,05; La filtración es un método en el que el biol pasó por una pequeña membrana atrapando en él cierta cantidad de sólidos disueltos se obtuvo un valor de 5,43.

3.1.4. *Análisis de la temperatura*

Para alcanzar el proceso de fermentación es necesario contar con una temperatura mayor a los 22°C, en el caso del Fertilizante foliar biol, se obtiene un promedio de 19,29°C, lo cual no propició el desarrollo secuencial del proceso, pero en los días 1 y 6 se consideró puntos críticos lo cual garantiza que la actividad microbiana estaba activa, y su proceso no había terminado, la expedición de gas era evidente.

Tabla 3-3: Temperatura promedio de la muestra de biol.

DÍA	FECHA	T °C
1	16/11/2015	22,4
2	17/11/2015	19,1
3	18/11/2015	17,5
4	19/11/2015	18,5
5	20/11/2015	19,7
6	01/12/2015	22,3
7	02/12/2015	19,5
8	03/12/2015	16,7
9	04/12/2015	18,2
10	15/12/2015	19
T PROMEDIO		19,29

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.1.5. Análisis Bioquímicos del biol

Tabla 4-3: Resultados bioquímicos iniciales y finales del biol

DATOS INICIALES:														
<i>Indicador</i>	pH	Nt	P	Zn	Cu	Fe	Mn	B	K	Ca	Mg	C.E	S	M.O
<i>Unidad</i>		g/100g %	g/100g %	ppm	Ppm	ppm	ppm	ppm	g/100g %	g/100g %	g/100g %	mmho	g/100g %	g/100g %
<i>Valor</i>	5,17	0,53	0,07	7,60	1,80	164,50	25,30	3,50	1,13	0,45	0,11	29,60	0,05	5,50
DATOS FINALES:														
<i>Alternativas tecnológicas de corrección:</i>														
<i>Indicador</i>	pH	Nt	P	Zn	Cu	Fe	Mn	B	K	Ca	Mg	C.E	S	M.O
<i>Unidad</i>		g/100 ml %	g/100 ml %	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	g/100 ml %	g/100 ml %	g/100 ml %	dS/m	g/100 ml %	g/100g %
<i>BIOL 1:</i>														
<i>Esterilización</i>	5,38	0,32	0,06	3,10	1,30	127,40	16,10	3,90	0,87	0,34	0,09	26,64	0,05	4,10
<i>BIOL 2:</i>														
<i>Acidificación</i>	2,05	0,27	0,04	2,00	2,00	91,30	11,30	3,90	0,64	0,06	0,06	28,45	0,69	3,00
<i>BIOL 3:</i>														
<i>Filtración</i>	5,43	0,40	0,06	2,80	1,40	128,20	15,90	2,80	0,93	0,32	0,09	27,10	0,06	4,10

Realizado por: Catagná, A.; Noboa, D., 2015

3.1.5.1. Conductividad eléctrica

Por la naturaleza de las materias primas utilizadas para la producción del biol, que es una sustancia acuosa ligeramente viscosa, se confirma que el valor de la conductividad es directamente proporcional a la concentración de sólidos disueltos, iones como el calcio, magnesio, potasio, sodio, sulfatos hacen que los valores de conductividad sean elevados como es el caso de la muestra inicial con 29,60 dS/m, y en las muestras sometidas a tratamientos existió variaciones poco significativas así tenemos 26,64 dS/m, 28,45 dS/m y 27,10 dS/m.

3.1.5.2. Nitrógeno

De acuerdo a los resultados de los análisis bioquímicos la concentración de nitrógeno en las muestras de biol presentan un rango muy alto, la muestra inicial con 0,53 % según De la Rosa, (2012) en el Análisis físico y químico de fertilizante orgánico (BIOL) producido por biodigestores a partir de estiércol de ganado, los valores superiores a 0,25 % son de nivel muy alto, por lo tanto las muestras de esterilización, acidificación y filtración también poseen alta concentración con 0,32%, 0,27% y 0,40%.

3.1.5.3. Fósforo

El porcentaje de fósforo en el fertilizante foliar biol mostró valores con diferencias particulares, la muestra inicial tiene una concentración de 0,07 % que es demostrativa en comparación a 0,06 % de las muestras sometidas a esterilización y filtración, mientras que al adicionar ácido sulfúrico en el tratamiento de acidificación la concentración disminuyó a 0,04 %.

3.1.5.4. Potasio

Las muestras de biol revelan divergencias, la inicial es de 1,13 % mientras que las sometidas a esterilización, acidificación y filtración presentan estadísticamente un decrecimiento abismal de 0,87%, 0,64 % y 0,93 % respectivamente.

3.1.6. Análisis microbiológico del biol

Tabla 5-3: Resultados de la caracterización microbiana del biol.

Muestra	Microorganismos UFC/mL*	Repeticiones	Presencia/Ausencia
BIOL	<i>E. coli</i>	3	Ausencia
	<i>Staphylococcus aureus</i>	3	Ausencia
	Coliformes totales	3	Ausencia
	<i>Clostridium perfringens</i>	3	Presencia
	<i>Salmonella</i>	3	Ausencia
	Microorganismos UPC/mL*	Repeticiones	Presencia/Ausencia
	<i>Fusarium sp.</i>	3	Ausencia

(UFC/mL*): Unidad formadora de colonias/ml

(UPC/mL*): Unidad propagadoras de colonias/ml

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.1.6.1. Para *E. coli*

En la figura 2-3 se puede observar que después de las 24 horas de incubación en la estufa a 35 °C y con la menor dilución 10^{-3} en las tres repeticiones, se presenta en las placas Petrifilm™ la ausencia de *E. coli*.

Según la Guía 3M (2003) para petrifilm de *E. coli*, presenta un contenido nutricional de Bilis Rojo Violeta (VRB) considerado un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador glucuronidasa (característico de la *E. coli* que produce beta-glucuronidasa) y un indicador que facilita la enumeración de las colonias; por lo que permite el reconocimiento de colonias azules asociadas a burbujas de gas.

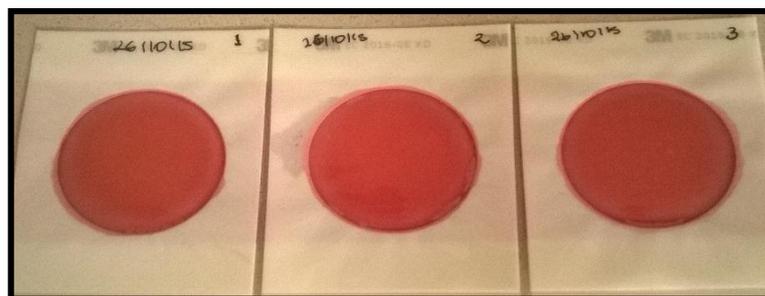


Figura 2-3: Caracterización de *E. coli*

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.1.6.2. Para *Staphylococcus aureus*

La identificación después de las 24 horas en las placas Petrifilm™ *Staphylococcus aureus*, mas 3 horas de confirmación por medio del disco Petrifilm Staph Express que se utilizó para visualizar las colonias en las tres repeticiones, presentan ausencia en la mínima dilución de siembra de biol. De acuerdo a la Guía 3M (2003) las colonias *Staphylococcus aureus* se manifiestan en las placas de color rojo-violetas ya que contiene un medio cromogénico tipo Baird-Parker modificado que permite diferenciar este tipo de colonia, incluido el disco de confirmación que permite formar una zona rosa a las colonias cuando existe la reacción de desoxiribonucleasa en *S. aureus*.

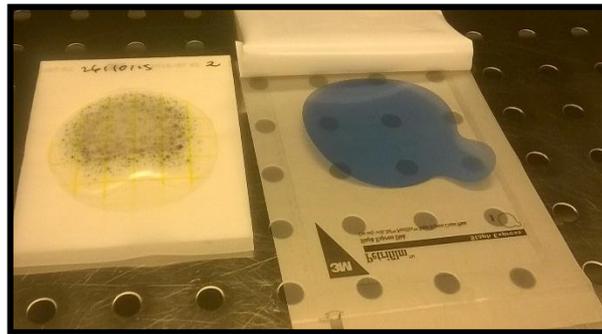


Figura 3-3: Caracterización de *Staphylococcus aureus*.

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.1.6.3. Para Coliformes totales

La identificación de los Coliformes totales en las placas Petrifilm™ correspondientes a la siembra del biol de dilución 10^{-3} en las tres repeticiones reportan ausencia de este tipo de bacterias, al ser observadas después de las 24 horas de incubación.

Las placas petrifilm Coliformes totales contienen nutrientes Violeta Rojo Bilis (VRB) modificado, un gelificante soluble en agua fría, un indicador tetrazolio y presencia de gas por la fermentación de la lactosa producido por los coliformes, por lo que las colonias son rojas con gas. (3M, 2003)

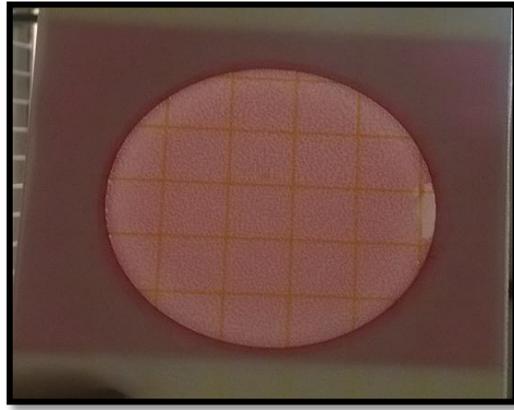


Figura 4-3: Caracterización de Coliformes totales

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.1.6.4. Para *Clostridium perfringens*

Por medio de la siembra realizada en el agar base *Clostridium perfringens* con tres repeticiones se observó la presencia de esta bacteria, la misma que es característica por ser sulfito reductoras y es fácil reconocerlas por formar en el medio colonias negras.

Clostridium perfringens es un bacilo Gram positivo anaerobio con capacidad de formar esporas. Es uno de los patógenos bacterianos con mayor distribución en el medio ambiente, ya que puede ser aislado de muestras de suelo y de agua y además forma parte de la microbiota intestinal de animales y humanos, puede actuar como patógeno oportunista y causar enfermedades.

C. perfringens no presenta motilidad y forma esporas *in vitro* sólo en medios de cultivo especiales. Crece rápidamente en medios ricos en carbohidratos en los que produce, mediante la fermentación de éstos, grandes cantidades de hidrógeno y dióxido de carbono, que ayudan a mantener el ambiente anaeróbico. *C. perfringens* es relativamente aerotolerante, relativa tolerancia al oxígeno, rápido crecimiento. (Morris & Fernández-Miyakawa, 2009)



Figura 5-3: Caracterización de *Clostridium perfringens*.

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

✚ Morfología microscópica del microorganismo

Debido a las características de la bacteria *Clostridium perfringens* presentes en el medio de cultivo, se procedió a la identificación por Tinción de Gram, en la cual la placa fue observada microscópicamente a 100X visualizando bacilos Gram positivos de color morado (figura 6-3).

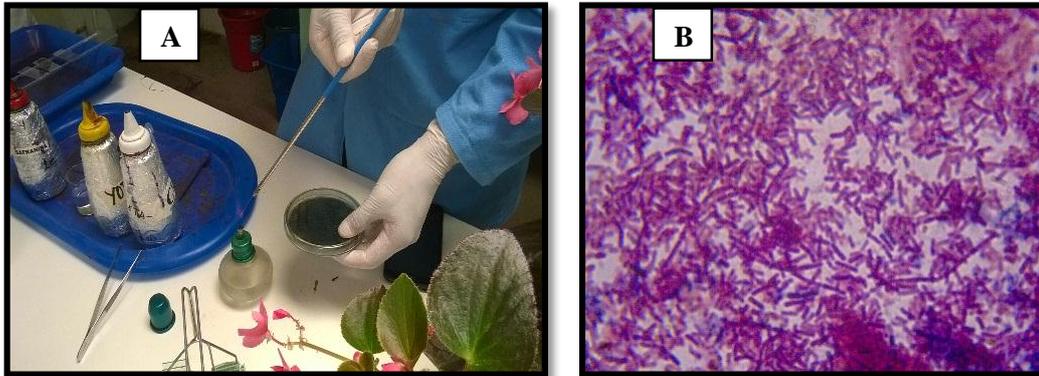


Figura 6-3: A) Tinción de Gram para *Clostridium perfringens*. B) Bacilos Gram positivos

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.1.6.5. Para *Salmonella*

La siembra realizada en las tres placas para identificar la presencia de *Salmonella* como posible patógeno del biol, presenta un resultado negativo es decir hay ausencia de esta bacteria en las placas de agar *Salmonella-Shigella* ya que no se visualizó ninguna colonia incolora con centro de color negro.

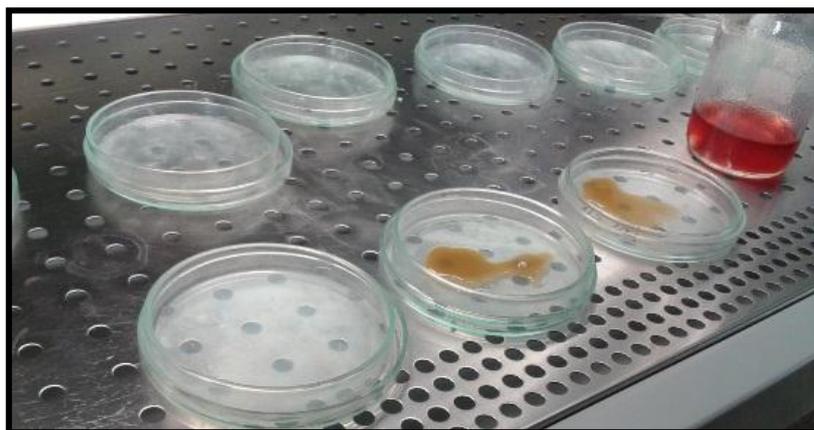


Figura 7-3 Siembra del biol en el medio *Salmonella-Shigella*

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.1.6.6. Para *Fusarium sp.*

El análisis de la presencia de un supuesto patógeno como el *Fusarium sp.* en las tres repeticiones realizadas en el laboratorio LABIMA reportaron un resultado de ausencia en la muestra de Biol de la EMMAIPC-EP, pero para corroborar la existencia del mismo por presencia de una colonia desconocidas se procedió a realizar la prueba de tinción de azul de metileno, por lo cual al ser observada en el microscopio electrónico se comprueba la ausencia de dicho patógeno, ya que se observaron distintas morfologías de bacilos y cocos como se observa en la figura 8-3.

El agar papa dextrosa (PDA) es un medio de cultivo utilizado por distintos investigadores ya que es un medios recomendado para la identificación y aislamiento del género *Fusarium*. (Soriano del Castillo, 2007, p. 49)

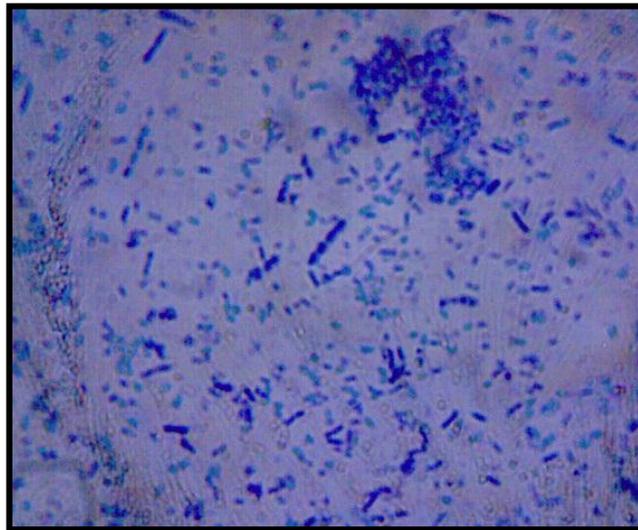


Figura 8-3: Tinción de azul metileno para la identificación de *Fusarium sp.*

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.2. Tecnologías de corrección para la eliminación de la contaminación microbiana patógena

3.2.1. Tratamiento biológico

Tabla 6-3: Pruebas experimentales con dosis (0,40-0,80%) de *Trichoderma sp.* y (1-2%) AgroVerdeBacter en el biol de la EMMAIPC-EP y con verificación a los 5-12-21 días.

5 DÍAS DE ACCIÓN				12 DÍAS DE ACCIÓN				21 DÍAS DE ACCIÓN			
	REPETICIONES/RESULTADOS				REPETICIONES/RESULTADOS				REPETICIONES/RESULTADOS		
	R1	R2	R3		R1	R2	R3		R1	R2	R3
<i>Trichoderma sp.</i>				<i>Trichoderma sp.</i>				<i>Trichoderma sp.</i>			
Dosis:				Dosis:				Dosis:			
0,40%	Negativo	Negativo	Negativo	0,40%	Negativo	Negativo	Negativo	0,40%	Negativo	Negativo	Negativo
0,80%	Negativo	Negativo	Negativo	0,80%	Negativo	Negativo	Negativo	0,80%	Negativo	Negativo	Negativo
AgroVerdeBacter				AgroVerdeBacter				AgroVerdeBacter			
Dosis:				Dosis:				Dosis:			
1%	Negativo	Negativo	Negativo	1%	Negativo	Negativo	Negativo	1%	Negativo	Negativo	Negativo
2%	Negativo	Negativo	Positivo	2%	Negativo	Negativo	Negativo	2%	Negativo	Negativo	Negativo

Negativo: Presencia de *Clostridium perfringens*

Positivo: Ausencia de *Clostridium perfringens*

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

Tabla 7-3: Pruebas experimentales de dosis (8%) de *Trichoderma sp.* y (20%) Agro VerdeBacter (Aceite esenciales) en el biol de la EMMAIPC-EP y con verificación a los 5-12 días.

5 DÍAS DE ACCIÓN				12 DÍAS DE ACCIÓN			
	REPETICIONES/RESULTADOS				REPETICIONES/RESULTADOS		
	R1	R2	R3		R1	R2	R3
<i>Trichoderma sp.</i>				<i>Trichoderma sp.</i>			
Dosis:				Dosis:			
8%	Negativo	Negativo	Positivo	8%	Positivo	Negativo	Negativo
AgroVerdeBacter				AgroVerdeBacter			
Dosis:				Dosis:			
20%	Negativo	Negativo	Negativo	20%	Negativo	Negativo	Negativo

Negativo: Presencia de *Clostridium perfringens*

Positivo: Ausencia de *Clostridium perfringens*

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

El Tricobiol-4E (Fungicida) es un polvo mojable que contiene en sus formulaciones conidias viables, con una mezcla de cepas de *Trichoderma sp.*, siendo un producto que actúa de forma antagónica. Las aplicaciones como dosis periódicas de 1 g/L y preventivas de 2 g/L. (BIOSAGRO, 2010)

De acuerdo a la formulación se realizó la aplicación de Tricobiol en los 9 frascos esterilizados con tres dosis diferentes (0,4 - 0,8 y 8%) durante los 5-12-21 días de acción, cada una de ellas con tres repeticiones fueron sembradas de manera anaeróbica, para comprobar si dicho tratamiento actúa como un medio de alternativa para combatir la presencia de *Clostridium perfringens* en el biol, debido a que este tipo de fungicida al contener *Trichoderma sp.*, actúa como un fungicida biológico. Durante estos días determinados se comprueba que el tratamiento con la dosis 8% a los 5 y 12 días, en una placa correspondiente a estos días es positiva (figura 12-3), mientras que en su mayoría es negativo (figura 10-3), tomando la decisión de que no es efectivo como un medio aplicable para el tratamiento del biol; como se puede observar la carga de colonias incontables a los 5-12-21 en la figura 9-3 y a los 5-12 días en la figura 11-3.

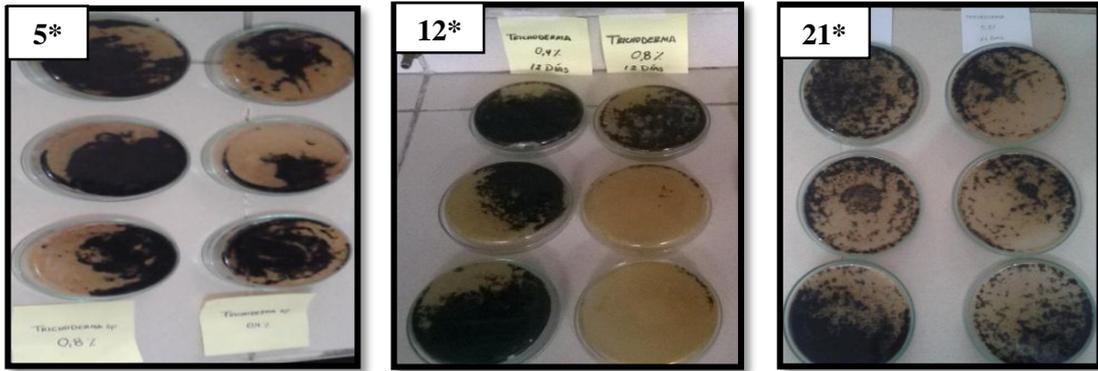


Figura 9-3: Tratamiento biológico con dosis de 0,40-0,80% (*Trichoderma sp.*), con verificación a los 5-12-21 días(*).

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

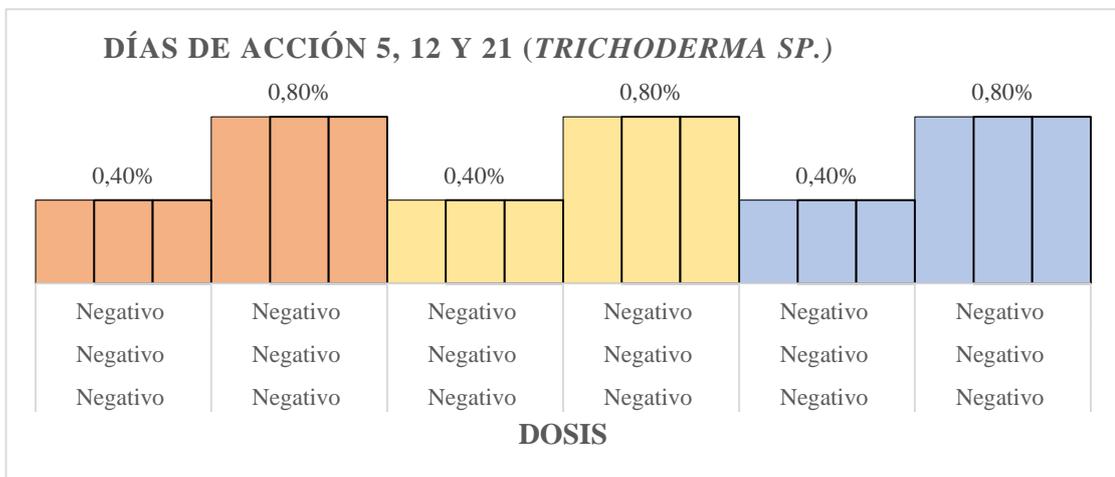


Gráfico 1-3: Resultados negativos a los 5-12-21 días de acción de *Trichoderma sp.* en el biol.

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

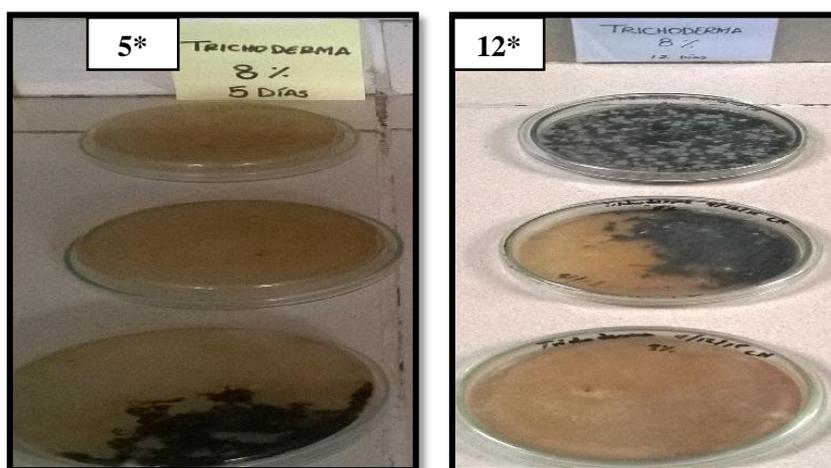


Figura 10-3: Tratamiento biológico con dosis de 8% (*Trichoderma sp.*) con verificación a los 5-12 días(*).

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

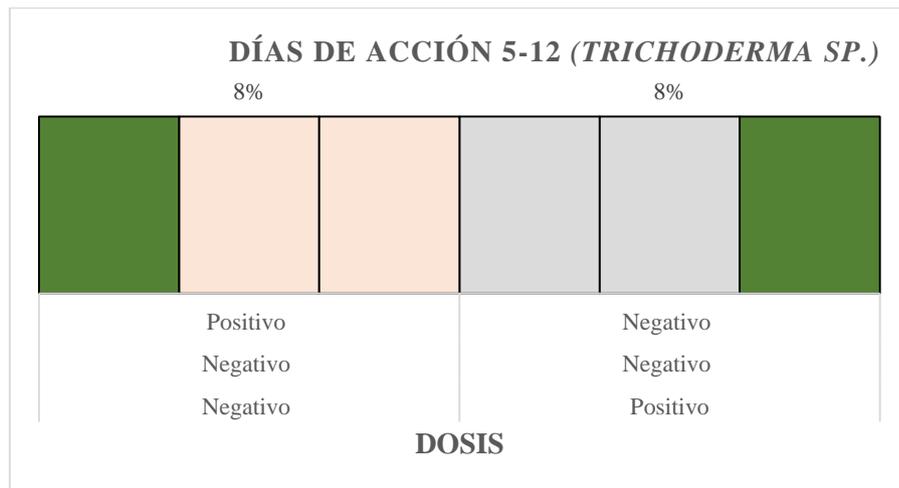


Gráfico 2-3: Resultados 5-12 días de acción de *Trichoderma sp.* en el biol

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

La acción de Agro VerdeBacter se debe a que es un producto con extractos vegetales, que determinan la desaparición de esporas de los hongos y bacterias. La aplicación del producto va desde 5 a 20 mL/L. (BIOSAGRO, 2010)

En bases a las dosis se ejecutó la aplicación de Agro VerdeBacter Super en los 9 frascos esterilizados con biol de la EMMAIPC-EP a los 5-12-21 días de acción, visualizándose los resultados en las placas de siembra, después de las 24 horas la presencia de *Clostridium perfringens* en su mayoría (figura 14-3), a diferencia de la placa sembrada con dosis de 2% a los 5 días de acción como se puede ver en la figura 13-3, pero a pesar de ello no resulta favorable la aplicación de este tipo de tratamiento en el biol, ni al 1-2% y ni al 20% (figura 15-3 y 16-3).



Figura 11-3: Resultado positivo en una placa con dosis de 2% Agro VerdeBacter (Aceite esenciales), con verificación a los 5 días*.

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

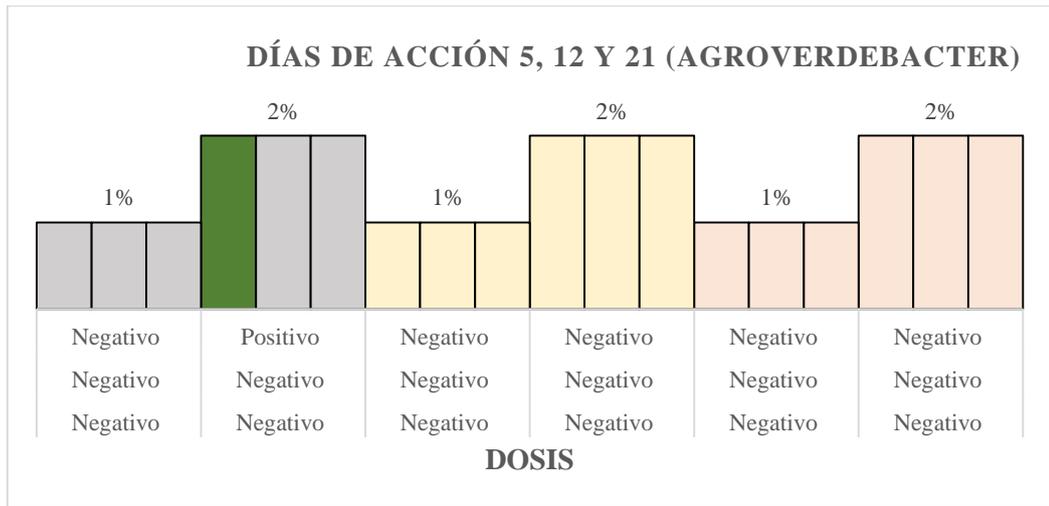


Gráfico 3-3: Resultados a los 5-12-21 días de acción de AgroVerdeBacter en el biol.

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

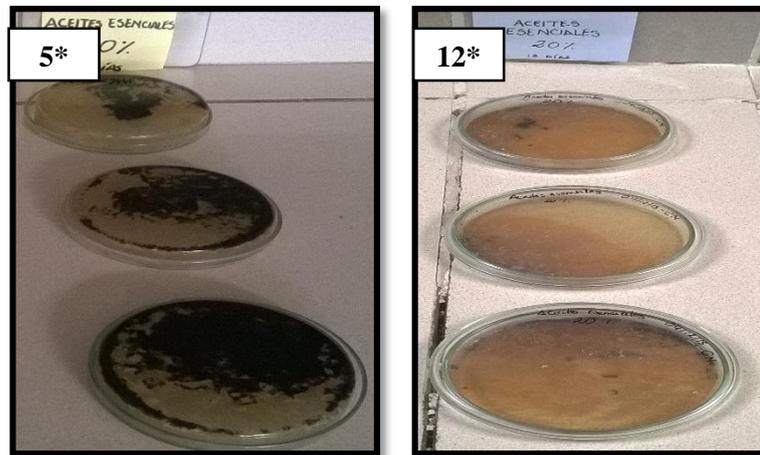


Figura 12 -3: Tratamiento biológico con dosis de 20% AgroVerdeBacter (Aceite esenciales), con verificación a los 5-12 días (*).

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

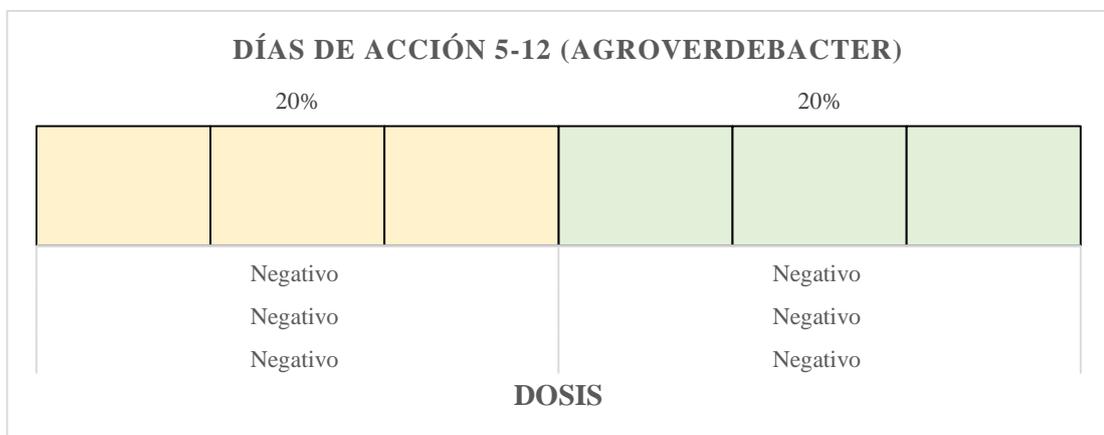


Gráfico 4-3: Resultados negativos al 20% a 5y 12 días de acción de AgroVerdeBacter en el biol.

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.2.2. Tratamiento físico (filtración)

El proceso de filtración sirvió como un método alternativo para eliminar la carga microbiana como el caso del *Clostridium perfringens* presente en el biol, dando resultados favorables al utilizar el filtro Millipore de 0,22 μm , ya que éste tipo de filtro permite retener las partículas sobre toda la superficie y por ende el patógeno queda suspendido debido a que su diámetro es de 1 a 3 μm , dejando filtrar el líquido para el respectivo análisis microbiológico con el agar de identificación de *Clostridium perfringens*; este tipo de tratamiento es una alternativa tecnológica positiva (figura A) 17-3) a comparación de los filtros de membrana de 0.2 μm y papel filtro para análisis cualitativos de uso con retención de partículas medias, dando resultados negativos como se observa en la figura B-C17-3.

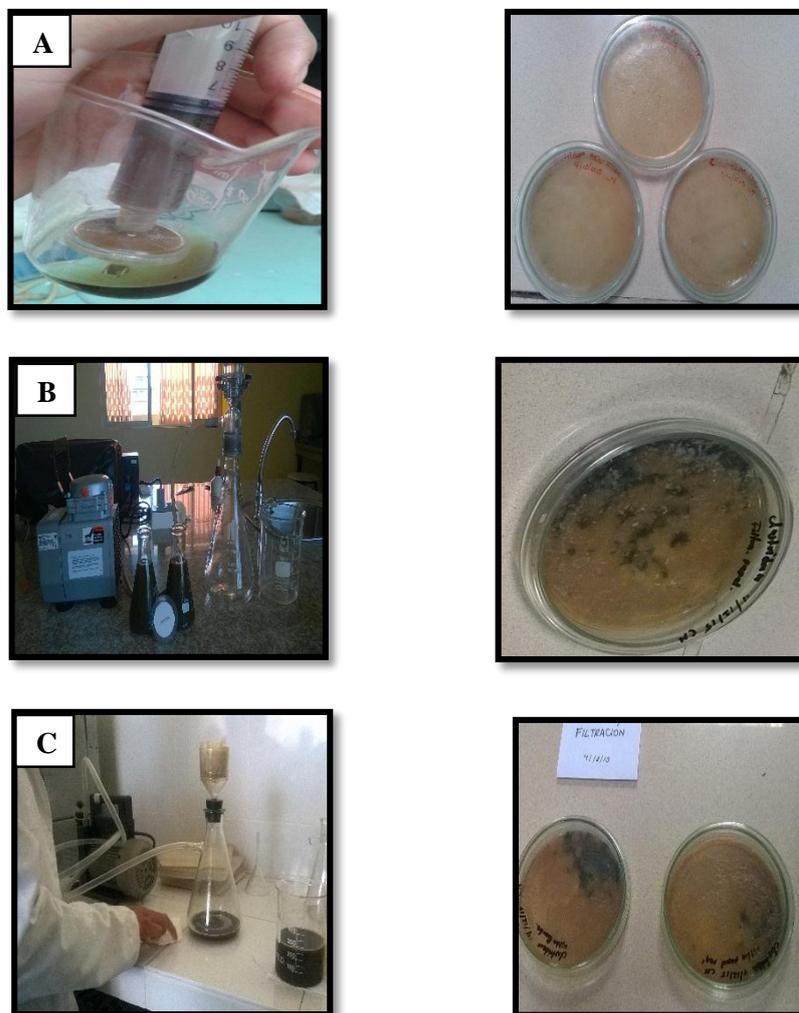


Figura 13-3: Filtración: A) Millipore 0,22 μm B) filtros de membrana de 0.2 μm
C) papel filtro para análisis cualitativos (Rundfilter MN 615 Ø 15 cm)

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.2.3. Tratamiento Térmico

Se aplicó la tecnología de tratamiento térmico, sometiendo a la muestra a una temperatura de 121°C, temperatura a la cual microorganismos patógenos como *Clostridium perfringens* son eliminados, además una de las alternativas para conservar los nutrientes de un medio acuoso es la utilización de la cocción a presión puesto que permite aprovechar el valor nutritivo del biol, en la Tabla 2 - 3 , se puede observar que los valores iniciales en relación a los que fueron sometidos a tratamiento térmico tiene una variación imperceptible en relación a los sometidos a otras tecnologías.

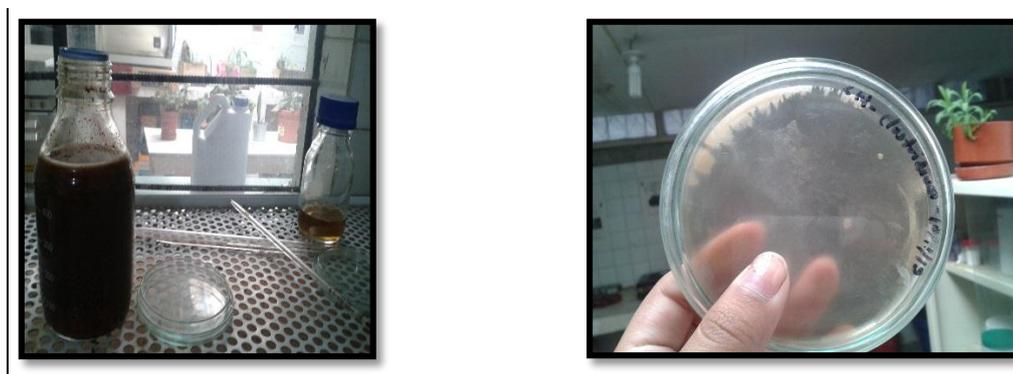


Figura 14-3: Siembra de biol esterilizado para identificación de *Clostridium perfringens*

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.2.4. Tratamiento químico (acidez)

Tabla 8-3: Pre ensayos de ácidos aplicados al biol.

Volumen Biol (ml)	Ácido Cítrico (g)	Ácido Acético (ml)	Ácido Sulfúrico 0,25 M (ml)
100	0,9	60	1
	3	120	10
	5	180	30
	8	300	40
	14	500	60
pH Inicial	5	5	5
pH final	4	4	2

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

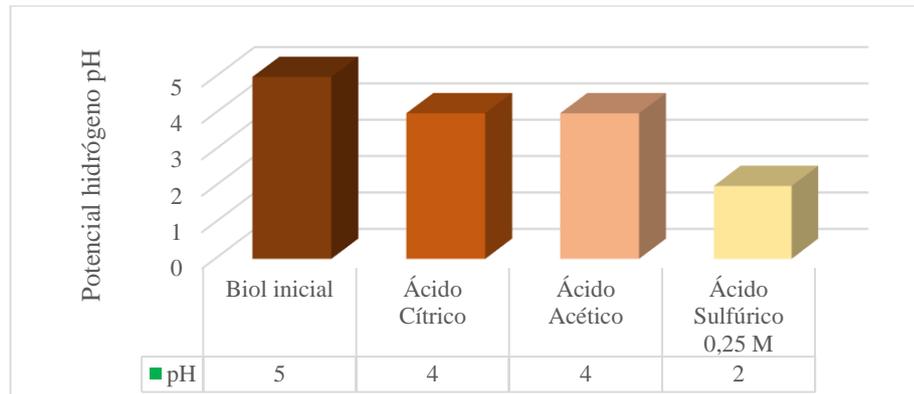


Gráfico 5-3: Disminución del pH del biol con ácido sulfúrico.

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 201

Los microorganismos pueden mantener su actividad en un pH superior a 3, se evidenció que la aplicación de un ácido pudo realizar dicha variación en el biol, como podemos observar en la Tabla 8-3 de la aplicación de tres ácidos diferentes, el Ácido Sulfúrico con una concentración de 0,25 M, fue aplicado en menor cantidad, pero se evidencio resultados reveladores, puesto que por cada 100 ml de biol se aplicará 60 ml del ácido, produciendo un decrecimiento de 5 a 2 en el pH de la muestra. Evidenciando que este tratamiento es favorable para la eliminación de *Clostridium perfringens* dado que se desarrollan en un pH de 5 a 6 en ambientes naturales (figura 20-3).

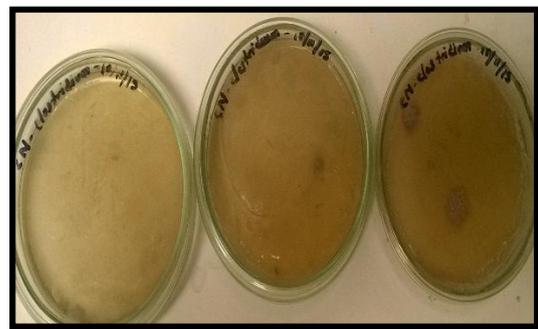
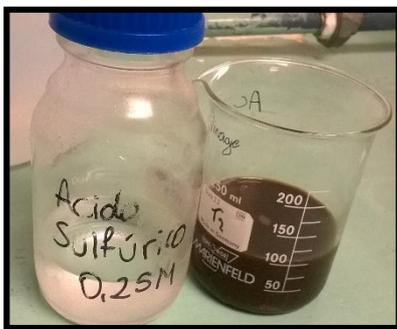


Figura 15-3: Siembra de biol tratado con ácido sulfúrico a 0,25 M para identificación de *Clostridium perfringens*

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.2.5. Matriz de comparación de análisis Post-tratamiento para eliminar la contaminación microbiana patógena

Tabla 9-3: Matriz de comparación de análisis Post-tratamiento para eliminar la contaminación microbiana patógena

DATOS INICIALES:															Frecuencias	Costos \$	
Indicador	pH	Nt	P	Zn	Cu	Fe	Mn	B	K	Ca	Mg	C.E	S	M.O			
Unidad		g/10 0g %	g/100g %	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	g/100g %	g/100g %	g/100g %	mmho	g/100g %	g/100g %			
Valor	5,17	0,53	0,07	7,60	1,80	164,50	25,30	3,50	1,13	0,45	0,11	29,60	0,05	5,50			
DATOS FINALES:																	
<i>Alternativas tecnológicas de corrección:</i>																	
Indicador	pH	Nt	P	Zn	Cu	Fe	Mn	B	K	Ca	Mg	C.E	S	M.O			
Unidad		g/100 ml %	g/100 ml %	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	g/100 ml %	g/100 ml %	g/100 ml %	dS/m	g/100 ml %				
<u>BIOL 1: Esterilización</u>	5,38	0,32	0,06	3,10	1,30	127,40	16,10	3,90	0,87	0,34	0,09	26,64	0,05	4,10			
Valor relativo	0,21	-0,21	-0,01	-4,50	-0,50	-37,10	-9,20	0,40	-0,26	-0,11	-0,02	-2,96	0,00	-1,40		7	0,20
Valor %	4,06	-39,62	-14,29	-59,21	-27,78	-22,55	-36,36	11,43	-23,01	-24,44	-18,18	-10,00	0,00	-25,45			
<u>BIOL 2: Acidificación</u>	2,05	0,27	0,04	2,00	2,00	91,30	11,30	3,90	0,64	0,06	0,06	28,45	0,69	3,00			
Valor relativo	-3,12	-0,26	-0,03	-5,6	0,20	-73,20	-14,00	0,40	-0,49	-0,39	-0,05	-1,15	0,64	-2,50		4	2,33
Valor %	-60,35	-49,06	-42,86	-73,68	11,11	-44,50	-55,34	11,43	-43,36	-86,67	-45,45	-3,89	1280,00	-45,45			
<u>BIOL 3: Filtración</u>	5,43	0,40	0,06	2,80	1,40	128,20	15,90	2,80	0,93	0,32	0,09	27,10	0,06	4,10			
Valor relativo	0,26	-0,13	-0,01	-4,80	-0,40	-36,30	-9,40	-0,70	-0,20	-0,13	-0,02	-2,50	0,01	-1,40		7	3,77
Valor %	5,03	-24,53	-14,29	-63,16	-22,22	-22,07	-37,15	20,00	-17,70	-28,89	-18,18	-8,45	20,00	-25,45			

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

Tabla 10-3: Costos de los tratamientos tecnológicos de corrección.

ESTERILIZACIÓN		ACIDIFICACIÓN	
Gasto de mano de obra		Gasto de mano de obra	
Tiempo (h)	1	Tiempo (h)	0,17
Salario básico \$	366	Salario básico \$	366
Salario diario \$	2,08	Salario diario \$	2,08
Costo de energía (Gas)		Costo del reactivo (Ácido sulfúrico)	
Cilindro de 15 kg \$	1,6	Precio de ácido concentrado	253
Número de procesos	5	Volumen de H2SO4 0,25 M (para 100 mL)	0,0013
Costo de energía/proceso	0,32	Costo del H2SO4 0,25 M \$	0,33
Cantidad a utilizar de biol (L)	12	Cantidad a utilizar de biol (L)	6
Costo de tratamiento por litro	0,20	Costo de tratamiento por litro	2,33
FILTRACIÓN			
Gasto de mano de obra			
Tiempo (h)	0,5		
Salario básico \$	366		
Salario diario \$	2,08		
Costo del filtro			
Costo del filtro	2,73		
Costo de tratamiento por litro	3,77		

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

La selección del mejor método para el tratamiento del biol con miras a eliminar la contaminación con *Clostridium perfringens* se basó en las siguientes consideraciones (Tabla 9-3):

- 1) El mayor número de frecuencias obtenido mediante la sumatoria de la calificación como "mejor".
- 2) La tecnología con mayor facilidad de ejecución, en relación al uso de equipamiento y destrezas manuales del operador.

- 3) El costo de aplicación de la tecnología.

Análisis

- 1) De acuerdo a la calificación, el mayor número de frecuencia es 7, éste representa los métodos de esterilización y filtración; en base a estos métodos se seleccionó el de mejor facilidad de tratamiento para la experimentación en campo.
- 2) Se realizó un análisis de las tecnologías en el cual para la aplicación de la tecnología de esterilización es necesario contar con un reverbero de gas industrial, además la mano de obra no requiere una capacitación rigurosa, al contrario de la filtración que requiere al adquisición de materiales estériles con la necesidad de trabajar en un área netamente aséptica y con los conocimientos de un técnico especializado. Por lo tanto la tecnología idónea en cuanto al equipamiento, destrezas manuales y facilidad de ejecución es la esterilización, ya que su tratamiento representa una inversión mínima, sin necesidad de técnicos capacitados para su manejo.
- 3) Además de considerar la frecuencia y la tecnología no se debe dejar de lado el costo de aplicación de cada una de ellas y mismas se detallan en las tabla 10-3, llegando a la determinación que la esterilización es de menor costo con el valor de 0,20 USD a diferencia de la técnica de filtración que es de 3,77 USD por cada litro, por ello la técnica de tratamiento del biol viable a la aplicación es el método de esterilización.

3.3. Evaluación de las diluciones de biol en el pasto alfalfa (*Medicago sativa*)

3.3.1. Producción de Forraje verde $Kg.ha^{-1}$

La producción de forraje verde es de 937,5 $Kg.ha^{-1}$ (Tabla 11-3) por lo cual esto nos ayuda a conocer la cantidad de producción que hay en la hectárea antes de la aplicación del biol. Las diluciones realizadas con la tecnología de esterilización como método de corrección aplicadas a cada unidad experimental (Tabla 5-2), desde una dosis menor que va de 1:0,5 a una dilución alta 1:20 de concentraciones de 600 $L.ha^{-1}$, 800 $L.ha^{-1}$ y de 1000 $L.ha^{-1}$, el poder caustico que presenta el biol y el olor característico del mismo, generó pérdidas en el desarrollo de las plantas es decir el pasto rechazo este abono líquido, presentando manchas marrones en las hojas y quemaduras en los bordes del pasto alfalfa como se puede visualizar en las figura 21-3 a pesar de contener los elementos macro y micronutrientes necesarios, principalmente N, P y K.

Tabla 11-3: Producción de Forraje verde por corte, Kg.ha⁻¹ (PMV).

LANZAMIENTO	PESO EN Kg/m ²
1	0,20
2	0,25
3	0,40
4	0,40
5	0,20
6	0,40
7	0,55
8	0,40
9	0,40
10	0,50
11	0,15
12	0,65
TOTAL:	4,5 Kg/m ²
PMV*:	937,5 Kg.ha ⁻¹

PMV*: Producción de Forraje verde

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015



Figura 16-3: Aplicación del tratamiento en el pasto Alfalfa

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015



Figura 17-3: A) Pasto Alfalfa sin aplicación de biol. B) Efectos del poder caustico del biol.

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

3.4. Evaluación económica de la aplicación del tratamiento térmico en el pasto alfalfa (*Medicago sativa*)

Tabla 12-3: Costo de aplicación de la tecnología por calor (121°C)

COSTO DE APLICACIÓN	
Mano de obra (\$)	2,08
Transporte (\$)	40,0
Servicios básicos	0,77
Depreciación	
Costo del equipo bomba de mochila \$	50,0
Costo de salvamento 10%	5,00
Años de vida útil	2,00
Depreciación día (\$)	0,06
Costo total (proceso/día)\$	42,91

Realizado por: Catagña, A.; Noboa, D., 2015

Para el cálculo del costo de aplicación se consideró que el tratamiento se realiza una sola vez dependiendo de su requerimiento, es decir en el tratamiento térmico se ejecuta un proceso diario, considerando la trayectoria desde la toma de muestra en el Relleno Sanitario de Yuracasha, Cañar, la tecnología de corrección y la aplicación del tratamiento en la Estación Experimental Tunshi, ESPOCH (servicios básicos: gas \$ 0,32 y agua 0,45 centavos de dólar/día; mano de obra 2,08 USD) representando de esta manera un valor de 42,91 USD, se puede verificar los requerimientos necesarios para la aplicación en la Tabla 12-3.

CONCLUSIONES

- ✚ Se identificó que la tecnología aplicada para la producción del biol de la EMMAIPC-EP es un sistema discontinuo que consta de 16 tanques de PVC con una capacidad de 600 L cada una conectada entre sí por una tubería de 63 mm y con válvulas que controlan el ingreso del líquido a cada tanque generando un volumen 9600 litros. La actividad microbiana desarrollada en los tanques pasan por un proceso aerobio debido a la ausencia de una trampa de agua conectada directamente a la salida de los gases producido por la fermentación.
- ✚ Se determinó que las características bioquímicas del biol generados en la EMMAIPC-EP, presentan valores nutricionales iniciales considerables, tal es el caso de N 0,53 %, P 0,7% y K 1,13%; evidenciándose que se encuentran dentro de los rangos agronómicos aceptables. La caracterización microbiológica identificada por medio de placas petrifilm revelaron ausencia en *E. coli*, *Salmonella*, Coliformes totales, *Staphylococcus aureus*, *Fusarium sp.* a diferencia del microorganismo patógeno *Clostridium perfringens* presentado carga abundante de colonias.
- ✚ Caracterizado el biol microbiológicamente por la existencia de *Clostridium perfringens* se procedió a seleccionar el tratamiento idóneo para la eliminación del mismo siendo el de mayor eficacia tecnológica la esterilización por la evaluación de su costo que es de 0,20 centavos de dólar, por la mayor facilidad de ejecución en la experimentación de campo, por el equipamiento y por su ejecución a comparación de los demás tratamiento que requieren de un técnico capacitado para la aplicación y presentan un mayor costo de inversión como el caso de la filtración que tiene un valor de 3,77 USD.
- ✚ Al realizar la prueba de campo en la estación experimental de Tunshi-“ESPOCH” en las 12 unidades de experimentación con concentraciones de 600, 800 y 1000 L.ha⁻¹ con dosis de diferentes diluciones de 1:0,5 a 1:2 y de 1:5 a 1:20 se evidenció que los resultados a los tres días de aplicación reportaron características desfavorables para el pasto (*Medicago sativa*) atribuido al poder caustico representativo de este biol.
- ✚ Se determinó el costo de aplicación del producto considerando la mano de obra, transporte, servicios básicos y depreciación del equipo, para un solo proceso de aplicación diario de esterilización, obteniendo un costo total de 42,91 USD; de acuerdo a la evaluación en el paso se comprueba que el producto no es apto para la agricultura.

RECOMENDACIONES

- ✚ Es necesario que para la utilización del lixiviado generado a partir del compost, se provea de una malla que permita filtrar los sólidos antes de ingresar al sistema de producción del biol, evitando la carga excesiva de sólidos precipitados en los tanques, además de constituir una barrera de partículas formadas por sólidos disueltos y microorganismos patógenos.
- ✚ Rectificar el sistema de producción del biol instalando trampas de agua en el conducto de la salida del gas, evitando el ingreso de microorganismos aerobios que afecta a la fermentación anaeróbica en el biodigestor.
- ✚ Implementar una cubierta térmica necesaria para permitir la aceleración de la actividad microbiana, por lo cual el proceso de descomposición y fermentación se realizará en menor tiempo.
- ✚ En base a los resultados encontrados en esta investigación, el biol de la empresa Empresa Municipal Mancomunada de Aseo Integral del Pueblo Cañari (EMMAIPC-EP), no es apto para la fertilización de pastos, es necesario un tratamiento térmico previo para eliminar la contaminación microbiológica patógena de *Clostridium perfringens*.

BIBLIOGRAFÍA

1. **3M.** *Guía de interpretación.* Ecuador, 2003.
2. **AGUADO, G; et al.** *Introducción al Uso y Manejo de los Biofertilizantes en la Agricultura.* Celaya-México: INIFAP/SAGARPA. 2012. p32.
3. **ALEJANDRO, N; et al.** *Biofertilizantes - simulación de impacto económico potencial a nivel regional.* Argentina : Asociación Argentina de Economía Política, 1995. Reunión Anual. 57.
4. **Aparcana, Sandra.** *Estudio sobre el Valor Fertilizante de los Productos del Proceso "Fermentación Anaeróbica" para Producción de Biogás* [En línea]. Perú. 2008. [Consulta: 18 de Noviembre de 2015]. Disponible en: http://www.german-profec.com/cms/upload/Reports/Estudio%20sobre%20el%20Valor%20Fertilizante%20de%20los%20Productos%20del%20Proceso%20Fermentacion%20Anaerobica%20para%20Produccion%20de%20Biogas_ntz.pdf
5. **AVENDAÑO ALLEN-PERKINS, Diego.** *Diseño y construcción de un digestor anaerobio de flujo pistón que trate los residuos generados por una explotación ganadera de la localidad de Loja, Ecuador, empleando tecnologías apropiadas.* [En línea] (Tesis pregrado) Universidad Técnica Particular de Loja. 2010. p.7. [Consulta: 20 de Noviembre de 2015]. Disponible en: http://www.gessa-ex.es/documentos/publicaciones/guia_odt.pdf
6. **AVENDAÑO, N.** *"Ventajas comparativas de México en la agroindustria". Rev. El Economista.* [En línea] 06 de octubre de 2010. [Consulta: 11 de diciembre de 2015]. Disponible en: <http://eleconomista.com.mx/columnas/agro-negocios/2010/10/06/biofertilizantes-vs-fertilizacion-comercial-agricultura>.
7. **BALDRICH, A.C.** *"Manual del productor de alfalfa".* Rey del Campo, 1287 (2000). Chile p. 30.
8. **BIOSAGRO.** *Tecnología Bio-Orgánico Sustentable para el Agro.* Riobamba, 2010.

9. **Cuadros, Francisco, et al.** *Digestión Anaerobia de residuos de la industria del tomate en modo continuo y semicontinuo.* [En línea]. Huesca. 2011. [Consulta: 1 de Diciembre de 2015]. Disponible en: http://www.aepro.com/files/congresos/2011huesca/CIIP11_1760_1773.3371.pdf
10. **CULOT, J.P.** *Nutrición mineral y fertilización en el ambiente de Nutrición mineral y fertilización en el ambiente de pampeana.* Investigación, tecnología y producción de alfalfa : Colección científica del INTA, 1986. p. 27.
11. **DAMMER, María del Carmen.** "*Adaptación de cuatro variedades de Alfalfa (Medicago sativa) en la Zona de Cananvalle – Tabacundo*". La Granja: Universidad Politécnica Salesiana Sede Cayambe, vol. 01. Cayambe-Ecuador, 2004. pp. 11-19.
12. **EDICIONES CULTURAL LTDA., CE.** *Biblioteca Ilustrada del Campo Abonos Orgánicos, biodigestores biopreparados, humus, suelos.* Bogotá: Enlace Cultural, 2004, p. 49.
13. **EMMAIPC-EP.** *Caracterización de Residuos.* [En línea] Cañar: Ramiro Padilla, 2012. [Consulta: 28 de noviembre 2015]. Disponible en: <http://www.emmaipc-ep.gob.ec/index.php/servicios/caracterizacion>
14. **EUSSE, J.** *Pastos y forrajes tropicales – Producción y manejo.* 3ª ed. Colombia: Banco Ganadero, 1994. pp. 123, 126, 127, 138, 139
15. **FAO.** *Biogás: una opción para diversificar la matriz energética y generar abonos naturales a partir de desechos orgánicos.* [En línea]. 2012. [Consulta: 21 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/229459/>
16. **FAO.** *El uso de fertilizantes sobrepasará los 200 millones de toneladas en 2018.* [En línea]. 2014. [Consulta: 28 de diciembre de 2015.] Disponible en: <http://www.fao.org/news/story/es/item/277654/icode/>.
17. **FAO.** *Manual de Biogás.* [En línea]. Santiago de Chile. 2011. [Consulta: 20 de Noviembre de 2015]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/019/as400s/as400s.pdf>
18. **FAO.** *Reciclaje de materia orgánica en la agricultura de américa latina.* [En línea] 2010. [Consulta: 21 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-ar127s.pdf>
19. **GALLEGOS, D.** *El manejo de residuos sólidos preocupa al Ministerio de Ambiente y Municipio de Cuenca.* Periódico El Ciudadano. 16 de diciembre de 2013, p. 8.

20. **GOMERO, L.** "*Los biodigestores campesinos una innovación para el aprovechamiento de los recursos orgánicos*". *LEISA Revista de Agroecología*. 2005. pp. 25-27. [Consulta: 19 de Noviembre de 2015]. Disponible en: http://www.agriculturesnetwork.org/magazines/latin-america/energia-en-la-finca/los-biodigestores-campesinos-una-innovacion-para/at_download/article_pdf
21. **GUANOPATÍN CHICAIZA, Mérida Rebeca.** *Aplicación de biol en el cultivo establecido de alfalfa (Medicago sativa)*. [En línea] (Tesis pregrado) Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ingeniería Agronómica. Cevallos. 2012. p.55 [Consulta: 19 de Noviembre de 2015]. Disponible en: http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/969/1/Tesis_009agr.pdf
22. **GUASCO, J., & JARAMILLO, M.** *Obtención de compost a partir de activadores biológicos*. (tesis pregrado). Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Ingeniería Ambiental. Cuenca - Ecuador. 2015. pp. 29 – 35.
23. **INCA PAUCAR, Álvaro Luis. 2015.** *Validación de la herramienta circular de toma de decisiones para el control de Tizón Tardío (Phytophthora infestans)(Mont.) de Bardy de la papa (Solanum tuberosum L.) en Tunshi, provincia de Chimborazo*. [En línea] (Tesis pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Recursos Naturales, Escuela de Ingeniería Agronómica. 2015. p. 31. [Consulta: el: 25 de Enero de 2016.] Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4268/1/13T0812%20INCA%20PAUCAR%20ALVARO%20LUIS.pdf>
24. **INEC.** *Censo de población y vivienda*. [En línea]. Ecuador : 2010. [Consulta: 28 de Noviembre de 2015]. Disponible en: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/censo-de-poblacion-y-vivienda/>
25. **INEC.** *Información Ambiental en hogares*. [En línea] 2014. [Consulta: 01 de Diciembre de 2015.] Disponible en: http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Hogares_2014/Documento_tecnico_Modulo_Ambiental_Hogares_2014.pdf
26. **INEC-ENEMDU.** *Módulo de Información Ambiental en Hogares*. [En línea] Diciembre 2013. [Consulta: 28 de Noviembre de 2015]. Disponible en: http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Hogares-2013/201401_EnemduAmbientePresentacion.pdf

27. **JAPÓN, L.** *Respuesta a la fertilización química, orgánica y química-orgánica en praderas de alfalfa (Medicago sativa L.), en la comunidad de cochapamba de la parroquia tenta del cantón Saraguro de la provincia de Loja.* (tesis pregrado). Universidad Nacional de Loja. Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables. Loja, 2012. pp. 24-28.
28. **JIMÉNEZ MIDEROS, Johana Maribel.** Elaboración de abono orgánico líquido fermentado (biol), a partir de vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), de los criaderos piscícolas de la parroquia de Tufiño. [En línea] (Tesis pregrado) Universidad Politécnica Estatal del Carchi. Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales. Escuela de Desarrollo Integral Agropecuario. Tulcán. 2012. p. 28 [Consulta: 19 de Noviembre de 2015]. Disponible en: [http://181.198.77.140:8080/bitstream/123456789/15/1/057%20ELABORACI%C3%93N%20DE%20ABONO%20ORG%C3%81NICO%20L%C3%8DQUIDO%20FERMENTADO%20\(%20BIOL\)%20A%20PARTIR%20DE%20VICERAS%20DE%20TRUCHA%20ARCO%20IRIS%20\(%20ONCORHYNCHUS%20MYKIIS\)%20DE%20LOS%20CRIADEROS%20_%20JIMÉNEZ%20MIDEROS%20JOHANNA%20MAR.pdf](http://181.198.77.140:8080/bitstream/123456789/15/1/057%20ELABORACI%C3%93N%20DE%20ABONO%20ORG%C3%81NICO%20L%C3%8DQUIDO%20FERMENTADO%20(%20BIOL)%20A%20PARTIR%20DE%20VICERAS%20DE%20TRUCHA%20ARCO%20IRIS%20(%20ONCORHYNCHUS%20MYKIIS)%20DE%20LOS%20CRIADEROS%20_%20JIMÉNEZ%20MIDEROS%20JOHANNA%20MAR.pdf)
29. **MAE.** Ministerio del Ambiente Ecuador. [En línea] 2010. [Consulta: 01 de Diciembre de 2015]. Disponible en: <http://www.ambiente.gob.ec/programa-pngids-ecuador/>
30. **MAE.** *Programa 'PNGIDS' Ecuador.* [En línea] 2013. [Consulta: 05 de enero de 2016]. Disponible en: <http://www.ambiente.gob.ec/programa-pngids-ecuador/>.
31. **Martínez-Varela; et al.** *Control de la Marchitez Fusarium Oxisporum F.sp. Medicaginis en Alfalfa.* Baja California : Universidad Autónoma de Baja California, OmniaScience, 2015. pp. 42-52.
32. **MATEO-BOX, J.M. (COORD.).** *Prontuario de agricultura.* Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación. Barcelona, México : Mundi-Prensa Libros, 2005. pp. 362-365.
33. **Millar, C.** *La materia orgánica del suelo. Edafología.* 3ª. México DF : Continental, 1961. pp. 270.
34. **Ministerio del Ambiente.** *Programa Nacional para la Gestión Integral de Desechos Sólidos – PNGIDS ECUADOR.* [En línea] 2014. [Consulta: 21 de Agosto de 2015.] Disponible en: <http://www.ambiente.gob.ec/programa-pngids-ecuador/>

35. **MORRIS, W.; FERNANDEZ, M. E.** Toxinas de *Clostridium perfringens*. *Revista Argentina. microbiol.* [En línea]. 2009, (Argentina) 41 (4), pp. 251-260. [Consulta 21 de Enero de 2016], Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412009000400010&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1851-7617
36. **MOSCOSO BALANZA, Daniel.** *Potencial de la digestión anaerobia en la unidad de ganado lechero de Zamorano.* [En línea] (Tesis pregrado) Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras.2010. p. 9. [Consulta: 20 de Noviembre de 2015]. Disponible en: <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/545/1/T2967.pdf>
37. **Mundo tema.** *Leguminosas.* [En línea] 2007. [Consulta: 30 de Noviembre de 2015.] Disponible en: <http://www.mtplantas.com/imagenes/mielga-alfalfa.jpg>.
38. **Muñoz, M.** *Manual de Manejo de Resisuos Sólidos.* Quito, Ecuador, 2008
39. **INEI.** *Anuario de Estadísticas Ambientales.* Lima : Instituto Nacional de Estadística e Informática, 2014. pp. 311-348.
40. **OCHOA, L.H.** *La alfalfa en Santiago del Estero. Alfalfa, 3ª Jornadas técnicas del NOA INTA-CIASE-PSA-FAyA y DGAYG.* p. 32 1997.
41. **ORMAZA SALAMEA, Enrique Leonardo.** *Diseño de una planta clasificadora de residuos sólidos urbanos para la Empresa Pública Mancomunada del Pueblo Cañari de los Cantones: Cañar, Biblián, El Tambo y Suscal en el año 2014.* [En línea] (Tesis pregrado) Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. 2015. p.22 [Consulta: 20 de Noviembre de 2015]. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/8979/1/UPS-CT005269.pdf>
42. **ORTEGA, David.** *Sequía en Nuevo León: vulnerabilidad, impactos y estrategias de mitigación.* México: Instituto del Agua del Estado de Nuevo León, 2012. pp 205 - 208.
43. **Padilla, Ramiro.** *Informe de gestión realizada durante el año 2014 de la Empresa Municipal Mancomunada de Aseo Integral del pueblo Cañari.* [En línea]. Cañar. 2015. [Consulta: 20 de Noviembre de 2015]. Disponible en: http://www.emmaipc-ep.gob.ec/imagenes/rendicion-de-cuentas-2014/INFORME_ACTIVIDAD__EMMAPC_2014_GENERAL.pdf

44. **PRO-MIX.** *Ventajas y desventajas del uso de fertilizantes de liberación controlada en el invernadero.* [En línea] 2015. [Consulta: 29 de Noviembre de 2015]. Disponible en: <http://www.pthorticulture.com/es/centro-de-formacion/ventajas-y-desventajas-del-uso-de-fertilizantes-de-liberacion-controlada-en-el-invernadero/>
45. **Restrepo, Jairo.** *Biofertilizantes preparados y fermentados a base de mierda de vaca.* [En línea]. Colombia. 2007. [Consulta: 18 de Noviembre de 2015]. Disponible en: <http://www.agriculturaorganica.org/wp-content/uploads/uploads-publicaciones/ABC-de-la-Agricultura-organica-Abonos-organicos.pdf>
46. **SÁNCHEZ RODRÍGUEZ, Juan Misael.** *Dosificación de biol en pasto Transvala (Digitaria eriantha Steud.) como fuente de nitrógeno en suelo franco, Zamorano Honduras.* [En línea] (Tesis pregrado) Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. 2013. p.15. [Consulta: 19 de Noviembre de 2015]. Disponible en: <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1708/1/IAD-2013-007.pdf>
47. **SNYDER, C.S; et al.** *Agriculture, Ecosystems and Environment. Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effects.* ELSIEVER, 2009, Vol. 133, pp. 247-266
48. **SORIA, M. et al.** "Producción de biofertilizantes mediante biodigestión de excreta líquida de cerdo". Terra, [En línea]. 2001, (México) 19 (4) pp. 353-362. [Consulta: 18 de Noviembre de 2015]. Disponible en: <http://www.chapingo.mx/terra/contenido/19/4/art353-362.pdf>
49. **SUQUILANDA, M.** *Agricultura Orgánica: alternativa tecnológica del futuro.* Quito: FUNDAGRO, 1995, pp. 242-249
50. **SVETLANA, Samayoa; et al.** *Guía implementación de sistemas de biodigestión en ecoempresas.* Honduras: 2012, pp. 14-15
51. **UNIVERSIDAD PÚBLICA DE NAVARRA.** *Flora Pratense y Forrajera Cultivada de la Península Ibérica.* [En línea] Península Ibérica, 2007. [Consulta: 30 de noviembre de 2015.] Disponible en: http://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Medi_sati_p.htm.
52. **VÁSQUEZ PROAÑO, Diego.** *Producción y evaluación de cuatro tipos de bioabonos como alternativa biotecnológica de uso de residuos orgánicos para la fertilización de pastos.* [En línea] (Tesis pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería Zootécnica. Riobamba, Ecuador. 2008. [Consulta: 1 de Diciembre de 2015]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/handle/123456789/1503/17T0873.pdf?sequence=1>

53. **Webmaster.** "*Microorganismos eficientes (EM)*". La Ganadería, (2009). pp. 1- 4.
54. **ZAMBRANO CEDEÑO, Yuner Del Pilar.** *Producción de pasto orgánico: Brachiaria (Brachiaria decumbes), Tanzania (Panicum máximum), maní forrajero (Arachis pintoi) con la aplicación de abono orgánico en la zona de Santo Domingo de los Colorados.* [En línea] (Tesis pregrado) Universidad Nacional de Loja. Loja. 2010 [Consulta: 19 de Noviembre de 2015]. Disponible en: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5534/1/Zambrano%20Cede%20Yuner.pdf>
55. **ZAMBRANO, E.** *Actualización del estudio de impacto ambiental del proyecto de relleno sanitario del canton Playas: una evaluación expost.* [En línea] (Tesis maestría) Universidad de Guayaquil, Facultad de Arquitectura y Urbanismo. Guayaquil. 2015. pp. 46-51. [Consulta: 16 de Enero de 2015]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/8068/1/ACTUALIZACI%20DEL%20ESTUDIO%20DE%20IMPACTO%20AMBIENTAL%20DEL%20PROYECTO%20DE%20RELLENO%20SANITARIO%20DEL%20CANTON%20PLAYA.pdf>

ANEXOS

ANEXO A

Visita Técnica al relleno sanitario sector Yuracasha-Cañar.

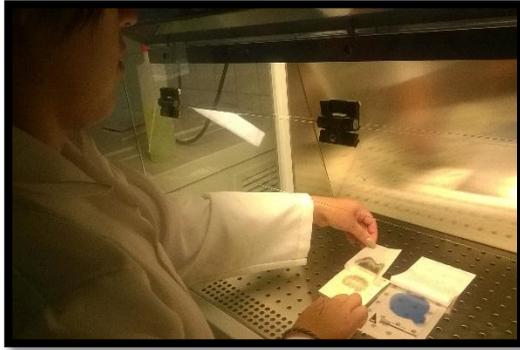


Sistema de producción de Biol- sector Yuracasha-Cañar.

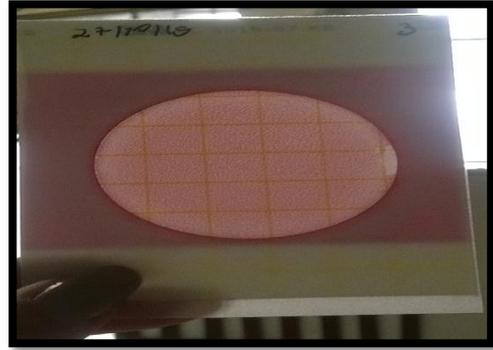


ANEXO B

Carga total de microorganismos



Confirmación de *Staphylococcus aureus*



Caracterización de Coliformes totales



Incubación de petrifilm E. Coli



Siembra de biol en agar PDA



Inoculación del agar *Salmonella-Shigella*



Identificación de *Clostridium perfringens*.

ANEXO C

Alternativas de corrección para tratamiento del biol



Filtro Millipore de 0,22 μm ,



Filtración con papel filtro cualitativos



Tratamiento biológico



Acidificación: ácido sulfúrico-pH 2



Resultado positivo con el tratamiento de esterilización

ANEXO D

Realización del primer corte en la estación experimental de Tunshi-“ESPOCH”



Lanzamientos para el primer corte



Definición de parcelas y cortes



Pesaje de pasto alfalfa

ANEXO E

Aplicación del tratamiento de esterilización.



Aplicación del biol tratado



Inspección de las diluciones del biol tratado



Dilución 1:15 aplicado al pasto Alfalfa



Poder caustico del biol en el pasto.

ANEXO F

Resultados bioquímicos iniciales del biol (INIAP)



ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA
DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS
Km 1, Panamericana Sur, Apdo... 17-01-340
Telf. -Fax 3007284
QUITO – ECUADOR

NOMBRE DEL PROPIETARIO: Diana Noboa

FECHA DE MUESTREO : 22/10/2015

NOMBRE DEL REMITENTE:

FECHA INGRESO AL LABORATORIO: 23/10/2015

NOMBRE DE LA GRANJA: EMMAIPC

FECHA DE SALIDA DE RESULTADOS: 10/11/2015

LOCALIZACIÓN:

	Cañar	Cañar
PARROQUIA	CANTÓN	PROVINCIA

INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS DE ABONOS ORGÁNICOS

No. Laborat.	Identificación	pH	dS/m		R	g/100g (%)						mg/kg (ppm)				
			C.E	C/N		N TOTAL	P	K	Ca	Mg	S	M.O	B	Zn	Cu	Fe
925	Biol	5.17	29.6		0.53	0.07	1.13	0.45	0.11	0.05	5.5	3.5	7.6	1.8	164.5	25.3

METODOLOGÍA USADA:

PH y CE: Medición Directa
Materia Orgánica por WALKLEY BLACK

C.E. = Conductividad eléctrica dS/m = decisiems/metro
M.O. = Materia orgánica


RESPONSABLE LABORATORIO


LABORATORISTA

ANEXO G

Resultados bioquímicos finales del biol (INIAP)



ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA
DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS
Km 1, Panamericana Sur, Apdo... 17-01-340
Telf. -Fax 3007284
QUITO – ECUADOR

NOMBRE DEL PROPIETARIO: Diana Noboa

FECHA DE MUESTREO : 10/12/2015

NOMBRE DEL REMITENTE:

FECHA INGRESO AL LABORATORIO: 11/12/2015

NOMBRE DE LA GRANJA: EMMAIPC

FECHA DE SALIDA DE RESULTADOS: 06/01/2016

LOCALIZACIÓN: Cañar Cañar Cañar
PARROQUIA CANTÓN PROVINCIA

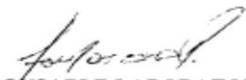
INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS DE ABONOS ORGÁNICOS

No. Laborat.	Identificación	pH	dS/m		g/100ml (%)							mg/l (ppm)				
			C.E	R C/N	N TOTAL	P	K	Ca	Mg	S	M.O	B	Zn	Cu	Fe	Mn
939	Biol 1	5.38	26.64		0.32	0.06	0.87	0.34	0.09	0.05	4.1	3.9	3.1	1.3	127.4	16.1
940	Biol 2	2.05	28.45		0.27	0.04	0.64	0.06	0.06	0.69	3.0	3.9	2.0	2.0	91.3	11.3
941	Biol 3	5.43	27.10		0.40	0.06	0.93	0.32	0.09	0.06	4.1	2.8	2.8	1.4	128.2	15.9

METODOLOGÍA USADA:

PH y CE: Medición Directa
Materia Orgánica por WALKLEY BLACK

C.E. = Conductividad eléctrica dS/m = decisiems/metro
M.O. = Materia orgánica


RESPONSABLE LABORATORIO


LABORATORISTA

ANEXO H

Certificado de aprobación del Proyecto de Titulación en la EMMAIPC-EP-Cañar



EMPRESA PÚBLICA MUNICIPAL MANCOMUNADA
DE ASEO INTEGRAL DEL PUEBLO CAÑARI
DE LOS CANTONES: CAÑAR BIBLIÁN ELTAMBO SUSCAL

Cañar, 21 de Septiembre de 2015

A petición verbal de parte interesada.

CERTIFICO:

Que, las señoritas: Alicia Jazmín Catagña Chasipanta, con C.I. 150066539-1 y Diana Pamela Noboa Tapia con C.I. 0603237215, están desarrollando el tema de tesis denominado "PRODUCCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DEL BIOL DE LA EMPRESA PÚBLICA MUNICIPAL MANCOMUNADA DEL PUEBLO CAÑARI EMMAIPC-EP, A PARTIR DE RESIDUOS ORGÁNICOS URBANOS, EN PASTIZALES GANADEROS, tema que es de gran interés institucional en virtud de que al momento la empresa viene elaborando este tipo de producto, el mismo que se pretende comercializarlo en el mercado nacional.

Es cuanto puedo certificar en honor a la verdad, permitiendo al beneficiario hacer uso del presente para los fines que creyere conveniente.

Atentamente,

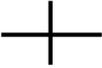
Ing. Ramiro Padilla.

GERENTE DE LA EMMAIPC-EP



ANEXO I

Simbología ANSI - diagrama de flujo

Símbolo	Significado	Instrucción
	Inicio / Fin	Indica el inicio y el fin del diagrama de flujo
	Actividad / Operación	Representa el proceso de una operación o actividad.
	Líneas de flujo	Conecta el orden de los símbolos señalados en las que se deben realizar las diferentes operaciones.