

# FACULTAD DE INGENIERÍA

Carrera de Ingeniería Ambiental

“EFECTO DE LOS MICROORGANISMOS  
EFECTIVOS EN LA CALIDAD DEL BIOL”

Tesis para optar el título profesional de:

Ingeniero Ambiental



**Autor:**

Teddy Yojan Zambrano Ruiz

**Asesor:**

M.Sc. Marieta Eliana Cervantes Peralta

Cajamarca - Perú

2021

## **DEDICATORIA**

Dedico la tesis:

A mi familia, amigos y docentes, por ayudarme a crecer en la vida.

## AGRADECIMIENTO

Agradezco:

A mis padres, por su apoyo incondicional.

A la Mg. Marieta Cervantes Peralta, por su asesoramiento en la elaboración de mi tesis.

Al Ing. Wilson Cabrera Flores, por su invaluable orientación en la tesis de investigación.

Al Blgo. Marco Sánchez Peña, por su orientación en el análisis de los parámetros establecido en laboratorio.

Al Ing. Víctor Arce, por su asesoramiento en los análisis estadísticos.

A la Mg. Magda Velásquez Marín por sus consejos y ánimo para terminar nuestra tesis.

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>2</b>
<b>AGRADECIMIENTO.....</b>	<b>3</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>6</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>7</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>8</b>
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>9</b>
1.1. Realidad problemática .....	9
1.2. Formulación de la pregunta .....	26
1.3. Objetivos.....	26
1.3.1. Objetivo general .....	26
1.3.2. Objetivos específicos.....	26
1.4. Hipótesis .....	26
<b>CAPITULO II. MÉTODO .....</b>	<b>27</b>
2.1. Tipo de investigación.....	27
2.2. Población y muestra.....	28
2.3. Materiales instrumentos y métodos .....	28
Ubicación.....	29
Características climáticas .....	29

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección y análisis de datos .....	30
2.5. Procedimiento.....	31
2.6. Aspectos éticos .....	33
<b>CAPITULO III. RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
3.1. Resultados del laboratorio .....	34
<b>CAPITULO IV. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....</b>	<b>40</b>
4.1. Discusión .....	40
4.2. Conclusiones.....	54
<b>CAPITULO V. REFERENCIAS.....</b>	<b>55</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Tratamientos utilizados en los biodigestores</i> .....	27
Tabla 2 <i>Parámetros y metodología utilizados</i> .....	30
Tabla 3 <i>Resultado de los colores de los tratamientos de biól</i> .....	34
Tabla 4 <i>Olores asociados a las categorías de descripción en los bioles</i> .....	35
Tabla 5 <i>Resultado de los olores de los tratamientos de bioles</i> .....	35
Tabla 6 <i>Resultados de la conductividad eléctrica de los bioles</i> .....	36
Tabla 7 <i>Resultados del pH de los bioles</i> .....	36
Tabla 8 <i>Resultados de sólidos totales de los bioles</i> .....	37
Tabla 9 <i>Resultados de nitratos de los bioles</i> .....	37
Tabla 10 <i>Resultados de DBO<sub>5</sub> de los bioles</i> .....	38
Tabla 11 <i>Resultados de coliformes fecales de los bioles</i> .....	38
Tabla 12 <i>Resultado del análisis de varianza ANOVA y prueba de Duncan</i> .....	39

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Conductividad eléctrica vs dosis de tratamientos de EM.....	43
<i>Figura 2.</i> Potencial de hidrogeno vs dosis de tratamientos de EM.....	44
<i>Figura 3.</i> Sólidos totales vs dosis de tratamientos de EM.....	46
<i>Figura 4.</i> Nitratos vs dosis de tratamientos de EM.....	48
<i>Figura 5.</i> DBO <sub>5</sub> vs dosis de tratamiento de EM.....	50
<i>Figura 6.</i> Coliformes fecales vs dosis de tratamientos de EM.....	52

## RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo determinar el efecto de los microorganismos efectivos (EM) en la calidad del biol y cuál de las dosis de (EM) mejoraron la calidad del biol en un proceso de biodigestión anaeróbica. Para tal fin, se realizó un experimento con un diseño completamente al azar, con 15 biodigestores a escala cargados con agua, estiércol de cuy, alfalfa, melaza, ceniza, leche, chicha y solución de Microorganismos Efectivos en cuatro diferentes dosis al (1%, 2.5%, 5% y 10%); asimismo, se dispuso un grupo control sin solución EM. Tras un período de 60 días, se tomó una muestra de biol de cada biodigestor y se realizaron análisis de olor, color, pH, conductividad eléctrica, sólidos totales, DBO<sub>5</sub>, nitratos, coliformes fecales. Los resultados fueron analizados estadísticamente con ANOVA y prueba Duncan, obteniendo resultados positivos, pues las muestras con una mayor concentración (10%) de Microorganismos Efectivos mostraron valores menores de sólidos totales, coliformes fecales; un pH alcalino a diferencia de las demás concentraciones, se encontró, así como un menor olor fecal y un color más verdoso el cual indica un mayor grado de degradación.

**Palabras clave:** Biol, microorganismos eficientes, biodigestores.

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Realidad problemática

En el ámbito rural, en donde se produce una gran cantidad de residuos orgánicos, incluyendo heces de los animales y residuos de los cultivos; los agricultores han aprendido a elaborar biol en biodigestores artesanales, los cuales contienen numerosos nutrientes que pueden ser reaprovechados, con el fin de reducir la contaminación, aumentar la producción y reducir la dependencia de los fertilizantes químicos, los monocultivos, y otras prácticas agrícolas poco amigables con el medio ambiente (Díaz, 2017).

La elaboración y uso del biol, es una práctica común entre los agricultores orgánicos de nuestro país, ellos han aprendido a elaborarlo en biodigestores artesanales, utilizando formulaciones básicas con insumos propios de cada localidad, como es un abono fácil de replicar, de bajo costo y que puede ser adaptado a las condiciones de cada agricultor, en la actualidad tanta diversidad muestra como resultado común para todos los productores que, la aplicación de biol a sus cultivos, mejora la nutrición de las plantas.

En vista de los beneficios económicos y ambientales de la biodigestión anaeróbica, es pertinente fomentar la investigación sobre formas de mejorar la eficiencia de dicho proceso con el fin de acelerar el proceso de biodigestión y mejorar la calidad de los productos, suele aplicarse productos cargado de microorganismos al momento de la carga inicial. Comúnmente se utilizan purines, aguas de lavado de las granjas o vísceras de animales. Sin embargo, existe un producto con una gran potencialidad para usarse en los biodigestores: los Microorganismos Efectivos (Miyashiro & Meggs, 2007)

Los Microorganismos efectivos son un cultivo mixto de microorganismos benéficos con numerosas aplicaciones, en todos los casos, su uso controlado ha dado lugar a mejoras

en la calidad y/o cantidad de los productos obtenidos, demostrando ser un preparado biológico con muchas potencialidades científicas (Higa & Chinen, 1998).

### **1.1.1. Antecedentes**

Según Haro (2013), en la tesis de investigación determinó el efecto de distintas concentraciones de microorganismos eficientes, aplicados en tres concentraciones (2% C1, 4% C2 y 6% C3) y en mezcla con biol enriquecido aplicado en tres concentraciones (5% B1, 10% B2 y 15% B3), en la producción limpia de brócoli (*Brassica oleracea var*). La investigación concluyó que el efecto de los microorganismos eficientes, produjeron los mejores resultados, tanto en el crecimiento y desarrollo de las plantas, como en la calidad de las pellas, al observarse plantas con mayor altura a los 60 días (45,17 cm) y mejor diámetro de la pella (19,77 cm).

La aplicación de microorganismos eficientes en la concentración del 6% (C3), influyó favorablemente en el crecimiento y desarrollo de las plantas, al reportar los mejores resultados, con mayor crecimiento en longitud del limbo de la hoja (52,49 cm), en el diámetro de la pella (19,48 cm), como también en el peso de la pella (0,40 kg), obteniéndose consecuentemente los mejores rendimientos (16,04 t/ha).

Según Rojas (2014), la presente investigación tuvo por objetivo medir sus efectos en el proceso de biodigestión anaeróbica, centrándose en su producto líquido: el biol. Para tal fin, se realizó un experimento con biodigestores a escala cargados con agua, estiércol de vacuno, paja de trigo y solución de Microorganismos Efectivos en cuatro diferentes dosis. Asimismo, se dispuso un grupo control sin solución EM. Tras un período de 45 días, se tomó una muestra de biol de cada biodigestor y se realizaron análisis de olor, color, pH, conductividad eléctrica, sólidos totales, DBO<sub>5</sub>, nitratos, coliformes fecales e índice de germinación.

Los resultados fueron muy positivos, pues las muestras con una mayor concentración de Microorganismos Efectivos mostraron valores menores de sólidos totales, conductividad eléctrica, nitratos y coliformes fecales; así como un menor olor fecal y un color más verdoso el cual indica un mayor grado de degradación. Además, presentaron un nivel significativamente alto de índice de germinación en semillas de lechuga. Dicho valor fue casi 250% mayor en el biol con la mayor dosis de Microorganismos Efectivos con respecto al grupo control, demostrando su potencialidad como fertilizante. En base a los resultados, se concluyó que la aplicación de Microorganismos Efectivos en un biodigestor mejora la calidad del biol resultante, así como su poder fertilizante.

Según Tuse (2018), en la tesis de investigación tuvo por objetivo determinar una dosis óptima de microorganismos eficaces que redujera la concentración de coliformes totales, fecales y *E. coli*, a fin de obtener un abono líquido inocuo para uso agrícola. Por esta razón se procedió a tratar el biol con dosis al 0%, 5%, 10% y 15% de microorganismos eficaces activados (EMA) mediante la implementación de recipientes herméticos a escala pequeña (500 ml) y realizando por triplicado cada tratamiento, al término del proceso de evaluación se determinó que la dosis óptima de microorganismos eficaces activados (EMA) fue del 10%, al obtenerse los mejores resultados a nivel microbiológico y fisicoquímico para un tiempo de evaluación de 7 días. Concluida la etapa de evaluación microbiológica, se realizaron pruebas en plantas de maíz a las cuales se les aplicó el biol con la dosis óptima del 10% de EMA diluido al 5% en agua por su bajo pH. Los resultados muestran un elevado crecimiento de las plantas a nivel de altura y masa para una evaluación de 76 días.

Según Albuquerque (2019), en la tesis de investigación, determino el efecto de dos formulaciones comercial de los Microorganismos Eficaces, (EM suelo y EM foliar) en

combinación con dos condiciones de materia orgánica en el suelo (con y sin materia orgánica) y dos opciones de aplicación.

Los resultados obtenidos producto de las aplicaciones de los tratamientos sobre el cultivo de “ají Habanero”, evidenciaron la existencia de respuestas distintas sobre rendimiento, tamaño de fruto y número de fruto. Se llegó a las siguientes conclusiones.

Los mayores rendimientos de fruta de “ají habanero”, se lograron con la aplicación de los microorganismos eficientes (EM), el efecto fue sobre el tamaño de fruto y número de frutos. Por lo contrario, los rendimientos más bajos se obtuvieron con el testigo sin aplicación de microorganismos efectivos eso se evidenció en el tamaño de fruto y número de fruto.

Según Meléndrez y Sánchez (2019), el objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de los microorganismos eficientes (EM) en el proceso de compostaje de residuos sólidos orgánicos en el distrito de Cacatachi. Para ello se seleccionó un diseño experimental completamente al Azar, cuya variable dependiente fue dosis de microorganismos eficientes con cuatro tratamientos (0, 250, 500, 1000 mL de EM; en 10 L de solución acuosa) y tres repeticiones.

Se concluye que los tratamientos óptimos fueron: T2 y T3; sin embargo, en el tratamiento 2, se utilizó una menor concentración de EM (500 mL de EM activado por 10L de agua) que en el tratamiento 3. Por lo tanto, el tratamiento 2 es el que se debe utilizar como abono orgánico.

Según Carbonelli (2020), en el trabajo de investigación titulado “Microorganismos eficientes en la fenología y rendimiento del maíz morado (*Zea mays L*) en Huaral–Lima”, tiene como objetivo evaluar el efecto de tres dosis de microorganismos eficientes (EM) en la fenología y rendimiento del maíz morado (*Zea mays L*).

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, con tres tratamientos: T1= 01 litro de EM, T2= 03 litros de EM, T3 = 06 litros de EM y control (Testigo) 00 litros de EM y cuatro repeticiones.

Los resultados fueron que la aplicación de los microorganismos eficientes en el cultivo de maíz morado presento efecto significativo, en las características fenológicas y en el rendimiento de maíz morado, observándose que a dosis de 6 L de EM/Ha, presenta mejores características.

Se observó que la dosis de microorganismos eficientes (EM), presentaron efecto significativo positivo, en la altura de tallo, diámetro de tallo, el porcentaje de floración, porcentaje de maduración lechosa, porcentaje de maduración pastosa, porcentaje de maduración cornea, longitud de mazorca y número de mazorcas/planta, y que estas características fenológicas presentan fuerte correlación positiva entre ellas. Se observó que la adición de EM mejoró considerablemente el rendimiento de producción de maíz morado

### **1.1.2. Definiciones conceptuales**

#### **Proceso anaeróbico de descomposición de la materia orgánica para la obtención de biol**

El proceso de descomposición anaeróbica de la materia orgánica, es realizado en biodigestores; un biodigestor es un sistema natural que aprovecha la digestión anaerobia (en ausencia de oxígeno) de las bacterias que ya habitan en el estiércol, para transformar éste en biogás y fertilizante (Marti, 2008).

El biol es un abono orgánico líquido, resultado de la descomposición de los residuos animales y vegetales en ausencia de oxígeno (INIA, 2008). Inicialmente se lo había considerado un producto secundario, pero actualmente se lo está tratando con la misma importancia, o mayor, que el biogás, ya que provee a las familias de un fertilizante natural que mejora fuertemente el rendimiento de las cosechas (Marti, 2008).

Los bioprocesos utilizados para estabilizar los residuos orgánicos, se basan en una digestión de tipo aeróbica (compostaje) o de tipo anaeróbica (fermentación con producción de biogás). La calidad de cualquier material orgánico que ha sido bioprocesado, ya sea en forma aeróbica o anaeróbica, está relacionada con la estabilidad biológica y la madurez química que se alcanza durante el desarrollo y, la evolución de las diferentes etapas del proceso (Varnero, 2011).

### **La digestión anaeróbica y sus etapas:**

La digestión anaeróbica es un proceso muy complejo, tanto por el número de reacciones bioquímicas que tienen lugar, como por la cantidad de microorganismos involucrados en ellas. De hecho, muchas de estas reacciones ocurren de forma simultánea. Es un proceso biológico complejo y degradativo, en el cual parte de los materiales orgánicos de un sustrato (residuos animales y vegetales) son convertidos en biogás por un consorcio de bacterias que actúan de forma simbiótica (Varnero, 2011).

El proceso de digestión anaeróbica a menudo es dividido en tres etapas que permiten ilustrar la secuencia de eventos microbiológicos que ocurren durante el proceso de digestión y producción de metano. Estas etapas diferenciadas son: hidrólisis, acidogénica y metanogénica (Gerardi, 2003)

Sin embargo, otros autores indican que el proceso de digestión anaeróbica se realiza en cuatro etapas fases o etapas. Varnero (2011), indica que estudios bioquímicos y microbiológicos realizados hasta ahora, dividen el proceso de descomposición anaeróbica de la materia orgánica en cuatro fases o etapas: hidrólisis, etapa fermentativa o acidogénica, etapa acetogénica y etapa metanogénica, similar a lo señalado por (Lorenzo & Obaya, 2005) y (Carrillo, 2003).

## **Hidrólisis**

En esta etapa, los compuestos orgánicos son solubilizados por acción de enzimas excretadas por bacterias hidrolíticas que actúan en el exterior celular (exoenzimas). La hidrólisis es, por tanto, la conversión de los polímeros en sus respectivos monómeros. La hidrólisis es el paso inicial para la degradación anaerobia de sustratos orgánicos complejos, ya que los microorganismos únicamente pueden utilizar materia orgánica soluble que pueda atravesar su pared celular. Por tanto, este proceso proporciona sustratos orgánicos para la digestión anaerobia (Lorenzo & Obaya, 2005)

La hidrólisis depende de la temperatura del proceso, del tiempo de retención, de la composición bioquímica del sustrato (porcentaje de lignina, carbohidratos, proteínas y grasas), del tamaño de partículas, del nivel de pH, de la concentración de  $\text{NH}_4^+$  y de la concentración de los productos de la hidrólisis, esta etapa hidrolítica puede ser el proceso limitante de la velocidad global del proceso sobre todo cuando se tratan residuos con alto contenido de sólidos (Varnero, 2011).

Microorganismos de muchos géneros son los responsables de la hidrólisis, destacan: *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Propioni-bacterium*, *Sphingomonas*, *Sporobacterium*, *Megasphaera*, *Bifidobacterium* (Varnero, 2011).

## **Etapa acidogénica**

Durante esta etapa tiene lugar la fermentación de las moléculas orgánicas solubles en compuestos que puedan ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas (acético, fórmico,  $\text{H}_2$ ) y, compuestos orgánicos más reducidos (propiónico, butírico, valérico, láctico y etanol principalmente) que tienen que ser oxidados por bacterias acetogénicas en la siguiente etapa del proceso (Varnero, 2011).

La importancia de la presencia de este grupo de bacterias no sólo radica en el hecho que produce el alimento para los grupos de bacterias que actúan posteriormente, sino que, además eliminan cualquier traza del oxígeno disuelto del sistema.

Este grupo de microorganismos, se compone de bacterias facultativas y anaeróbicas obligadas, colectivamente denominadas bacterias formadoras de ácidos. La mayoría de los microorganismos acidogénicos también participan de la hidrólisis. El género *Clostridium*, *Paenibacillus* y *Ruminococcus* están presentes en todas las fases del proceso de fermentación, pero son dominantes en la fase acidogénica (Varnero, 2011).

### **Etapa acetogénica**

Durante esta etapa, mientras que algunos productos de la fermentación pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos ( $H_2$  y acético), otros (etanol, ácidos grasos volátiles y algunos compuestos aromáticos) deben ser transformados en productos más sencillos, como acetato ( $CH_3COO^-$ ) e hidrógeno ( $H_2$ ), a través de las bacterias acetogénicas. A esta altura del proceso, la mayoría de las bacterias anaeróbicas han extraído todo el alimento de la biomasa y, como resultado de su metabolismo, eliminan sus propios productos de desecho de sus células. Estos productos, ácidos volátiles sencillos, son los que van a utilizar como sustrato las bacterias metanogénicas en la etapa siguiente (Varnero, 2011).

Representantes de los microorganismos acetogénicos son *Syntrophomonas wolfei* y *Syntrophobacter wolini*. Un tipo especial de microorganismos acetogénicos, son los llamados homoacetogénicos. Los principales microorganismos homoacetogénicos que han sido aislados son *Acetobacterium woodii* o *Clostridium aceticum* (Varnero, 2011).

### **Etapa metanogénica**

En esta etapa metabólica el CH<sub>4</sub> es producido por los microorganismos metanogénicos completan el proceso de digestión anaeróbica mediante la formación de metano a partir de sustratos monocarbonados o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente: acetato, H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, formato, metanol y algunas metilaminas (Lorenzo & Obaya, 2005).

Las bacterias metanogénicas activas aparecen en la segunda fase de la fermentación (fase acidogénica). Sin embargo, obviamente el número de Arqueas metanogénicas aumenta en la fase metanogénica. Las principales especies están representadas por *Methanobacterium*, *Methanospirillum hungatii* y *Methanosarcina* (Varnero, 2011).

El proceso de digestión anaeróbica se realizará eficientemente si las tasas de degradación de las tres etapas son iguales. Si la primera etapa es inhibida, entonces los sustratos para la segunda y tercera etapa serán limitantes y la producción de metano decrecerá. En este proceso participan diferentes grupos de bacterias que trabajan en secuencia, con los productos de un grupo sirviendo como sustratos para otro grupo (Gerardi, 2003).

El grupo de bacterias participantes de este proceso, se encuentran de forma simbiótica. Por un lado, las bacterias productoras de ácido crean la atmósfera ideal para el desarrollo de las bacterias productoras de metano (condiciones anaerobias y compuestos con bajo peso molecular). Mientras, por el otro lado, los microorganismos productores de metano usan los ácidos producidos por las bacterias; que si no fueran consumidos crearían condiciones tóxicas para las acidogénicas.

En la práctica el proceso de fermentación es realizado por un grupo de bacterias que actúan en conjunto. Sin ser posible que alguna de ellas independientemente lleve a cabo todo el proceso.

En la primera y segunda fase de la degradación, participan bacterias de al menos 128 órdenes de 58 especies y 18 géneros. En la tercera y cuarta fase de la degradación, se encuentran principalmente bacterias metanogénicas. En la actualidad, se han identificado 81 especies, de 23 géneros, 10 familias y 4 órdenes (Varnero, 2011).

### **Factores a considerar en el proceso digestión**

#### **Materia prima**

La materia prima preferentemente utilizada para ser sometida a este tratamiento es cualquier biomasa residual que posea un alto contenido en humedad, pueden ser residuos orgánicos de origen vegetal, animal, agroindustrial, forestal, doméstico u otros. Las características bioquímicas que presenten estos residuos deben permitir el desarrollo y la actividad microbiana del sistema anaeróbico. El proceso microbiológico no solo requiere de fuentes de carbono y nitrógeno sino que también deben estar presentes en un cierto equilibrio sales minerales (azufre, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, cobalto, selenio, tungsteno, níquel y otros menores) (Varnero, 2011).

Los materiales que se pueden usar para la generación de metano son muy diversos:

- Residuos de cosechas: malezas, paja, rastrojo de maíz y otros cultivos, forraje deteriorado;
- Restos de origen animal: residuos de establos (estiércol, orina, paja de camas), camas de ponedoras, boñigas (estiércol) de cabras y ovejas, desperdicios de matadero (sangre, vísceras), desperdicios de pesca, restos de lana y cuero;

- Residuo de origen humano: heces, orina;
- Residuos agroindustriales: tortas de oleaginosas, bagazo, salvado de arroz, y desechos de tabaco y semillas, desperdicios del procesamiento de hortalizas y frutas, limos de la prensa en ingenios, residuos de té, polvo de las desmotadoras e industria textil;
- Mantillo forestal: ramitas, hojas, cortezas, ramas;
- Restos de plantas acuáticas: algas marinas, camalotes.

### **Relación Carbono/Nitrógeno**

El carbono y el nitrógeno son las principales fuentes de alimentación de las bacterias metanogénicas. El carbono constituye la fuente de energía y el nitrógeno es utilizado para la formación de nuevas células. Estas bacterias consumen 30 veces más carbono que nitrógeno, por lo que la relación óptima de estos dos elementos en la materia prima se considera en un rango de 30:1 hasta 20:1 (Varnero, 2011) y (Guevara, 1996). Una relación C/N con valores de por lo menos 25:1 es recomendable para una óptima producción de gas (Gerardi, 2003).

La descomposición de materiales con alto contenido de carbono, superior a 35:1, ocurre más lentamente, porque la multiplicación y desarrollo de bacterias es bajo, por la falta de nitrógeno, pero el período de producción de biogás es más prolongado. En cambio, con una relación C/N menor de 8:1 se inhibe la actividad bacteriana debido a la formación de un excesivo contenido de amonio, el cual en grandes cantidades es tóxico e inhibe el proceso (Varnero, 2011).

### **Temperatura**

La temperatura es uno de los más importantes factores que afectan la actividad microbiana dentro de un digestor anaeróbico; la producción de metano depende fuertemente

de la temperatura (Gerardi, 2003). La gama de temperatura para la digestión anaeróbica varía entre 10 y 60°C (Carrillo, 2004).

Existen tres rangos de temperatura en los que pueden trabajar los microorganismos anaeróbicos: psicrófilos (por debajo de 25°C), mesófilos (entre 25 y 45°C) y termófilos (entre 45 y 65°C) (Varnero, 2011).

Sin embargo, las dos zonas óptimas son la mesófila (30-40°C) y la termófila (45-60°C). Casi todos los digestores funcionan dentro de los límites de temperaturas mesofílicas y la digestión óptima se obtiene a unos 35°C. La velocidad de digestión a temperaturas superiores a 45°C es mayor que a temperaturas más bajas. Sin embargo, dentro de esta gama de temperaturas, las bacterias son sumamente sensibles a los cambios ambientales y el mantenimiento de estas temperaturas elevadas resulta costoso y a veces difícil (Carrillo, 2004).

## **pH**

La actividad enzimática o funcionamiento del digestor está influenciado por el pH. El pH en un digestor anaeróbico inicialmente disminuirá debido a la producción de ácidos volátiles. Sin embargo, como las bacterias formadoras de metano consumen estos ácidos volátiles se alcalinizará el medio, el pH del digestor se incrementa y luego se estabiliza.

Una aceptable actividad enzimática de las bacterias formadoras de ácidos ocurre por encima de un pH 5.0, sin embargo, una actividad enzimática de las bacterias formadoras de metano no ocurre por debajo de un pH 6.2, ya que si el valor del pH descendiera por debajo de 6.2, el medio se tornaría tóxico para las bacterias metanogénicas y se inhibiría el proceso. El óptimo es entre 5.5 y 6.5 para acidogénicas y entre 7.8 y 8.2 para metanogénicas (Varnero, 2011).

### **Volumen y mezcla de la carga**

El volumen total del biodigestor ha de albergar una parte líquida y otra gaseosa. Normalmente se da un espacio del 75% del volumen total a la fase líquida, y del 25% restante a la fase gaseosa (Marti H. J., 2008).

### **Biol**

El biol es la parte líquida del efluente resultante del proceso de biodigestión anaeróbica, aproximadamente el 90% del material que ingresa al biodigestor se transforma en biol, y el resto en biosol (Aparcana, 2008).

Su composición depende de la materia orgánica usada y de las características del proceso, por lo que podría decirse que no existen dos bioles iguales. Aun así, comúnmente siempre contiene una gran concentración de macro y micronutrientes, en relación a fertilizantes orgánicos no degradados (como las excretas), cuya disponibilidad para las plantas mejora notablemente con el proceso de biodigestión.

### **Beneficios del Biol**

Según Aparcana (2008), destaca los siguientes beneficios del biol en la agricultura:

- El uso de biol permite mejorar la capacidad de intercambio catiónico del suelo. Con ello se amplía la disponibilidad de nutrientes en el mismo, que puedan ser aprovechados directamente por los cultivos.
- Ayuda a mantener la humedad del suelo y a crear un microclima adecuado para las plantas.
- Por ser líquido, se puede aplicar junto con el agua de riego, principalmente en sistemas tecnificados de irrigación.
- Siendo una fuente orgánica de fitorreguladores en pequeñas cantidades es capaz de promover actividades fisiológicas y estimular el desarrollo de las

plantas, sirviendo para: enraizamiento (aumenta y fortalece la base radicular), mejora la floración y activa el vigor y poder germinativo de las semillas, traduciéndose todo esto en un aumento significativo de las cosechas.

- Puede usarse para tratar las semillas antes de ser plantadas, aumentando su velocidad y probabilidades de germinación.
- Pruebas realizadas con diferentes cultivos muestran que usar sólo biol sería suficiente para lograr la misma o mayor productividad del cultivo que empleando fertilizantes químicos.

### **Microorganismos Efectivos**

Según Higa & Chinen (1998), los microorganismos Efectivos (EM) fueron desarrollados en la década de los 70, por el profesor Teruo Higa de la Facultad de Agricultura de la Universidad de Ryukyus en Okinawa, Japón. Este producto comercial se encuentra conformando por diferentes tipos de organismos, las cuales desarrollan una sinergia metabólica que permite su aplicación en diferentes campos de la ingeniería.

El EM se produce en tinas de cultivos de unas 80 variedades de microorganismos. Los microorganismos pertenecen a diez géneros de cinco familias distintas e incluye especies aeróbicas y anaeróbicas (de bacterias fototrópicas, bacterias ácido lácticas, levaduras, actinomicetos y hongos filamentosos). Dicho producto es el resultado de la coexistencia entre dos grupos de microorganismos con diferentes condiciones de vida, microorganismos aeróbicos que necesitan del aire para sobrevivir y microorganismos anaeróbicos donde el oxígeno no es necesario.

### **Beneficios**

Según Higa & Chinen (1998), el uso de Microorganismos Efectivos ofrece numerosos beneficios en los siguientes campos:

- Compostaje: Aceleran el proceso de compostaje y mejoran la calidad del producto final, reduciendo los malos olores, los agentes patógenos y aumentando los nutrientes disponibles. Además, los Microorganismos Efectivos permanecen en el compost beneficiando a los cultivos.
- Producción animal: Mejoran la digestión de los animales y evitan la intoxicación. Asimismo, reducen la presencia de patógenos y sustancias tóxicas en orines y heces, así como los malos olores.
- Agricultura: Actúan como rizobacterias. Mejoran el crecimiento, la floración, la fructificación y la resistencia a las plagas de los cultivos.
- Tratamiento de aguas: Aceleran el proceso y mejora la calidad fisicoquímica y microbiológica del efluente.
- Limpieza industrial y doméstica: Aceleran la descomposición de contaminantes orgánicos y favorecen la eliminación de patógenos.

### **Microorganismos presentes**

Según Higa & Chinen (1998), la solución EM contiene las siguientes clases de Microorganismos:

#### **Bacterias fototrópicas (*Rhodospseudomonas sp*)**

Estas bacterias sintetizan sustancias útiles de secreciones de raíces, materia orgánica y/o gases dañinos como el ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) con el uso de luz solar y calor del suelo como fuentes de energía. Estas sustancias útiles son aminoácidos, ácidos nucleicos, sustancias bioactivas y azúcares, los cuales promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas (Miyashiro & Meggs, 2007).

En ambientes sin luz, como un biodigestor; las bacterias fototrópicas tienen una relación sinérgica con las bacterias productores de ácidos orgánicos (levaduras y ácido

láticas). Estas dos clases de bacterias proveen de alimento a las fototrópicas, explicando así porque el EM es eficiente incluso en ambientes si luz (Fioravanti & Vega, 2003).

### **Bacterias de ácido láctico (*Lactobacillus sp*)**

Las bacterias ácido lácticas producen ácido láctico de azúcares y otros carbohidratos, producidos por las bacterias fototrópicas y levaduras. El ácido láctico es un compuesto desinfectante que suprime microorganismos dañinos y ayuda a la descomposición de materiales como la lignina y la celulosa fermentándolos, removiendo efectos no deseables de la materia orgánica no descompuesta (Carrillo, 2003).

### **Levaduras (*Saccharomyces sp*)**

Las levaduras sintetizan sustancias antimicrobiales y otras útiles a partir de aminoácidos y azúcares secretados por las bacterias fototrópicas, raíces de plantas y materia orgánica. Los productos de estos microorganismos promueven la división activa y radical. Esta propiedad beneficia también a los otros microorganismos del EM (Miyashiro & Meggs, 2007).

### **Actinomicetos**

Los Actinomicetos funcionan como antagonistas de muchas bacterias y hongos patógenos presentes en las plantas y en la materia orgánica en descomposición debido a que producen antibióticos (efectos biostáticos y biácidas). Benefician el crecimiento y actividad del Azotobacter y de las micorrizas, contribuyendo al desarrollo y crecimiento de los cultivos (Apanan, 2003).

### **Hongos filamentosos**

Los hongos de filamentosos como el *Aspergillus* actúan descomponiendo rápidamente la materia orgánica para producir alcohol, esteres y sustancias

antimicrobianas. Esto es lo que produce la desodorización y previene la aparición de insectos perjudiciales; así como la reducción de agentes patógenos (Apanan, 2003).

### **Activación de los microorganismos eficientes**

Generalmente los microorganismos del EM se encuentran en estado latente. Si se utilizan sin un tratamiento previo, su acción puede ser lenta. Debido a esto, es necesario “activarlos” antes de utilizarlos, dando lugar al EM activado (EMa). Esto se logra mezclando el EM con agua y melaza, esta última como nutriente para activar el metabolismo microbiano y acelerar su reproducción. Se recomienda una proporción de 90%.

agua, 5% EM y 5% melaza, para luego llevarlo a incubación hermética por 5 días a por lo menos 25 °C. Se debe procesar en un recipiente cerrado para ofrecer un ambiente anaeróbico y la solución estará finalizada cuando alcance un pH de 3,5. Además, debe presentar un color café claro y un olor agridulce. De presentar un color café oscuro y un olor a putrefacción, esto indica que la activación fracasó y la solución debe ser desechada (Miyashiro, Meggs, 2007).

Se utiliza melaza como fuente de energía para la activación de EM, ya que además contiene proteínas y minerales útiles para los microorganismos, a diferencia de la azúcar refinada que solo contiene sacarosa. La temperatura óptima de activación es entre 25 °C y 37 °C, ya que fuera de estos rangos la velocidad de reproducción de estos microorganismos se reduce considerablemente. (Miyashiro, Meggs, 2007).

## 1.2. Formulación de la pregunta

¿Cuál es el Efecto de los Microorganismos Efectivos en la Calidad del Biol?

## 1.3. Objetivos

### 1.3.1. Objetivo general

Determinar la efectividad de los microorganismos efectivos en la calidad del biol

### 1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar la variación de las características físicas (color, olor, conductividad eléctrica), características químicas (pH, sólidos totales, nitratos, DBO<sub>5</sub>), característica biológica (coliformes fecales,) de los 5 tratamientos de Biol.
- Determinar cuál de las 4 concentraciones de microorganismos efectivos agregados en los biodigestores mejora la calidad del Biol.

## 1.4. Hipótesis

### 1.4.1. Hipótesis general

Los microorganismos efectivos agregados en los biodigestores han causado cambios en la calidad del biol tanto en sus características físicas, químicas y biológicas.

### 1.4.2. Hipótesis específicas

- Se obtuvo variaciones en las características físicas (color, olor, conductividad eléctrica), características químicas (pH, sólidos totales, nitratos), características biológicas (DBO<sub>5</sub>) en los 5 tratamientos de Biol.
- De las 4 concentraciones de microorganismos efectivos agregados en los biodigestores se obtuvo que, el de la concentración al 10 % de EM, mejoró la calidad del biol en cuanto a las características físico-químicas y biológica significativamente a diferencia de las otras concentraciones.

## CAPITULO II. MÉTODO

### 2.1. Tipo de investigación

El tipo de investigación es cuantitativa – experimental con un diseño completamente al azar (DCA), pues el objetivo central es determinar el efecto de los microorganismos efectivos en la calidad del biol, el cual se desarrolló considerando 2 etapas.

La primera etapa se consideró la instalación de los biodigestores artesanales y la elaboración de bioles en un periodo de tiempo de 60 días, la segunda etapa se consideró la realización de los análisis físicos, químicos y microbiológicos efectuados al final del proceso de elaboración de los bioles.

En la Tabla 1 se muestra el diseño empleado.

Tabla 1  
*Tratamientos utilizados en los biodigestores*

Tratamientos	Concentración EM (%)				
	0 (grupo control)	1 (%)	2.5 (%)	5 (%)	10 (%)
Repetición 1	A-1	B-1	C-1	D-1	E-1
Repetición 2	A-2	B-2	C-2	D-2	E-2
Repetición 3	A-3	B-3	C-3	D-3	E-3

## **2.2. Población y muestra**

### **2.2.1. Población**

El presente estudio de investigación estuvo orientado a la instalación y elaboración de biodigestores en el caserío la Huaraclla, en el distrito de Jesús, provincia de Cajamarca; siendo constituida la población por 15 biodigestores.

### **2.2.2. Muestra**

Una vez cumplido los 60 días establecidos, se extrajo una muestra de un litro, de cada biodigestor, sumando un total de 15 litros para ser analizados en el laboratorio.

## **2.3. Materiales instrumentos y métodos**

### **Materiales e instrumentos**

#### **a) Etapa de Instalación de biodigestores y la elaboración de bioles**

##### **Materiales:**

- Baldes de plásticos de 20 litros
- Estiércol de cuy
- Alfalfa
- Leche
- Ceniza de leña
- Agua
- Chicha de jora
- Manguera transparente de 1/4 pulgada
- Silicona
- Microorganismos efectivos (EM)
- Libreta de apuntes

**Equipos y herramientas:**

- Balanza
- Cámara fotográfica
- Machete

**b) Etapa de análisis de las características físicas, químicas, microbiológicas**

**Materiales e insumos:**

- Muestras de biól
- Botellas de vidrio y plástico
- Jeringa para extraer el biól

**Equipos e instrumentos de laboratorio:**

- Multiparametros
- Equipos de laboratorio
- Cámara fotográfica
- Computadora

**2.3.1. Método**

**Ubicación**

Los biodigestores fueron instalados y elaborados en el caserío la Huaraclla, en el distrito de Jesús, provincia de Cajamarca, a 30 minutos de la ciudad de Cajamarca, el acceso al área es a través de la carretera Cajamarca – Jesús, en la proyección UTM-WGS-84, se encuentra ubicada en la coordenada por el Este 785558 y por el Norte 9199924, a una altitud promedio de 2655 m.s.n.m

**Características climáticas**

La zona evaluada, considerando el régimen y distribución pluviométrica, presenta dos estaciones marcadas, estación seca (de mayo hasta setiembre) y estación húmeda (de

octubre hasta abril). La precipitación anual promedio es de 600 mm y la temperatura máxima mensual es de 20°C y la mínima de 5.1°C (Senamhi, 2016).

#### 2.4. Técnicas e instrumentos de recolección y análisis de datos

La recolección de datos se realizó de los 15 biodigestores en un tiempo de fermentación de 60 días, una vez finalizado el tiempo de retención establecido, se procedió al muestreo del biol, se tomó una muestra de 1 litro, de cada biodigestor, para dicho muestreo se utilizó el “Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales”.

Se realizaron análisis de olor, color, pH, conductividad eléctrica, sólidos totales, nitratos, DBO<sub>5</sub> y coliformes fecales, los análisis de los parámetros mencionados, se realizaron en el Laboratorio de la Universidad Privada del Norte – Sede Cajamarca, para el análisis de cada parámetro se utilizó los métodos siguientes:

Tabla 2  
*Parámetros y metodología utilizados*

Parámetro de medición	Unidad	Metodología
Color	---	Subjetivo
Olor	---	Subjetivo
Potencial de Hidrogeno	pH	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-H+ B, 2017; 23rd Ed. pH Value. Electrometric Method.
Conductividad eléctrica	mS/cm	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 2510-B, 23rd Ed: 2017. Conductivity: Laboratory Method

Sólidos totales		SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 2540-D; 23rd Ed:
	mg/L	2017. Solids: Total Suspended Solids dried at 103-105 °C/
Nitrato	mg/L	EPA 300.0. Rev. 2.1. 1993. Determination Of Inorganic Anions By Ion Chromatography.
DBO <sub>5</sub>	mg/L	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5210 B; 23rd Ed: 2017. Biochemical Oxygen Demand (BOD): 5-Day BOD test
Coliformes fecales	NMP/100 mL	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 9221E.1, 23rd Ed; 2017; Multiple-tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. Fecal Coliform Procedure. Thermotolerant Coliform Test (EC Medium).

El procesamiento y análisis de los datos obtenidos del laboratorio se procesaron en el programa estadístico (SAS) con las herramientas de análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparación de medias de (Duncan) entre condiciones con una probabilidad del 95 %. Asimismo, se utilizó el programa Excel.

## 2.5. Procedimiento

### Activación de los microorganismos efectivos (EM)

La solución EM que se utilizó es la EM-Compost de la empresa BIOEM Perú S.A.C, ya que contiene muchos de los microorganismos que intervienen directa e indirectamente en la biodigestión anaeróbica (bacterias ácido lácticas, fototrópicas, levaduras, actinomicetos y hongos filamentosos).

Antes de usar los Microorganismos Efectivos (EM) deben ser activados convirtiéndose en Microorganismos Efectivos activados (EMa). Para esto siguiendo las instrucciones del proveedor de la solución EM-Compost, se mezcló un litro de la solución

de Microorganismos Efectivos con un litro de melaza el cual se añadió agua hasta completar los 20 litros. La mezcla se realizó en un envase cerrado herméticamente y se almaceno en un ambiente oscuro y a temperatura ambiente.

Durante los siguientes siete días se realizó la apertura del recipiente diariamente para liberar el gas producido, así mismo para monitorear el pH. La solución se consideró activado una vez que su pH fue menor a 4, su color anaranjado oscuro y presente un olor agridulce agradable.

### **Carga y tratamiento**

Se utilizaron 15 baldes de 20 litros para el experimento, en cada una se procederá a la carga de los biodigestores, agregando:

- 2 kilos de estiércol de cuy
- ½ kilo de hojas verdes de alfalfa
- ½ litro de melaza
- ½ kilo de ceniza
- ½ litro de leche
- ½ litro de chicha de jora
- Agua

### **Preparación de los biodigestores**

En cada balde de 20 litros se llenó con agua hasta la mitad, luego se colocó todos los materiales, posteriormente se adiciono diferentes dosis de la solución de Microorganismos Efectivos al (1%, 2.5%, 5%, 10%) o (0.2, 0.5, 1 y 2 litros), a los tratamientos, finalmente, se agregó agua hasta completar el volumen de 18 litros lo cual debe quedar un espacio para los gases, se utilizó una vara de madera para homogenizar la mezcla.

Se realizó un hueco en la tapa del balde, donde se colocó la manguera plástica de ¼ de pulgada de diámetro, por donde salieron los gases producidos durante la fermentación, luego se aseguró con silicona para evitar el ingreso del aire, el otro extremo de la manguera se colocó en el fondo de una botella plástica descartable de 2 litros con agua, para asegurar que no ingrese el aire en el balde, luego se aseguró el sellado total de los envases que contuvieron el biol, para evitar el ingreso del aire y malograra la fermentación posteriormente se dejó que se fermente sin abrir los baldes por 60 días.

Durante la biodigestión, la temperatura en la zona donde se realizó el experimento oscila en 15 a 20 °C, para esta temperatura se suele recomendar un tiempo de retención de dos a tres meses. Sin embargo, con el propósito de averiguar si los Microorganismos Efectivos son capaces de acelerar el proceso de biodigestión, se optó por un tiempo de retención de 2 meses, de esta forma, podría apreciarse de una forma más claro el beneficio, o no; de la aplicación de EM en los biodigestores.

## **2.6. Aspectos éticos**

El presente documento tiene un nivel de similitud de 27% de acuerdo al programa URKUND, lo que indica que se ha tenido mucho respeto al derecho de autor citando y referenciando como corresponde.

La información consignada en la tesis son fruto de la evaluación en el desarrollo del mismo respetando la conducta científica de veracidad. Así mismo se ha respetado el cuidado del medio ambiente considerando la reutilización de material orgánico para la elaboración de abonos que servirán para la mejora del recurso suelo.

## CAPITULO III. RESULTADOS

### 3.1. Resultados del laboratorio

#### 3.1.1. Características físicas del biol

A continuación, se presentan los resultados del análisis de color, olor y conductividad eléctrica, de la elaboración de los 15 tratamientos de biol investigados.

#### Color

En la tabla 3 se presentan los resultados de la evaluación del color de los bioles, se discuten los datos en el siguiente capítulo.

Tabla 3

*Resultado de los colores de los tratamientos de biol*

Tratamientos	Concentración EM (%)				
	A (0 %)	B (1 %)	C (2.5 %)	D (5 %)	E (10 %)
<b>Repetición 1</b>	Marrón claro	Marrón oscuro	Marrón oscuro	Marrón verdoso	Marrón verdoso
<b>Repetición 2</b>	Marrón claro	Marrón oscuro	Marrón oscuro	Marrón verdoso	Marrón verdoso
<b>Repetición 3</b>	Marrón claro	Marrón oscuro	Marrón oscuro	Marrón verdoso	Marrón verdoso

#### Olor

La evaluación del olor de los bioles, se determinó mediante una categorización de olores asociados en la cual se muestra en la tabla 4:

Tabla 4  
*Olores asociados a las categorías de descripción en los bioles*

<b>Categorías</b>	<b>Olores asociados</b>
<b>Muy desagradable</b>	Olor nauseabundo, putrefacto, insoportable, apestoso, olor a huevo podrido.
<b>Desagradable</b>	Olor apestoso parecido a estiércol en descomposición, guano fresco.
<b>Normal</b>	Olor a estiércol seco, compost descompuesto, macerado de hierbas en descomposición.
<b>Agradable</b>	Olor similar a tierra húmeda, macerado de hierbas, chicha joven jugo de caña.

Fuente: Días (2017).

En la tabla 5, se muestra el resultado de la evaluación de los olores de los bioles, se discuten los datos en el siguiente capítulo.

Tabla 5  
*Resultado de los olores de los tratamientos de bioles*

<b>Tratamientos</b>	<b>Concentración EM (%)</b>				
	<b>A (0 %)</b>	<b>B (1 %)</b>	<b>C (2.5 %)</b>	<b>D (5 %)</b>	<b>E (10 %)</b>
<b>Repeticón 1</b>	Desagradable	Normal	Normal	Agradable	Agradable
<b>Repeticón 2</b>	Desagradable	Normal	Normal	Agradable	Agradable
<b>Repeticón 3</b>	Desagradable	Normal	Normal	Agradable	Agradable

### Conductividad eléctrica

En la Tabla 6 se presentan el resultado de los valores del análisis de conductividad eléctrica de las muestras de biol en (mS/cm). Se discuten los datos en el siguiente capítulo.

Tabla 6  
*Resultados de la conductividad eléctrica de los bioles*

Tratamientos	Concentración EM (%)				
	A (0 %)	B (1 %)	C (2.5 %)	D (5 %)	E (10 %)
Repeticón 1	10.55	10.44	11.04	11.45	11.95
Repeticón 2	9.88	10.32	10.88	11.56	12.1
Repeticón 3	10.05	10.17	11.13	11.53	12.13

### 3.1.2. Características químicas del Biol

A continuación, se presentan los resultados del análisis de pH, sólidos totales y nitratos, de la elaboración de los 15 tratamientos de biol.

#### pH

En la Tabla 7 se presentan los resultados de los valores de los análisis de pH de las muestras de biol. Se discuten los datos en el siguiente capítulo.

Tabla 7  
*Resultados del pH de los bioles*

Tratamientos	Concentración EM (%)				
	A (0 %)	B (1 %)	C (2.5 %)	D (5 %)	E (10 %)
Repeticón 1	6.51	6.66	7.33	7.65	7.85
Repeticón 2	6.45	6.76	7,41	7.76	7.87

<b>Repetición 3</b>	6.66	6.65	7,36	7.73	7.96
---------------------	------	------	------	------	------

### Sólidos totales

En la Tabla 8 se presentan los resultados de los valores de los análisis de sólidos totales de las muestras de biol en (mg/L). Se discuten los datos en el siguiente capítulo.

Tabla 8

*Resultados de sólidos totales de los bioles*

<b>Tratamientos</b>	<b>Concentración EM (%)</b>				
	<b>A (0 %)</b>	<b>B (1 %)</b>	<b>C (2.5 %)</b>	<b>D (5 %)</b>	<b>E (10 %)</b>
<b>Repetición 1</b>	17.2	17.3	16.2	16	14.5
<b>Repetición 2</b>	18.3	17.6	16.1	15.8	14.3
<b>Repetición 3</b>	17.5	17.9	16.3	16.1	14.2

### Nitratos

En la Tabla 9 se presentan los resultados de los valores de los análisis de Nitratos de las muestras de biol en (mg/L). Se discuten los datos en el siguiente capítulo.

Tabla 9

*Resultados de nitratos de los bioles*

<b>Tratamientos</b>	<b>Concentración EM (%)</b>				
	<b>A (0 %)</b>	<b>B (1 %)</b>	<b>C (2.5 %)</b>	<b>D (5 %)</b>	<b>E (10 %)</b>
<b>Repetición 1</b>	1.5	1.2	1.7	1.9	2.3
<b>Repetición 2</b>	1.7	1.3	1.8	1.8	2.1
<b>Repetición 3</b>	1.5	1.5	1.6	1.8	2.2

### 3.1.3. Características biológicas del biol

A continuación, se presentan los resultados del análisis DBO<sub>5</sub> y coliformes fecales de la elaboración de los 15 tratamientos de biol investigados.

#### DBO<sub>5</sub>

En la Tabla 10 se presentan los resultados de los valores del análisis de DBO<sub>5</sub> en (mg/L), en las muestras de biol. Se discuten los datos en el siguiente capítulo.

Tabla 10  
*Resultados de DBO<sub>5</sub> de los bioles*

Tratamientos	Concentración EM (%)				
	A (0 %)	B (1 %)	C (2.5 %)	D (5 %)	E (10 %)
Repeticón 1	5.29	5.34	5.31	5.61	6.44
Repeticón 2	5.25	5.37	5.63	5.67	6.45
Repeticón 3	5.23	5.33	5.32	5.67	6.47

#### Coliformes fecales

En la Tabla 11 se presentan los resultados de los valores de los coliformes fecales en (NMP/100 ml), en las muestras de biol. Se discuten los datos en el siguiente capítulo.

Tabla 11  
*Resultados de coliformes fecales de los bioles*

Tratamientos	Concentración EM (%)				
	A (0 %)	B (1 %)	C (2.5 %)	D (5 %)	E (10 %)
Repeticón 1	15000	16000	12000	8500	5000
Repeticón 2	15000	15000	11000	10000	6000
Repeticón 3	20000	18000	11000	9000	4500

### Análisis estadísticos de los resultados

En la Tabla 12 se presenta resultados obtenidos en el análisis de varianza ANOVA y prueba de Duncan de los parámetros físicos y químicos de las muestras de suelos evaluadas.

Tabla 12  
*Resultado del análisis de varianza ANOVA y prueba de Duncan*

Parámetros	Unidades	Promedio de los tratamientos				
		A (0%) EM	B (1%) EM	C (2.5%) EM	D (5%) EM	E (10%) EM
Conductividad eléctrica	mS/cm	10.1600 d	10.3267 d	11.0157 c	11.5133 b	12.000 a
Potencial de hidrogeno	pH	6.5367 d	6.6700 d	7.3567 c	7.7133 b	7.8933 a
Solitos totales	mg/L	17.6667 a	17.6000 a	16.2000 b	15.9667 b	14.3333 c
Nitratos	mg/L	1.3333 d	1.5667 c	1.70000 b c	1.8333 b	2.2000 a
DBO <sub>5</sub>	mg/L	5.2667 c	5.3467 c	5.4200 c	5.6500 b	6.4533 a
Coliformes fecales	NMP/100 ml	16667 a	14000 a	11333 b	9166 b	5166 c

Según Duncan, promedios con la misma letra en cada fila son estadísticamente iguales.

## CAPITULO IV. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

### 4.1. Discusión

#### 4.1.1. Color

El color de los bioles se fue modificando durante el proceso de fermentación en los tratamientos, al finalizar dicha fermentación los bioles del grupo control, presentaron un color marrón claro, muy similar al de la carga inicial, indicando una escasa degradación de la materia orgánica.

Por lo contrario, los bioles de los otros tratamientos los que contienen concentraciones de microorganismos eficientes al 1 y 2.5%, mostraron una coloración marrón oscuro; los bioles con las concentraciones al 5 y 10%, mostraron una coloración de color marrón verdoso.

Los colores obtenidos en los bioles: marrón claro, marrón oscuro y marrón verdoso guardan relación con los colores, marrones y marrón verdoso oscuro según Piamonte y Flores (2000) y Foncodes (2014), señalados para describir el color de un buen biol. Además, muchos agricultores reconocen que un biol ha terminado su proceso de descomposición cuando presenta una coloración marrón o marrón verdoso oscuro, indicando en muchos casos que se parece al color del té o café. El resultado obtenido en esta investigación, concuerda con esta información.

Por otro lado, numerosas experiencias en investigaciones con biodigestores, como la de Salazar (2012) y la de Wood (2002), demuestran que, cuando se utiliza materia fecal como sustrato para una biodigestión, los colores oscuros, principalmente el verde oscuro y el negro, indican un estado avanzado de degradación, sobre todo si el color se contrasta de forma visible con el de la carga inicial.

#### 4.1.2. Olor

El olor de los bioles durante el proceso de elaboración experimentó cambios de principio a fin, y todos los tratamientos siguieron similar tendencia, excepto los bioles del grupo control, al inicio del proceso el olor perteneció a la categoría desagradable y al término del proceso se mantuvo en la misma categoría desagradable.

Por lo contrario, los bioles que tenían concentraciones de microorganismos efectivos al 1 y 2.5%, los olores fueron de la categoría normal siendo menos intensos, pero aun perceptibles, finalmente los bioles de tratamiento de concentraciones al 5 y 10%, los olores fueron de la categoría agradable semejante a chicha o caña de azúcar.

En el caso del primer tratamiento del grupo control, la degradación fue muy deficiente; lo que generó putrefacción y un olor desagradable. Ya en los siguientes tratamientos la acción de los Microorganismos Efectivos aceleró la degradación del amoníaco, reduciendo de manera significativa los malos olores. Y, como ya se mencionó; en el último tratamiento (10% EM) el olor fue agradable, demostrando así la efectividad de la mencionada solución microbiana para el control de los malos olores y la aceleración de la descomposición de la materia orgánica.

La presencia de los olores desagradables, según Varnero (2011) se debe a que el guano animal y diversos residuos orgánicos contienen compuestos orgánicos volátiles (e.g. ácido iso-butónico, ácido butónico, ácido iso-valérico y ácido valérico y al menos otros 80 compuestos) los cuales pueden generar estos olores desagradables. Sin embargo, estos olores pueden modificarse, tal como lo indica Varnero (2011), quienes demostraron que la digestión reduce significativamente la concentración de la mayoría de estos compuestos, lo que minimiza la emanación de olores molestos durante el almacenamiento y aplicación del bioabono.

Nuevamente, este parámetro subjetivo demuestra a simple vista la diferencia del nivel de descomposición de los tratamientos. El principal causante de los malos olores provenientes de la materia fecal es el amoníaco, además de otros compuestos nitrogenados derivados de la descomposición microbiana. Debido a que es una sustancia oxidativa, apoya la putrefacción, los malos olores y el desarrollo de microorganismos indeseables y patógenos (Ramírez, 2006). El amoníaco, además; es tóxico para las bacterias metanogénicas y en concentraciones altas puede inhibir el proceso de biodigestión (López, 2009).

Los Microorganismos Eficaces aceleran la descomposición del amoníaco y disminuyen su volatilización, disminuyendo o hasta suprimiendo los malos olores. Este resultado apoya lo señalado por Higa (1998), quién señaló que gracias a su efecto catalizador, los microorganismos efectivos garantizan que se lleve a cabo una fermentación en lugar de una putrefacción durante la descomposición de la materia orgánica.

#### **4.1.3. Conductividad eléctrica**

Según la prueba de estadística Duncan, indica en la comparación de medias que el tratamiento E (10%) ocupa el primer lugar con el valor 12.0 mS/cm, superando estadísticamente a los tratamientos D, C, B y A respectivamente. Esto significa que, a mayor CE, mayor es la concentración de sales.

En segundo lugar, lo ocupa el tratamiento D (5%) que supera estadísticamente a los tratamientos C, B y A. El tercer lugar lo ocupa el tratamiento C (2.5%) que es mayor que los tratamientos B (1%) y A (grupo control), siendo estas las más bajas de los tratamientos estadísticamente y a la vez similares según la prueba de significancia Duncan.

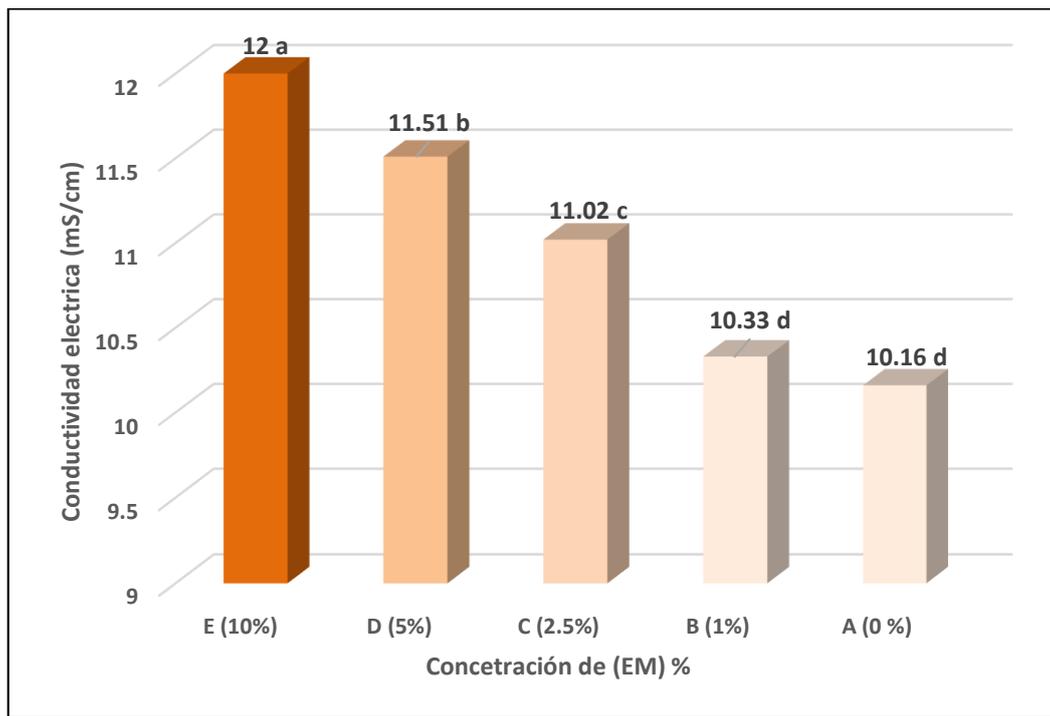


Figura 1. Conductividad eléctrica vs dosis de tratamientos de EM.

Puede apreciarse en la figura 1 un inicial aumento en la conductividad eléctrica en los cuatro primeros tratamientos (B, C, D y E). podría explicarse al considerar que a partir de ese momento la temperatura de los bioles superó los 25°C, rango en el que trabajan los microorganismos mesófilos. Según Varnero (2011), señala que la solubilidad de la mayoría de las sales aumenta con la temperatura de manera que la materia orgánica es más accesible para los microorganismos aumentando así la velocidad del proceso.

El valor promedio 12 mS/cm del tratamiento E (10%) de EM, la conductividad eléctrica se fue modificando durante el proceso de elaboración, en la medida en que la materia orgánica se fue descomponiendo y solubilizando y, que las sales contenidas en algunos insumos utilizados como ceniza también se solubilizaran. Según Días (2017) considera que los valores de la CE difieren entre los tratamientos en función de los insumos empleados y de la cantidad de agua utilizada en cada formulación.

Para el uso del biol en campo, el valor de la CE es de suma importancia, ya que condiciona la dilución (dosis) en la que podrá ser aplicado a los cultivos.

#### 4.1.4. Potencial de hidrogeno

La muestra la prueba de rango múltiple Duncan ( $\alpha=0.05$ ), mediante la cual se observa que el tratamiento E con promedio de 7.8933 supera estadísticamente a los tratamientos D, C, B y A. El segundo lugar lo ocupa el tratamiento D con un promedio de 7.7133 supera a los tratamientos C, B y A respectivamente. Los dos últimos lugares lo ocupan los tratamientos B y A con promedios de 6.6700 y 6.5367 siendo estas las más bajas de los tratamientos estadísticamente y a la vez similares según la prueba de significancia Duncan como se muestra en la figura 2.

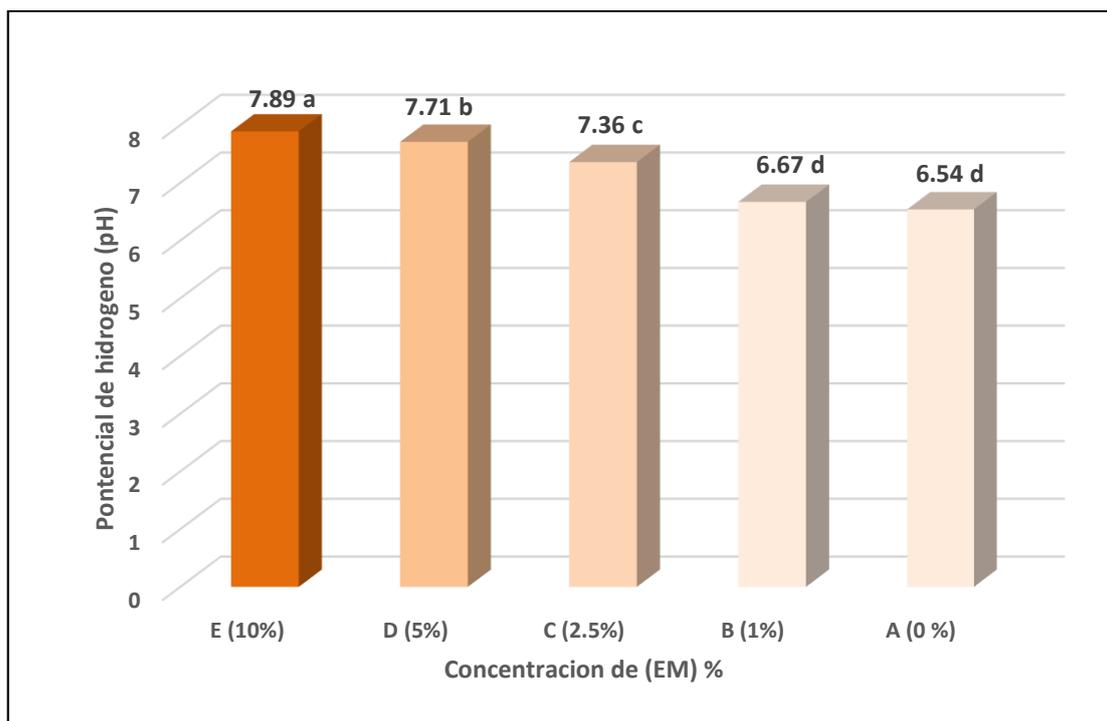


Figura 2. Potencial de hidrogeno vs dosis de tratamientos de EM.

Como puede apreciarse en la figura 2 un inicial aumento en el pH en los tres primeros tratamientos (C, D y E). los valores de pH fueron muy similares para los tratamientos, mostrando una acidificación del proceso que ocurrió entre los tratamientos (A y B),

registrándose valores de 6.53 y 6.67, siendo diferente para los tratamientos C y D, E, con valores de pH 7.35, 7.71 y 7.89 consecutivamente, siendo más alcalinos.

En el caso del primer tratamiento, sin Microorganismos Efectivos; el proceso de fermentación no se vio acelerado por ningún inóculo microbiano. Como ocurre en todo biodigestor, Según Rojas (2014), la materia orgánica fue hidrolizada para ser convertida en ácidos orgánicos, cuya acumulación provoca una caída en el pH, la cual, si es excesiva; puede afectar negativamente o incluso suprimir el proceso de biodigestión. Sin embargo, al final del proceso de fermentación los ácidos orgánicos son convertidos en metano por las bacterias metanogénicas. Esto estabiliza el pH de la solución del reactor y evita una excesiva acidificación. Aunque normalmente el biol tiene un pH ácido, en este caso fue neutro; posiblemente debido a la ceniza que se añadió al momento de la carga para evitar la excesiva acidificación.

Esta variación observada concuerda con lo señalado por Gerardi (2003), quien indica que el pH de una digestión anaeróbica inicialmente decrece debido a la producción de ácidos volátiles. Sin embargo, a medida que las bacterias metanogénicas consumen estos ácidos volátiles, el pH se incrementa y estabiliza. Bonten et al. (2014) indica que el pH del efluente es de 0.5 a 2 unidades más alto que el pH del estiércol (usado como insumo).

Aunque entre los Microorganismos Efectivos no existen especies metanogénicas, las que se encuentran presentes en la materia orgánica con la cual se cargó el biodigestor al parecer fueron suficientes para transformar el exceso de ácidos orgánicos en metano, equilibrando el pH de la mezcla y permitiendo así que permaneciera neutro al igual que el del tratamiento control.

#### 4.1.5. Sólidos totales

La prueba de comparación de medias (Duncan ( $\alpha=0.05$ ), indica que los tratamientos A (0%) y B (1%) obtuvieron promedios similares de 17.6667 y 17.6000 mg/L, representando los valores más altos que el de los demás tratamientos (C, D, E). Similarmente, los tratamientos C (2.5%) y D (5%) son estadísticamente idénticos con promedios de 16.200 y 15.9667 mg/L respectivamente. El tratamiento E (10%) que obtuvo 14.3333 mg/l, fue el que obtuvo el valor más bajo de los demás tratamientos, como se muestra en la figura 3.

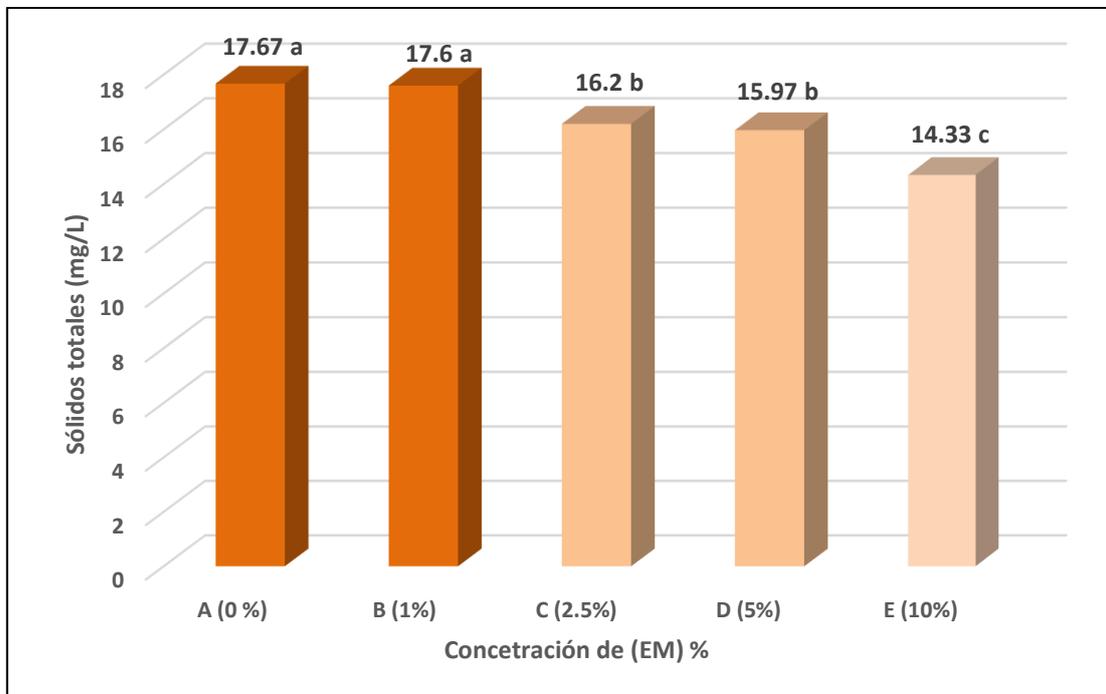


Figura 3. Sólidos totales vs dosis de tratamientos de EM.

Las primeras dosis de Microorganismos Efectivos no tuvieron un efecto significativo en la concentración de sólidos totales. Aun así, como demuestran el resto de los análisis, la degradación de la materia orgánica fue mayor en los tratamientos con Microorganismos Efectivos.

Por otro lado, la concentración de sólidos totales para el quinto tratamiento (10% EM) fue

menor a los restantes. La diferencia fue muy significativa, ya que el valor promedio fue de 14.33 mg/L, al valor de tratamiento A (grupo control) 17.67 mg/L. La alta concentración de la solución de Microorganismos Efectivos en la mezcla del biodigestor permitió una muy superior eliminación de los sólidos presentes.

También como explicaron Higa y Chinen (1998), la catálisis de los Microorganismos Efectivos genera un medio antioxidante que favorece la separación líquido-sólidos. De esta forma, los sólidos suspendidos sedimentables se precipitan más fácilmente, reduciendo la cantidad de sólidos en la fase líquida del reactor

Según Rueda (2013), es muy importante medir este parámetro tanto en la alimentación como en la mezcla reactiva, debido a que la movilidad de las bacterias metanogénicas se ve limitada por la cantidad de sólidos presentes en el sustrato; es decir, la eficiencia de producción de biol se ve influenciada por la concentración de sólidos presentes.

#### **4.1.6. Nitratos**

La prueba de comparación de medias Duncan, muestra que el tratamiento E (10%) con el valor de 2.20 mg/L, supera estadísticamente a los tratamientos D (5%), C (2.5%), A (0%) y B (2.5%) respectivamente. Los tratamientos D y C no difieren estadísticamente entre ellos y que los tratamientos C y A no muestran diferencias estadísticas, pero superan al tratamiento B como se muestra en la figura 4.

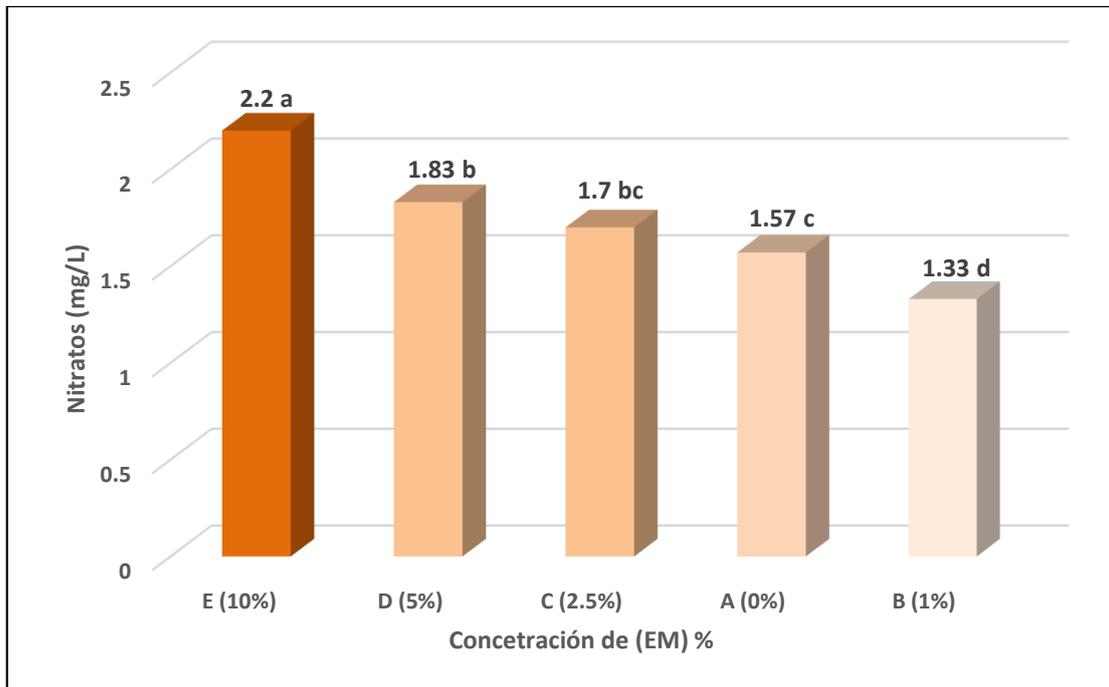


Figura 4. Nitratos vs dosis de tratamientos de EM.

La figura 4 muestra que el tratamiento E (10%) supera estadísticamente a los cuatro tratamientos restantes con un valor de 2.20 mg/L. En el tratamiento B se obtuvo el más bajo valor de nitratos. No hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos D y C cuyos valores fueron 1.83 y 1.70 mg/L respectivamente

Entre los cuatro tratamientos (A, C, D y E), se puede apreciar un aumento de la concentración de nitratos al aumentar la dosis de Microorganismos Efectivos, excepto el tratamiento B, teniendo un valor promedio más bajo que los demás tratamientos. Tal como explicaron Higa y Chinen (1998) al hablar acerca del tratamiento de aguas residuales utilizando EM, los microorganismos de dicha solución favorecen la nitrificación y posterior desnitrificación de la materia orgánica liberando nitrógeno atmosférico (N<sub>2</sub>). Aunque la desnitrificación no es realizada directamente por los Microorganismos Efectivos, si es favorecida por el medio antioxidante creado por esto últimos.

Por otro lado, se aprecia un incremento en la concentración de nitratos en el tratamiento E (10%), al parecer, la nitrificación en los reactores con una mayor dosis de EM fue mayor que la desnitrificación, aunque no a tal punto que provocara la acumulación desfavorable de nitratos en el reactor.

Todos los tratamientos cumplieron con el estándar de calidad ambiental de nitratos establecido por el MINAM para aguas de riego (10 mg/l).

Según Aparcana (2008), menciona que la concentración de nitratos, que es la porción del nitrógeno disponible para las plantas, es de suma importancia para el crecimiento y desarrollo de las mismas.

#### **4.1.7. DBO<sub>5</sub>**

La prueba de comparación de medias Duncan, muestra que el tratamiento E (10%) obtuvo el promedio de 6.4533 mg/L, superando estadísticamente a los cuatro tratamientos restantes (A, B, C). El segundo lugar lo ocupó el tratamiento D (5%) el que supera estadísticamente a los tratamientos C, B y A respectivamente. No hay diferencias estadísticas entre los tratamientos C (2.5%), B (1%) y A (0%), ya que son similares como lo muestra en la figura 5.

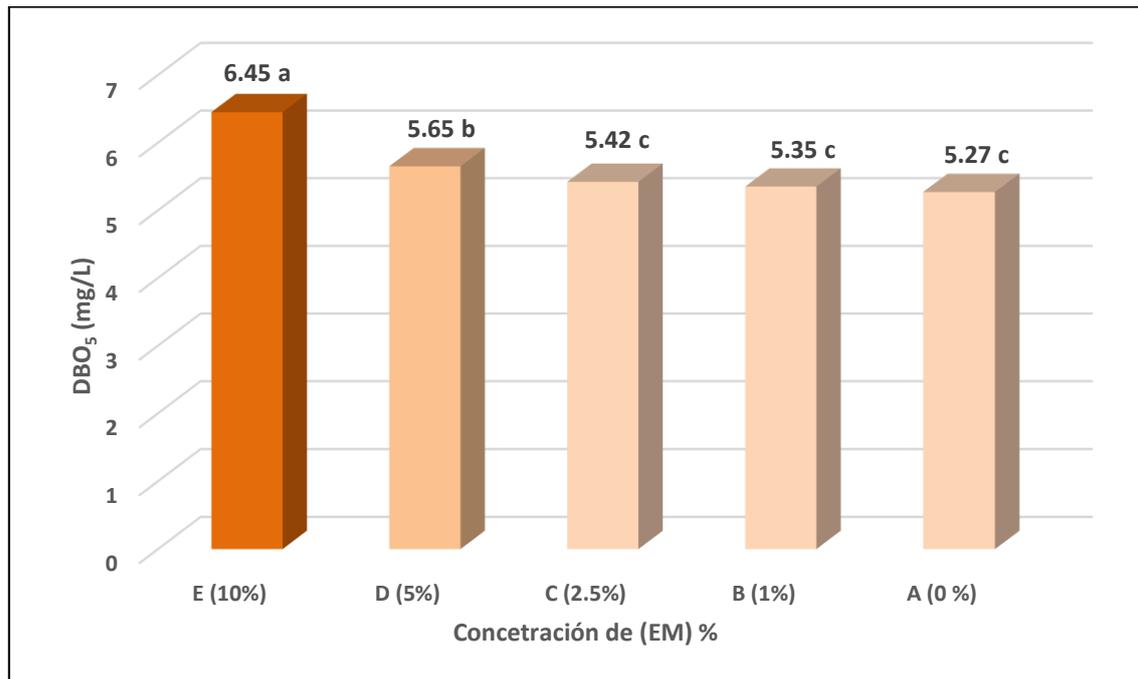


Figura 5. DBO<sub>5</sub> vs dosis de tratamiento de EM

Como puede apreciarse claramente, hay un aumento de la DBO<sub>5</sub>, en el tratamiento E (10%), al aumentar la dosis de Microorganismos Efectivos, a diferencia de los cuatro tratamientos que según los valores promedios son similares estadísticamente según Duncan como se muestra en la figura 5, este resultado es opuesto a lo esperado, y aparentemente contradictorio con los resultados del resto de los análisis, pues dado que el DBO<sub>5</sub> se utiliza comúnmente como un indicador de la cantidad de materia orgánica presente, se esperaba que se redujera dado que la biodigestión fue superior en los biodigestores inoculados con EM, como demostraron los resultados anteriores.

Dado que en el Perú no existe una solución EM específicamente formulada para ser utilizada en procesos anaeróbicos, se utilizó el EM-COMPOST que, aunque está formulado para ser utilizado en la agricultura, contiene microorganismos anaeróbicos y facultativos que favorecen el proceso de biodigestión anaeróbica, pero además, contienen Hongos Filamentosos y Actinomicetos, microorganismos predominantemente aerobios facultativos.

Estos, junto con las levaduras (microorganismos anaerobios facultativos) consumen rápidamente el oxígeno presente, creando condiciones anaeróbicas.

Al realizar la prueba de DBO<sub>5</sub>, los microorganismos antes mencionados debieron consumir rápidamente el oxígeno para consumir la materia orgánica nitrogenada mediante procesos de nitrificación. Al ser mayor la dosis de EM, fue mayor el consumo de oxígeno y por lo tanto el valor de DBO<sub>5</sub> aumento.

Otra característica de los Microorganismos Efectivos que influyó en el resultado es que son auto sostenibles, pues los productos del metabolismo de unos microorganismos son los insumos del metabolismo de otros, por lo que pueden permanecer y reproducirse en un sistema por un largo período de tiempo, incluso de forma indefinida en caso de contar con suficientes nutrientes (Higa, 1993). A esto se le suma el hecho que se utilizó un sistema batch, por lo que no se retiraron microorganismos del sistema en lo que duró la biodigestión; pudiéndose aumentar en número y acumularse. Esta acumulación de microorganismos favoreció el rápido consumo de oxígeno al momento de ejecutar la prueba.

#### **4.1.8. Coliformes fecales**

La prueba de comparación de medias Duncan, indica que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos A (0%) y B (1%) con valores de 1667 a 14000 NMP/100 mL. De igual manera no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos C (2.5%) y d (5%) con valores de 11333 y 9166 NMP/100 mL respectivamente. El tratamiento E (10%) mostró el más bajo valor con 5166 NMP/100 mL como se muestra en la figura 6.

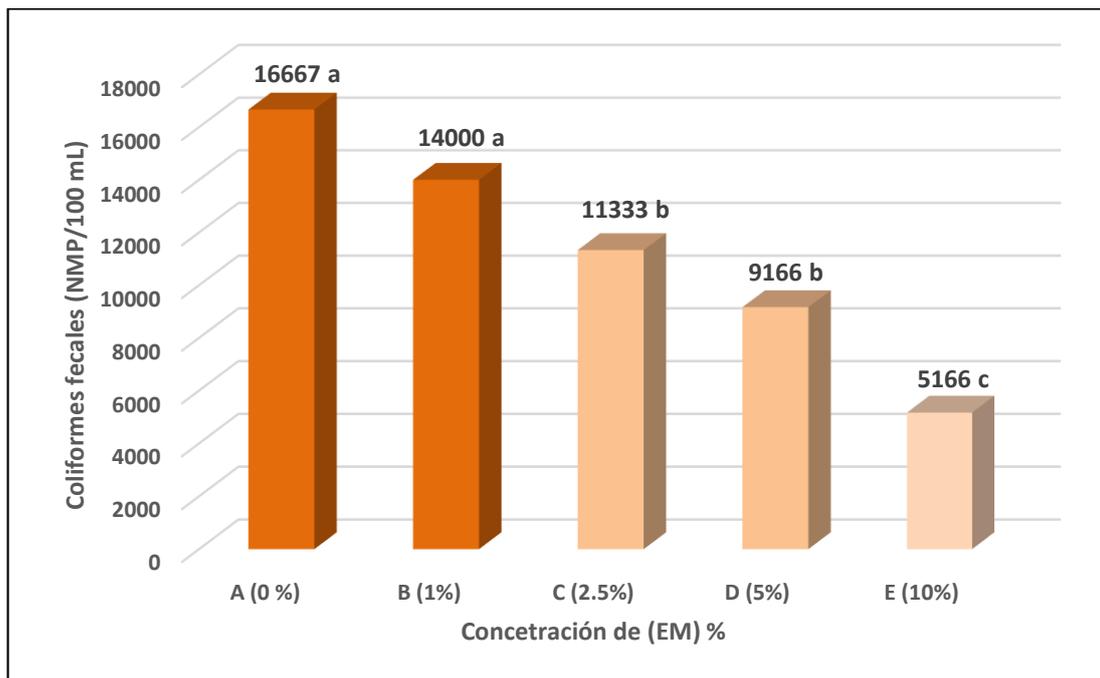


Figura 6. Coliformes fecales vs dosis de tratamientos de EM

En la figura 6 se aprecia la variación en el contenido de coliformes fecales que varía según el tratamiento utilizado, de 5166 a 16667 NMP/100mL, los resultados muestran un claro y constante descenso de la concentración de coliformes fecales al aumentar la dosis de Microorganismos Efectivos. En primer lugar, como ya demostraron los resultados de los análisis anteriores; los Microorganismos Efectivos aceleraron la degradación de la materia orgánica fecal, lo cual a su vez genera la reducción de los coliformes presentes en dicha materia

Además, como ocurre en todo biodigestor; durante la fase acidogénica de la fermentación anaeróbica la acumulación de ácidos orgánicos provoca una caída abrupta del pH, la cual no es tolerada por muchos de los microorganismos patógenos presentes en la materia fecal. Por ejemplo, la *Escherichia Coli*, el principal representante del grupo de los coliformes; requiere de un pH entre 6 y 7 para desarrollarse de manera óptima (Atlas, Bartha; 2002).

Sin embargo, como ya se mencionó; debido a la acción de los EM la degradación de la materia orgánica y, por lo tanto; la generación de ácidos orgánicos, fue superior. Esto habría dado lugar a una caída más pronunciada de pH, la cual llevó a una mayor reducción de coliformes fecales. Esto último fue particularmente importante en el tratamiento E (10% EM), cuyo valor de pH mostró que la generación de ácidos orgánicos fue significativamente superior, a pesar de haberse aplicado cal al momento de la carga.

También, y posiblemente más importante; se encuentra el efecto de las bacterias ácido lácticas, una especie muy importante presente en el EM. Dichas bacterias sintetizan ácido láctico a partir de azúcares y otros productos del metabolismo de las demás especies microbiológicas presentes en el EM. El ácido láctico tiene la propiedad de suprimir los microorganismos patógenos, incluyendo al *Escherichia Coli* (Miyashiro, Meggs; 2007).

No se alcanzó el estándar de calidad ambiental establecido por el MINAM para aguas de riego (1000 NMP/ml o 3 unidades logarítmicas). Sin embargo, se debe tomar en cuenta que se utilizó un tiempo de retención menor al recomendado. Además, se utilizó un sistema batch, el cual es menos efectivo que el sistema semi-continuo.

De haber utilizado un mayor tiempo de retención y/o un sistema más efectivo muy posiblemente se hubiera alcanzado el estándar establecido. A esto se le suma el hecho de que se aplicó ceniza a la mezcla líquida de los reactores para evitar la excesiva acidificación. Dado que la acidificación no fue más intensa, el efecto antimicrobiano de la acidez fue menor. Aun así, el biol del tratamiento E (10%) podría utilizarse en la agricultura siendo diluido en agua.

#### 4.2. Conclusiones

La aplicación de los Microorganismos Efectivos en los biodigestores tuvo como resultado cambios en la calidad fisicoquímica, microbiológica y organoléptica del biol, logrando un efecto notable en el olor, color, en el aumento del pH, de la conductividad eléctrica, nitratos y DBO<sub>5</sub>, una reducción de sólidos totales y coliformes fecales, esto a medida de la dosis de concentración de microorganismos efectivos agregados en los biodigestores.

Los análisis estadísticos confirmaron que casi la totalidad de la variación de los resultados entre los distintos tratamientos provino de la aplicación de los Microorganismos Efectivos (EM), entre los más notables se observa la variación entre el pH 6.53 del grupo control y el pH 7.89 al (10%) de EM, sólidos totales 17.66 mg/L del grupo control y 14.33 mg/L al (10%) de EM, de igual manera coliformes fecales 16667 NMP/100mL, del grupo control y 5166 NMP/100mL al (10%) de EM.

Se determinó que la dosis óptima de microorganismos efectivos fue del 10% de EM, el cual tuvo un mejor desempeño y efecto en la calidad del biol, de igual manera se determinó que los 2 tratamientos con dosis al 2.5% y 5% de EM, lograron mejorar en mínimo la calidad del biol.

## CAPITULO V. REFERENCIAS

- Alburqueque, M. (2019). Efecto de microorganismos eficaces (EM), sobre el rendimiento en el cultivo de “ají habanero” (*Capsicum chinense jacq.*) en el sector cieneguillo Sur-Sullana. (*tesis de grado*). Universidad Nacional de Piura, Piura - Peru.
- Aparcana, S. (2008). Estudio sobre el valor fertilizante de los productos del proceso “Fermentación anaeróbica” para la producción de biogás. Peru: La Molina.
- Apanan. (2003). *Red de Agricultura natural* . Argentina : Región Asia/Pacifico.
- Carbonelli, Z. (2020). Microorganismos eficientes en la fenología y rendimiento del maíz morado (*zea mays l*) en Huaral – Lima. (*tesis de grado*). Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurimac, Abancay - Peru.
- Carrillo, L. (2003). Microbiología Agrícola. *Universidad Nacional de Salta. AR.*, 19. Obtenido de <http://www.unsa.edu.ar/matbib>
- Carrillo, L. (2004). Energía de Biomasa. *S.S. Jujuy*, 82. Obtenido de [http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files/energia%20biomasa\\_0.pdf](http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files/energia%20biomasa_0.pdf).
- Díaz, A. (2017). Características fisicoquímicas y microbiológicas del proceso de elaboración de biol y su efecto en germinación de semillas. (*tesis de maestría*)Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Fioravanti, M., & Vega, N. (2003). *Eficiencia de los Microorganismos Eficaces en la estabilización de lodos sépticos para su reuso agrícola*. Costa Rica.: Universidad Earth.
- Foncodes. (2014). Producción y uso de abonos orgánicos: Biol, compost y humus. *Manual técnico N° 5*, 43. Obtenido de <http://www.paccperu.org.pe/publicaciones/pdf/126.pdf>
- Fujisawa, A. (1999). *Kyusei nature farming and the technology of effective microorganisms*. Japon: Guidelines for practical use.

Gerardi, M. (2003). *The Microbiology of Anaerobic Digester*. *New Jersey, US WILEY*, 188.

Obtenido de <http://es.bookzz.org/book/544947/69db96>

Guevara, A. (1996). Fundamentos básicos para el diseño de biodigestores anaeróbicos rurales. *Producción de gas y saneamiento de efluentes*, 80. Obtenido de <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/scan2/031042/031042.pdf>.

Haro, M. (2013). Aplicación de biol enriquecido con microorganismos eficientes para la producción limpia de brócoli (*brassica oleracea* var. *italica*) híbrido legacy. (*tesis maestría*). Universidad Tecnica de Ambato, Ambato- Ecuador.

Higa, T., & Chinen, N. (1998). *EM treatments of odor, waste water and environmental*. Okinawa, Japón: University of Ryukyus.

INIA. (2008). Tecnologías innovativas apropiadas a la conservación insitu de la agrobiodiversidad. *Producción y uso de biol*, 11.

Lorenzo, Y., & Obaya, M. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 39. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120659006>

Marti, H. J. (2008). Biodigestores familiares: Guía de diseño y manual de instalación Biodigestores de polietileno tubular de bajo costo para trópico, valle y altiplano. *La Paz, BO. GTZ - Proagro*, 85. Obtenido de <http://www.bivica.org/upload/biodigestores-familiares.pdf>

Marti, O. N. (2006). Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process. *Dissertation.com. Boca Raton, Florida, USA*, 45. Obtenido de <http://www.bookpump.com/dps/pdf-b/1123329b.pdf>

- Melendrez, N., & Sanchez, J. (2019). Compostaje de residuos sólidos orgánicos utilizando microorganismos eficientes en el distrito de Cacatachi. (*tesis de grado*). Universidad Peruana Union, Tarapoto - Peru.
- Miyashiro, G., & Meggs, J. (2007). *Medición del efecto de la aplicación de Microorganismos Eficaces (EM) en la generación de gas metano (CH<sub>4</sub>) en los sistemas biodigestores a escala*. Costa Rica: Universidad Earth.
- Rojas, H. (2014). Estudio del efecto de la aplicación de microorganismos efectivos en la calidad del biol en un proceso de biodigestión anaeróbica. (*tesis de grado*). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Peru.
- Rueda, P. (2013). Estudio de prefactibilidad para el manejo de los desechos orgánicos del Galápagos Science Center. (*Tesis para grado*). Universidad San Francisco de Quito, Quito-Ecuador.
- Tuse, L. (2018). Dosis óptima de microorganismos eficaces EMTm para la reducción en la concentración de coliformes en el biol de estiércol de porcino para uso agrícola. (*tesis de grado*). Universidad Nacional del Callao, Callao - Peru.
- Varnero, M. (2011). Manual de biogás (en línea). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Ministerio de Energía (MINENERGIA), Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD). *Global Environment Facility (GEF)*. Santiago de Chile, 120.

## ANEXOS

### ANEXO 1. Operacionalización de variable dependiente

TIPO DE VARIABLE	VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	INSTRUMENTOS
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>	Calidad del Biol	El biol es la parte líquida del efluente resultante del proceso de biodigestión anaeróbica. Aproximadamente el 90% del material que ingresa al biodigestor se transforma en biol. En promedio, el 90% del efluente es biol, y el resto biosol (Aparcana, 2008).	Su composición depende de la materia orgánica usada, de las características del proceso y de los factores físicos y químicos.	Factores físicos del Biol	Color	Laboratorio
				Factores químicos del Biol	Olor	Laboratorio
					Conductividad eléctrica	Laboratorio
					Ph	Laboratorio
				Factores biológicos del Biol	Sólidos totales	Laboratorio
					Nitratos	Laboratorio
					Coliformes fecales	Laboratorio
				Tiempo de creación del Biol	DBO <sub>5</sub>	Laboratorio
					Tiempo	Nº de días

Efecto de los Microorganismos Efectivos  
en la Calidad del Biol

Cantidad de insumos

para el Biol

Peso

Kg

**ANEXO 2.** Operacionalización de variable independiente

TIPO DE VARIABLE	VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	INSTRUMENTOS
<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b>	Microorganismos efectivos conformando por diferentes tipos de organismos, las cuales desarrollan una sinergia metabólica que permite su aplicación en diferentes campos de la ingeniería	Los microorganismos efectivos se encuentran conformando por diferentes tipos de organismos, las cuales desarrollan una sinergia metabólica que permite su aplicación en diferentes campos de la ingeniería	Los microorganismos eficientes realizan una coexistencia con otros microorganismos, esta amplia diversidad le confiere al	0.2	Concentración de EM (%)	%
		0.5	%			
		1	%			
		2	%			
		3 repeticiones	3 repeticiones			
		de cada	de cada			
		concentración	concentración			
de EM y	de EM y					
grupo control,	grupo control,					

Efecto de los Microorganismos Efectivos  
en la Calidad del Biol

producto obteniendo 15  
propiedades tratamientos  
beneficiosas.

**ANEXO 3.** Matriz de consistencia

<b>Título</b>	<b>Formulación del problema</b>	<b>Objetivos</b>	<b>Hipótesis</b>	<b>Variables y = f(x)</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Diseño de investigación</b>
Efecto de los microorganismos efectivos en la calidad del Biol	Problema general: ¿Cuál es Efecto de los microorganismos efectivos en la calidad del Biol	Objetivo general: Determinar el Efecto de los microorganismos efectivos en la calidad del Biol	La aplicación de microorganismos efectivos ha causado cambios en la calidad del Biol	Variable dependiente (y): Biol	Color Olor Conductividad eléctrica Ph Sólidos totales Nitratos Coliformes fecales DBO <sub>5</sub>	Diseño de trabajo experimental: Se realizo el experimento con 15 biodigestores con sistema batch (una sola alimentación) a escala de 20 litros alimentados con estiércol de cuy, melaza, hojas verdes, leche, ceniza,

Efecto de los Microorganismos Efectivos  
en la Calidad del Biol

agua y Microorganismos						
				Tiempo	Efectivos (excepto el grupo control).	
				Peso		
<b>Título</b>	<b>Formulación del problema</b>	<b>Objetivos</b>	<b>Hipótesis</b>	<b>Variables y = f(x)</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Diseño de investigación</b>
Efecto de los microorganismos efectivos en la calidad del Biol	Problemas específicos: ¿Cuál es la variación de las características físicas (color, olor, conductividad eléctrica), características químicas (pH, sólidos totales, nitratos), características	Objetivos específicos: Conocer la variación de las características físicas (color, olor, conductividad eléctrica), características químicas (pH, sólidos totales, nitratos), características	Hipótesis específicas: Obtener variaciones en las características físicas (color, olor, conductividad eléctrica), características químicas (pH, sólidos totales, nitratos), características	Variable independiente (x): Concentración de microorganismos efectivos	Color Olor Conductividad eléctrica Ph Sólidos totales Nitratos Coliformes fecales	

Efecto de los Microorganismos Efectivos  
en la Calidad del Biol

biológicas (coliformes fecales, DBO <sub>5</sub> ) de los 5 tratamientos de Biol?	biológicas (coliformes fecales, DBO <sub>5</sub> ) de los 5 tratamientos de Biol.	biológicas (coliformes fecales, DBO <sub>5</sub> ) de los 5 tratamientos de Biol.	DBO <sub>5</sub>
¿Cuál de las 4 concentraciones de microorganismos efectivos agregados en el Biol es la mejor en función a la calidad conforme a los rangos apropiados?	Determinar de las 4 concentraciones de microorganismos efectivos agregados en el Biol es la mejor en función a la calidad conforme a los rangos apropiados.	De las 4 concentraciones de microorganismos efectivos agregados en el Biol se obtuvo uno que mejoro la calidad a diferencia de las otras concentraciones	1%
¿Afecta la aplicación de los microorganismos efectivos en la calidad fisicoquímica,	Determinar si la aplicación de los microorganismos efectivos en los biodigestores anaeróbicos	La aplicación de los microorganismos efectivos en los biodigestores anaeróbicos tuvo efecto	2.5%
			5%
			10%
			Factores físicos
			Factores químicos

Efecto de los Microorganismos Efectivos  
en la Calidad del Biol

microbiológica y	tiene efecto en la calidad	en la calidad	
organoléptica del	fisicoquímica,	fisicoquímica,	Factores
Biol?	microbiológica y	microbiológica y	biológicos
	organoléptica del Biol.	organoléptica del Biol.	

**ANEXO 4.** Matriz de técnicas e instrumentos de la investigación

<b>Objetivo específico</b>	<b>Indicador</b>	<b>Técnica</b>	<b>Instrumento</b>	<b>Fuente bibliográfica de la técnica</b>
Evaluar la variación de las características físicas (color, olor, conductividad eléctrica), características químicas (pH, sólidos totales, nitratos), características biológicas (coliformes fecales, DBO <sub>5</sub> ) de los 5 tratamientos de Biol.	Color	Análisis de laboratorio	Reporte de laboratorio	Laboratorio UPN- Sede Cajamarca
	Olor	Análisis de laboratorio	Reporte de laboratorio	Laboratorio UPN- Sede Cajamarca
	Conductividad eléctrica	Análisis de laboratorio	Reporte de laboratorio	Laboratorio UPN- Sede Cajamarca
	Ph	Análisis de laboratorio	Reporte de laboratorio	Laboratorio UPN- Sede Cajamarca
	Sólidos totales	Análisis de laboratorio	Reporte de laboratorio	Laboratorio UPN- Sede Cajamarca
	Nitratos	Análisis de laboratorio	Reporte de laboratorio	Laboratorio UPN- Sede Cajamarca

	Coliformes fecales	Análisis de laboratorio	Reporte de laboratorio	Laboratorio UPN- Sede Cajamarca
	DBO <sub>5</sub>	Análisis de laboratorio	Reporte de laboratorio	Laboratorio UPN- Sede Cajamarca
Determinar de las 4 concentraciones de microorganismos efectivos agregados en el Biol cuál es la mejor en función a la calidad conforme a los rangos apropiados.	0.2	Concentración de EM	Cantidad (lt)	Creación propia
	0.5	Concentración de EM	Cantidad (lt)	Creación propia
	1	Concentración de EM	Cantidad (lt)	Creación propia
	2	Concentración de EM	Cantidad (lt)	Creación propia
Determinar si la aplicación de los microorganismos efectivos en los biodigestores anaeróbicos tiene efecto en la calidad	Factores físicos	Análisis estadístico	Reporte estadístico	Programa
	Factores químicos	Análisis de laboratorio	Reporte estadístico	Programa

fisicoquímica,

microbiológica y Factores Análisis de Reporte Programa

organoléptica del biológicos laboratorio estadístico

Biol.

---

**ANEXO 5.** Resultados de los análisis de Biol.

**UNIVERSIDAD PRIVADA DEL NORTE**  
**FACULTAD DE INGENIERIA**  
**LABORATORIO DE INGENIERIA AMBIENTAL**  
**INFORME DE ANALISIS DE AGUA**

**SOLICITANTE** : Teddy Yojan Zambrano Ruiz  
**PROCEDENCIA** : La Huaraclla – Cajamarca - Cajamarca  
**MUESTRA** : Biol

**PARAMETRO: Conductividad eléctrica**

Tratamientos	Resultados				
	Conductividad eléctrica (mS/cm)				
	A (0%)	B (1%)	C (2.5%)	D (5%)	E (10%)
Repetición 1	10.55	10.44	11.04	11.45	11.95
Repetición 2	9.88	10.32	10.88	11.56	12.1
Repetición 3	10.05	10.17	11.13	11.53	12.13

Ensayo	Unidad	Metodología de ensayo
Conductividad eléctrica	mS/cm	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 2510-B, 23rd Ed: 2017. Conductivity: Laboratory Method

**PARAMETRO: Potencial de hidrogeno**

Tratamientos	Resultados				
	Potencial de hidrogeno (pH)				
	A (0%)	B (1%)	C (2.5%)	D (5%)	E (10%)
Repetición 1	6.51	6.66	7.33	7.65	7.85
Repetición 2	6.45	6.76	7.41	7.76	7.87
Repetición 3	6.66	6.65	7.36	7.73	7.96

Ensayo	Unidad	Metodología de ensayo
Potencial de Hidrogeno	pH	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-H+ B, 2017; 23rd Ed. pH Value. Electrometric Method.

  
Maryuri Yohana Vega Enas  
Docente TC Ingeniería Ambiental  
Universidad Privada del Norte

**PARAMETRO: Solidos totales**

Tratamientos	Resultados				
	Solidos totales (mg/L)				
	A (0%)	B (1%)	C (2.5%)	D (5%)	E (10%)
Repetición 1	17.2	17.3	16.2	16	14.5
Repetición 2	18.3	17.6	16.1	15.8	14.3
Repetición 3	17.5	17.9	16.3	16.1	14.2

Ensayo	Unidad	Metodología de ensayo
Solidos totales	mg/L	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 2540-D; 23rd Ed: 2017. Solids: Total Suspended Solids dried at 103-105 °C/

**PARAMETRO: Nitratos**

Tratamientos	resultados				
	Nitratos (mg/L)				
	A (0%)	B (1%)	C (2.5%)	D (5%)	E (10%)
Repetición 1	1.5	1.2	1.7	1.9	2.3
Repetición 2	1.7	1.3	1.8	1.8	2.1
Repetición 3	1.5	1.5	1.6	1.8	2.2

Ensayo	Unidad	Metodología de ensayo
Nitratos	mg/L	EPA 300.0. Rev. 2.1. 1993. Determination Of Inorganic Anions By Ion Chromatography.



Maryuri Yohana Vega Irias  
Docente TC Ingeniería Ambiental  
Universidad Privada del Norte

**PARAMETRO: Demanda bioquímica de oxígeno**

Tratamientos	Resultados				
	DBO5 (mg/L)				
	A (0%)	B (1%)	C (2.5%)	D (5%)	E (10%)
Repetición 1	5.29	5.34	5.31	5.61	6.44
Repetición 2	5.25	5.37	5.63	5.67	6.45
Repetición 3	5.23	5.33	5.32	5.67	6.47

Ensayo	Unidad	Metodología de ensayo
DBO5	mg/L	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5210 B; 23rd Ed: 2017. Biochemical Oxygen Demand (BOD): 5-Day BOD test

**PARAMETRO: Coliformes fecales**

Tratamientos	Resultados				
	Coliformes fecales (NMP/100 mL)				
	A (0%)	B (1%)	C (2.5%)	D (5%)	E (10%)
Repetición 1	15000	16000	12000	8500	5000
Repetición 2	15000	15000	11000	10000	6000
Repetición 3	20000	18000	11000	9000	4500

Ensayo	Unidad	Metodología de ensayo
Coliformes fecales	NMP/100 mL	SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 9221E.1, 23rd Ed; 2017; Multiple-tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. Fecal Coliform Procedure. Thermotolerant Coliform Test (EC Medium).

  
Maryuki Yohana Vega Eras...  
Docente TC Ingeniería Ambiental  
Universidad Privada del Norte

**ANEXO 6.** Tablas de interpretación estadística

Análisis de varianza para Conductividad Eléctrica en un DCA

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Ft		Valor-p
					0.05	0.01	
Tratamiento	4	7.6355	1.9088	54.38 **	3.48	5.99	<.0001
Error	10	0.3510	0.0351				
Total	14	7.9865					

$$R^2 = 0.95$$

$$CV = 1.70\%$$

$$\bar{y} = 11.01$$

Prueba de significación de Duncan ( $\alpha=0.05$ ) para la variable conductividad eléctrica en cinco tratamientos

Tratamientos	Promedio (mScm <sup>-1</sup> )
E (10%)	12.0000 a
D (5%)	11.5133 b
C (2.5%)	11.0157 c
B (1%)	10.3267 d
A (0%)	10.1600 d

Análisis de varianza para pH en un diseño completamente al azar.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Ft		Valor-p
					0.05	0.01	
Tratamiento	4	4.4516	1.1129	195.71**	3.48	5.99	<.0001
Error	10	0.0568	0.0056				
Total	14	4.5084					

$$R^2 = 0.99$$

$$CV = 1.04\%$$

$$\bar{y} = 7.23$$

Prueba de Duncan ( $\alpha=0.05$ ) para la variable pH en cinco tratamientos

Tratamientos	Promedio
E (10%)	7.8933 a
D (5%)	7.7133 b
C (2.5%)	7.3567 c
B (1%)	6.6700 d
A (0%)	6.5367 d

Análisis de varianza para sólidos totales en un DCA

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Ft		Valor-p
					0.05	0.01	
Tratamiento	4	22.5973	5.6493	60.10 **	3.48	5.99	<.0001
Error	10	0.9400	0.0940				
Total	14	23.537.					

$$R^2 = 0.96$$

$$CV = 1.87\%$$

$$\bar{y} = 16.35$$

Prueba de Duncan ( $\alpha=0.05$ ) para la variable sólidos totales cinco tratamientos

Tratamientos	Promedio (mg L <sup>-1</sup> )
A (0%)	17.6667 a
B (1%)	17.6000 a
C (2.5%)	16.2000 b
D (5%)	15.9667 b
E (10%)	14.3333 c

Análisis de varianza para nitratos ( $\text{mg L}^{-1}$ ) en un DCA

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Ft		Valor-p
					0.05	0.01	
Tratamiento	4	1.2493	0.3123	26.03 **	3.48	5.99	<.0001
Error	10	0.1200	0.0120				
Total	14	1.3693					

$$R^2 = 0.91$$

$$CV = 6.34\%$$

$$\bar{y} = 1.72$$

Prueba de Duncan ( $\alpha=0.05$ ) para la variable nitratos ( $\text{mg L}^{-1}$ )

Tratamientos	Promedio ( $\text{mg L}^{-1}$ )
E (10%)	2.2000 a
D (5%)	1.8333 b
C (2.5%)	1.7000 b c
A (0%)	1.5667 c
B (1%)	1.3333 d

Análisis de varianza para DBO<sub>5</sub> de los Bioles en un DCA

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Ft		Valor-p
					0.05	0.01	
Tratamiento	4	2.8257	0.7064	98.39 **	3.48	5.99	<.0001
Error	10	0.0718	0.0071				
Total	14	2.8975					

$$R^2 = 0.97$$

$$CV = 1.50\%$$

$$\bar{y} = 5.62$$

Prueba de Duncan ( $\alpha=0.05$ ) para la variable  $DBO_5$  en cinco tratamientos

Tratamientos	Promedio (mg L <sup>-1</sup> )
E (10%)	6.4533 a
D (5%)	5.6500 b
C (2.5%)	5.4200 c
B (1%)	5.3467 c
A (0%)	5.2667 c

Análisis de varianza para coliformes fecales en (NMP/100 ml) de un DCA

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Ft 0.05 0.01	Valor-p
Tratamiento	4	5772.23	1443.06	23.85 **	3.48 5.99	<.0001
Error	10	604.97	60.49			
Total	14	6377.20				

$$R^2 = 0.91$$

$$CV = 7.4\%$$

$$\bar{y} = 11266$$

Prueba de Duncan ( $\alpha=0.05$ ) para la variable coliformes fecales en cinco tratamientos

Tratamientos	Promedio (NMP 100 mL <sup>-1</sup> )
A (0%)	16667 a
B (1%)	14000 a
C (2.5%)	11333 b
D (5%)	9166 b
E (10%)	5166 c

**ANEXO 7.** Instalación de los 15 biodigestores



**ANEXO 8.** Toma de datos de los parametros de campo con el equipo multiparametros



**ANEXO 9.** Toma de muestras de bioles de los 15 biodigestores



**ANEXO 10.** Trabajo en laboratorio para analizar los parámetros establecidos en los objetivos



