

ESTÁNDARES DE FERMENTACIÓN Y MADURACIÓN ARTESANAL DE BIOLES

Tulio Orellana¹, Patricia Manzano¹, Eduardo Chávez¹, Omar Ruiz¹, Ronald León¹,
Andrea Orellana Manzano², Esther Peralta¹

¹Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Campus Gustavo Galindo, Km. 30.5 vía Perimetral, Apartado 09-01-5863. Guayaquil, Ecuador. Contacto: oremanz@hotmail.com

²Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Calle Sergio Livingstone Pohlhammer 1007 (ex Olivos), Independencia - Av. Vicuña Mackenna 20. Santiago, Chile.

RESUMEN

Esta investigación, tuvo como objetivo principal establecer indicadores de calidad en el proceso de fermentación anaerobia de bioles de producción local y conocer sus principales componentes químicos. Se realizó la determinación periódica de los parámetros físico-químicos “*in situ*” y en laboratorio, luego se realizó un tamizaje químico, evaluándose además su actividad fertilizante mediante la determinación de macro y micronutrientes. Se observó que los bioles con bioactividad presentan los siguientes intervalos de confianza en sus parámetros físico-químicos: pH entre 3,4 y 4,6; conductividad entre 16,2 y 23,84 mS/cm; densidad entre 1,030 y 1,060 Kg/m³. El tamizaje químico permitió determinar de forma preliminar la presencia de los siguientes grupos químicos: alcaloides, terpenos/esteroides, quinonas, fenoles y taninos, entre otros, algunos de los cuales han sido asociados a su actividad antimicrobiana y promotora del crecimiento vegetal, constituyendo estos resultados los primeros generados en el país sobre el estudio de bioles de producción local, permitiendo el diseño de una metodología útil para la evaluación de otros bioinsumos de uso agrícola. Para el análisis estadístico del proceso de producción, se obtuvo un modelo de regresión polinómica de grado dos, para cada variable; además del coeficiente de determinación del modelo (R^2). También se analizó la tendencia central y dispersión de las variables (parámetro de calidad), a través del promedio y la desviación estándar en el proceso y producto terminado.

Palabras claves: bioles, indicadores de calidad, compuestos químicos.

Introducción

Los bioles o biofertilizantes pueden ejercer disímiles efectos positivos sobre el desarrollo de las plantas, asociados no sólo a los macro y microelementos que contienen, sino también a la presencia de fitorreguladores y otros metabolitos con bioactividad específica (Gomero *et al.*,

1999). Sin embargo, existen muy pocos resultados relacionados con la estandarización de su proceso de producción y la definición de indicadores que permitan monitorear la calidad de los productos terminados, a pesar de la importancia de estos elementos para lograr resultados reproducibles y un efecto estable en los diferentes cultivos

en los que se aplican (Arning y Velásquez, 2002).

Con los antecedentes descritos y ante la necesidad de normalizar la producción de bioles con las propiedades bioactivas deseadas, esta investigación se planteó como objetivo general la estandarización de los parámetros físico químicos, en bioles de preparación artesanal, siguiendo el diseño propuesto en el proyecto PI 480 (2008-2010) (Peralta, 2010).

Materiales y métodos

Se utilizaron bioles con formulación estandarizada a base de estiércol, melaza, microorganismos (locales) y minerales, elaborados artesanalmente en un proceso de fermentación anaerobia caracterizado por una disminución del pH e incremento de la conductividad en la producción de los metabolitos secundarios¹ (Torres, 2007), los cuales se reactivaron mensualmente con microorganismos y melaza durante 120 días, en fincas pilotos seleccionadas de forma dirigida de las provincias costeras del país: Esmeraldas, Los Ríos, Guayas y El Oro. El estudio se llevó a cabo durante los años 2009 y 2010.

Los bioles se homogenizaron, rotularon y llevaron a laboratorio al inicio, durante cada reactivación y una vez terminado el proceso para sus respectivos análisis.

Los parámetros evaluados en el proceso de fermentación fueron: pH, conductividad y densidad en el periodo comprendido entre Febrero y Agosto del 2009 y entre Abril y Julio del 2010, los

parámetros como: grados Brix, materia orgánica y los solutos. Se evaluó también la presencia de grupos químicos y macro - micro nutrientes.

Se utilizaron metodologías electrométricas en las determinaciones del pH, conductividad, grados brix; para la relación masa sobre volumen se empleó un densímetro de las siguientes características (1000 a 2000 kg/m³ 20 °C), la materia orgánica se determinó por calcinación en mufla a 550 °C, y el tamizaje químico según procedimiento modificado de Miranda y Cuellar (2000), el nitrógeno total se determinó mediante el método kjeldhl (AOAC, 2005^a), y los macro y micro elemento según lo descrito por la AOAC (2005^b).

Para analizar el curso del proceso de producción se utilizó software estadístico InfoStat 2010, con un modelo de regresión polinómica de grado dos, para cada variable; además del coeficiente de determinación del modelo (R²), para verificar la bondad de su ajuste. También se analizó la tendencia central y dispersión de las variables (parámetro de calidad), a través del promedio y la desviación estándar, para analizar el proceso y el producto terminado.

Resultados y discusión

La tabla 1, muestra los valores de los parámetros medidos durante la producción por etapas de la fermentación anaerobia; se observó que la conductividad y la densidad se incrementaban de la fase inicial hasta la cosecha, mientras que los valores de pH sufrían una disminución gradual, pero se mantenían en valores ácidos estos incrementos de conductividad, densidad y la disminución del pH, coinciden con la fase logarítmica o de disolución de ácidos

¹ Enciclopedia virtual ambientum.com. Mecanismos de la fermentación anaerobia. Suelos y residuos.
http://www.ambientum.com/enciclopedia/residuo/1.66.01.21_1r.htm.

orgánicos y producción de CO₂ (Torres, 2007) y la fase estacionaria o de formación de metabolitos entre la reactivación (Pares y Juárez, 1997) hasta la cosecha donde la variación en los parámetros físico-químicos son menos

notorios evitando llegar a la etapa cuatro o fase de muerte debido a las reactivaciones mensuales de microorganismos a la que es sometido dicho proceso.

Tabla 1. Promedio de los parámetros físico – químicos evaluados en el proceso de elaboración de bioles

	Conductividad (S/m) (Promedio ± DE)	Densidad (ρ) (Promedio ± DE)	pH (Promedio ± DE)
Inicio	6,69 ± 1,59	1,010 ± 0,001	6,15 ± 0,56
React 1	13,68 ± 3,66	1,020 ± 0,008	4,61 ± 0,14
React 2	17,80 ± 2,19	1,032 ± 0,006	4,19 ± 0,13
React 3	18,32 ± 2,48	1,037 ± 0,006	3,93 ± 0,13
Cosecha	19,31 ± 1,45	1,043 ± 0,009	3,91 ± 0,22

En la figura 1 se presentan las tendencias de las curvas desde la preparación, reactivaciones y cosecha de los bioles: La conductividad y la densidad muestran una tendencia ascendente donde los incrementos más significativos se expresan desde el momento de la siembra hasta la primera reactivación (fase logarítmica), conservando la tendencia hasta la cosecha del producto en los dos parámetros (fase estacionaria).

El pH tiene un comportamiento inverso a los anteriores, donde su descenso más significativo es igual al de los anteriores parámetros (Torres, 2007). Los modelos reflejan muy bien la variabilidad de los datos, ya que se obtuvo para cada modelo un R²≥97%.

El promedio de los valores obtenidos en la producción de bioles en el periodo 2010 no muestran diferencias significativas respecto del promedio de lo reportado en los parámetros de cosecha 2009. Los referidos para conductividad (15,3 y 3,2), pH (8,2 y 6,8) y materia orgánica (23,6 y 32) por Siura (2006) y Basantes (2009) respectivamente, no se corresponden al promedio de los obtenidos en la producción del 2010, especialmente el pH que no están acorde para el tipo de proceso de fermentación anaeróbica, no existiendo valores referidos para densidad y grados brix; los solutos totales no muestran una mayor diferencia con lo señalado para estos fermentos (Siura *et al.*, 2006) (Tabla 2).

Tabla 2. Valores comparativos entre los promedios obtenidos durante el proceso de elaboración año 2009 y producción de bioles año 2010 vs datos referidos.

Parámetros	Obtenidos		Referidos	
	Proceso (Promedio ± DE)	Biol Maduro (Promedio ± DE)	(UNALM) 2005	Basantes 2009
Conductividad	19,31 ± 1,45 mS/cm	20.13 mS/cm	15.3 dS/m	3.2 mS/cm
Densidad	1,043 ± 0,009 Kg/m ³	1.03 Kg/m ³	--	-- --
pH	3,91 ± 0,22	4.22 --	8.2 --	6.8 --
Sólidos totales		4.7 %	--	-- --
Brix		8.04 ° Brix	--	-- --
Materia orgánica		8.39 ± 2.03 %	23.6 g/litros	32 %

La principal actividad de los bioles es actuar como fitoreguladora, sin embargo presentan una actividad fertilizadora debido a la presencia de macro y micronutrientes (Tabla 3). Su contenido varía en dependencia de la materia prima,

microorganismos, características del proceso y tiempo utilizado en la fermentación, no existiendo rangos específicos de macro y micronutrientes para este tipo de productos.

Tabla 3. Promedio de los macro y micro nutrientes obtenidos de los bioles maduros vs datos referenciados.

Parámetros	Obtained	Referred		
	Biol Maduro ppm	UNALM mg/litro	INIAP*	Basantes%
Total Nitrogen	1000,00	980	0.96%	0.66
Fósforo(P)	842,60	121	650 ppm	0.1
Potasio (K)	6200,00	6760	2215 ppm	0.43
Magnesio (Mg)	2600,00	53.4	540 ppm	0.2
Zinc (Zn)	3.57	--	6.8 ppm	--
Cobre (Cu)	0,70	--	320 ppm	--

* Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (INIAP) orden # 951, reportado el 15/03/2010

En la tabla 4 se muestra la presencia de los grupos químicos en los bioles elaborados bajo estos parámetros de calidad, los mismos que se forman en este proceso, por hidrólisis o como consecuencia de la biodegradación de las macromoléculas (materias prima utilizadas en la fermentación de estas

enmiendas) por la acción de los microorganismos presentes, y justifican la bioactividad que tienen los mismos, en los ensayos realizados con este tipo de bioproductos tanto en campo como en laboratorio (Jiménez, 2008; Magdama, 2010; Chávez, 2009; Ortiz, 2009; entre otros).

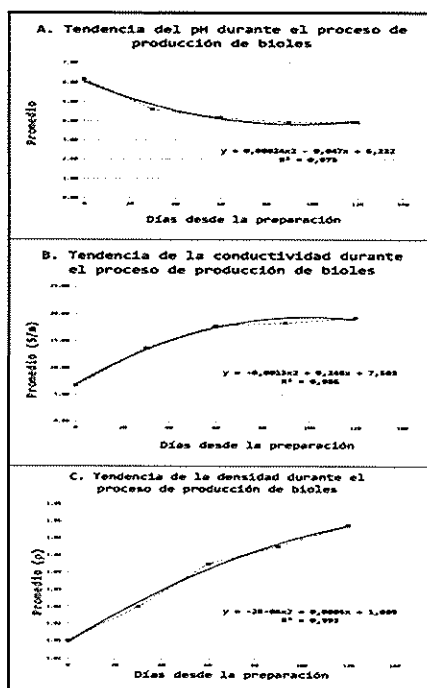


Figura 1. Análisis de las tendencias de los parámetros de calidad del biol, a través de regresión polinómica de grado 2. (A) pH; (B) conductividad; (C) densidad

Tabla 4. Principales grupos químicos identificados por tamizaje en los bioles maduros

PROCEDENCIA		LR	Gy	E Or	Es	LR	Gy	E Or	Es
Metabolitos Secundarios						COSECHA			
	Ensayo	Extracto Alcohólico				Extracto Acuoso			
Alcaloides	Dragendorff	+++	+++	+++	+++	++	-	-	+++
	Wagner	+++	++	+++	+++	++	-	-	+++
	Mayer	+++	++	+++	+++	++	-	-	+++
	Shinoda	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoides	Antocianidas	-	-	+	+				
	Catequinas	+	+	+	+				
Triterpenos / Esteroides	LiebermanBurchard	+	Ve*	++	-				
Azúcares/Reductores	Fheling	+	+	+	+	+	+	+	+
Compuestos/lactónicos	Baljet	+	++	+++	+				
Quinonas	Bortranger	-	++	+++	-				
Poliepoxi	Resinas	+	-	-	Ve*				
Aminoácidos	Ninhidrina	-	-	-	-				
Saponinas	Espuma	-	-	-	-	+	+	+	+
Fenoles y Taninos	Cloruro Férrico	+	-	+	+	+	+	+	+
Resinas	Mucilagos					-	-	-	-

LR= Los Ríos Gy= Guayas EOr= El Oro Es= Esmeraldas Ve*= Vestigios

Conclusiones

Los parámetros físico – químicos (conductividad, densidad y pH) pueden ser determinados *in situ* o en el laboratorio y permiten controlar el proceso de fermentación y cosecha de los

biofermentados con calidad y bioactividad.

Los bioles elaborados en el 2010, muestran reproducibilidad con los parámetros físico químicos determinados

en el proceso elaboración de estos en el año (2009).

Los valores de macro y micronutrientes están relacionados con la materia prima utilizada, su hidrólisis, los microorganismos que la descomponen, el tipo de proceso y le proporcionan un valor fertilizante a la actividad fitoreguladora de estas enmiendas.

Se identificó la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, quinonas, terpenos/esteroides, azúcares reductores, compuestos lactónicos, resinas, aminoácidos, saponinas y fenoles/taninos, en los bioles analizados dando una validación científica a los diversos efectos benéficos en el uso de estos bioproductos.

Los resultados reportados en el proceso de elaboración de los bioles, no tienen antecedentes y constituyen un aporte en el control de dichos procesos.

Referencias

AOAC. 2005a. Métodos de análisis oficiales. Nitrógeno (Total) en Fertilizantes. Método: 955.04.

AOAC. 2005b. Métodos de análisis oficiales. Nitrógeno (Total) en Fertilizantes. Método: 970.01 (P); 983.02 (K); 964.01 (Mg); 942.02 (Zn); 975.01 (Cu); 945.03 (Ca); 963.01 (Fe).

Arning I. y Velásquez A. H. 2002. Participación Ciudadana para la institucionalidad de la Agricultura Ecológica. V Congreso Nacional RAAA. Edit. RAAA Lima. ISBN 9972-91; pg 26-6-3.

Basantes E. 2009. Elaboración y aplicación de dos tipos de biol en el cultivo de brócoli (*Brassica olerace* Var. Legacy). Tesis de grado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Recursos Naturales.

Escuela de Ingeniería Agronómica. Riobamba-Ecuador, pg 45-46.

Chávez E. 2009. Determinación de la calidad de biofertilizantes líquidos y estudio del potencial para la inhibición de *Mycosphaerella fijiensis* (morelet) en condiciones controladas y como alternativa en el manejo de sigatoka negra en sistemas de producción orgánica. Tesis de grado. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. Guayaquil-Ecuador, p 126.

Gomero L. y Velásquez H. 1999. Manejo Ecológico de Suelos: Conceptos, experiencias y técnicas. Ed. RAAA. Etefany S.R. Ltda. Red de Acción de acción en alternativas al uso de agroquímicos: Vol 1, pg 167-169 Lima, Perú.

Jiménez M. 2008. Effect of the nutritional status of banana (*Mussa* spp.) on leaf disease infestation by *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, in Ecuador. Ph D thesis. Catholic University of Leuven. Leuven, Belgium pg. 51-88.

Magdama F. 2010. Estudio del efecto de Bioles y cepas de *Trichoderma* sp. aisladas de zonas cacaoteras, como alternativas de control de *Moniliophthora roreri*, en condiciones *in vitro*. Tesis de grado previo a la obtención del título de: Ingeniero Agrícola y Biológico Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la producción.

Miranda M. y Cuéllar A. 2000. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. La Habana: Editorial Universidad de La Habana; pg. 25-79.

Ortiz M. 2009. Evaluación de la actividad de los Lixiviados de Raquis de Banano (*Musa* AAA), Plátano (*Musa* AAB), y Banano Orito (*Musa* AA) Sobre el Agente Causal de La Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en condiciones *In Vitro*. Tesis de grado previo a la obtención del título de Ingeniera agropecuaria, Facultad de Ingeniería

Mecánica y Ciencias de la Producción, ESPOL. Guayaquil-Ecuador.

Pares R y Juárez A. 1997. Bioquímica de los microorganismos. Regulación del metabolismo secundario. Cinética de la formación de los metabolitos secundarios Editorial Reverte, S.A.. pg 333.

Peralta E. 2010. Distribución e implementación de tecnologías innovativas y ambientalmente amigables para la recuperación de plantaciones de cacao fino de aroma y bananos no tradicionales". Informe de resultados de proyecto. CIBE-ESPOL.

Siura S., Montes I. y Dávila S. 2006. Efecto del biol y la rotación con abono verde (*Crotalaria juncea*) en la producción de espinaca (*Spinacea oleracea*) bajo cultivo orgánico. Tesis de grado. Universidad Nacional Agraria Lamolina. Lima-Perú.

Torres M. 2007. Valoración de la calidad microbiológica del producto, en proceso en una planta productora de bebidas alcohólicas. Crecimiento y multiplicación celular (18-21). Metabolismo de los Carbohidratos (26-29). Cambios de pH durante la fermentación (36). Presentado como requisito parcial para optar al título de microbiólogo industrial. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, carrera Microbiología Industrial.