

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**TESIS**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD NUTRITIVA DEL  
BIOESTIMULANTE LÍQUIDO ELABORADO A PARTIR DE CERVEZA  
RESIDUAL EN EL DESARROLLO DE MICROORGANISMOS  
BENÉFICOS: *Trichoderma harzianum* Spp, *Lactobacillus  
acidophilus* ATCC 4356 y *Actinomyces viscosus* ATCC 15987**

**PRESENTADO POR:**

**BR. SHANDA ALEXVY OLMEDO ZAVALA**

**BR. LISBETH SURCO CONDORI**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL  
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**ASESORA:**

**Dra. ANAHÍ KARINA CARDONA RIVERO**

**CO-ASESOR:**

**Msc. VALEX RAÚL MOLLO VARILLAS**

**CUSCO – PERÚ**

**2024**

# INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro. CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD NUTRITIVA DEL BIESTIMULANTE LÍQUIDO ELABORADO A PARTIR DE CERVEZA RESIDUAL EN EL DESARROLLO DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS: Thichoderma harzianum Spp, Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 y Actinomyces viscosus ATCC 15987 presentado por: LISBETH SURCO CONDOPI con DNI Nro.: 73113441 presentado por: SHANDA ALEXVY OLNEO ZAVALA con DNI Nro.: 73099262 para optar el título profesional/grado académico de QUÍMICO FARMACÉUTICO

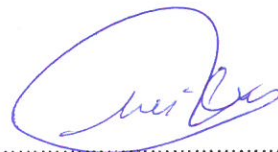
Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 01 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 10%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 12 de dicembre de 2024



Firma

Post firma Anahí Karina Cardona Rivero

Nro. de DNI 23 99 85 11

ORCID del Asesor 0000-0001-6397-9162

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: oid: 27259:415593066

# TESIS 12-12-24.docx

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

## Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:415593066

**153 Páginas**

Fecha de entrega

12 dic 2024, 6:02 p.m. GMT-5

**38,922 Palabras**

Fecha de descarga

12 dic 2024, 6:19 p.m. GMT-5

**218,340 Caracteres**

Nombre de archivo

TESIS 12-12-24.docx

Tamaño de archivo

6.4 MB

# 10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...




## Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

## Exclusiones



- N.º de coincidencias excluidas

## Fuentes principales

- 9%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 5%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

## Marcas de integridad

### N.º de alertas de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**  
47 caracteres sospechosos en N.º de páginas  
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.
-  **Texto oculto**  
17 caracteres sospechosos en N.º de páginas  
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

## DEDICATORIA

A Dios, por darme el privilegio de vivir momentos llenos de salud, sabiduría, aprendizaje y valentía. Gracias por enseñarme a ser resiliente y confiar en mis capacidades.

Con infinito amor, a mis padres: Alex y Vilma, y a mi querido hermano Yettson, por ser siempre mi fuente de amor, inspiración, paz y energía. A ellos, que mantienen mi corazón, mis acciones y pensamientos en constante armonía. Para ustedes, todos mis pequeños logros, en gratitud a su gran esfuerzo y confianza en mí.

A mi gran amiga y compañera de tesis, Lisbeth, por demostrarme con su paciencia, responsabilidad y entusiasmo, que el trabajo en equipo es más fructífero y satisfactorio.

A mis admirables docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, por impartir conocimiento, y ser ejemplo de profesionalismo. En especial, a la Dra Anahí, quien, con sus lecciones y compromiso, fue parte indispensable de este trabajo de investigación.

A todos mis familiares y amistades, quienes me acompañan y motivan a superarme.

OLMEDO ZAVALA, Shanda Alexvy

## DEDICATORIA

A mi querida universidad, cuyo compromiso con la excelencia ha sido un faro en mi camino académico, brindándome las herramientas necesarias para enfrentar este viaje.

A Dios, mi guía y fortaleza, por iluminar cada paso que he dado y por recordarme que la perseverancia y la fe son fundamentales en cada meta que nos proponemos.

A mis amados padres; Benigno y Ricardina, cuyo amor y trabajo incansable son la fuente de mi inspiración. Soy testigo de su dedicación y sacrificio, y gracias a ellos he aprendido que todo se logra con esfuerzo, respeto y amor. Su apoyo incondicional ha sido el cimiento sobre el cual he construido mis sueños, y no hay palabras suficientes para expresar mi gratitud por ser el ejemplo vivo de superación que siempre he admirado. Los amo.

A mis hermanos, por su apoyo, complicidad y amor, por enseñarme que en esta vida nunca estaré sola. Su aliento me ha dado fuerzas en los momentos difíciles, y sé que siempre tendré su respaldo inmenso en cada paso que decida dar.

A mi querida compañera de tesis, Shanda, por hacer de este viaje una experiencia verdaderamente enriquecedora. Tu dedicación y amistad han hecho de este proceso una experiencia invaluable. Siempre con esa energía contagiosa y una alegría desbordante. Solo tú y yo sabemos lo que nos costó esta aventura, y cada esfuerzo ha valido la pena. Gracias

LISBETH SURCO CONDORI

## **AGRADECIMIENTOS**

A nuestra amada “Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco”, cuyo compromiso con la excelencia educativa, ha sido excepcional en nuestro camino académico, brindándonos las herramientas necesarias para enfrentar los desafíos profesionales en adelante.

A la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y a todos los docentes, por impartir con dedicación una educación integra por medio del ejemplo en nuestra formación.

A la empresa JMC Soluciones Ambientales S.A.C. por proporcionarnos la muestra e insumos para el desarrollo del presente estudio.

A nuestra asesora, la Dra. Anahí Cardona Rivero, por su apoyo incondicional y por guiarnos con paciencia y sabiduría en todo el proceso de elaboración de la presente investigación.

A nuestro coasesor Mgte. Valex Mollo, por ser orientador y mostrar predisposición en todo el proceso de investigación.

A nuestros docentes Mag. Zany Frisancho Triveño, Mag. Lesgui Alvis Ñahui, Mag. Roger Giancarlo Gutiérrez Chavez y al Dr. Mario Jesús Urrunaga Ormachea por sus críticas constructivas y aliento para culminar esta investigación.

Shanda y Lisbeth

# ÍNDICE

Dedicatoria .....	II
Agradecimientos .....	IV
RESUMEN.....	XV
ABSTRACT .....	XVI
Abreviaturas .....	XVII
Introducción .....	XVIII
CAPITULO I .....	1
GENERALIDADES .....	1
1.1. Planteamiento del problema .....	1
1.2. Formulación del problema .....	2
1.3. Objetivos de la investigación .....	3
1.3.1. Objetivo general .....	3
1.3.2. Objetivos específicos .....	3
1.4. Justificación de la investigación .....	3
1.4.2. Justificación teórica .....	4
1.4.3. Justificación científica.....	4
1.4.4. Justificación práctica.....	5
1.5. Hipótesis .....	5
1.5.1. Hipótesis general .....	5
1.6. Alcances y limitaciones .....	6
1.6.1. Alcances .....	6
1.6.2. Limitaciones del estudio .....	6
CAPITULO II .....	7
MARCO TEÓRICO .....	7
2.1. Visión histórica.....	7
2.2. Antecedentes .....	8
2.2.1. Antecedentes internacionales.....	8
2.2.2. Antecedentes nacionales .....	11
2.2.3. Antecedentes locales.....	16
2.3. Estado del arte.....	20
2.4. Bases teórico científicas.....	21



2.4.1. Microorganismos en estudio.....	21
2.4.2. Fertilizantes .....	26
2.4.3. Fertilizante orgánico .....	28
2.4.4. Bioestimulantes .....	29
2.4.5. Biofertilizantes bacterianos.....	33
2.4.6. Bacterias fijadoras de nitrógeno.....	34
2.4.7. Bacterias solubilizadoras de fósforo .....	37
2.4.8. Bacterias solubilizadoras de potasio .....	37
2.4.9. Biofertilizantes fúngicos.....	38
2.4.10. Bioestimulante del residuo de cerveza.....	38
2.4.12. Control de calidad.....	46
2.4.12. Medios de cultivo .....	52
2.5. Marco conceptual .....	54
<b>CAPITULO III.....</b>	<b>56</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>56</b>
3.1. Materiales.....	56
3.2. Diseño metodológico de la investigación.....	58
3.2.1. Tipo y nivel de investigación.....	58
3.2.2. Diseño de la investigación .....	58
3.2.3. Diseño piloto de la investigación.....	59
3.2.4. Definición conceptual y operacional .....	63
3.3. Variables implicadas en el estudio.....	63
3.4. Determinación de la actividad bioestimulante en las cepas .....	78
3.5. Procedimiento para el perfil bromatológico .....	81
<b>CAPITULO IV .....</b>	<b>87</b>
<b>ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>87</b>
4.1. Análisis fisicoquímico del bioestimulante líquido .....	87
Control de calidad fisicoquímico .....	87
4.2. Análisis microbiológico del bioestimulante líquido.....	88
Control de calidad microbiológico.....	88
4.3. Análisis organoléptico del bioestimulante líquido .....	91
Control de calidad organoléptico.....	91

4.4. Análisis bromatológico proximal del bioestimulante líquido .....	92
Análisis bromatológico .....	92
4.5. Pruebas adicionales del bioestimulante .....	94
4.6. Prueba de normalidad .....	97
4.7. Determinación de la actividad nutritiva del bioestimulante para <i>lactobacillus acidophilus ATCC 4356</i> .....	100
4.8. Determinación de la actividad nutritiva del bioestimulante para <i>Actinomyces viscosus ATCC 15987</i> .....	102
4.9. Determinación de la actividad nutritiva del bioestimulante para <i>Trichoderma Harzianum Spp.</i> .....	105
CONCLUSIONES .....	108
SUGERENCIAS.....	110
BIBLIOGRAFÍA.....	111
ANEXOS.....	116
Anexo 1.....	116
Anexo 2.....	117
Anexo 3.....	118
Anexo 4.....	120
Anexo 5.....	122
Anexo 6.....	124
Anexo 7.....	125
Anexo 8.....	126
Anexo 9.....	127
Anexo 10.....	128

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Diseño de prueba piloto para determinar la concentración del bioestimulante.....	59
Tabla N° 2: Diseño para evaluar la actividad nutritiva con medio específico y no específico.....	60
Tabla N° 3: Diseño para determinación de la concentración eficaz de <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	61
Tabla N° 4: Diseño para determinación de la concentración eficaz de <i>Actinomyces viscosus</i> .....	61
Tabla N° 5: Diseño para determinación de la concentración eficaz de <i>Trichoderma harzianum</i> .....	62
Tabla N° 6: Resultado de los factores fisicoquímicos del bioestimulante líquido.....	87
Tabla N° 7: Resultado del análisis microbiológico del bioestimulante líquido a distintas diluciones.....	89
Tabla N° 8: Resultado del análisis organoléptico de bioestimulante líquido.....	91
Tabla N° 9: Resultados del análisis proximal bromatológico del bioestimulante líquido.....	92
Tabla N° 10: Porcentaje de elementos.....	94
Tabla N° 11: Prueba de normalidad.....	97
Tabla N° 12: Prueba de Kruskal Wallis (Normalidad).....	97
Tabla N° 13: Estadísticos de prueba.....	98
Tabla N° 14: Prueba de Kruskal Wallis – <i>Lactobacillus</i> .....	99
Tabla N° 15: H de Kruskal- Wallis para <i>Lactobacillus</i> .....	101
Tabla N° 16: Prueba de Kruskal Wallis – <i>Actinomyces</i> .....	103

<b>Tabla N° 17: H de Kruskal- Wallis para Actinomyces.....</b>	<b>104</b>
<b>Tabla N° 18: Prueba de Kruskal Wallis – Trichoderma.....</b>	<b>106</b>
<b>Tabla N° 19: H de Kruskal- Wallis para Trichoderma.....</b>	<b>107</b>

## ÍNDICE DE FLUJOGRAMAS

Flujograma N° 1: Procedimiento general de la investigación.....	73
Flujograma N°2: Control de calidad microbiológico del bioestimulante líquido elaborado a partir de cerveza residual.....	74
Flujograma N°3: Aislamientos de la cepa <i>Trichoderma Harzianum Spp</i> .....	75
Flujograma N°4: activación de la cepa y estandarización de la dilución de <i>Lactobacillus acidophilus ATCC 4356</i> .....	76
Flujograma N°5: Activación de la cepa y estandarización de la dilución de <i>Actinomyces viscosus ATCC 15987</i> .....	77

## ÍNDICE DE IMÁGENES

<b>Imagen N°1: Clasificación de los principales abonos.....</b>	<b>28</b>
<b>Imagen N° 2: Componentes de los biopreparados.....</b>	<b>31</b>
<b>Imagen N° 3: Ciclo biogeoquímico del nitrógeno.....</b>	<b>36</b>
<b>Imagen N° 4: Proceso de elaboración del bioestimulante.....</b>	<b>45</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N°1: Histograma del crecimiento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356.....	100
Gráfico N°2: Histograma del crecimiento de <i>Actinomyces viscosus</i> ATCC 1598.....	102
Gráfico N°3: Histograma del crecimiento de <i>Trichoderma Harzianum</i> Spp.....	105

## REGISTRO FOTOGRÁFICO

Fotografía N° 1:.....	129
Fotografía N° 2:.....	129
Fotografía N° 3: .....	129
Fotografía N° 4:.....	129
Fotografía N° 5: .....	129
Fotografía N° 6: .....	130
Fotografía N° 7: .....	130
Fotografía N° 8: .....	130
Fotografía N° 9: .....	130
Fotografía N° 10: .....	130
Fotografía N° 11: .....	131
Fotografía N° 12: .....	131
Fotografía N° 13: .....	131
Fotografía N° 14:.....	131
Fotografía N° 15: .....	131
Fotografía N° 16: .....	132
Fotografía N° 17: .....	132
Fotografía N° 18: .....	132
Fotografía N° 19: .....	132
Fotografía N° 20: .....	132
Fotografía N° 21: .....	132
Fotografía N° 22: .....	133
Fotografía N° 23: .....	133
Fotografía N° 24: .....	133
Fotografía N° 25: .....	133
Fotografía N° 26: .....	134
Fotografía N° 27:.....	134



<b>Fotografía N° 28:</b> .....	<b>134</b>
<b>Fotografía N° 29:</b> .....	<b>134</b>
<b>Fotografía N° 30:</b> .....	<b>134</b>
<b>Fotografía N° 31:</b> .....	<b>135</b>
<b>Fotografía N° 32:</b> .....	<b>135</b>

## RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad nutritiva del bioestimulante líquido elaborado a partir de residuos de cerveza en el desarrollo de microorganismos benéficos: *Trichoderma harzianum Spp*, *Lactobacillus acidophilus ATCC 4356* y *Actinomyces viscosus ATCC 15987*. Los microorganismos desempeñan un papel esencial en la agricultura, la medicina y la industria alimentaria, y su cultivo in vitro permite estudiar su aplicación como bioestimulantes orgánicos y sostenibles, con un bajo impacto ambiental. El estudio es de tipo aplicada, exploratorio y correlacional, con un diseño cuasiexperimental, en el que se manipulo las concentraciones del bioestimulante (50%, 75% y 100%) según nuestras pruebas piloto, para observar el crecimiento in vitro de los microorganismos. El resultado del análisis fisicoquímico dio un pH de 4.55 (4°C) a 4.69 (20°C) y densidad de 1.0376 (4°C) y 1.0196 (20°C), el control microbiológico fue conforme a la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, 2008 (RM 727-2009), sus características organolépticas estables y el perfil bromatológico con un porcentaje de humedad (46.67 al 93.33%), carbohidratos (2.54 al 5.08%), en proteínas (0.58 al 1.16%), y minerales esenciales para el suelo como el fósforo (310 mg/100 ml), carbono 1.92%, nitrógeno 0.17%. Los resultados mostraron que el bioestimulante promueve un crecimiento óptimo en concentraciones del 75%, especialmente en *Trichoderma harzianum Spp*, *Lactobacillus acidophilus* y *Actinomyces viscosus*, lo que sugiere su idoneidad para aplicaciones agrícolas.

Palabras clave:

*Trichoderma harzianum Spp.*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, Biostimulant, Residuo de cerveza, economía circular.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the nutritional activity of liquid biostimulant made from beer waste on the development of beneficial microorganisms: *Trichoderma harzianum* Spp, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 and *Actinomyces viscosus* ATCC 15987. Microorganisms play an essential role in agriculture, medicine and the food industry, and their in vitro cultivation allows to study their application as organic and sustainable biostimulants, with a low environmental impact. The study is of an applied, exploratory and correlational type, with a quasi-experimental design, in which the concentrations of the biostimulant were manipulated (50%, 75% and 100%) according to our pilot tests, to observe the in vitro growth of the microorganisms. The result of the physicochemical analysis gave a pH of 4.55 (4 ° C) to 4.69 (20 ° C) and density of 1.0376 (4 ° C) and 1.0196 (20 ° C), the microbiological control was in accordance with the Sanitary Standard that establishes the microbiological criteria of sanitary quality and safety for food and beverages for human consumption, 2008 (RM 727-2009), its stable organoleptic characteristics and the bromatological profile with a percentage of humidity (46.67 to 93.33%), carbohydrates (2.54 to 5.08%), in proteins (0.58 to 1.16%), and essential minerals for the soil such as phosphorus (310 mg / 100 ml), carbon 1.92%, nitrogen 0.17%. The results showed that the biostimulant promotes optimal growth at concentrations of 75%, especially in *Trichoderma harzianum* Spp, *Lactobacillus acidophilus* and *Actinomyces viscosus*, suggesting its suitability for agricultural applications.

Keywords: *Trichoderma harzianum* Spp., *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, Biostimulant, Beer residue, Circular economy

## ABREVIATURAS

**ATCC** : American Type Culture Collection

**°C** : Grados centígrados

**BAL** : Bactérias ácido lácticas

**CO<sub>2</sub>** : Dióxido de carbono

**g** : Gramos

**H<sub>2</sub>O** : Agua

**mg** : Miligramos

**ml** : Mililitros

**nm** : Nanómetros

**UFC** : Unidades formadoras de colônia

## INTRODUCCIÓN

Los microorganismos han sido desde siempre de gran importancia para la vida de la tierra, influyen en muchos procesos para todos los seres vivos por medio de diversos procesos biológicos, ecológicos y para el desarrollo biotecnológico, hace 7000 a.a.C. en China se han usado estos microorganismos para la fermentación de cereales y su posterior obtención de bebidas alcohólicas, la producción de vino. En 1857 – Francia se desarrollaron métodos de vacunación contra el ántrax en 1881 y la rabia humana en 1885 con ayuda de los microorganismos, y en adelante el desarrollo de antibióticos a gran escala para poder evitar y tratar infecciones. Así como también son parte de nuestra microbiota, de nuestros prebióticos en nuestros organismos que promueven la salud intestinal y asimismo nos protegen contra enfermedades gastrointestinales (1).

A escalas industriales, los microorganismos tienen un valor fundamental para la producción de alimentos, bebidas, productos farmacéuticos, productos químicos y distintos biocombustibles; ya que participan del ciclo biogeoquímico del carbono, nitrógeno, fósforo y azufre que son los principales bioelementos que componen toda la materia extendida en el espacio, purifican el agua, degradan contaminantes también se les atribuyen cualidades de proveer fertilidad a los suelos y esto gracias a que con su ayuda se descomponen todo tipo de materias orgánicas existentes. En Sudamérica resalta la actividad agrícola gracias a su exportación e importación de diversos alimentos necesarios para la subsistencia humana, en el 2009 por medio de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), se propone que se debería de aumentar el área agrícola en África y Latinoamérica en 120 millones de hectáreas, pero lamentablemente en promedio se redujo en 50 millones, con lo que es muy importante continuar con esta actividad para poder alimentar y preservar la ecología de nuestra área (2).

Los microorganismos en ecología del suelo se relacionan biótica y abióticamente con las diversas comunidades microbianas, entre estos caracteres de ser patógenos y también de controlar a los mismos para evitar el desarrollo de las

plantas (3). Para poder seguir disfrutando de la diversidad vegetal y alimentos en general se nos ha visto en la obligación de seguir produciendo estos mismo y es así que surge el uso de los fertilizantes que tiene raíces históricas profundas. Desde la antigüedad, las civilizaciones han empleado prácticas rudimentarias, como el estiércol y los residuos orgánicos, para mejorar la riqueza productiva del suelo. Sin embargo, la comprensión científica de los nutrientes indispensables para el desarrollo de las plantas y su aplicación sistemática en la forma de fertilizantes químicos es un fenómeno más reciente. A finales del siglo XIX, la producción de superfosfato, un fertilizante rico en fósforo se convirtió en un avance clave. Este período marcó el comienzo de la era de los fertilizantes sintéticos, transformando la forma en que se cultivaba la tierra (4).

Los biofertilizantes hasta ahora son uno de los medios enriquecedores del suelo para la producción y mejoramiento del desarrollo de las plantas, gracias a los microorganismos (bacterias y/o hongos), que están relacionados al suelo simbióticamente de manera natural y con potenciales propiedades para enriquecer el suelo. (AEFA – Asociación Española de Fabricantes de Agro nutrientes” 2017). Cotidianamente se ve el uso de estos productos orgánicos y naturales que favorecen la producción del suelo (5). Así los trabajadores en el ámbito de la agricultura han optado más por esta actividad sostenible orgánica a partir de estos microorganismos beneficiosos. En una revisión sistemática de algunas investigaciones respecto a los biofertilizantes realizados por Núñez (2016) se afirma e infiere que los biofertilizantes provenientes hongos o bacterias, les da una capacidad a las plantas de absorber y adsorber de mejor manera los nutrientes y así poder mejorar el rendimiento de estas (6).

Los bioestimulantes agrícolas representan una evolución significativa en la forma en que abordamos los desafíos de la agricultura moderna. Su capacidad para mejorar la eficiencia de los nutrientes, fortalecer la resistencia de las plantas y promover prácticas agrícolas sostenibles los posiciona como aliados clave en la búsqueda de un sistema agrícola más resiliente y equitativo. A medida que avanzamos hacia el futuro, la integración de bioestimulantes en la agricultura podría

desempeñar un papel crucial en la construcción de un mundo donde la producción de alimentos sea no solo abundante, sino también sostenible y respetuosa con el entorno ambiental (7).

Para lo cual con el presente estudio se quiere revalorar la función de estos principales microorganismos benéficos que son *Lactobacillus*, *Actinomyces* y *Trichoderma*, evaluando la capacidad nutritiva del bioestimulante líquido obtenido de la cerveza residual para la nutrición de estos y en adelante su proliferación y desarrollo con fines de ser fitofungicos, reduciendo costos, manteniendo la economía y también la actividad agricultora en la región y país.

# CAPITULO I

## GENERALIDADES

### 1.1. Planteamiento del problema

Un bioestimulante es una sustancia o mezcla de sustancias que son una herramienta innovadora en la agricultura a diferencia de los fertilizantes convencionales, que proporcionan nutrientes esenciales, los bioestimulantes actúan estimulando los procesos fisiológicos y bioquímicos de las plantas, lo que mejora su absorción de nutrientes y su tolerancia a diferentes tipos de estrés, como la sequía, temperaturas extremas y enfermedades.

Siendo los microorganismos de suma importancia para la vida, a su vez que son seres vivos completos fisiológicamente y provisosores de gran responsabilidad para el desarrollo muchos productos indispensables para la humanidad desde los alimentos, medicamentos, biocombustibles y demás. Se destaca su capacidad de poseer la capacidad de ser biofertilizantes en los suelos para el desarrollo de los vegetales y además que de este modo logran desentendernos y disminuir los productos sintéticos y químicos.

Desde el 2017 se viene evidenciando un alza en la producción orgánica del país actualmente se cuenta con 571 880 áreas dedicadas a la agricultura orgánica, denotando un incremento interés por el uso de fertilizantes orgánicos.

La región del Cusco tiene un amplio territorio para la producción agrícola, así como en otras regiones del país se produce los diferentes alimentos propios de la zona, pero tienen limitantes en el desarrollo de la siembra como por ejemplo el uso excesivo y gasto en la compra de fertilizantes de procedencia no orgánica. La coproducción de grandes cantidades de lodo de levadura de cerveza provenientes de tanques de fermentación y maduración (segundo mayor residuo generado en cantidad y frecuencia), obliga a la industria cervecera local a disponerlo en rellenos sanitarios generando una huella de carbono elevada, además de un futuro colapso de rellenos sanitarios.



Con el presente trabajo se desea evaluar la actividad como bioestimulante orgánico a partir del residuo de la cerveza para así mejorar las condiciones del suelo para el desarrollo de microorganismos benéficos como trichoderma, lactobacillus, Actinomyces y lograr una mayor rentabilidad, mejorar la producción, pero también aprovechando este residuo orgánico, satisfacer la demanda en la región del Cusco.

A través de una economía circular, la empresa JMC Soluciones Ambientales S.A.C. (ubicado en el departamento de Cusco) aprovecha el sobrenadante (cerveza residual) de este lodo contaminante y lo valoriza transformándolo vía transferencia de calor en un bioestimulante líquido con potencial uso en la agricultura regenerativa nacional. El reaprovechamiento de este residuo conlleva a una reducción de la huella de carbono al no requerir de una disposición final en rellenos sanitarios. Además, comparado con el uso y fabricación de fertilizantes químicos, su obtención conlleva a una baja tasa de huella de carbono y su uso a una emisión mínima de CO<sub>2</sub>, así como a la promoción de una agricultura orgánica saludable. Por otro lado, su rico contenido en materia orgánica y nutrientes (macro-, micro-, melanoidinas, azúcares) lo convierte en potencial sustrato promotor del crecimiento y actividad de microorganismos benéficos. Mejorando el equilibrio ecosistémico del suelo y haciéndolo apto para la vegetación que es participe del ciclo del carbono. Estudios preliminares demostraron que el bioestimulante en mención duplica la producción de papa comparado con el solo uso de agua. Se quiere hacer un control de calidad de este bioestimulante a nivel microbiológico para que de esta manera se cumpla con los criterios de aceptación a nivel naciones para productos derivados de materia orgánica; así como también se realizará un estudio a nivel fisicoquímico y organoléptico.

## **1.2. Formulación del problema**

¿Cómo es la actividad nutritiva del bioestimulante líquido elaborado a partir de cerveza residual mejora el desarrollo de microorganismos benéficos: *Trichoderma*, *Lactobacillus* y *Actinomyces*?

### **1.3. Objetivos de la investigación**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Evaluar la actividad nutritiva del bioestimulante líquido elaborado a partir de cerveza residual en el desarrollo de microorganismos benéficos: *Trichoderma harzianum Spp*, *Lactobacillus acidophilus ATCC 4356* y *Actinomyces viscosus ATCC 15987*.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

1. Analizar el control de calidad del bioestimulante líquido mediante análisis fisicoquímicos, microbiológicos y organolépticos.
2. Determinar el perfil bromatológico del bioestimulante líquido elaborado a partir del residuo de cerveza y así valorar el porcentaje de proteína, grasa, fibra, ceniza y carbohidratos.
3. Determinar la concentración eficaz del bioestimulante a diferentes concentraciones en el crecimiento in vitro de las cepas de *Trichoderma harzianum Spp*.
4. Determinar la concentración eficaz del bioestimulante a diferentes concentraciones en el crecimiento in vitro de la con la cepa de *Actinomyces viscosus ATCC 15987*.
5. Determinar la concentración eficaz del bioestimulante a diferentes concentraciones en el crecimiento in vitro de la con la cepa de *Lactobacillus acidophilus ATCC 4356*.

### **1.4. Justificación de la investigación**

#### **1.4.1. Justificación metodológica**

Los microorganismos a nivel industrial poseen cualidades de ser partícipes de distintos productos comercializados para la alimentación, medicina, agricultura y demás, por ello su desarrollo in vitro es fundamental para su desarrollo y posterior aplicación como bioestimulante amigable con el medio ambiente y la economía de toda persona afín con su uso. Las conclusiones de este estudio pueden ser útiles para futuros investigadores interesados en estos microorganismos, así mismo con

aplicabilidad como bioestimulantes, que podrán investigar la comercialización y fabricación de abonos orgánicos elaborados a partir de residuos de cerveza.

#### **1.4.2. Justificación teórica**

El presente estudio se fundamenta en la evaluación de la actividad nutritiva de un bioestimulante líquido elaborado a partir de cerveza residual, con el objetivo de potenciar el desarrollo de microorganismos benéficos esenciales para mejorar la productividad agropecuaria. Estos microorganismos desempeñan un papel crucial en la promoción del crecimiento de plantas, la mejora de la salud del suelo y el control biológico de patógenos, contribuyendo a un modelo agrícola más sostenible. La cerveza residual, un subproducto de la industria cervecera, presenta características químicas favorables, como un pH bajo y una alta concentración de nutrientes esenciales como nitrógeno (N), potasio (K), calcio (Ca), azufre (S) y magnesio (Mg). Estas propiedades la convierten en una fuente potencial de nutrientes para microorganismos benéficos, además de ofrecer una solución práctica para reducir los desechos industriales. Al utilizar este bioestimulante, se espera mejorar la eficiencia en el uso de recursos naturales y promover prácticas que reduzcan la dependencia de productos químicos sintéticos, con impactos positivos tanto para el medio ambiente como para la economía agrícola.

#### **1.4.3. Justificación científica**

Los microorganismos son importantes para la fermentación alcohólica y su desarrollo industrial como el de las cervezas, con este estudio se quiere aprovechar mejor sus residuos y reducir la contaminación ambiental, además de aportar soluciones futuras a la demanda agrícola, con estos bioestimulantes. Estos microorganismos, como *Trichoderma harzianum* Spp, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 y *Actinomyces viscosus* ATCC 15987.

son reconocidos en la literatura científica por su capacidad de mejorar la salud del suelo, promover el crecimiento vegetal y actuar como agentes biocontroladores frente a patógenos. Además, estos bioestimulantes se alinean con los principios de

la economía circular, al reintroducir materiales orgánicos en los sistemas productivos, maximizando su valor ecológico y económico. La relevancia científica de este estudio radica en evaluar cómo un bioestimulante líquido elaborado a partir de cerveza residual puede optimizar la actividad metabólica y proliferación de estos microorganismos, determinando su potencial como una herramienta para la agricultura sostenible. Esto permitirá contribuir al desarrollo de prácticas agrícolas respetuosas con el medio ambiente, al tiempo que se generan conocimientos aplicables para la gestión de residuos industriales y la mejora de la productividad agropecuaria.

#### **1.4.4. Justificación práctica**

La necesidad de prácticas agrícolas más sostenibles y la preocupación por el impacto ambiental de los fertilizantes sintéticos han impulsado la investigación en alternativas ecológicas, como los bioestimulantes orgánicos. Este estudio se centra en evaluar el potencial de un bioestimulante líquido a base de cerveza residual.

El uso de residuos industriales, como los de cerveza, para la producción de bioestimulantes no solo representa una solución innovadora para la reutilización de desechos, sino que también contribuye significativamente a la reducción de la huella de carbono y el fomento de la salud.

Esta investigación es especialmente relevante para regiones como el Cusco que tiene un amplio territorio para la producción agrícola, mejorando así la seguridad e incrementando la producción de alimentos esenciales, reduciendo la dependencia de productos importados.

### **1.5. Hipótesis**

#### **1.5.1. Hipótesis general**

La actividad nutritiva del bioestimulante líquido elaborado a partir de cerveza residual si mejora el desarrollo de microorganismos benéficos: *Trichoderma harzianum* Spp, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 y *Actinomyces viscosus* ATCC 15987.

## **1.6. Alcances y limitaciones**

### **1.6.1. Alcances**

- La presente investigación explorará la importancia de los microorganismos y la evaluación nutritiva del bioestimulante, para la producción y posterior comercialización de estos y su aplicabilidad en distintos ambientes, que son provenientes del residuo de cerveza.
- La investigación abarca a la empresa que brinda este producto residual y que se dedica al rubro de la producción cervecera del Cusco, para posteriormente contribuir con el desarrollo a nivel industrial para el público de la empresa a toda escala.
- Se quiere lograr la elaboración de este bioestimulante aprovechando el residuo de la cerveza y a partir de ello lograr ser una opción agrícola, en lugar del uso de los fertilizantes químicos y llegar a enriquecer el desarrollo de las plantas nutriéndolas.

### **1.6.2. Limitaciones del estudio**

- Difícil obtención de las cepas en investigación, falta de equipamiento de cabinas de CO<sub>2</sub>, falta de equipos para la obtención de las interacciones microbianas del suelo-planta, los estudios in vitro generalmente no pueden capturar completamente las interacciones complejas entre los microorganismos del suelo, las raíces de las plantas y los factores ambientales.

## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Visión histórica

Desde los inicios de la vida se ha visto que los microorganismos fueron los principales habitantes de la vida, a su vez son calificados de ser ampliamente importantes para la salud con el desarrollo de antibióticos, de vacunas, para la agricultura, gracias a su poder de degradar la materia orgánica y convertirlo en un producto beneficio para el suelo y a su vez para el desarrollo de vegetales, la producción de alimentos con su campo en la agricultura ha sido la columna vertebral de las civilizaciones a lo largo de la historia, y se ha continuado en la búsqueda constante de métodos para mejorar la productividad a nivel agrícola. Uno de los hitos más significativos en este camino ha sido el desarrollo y uso de fertilizantes. En la actualidad se comercializan fertilizantes sintéticos, pero no aquellos que son desarrollados de manera orgánica a través de productos reciclados, que tienen con él propiedades benéficas para la agricultura. El sector agrícola peruano es un pilar importante para la población, ya que contribuye con la alimentación de todas las personas, en los últimos años este sector ha tenido un crecimiento importante, dando lugar a la importación y exportación de diversos alimentos (8).

En nuestro país el uso del abono orgánico se ha instaurado desde la época incaica, quienes usaron el Guano de Islas para lograr una mejor fertilización del suelo y así mejorar el cultivo de sus alimentos, pero en los tiempos de la Colonia y República se ha perdido, debido a que se ha usado el Guano de Islas con cualidades de exportación (9).

Toda la población microbiana, en especial las levaduras, son muy buenos generadores de  $CO_2$ , siendo así de gran importancia para el ámbito alimentario: industria agrícola, en la producción de bebidas alcohólicas y también en el desarrollo de productos lácteos, todo esto debido a su gran participación en el desarrollo de saborizantes que brindan cualidades especiales a los diferentes productos alimentarios. Por otro lado, la cerveza (*Saccharomyces cerevisiae* o *Saccharomyces*

*carlbergensis*), que es una bebida generada principalmente mediante de azúcares provenientes de los distintos granos y cereales que son el trigo y la cebada, que son añadidos con saborizantes y aromatizantes entre otros derivados de hierbas y aditivos, quienes finalmente fermentan junto al agua con otras levaduras (10).

En este presente trabajo se intentará explorar una nueva visión de los fertilizantes agrícolas, a partir del bioestimulante del producto de cerveza, así como también su actividad de bioestimulante para el crecimiento de microorganismos benéficos.

## **2.2. Antecedentes**

### **2.2.1. Antecedentes internacionales**

**TORRES M, VALDEZ L. Y COLAB. “VINAZA COMO SUSTRATO PARA EL CULTIVO DE INOCULANTES Y FERTIRRIGACIÓN DE SUELOS: IMPULSANDO LA ECONOMÍA CIRCULAR Y VERDE” PROIMI, ARGENTINA – 2022.**

En este trabajo se tuvo como objetivo analizar la utilización de la vinaza como medio de cultivo para la producción de *T. harzianum* MT2, que resulto de caña de azúcar como medio de cultivo para la obtención de inoculantes simples y mixtos: *Trichoderma harzianum* MT2 se cultivó en cocultivo único y secuencial con *Pseudomonas capeferrum* WCS358 o *Rhizobium* spp. N2123, en cultivo simple y en cocultivo con dos bacterias promotoras del crecimiento vegetal, para la metodología usaron *T. harzianum* MT2 que se aisló de la rizosfera del tomate, y se inoculo en matraces que contenían 10, 20, 30, 40 ,50, 75, 100 % de vinaza (diluciones en agua destilada), a 25°C, en donde se midieron los pesos secos a las 0,48 horas, hasta las 72 horas posteriores a la inoculación, posterior a ello se realizó las diluciones en agar LB o agar YMA. Las vinazas se analizaron con ANOVA seguido de la prueba post hoc de Dunnett a  $P < 0,05$  considerando la vinaza control como control, en donde resulta que la vinaza al 10 y 20% inhibe moderadamente el crecimiento de *P. capeferrum* y *Rhizobium* Spp, al 30% fue inhibidor para ambas bacterias, al 50% mejoro el crecimiento de los hongos, incluso *T. harzianum* resiste a una concentración mayor del 100 % de vinaza. Se analizó el pH ácido de la vinaza, resultando ácido de 3.5 a 5.0. En donde los crecimientos bacterianos en vinaza, en

particular *P. capeferrum* WCS358, mejoraron en el cocultivo con *T. harzianum* MT2, asimismo la obtención de biomasa valiosa de inoculantes simples o mixtos en vinaza con menor impacto ecológico relevante para la economía circular y verde (11).

**FERNANDEZ M. “OBTENCION DE FERTILIZANTES LIQUIDOS A PARTIR DE MATERIAL BIOESTABILIZADO” UNIVERSIDAD DE VALLADOLID. ESCUELA DE INGENIERIAS INDUSTRIALES. ESPAÑA – 2022.**

En este estudio se desarrollaron tecnologías viables para recuperar carbono orgánico y nutrientes (especialmente nitrógeno y fósforo) a partir de residuos sólidos generados mediante la recogida no selectiva de la fracción orgánica de los residuos municipales. El objetivo era producir fertilizantes organominerales líquidos que cumplieran los requisitos para el mercado CE. En donde se utilizó una metodología de experimentos comparando la tecnología de microondas con disolventes alcalinos son eficaces para extraer los nutrientes del material bioestabilizado, en particular el carbono orgánico y el nitrógeno. En donde se evaluaron distintos factores como por ejemplo la densidad a 30°C (1.028 a 1.034kg/m<sup>3</sup>), nitrógeno orgánico (0.07 a 0.1%), fósforo (0.004mg/L), calcio (1.2 a 2.8mg/L). Concluyendo que los extractos líquidos resultantes cumplen los criterios necesarios para ser utilizados como fertilizantes en agricultura, ya que se ajustan a la normativa comunitaria (12).

**PEÑALBA J. “EFECTO DE TRICHODERMA HARZIANUM LUEGO DE UNA BIOFUMIGACIÓN PARA EL BIOCONTROL DE CLAVIBACTER MICHIGANENSIS SUBSP. MICHIGANENSIS EN TOMATE” (UNP) ARGENTINA – 2022.**

El estudio se propuso evaluar cómo le iba a un cultivo comercial de tomate tras ser biofumigado y tratado con *Trichoderma harzianum*. La investigación se llevó a cabo en un entorno controlado, en el que se observó cómo el organismo antagonista y las bacterias patógenas crecían solos y junto con una planta crucífera. Las plantas de tomate se cultivaron en invernaderos para medir la gravedad de la enfermedad y la producción de frutos. Los tratamientos del experimento comprendieron biofumigación sola o en combinación con dos cepas de *Toxoplasma harzianum*, y



plantas de tomate infectadas con Cmm. Los resultados de los experimentos in vitro mostraron que la biofumigación y el antagonista trabajaron juntos para inhibir significativamente el crecimiento de Cmm. Los resultados obtenidos sobre el terreno corroboran estas conclusiones. Sin embargo, esto no fue suficiente para aumentar los rendimientos agrícolas. En resumen, cuando se utiliza un método PEM para el cultivo protegido del tomate, la inclusión de *T. harzianum* con biofumigación es una alternativa viable (13).

**ROSALES H Y COLAB. “EVALUACIÓN DE PROPIEDADES TECNO-FUNCIONALES DE CEPAS PROBIÓTICAS COMERCIALES DEL GÉNERO *LACTOBACILLUS*” (RIIT) MEXICO – 2020.**

Se investigaron cuatro cepas de este género: *L. acidophilus*, *L. paracasei*, *L. casei* y *L. rhamnosus*. Se evaluaron aspectos técnicos y funcionales, como la capacidad de fermentar el medio MRS, el consumo de glucosa, el perfil de acidificación y la producción de aminoácidos libres. También se evaluó la capacidad de digestión de prebióticos como la rafinosa, la lactulosa, la inulina de agave y los fructooligosacáridos, así como la eficacia antibacteriana frente a patógenos Gram negativos. Se observó un perfil de acidificación más favorable en las cepas de *L. casei* debido a una mayor producción de aminoácidos libres. Los efectos inhibitorios contra *Shigella* y *Salmonella* fueron mayores en estas cepas. En cambio, la capacidad de utilización de prebióticos de *L. acidophilus* fue mayor. Todas las cepas demostraron ser compatibles con cepas de *Bifidobacterium*. Según la investigación, cada cepa mostró resultados prometedores como cultivo suplementario viable para la fabricación de productos lácteos fermentados. Esto repercutiría positivamente en el valor nutricional, el sabor y la textura de los alimentos, así como en su capacidad para absorber prebióticos y combatir las bacterias (14).

**CORDERO J. “EVALUACIÓN DE DOS TIPOS DE VINAZA COMO FERTILIZANTE Y ACONDICIONADOR DE SUELO EN EL CULTIVO DE FRIJOL” HONDURAS – 2019.**

En este estudio se evaluó a 2 clases de vinaza como un agente fertilizante y a su vez acondicionador del suelo para el cultivo del frijol, que tuvo como fin la evaluación

del efecto de ambas clases de vinaza: la que es tratada (VT) y la que es pura (VP). En la experimentación después de la siembra se ha usado a 5 diferentes dosis de cada uno de los productos, en un periodo de días (15, 30 y 45). Como resultado se obtuvo que con la vinaza pura, se mejoró la altura de la planta y a su vez se mejoró la riqueza en cuanto a nutrientes del suelo. Como conclusión para las dosis mayores de un 114.3 m<sup>3</sup> /ha de la misma vinaza aplicada en un suelo, limita la producción de frijol y se recomienda aplicar la vinaza tratada en suelos alcalinos y la vinaza pura para suelos ácidos a esa dosis (15).

**RODRIGUEZ M. “PRODUCCIÓN DE UN BIOFERTILIZANTE / BIOESTIMULANTE MEDIANTE UN PROCESO BIOLÓGICO / ENZIMÁTICO A PARTIR DE SUBPRODUCTOS ORGÁNICOS: VALORIZACIÓN AGRONÓMICA Y AMBIENTAL DE LODOS DE DEPURADORA Y PLUMAS DE MATADERO” ESPAÑA – 2018.**

El estudio Evaluó la elaboración del biofertilizante, por medio de procesos enzimáticos y biológicos a partir de los residuos orgánicos, hoy tuvo como objetivo la elaboración y caracterización de innovadores bio fertilizantes, ambientales y agronómicos que resultaron hoy a partir de plumas de pollo y lodo. En dónde se observó que en la estimulación fue menor hoy en los primeros 7 días respecto del bioestimulante. Concluyendo en que el uso de estos bioestimulantes empleados produjo que los xenobióticos del suelo se degraden con mayor facilidad y por ende no afectan a los microorganismos beneficiosos del suelo ya que sus efectos tóxicos no actúan en ellos. A su vez los mismos microorganismos colaboran con los bioestimulantes produciendo así mejorar la riqueza energética y de nutrientes en el suelo que también mejoran degradar a los agentes tóxicos (16).

**2.2.2. Antecedentes nacionales**

**PALACIOS A. “DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE MICROORGANISMOS AMBIENTALES FRENTE A ESCHERICHIA COLI ATCC 25922” (UNMSM) LIMA – 2022.**

Palacios (Lima, 2022) descubrió que Escherichia coli ATCC 25922 puede ser inhibida por microorganismos presentes en el ambiente. Uno de los principales

problemas de salud pública en el Perú y otros países son las intoxicaciones alimentarias (ETA). Se sabe que diferentes patotipos de *Escherichia coli* causan diferentes enfermedades. El propósito de este estudio era encontrar nuevas formas de tratar *E. coli* estudiando las características antimicrobianas de los microbios ambientales. La investigación utilizó la técnica de la mancha para evaluar las propiedades antibacterianas de 32 cepas de levadura y el método de difusión en pozo para evaluar 33 cepas de *Bacillus*. Aunque las cepas de levadura no mostraron ningún efecto antagonista, sí lo hicieron las cepas de *Bacillus* BS3, BS4, BS17 y BS21. Con el cultivo bacteriano (BC) midiendo  $27,00 \pm 2,65$  mm y el sobrenadante libre de células (SLC) midiendo  $15,67 \pm 1,15$  mm, BS4 mostró el halo inhibitorio más significativo entre las cepas de *Bacillus*. No hubo cambios en la actividad antagonista tras 24, 48 o 72 horas de incubación. Al comparar el cultivo bacteriano con el sobrenadante libre de células, los resultados obtenidos revelan que el primero exhibió una mayor eficacia antagonista. Los resultados muestran que los metabolitos producidos por estas cepas de *Bacillus* tienen características antibacterianas que pueden suprimir con éxito el crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 25922 (17).

**MEDINA E. “ACCIONAR DEL BIOESTIMULANTE ORGÁNICO SOBRE LOS COMPONENTES ASOCIADOS DE TRIGO HARINERO (*TRITICUM AESTIVUM* L.) RESILIENTES AL ESTRÉS HÍDRICO, YANAMUCLO, MATAHUASI-CONCEPCIÓN”. (UNC) JAUJA – 2022.**

Se examinaron diversas características de líneas avanzadas de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) resistentes al estrés hídrico para determinar los efectos de un bioestimulante orgánico. Las tierras agrícolas del Centro Poblado Yanamuclo en Matahuasi-Concepción fueron el lugar del estudio. El objetivo de esta evaluación fue comparar el cultivar Centenario-UNALM contra dos líneas resistentes a estrés hídrico, PITH LM-13 y EEATH-1-LM-13B-122, y determinar los efectos del bioestimulante Agrostemin®-GL tratado en tres fases de desarrollo (Z00, Z25 y Z59). En esta evaluación se utilizó un diseño de bloques completos aleatorizados que incluía tres repeticiones. La altura de la planta (excluyendo la mazorca) (68,19 cm),

el rendimiento de grano ( $6,05 \text{ t ha}^{-1}$ ) y el peso de mil granos ( $57,11 \text{ g}$ ) mejoraron significativamente mediante el uso de AGROSTEMIN®-GL durante las fases Z00 y Z25 de la línea EEATH-1-LM-13B-122. La densidad de púas por metro cuadrado alcanzó la asombrosa cifra de 775,56 púas cuando se administró AGROSTEMIN®-GL durante la fase Z59. Se observó un incremento de 44.93 granos por mazorca cuando se aplicó AGROSTEMIN®-GL al cultivar Centenario-UNALM en la fase Z00. Además, se observó una considerable elongación de las púas ( $7.91 \text{ cm}$ ) después de administrar AGROSTEMIN®-GL en la fase Z25. En particular, las plantas alcanzaron el 50% de floración en sólo 81,67 días después de recibir AGROSTEMIN®-GL en la etapa Z59, lo que indica un proceso de floración acelerado. La producción de grano mejoró en general ( $11,46 \text{ t ha}^{-1}$ ) cuando se administró AGROSTEMIN®-GL en la etapa Z00 de PITH LM-3B-13. Sin embargo, el cultivo tardó alrededor de 92 días en florecer. Sin embargo, el cultivo tardó unos 92,33 días más en alcanzar el 50% de floración después de este tratamiento (18).

**DIAZ R. “PROPUESTA DE FACTIBILIDAD PARA LA PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE UN FERTILIZANTE ORGÁNICO A PARTIR DE LA VINAZA EN LA REGIÓN LAMBAYEQUE” (UPC) LIMA – 2020.**

El objetivo era evaluar la viabilidad de utilizar la vinaza, un subproducto de la destilación de alcohol, para potenciar la producción de cultivos orgánicos y gestionar eficazmente los residuos de vinaza. La vinaza se utiliza en la producción de abono orgánico, junto con un 30% de paja de arroz y un 70% de otros componentes. Esta mezcla mejora las propiedades del abono y agiliza los procedimientos de secado y mezcla. En el proceso de producción de abono orgánico se utilizaron muestras de vinaza concentrada clasificadas en tres categorías en función de sus niveles de concentración:  $55 \text{ }^\circ\text{Bx}$ ,  $65 \text{ }^\circ\text{Bx}$  y  $75 \text{ }^\circ\text{Bx}$ . A continuación, se incorporó a cada grupo una mezcla de paja compuesta por un 45%, 50% y 55% de vinaza, respectivamente, mientras que el resto lo ocuparon los componentes especificados en cada grupo. Las pruebas de laboratorio confirmaron la viabilidad de la fabricación de compost a partir de uva conforme a las normas especificadas. La viabilidad del proyecto se valida por su valor actual neto (VAN) favorable de S/ 21 798 900,89, lo que significa

su rentabilidad. La tasa interna de rentabilidad (TIR) es del 121%, lo que significa que el capital invertido puede recuperarse junto con la generación de beneficios adicionales (19).

**DIAZ Y. “AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS NATIVAS DE BACILLUS SPP Y TRICHODERMA SPP DE LA RIZOSFERA DE CAFETO CON POTENCIAL ANTAGONISTA FRENTE A FUSARIUM OXYSPORUM DEL VALLE DE MONZÓN-HUANUCO”. (UNMSM) LIMA – 2019.**

Un hallazgo notable se produjo en la rizosfera de los cafetos de la zona de Monzón, en la región de Huánuco. Cepas autóctonas de *Bacillus* y *Trichoderma* mostraron características antagónicas contra *Fusarium oxysporum*, enfermedad que afecta a los cafetales. Estas cepas poseen potencial para su uso práctico en estrategias de Manejo Integrado de Plagas. Empleando el doble enfoque de desafío directo en medio Papa Dextrosa Agar, se descubrieron un total de 30 cepas de *Bacillus* spp. y 20 cepas de *Trichoderma* spp. y se evaluó eficazmente su capacidad para inhibir *F. oxysporum*. Los aislados que mostraron un comportamiento hostil fueron sometidos a pruebas bioquímicas y caracterizados tanto macroscópica como microscópicamente. La identificación se realizó mediante claves taxonómicas. Entre los nueve aislados de *Trichoderma* (M3PI.I, B1.T, MTS.I, MT5.A, MT12.A, PLSO1, TL7.R, MT24.I y MT14.e) y los seis aislados de *Bacillus* (MT1.I, MT1.II, MT2.I, MT2.II, MT7 y MT3P3) que mostraron propiedades antagonistas, M3PI.I demostró el efecto inhibitor más significativo, alcanzando una inhibición excepcional del 80% contra el fitopatógeno. Las cepas MT3P3, B1.T y MTS.I de *Trichoderma* spp. presentaron la actividad antagonista más significativa. La identificación molecular verificó que estas cepas eran *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma* spp. Varias cepas de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp. demuestran una eficacia significativa como agentes de biocontrol contra la podredumbre vascular en cafetos, ofreciendo una estrategia agrícola novedosa y sostenible (20).

**CASTRO D. “EVALUACION DE TRES DILUCIONES DE MICROORGANISMOS EFICIENTES EN LA CALIDAD DE COMPOST UTILIZANDO LODOS DE LA PTAR” CAJABAMBA” CAJAMARCA – 2019.**

El año pasado, Adolfo M., de la Universidad Nacional de Cajamarca, estudió los efectos de diferentes concentraciones de EM en la calidad del compost de lodos de la EDAR de Cajabamba. El estudio se propuso determinar cómo tres diluciones distintas de EM afectaban a las diversas cualidades del compost. En concreto, se utilizaron como diluciones 600 ml, 1200 ml y 1800 ml. Los resultados demostraron que las diluciones EM tenían un efecto directo y sustancial sobre los niveles de temperatura y potasio (K). Sin embargo, con respecto a los coliformes termotolerantes, el pH, la conductividad eléctrica, el nitrógeno, el cadmio, el cromo y el plomo, el impacto fue modesto e insignificante. La eficacia de las bacterias en la mejora de la calidad del compost durante los cinco años anteriores fue objeto de otra investigación en 2022 realizada por Ana C. de la Universidad César Vallejo. Esta investigación se propuso determinar el número óptimo de microorganismos para mejorar el compost. *Lactobacillus* (*L. plantarum*, *L. casei*), *Bidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* (*S. lactis*) y *Pediococcus* son bacterias lácticas que se mostraron eficaces en la investigación. Este género contiene varias especies, entre ellas la bacteria fotosintética *Rhodospseudomonas palustris*. La energía luminosa puede ser utilizada por dos tipos de levaduras para fabricar alimentos: *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida utilis*. Algunas especies de *Actinomyces* son *Streptomyces griseus* y *Streptomyces albus*. Por último, los hongos filamentosos incluyen especies como *Aspergillus oryzae*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Mucor hiemalis*. *Aspergillus oryzae* es el nombre científico de una especie específica de hongo. Veinte de las veintiuna investigaciones que analizaron los microorganismos empleados en el compostaje concluyeron que las bacterias lácticas eran las más populares(21).

### **2.2.3. Antecedentes locales**

#### **ESPINOZA H. “EFECTO DE SOLUCIONES NUTRITIVAS Y BIOESTIMULANTES EN LA PRODUCCIÓN DEL PIMIENTO (*Capsicum annum. L.*) MEDIANTE RIEGO POR GOTEO EN CONDICIONES DE FITOTOLDO K’AYRA”. (UNSAAC) CUSCO – 2023.**

Mediante el uso de riego por goteo con soluciones fertilizantes y bioestimulantes, esta investigación pretendía investigar el impacto de las condiciones fitotóxicas en los costes de producción, el rendimiento y el desempeño agronómico. El estudio contenía ocho tratamientos, incluyendo dos dosis de solución nutritiva y cuatro tipos de bioestimulantes. En este estudio se utilizó un CSBD, o diseño de bloques completamente aleatorizados, con una disposición factorial 2 A x 4 B. Se produjeron ocho tratamientos y cuatro duplicados. Este diseño produjo ocho tratamientos y cuatro duplicados, lo que dio lugar a 32 unidades experimentales. Se determinó que el tratamiento óptimo para obtener un peso elevado de fruta fresca, que se midió en 1111,6875 g por planta (equivalente a 5,56 t/ha), era una combinación de 5 ml de solución nutritiva (A), 2 ml de solución nutritiva (B) y 2 ml de bioestimulante Ascophyllum en 1 L de agua para los investigadores. Además, este tratamiento produjo el máximo de frutos, con catorce frutos por planta. El siguiente tratamiento más largo fue el de 7,5 ml de bioestimulante Humalgar mezclado con 1 L de agua sin nutrientes; la longitud del fruto fue de 7,04 cm. Una combinación de 5 ml de solución nutritiva (A) y 2 ml de solución nutritiva (B) sin bioestimulante VII se añadió a 1 L de agua y se aplicó al fruto de mayor diámetro, que midió 7,41 cm. Se recomendó una solución de 5 ml de solución nutritiva (A), 2 ml de solución nutritiva (B) y 1,25 ml de bioestimulante Orgabiol en 1 L de agua como terapia para alcanzar la altura máxima de planta de 42,431 cm. El mayor peso de residuo de cultivo por planta fue de 614,875 gramos cuando se trataron 5 ml de solución nutritiva (A) y 2 ml de solución nutritiva (B) en 1 litro de agua, sin añadir bioestimulante para el cultivo (22).

**CHAIÑA L. “EL IMPACTO DE LA TEMPERATURA EN EL DESARROLLO ECONÓMICO DE LOS HOGARES AGRÍCOLAS DE LA REGIÓN DEL CUSCO, 1997-2019”. (UAC) CUSCO – 2021.**

La relación entre la temperatura y el crecimiento económico de las familias agrícolas en la zona de Cusco fue investigada por Chaiña (Cusco, 2021). Averiguar cómo afecta la temperatura a los índices de pobreza tanto de forma inmediata como a largo plazo fue la principal motivación de la investigación. Los investigadores analizaron datos de ingresos de la Encuesta Nacional de Hogares, que cubre los años 1997-2019, y series temporales mensuales cuadradas, versión 5.01, que contiene datos de temperatura del aire terrestre y precipitación. El propósito de este estudio era utilizar un método cuantitativo con un enfoque aplicado para comprender mejor el impacto de la temperatura. Para evaluar el impacto sin realizar experimentos, la investigación utilizó un modelo de regresión de efectos fijos de dos vías que tenía en cuenta tanto las características variables en el tiempo como las específicas de cada individuo. Se halló una correlación negativa entre la temperatura y los ingresos de los agricultores. Por cada grado centígrado que subiera la temperatura, se produciría una pérdida anual de ingresos de entre 6.279 y 7.065 soles. Además, el estudio demostró que la agricultura de subsistencia se veía afectada negativamente por las fluctuaciones de los ingresos y la productividad agrícolas provocadas por las diferencias anuales de temperatura, y que estos efectos perduraban durante mucho tiempo (23).

**YEPEZ D. “EFECTO DE BIOESTIMULANTES ORGÁNICOS EN EL RENDIMIENTO DE DOS VARIEDADES DE BRÓCOLI (BRASSICA OLERACEA VAR. ITALICA) POR FERTIRRIEGO EN CONDICIONES DE FITOTOLDO DEL CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA” (UNSAAC) CUSCO – 2021.**

Yopez, del Centro Agronómico K'ayra de Cusco, probó dos bioestimulantes orgánicos para determinar sus efectos sobre el rendimiento agronómico y la producción de dos tipos de brócoli. Estos bioestimulantes se administraron por fertirrigación como parte de la investigación. También se analizó la composición química de las hojas y se calcularon los costes de producción. El rendimiento de los



dos tipos de brécol se evaluó en gramos de gránulos por planta. El ensayo incluyó un grupo de control, dos bioestimulantes (Phyllum Maxr y Seaweed Creme) y un total de seis tratamientos. Como diseño experimental para la investigación se utilizó un diseño de bloques completamente aleatorizados. El tratamiento Bio. Crema de algas 19 l/ha x Var. Chou Cavolo fue el que, según los datos, presentó el mayor peso en fresco de los gránulos, con un rendimiento de 465,93 g/planta (equivalente a 21,90 t/ha). Además, Bio. Phyllum R 5,6 l/ha x Var. Confidant obtuvo el mayor peso fresco de los residuos, con 1.327,69 g/planta (53,10 t/ha), lo que lo convierte en el tratamiento superior. Sin bio. xvar. Chou Cavolo fue el tratamiento que dio lugar a las plantas más altas, alcanzando una altura de 84,59 cm. Con un recuento de hojas de 18,50, Sin bio. xvar. Chou Cavolo fue asimismo el tratamiento con más hojas por planta. El siguiente más numeroso fue Bio. crema de algas 19 l/ha x Var. Confidente, con 20,88. Con una medida de raíz de 12,72 cm por planta, el tratamiento que dio lugar al máximo peso fresco por planta fue Bio. crema de algas 19 l/ha x Var. Chou Cavolo. El primer puesto fue para el tratamiento Bio. Phyllum l/ha x Var. Confidant, que produjo un peso de 1721,00 (g/pta) (24).

#### **ZAPATA D. “EFECTO DEL BIOESTIMULANTE KALLPA EN PRODUCCIÓN HIDROPÓNICA DE CUATRO VARIEDADES DE TOMATE (*Lycopersicum esculentum* MILL) EN FITOTOLDO DEL CENTRO AGRONÓMICO K’AYRA” (UNSAAC) CUSCO – 2021.**

El estudio se tuvo como objetivo evaluar el impacto del bioestimulante en la producción de tomate hidropónico. Empleando la estrategia de asociación acuícola en condiciones de fitotent, se realizó la evaluación agronómica de cuatro variedades de tomate, enfocándose en diversos parámetros como el peso, número, longitud y calidad general de los frutos del tomate, así como la respuesta de la planta al bioestimulante. . Para determinar el rendimiento se empleó la técnica de cultivo acuícola bajo condiciones de fitotienda, utilizando un Plan Completamente Aleatorio (DCA) con arreglo factorial. El experimento implicó el uso de cuatro variedades diferentes de tomate y dos bioestimulantes. Se incluyeron en el estudio un total de veinticuatro unidades de prueba, con ocho tratamientos y tres repeticiones. Para

analizar las fluctuaciones utilizamos el método ANVA y realizamos la prueba de Tukey con un 95% de probabilidad. Los hallazgos indicaron que la variedad Old German, cuando se combinó con un bioestimulante (I1/V4), produjo los frutos más frescos, con un peso promedio de 69,54 gr/planta. Este resultado es estadísticamente significativo y supera a los otros grupos en la comparación de medias de Tukey, con una probabilidad del 95% y un coeficiente de variabilidad del 13,23%. Nuestro análisis del rendimiento en cuatro variedades diferentes de tomate utilizó la técnica ANVA. Los resultados demuestran que los bloques presentaron diferencias estadísticas, indicando variaciones entre las repeticiones. Con un coeficiente de variabilidad del 26,73%, podemos afirmar con seguridad que los resultados de nuestra investigación son estadísticamente fiables (22).

**HUAMAN Y. “EFECTO DE CUATRO CONCENTRACIONES DEL BIOESTIMULANTE FLOWER POWER EN LA PRODUCCIÓN DEL CULTIVO DE PEPINO (*Cucumis sativus* L.) EN EL SECTOR TIOBAMBA – SANTA ANA” (UNSAAC) LA CONVENCION – 2020.**

Se examinaron las características agronómicas, fenológicas, productivas y de rendimiento del cultivar de pepino Exocet en relación con diversas dosis del bioestimulante Flower power. Cada uno de los cinco tratamientos con bioestimulantes se repitió tres veces en la investigación. Las dosis de 0,0, 1,0, 2,0, 3,0 y 3,5 L/Ha fueron algunas de las terapias consideradas. Para comparar estadísticamente estas terapias, se utilizó la prueba de Tukey tanto a un nivel de significación del 5% como del 1%. Según los resultados del estudio, la dosis de 3,5 L/Ha produjo la mayor media estadística de altura de planta entre las variables agronómicas, con 157,67 cm. El tratamiento de 3,0 L/Ha tuvo la mayor producción de frutos por planta, con una media de 16 frutos por planta. Con una longitud media de 31 cm, este tratamiento también mostró los frutos más largos. La dosis de 3,0 L/Ha también produjo los frutos más grandes, con un diámetro medio de 25,67 cm. El tratamiento con una dosis de 3,0 L/Ha produjo el tiempo de floración más corto, con una media de 26,33 días, cuando se examinó el efecto de las distintas dosis de bioestimulantes sobre el periodo fenológico del pepino. De forma similar, este

tratamiento produjo el tiempo de fructificación más rápido (33,33 días de media) y el tiempo de recolección más rápido (50,33 días de media). La aplicación de una dosis de 3,0 L/Ha del bioestimulante tuvo el mayor impacto sobre el rendimiento y la producción de pepino, dando lugar a un peso medio de fruto por planta de 9833,33 g y a un aumento de la producción por hectárea a 5249,95 T/Ha (25).

### **2.3. Estado del arte**

En la actualidad, los microorganismos son de real importancia desde el ámbito farmacéutico, ya que con ellos se ha podido evolucionar y contribuir al desarrollo de una infinidad de medicamentos como: antibióticos, vacunas, suplementos nutricionales y demás, es por ello que su preservación de su existencia es de alto impacto para la salud, para su prevención, así mismo para el tratamiento de diversas enfermedades. La supervivencia de nuestro planeta está amenazada por la sobrepoblación del territorio, las amenazas para nuestra calidad de vida y el alto costo de la supervivencia de la humanidad, tenemos diversos problemas de gran impacto como la falta de agua potable, y por sobre todo el costo de la alimentación y esto se ve afectado desde la producción de nuestros alimentos ricos en nutrientes, proteínas, minerales importantes para el desarrollo del organismo, entonces hacemos hincapié en la importancia de la actividad agrícola que brinda trabajo, alimentación y calidad de vida al ser humano. En nuestro Perú, la región del Cusco es conocida por su importante productividad agrícola, que va más allá del uso doméstico e incluye la exportación de rica variedad de alimentos y a su vez para el desarrollo de estos se requiere un uso eficaz de los recursos económicos, ambientales, además que se quiere propiciar es uso de bioestimulantes, para de este modo poder desacostumbrar a la población dedicada al rubro agrícola a no usar sostenidamente los fertilizantes químicos, además de actuar responsablemente con nuestro medio ambiente con el uso de productos provenientes de procesos industriales y orgánicos para disminuir gastos y mejorar la producción alimentaria. Con el estudio, nuestra intención es contribuir a la veracidad del poder nutritivo de este bioestimulante derivado de los residuos producidos por la industria cervecera, con el fin de enriquecer el medio de nutrición

y crecimiento de microorganismos benéficos, así como también la de reducir la contaminación ambiental (26).

## **2.4. Bases teórico científicas**

### **2.4.1. Microorganismos en estudio**

#### **A. LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS**

##### **Género Bacillus**

Debido a su capacidad genética y tamaño relativamente grande, el género *Bacillus* ha sido ampliamente investigado dentro del ámbito de los procariotas. Estas bacterias se pueden encontrar de manera ubicua en todos los suelos del mundo, lo que facilita el aislamiento de varias especies que componen este género. Estas bacterias Gram-positivas, llamadas así por su estructura en forma de bastón, pueden prosperar en ambientes ricos en oxígeno o adaptarse para sobrevivir en ausencia de oxígeno. Cuando es necesario, estos organismos pueden formar endosporas altamente resistentes en el centro de su célula, que pueden soportar temperaturas extremas y agentes químicos. La mayoría de las especies de este género poseen flagelos peritricos, lo que les permite moverse con facilidad. El género *Bacillus* exhibe una multitud de programas genéticos que se activan en respuesta a los recursos disponibles y las condiciones ambientales, lo que les permite sobrevivir y adaptarse mejor que sus competidores. Además, estas bacterias tienen la notable capacidad de asimilar ADN de su entorno, mejorando su capacidad de adaptación a su entorno(27).

##### **Lactobacillus acidophilus**

El acidófilo es un tipo de bacteria que se desarrolla en entornos con un alto nivel de acidez. Pertenece al género *Lactobacillus*. A diferencia de la mayoría de los microbios, el *acidophilus* se desarrolla mejor en condiciones muy ácidas (pH 4-5 o inferior) y funciona mejor a temperaturas de 37-45°C, aunque puede soportar temperaturas de hasta 45°C. Esta bacteria se encuentra de forma natural en muchos tipos de alimentos, como cereales, leche, carne y pescado. Además de en los intestinos, también está presente

en la boca y la vagina de los seres humanos y los animales. La bacteria *Lactobacillus acidophilus* puede producir ácido láctico fermentando la lactosa. Las cepas heterofermentativas son las que crean etanol, dióxido de carbono y ácido acético como resultado de su proceso de fermentación. El *Lactobacillus acidophilus* es una de las especies más comunes del género *Lactobacillus* que se encuentran en la flora intestinal de humanos y animales por igual. Durante el proceso de digestión, desempeña un papel en la síntesis de niacina, ácido fólico y vitamina B6 (piridoxina) en el intestino humano. Las investigaciones indican que *Lactobacillus acidophilus* puede ayudar en la separación y desconjugación de los ácidos grasos de los ácidos biliares, permitiendo que el cuerpo los recicle. El equilibrio de la flora intestinal lo mantienen los *Lactobacillus* y los bacilos bífidos, que producen compuestos orgánicos como el ácido láctico. Las bacterias probióticas también contribuyen a este equilibrio generando bacteriocinas, antibióticos naturales que eliminan los microorganismos nocivos. Ciertas cepas de *Lactobacillus acidophilus* poseen proteínas de la capa S en su pared celular, lo que añade una capa extra de complejidad. Vale la pena señalar que, a pesar de su nombre, "acidófila", esta bacteria no presenta una mayor tolerancia a los ácidos en comparación con otros *Lactobacillus*. Normalmente, estos bacilos miden entre 2 y 6  $\mu$  de longitud y pueden tener extremos ligeramente redondeados. Se pueden encontrar aislados o dispuestos en cadenas cortas (28).

## **B. Actinomyces viscosus**

- **Actinomyces viscosus**

Este organismo es un anaerobio facultativo, lo que significa que puede sobrevivir tanto en presencia como en ausencia de oxígeno. Presenta un mayor crecimiento cuando se introduce dióxido de carbono. Las micro colonias en agar BHI, cultivadas aeróbicamente con dióxido de carbono, tuvieron una duración de 18-24 horas. Tras muchas transferencias, algunas cepas mostrarán la formación de micro colonias lisas caracterizadas por una

forma circular, una superficie muy granulosa, un borde completo y, ocasionalmente, un pequeño núcleo ópticamente negro. Las macro colonias en agar BHI, tras 7 días de incubación, tienen forma circular, aspecto convexo, ápice puntiagudo, textura lisa, bordes completos y un color que varía de la crema al blanco. Pueden parecer brillantes u opacos, con una superficie lisa o mucoide. Poseen micelio aéreo. El principal producto final de los cultivos con glucosa es el ácido láctico, acompañado de pequeñas cantidades de ácido fórmico, ácido acético y ácido succínico. Los anaerobios facultativos prosperan en presencia de dióxido de carbono. Alcanzan un desarrollo óptimo cuando se exponen a condiciones aeróbicas junto con dióxido de carbono. Además, utilizan el CO<sub>2</sub> para producir ácido succínico. La pared celular incluye el aminoácido ornitina. Los azúcares incluyen galactosa, glucosa y manosa. No se han registrado casos de sensibilidad a los antibióticos (30).

### **C. Trichoderma**

- **Género Trichoderma**

Las especies de Trichoderma son comunes en bosques y suelos agrícolas porque son resistentes, pobres en nutrientes y adaptables. Estas criaturas adaptables pueden desarrollarse en condiciones saprofitas e interactuar con una amplia variedad de criaturas, incluidas plantas y animales. Les gusta un rango de temperatura de 25-30 °C. Su adaptabilidad a muchos sustratos las hace ideales para la fabricación a escala industrial en campos verdes como la biotecnología y la agricultura. En la rizosfera o como endofitos, algunas especies de Trichoderma producen auxinas y giberelinas, que las plantas necesitan para crecer y desarrollarse. Trichoderma también es capaz de producir ácidos orgánicos, como ácido cítrico, fumárico y glucónico. Estos ácidos son útiles para reducir el pH del suelo y aumentar la solubilización de los minerales que necesitan las plantas, incluidos los fosfatos, el magnesio, el hierro y el manganeso.

Además, la importancia de este grupo de hongos radica en su contribución a la sanidad vegetal al ejercer control sobre hongos fitopatógenos. Esto se

consigue gracias a sus propiedades mico parasitarias, ya que secretan enzimas, como proteasas, quitinasas y glucanasas, que rompen las paredes celulares de los hongos que parasitan. Como resultado, la membrana plasmática se retrae, el citoplasma se desorganiza y se inhibe la germinación de las esporas y el alargamiento del tubo. Además, estos hongos poseen cualidades antibióticas, lo que los convierte en excelentes agentes de control biológico contra enfermedades fúngicas en diversas especies de plantas. Se han realizado extensas investigaciones para evaluar el impacto de diferentes especies de *Trichoderma* en el control biológico de enfermedades en cultivos como tomate, arroz, maíz y trigo. En un estudio centrado en plantas de tomate infectadas con *Meloidogyne javanica*, se probaron cuatro concentraciones diferentes de *T. harzianum* y *T. viride*. Los resultados mostraron que todas las concentraciones suprimieron eficazmente la reproducción de nematodos y promovieron el crecimiento de las plantas. Es importante señalar que la elección del agente de biocontrol no es el único factor determinante para reducir la incidencia de enfermedades en los cultivos (31).

Reino: Fungí

Clase: Sordariomycetes

División: Ascomycota

Género: *Trichoderma*

Familia: Hypocreaceae

Orden: Hypocreales

La mayor parte de este género se reproduce por esporas asexuales, sin fase sexual. Sin embargo, en algunos casos se ha observado una fase sexual. Su clasificación se ha basado normalmente en características distintivas, principalmente en las estructuras reproductivas asexuales.

### ***Trichoderma Harzianum* Spp.**

Este hongo presenta características imperfectas, con hifas hialinas ramificadas y septadas no paralelas en ambos lados. Posee conidióforos y conidios, además de la capacidad de producir clamidosporas, concretamente

14 de ellas. La reproducción se produce a través de conidios, mientras que las clamidosporas sirven como estructuras resistentes. Estas clamidosporas, de mayor tamaño que los conidios, contienen abundantes reservas de lípidos. Pueden tener forma cilíndrica o globosa y son intercalares o terminales. *T. harzianum* es conocido por su rápido desarrollo y abundante producción de esporas de color verde oscuro, ligeramente algodonosas, que se asemejan al moho. Además, actúa como bioestimulante del crecimiento radicular promoviendo el desarrollo radicular y estimulando la secreción de fitohormonas. Esto, a su vez, conduce a un aumento de la masa radicular, lo que facilita la asimilación de nutrientes y mejora la altura de las plantas.

Con su rápido crecimiento y desarrollo, este organismo sirve como agente de control biológico. Su capacidad para producir multitud de enzimas está estimulada por la existencia de 16 hongos fitopatógenos. Además, prospera en diversos sustratos, lo que facilita su producción en masa con fines agrícolas. Estos atributos ofrecen numerosas ventajas en el ámbito de la agricultura. son:

- Al facilitar el desarrollo de sistemas de raíces robustos, promueve el crecimiento de raíces más fuertes, lo que en última instancia conduce a plantas más saludables.
- Mejora la capacidad de absorber nutrientes y humedad, al tiempo que mejora el rendimiento en condiciones de estrés hídrico.
- La aplicación de esto no requiere el uso de ningún equipo especializado.
- Este producto puede funcionar bien con inoculantes de leguminosas y puede usarse en semillas que hayan sido tratadas con un fungicida químico.
- Al mejorar el desarrollo y la utilización de las raíces, estos métodos ofrecen el potencial de disminuir o incluso eliminar la necesidad de un tratamiento con fungicidas químicos, lo que resulta en una reducción de los gastos y una menor dependencia de los fertilizantes (32).



Este hongo, que prospera en el suelo y establece relaciones mutuamente beneficiosas con varias raíces de plantas, es conocido por su naturaleza oportunista no dañina. Ha encontrado aplicaciones en biotecnología como biofungicida y potenciador del crecimiento, ofreciendo importantes ventajas para las prácticas agrícolas en condiciones de campo (33).

#### **2.4.2. Fertilizantes**

Para que los cultivos anuales y perennes crezcan y proporcionen cosechas de alta calidad, necesitan determinados elementos minerales. Estos elementos se clasifican en tres grupos: macroelementos principales (NPK), macroelementos secundarios (Ca, Mg y S) y microelementos (también conocidos como elementos menores u oligoelementos). El término "fertilizante" designa principalmente las sales de nitrofosfopotasio que componen el NPK, consideradas los "macroelementos principales" por ser los nutrientes más deficientes en los suelos.

Los fertilizantes son un insumo agrícola esencial que, utilizado adecuadamente, permite alcanzar grandes rendimientos de los cultivos en un corto periodo de tiempo. Por ello, en el futuro será imperativo utilizar eficazmente los fertilizantes para abandonar la agricultura de subsistencia o de autoconsumo, que actualmente constituye más del 70% de las prácticas agrícolas en nuestras regiones de sierra y selva. En las zonas productoras de papa como Huasahuasi, Tarma, Jauja, Valle del Mantaro, Tayacaja, etc. en la Sierra Central, los agricultores deben utilizar un saco de 50 kg de fertilizante NPK por cada saco de semilla de papa (30 sacos). Además, necesitan aplicar de 150 a 200 sacos de estiércol para lograr rendimientos de patata de 40 a 60 Tm/ha. Sin este método de fertilización, los rendimientos se limitan a sólo 8 a 10 Tm/ha (9).

##### **2.4.2.1. Características principales**

- **Índice de salinidad de los abonos.** El índice de salinidad de un abono, en relación con el nitrato de sodio, cuantifica la cantidad en que cambia la presión osmótica de una solución extraída del suelo. La finalidad de este

índice es proporcionar un sistema para clasificar los abonos, con el objetivo de prevenir los incidentes de quemaduras que pueden producirse cuando los abonos se aplican demasiado cerca de las semillas o las plantas. La aplicación inadecuada de fertilizantes solubles, que incluyen sales, puede causar daños a las plantas conocidos como "quemaduras".

- **Índice de Acidez.** La cantidad de piedra caliza ( $\text{CO}_3 \text{Ca}$ ) necesaria para neutralizar la acidez resultante de la aplicación de 100 unidades de abono viene determinada por su peso.
- **Índice de Basicidad o Alcalinidad.** La cantidad de calcáreo ( $\text{CO}_3 \text{Ca}$ ) en peso que tiene el mismo efecto neutralizante que 100 unidades de materia fertilizante se conoce como it-valor. Dado que las sales solubles (es decir, los fertilizantes) tienen un impacto significativo en la respuesta del suelo o pH, y por lo tanto en varios procesos del suelo que afectan al crecimiento de las plantas, conocer estos índices es crucial.
- **Índice de higroscopicidad de los abonos.** Representa la disparidad entre cien y la humedad relativa del aire cuando el compuesto está saturado y a la temperatura especificada. Los abonos tienen una mayor propensión a absorber la humedad atmosférica cuando su índice de higroscopicidad es más alto. A medida que aumenta la temperatura, aumenta también el índice de higroscopicidad del mismo abono.

#### **TIPOS DE ABONOS SEGÚN SU HIGROSCOPICIDAD:**

- A) Abonos simples.** Los fertilizantes que contienen nitrógeno son más propensos a retener agua que los que contienen fosfato o potasa.
- B) Mezclas de abonos.** Las mezclas suelen tener una higroscopicidad mayor que sus componentes más higroscópicos.
- C) Clasificación de los Principales Abonos utilizados en el país, sus leyes y equivalencias en Unidades Fertilizantes.**

### IMAGEN N°1: Clasificación de los principales abonos

ABONOS	SIMPLES		
	Ley	Peso en Kg del fertilizante/unid.	
<b>I. NITROGENADOS</b>	<b>%N</b>	<b>N</b>	
Tipo de abono			
Urea	45-46	2,2	
Sulfato de amnio	20-21	4,76-5	
fosfato de amnio	18	5,56	
nitrate de amonio	33,5	3,3	
nitrate de amonio calcareo	26	3,8	
nitrate de sodio	16	6,3	
nitrate de potasico	13	7,7	
nitrate de calcio	15-15,5	6,6	
<b>II. FOSFATADOS</b>	<b>P2O5</b>	<b>P2O5</b>	
superfosfatos simple	20-24	5-4,2	
superfosfato triple	46	2,17	
fosfato diamonico	46	2,17	
fosfato monoamonico	52	1,92	
fosfatos naturales molidos	26-35		
<b>ABONOS COMPUESTOS</b>	<b>%N</b>	<b>%P2O5</b>	<b>%K2O</b>
<b>I. Naturales (orgánicos)</b>			
Guano de islas rico	9-15	8-10	1-2
Guano de islas pobre	1-2	16-20	1-2
Guano de islas de exportacion	12-14	9-10	2
<b>II. Fabricados (químicos)</b>	<b>Abonos compuestos importados</b>		
Abonos compuestos (mezclas)	Nitrophos 20-20-0		
Nutriferts de INKAFERT	Nitrophoska gris 10-8-18		
Superguanos de INKAFERT	Nitrophoska rojo 13-13-20		
CABAL DE MISTI	Nitrophoska verde 15-15-15		
Compomaster de MISTI	Nitrophoska amarillo 15-15-6+4%		
Molimax de MOLINOS	MgO		
	Nitrophoska azul especial 12-12-17		
	+2% MgO+3S+EM		
	Bayfolan 12-12-17+2 MgO+3S+EM		

FUENTE: MANUAL DE USO DE FERTILIZANTES PARA LAS CONDICIONES DEL PERÚ (9)

#### 2.4.3. Fertilizante orgánico

Desde los primeros días de la agricultura, se han utilizado fertilizantes orgánicos en suelos cultivados. Son sustancias derivadas de plantas y/o animales que se incorporan al suelo o se aplican a las hojas de las plantas con el fin de potenciar su

contenido nutricional (INDECOPI - Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y Protección Integral de la Propiedad, 2010). Según Monroy y Viniegra (1981), esta práctica existe desde hace mucho tiempo.

Durante los años 1940 y 1970, los fertilizantes orgánicos fueron en gran medida ignorados mientras los fertilizantes químicos ocupaban un lugar central en las prácticas agrícolas intensivas. Sin embargo, ha habido un resurgimiento del interés en la investigación de fertilizantes orgánicos, impulsado por los siguientes factores(34):

- A)** Incluso con los niveles más altos de producción de fertilizantes químicos, la utilización de nitrógeno y fósforo de los fertilizantes orgánicos ha superado la de los fertilizantes químicos a escala mundial.
- B)** A medida que la energía se vuelva más escasa y costosa a nivel mundial, habrá limitaciones en la producción de fertilizantes químicos, lo que requerirá explorar alternativas como maximizar el uso de fertilizantes orgánicos.
- C)** Las plantas que producen fertilizantes y el uso excesivo de abonos químicos y orgánicos han contribuido a dañar el medio ambiente, por lo que es aún más necesario encontrar las proporciones adecuadas de nutrientes procedentes tanto de fuentes orgánicas como químicas.

#### **2.4.4. Bioestimulantes**

Los bioestimulantes desempeñan un papel esencial en la mejora del desarrollo y el crecimiento de las plantas, así como en su resistencia a diversos tipos de estrés. Entre los muchos factores bióticos y abióticos contra los que estos compuestos orgánicos protegen a las plantas se encuentran las temperaturas altas y bajas, el estrés hídrico, la sal, la toxicidad y las plagas e insectos causantes de enfermedades. En concreto, mejoran la absorción de nutrientes y agua por las raíces, optimizan la síntesis de hormonas para la división y diferenciación celular, etc., mediante mecanismos distintos que están ausentes en los fertilizantes y otros componentes de la dieta. En lugar de luchar contra las plagas y enfermedades, los bioestimulantes tienen como objetivo aumentar la vitalidad de las plantas. Funcionan mejor y aumentan el rendimiento cuando se administran moderadamente

durante el establecimiento del cultivo, junto con la fertilización y los métodos de control de plagas y enfermedades (35).

Otras prácticas bioestimulantes:

- Las rizobacterias, que incluyen Bacillus, Nitrobacter, Nitrosomonas, Pseudomonas, Aspergillus y otras, y que favorecen el desarrollo de las plantas, tienen muchos usos prácticos. Al mejorar la producción de fitohormonas y potenciar la absorción de nutrientes, estas útiles bacterias desempeñan un papel esencial en el fomento del crecimiento de las plantas. Además, protegen el suelo de microbios peligrosos.
- Los agentes hormonales de enraizamiento, que aumentan la disponibilidad de auxinas, pueden potenciar enormemente el desarrollo radicular. Cuando las auxinas están presentes, se estimula el crecimiento de las raíces, lo que conduce a un aumento de los pelos radiculares y a una mejor absorción y transporte de nutrientes, todo lo cual contribuye a un mejor establecimiento de la planta.
- A Utilizar agua calentada a 30 o 40 grados Celsius aumenta la solubilidad de los fertilizantes, anima a los microbios del suelo a trabajar más y facilita la circulación del agua y los nutrientes.

Otra forma barata de nutrir y proteger los cultivos a partir de residuos orgánicos es elaborar los llamados biopreparados, que pueden ser sólidos o líquidos y aplicarse al suelo o al follaje.

## IMAGEN N° 2: Componentes de los biopreparados

MATERIAL	APORTA
Tierra de calidad	La actividad microbiana que promueve la descomposición de los materiales orgánicos la proporciona el sustrato. Los procesos de descomposición se ven estimulados por él. Para garantizar la presencia de microorganismos, se aconseja elegir la mejor tierra disponible de color oscuro que huelga a tierra de hoja.
Guano o estiércol animal	Independientemente de su procedencia, enriquece las condiciones físicas del suelo con nitrógeno, fósforo, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre y boro. También contiene ingredientes orgánicos que ayudan a la descomposición y una plétora de microbios. Al principio del compostaje, permite reducir la relación C-N de la mezcla. Nunca utilices excrementos de ningún animal, incluidos los humanos, ya que podrían ser portadores de parásitos y enfermedades.
Pajas, Hojas, Rastrojos Cañas, Virutas, Aserrín	Materiales derivados de plantas; algunos son más biodegradables que otros; aun así, todos aportan carbono y otros nutrientes que los microbios pueden consumir a lo largo del proceso de descomposición. Se pueden utilizar partes de plantas secas o vivas. Debido a su unidad, el material seco se degrada más lentamente y tiene una mayor relación carbono-nitrógeno (C/N). Los azúcares incluidos en la materia vegetal herbácea se descomponen rápidamente, por lo que es mejor trocearla en pedacitos antes de echarla a la pila de compost.
Aire	De ello depende fundamentalmente la activación de los microorganismos aerobios, que dependen del oxígeno. El compostaje se basa en una serie de volteos, cada uno de los cuales hace descender la temperatura de la pila, para proporcionar oxígeno.
Agua	Proporciona a los microorganismos la humedad que necesitan para descomponerse uniformemente. No tienen muchas posibilidades de vida en condiciones secas, pero cuando el contenido de humedad es superior al 60%, la pila se empapa, lo que reduce la oxigenación y detiene la descomposición. La pérdida de nutrientes y microbios puede producirse cuando los niveles de humedad son demasiado altos.

**FUENTE: Manual de manejo agronómico del arándano (35)**

Entre sus principales usos destacan sus propiedades nutritivas, fungistáticas, bacteriostáticas, acaricidas, insecticidas y repelentes. Hierba a la presencia de sustancias potencialmente dañinas como ácidos, toxinas, fenoles y enzimas que

pueden perjudicar a las plantas si no se tratan correctamente. La incorporación al suelo de materia orgánica estabilizada favorece la fertilidad y la vida del suelo a lo largo del tiempo; sus efectos son acumulativos y progresivos. La mejora de la retención de agua, la facilidad de trabajo del suelo, unas plantas más sanas y un mayor rendimiento están al alcance de la mano cuando esto se lleva a la práctica.

#### **2.4.4.1. Elaboración y bioquímica de procesos**

El proceso de compostaje implica la descomposición aeróbica de la materia orgánica mediante la actividad de microorganismos, particularmente bacterias y hongos. Esto da como resultado la formación de una sustancia estable y rica en nutrientes llamada "compost", que se parece mucho al humus. El compost se utiliza principalmente como acondicionador del suelo y ocasionalmente como material de cobertura en vertederos. Durante todo el proceso de descomposición, la temperatura del compost se eleva hasta unos 60°C, un factor crucial para eliminar los microorganismos nocivos. Mantener esta temperatura durante un mínimo de tres días es fundamental. Vale la pena señalar que la descomposición óptima ocurre dentro del rango de 55 a 60°C, pero exceder los 60°C puede impedir el proceso de descomposición.

La descomposición anaeróbica de la materia orgánica progresa a través de una serie de tres etapas distintas, cada una de las cuales involucra un grupo específico de microorganismos. En la etapa inicial, conocida como solubilización, las proteínas, grasas y carbohidratos complejos se transforman en compuestos solubles mediante enzimas extracelulares producidas por bacterias anaeróbicas facultativas. Pasando a la segunda fase, la acidogénesis, los monómeros como azúcares, aminoácidos, glicéridos y lípidos se someten a fermentación, lo que da como resultado la producción de ácidos volátiles, alcoholes, dióxido de carbono e hidrógeno. Este proceso es facilitado por enzimas intracelulares producidas por bacterias formadoras de ácido que pueden funcionar tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas. Finalmente, en la tercera etapa, la metanogénesis, los productos finales del proceso de fermentación anaeróbica sirven como sustratos para la producción de metano por bacterias metalogénicas estrictamente anaeróbicas.

Estas bacterias descomponen, estabilizan y convierten los sustratos en gas metano (34).

Sus ventajas son:

- El efecto residual es significativamente mayor.
- Su influencia en la estructura, porosidad y densidad aparente del suelo aumenta la capacidad de retención de humedad.
- Las plantas pueden crear complejos orgánicos con nutrientes, conservándolos eficazmente en una forma fácilmente accesible.
- La mejora de las cualidades cohesivas de los agregados del suelo y la reducción de la escorrentía superficial pueden prevenir eficazmente la erosión del suelo resultante del impacto de las gotas de lluvia.
- La mejora de la capacidad de intercambio catiónico del suelo protege los nutrientes contra la lixiviación.
- La emisión de dióxido de carbono es vital para facilitar la solubilización de nutrientes importantes.
- La flora microbiana heterótrofa depende del carbono orgánico como fuente vital de energía.

#### **2.4.5. Biofertilizantes bacterianos**

Dentro de la rizosfera se produce una interacción vital entre raíces y microorganismos. Esta conexión se ve facilitada por la liberación de una amplia gama de compuestos químicos de las raíces, como azúcares, ácidos orgánicos, vitaminas y aminoácidos. Estas sustancias actúan como un poderoso atrayente para varios filos bacterianos, incluidos alfa y beta. Entre los numerosos biofertilizantes bacterianos que prosperan en esta relación simbiótica con las plantas, encontramos Bacteroidetes, Acidobacteria, Actinobacteria y Planctomycetes, Azotobacter, Bacillus, Enterobacter y Klebsiella se encuentran entre los géneros ampliamente estudiados. La utilización de biofertilizantes bacterianos ofrece una multitud de beneficios, incluida la fijación biológica de nitrógeno, una mayor absorción de potasio y fósforo, la producción de fitohormonas



y la mitigación de la síntesis de etileno durante condiciones de estrés de las plantas (36).

- **CONTROL BIOLÓGICO**

Para reducir o erradicar los efectos perjudiciales de las plagas y enfermedades sobre las plantas y sus productos, la gestión biológica utiliza criaturas (o sus metabolitos o subproductos) que son naturalmente hostiles a estas plagas y enfermedades. La gestión biológica de plagas y enfermedades se ha utilizado experimentalmente en la agricultura desde sus inicios, al igual que el empleo de gatos para controlar las poblaciones de ratones o de bacterias beneficiosas (como los *Lactobacillus*) para conservar los alimentos o prevenir dolencias gastrointestinales. Los organismos beneficiosos que pueden combatir plagas y enfermedades se conocen como agentes de control biológico, y son responsables en gran medida de evitar la destrucción total de muchos productos agrícolas.

**Estudios de los mecanismos de antagonismo del agente de control biológico.**

Si bien el mecanismo de acción de *Trichoderma*, contra los hongos patógenos de las plantas es bien conocido, no puede decirse lo mismo de la mayoría de los agentes de control biológico. A ello contribuye el hecho de que el patógeno no suele ser controlado o suprimido por un único mecanismo antagonista. A menudo se requieren múltiples procesos antagonistas que trabajen en tándem para que un agente de control biológico controle eficazmente la enfermedad. Los antibióticos, tanto hidrosolubles como volátiles, la capacidad de estimular los mecanismos de defensa de la planta para inducir resistencia contra el patógeno y el parasitismo sobre la plaga o el patógeno son los principales mecanismos antagonistas de los agentes de control biológico. Otros mecanismos son la rápida colonización del hábitat, que es una competición por el espacio y los nutrientes, y la producción de enzimas líticas, que pueden literalmente perforar y destruir al patógeno.

**2.4.6. Bacterias fijadoras de nitrógeno**

Debido a su posición como nutriente limitante en el desarrollo de las plantas, el nitrógeno se ha utilizado durante mucho tiempo como aditivo de productos sintéticos

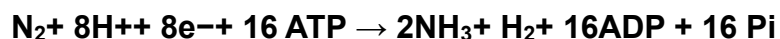
en la producción agrícola. Por otra parte, la agricultura ecológica ha cambiado la forma en que diversos grupos bacterianos reparan biológicamente este elemento. Cuando las plantas consumen nitrógeno, éste contribuye a la producción de aminoácidos y ácidos nucleicos. La mayoría de estas bacterias son de dos tipos: simbióticas y no simbióticas.

### **Mecanismo de fijación biológica de nitrógeno**

El arrastre por el suelo, la inoculación de la hojarasca, la colonización de las raíces y la transferencia de semillas son los principales puntos de entrada de más de 90 taxones bacterianos clasificados como diazótrofos. Enzimas como la dinitrogenasa y la dinitrogenasa reductasa forman parte de un complejo enzimático nitrogenasa codificada por un conjunto de genes conocidos como nif (nifH, nifD, nifK). Además de absorber el nitrógeno atmosférico en su forma dinitrogénica  $N_2$  y reducirlo a  $NH_3$ , este complejo también contiene una serie de proteínas y cofactores. He aquí una descripción estequiométrica del mecanismo por el que las plantas pueden absorber químicamente este compuesto a través de la ruta de la glutamina sintasa:

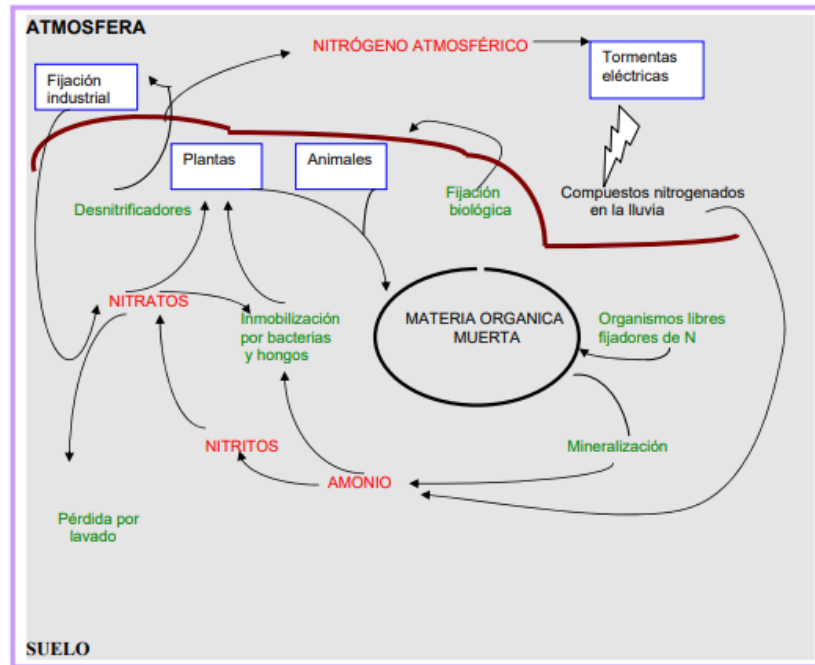
#### **Ecuación 1**

Fijación biológica de N en bacterias



Según el cálculo anterior, la célula debe utilizar carbono para satisfacer las elevadas demandas energéticas de la fijación biológica del nitrógeno. El hecho de que un microbio forme parte de un sistema de vida libre o simbiótico determina la rapidez con la que fija el nitrógeno. Sin embargo, la presencia de  $NH_4^+$  y  $NO_3^-$  en el suelo puede inhibirla en ambos casos (37).

### IMAGEN N° 3: Ciclo biogeoquímico del nitrógeno.



FUENTE: Ciclo biogeoquímico del nitrógeno (38)

- **Bacterias fijadoras de nitrógeno no simbióticas**

Las bacterias fijadoras de nitrógeno que viven en libertad no forman vínculos que les permitan coexistir pacíficamente con las plantas. Así, se abstienen de penetrar en el tejido radicular y permanecen en el exterior, absorbiendo y metabolizando el  $N_2$  ambiental con la ayuda de enzimas nitrogenasas; la fijación de 1 g de nitrógeno requiere aproximadamente 100 g de carbono (Oberson et al., 2013). Con mayores tasas de rendimiento metabólico en la fijación de  $N_2$  atmosférico, *Azotobacter* destaca como el género bacteriano representativo.

- **Bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas**

Este grupo difiere del anterior en que forma conexiones endosimbióticas con plantas huésped a través de nódulos en sus raíces. Por ejemplo, *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* forman relaciones mutualistas con especies vegetales específicas como *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max* y *Cicer arietinum*; se

necesitan 7 g de carbono para fijar 1 g de nitrógeno, lo que basta para satisfacer hasta el 90% de las necesidades de nitrógeno del espécimen vegetal.

#### **2.4.7. Bacterias solubilizadoras de fósforo**

Entre los diecisiete elementos esenciales para el crecimiento de las plantas, el fósforo (P) ocupa un lugar destacado. Para que las plantas crezcan y se reproduzcan sanas, es esencial suministrarles suficiente fósforo. Aunque los cultivos necesitan grandes cantidades de este nutriente esencial, a menudo está ausente de la producción agrícola. Las plantas dependen de él, ya que sólo representa el 0,2% de su peso seco total. Dicho esto, las concentraciones de fósforo en el suelo son insignificantes, apenas 0,02 ppm. Los ésteres de fosfato, los fosfatos de inositol y los fosfolípidos son algunos de los compuestos orgánicos que las plantas no pueden disolver, y representan la mitad de este total (39). Dado que constituyen aproximadamente la mitad de los microbios del suelo, las bacterias solubilizadoras de fosfatos son una excelente forma de satisfacer las necesidades de fósforo de las plantas.

#### **2.4.8. Bacterias solubilizadoras de potasio**

La activación enzimática y la degradación del azúcar son dos procesos cruciales en los que el potasio juega un papel vital. Aunque existen reservas de este elemento en la superficie de la arcilla y el feldespato del suelo, las plantas no pueden absorberlo directamente. Aquí es donde entran en juego las bacterias, ya que tienen la capacidad de solubilizar el potasio del suelo. Se han identificado varias especies, entre ellas *Bacillus circulans*, *Bacillus edaphicus* and, *Burkholderia* sp., *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Arthrobacter* Spp., , *Cladosporium* sp., *Aminobacter* sp., *Sphingomonas* sp. y *Enterobacter hormaechei*. identificados como solubilizantes de potasio (40).

## **2.4.9. Biofertilizantes fúngicos**

### **2.4.9.1. Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) como biofertilizantes**

Los HMA, u hongos micorrícicos arbusculares, son componentes vitales del microbiota nativo del suelo en ambientes naturales y tienen una presencia generalizada en varios tejidos vegetales. Desempeñan un papel crucial en la mejora de la fertilidad del suelo al formar asociaciones simbióticas con las raíces de las plantas, lo que resulta en una mejor absorción de nutrientes, utilización del agua, crecimiento y resistencia al estrés tanto biológico como ambiental. Es importante destacar que la colonización de HMA no causa daño, ya que sus hifas se extienden externamente, ramificándose y dispersándose por todo el suelo, facilitando la absorción de nutrientes esenciales y agua por parte de los microorganismos (41).

Algunos de los principales géneros que tienen la capacidad de solubilizar fósforo orgánico incluyen *Schizosaccharomyces*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Cunninghamella*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Glomus*, *Helminthosporium*, *Micromonospora*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Mortierella*, *Myrothecium*, *Penicillium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Saccharomyces*, *Torula* y *Trichoderma*, *Sclerotium*.

Los microorganismos, que abarcan todos esos organismos minúsculos que escapan a la observación humana directa, existen como células solitarias o interconectadas. Sorprendentemente, poseen la capacidad de realizar de forma independiente todas las funciones esenciales sin depender de la interacción celular externa (42).

### **2.4.10. Bioestimulante del residuo de cerveza**

La cerveza es una bebida con un agradable sabor, esto dependiendo del lugar de fabricación del mismo, se obtiene por fermentación alcohólica a base de malta de cebada, agua, levaduras (*saccharomyces cerevisiae*) y lúpulo.

Los componentes de las materias primas ya mencionadas, fermentan y da lugar al anhídrido carbónico y el alcohol etílico, esto como producto de esa primera etapa

de transformación. La variación de la composición de una cerveza es de 88% a 95% de agua, lo que le provee a la cerveza de las características más resaltantes como su dureza y pureza que muestran la calidad de la cerveza.

La malta es un ingrediente indispensable, ya que a partir de ella se logra la obtención de los azúcares y almidones para lograr la fermentación. Actualmente las cervecerías artesanales tienen algunos ingredientes específicos y propios de cada empresa que aportan un sabor más consistente, lo que mejora sus características organolépticas para el consumidor, los más usados son la quinua, el maíz morado, maíz rojo, arroz, avena y en ocasiones el centeno, que son reemplazados como fuente de almidón a través de varias reacciones enzimáticas en su proceso de elaboración.

## **MATERIAS PRIMAS**

La producción de cerveza requiere indispensablemente agua, malta, lúpulo y levadura, ya que la falta de alguno de estos elementos impide su elaboración. No obstante, ciertos estilos pueden incluir ingredientes adicionales, denominados "adjuntos", como miel, azúcar, melazas o cereales sin maltear.

- **Malta:** Al germinar y secar los granos de cereal en entornos controlados se obtiene la malta. El objetivo del proceso de malteado es generar enzimas capaces de descomponer completamente el almidón y las proteínas. Aunque la cebada es el cereal más idóneo para la elaboración de cerveza por su alto contenido en hidratos de carbono y enzimas diastáticas, que descomponen el almidón en azúcares fermentables, también pueden maltearse otros cereales como el trigo, el centeno e incluso el sorgo. Las maltas base y especiales son las dos categorías principales de maltas.
- **Agua:** El agua representa la materia prima utilizada en mayor cantidad durante la producción, lo que convierte sus propiedades en un factor determinante para la calidad del producto final.
- **Levadura:** Existen más de 1.600 especies de levaduras, muchas de las cuales desempeñan un papel crucial en industrias como la alimentaria, la biotecnológica y la farmacéutica. De estas, alrededor de 280 especies tienen

la capacidad de fermentar, pero en la producción de bebidas alcohólicas destacan las del género *Saccharomyces* spp. por su alta eficiencia en la producción de alcohol y su capacidad para tolerar concentraciones elevadas de este compuesto, dependiendo de la cepa. En la elaboración de cerveza, se utilizan dos tipos principales de levaduras: ale (*Saccharomyces cerevisiae*) y lager (*Saccharomyces pastorianus* o *S. carlsbergensis*). Estas levaduras, pertenecientes al género *Saccharomyces*, son conocidas por su muy elevada tolerancia y capacidad de producción de alcohol. Las levaduras ale fermentan en la superficie del mosto, trabajando a temperaturas entre 15 y 24 °C durante un periodo de 5 a 7 días. Dentro de este grupo existen diversas cepas que aportan características únicas a las cervezas. Por otro lado, las levaduras lager fermentan en el fondo del tanque a temperaturas que varían entre 8 y 15 °C. Este proceso, más lento y menos vigoroso, suele durar unas dos semanas y da lugar a cervezas con un perfil seco en boca y aromas neutros.

- **Lúpulo:** Las glándulas de lupulina se encuentran cerca de la base de las inflorescencias femeninas del lúpulo (*Humulus lupulus* L.), una planta trepadora perteneciente a la familia de las Cannabináceas. Las resinas amargas y los aceites esenciales aromáticos que se encuentran en estas glándulas confieren a los alimentos su sabor y aroma característicos. Al igual que ocurre con los aceites esenciales, la cantidad de los llamados alfaácidos en las resinas puede variar enormemente, sobre todo según el tipo de cultivar y las circunstancias de cultivo.
- Según sus componentes, el lúpulo puede ser amargo, aromático o mixto. Cabe señalar que los ácidos alfa son insolubles en agua a temperatura normal. Sin embargo, cuando se hierve el mosto, se vuelven un 50% más solubles porque se forman isómeros solubles (isoalfaácidos), que dan al mosto su sabor amargo. En consecuencia, el rendimiento suele rondar el 10% y nunca supera el 40% debido a las pérdidas que se producen durante la fermentación. en cuanto a la fragancia, muchos de los aceites esenciales

se pierden al hervir el mosto. Para recuperarlos, se puede utilizar lúpulo al final de la ebullición o directamente en los tanques de acondicionamiento.

Etapas del proceso de elaboración de la cerveza son:

### **1. Elaboración de la malta (malteado del cereal).**

La malta de la cerveza artesana pasa por tres etapas de elaboración: selección del grano, germinación y tostado.

Estos son los ingredientes necesarios para fabricar cerveza: alcohol para la desinfección, azúcar, levadura, agua, fenolftaleína (un indicador), hidróxido de sodio y lúpulo.

a. Calidad del grano: Asegúrese de que los granos son del mismo tamaño y textura.

b. Proceso de germinación: El remojo de los granos de cebada hasta que alcanzan un determinado nivel de humedad desencadena el proceso de germinación. El brote tarda entre tres y cinco días en alcanzar un tamaño comparable al del grano. Después, como se acercará a los 65 años, hay que interrumpir el proceso de germinación. provincia de Sotomayor. Para llevar a cabo un examen comparativo del contenido nutricional de la cerveza artesanal, se convirtió el almidón insoluble en almidón soluble.

c. Tostado o secado: Después de germinado, el grano se secó y tostó con aire caliente para producir malta básica, que es cebada con una alta concentración de almidón soluble. El tiempo de tostado previsto puede variar de una receta a otra; los tiempos de tostado más largos dan como resultado una cerveza más oscura.

**2. Limpieza y esterilizado de los ingredientes:** Las piedras y la suciedad se separan de la malta y de los demás componentes (granos no malteados, como el arroz) mediante tamices. Es esencial que el agua esté estandarizada, es decir, que sólo contenga sulfatos, cloruros y calcio.

**3. Molienda de la malta e ingredientes adjuntos:** En un molino de acero inoxidable se muelen la malta y los demás componentes. Para obtener harina,



primero se muelen los componentes y luego se pasan por tamices (se quitan las cáscaras a los cereales).

4. **Maceración de la malta y producción de mosto:** En cuencos grandes, mezcle la harina de cereales y el agua. Este es el primer paso. Se hace una pasta llamada mosto agitando estos componentes juntos.
5. **Filtrado del mosto:** Si queda algo de malta empapada en el mosto después de filtrarlo, arruinará la fermentación.
6. **Cocción:** A continuación, el mosto colado se lleva a ebullición en un hervidor con lúpulo y, a veces, azúcar.
7. **Enfriado:** Antes de la fermentación, el mosto debe enfriarse a una temperatura comprendida entre 15 °C y 25 °C.
8. **Primera fermentación:** El mosto frío se introduce en depósitos donde se añade levadura, lo que facilita la conversión de los azúcares en alcohol y la liberación de burbujas de dióxido de carbono. El proceso genera calor, por lo que es necesario estabilizar la temperatura.

El siguiente paso para convertir los carbohidratos en alcohol y dióxido de carbono es inocular las levaduras después de que la mezcla se haya enfriado. El recipiente no debe estar herméticamente cerrado para evitar la salida de gases, así que téngalo en cuenta. Seguir las temperaturas de fermentación recomendadas por el fabricante es esencial para producir una cerveza sin problemas de fermentación. Si las levaduras se calientan por encima de sus temperaturas máximas, producirán ésteres con olor a fruta o acetona y alcoholes superiores, que son los que provocan dolores de cabeza. En cambio, las cervezas dulces que contienen productos intermedios de la fermentación como el diacetilo (olor a mantequilla) y el acetaldehído (olor a manzana verde) se producen cuando la temperatura es más baja, cuando la levadura se asienta y deja de fermentar. La levadura y la temperatura del proceso dictan la duración de la fermentación. Por ejemplo, la fermentación de un ale requiere de 4 a 7 días a 15-20°C, pero la de una lager, de 10 a 14 días a 8-13°C.

## 9. Maduración y acondicionamiento

Una vez finalizada la fermentación, deben precipitarse los polifenoles, las proteínas y los residuos de levadura que oscurecen la cerveza. Esto se consigue reduciendo la temperatura a unos 0 °C durante unos 10 días. Ciertas cepas de levadura flocculan rápidamente, creando un sedimento denso en el fondo del fermentador, lo que facilita la rápida extracción de la levadura; por el contrario, otras cepas permanecen suspendidas y necesitan un tiempo prolongado para su extracción. Por el contrario, los polifenoles y las proteínas generan el enturbiamiento por frío o chill haze que se observa en las cervezas cuando la temperatura de servicio es inferior a la de maduración.

La cerveza producida tras la maduración tiene una menor cantidad de CO<sub>2</sub>. Para conseguir una gasificación óptima, el cervecero sella las botellas a presión antes de incorporar azúcares fermentables (glucosa, azúcar de maíz, azúcar de caña, miel, etc.) a una concentración de 6 g/l. Las botellas se almacenan al abrigo de la luz y se mantienen a la temperatura ideal de fermentación entre 20 y 25 días.

El acondicionamiento y la conservación de la cerveza se correlacionan con los niveles de alcohol y lúpulo presentes en la bebida (42)

**En la cervecería.** La levadura de cerveza es usada para la fermentación de cerveza (malta de trigo o cebada, lúpulo) en los tanques de fermentación, para esto también se utiliza agua de proceso (tratada). Terminada la fermentación la levadura gastada es reutilizada hasta 7 veces (séptima generación) para nuevos lotes de fermentación. Post fermentación, la cerveza (inmadura) es luego enviada a tanques de maduración. La levadura de cerveza gastada es colectada de los fondos de los tanques tanto de fermentación como de maduración (debido a que estas decantan con el tiempo de cada operación) en un tanque de almacenamiento a bajas temperaturas (~3 °C). Luego, este residuo de descarte es dispuesta por una empresa operadora de residuos (JMC Soluciones Ambientales).

**Fuera de la cervecería.** La empresa JMC Soluciones Ambientales, recoge el lodo de levadura de cerveza gastada, por bombeo directo a camiones cisternas y luego es trasladado a tanques de decantación. Se decanta en no más de 3 días, el sobrenadante (cerveza residual) es aprovechado para ser transformado en un bioestimulante por evaporación al vacío a no más de 90 °C por un periodo de entre 8 a 12 h. En la evaporación se separan el contenido de alcohol y cierta cantidad de agua, y queda en el fondo vinaza (o bioestimulante, para los fines de esta investigación). La vinaza se forma por medio de la reacción de Maillard a las temperaturas de operación dada, esta se halla más concentrada y con nutrientes más asimilables, en comparación a la cerveza residual (materia prima).

IMAGEN N°4: Proceso de elaboración del bioestimulante



FUENTE: Elaboracion propia

#### 2.4.12. Control de calidad

El objetivo del control de calidad es elevar el nivel de los productos y servicios, aumentar la eficiencia y la rentabilidad mediante el uso de enfoques sistemáticos e iniciativas de mejora continua (43).

##### A) CONTROL ORGANOLEPTICO

Este procedimiento se lleva a cabo para evaluar la aparición de separación de fases, precipitación y turbidez con el fin de evaluar el estado de las muestras estudiadas. La aceptabilidad de un producto por parte de los consumidores se decide por sus cualidades organolépticas (44).

- **Color:** Utilizando un recipiente de las mismas dimensiones, se contrasta el color de la muestra con el color del patrón. Podría utilizarse luz blanca, luz natural o una combinación de éstas y otras fuentes de luz alojadas en salas específicas.

Según los criterios pueden ser clasificadas la muestra del producto:

- a) Modificada levemente
  - b) Modificada
  - c) Sin alteración; normal
  - d) Modificada intensamente
- **Olor:** La fragancia del punto de referencia establecido se comparará con la de la muestra mediante olfacción. La muestra puede clasificarse en función de las siguientes características:
    - a) Modificada intensamente
    - b) Modificada levemente
    - c) Sin alteración; normal
    - d) Modificada

## **B) CONTROL FISICOQUÍMICO**

En general, a simple vista no se aprecian diferencias en la estructura de la formulación. Se tienen en cuenta requisitos y atributos específicos, sobre todo en los estudios fisicoquímicos, que proporcionan recomendaciones para evaluar el producto. Algunos de los análisis incluyen:

- **Potencial de hidrógeno – pH:** Las técnicas más utilizadas para comprobar el valor del pH son:
  - a) **Determinación potenciométrica:** Un pH-metro evalúa el pH midiendo la diferencia de tensión entre dos electrodos sumergidos en la muestra de ensayo. Para evaluar una determinada formulación, es importante elegir el electrodo adecuado. Tanto el método colorimétrico como el potenciométrico proporcionan datos numéricos comprensibles y manejables.
  
- **Densidad Relativa:** La densidad relativa denota la comparación de la densidad de un elemento con la de otro, ya que todas las densidades se indican en unidades uniformes y se evalúan en circunstancias iguales de temperatura y presión.

### **b) MICROBIOLÓGICO**

Mediante el análisis de la cantidad de bacterias y/o sus toxinas por unidad de peso, volumen o superficie, los criterios microbiológicos determinan si un procedimiento, producto o lote de alimentos es adecuado.

Los «Principios para la formulación y el uso de criterios microbiológicos para los alimentos» establecidos por el Codex Alimentarius sirven de norma para los criterios microbiológicos. Forman parte de ella características e instrucciones detalladas:

- Especifique el alimento para el que se utilizará el criterio.

- La selección de microorganismos y/o sus toxinas/metabolitos para su identificación se basa en criterios específicos y el fundamento de la elección está determinado por el producto deseado.
- El plan de muestreo debe describir la cantidad y el tamaño de las muestras que se recogerán, así como proporcionar detalles sobre las características de la unidad analítica.

Las técnicas utilizadas para identificarlo y/o medirlo.

- El punto especificado en la cadena alimentaria requiere el cumplimiento de límites microbiológicos que se consideran adecuados para el alimento en cuestión.
- La verificación del cumplimiento de los límites especificados debe realizarse en un número significativo de unidades analíticas.
- En el proceso de establecimiento de un criterio microbiológico, es crucial considerar los siguientes factores:
- Los datos epidemiológicos sugieren que el alimento en cuestión desempeña un papel importante en la transmisión de la enfermedad.
- La vulnerabilidad de los alimentos a la contaminación por patógenos es una preocupación importante.
- La probabilidad de que los microorganismos se multipliquen en el alimento a lo largo de sus etapas de producción, almacenamiento, transporte y preparación.
- Los métodos de preparación y cocción a los que se somete el alimento antes de su consumo.
- La vulnerabilidad de los consumidores potenciales a patógenos y toxinas nocivas.
- Para establecer un criterio microbiológico es imprescindible determinar en primer lugar su finalidad prevista, que puede abarcar la evaluación de:

- Para garantizar la seguridad alimentaria, es necesario identificar y analizar microorganismos patógenos, toxinas y, en ocasiones, microorganismos indicadores que son indicativos de la presencia de patógenos.
- Cumplir con los estándares de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) es fundamental.
- La utilidad de un alimento particular como componente para una intención específica.
- Para establecer la fecha de caducidad es necesario evaluar la vida útil de un producto alimenticio.

El examen de los resultados de laboratorio con las normas microbiológicas ofrece información importante para que los productores, los transformadores y los servicios de inspección evalúen la idoneidad del producto y/o el proceso. Para garantizar resultados satisfactorios y aceptables, se toman muestras, se realizan pruebas y se implementan acciones correctivas de acuerdo con las regulaciones alimentarias y las directivas de la autoridad pertinente.

Si bien los criterios microbiológicos por sí solos son insuficientes para alcanzar este objetivo, es crucial validar la implementación de buenas prácticas de fabricación u otros sistemas, como HACCP, para eliminar o reducir eficazmente los microorganismos patógenos a un nivel seguro que no represente daño a las personas.

- **MICROORGANISMOS INDICADORES**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) recomiendan las siguientes normas para el control microbiológico de las bebidas:



<b>16. BEBIDAS</b>						
<b>16.1. Bebidas jarabeadas y no jarabeadas carbonatadas</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por ml	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10	50
Mohos	2	3	5	2	5	10
Levaduras	2	3	5	2	10	30

Fuente: MINSA/ DIESA. Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, 2008, Lima (45).

La integridad microbiológica de los alimentos es crucial, ya que influye directamente en su conservación y vida útil, sobre todo debido al potencial de las bacterias presentes en los alimentos para inducir enfermedades de transmisión alimentaria. Por estas razones, las normas alimentarias suelen definir la calidad microbiológica utilizando microorganismos indicadores. Estas especies, o grupos de organismos, sirven como indicadores de una manipulación incorrecta o de una contaminación que podría aumentar el peligro de gérmenes nocivos en los alimentos. Los microorganismos indicadores tienen muchas ventajas en la detección en laboratorio, como la sencillez, la rapidez y la rentabilidad. Además, permiten una estrategia proactiva de prevención de riesgos al señalar una manipulación y contaminación inadecuadas (46).

- a) **Aerobios Mesófilos:** Todos ellos son microorganismos, incluidas bacterias, mohos y levaduras, que tienen la capacidad de crecer dentro del intervalo de temperaturas de 10°C a 37°C. Estos indicadores reflejan las condiciones higiénicas de un producto alimentario. Un recuento elevado sugiere que la materia prima y su procesamiento fueron inadecuados.
- b) **Coliformes:** Los microorganismos gramnegativos no esporulados que pueden sobrevivir en condiciones aeróbicas y anaeróbicas facultativas están comprendidos en la definición aceptada de "coliforme". Estos microorganismos poseen la capacidad de fermentar la lactosa, lo que

resulta en la producción de ácido y gas. Sin embargo, es importante tener en cuenta que ciertos coliformes, incluidos Citrobacter, Escherichia coli, Enterobacter y Klebsiella, pueden presentar un retraso en la fermentación o no fermentar en absoluto. Los coliformes se encuentran comúnmente en el microbiota normal del tracto digestivo de humanos y animales, y residen principalmente en las heces, como Escherichia coli. Los coliformes, debido a su presencia constante en la materia fecal, se utilizan ampliamente en la microbiología de los alimentos como indicador para evaluar prácticas deficientes de higiene. Es importante señalar que los coliformes también pueden habitar en otros ambientes, por lo que es necesario distinguir entre coliformes totales y coliformes termo tolerantes. El uso de coliformes como indicador sanitario es aplicable en la evaluación de la adherencia y eficacia de prácticas sanitarias en la manipulación de alimentos, mantenimiento de equipos, así como el uso de hielo y agua en la producción de alimentos. Al evaluar la resiliencia microbiológica de un producto, es crucial considerar la presencia de coliformes no fecales, aunque su presencia por sí sola no necesariamente indica un riesgo para la salud. La identificación de microorganismos que sirvan como indicadores de contaminación fecal se vuelve fundamental debido a las diversas enfermedades que pueden transmitirse a través del consumo de alimentos y agua contaminados. Estos indicadores deben cumplir tres criterios importantes: deben estar constantemente presentes, ser abundantes y exclusivos de la materia fecal. Además, deberían exhibir una tasa de supervivencia similar a la de los patógenos intestinales y la capacidad de prosperar fuera de los intestinos.

- c) **Coliformes Totales y Fecales:** Esta categoría incluye cualquier bacilo Gram negativo aerobio o anaerobio facultativo no esporulante que experimente la fermentación de la lactosa y produzca gas en un plazo máximo de 48 horas a una temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Esta categoría se compone principalmente de cuatro géneros: Enterobacter,

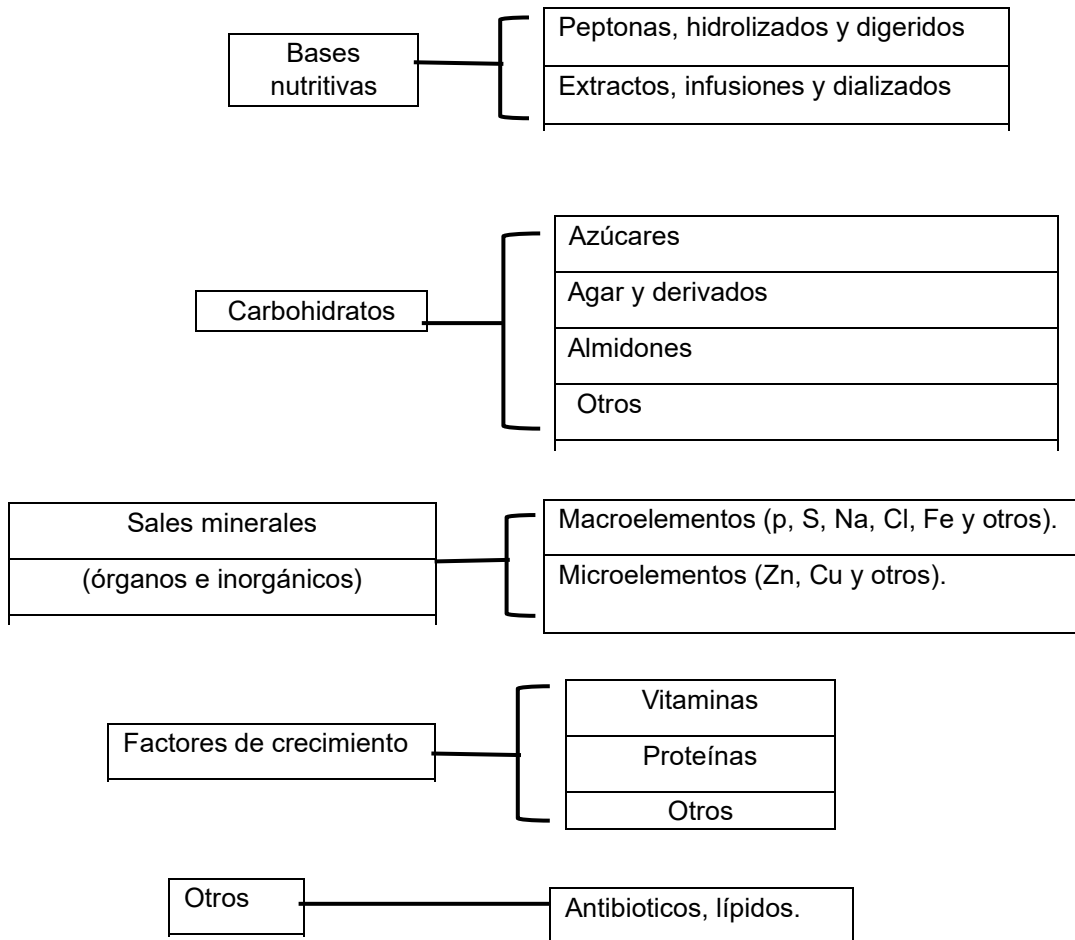
Escherichia, Citrobacter y Klebsiella. Los coliformes fecales son un tipo específico de coliformes que tienen la capacidad de descomponer la lactosa a una temperatura de 44,5°C.

- d) **Mohos y levaduras:** Existe una amplia gama de especies, en su mayoría aeróbicas, pero con algunas facultativas, que se alimentan mediante heterotrofia extrayendo energía de sustancias orgánicas que se encuentran en el suelo y el agua. Las levaduras, que son hongos unicelulares, se presentan en varios colores como blanco, rosa, beige o rojo, y tienen forma esférica, alargada u ovalada. Su tamaño puede oscilar entre 2,5 y 10 micrómetros de ancho y entre 4,5 y 21 micrómetros de largo. Estas bacterias se encuentran comúnmente en la naturaleza, ya sea como componente natural de los microorganismos de los alimentos o como contaminantes. Una pequeña porción de las levaduras posee la capacidad de descomponer carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos de los alimentos, provocando la producción de olores desagradables, alteraciones del sabor y color en las superficies contaminadas y la creación de un ambiente que promueve el crecimiento de bacterias dañinas.

#### **2.4.12. Medios de cultivo**

El medio de cultivo puede describirse como un conjunto de componentes o sustancias que proporcionan a las bacterias u otras células los nutrientes esenciales necesarios para su supervivencia y crecimiento. Estos elementos o compuestos pueden proceder de fuentes orgánicas o inorgánicas, y pueden ser naturales o artificiales. Su función principal es facilitar la expansión del organismo o célula, establecer su carácter distintivo o especialización entre un conjunto de organismos o células, e incluso impedir el progreso de otros. Los componentes de los medios culturales pueden clasificarse en función de sus características y funciones inherentes (47):

## Agua



Fuente: "Manual de medios de cultivo" 2018 (47).

El agua es un componente esencial para el crecimiento y la proliferación de los microorganismos. El disolvente se encarga de disolver los elementos del medio y actúa como portador de las células y sus subproductos. El agua es el medio óptimo para la locomoción y el sustento de varios microorganismos que poseen sus propios medios de movimiento.

- **Métodos más utilizados para el análisis microbiológico de los alimentos:**

Las principales técnicas utilizadas para la detección y medición de microorganismos incluyen:

**a) Recuento en placa.**

Este método en particular es un enfoque ampliamente utilizado para evaluar la cantidad de células viables o unidades formadoras de colonias en productos alimenticios. Su capacidad para estimar con precisión el número de células viables es una ventaja notable. Además, las colonias visibles suelen formarse en aproximadamente 24 horas. Si bien no identifica cada bacteria individual, identifica efectivamente las más importantes al evaluar la calidad de los alimentos. Por ejemplo, puede detectar mesófilos aeróbicos, que proporcionan una indicación general de la población microbiana en una muestra específica. Este método cuantifica la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) que se encuentran en un solo gramo o mililitro de muestra. Se considera que cada colonia que emerge en el medio de cultivo elegido durante un período de incubación específico a la temperatura óptima tiene su origen en un microorganismo o grupo de microorganismos presentes en la muestra analizada.

**b) Método del Número Más Probable.**

Se trata de un examen cuantitativo del recuento de células vivas mediante enfoques estadísticos. Este enfoque se basa en la detección de la presencia o ausencia (positiva o negativa) de determinadas propiedades de una especie microbiana concreta en una muestra mediante el examen de duplicados de diluciones sucesivas.

## **2.5. Marco conceptual**

**Fertilizantes:** Son insumos agrícolas que, utilizados adecuadamente, mejoran el rendimiento de los cultivos a corto plazo.

Los **bioestimulantes** son sustancias orgánicas utilizadas para potenciar el crecimiento y el desarrollo de las plantas, así como para reforzar su resistencia frente a factores de estrés bióticos y abióticos.

Los microorganismos incluyen bacterias, protozoos, algas y hongos.

**Lactobacillus:** Bacteria perteneciente al género Lactobacillus, la palabra acidophilus denota una preferencia por los ambientes ácidos.

**Actinomyces:** Bacteria aerobia, Gram positiva, filamentosa, algo resistente a los ácidos y heterótrofa.

**Trichoderma:** Las especies de Trichoderma predominan en medios terrestres, concretamente en suelos forestales y agrícolas.

**Agar:** Es un medio de cultivo de tipo sólido.

**Caldo:** Es un medio de cultivo de tipo líquido.

**Cepa:** Conjunto de bacterias u hongos que presentan rasgos biológicos idénticos, pertenecientes a la misma especie, derivados de un único aislamiento.

**ATCC:** American Type Culture Collection.

## **CAPITULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Materiales**

##### **3.1.1. Muestra de Bioestimulante.**

Las instalaciones de JMC SAC en el distrito de Cachimayo, provincia de Anta, departamento de Cusco, a una altitud de 3.754 metros sobre el nivel del mar, fueron el lugar de recogida de las muestras. En junio se esterilizó la fábrica y el laboratorio de microbiología de la escuela profesional de bioquímica y farmacia recibió la nueva muestra en recipientes de vidrio sellados. (Fotografía N° 1)

##### **3.1.2. Material Microbiológico**

- Cepa de *Lactobacillus Acidophilus* ATCC® 4356 que fueron adquiridos del laboratorio GenLab del Perú S.A.C.
- Cepa de *Actinomyces Viscosus* ATCC® 15987 que fueron adquiridos del laboratorio GenLab del Perú S.A.C
- Cepa aislada de *Trichoderma Harzianum* Spp, adquirida de Corporación Laboratorios BIOplag E.I.R.L.

##### **3.1.3. Medios de cultivo**

- Agar Papa Dextrosa
- Agar Sangre
- Caldo MRS
- Agar Dextrosa Sabouraud
- Agar Triptona de Soya
- Agar MRS
- Caldo Triptona de Soya
- Agar de MacConkey
- Agar Salmonella Shiguella

#### **3.1.4. Materiales de laboratorio**

- Algodón
- Pipetas 2 mL, 5 mL y 10 mL
- Tubos de ensayo 5 mL, 10 mL y 20 mL
- Micropipetas graduadas 0.5  $\mu$ l , 1000  $\mu$ L
- Probetas 25, 50 y 100 mL
- Mechero Bunsen
- Vasos de precipitado 50 mL, 100 mL, 500 mL y 1000 mL.
- Matraz de base redonda 250 y 500 mL
- Asa de deganski
- Placas Petri.
- Soporte universal y llaves
- Gradillas.
- Asa de siembra
- Jarras de anaerobiosis

#### **3.1.5. Equipos de laboratorio**

- Baño María
- Balanza analítica de sensibilidad 0.0001 g.
- Incubadora
- Autoclave

#### **3.1.6. Otros materiales**

- Mandil descartable
- Gorro
- Barbijos
- Plumones de tinta indeleble
- Gasas
- Algodón
- Papel indicador de pH



- Hisopos estériles
- Papel crepado para esterilización
- Plástico films
- Cinta de esterilización autoclave
- Tijera estéril
- Pabilo
- Ligas
- Detergente
- Lejía
- Papel toalla
- Bolsa de papel Craft
- Cuaderno de campo
- Cámara Fotográfica Digital.
- Lápices y lapiceros
- Cinta adhesiva

### **3.2. Diseño metodológico de la investigación**

#### **3.2.1. Tipo y nivel de investigación**

El presente estudio, tal y como señalan Hernández Sampieri R et al., es de carácter aplicado y tiene un alcance exploratorio y correlacional, con el objetivo de evaluar la relación entre las variables: bioestimulante líquido derivado de los restos de cerveza y la proliferación de microorganismos beneficiosos. Una técnica cuantitativa proporcionará un valor numérico final a las variables estudiadas (48).

#### **3.2.2. Diseño de la investigación**

Según al diseño, la presente investigación es de tipo cuasi experimental, ya que se tiene un grupo intacto para la comparación y se manipulara la variable independiente (bioestimulante) en distintas concentraciones para poder evaluar el efecto en la variable dependiente (crecimiento de microorganismos benéficos), es de corte transversal ya que la recolección de datos se dará en un único momento.

Las bacterias se cultivan en laboratorio, concretamente in vitro, utilizando cantidades variables de residuos de cerveza como bioestimulante. A continuación, se evalúa su desarrollo y se compara con un grupo de control que no recibe el bioestimulante. Los cultivos se someten a periodos de incubación de 24, 48 y 72 horas.

La investigación es transversal, lo que significa que investiga la correlación entre variables observables durante un periodo de tiempo determinado. Además, el análisis de los datos es prospectivo, ya que se basa en la ocurrencia de sucesos.

### 3.2.3. Diseño piloto de la investigación

Esta investigación es cuasiexperimental, ya que apenas se modifican las variables dependientes.

#### A) Diseño de prueba piloto para la determinación de concentración del bioestimulante líquido, elaborado a partir de cerveza residual.

Tabla N° 1: Diseño de prueba piloto para determinar la concentración del bioestimulante.

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	TRATAMIENTO DE PRUEBA
$G_c (+)$	$X_1(+)$	$O(+)$
$G_c (-)$	$X_1(-)$	$O(-)$
$G_1$	$X_1, X_2, X_3$	$O_1$
$G_2$	$X_1, X_2, X_3$	$O_2$
$G_3$	$X_1, X_2, X_3$	$O_3$
$G_4$	$X_1, X_2, X_3$	$O_4$
$G_5$	$X_1, X_2, X_3$	$O_5$
$G_6$	$X_1, X_2, X_3$	$O_6$

Donde:

- $G_c(+)$ ,  $G_c(-)$  = Grupos controles positivos y negativos.

- $G_1, G_2, G_3$  y  $G_4$  = Bioestimulante líquido al 20%, 30%, 40%, 50%, 75% y al 100%.
- $X_1, X_2$  y  $X_3$  = Cepas de Trichoderma, Lactobacillus y Actinomyces.
- $O_1, O_2$  y  $O_3$  = Observación y medición del crecimiento de los microorganismos, con el conteo de colonias UFC después de la incubación a 24 horas, 48 horas, hasta 120 horas.

**B) Diseño cuasiexperimental para evaluar la actividad nutritiva del bioestimulante líquido con medio específico y no específico.**

**Tabla N° 2: Diseño para evaluar la actividad nutritiva con medio específico y no específico.**

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	TRATAMIENTO DE PRUEBA
$G_1$	$X_{1a}$ y $X_{1b}$	$O_{1a}$ y $O_{1b}$
$G_2$	$X_{2a}$ y $X_{2b}$	$O_{2a}$ y $O_{2b}$
$G_3$	$X_{3a}$ y $X_{3b}$	$O_{3a}$ y $O_{3b}$

Donde:

- $G_1, G_2$  y  $G_3$  = Cepas de microorganismos: Trichoderma Harzinium Spp, Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 y Actinomyces Viscosus ATCC 15987 respectivamente.
- $X_{1b}, X_{2b}$  y  $X_{3b}$  = Agar específico ( $H_2O$ ).
- $X_{1a}, X_{2a}$  y  $X_{3a}$  = Agar agar (bioestimulante).
- $O_1, O_2$  y  $O_3$  = Observación y medición del crecimiento de los microorganismos, con el conteo de colonias UFC/ml.

**C) Diseño cuasiexperimental para evaluar la actividad nutritiva del bioestimulante líquido para evaluar el desarrollo del microorganismo Lactobacillus acidophilus**

**Tabla N° 3: Diseño para determinación de la concentración eficaz de Lactobacillus acidophilus**

<b>GRUPO</b>	<b>TRATAMIENTO EXPERIMENTAL</b>	<b>TRATAMIENTO DE PRUEBA</b>
$G_C (+)$	$X (+)$	$O (+)$
$G_C (-)$	$X (-)$	$O (-)$
$G_1$	$X_1$	$O_1$
$G_2$	$X_2$	$O_2$
$G_3$	$X_3$	$O_3$

Donde:

- $G_C(+)$ ,  $G_C(-)$ = Grupos controles positivos y negativos.
- $G_1$ ,  $G_2$  y  $G_3$  = Cepas de Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 en Agar MRS.
- $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$  = Concentraciones diferentes del bioestimulante líquido al 50%, 75% y al 100%.
- $O_1$ ,  $O_2$  y  $O_3$  = Observación y medición del crecimiento de los microorganismos, con el conteo de colonias UFC después de la incubación a 37°C por 48 y 72 horas.

**D) Diseño cuasiexperimental para evaluar la actividad nutritiva del bioestimulante líquido para evaluar el desarrollo del microorganismo Actinomyces viscosus**

**Tabla N° 4: Diseño para determinación de la concentración eficaz de Actinomyces viscosus**

<b>GRUPO</b>	<b>TRATAMIENTO EXPERIMENTAL</b>	<b>TRATAMIENTO DE PRUEBA</b>
$G_C (+)$	$X (+)$	$O (+)$
$G_C (-)$	$X (-)$	$O (-)$
$G_1$	$X_1$	$O_1$

$G_2$	$X_2$	$O_2$
$G_3$	$X_3$	$O_3$

Donde:

- $G_c(+)$ ,  $G_c(-)$  = Grupos controles positivos y negativos.
- $G_1$ ,  $G_2$  y  $G_3$  = Cepas de *Actinomyces viscosus* ATCC 15987 en Agar Sangre en Anaerobiosis.
- $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$  = Concentraciones diferentes del bioestimulante líquido al 50%, 75% y al 100%.
- $O_1$ ,  $O_2$  y  $O_3$  = Observación y medición del crecimiento de los microorganismos, con el conteo de colonias UFC después de la incubación a 37°C por 24, 48 y 72 horas.

**E) Diseño cuasiexperimental para evaluar la actividad nutritiva del bioestimulante líquido para evaluar el desarrollo del microorganismo *Trichoderma harzianum***

**Tabla N° 5: Diseño para determinación de la concentración eficaz de *Trichoderma harzianum***

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	TRATAMIENTO DE PRUEBA
$G_c (+)$	$X (+)$	$O (+)$
$G_c (-)$	$X (-)$	$O (-)$
$G_1$	$X_1$	$O_1$
$G_2$	$X_2$	$O_2$
$G_3$	$X_3$	$O_3$

Donde:

- $G_c(+)$ ,  $G_c(-)$  = Grupos controles positivos y negativos
- $G_1$ ,  $G_2$  y  $G_3$  = Cepas de *Trichoderma harzianum* ATCC 42834 en Agar Papa Dextrosa.

- $X_1, X_2$  y  $X_3$  = Concentraciones diferentes del bioestimulante líquido al 50%, 75% y al 100%.
- $O_1, O_2$  y  $O_3$  = Observación y medición del crecimiento de los microorganismos, con el conteo de colonias UFC después de la incubación a 37°C por 24, 48 y 72 horas.

### **3.2.4. Definición conceptual y operacional**

### **3.3. Variables implicadas en el estudio**

- **VARIABLE INDEPENDIENTE**

**A) Actividad bioestimulante.** Los bioestimulantes son compuestos orgánicos utilizados para promover el crecimiento y el desarrollo de las plantas, al tiempo que refuerzan su resistencia frente al estrés biótico y abiótico, como las temperaturas elevadas, la humedad insuficiente o excesiva, la sal, la toxicidad y las plagas de insectos o enfermedades.

#### **Concentración del bioestimulante líquido al 50%, 75% y 100% a partir del residuo de cerveza artesanal**

**Definición conceptual:** Un bioestimulante es la composición química restante de la elaboración de cerveza artesanal que favorece el desarrollo de bacterias beneficiosas para el suelo.

**Naturaleza:** Cuantitativa

**Escala de medición:** Razón.

**Medición:** Directa.

**Instrumento de medición:** Probeta.

**Indicador:** Peso en mg del bioestimulante de cerveza residual / volumen de disolvente mL.

**Procedimiento de medición:** Mida la cantidad especificada de bioestimulante (en mililitros) con una probeta, extraiga un volumen adecuado con una micropipeta.

**Expresión final:** mL.

- **VARIABLE DEPENDIENTE**

**DESARROLLO DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS:**

**A) Lactobacillus**

**Definición conceptual:** El *Lactobacillus acidophilus* es una bacteria que favorece las condiciones ácidas. Esta bacteria prospera en entornos muy ácidos, con un pH de 4-5 o inferior. Prospera en condiciones ideales a unos 37 °C y puede soportar temperaturas de hasta un máximo de 45 °C. Está presente de forma inherente en varias fuentes alimentarias, como los lácteos, la carne, el pescado y los cereales.

**Naturaleza:** Cuantitativa

**Instrumento de medición:** Visualización del crecimiento del microorganismo (observar).

**Escala de medición:** De razón

**Expresión final:** UFC/mL

**Actinomyces**

**Definición conceptual:** Este organismo es un anaerobio facultativo que muestra un mayor crecimiento en presencia de dióxido de carbono. Las microcolonias en agar BHI, cultivadas aeróbicamente con dióxido de carbono, tuvieron una duración de 18-24 horas. Tras muchas transferencias, algunas cepas mostrarán la formación de microcolonias lisas caracterizadas por una forma circular, una superficie muy texturizada, un límite completo y, ocasionalmente, una pequeña zona central de aspecto negro.

**Naturaleza:** Cuantitativa

**Escala de medición:** De razón

**Instrumento de medición:** Visualización del crecimiento del microorganismo (observar)

**Expresión final:** UFC/mL.

## **B) Trichoderma**

**Definición conceptual:** El hongo se caracteriza por su forma reproductiva de este organismo son los conidios, mientras que sus estructuras de resistencia son las clamidosporas.

**Naturaleza:** Cuantitativa

**Escala de medición:** De razón

**Instrumento de medición:** Visualización del crecimiento del microorganismo (observar)

**Expresión final:** UFC/mL.

- **VARIABLES INTERVINIENTES**

### **A) Control de calidad organoléptico**

Las cualidades organolépticas de un producto incluyen todas las percepciones sensoriales de sus atributos físicos, como el sabor, la textura, el olor y el color. Existen varios perfiles sensoriales, que varían en función de la naturaleza del producto (48).

**Color:** Esta característica sirve como indicación de los procesos químicos que tienen lugar tras un determinado tratamiento térmico realizado a la comida. La existencia de varias variaciones de tonalidad es típica y no compromete la seguridad alimentaria.

**Definición conceptual:** Las percepciones se basan en la longitud de onda de la luz que llega a los órganos visuales.

Definición operacional:

**Naturaleza:** cualitativa

**Escala de medición:** ordinal

**Forma de medición:** directa

**Procedimiento:** captación por el sentido de la vista



**Instrumento:** ojos

**Expresión final:** +, ++, +++

**Olor:** A muchas personas les resulta difícil reconocer y explicar este rasgo. Varias sustancias volátiles que se encuentran en las comidas, ya sea en su estado natural o como consecuencia del procesado, lo deciden.

**Definición conceptual:** Este fenómeno provoca la volatilización de determinadas sustancias y se detecta mediante la percepción olfativa.

Definición operacional:

**Naturaleza:** cualitativo

**Escala de medición:** ordinal

**Forma de medición:** directa

**Procedimiento:** captación por el sentido del olfato

**Instrumento:** nariz

**Expresión final:** +, ++, +++

## **B) Control de calidad fisicoquímico**

**Definición conceptual:** Es necesario modificar los requisitos, recoger muestras, analizarlas y proporcionar los resultados de las pruebas para garantizar la calidad de las materias primas, los productos intermedios, los materiales de envasado y el producto final. Cumplimiento de las normas autorizadas de identidad y rasgos identificativos.

Indicadores:

### **- Densidad**

**Definición conceptual:** La densidad es una medida de la relación masa/volumen de un material, expresada en el Sistema Internacional como Kg/m<sup>3</sup>, con una subunidad de mg/ml.

Definición operacional:

**Naturaleza:** cuantitativo

**Forma de medición:** directo

**Escala de medición:** razón

**Instrumento:** densímetro

**Procedimiento:** Un picnómetro desprovisto de cualquier sustancia se pesa y se registra como tal. Seguimos llenando el picnómetro con solución hasta que esté lleno, y entonces tomamos otra lectura del peso. Hallamos la diferencia de peso entre el picnómetro lleno de solución y el vacío. Para obtener la densidad, dividimos el peso resultante por el volumen del picnómetro.

**Expresión final:** mg/ml

- pH

**Definición conceptual:** Un indicador de cuán ácida o alcalina es una solución.

Definición operacional:

**Naturaleza:** cuantitativo

**Forma de medición:** directo

**Escala de medición:** razón

**Instrumento:** pH metro.

**Procedimiento:** Sumerja la tira reactiva de pH en la muestra y analice la lectura según los patrones de color. Del mismo modo, se utilizará el potenciómetro para evaluar los valores de pH de las soluciones de propóleo.

**Expresión final:** Valor de pH

### **C) Control de calidad microbiológico(49)**

**Definición conceptual:** Método de evaluación utilizado para analizar y documentar los resultados subjetivos de una recopilación de datos representativa. Evalúa la selección adecuada de los sistemas de almacenamiento, el estado de los componentes de la formulación, las posibles interacciones entre ellos y la calidad del procesamiento del producto durante toda la fase de desarrollo. Hasta que llega al lugar designado.

Indicadores:

## **RECUESTO TOTAL DE MICROORGANISMOS AEROBIOS, MESÓFILOS VIABLES**

**Definición conceptual:** El recuento total de organismos aerobios termófilos se consideró equivalente al número de unidades formadoras de colonias identificadas,

Definición operacional:

**Naturaleza:** cuantitativa

**Forma de medición:** directa

**Escala de medición:** razón

**Instrumento:** siembra en placas Petri y el contador de colonias.

**Expresión final:** UFC/mL

## **RECUESTO TOTAL DE HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS DEFINICIÓN CONCEPTUAL**

**Definición conceptual:** La enumeración microbiana es el proceso de cuantificar el número de estos microorganismos en una muestra específica. Los microbiólogos y los profesionales del control de calidad utilizan este método en su trabajo. Consiste en cultivar microorganismos en un medio de agar especializado que favorece su desarrollo.

Definición operacional:

**Naturaleza:** cuantitativa

**Forma de medición:** directa

**Instrumento:** Contador de colonias.

**Escala de medición:** razón

**Expresión final:** UFC/mL

## **IDENTIFICACIÓN DE ESCHERICHIA COLI**

**Definición conceptual:** Escherichia coli es una bacteria en forma de bastoncillo clasificada como gramnegativa. Suele encontrarse en los

intestinos de los seres humanos y otros animales endotérmicos. La mayoría de las cepas son benignas; sin embargo, algunas pueden inducir enfermedades graves transmitidas por los alimentos. La infección por E. coli suele propagarse por la ingestión de alimentos y agua contaminados, incluida la carne poco hecha y la leche sin pasteurizar.

Definición operacional:

**Naturaleza:** cuantitativa

**Forma de medición:** directa

**Expresión final:** UFC/mL

**Escala de medición:** razón

**Instrumento:** siembra en placa Petri y un contador de colonias.

## **IDENTIFICACIÓN DE SALMONELLA**

**Definición conceptual:** La clasificación taxonómica del organismo es Salmonella. Son miembros de la familia Enterobacteriaceae. Las bacterias en cuestión son bacilos de Salmonella anaerobios y gramnegativos. La clasificación de estos organismos viene determinada por su lipopolisacárido (O), proteína estrella (H) y, en algunos casos, antígeno capsular (Vi). Existen alrededor de 2500 serotipos identificados. Pueden existir potencialmente muchas variaciones dentro del serotipo, cada una de las cuales presenta distintos niveles de toxicidad.

Definición operacional:

**Forma de medición:** directa

**Naturaleza:** cuantitativa

**Instrumento:** siembra en placa Petri y un contador de colonias.

**Escala de medición:** razón

**Expresión final:** UFC/mL

## OPERALIZACIÓN DE VARIABLES

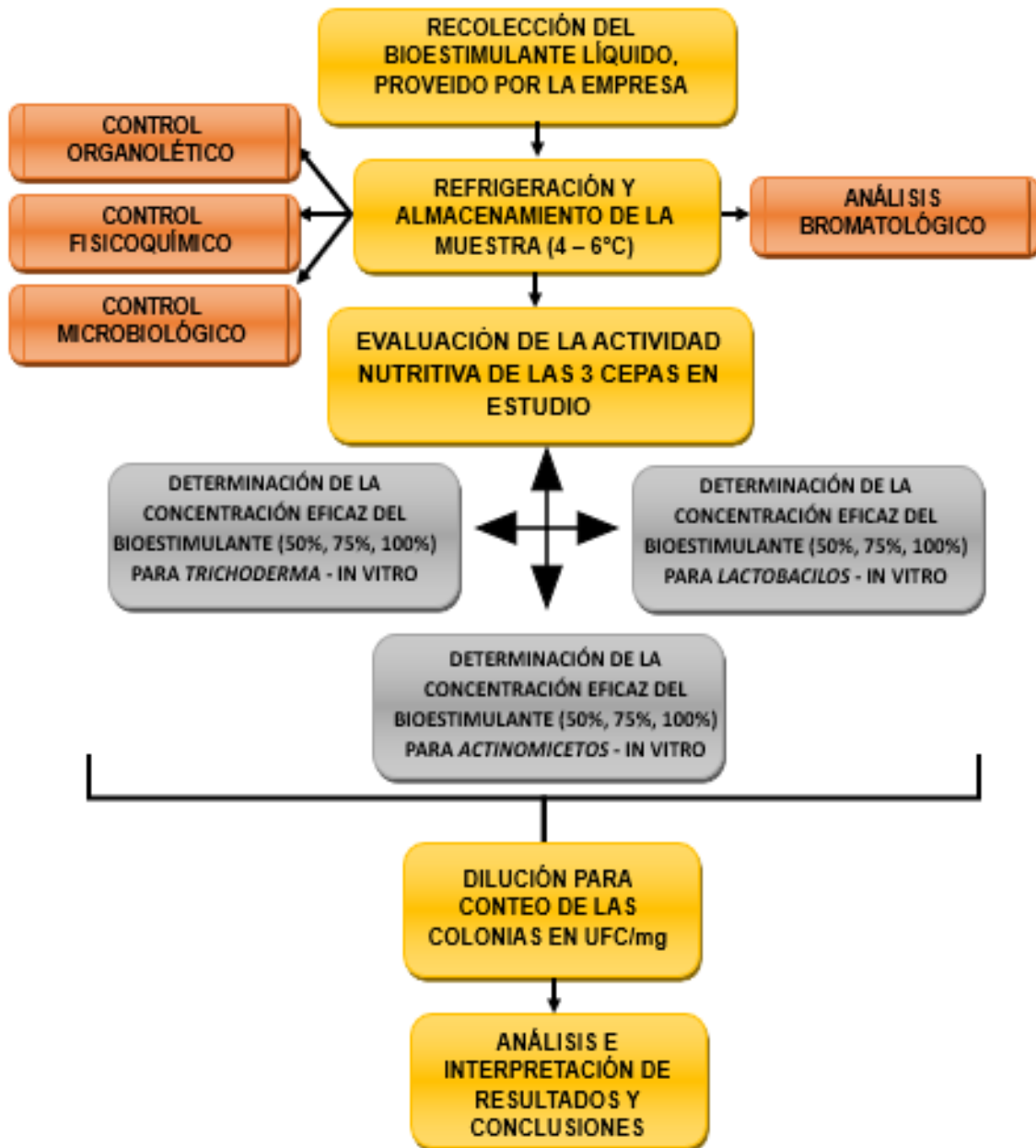
VARIABLE INDEPENDIENTE	VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	NATURALEZA/ ESCALA	FORMA DE MEDICIÓN	INSTRUMENTO	EXPRESIÓN FINAL
	Bioestimulante líquido elaborado a partir de cerveza residual.	Es un producto que estimula el crecimiento de las plantas a través de la síntesis de sustancias estimuladoras del crecimiento, nutrición de las plantas independientemente del contenido en nutrientes, con el objetivo de mejorar: la eficiencia en el uso de nutrientes, absorción, la tolerancia de las plantas al estrés abiótico y las características de calidad de los cultivos.	Se utilizará el bioestimulante a 3 concentraciones distintas del 50%, 75% y 100%, diluidos en agua destilada.	Volumen del bioestimulante líquido obtenido al 50%	Cuantitativa Razón	Directa	Probeta	ml
				Volumen del bioestimulante líquido obtenido al 75%	Cuantitativa Razón	Directa	Probeta	ml
				Volumen del bioestimulante líquido obtenido al 100%	Cuantitativa Razón	Directa	Probeta	ml

VARIABLE DEPENDIENTE	VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	NATURALEZA/ ESCALA	FORMA DE MEDICIÓN	INSTRUMENTO	EXPRESIÓN FINAL
	Desarrollo de microorganismos benéficos	El desarrollo de microorganismos benéficos, es la capacidad con la que estos toman del medio en el que se encuentran las sustancias que necesitan para la síntesis biológica de un nuevo microorganismo, generando así su crecimiento, ya que este es incapaz de sintetizar su propio alimento.	Se utilizará cultivarán in – vitro, los 3 microorganismos del estudio, para determinar su crecimiento con el número de colonias.	Trichoderma Harzianum Spp	Cuantitativa Razón	Directa	Visualización y conteo del crecimiento de los microorganismos (observar).	# UFC/ml
				Lactobacillus Acidophilus Cepa ATCC 4356	Cuantitativa Razón	Directa	Visualización y conteo del crecimiento de los microorganismos (observar).	# UFC/ml
				Actinomicetos Viscosus Cepa ATCC 15987	Cuantitativa Razón	Directa	Visualización y conteo del crecimiento de los microorganismos (observar).	# UFC/ml

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	NATURALEZA/ ESCALA	FORMA DE MEDICIÓN	INSTRUMENTO	EXPRESION FINAL
<b>Control de calidad</b>	El control de calidad eleva el nivel o calidad de los productos y servicios, aumentar la eficiencia y eficacia.	Se captará las características organolépticas, con el sentido visual(color), del olfato (olor).	Control de calidad organoléptico	Olor Color Aspecto	Cualitativo Ordinal	Directa	Sentidos	+, ++, +++
		Se mide la relación masa/volumen de una sustancia y cuán ácida o alcalina es una sustancia.	Control de calidad fisicoquímico	Densidad pH	Cuantitativa Razón	Directa	Densímetro, pH metro	mg/mL, valor del pH
		Recuento de aerobios, mesófilos viables, hongos filamentosos y levaduras, Escherichia coli, salmonella.	Control de calidad microbiológico	Aerobios mesófilos Hongos y levaduras, E. coli, Salmonella.	Cuantitativa Razón	Directa	Siembra en placa Petri y un contador de colonias	UFC/ml
<b>Análisis bromatológico</b>	Conjunto de pruebas que evalúan características que confieren calidad de las propiedades presentes en el bioestimulante líquido elaborado de cerveza residual.	Cuantificación de materia grasa mediante diferencia de pesos	Grasas	-	Cuantitativa Razón	Directa	Balanza analítica	%
		Cuantificación de proteínas mediante cálculos de volumen y peso, mediante el método Kjeldahl	Proteínas	-	Cuantitativa Razón	Directa	Balanza analítica	%
		Cuantificación de carbohidratos mediante cálculos de otros componentes	Carbohidratos	-	Cuantitativa Razón	Directa	Balanza analítica	%
		Cuantificación de fibra bruta mediante diferencia de pesos	Fibra	-	Cuantitativa Razón	Directa	Balanza analítica	%
		Cuantificación de cenizas totales mediante diferencia de pesos	Cenizas	-	Cuantitativa Razón	Directa	Balanza analítica	%

### 3.3. Procedimiento experimental

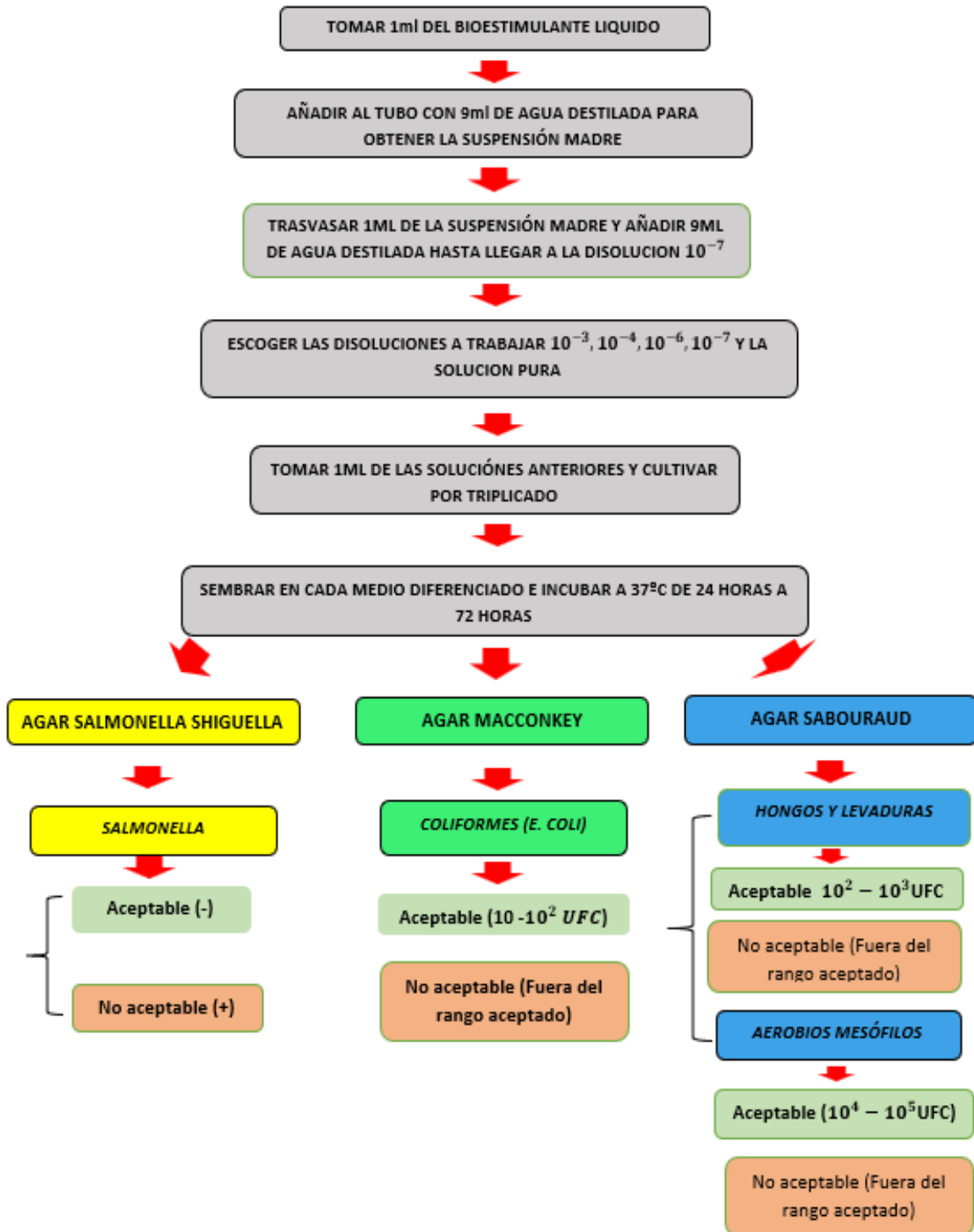
Flujograma N° 1: Procedimiento general de la investigación



FUENTE: Elaboración propia

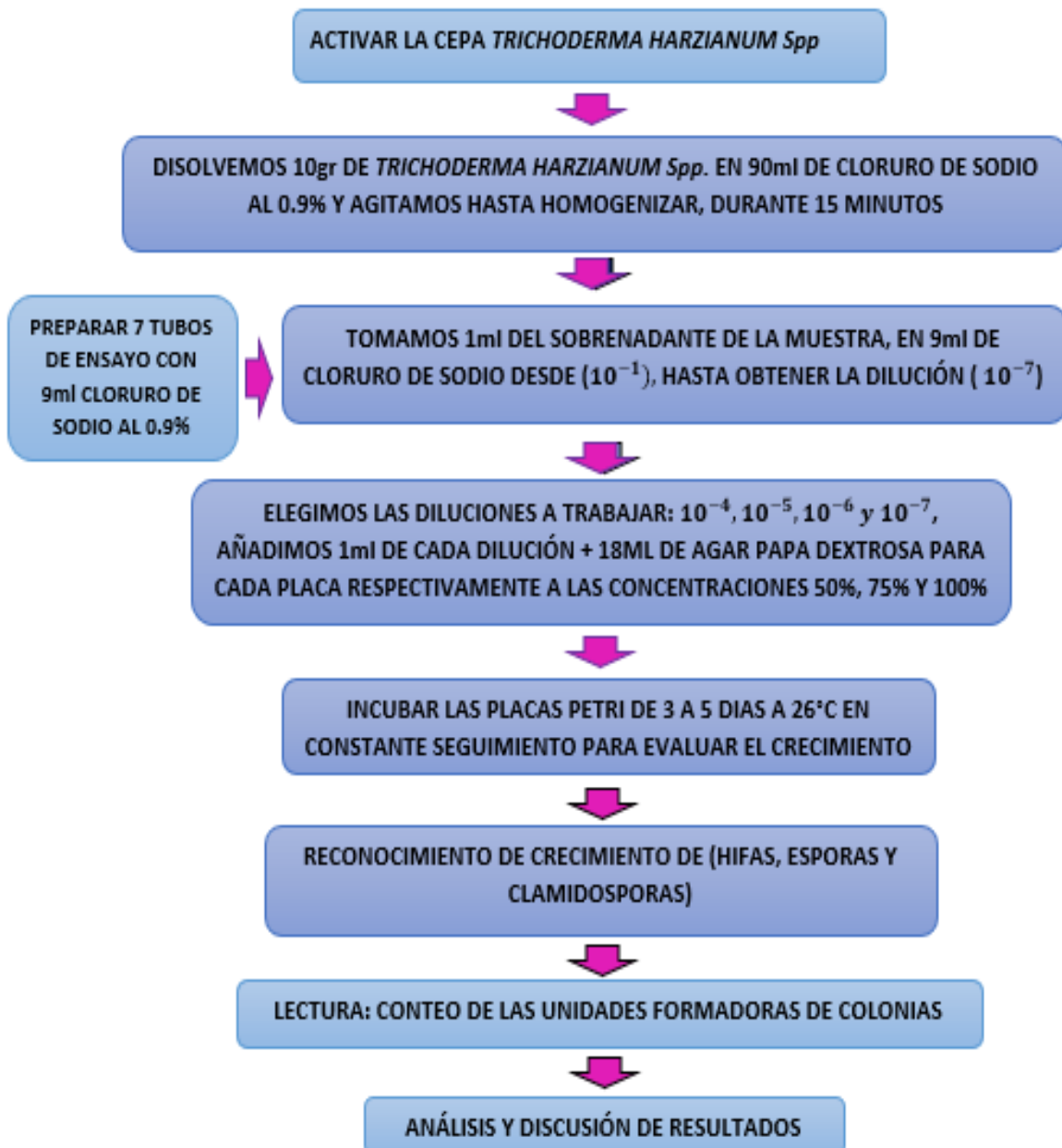


**Flujograma N°2: Control de calidad microbiológico del bioestimulante líquido elaborado a partir de cerveza residual.**



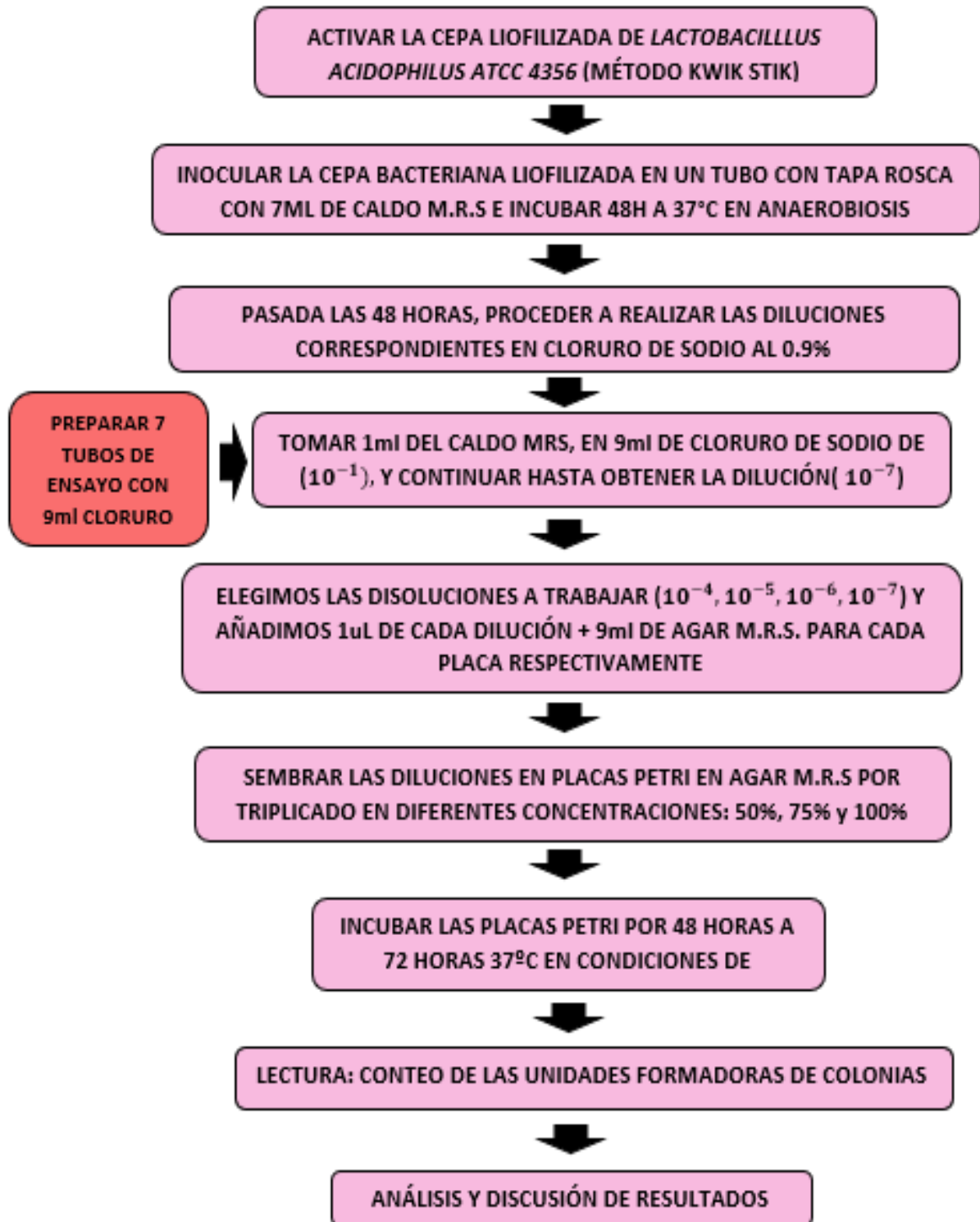
FUENTE: Elaboración propia

### Flujograma N°3: Aislamientos de la cepa *Trichoderma Harzianum Spp*



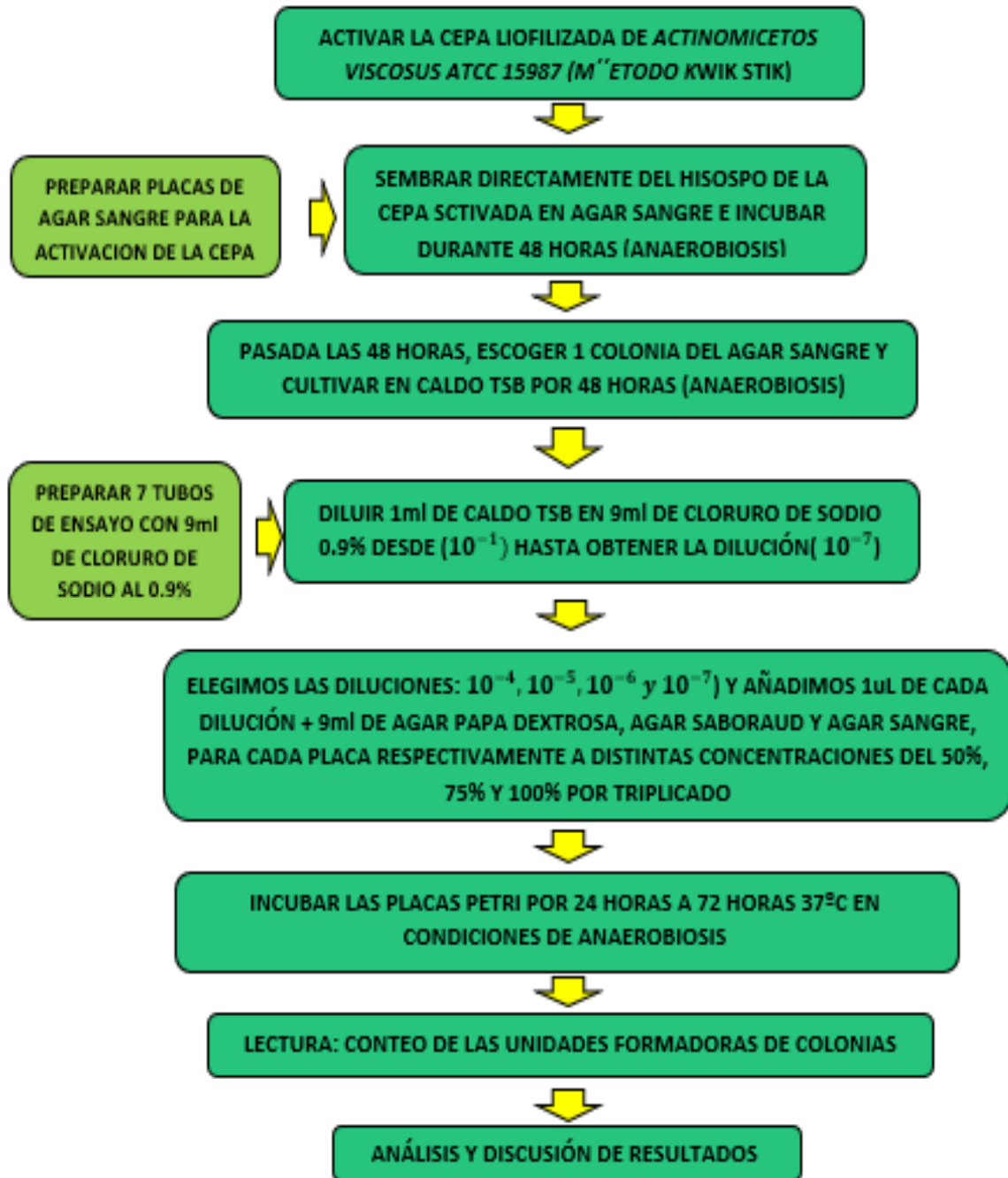
FUENTE: Elaboración propia

**Flujograma N°4: activación de la cepa y estandarización de la dilución de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356**



FUENTE: Elaboración propia

**Flujograma N°5: Activación de la cepa y estandarización de la dilución de *Actinomyces viscosus* ATCC 15987**



FUENTE: Elaboración propia

### **3.4. Determinación de la actividad bioestimulante en las cepas**

#### **3.4.1. Activación de la cepa bacteriana ATCC N° 4356**

Las cepas de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 fueron adquiridas en el laboratorio GenLab del Perú S.A.C. La cepa fue inoculada en agar MRS para activarla, según las recomendaciones del laboratorio. Luego se incubó a 37°C durante 24 horas.

#### **3.4.2. Conservación de las bacterias**

La cepa bacteriana se mantuvo en un tubo de ensayo sellado que contenía 4mL de caldo MRS correctamente etiquetado y codificado, en las jarras de anaerobiosis, posteriormente incubado a 37°C durante 48 horas y luego se hizo la siembra en las placas con agar MRS para su conservación y se mantuvo a 4°C en un frigorífico. Cada 15 días, la cepa se trasladó a un nuevo medio para su conservación.

#### **3.4.3. Procedimiento de determinación de la concentración ideal para el crecimiento bacteriano.**

1. Para comenzar el experimento, se eligió 1 colonia de la placa previamente cultivada con la bacteria en el agar, utilizando una Asa de Siembra, y luego se colocó en una incubadora a 37°C durante 6 horas.
2. El ajuste de turbidez se logró comparando la turbidez con la escala Mac Farland, asegurando que se use la adecuada dilución para la siembra.
3. Para crear una dilución 1/10, se combinó 1 ml de caldo MRS bacteriano con 9 ml de NaCl al 0.9%, hasta llegar a la dilución 1/10000000 (desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-7}$ ).
4. Se realizó el cultivo por triplicado en las placas con bioestimulante a las distintas concentraciones (50%, 75% y 100%), más agar agar, así como también se realizó el cultivo en las placas con el agar selectivo MRS más el bioestimulante al 50%, 75% y 100% (como diluyente).
5. Se dejó incubar durante 48 horas a 37°C en anaerobiosis, para posteriormente dar lectura al número de colonias formadoras en las respectivas diluciones.

6. Se realizó el conteo de colonias respectivamente para todas las concentraciones del 50%, 75% y 100%, y en todas las diluciones (desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-7}$ ).
7. Se tomó en cuenta sólo las placas dentro del rango aceptable de 30 a 300 colonias respectivamente.

#### **3.4.4. Activación de la cepa bacteriana ATCC N° 15987**

Las cepas de *Actinomyces viscosus* ATCC 15987 fueron adquiridas en el laboratorio GenLab del Perú S.A.C. La cepa se activó por inoculación en agar sangre, siguiendo las instrucciones del laboratorio. Luego se incubó en condiciones anaeróbicas a 37°C durante 48 horas.

#### **3.4.5. Conservación de las bacterias**

Después de que se haya reproducido la bacteria en el agar sangre, se escogió sólo una colonia para su replicación y se colocó con ayuda de un asa en un tubo de ensayo sellado que contenía 10mL de caldo TSB debidamente etiquetado, en condiciones de anaerobiosis a 37°C durante 48 horas. Tras la incubación, el tubo de ensayo se guardó en un frigorífico a una temperatura de 4°C.

#### **3.4.6. Procedimiento de determinación de la concentración ideal para el crecimiento bacteriano.**

1. Se comparó la turbidez del caldo TSB bacteriano con la turbidez con la escala Mac Farland, asegurando que se use la adecuada dilución para la siembra.
2. Para crear una dilución 1/10, se combinó 1 ml de caldo TSB bacteriano con 9 ml de NaCl al 0.9%, hasta llegar a la dilución 1/100000000 (desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-8}$ ).
3. Se realizó el cultivo por triplicado en las placas con bioestimulante a las distintas concentraciones (50%, 75% y 100%), más agar agar, así como también se realizó el cultivo en las placas con el agar selectivo sangre más el bioestimulante al 50%, 75% y 100% (como diluyente).
4. Se dejó incubar durante 72 horas a 37°C en anaerobiosis, para posteriormente dar lectura al número de colonias formadoras en las respectivas diluciones.

5. Se realizo el conteo de colonias respectivamente para todas las concentraciones del 50%, 75% y 100%, y en todas las diluciones (desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-8}$ ).
6. Se tomo en cuenta sólo las placas dentro del rango aceptable de 30 a 300 colonias respectivamente.

#### **3.4.7. Activación de la cepa bacteriana Spp.**

Las cepas de *Trichoderma harzianum* Spp. obtenidas de Corporación Laboratorios BIOplag E.I.R.L., fueron activadas sembrándolas en NaCl al 0.9%, siguiendo las recomendaciones del laboratorio.

#### **3.4.8. Conservación de las bacterias.**

Se peso 10gr de la cepa de *Trichoderma harzianum*, y se diluyo en 90ml de NaCl al 0.9%, y se agito homogéneamente durante 15min, con el fin de usar el sobrenadante.

#### **3.4.9. Estandarización de la curva de crecimiento bacteriano.**

1. Para comenzar el experimento, se prepararon tubos de ensayo con 9ml de NaCl, para crear una dilución 1/10, se combinó 1 ml de la dilución bacteriana con 9 ml de NaCl al 0.9%, hasta llegar a la dilución 1/10000000 (desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-7}$ ).
2. Se realizo el cultivo por triplicado en las placas con bioestimulante a las distintas concentraciones (50%, 75% y 100%), más agar agar, así como también se realizó el cultivo en las placas con el agar selectivo Papa Dextrosa más el bioestimulante al 50%, 75% y 100% (como diluyente).
3. Se dejo incubar durante 4 días a  $26^{\circ}\text{C}$ , para posteriormente dar lectura al número de colonias formadoras en las respectivas diluciones.
4. Se realizo el conteo de colonias respectivamente para todas las concentraciones del 50%, 75% y 100%, y en todas las diluciones (desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-7}$ ).
5. Se tomo en cuenta sólo las placas dentro del rango aceptable de 30 a 300 colonias respectivamente.

### 3.5. Procedimiento para el perfil bromatológico

#### A. Obtención del porcentaje de grasa

La determinación del extracto etéreo se realiza utilizando un sistema Soxhlet de extracción de grasas, un matraz redondo de fondo plano, éter de petróleo, cartuchos de extracción de grasas y una muestra de 3 a 5 gramos (51):

#### PROCEDIMIENTO:

- A) Se coloca el cartucho en la estufa para que sece aproximadamente por unos 10min, luego se pone en un desecador para así obtener el peso real y constante, se anota el peso del cartucho.
- B) Se pesa de 3 a 5gr de la muestra a evaluar y se procede a colocar el cartucho.
- C) Se introduce el cartucho en el equipo que va a determinar la grasa (Soxhlet).
- D) Al matraz ya mencionado de fondo plano se le van a añadir 400ml de éter de petróleo.
- E) Posterior a ello se tendrá que abrir la llave del agua, para que pueda circular por el refrigerante y así se evite que el éter se evapore rápidamente.
- F) Se encenderá el calentador a una temperatura de 6 y se tendrá que dejar la muestra aproximadamente de 6 a 8 horas para que pueda iniciar la ebullición.
- G) Después del tiempo transcurrido se deberá sacar el cartucho y se llevará de nuevo a la estufa en donde se desecará aproximadamente por unas 24 horas.
- H) Una vez que ya haya transcurrido el tiempo necesario, se tendrá que volver a sacar el cartucho y llevar al desecador de vidrio en donde se va a dejar durante unos 10 minutos, para posterior a ello se pese y registre.
- I) Para determinar el porcentaje de Grasa, se utilizará la siguiente fórmula:

$$\% EE BH = \frac{(Pcs+gr.m)-(Pc+MD)}{gr.m^4} \times MS$$

$$\% EE BS \text{ al } 100\% = \frac{\% EE BH}{MS} \times 100$$



$$\%EE\ BS\ al\ 90\% = \%EE\ BS\ al\ 100\% \times 0.9$$

**Donde:**

**Pcs**= Peso de cartucho solo.

**Pc+MD**= Peso de cartucho más muestra desgrasada.

**Gr.m**= Gramos de muestra.

**MS**= Muestra seca.

**%EE BS al 100%**= Porcentaje de extracto etéreo en base seca al 100%.

**%EE BS al 90%**= Porcentaje de extracto etéreo en base seca al 90%.

**%EE BH**= Porcentaje de extracto etéreo en base húmeda.

## **B. Obtención del porcentaje de proteínas**

Para este método se utilizará el matraz Kjeldahl, aproximadamente unos 15ml de ácido sulfúrico, 1.5gr de la muestra y 1.5 de la mezcla catalizadora, más 5 perlas, y se hará lo siguiente (51):

- A) En el matraz Kjeldahl se colocará la muestra en su peso total, que serán 1.5gr de muestra previamente pesadas, más los 1.5gr de la mezcla catalizadora junto a los 15ml del ácido sulfúrico concentrado y las 5 perlas.
- B) A continuación, la muestra se coloca en el aparato Kjeldahl, que funciona como digestor a una temperatura aproximada de 6° a 7°, y se activa el aparato hasta que alcanza una tonalidad verde esmeralda. Una vez alcanzado el periodo especificado, la muestra se desactiva y se deja enfriar, mientras que el extractor permanece operativo durante 30 minutos más.
- C) Para el procedimiento de destilación, se añadirán 300 ml de agua destilada a la muestra enfriada.
- D) Introducir en el matraz unas 10 gotas de reactivo indicador rojo de metilo y 50 ml de ácido bórico al 4% para obtener una tonalidad fucsia.
- E) En otro vaso de precipitados de 50 ml, mezcla 40 ml de hidróxido sódico al 40% y sepáralos.
- F) El matraz Kjeldahl se coloca encima del equipo de digestión, que se activa a una temperatura de 6° a 7°. Al alcanzar un tono amarillo, se extraen 200 ml del contenido y se desactiva el aparato.

- G) Para la valoración final, llenar la bureta automática con ácido clorhídrico a 0,1 de normalidad. Colocar un matraz de 200 ml, añadir el contenido recuperado del paso anterior y dejar que el ácido clorhídrico se dispense gota a gota hasta alcanzar un color fucsia. Registrar el volumen utilizado.
- H) Por último, se calcula el % de proteína mediante el método siguiente:

$$\% \text{ PC BS al } 100\% = \frac{mlU \cdot XN.A. \cdot X 0.014 \cdot X 6.25}{gr.m^2} \times 100$$

$$\% \text{ PC BH} = \frac{\% \text{ PC BS al } 100\%}{100} \times MS$$

$$\% \text{ PC BS al } 90\% = \% \text{ PC BS al } 100\% \times 0.9$$

**Donde:**

**ml U**= Mililitros utilizados.

**N.A.**= Normalidad del ácido.

**Gr.m**= Gramos de muestra.

**MS**= Muestra seca.

**%PC BS al 100%**= Porcentaje de proteína cruda en base seca al 100%.

**%PC BS al 90%**= Porcentaje de proteína cruda en base seca al 90%.

**%PC BH**= Porcentaje de proteína cruda en base húmeda.

### **C. Obtención del porcentaje de cenizas**

Este procedimiento se realizará con el método de incineración directa para lo cual se va a necesitar el horno, el crisol y aproximadamente 1.5gr de la muestra y se procederá con los siguientes pasos (52):

- A) Se coloca el crisol en la estufa por unos 10 minutos y se procede a retirar para llevarlo a un desecador de vidrio por otros 10 minutos más, para así lograr obtener un peso constante del crisol a usar y se anota el peso.
- B) Se introducen 1,5 g de la muestra desecada en el crisol y se coloca en el horno a 550°C durante unas 4 horas. Posteriormente, se extrae la muestra y se deja enfriar en el horno una vez desactivada.
- C) Posterior a ello se retira con pinzas y se lleva una estufa desecadora por 10 minutos, posterior a ello se pesa y se anota en la hoja de registros y se determina el porcentaje de Cenizas Totales con la siguiente formula:

$$\% CT BH = \frac{(Pc+C)-Pcs}{gr.m^3} \times MS$$

$$\% CT BS \text{ al } 100\% = \frac{\% CT BH}{MS} \times 100$$

$$\% CT BS \text{ al } 90\% = \% CT BS \text{ al } 100\% \times 0.9$$

**Donde:**

**Pcs**= Peso de crisol solo.

**Pc+C**= Peso de crisol más cenizas.

**gr.m**= Gramos de muestra.

**MS**= Muestra seca.

**%CT BS al 100%**= Porcentaje de cenizas totales en base seca al 100%.

**% CT al 90%**= Porcentaje de cenizas totales en base seca al 90%.

**%CT BH**= Porcentaje de ceniza totales en base húmeda.

**D. Obtención de fibra cruda**

Este se desarrolló con el método N°930.20 de la norma A.O.A.C. con algunas modificaciones, como se desarrolla a continuación (52):

- A) Se pesa 1g de la muestra a determinar, se coloca le total en un vaso precipitado de 400ml y se procede a añadir 100ml de ácido sulfúrico al 1.35% y se deja por 30 minutos hirviendo a 100°C.
- B) Posterior a ello se filtrará la muestra y se procede a lavar con agua hirviendo hasta llegar a un último lavado con características neutras.
- C) El residuo se deberá trasladar a un vaso precipitado de 400ml y se le añade aproximadamente 100ml de hidróxido de sodio al 1.25% y se deja hervir a 100°C durante unos 30 minutos.
- D) Terminado el proceso de hidrolisis se volverá a filtrar la solución y se repite el lavado con agua caliente, hasta obtener un lavado de tipo neutro.
- E) Se seca la muestra a unos 105°C por 3 horas, para así lograr un peso constante, este procedimiento se puede repetir hasta por triplicado y se halla con la siguiente fórmula:

$$F=MS-(\%EE BH + CT BH)$$

$$\% FC BH = \frac{(Pp+M)-Pps}{gr.m^5} \times F$$

$$\% FC BS al 100\% = \frac{\% FC BH}{MS} \times 100$$

$$\% FC BS al 90\% = \% FC BS al 100\% \times 0.9$$

**Donde:**

**F= Factor**

**Pps=** Peso del papel solo.

**Pp+M=** Peso de papel más muestra.

**gr.m=** Gramos de muestra.

**MS=** Muestra seca.

**%FC BS al 100%=** Porcentaje de fibra cruda en base seca al 100%.

**%FC BS al 90%=** Porcentaje de fibra cruda en base seca al 90%.

**%FC BH=** Porcentaje de fibra cruda en base húmeda.

### **E. Obtención del porcentaje de carbohidratos**

Para la determinación del porcentaje de carbohidratos se utilizó la siguiente fórmula, a partir de los resultados de los porcentajes de ceniza, grasa, proteína y fibra:

**% DE CARBOHIDRATOS**

$$= 100 - (\% \textit{proteinas} + \% \textit{fibra} + \% \textit{cenizas} + \% \textit{lípidos})$$

## CAPITULO IV

### ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Análisis fisicoquímico del bioestimulante líquido

##### Control de calidad fisicoquímico

El análisis fisicoquímico se realizó en el laboratorio de Microbiología de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, en el que se evaluó la cerveza residual a 2 temperaturas en cada caso (4°C y 20°), para obtener así los valores de pH y para la densidad.

**Tabla 6: Resultado de los factores fisicoquímicos del bioestimulante líquido.**

	pH		Densidad (g/cc)	
	4°C	27°C	4°C	20°C
<b>Muestra pura</b>	4.55	4.69	1. 0376	1.0196

**Fuente:** Datos experimentales obtenidos en laboratorio.

##### Resultados e interpretación

En la tabla 6, se observa los factores fisicoquímico evaluados en la investigación que son el pH y la densidad, ambas fueron examinadas en el laboratorio de microbiología, en donde se determina que el pH de la muestra es ligeramente ácido y este a su vez oscila de 4.55 – 4.69. Así como también se observa que la densidad del bioestimulante líquido es de 1. 0376 a 4°C y de 1.0196 a 20 °C.

##### Análisis y discusión

Según Torres M; y colab. (2022), menciona que la vinaza (subproducto del etanol), tiene un pH ácido dentro del rango de 3.5 a 5.0 (11), lo que concuerda con nuestros valores de pH de la muestra fueron ligeramente ácidos, oscilando entre 4.55 a 4°C y 4.69 a 20°C. Este rango de acidez es coherente con el ambiente necesario para muchos microorganismos

benéficos, como *Lactobacillus*, *Trichoderma*, que prefieren condiciones ácidas para su óptimo desarrollo. Según Pacheco (2021), el género *Actinomyces* que tienen poca tolerancia en un medio ácido (29). La acidez también es beneficiosa para la estabilidad del producto y su efectividad como bioestimulante, ya que el pH bajo contribuye a la inhibición de agentes patógenos en el suelo y puede mejorar la disponibilidad de algunos micronutrientes esenciales para el crecimiento de plantas y microorganismos en suelos.

Según Fernández M. (2022), quien analizó la densidad de material bioestabilizado en donde obtuvo (1.028 a 1.034), pero esto fue a 30°, lo que hace la diferencia con nuestra muestra mostró una disminución al aumentar la temperatura, pasando de 1.0376 g/cc a 4°C a 1.0196 g/cc a 20°C, este cambio es típico debido a la expansión térmica de los líquidos. Sin embargo, es importante en el contexto agrícola, ya que una densidad adecuada puede facilitar la aplicación del bioestimulante en diferentes suelos, permitiendo su difusión uniforme y mejorando la disponibilidad de nutrientes para los microorganismos del suelo.

## **4.2. Análisis microbiológico del bioestimulante líquido**

### **Control de calidad microbiológico**

El laboratorio de microbiología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica realizó el análisis microbiológico de acuerdo con la normativa MINSA/DIESA. La Norma Sanitaria de Lima de 2008 delinea las normas microbiológicas de higiene y seguridad para alimentos y bebidas destinados al consumo humano (45).

**Tabla 7: Resultado del análisis microbiológico del bioestimulante líquido a distintas diluciones.**

CRITERIOS	AGAR USADO	VOL. DE LA MUESTRA	AGENTE MICROBIANO	LÍMITES PERMITIDOS	RESULTADOS
Requisito esencial: Los microorganismos enumerados por este criterio deben ser inexistentes, ya que su existencia pone en peligro la salud pública.	Agar Salmonella Shigella	1ml	Salmonella	Ausencia de salmonella	AUSENCIA 0 UFC/ml
Criterios higiénicos: La ausencia de microorganismos en este criterio es esencial, ya que su existencia significaría unas condiciones higiénicas inadecuadas en todo el proceso de producción.	Agar Mac Conkey	1ml	Coliformes fecales: Escherichia Coli	10 <sup>4</sup> - 10 <sup>5</sup> UFC	AUSENCIA 0 UFC/ml
Criterios de alerta o límites críticos: Los microorganismos que cumplan este criterio no deben superar los límites especificados; de lo contrario, sería necesario aplicar controles estrictos para restablecer el control del proceso.	Agar PCA  Agar Sabouraud	1ml	Aerobios mesófilos  Hongos y levaduras	10 <sup>2</sup> – 10 <sup>3</sup> UFC	AUSENCIA 0 UFC/ml

**Fuente:** Datos experimentales obtenidos en laboratorio de Microbiología



## **Resultados e interpretación**

Los resultados del control de calidad microbiológico, demuestran que el bioestimulante líquido elaborado a partir de residuos de cerveza cumple con los estándares microbiológicos de calidad, asegurando su inocuidad y la eficiencia en su aplicación. La ausencia de patógenos y microorganismos indicativos de deficiencias higiénicas refuerza la confianza en este producto como una alternativa viable y segura a los fertilizantes convencionales. Esto es particularmente importante en la agricultura orgánica, donde la seguridad microbiológica es esencial para evitar contaminación de cultivos y suelos.

## **Análisis y discusión**

Los productos bioestimulantes, en particular los derivados de residuos orgánicos, deben tener asegurada su pureza microbiológica, afirma Canaza (2019). Demuestra que los bioestimulantes son seguros para el medio ambiente y eficaces para la agricultura demostrando, mediante un riguroso control microbiológico, que no contienen microorganismos patógenos ni indicadores de contaminación. Esto fomenta una agricultura sostenible y libre de contaminantes. Nuestro bioestimulante líquido resultó estar libre de aerobios mesófilos, coliformes totales y fecales, *Salmonella* spp., mohos y levaduras en la investigación microbiológica, lo que se ajusta a este método (46). Además, los resultados se ajustan a la Norma Sanitaria de 2008, que establece las normas microbiológicas para la seguridad y calidad de los alimentos y bebidas de consumo humano (RM 727-2009) (45).

### 4.3. Análisis organoléptico del bioestimulante líquido

#### Control de calidad organoléptico

El análisis organoléptico se realizó en el laboratorio de microbiología, evaluando cualitativamente con la percepción de los sentidos de las investigadoras. (Fotografía N° 4)

**Tabla 8: Resultado del análisis organoléptico de bioestimulante líquido.**

CRITERIO	4°C	20°C	PROMEDIO FINAL
OLOR	++	++	++
COLOR	++	++	++
ASPECTO	+	+	+

#### LEYENDA

VALORACIÓN	OLOR	COLOR (Marrón - Verde)	ASPECTO
+	Ligero	Verde	Líquido
++	Tenue	Verde oscuro	Viscoso
+++	Intenso	Verde - marrón	Sólido

#### Interpretación, análisis y discusión de los resultados

El análisis organoléptico del bioestimulante líquido se realizó evaluando los sentidos del olfato, vista para la identificación del olor, color y aspecto en dos temperaturas (4°C y 20°C). Los resultados obtenidos son consistentes en ambas temperaturas, indicando una estabilidad en las características sensoriales del bioestimulante.

Olor: Se percibió un olor tenue (++) en ambas condiciones de temperatura. Esto sugiere que el bioestimulante no presenta un olor intenso ni desagradable, lo cual es favorable, ya que los productos con un olor demasiado fuerte o penetrante pueden indicar descomposición o fermentación no deseada.

Color: La valoración del color fue uniforme, con una intensidad de verde oscuro (++), lo cual es característico de productos con alta concentración de materia orgánica y nutrientes, como los residuos de levadura de cerveza. Este color es adecuado para un bioestimulante, ya que no presenta colores inusuales que podrían indicar una reacción química o microbiológica inesperada.

Aspecto: El aspecto fue calificado como viscoso (+) en ambas temperaturas, lo cual podría estar relacionado con la presencia de nutrientes y compuestos orgánicos en el bioestimulante. Una viscosidad ligera puede facilitar su aplicación en suelos, ya que se distribuye con mayor facilidad sin causar obstrucciones en los equipos de aplicación.

#### 4.4. Análisis bromatológico proximal del bioestimulante líquido

##### Análisis bromatológico

El análisis bromatológico proximal se realizó en el laboratorio de Análisis Químico de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, para la muestra líquida del bioestimulante.

**Tabla 9: Resultados del análisis proximal bromatológico del bioestimulante líquido.**

<b>PARÁMETROS</b>	<b>AL 50%</b>	<b>AL 75%</b>	<b>AI 100%</b>
HUMEDAD %	46.67	70.00	<b>93.33</b>
PROTEÍNA %	0.58	0.87	<b>1.16</b>
GRASA %	0.01	0.01	<b>0.01</b>
CENIZA %	0.21	0.32	<b>0.42</b>
FIBRA %	0.00	0.00	<b>0.00</b>
CARBOHIDRATOS %	2.54	3.81	<b>5.08</b>

**Fuente:** Datos experimentales obtenidos en laboratorio.

##### Resultados e interpretación

La tabla 4, nos presenta los valores de todos los parámetros bromatológicos obtenidos experimentalmente de la muestra del bioestimulante líquido obtenido a partir de la cerveza residual, en la que se observa los resultados a distintas concentraciones del 50%, 75%, así mismo como de la muestra pura al 100%, en los que resultado para el porcentaje de humedad de la muestra fue del 93.33%, el que fue analizado por el método NTP 211.010.

El resultado de la muestra pura para las proteínas fue del 1.16%, el mismo que fue analizado por el método AOAC 955.04, el porcentaje de grasa es

de 0.01% que fue analizado por el método AOAC 920.39, el porcentaje de ceniza es 0.42% por el método AOAC 942.09, el porcentaje de fibra es nulo con un 0% para la muestra analizada esto por el método AOAC 962.05, en el porcentaje de carbohidratos se obtuvo un 5.08%, siendo este el porcentaje más elevado en la muestra del bioestimulante líquido de cerveza residual.

### **Análisis y discusión**

El análisis bromatológico del bioestimulante líquido obtenido a partir de cerveza residual mostró resultados interesantes en cuanto a su composición a diferentes concentraciones (50%, 75% y 100%). Los resultados nos permiten identificar a los principales componentes del bioestimulante, revelando un perfil nutricional que sugiere su potencial como fuente de nutrientes en aplicaciones agrícolas.

**Humedad:** El contenido de humedad fue el parámetro predominante en la muestra, alcanzando un 93.33% en la concentración pura (100%), debido a que el bioestimulante está en estado líquido y puede ser fácilmente aplicable en entornos agrícolas. Sin embargo, una humedad elevada podría limitar la estabilidad y vida útil del producto si no se almacena adecuadamente, ya que puede favorecer el crecimiento de microorganismos indeseables.

**Proteína:** La concentración de proteínas fue del 1.16% en la muestra pura, un valor poco significativo, ya que no representa una alta fuente proteica, puede contribuir en cierta medida a la nutrición de microorganismos beneficiosos en el suelo. La presencia de proteínas en el bioestimulante podría, además, ayudar a estimular la actividad microbiana en el suelo, lo cual es importante para mejorar la disponibilidad de nutrientes para las plantas.

**Grasa:** El contenido de grasa fue mínimo (0.01%) en todas las concentraciones. Esto indica que la cerveza residual utilizada no aporta lípidos significativos al bioestimulante, lo cual es positivo, ya que un contenido graso elevado podría llevar a problemas de almacenamiento y

aplicaciones complicadas en el suelo, también evita problemas de rancidez y facilitar la mezcla con otros bioestimulantes o fertilizantes.

Ceniza: La ceniza representó un 0.42% en la muestra pura, lo que indica la presencia de minerales esenciales en baja cantidad, lo que nos indica la presencia de ciertos minerales traza que pueden ser útiles para la fertilidad del suelo.

Fibra: La ausencia de fibra (0%) en todas las concentraciones indica que la cerveza residual utilizada en el bioestimulante no contiene componentes estructurales, como celulosa o hemicelulosa, que podrían aportar beneficios adicionales en cuanto a la estructura y aireación del suelo. Sin embargo, la falta de fibra no representa una limitación significativa.

Carbohidratos: Los carbohidratos constituyeron el mayor aporte nutricional en la muestra pura, con un 5.08%. Los carbohidratos pueden actuar como fuentes de energía para microorganismos del suelo, fomentando la proliferación de microorganismos beneficiosos como *Trichoderma*, *Lactobacillus* y *Actinomyces*, los cuales pueden mejorar la salud del suelo y fomentando la sostenibilidad agrícola, reduciendo la dependencia de productos químicos sintéticos.

#### 4.5. Pruebas adicionales del bioestimulante

**Tabla N° 10: Porcentaje de elementos**

<b>Nitrógeno %</b>	0.17
<b>Carbono%</b>	1,92
<b>Calcio mg/100</b>	19.00
<b>Fosforo mg/100</b>	310.00
<b>Etanol %</b>	0.13

**Fuente:** Datos experimentales obtenidos en laboratorio

## Resultados e interpretación

Los componentes químicos del bioestimulante líquido, nos dan un panorama más específico sobre su perfil nutricional y potencial de uso en aplicaciones agrícolas, e industriales; como:

**Nitrógeno (N) - 0.17%:** La presencia de nitrógeno en una concentración de 0.17% es significativa, ya que el nitrógeno es un nutriente esencial para el crecimiento de las plantas y la síntesis de proteínas. Aunque el valor es relativamente bajo, indica que el bioestimulante contribuye con la captación de nitrógeno para el suelo, sabiendo que el nitrógeno en forma orgánica, a menudo presente en bioestimulantes, se mineraliza lentamente, lo que puede proporcionar un suministro sostenido a las plantas a lo largo del tiempo.

**Carbono (C) - 1.92%:** El porcentaje de carbono de 1.92% sugiere que el bioestimulante tiene un contenido orgánico que puede ser aprovechado por el microbiota del suelo; como fuente de energía para microorganismos beneficiosos, promoviendo su proliferación y mejorando la salud del suelo.

**Calcio (Ca) - 19.00 mg/100:** La concentración de calcio de 19.00 mg/100 es relativamente baja, pero su presencia es fundamental para el desarrollo de las plantas, ya que es parte de la estructura celular y la estabilidad de las membranas, además de participar en la regulación del pH del suelo. Aunque no es un valor elevado, es beneficiosa en suelos ácidos o en condiciones donde el calcio es limitante.

**Fósforo (P) - 310.00 mg/100:** El fósforo es uno de los nutrientes más importantes para las plantas, ya que es esencial en procesos como la fotosíntesis y la transferencia de energía. La cantidad de 310.00 mg/100 es un nivel relativamente alto, lo que sugiere que el bioestimulante puede ser una fuente efectiva de fósforo para las plantas, favoreciendo su valor nutritivo en el suelo.

**Etanol - 0.13%:** La presencia de etanol en una concentración de 0.13% indica que puede haber restos de la fermentación durante el proceso de producción de cerveza.

## **Análisis y discusión**

Los resultados del análisis químico del bioestimulante líquido reflejan una composición que sugiere su utilidad como aditivo para la mejora de la fertilidad del suelo. La presencia de nitrógeno, carbono y fósforo en cantidades medibles indica que este producto puede proporcionar nutrientes clave para el crecimiento de las plantas y la actividad microbiana del suelo. El contenido de nitrógeno, aunque modesto, puede ser suficiente para complementar las necesidades de fertilización en cultivos que requieren un aporte adicional. El carbono, por su parte, no solo sirve como fuente de energía para microorganismos, sino que también puede contribuir a mejorar la estructura del suelo, favoreciendo la retención de agua y la aireación. La elevada concentración de fósforo es un hallazgo significativo, ya que este nutriente es a menudo limitante en la agricultura. Según la revista Chakiñan (2018), que una composición rica en nitrógeno, carbono y fósforo, elementos clave en los ciclos biogeoquímicos que los microorganismos ayudan a mantener. Estos elementos son esenciales no solo para el crecimiento de las plantas, sino también para el desarrollo y la actividad de microorganismos que participan en procesos fundamentales para la fertilidad del suelo y la sostenibilidad agrícola (2). Conforme a nuestros resultados para C, N, P y Ca, se contrasta que su disponibilidad puede mejorar la eficiencia de los fertilizantes aplicados, permitiendo un mejor aprovechamiento de los recursos por parte de las plantas. Tal como indica Fernández M. (2022), en donde indica que los principales nutrientes del suelo son el nitrógeno y fosforo, ya que nuestro bioestimulante presenta un valor elevado del mismo con 310.00 mg/100 (12).

#### 4.6. Prueba de normalidad

**Tabla N° 11: Prueba de normalidad**

Pruebas de normalidad							
Microorganismo evaluado		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
TRICHODERMA	# de colonias	,445	45	,000	,609	45	,000
ACTINOMYCES	# de colonias	,452	45	,000	,595	45	,000
LACTOBACILLUS	# de colonias	,510	45	,000	,429	45	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Fuente:** Datos experimentales obtenidos del SPSS v.25

#### Prueba de hipótesis

Ho: Los datos son normales

H1: Los datos no son normales

#### Para el 95% de confiabilidad

Sig < 0.05, se rechaza Ho

Sig ≥ 0.05, se acepta Ho

Como Sig < 0.05, entonces se rechaza Ho, por lo tanto, los datos no son normales, se decide usar la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, en la comparación de los grupos de estudio.

**Tabla N° 12: Prueba de Kruskal Wallis (Normalidad)**

Rangos			
	Microorganismo evaluado	N	Rango promedio
# de colonias	TRICHODERMA	45	24,00
	ACTINOMYCES	45	23,47
	LACTOBACILLUS	45	21,53
	Total	135	

**Fuente:** Datos experimentales obtenidos del SPSS v.25

#### Prueba de hipótesis

Ho: El número de crecimiento de colonias no es distinto según el tipo de microorganismo.

H1: El número de crecimiento de colonias es distinto según el tipo de microorganismo.

#### Para el 95% de confiabilidad

Sig < 0.05, se rechaza Ho

Sig ≥ 0.05, se acepta Ho



**Tabla N°13: Estadísticos de prueba**

Estadísticos de prueba <sup>a,b</sup>	
	# de colonias
H de Kruskal-Wallis	,553
gl	2
Sig. asintótica	,758
a. Prueba de Kruskal Wallis	
b. Variable de agrupación: Microorganismo evaluado	

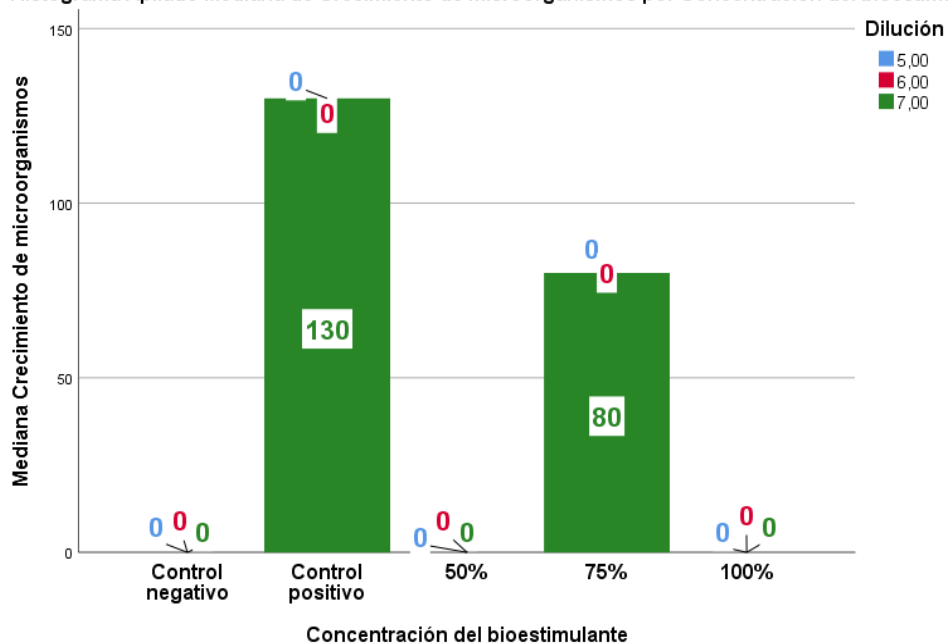
**Fuente:** Datos experimentales obtenidos del SPSS v.25

Como Sig = 0.758  $\geq$  0.05, aceptamos la hipótesis nula, por lo tanto, el nivel de crecimiento (número de colonias), no es estadísticamente significativo diferente, infiriendo que no hay mucha disparidad en cuanto al crecimiento de microorganismo, para cada tipo. Esto debido a que cada microorganismo es diferente y tiene consigo una serie de especificaciones y requerimientos.

#### 4.7. Determinación de la actividad nutritiva del bioestimulante para *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356

**Gráfico N°1: Histograma del crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356**

Histograma Apilado Mediana de Crecimiento de microorganismos por Concentración del bioestimulante por Dilución



Fuente: Datos obtenidos del SPSS v.25

**Tabla N° 14: Prueba de Kruskal Wallis – Lactobacillus**

Rangos			
	Concentración del bioestimulante	N	Rango promedio
Crecimiento de microorganismos	Control negativo	9	7,00
	Control positivo	9	9,67
	50%	9	7,00
	75%	9	9,33
	100%	9	7,00
	Total	45	

**Fuente:** Datos experimentales obtenidos del SPSS v.25

### Análisis e interpretación

El grupo control negativo, 50%, y 100% de bioestimulante tienen el mismo rango promedio de 7,00, lo que indica que el crecimiento de los microorganismos fue similar en estas condiciones. El control positivo tiene el rango promedio más alto (9,67), seguido de la concentración de 75% (9,33), lo que sugiere que el crecimiento de microorganismos fue mayor en estos dos casos en comparación con las otras condiciones. El bioestimulante al 75% mostró un rendimiento cercano al control positivo, lo que podría indicar que es una concentración eficaz para el crecimiento de los microorganismos, mientras que el 50% y el 100% no mostraron un efecto tan marcado en comparación con el control negativo.

**Tabla N°15: H de Kruskal- Wallis para Lactobacillus**

Estadísticos de prueba <sup>a,b</sup>	
	Crecimiento de microorganismos
H de Kruskal-Wallis	3,238
gl	4
Sig. asintótica	,519
a. Prueba de Kruskal Wallis	
b. Variable de agrupación: Concentración del bioestimulante	

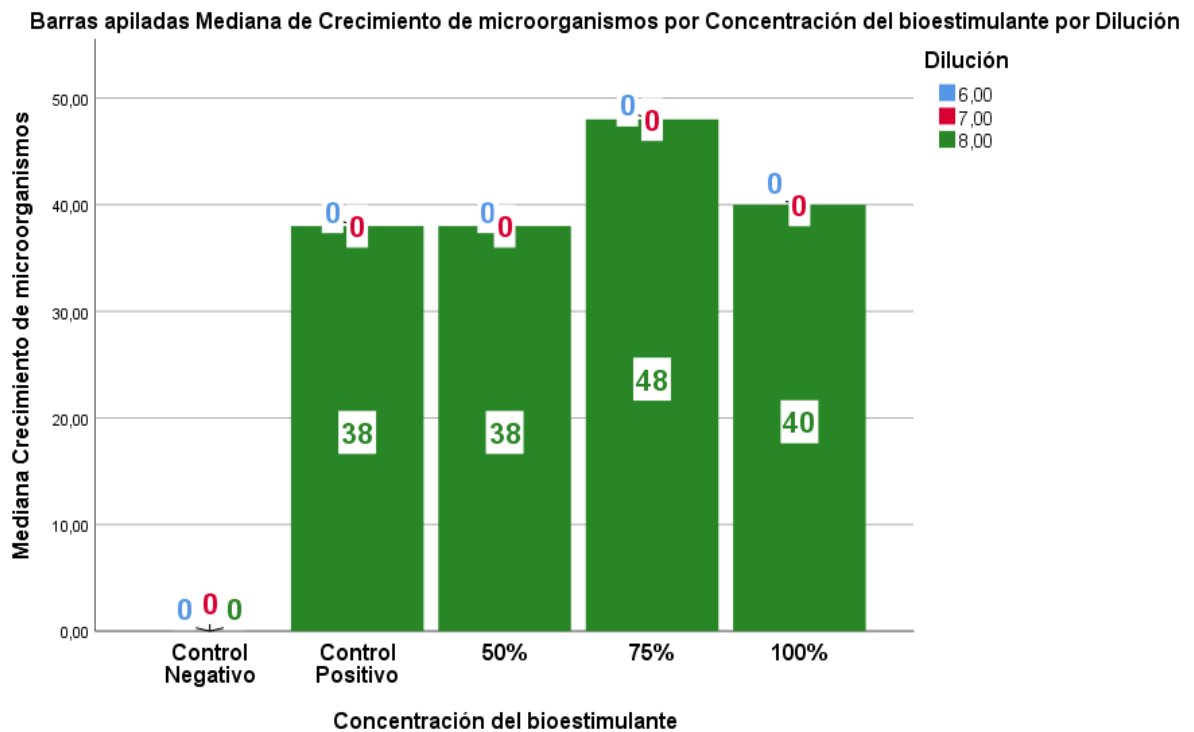
**Fuente:** Datos experimentales obtenidos del SPSS v.25

La prueba de Kruskal-Wallis arrojó una significación asintótica de 0,519 con 4 grados de libertad y un valor H de 3,238. Esto significa que no hubo diferencias significativas en el crecimiento de los microorganismos entre los grupos de control y las concentraciones de bioestimulantes. Esto significa que no hubo diferencias significativas en el crecimiento de los microorganismos entre los grupos de control y las concentraciones de bioestimulantes.

Dado que el valor p es mayor que el umbral típico de 0,05, no se puede rechazar la hipótesis nula, lo que sugiere que las diferentes concentraciones del bioestimulante no influyeron de manera significativa en el crecimiento de los microorganismos en este experimento.

#### 4.8. Determinación de la actividad nutritiva del bioestimulante para *Actinomyces viscosus* ATCC 15987

**Gráfico N°2: Histograma del crecimiento de *Actinomyces viscosus* ATCC 15987**



Fuente: Datos obtenidos del SPSS v.25

**Tabla N°16: Prueba de Kruskal Wallis - Actinomyces**

<b>Rangos</b>			
	Concentración del bioestimulante	N	Rango promedio
Crecimiento de microorganismos	Control Negativo	9	6,00
	Control Positivo	9	8,17
	50%	9	8,17
	75%	9	9,00
	100%	9	8,67
	Total		45

**Fuente:** Datos experimentales obtenidos del SPSS v.25

### **Análisis y discusión**

Los rangos promedio del crecimiento de microorganismos revela que el control negativo presenta el rango más bajo (6,00), lo que sugiere un crecimiento limitado en ausencia del bioestimulante. En contraste, tanto el control positivo como la concentración del 50% tienen un rango promedio idéntico de 8,17, indicando que estas condiciones favorecen un crecimiento comparable. Sin embargo, la concentración del 75% muestra el rango más alto (9,00), lo que sugiere que este nivel de bioestimulante es el más efectivo para promover el crecimiento de microorganismos. La concentración del 100% también tiene un rango considerable (8,67), lo que sugiere que, aunque esta concentración es beneficiosa, no supera la efectividad del 75%. Estos hallazgos indican que hay variaciones en el crecimiento de microorganismos en función de la concentración del bioestimulante, siendo el 75% la más eficaz, lo que podría tener implicaciones significativas para optimizar su uso en aplicaciones prácticas.

**Tabla N° 17: H de Kruskal- Wallis para Actinomyces**

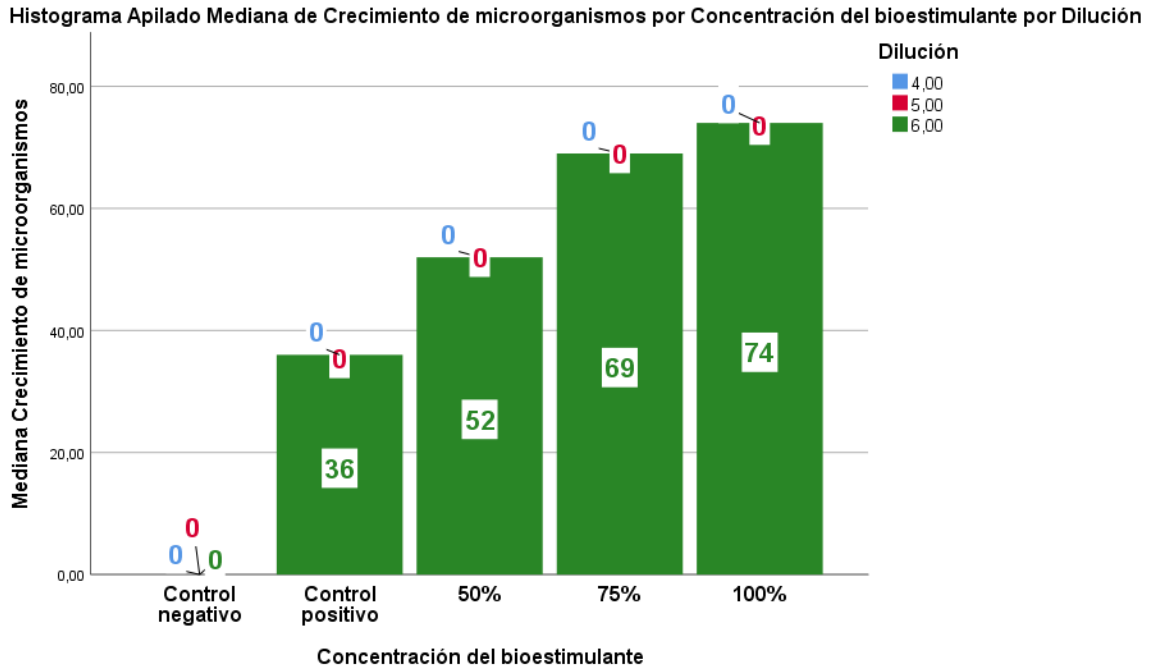
<b>Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup></b>	
	Crecimiento de microorganismos
H de Kruskal-Wallis	1,363
Gl	4
Sig. asintótica	,851
a. Prueba de Kruskal Wallis	
b. Variable de agrupación: Concentración del bioestimulante	

**Fuente:** Datos experimentales obtenidos del SPSS v.25

Los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis indican un valor de H de 1,363, lo que se traduce en una significancia asintótica de 0,851. Este p-valor elevado sugiere que no existen diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento de microorganismos entre las distintas concentraciones del bioestimulante y los grupos de control analizados. Dado que el p-valor es considerablemente mayor que el nivel de significancia comúnmente utilizado de 0,05. Por lo tanto, se acepta la hipótesis nula, lo que indica que la concentración del bioestimulante no influye de manera significativa en el crecimiento de los microorganismos en este estudio.

#### 4.9. Determinación de la actividad nutritiva del bioestimulante para *Trichoderma Harzianum Spp.*

Gráfico N°3: Histograma del crecimiento de *Trichoderma Harzianum Spp.*



Fuente: Datos obtenidos del SPSS v.25

#### Análisis y discusión

En la imagen se puede observar que el desarrollo de UFC/ml, para *T. Harzianum* va aumentando directamente proporcional a medida que aumenta la concentración del bioestimulante, ya que en el grupo control positiva se obtuvo 36 UFC/ml, teniendo una mejor y mayor resultado en el desarrollo de este microorganismo al 100% del bioestimulante con un total de 74 UFC/ml, lo que concuerda con Torres M; y colab (2022), que indica que el *T. Harzianum* resiste a la concentración pura del 100%, consiguiendo así una gran obtención de la biomasa de este microorganismo, por su efecto bioestimulante (14).

**Tabla N° 18: Prueba de Kruskal Wallis - Trichoderma**

Rangos			
	Concentración del bioestimulante	N	Rango promedio
Crecimiento de microorganismos	Control negativo	9	6,00
	Control positivo	9	8,00
	50%	9	8,33
	75%	9	8,67
	100%	9	9,00
	Total	45	

**Fuente:** Datos experimentales obtenidos del SPSS v.25

### **Análisis y discusión**

Según la tabla 18, los rangos promedio del crecimiento de microorganismos revela que el control negativo tiene el rango más bajo (6,00), lo que indica un crecimiento limitado en ausencia del bioestimulante. El control positivo muestra un rango promedio de 8,00, lo que sugiere un aumento en el crecimiento microbiano debido a la intervención del bioestimulante. A medida que se incrementa la concentración del bioestimulante, los rangos promedio también aumentan: el 50% tiene un rango de 8,33, el 75% un rango de 8,67, y el 100% alcanza el rango más alto de 9,00. Esto sugiere que, a medida que se aumenta la concentración del bioestimulante, el crecimiento de microorganismos tiende a mejorar, siendo la concentración del 100% la más efectiva en este análisis. Estos hallazgos indican que las concentraciones del bioestimulante tienen un impacto positivo en el crecimiento microbiano, lo que puede tener implicaciones significativas para su uso en aplicaciones biotecnológicas o agrícolas.

**Tabla N° 19: H de Kruskal- Wallis para Trichoderma**

<b>Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup></b>	
	Crecimiento de microorganismos
H de Kruskal-Wallis	1,373
gl	4
Sig. asintótica	,849
a. Prueba de Kruskal Wallis	
b. Variable de agrupación: Concentración del bioestimulante	

**Fuente:** Datos experimentales obtenidos del SPSS v.25

Los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis muestran un valor de H de 1,373 con 4 grados de libertad y una significancia asintótica de 0,849. Este p-valor elevado indica que no hay diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento de microorganismos entre las diversas concentraciones del bioestimulante y los grupos de control analizados. Dado que el p-valor es considerablemente superior al umbral común de 0,05, se acepta la hipótesis nula, sugiriendo que las variaciones en las concentraciones del bioestimulante no afectan de manera notable el crecimiento microbiano. Estos resultados sugieren que, en las condiciones experimentales evaluadas, el bioestimulante no produce un efecto significativo en el crecimiento de los microorganismos estudiados.



## CONCLUSIONES

1. Se logró evaluar la actividad nutritiva del bioestimulante líquido elaborado a partir de cerveza residual en el desarrollo de microorganismo como *Trichoderma harzianum Spp*, *Lactobacillus acidophilus ATCC 4356* y *Actinomyces viscosus ATCC 15987*, ya que los análisis realizados confirman que la formulación aporta nutrientes esenciales al 75% para todos los microorganismos en estudio, mejorando las condiciones para el crecimiento de estos microorganismos.
2. Se realizó el control de calidad al bioestimulante líquido, para el análisis fisicoquímico con los valores de pH en un rango de 4.55 (4°C) a 4.69 (20°C) y densidad de 1.0376 (4°C) y 1.0196 (20°C), en cuanto al análisis microbiológico se obtuvo resultados dentro de los parámetros microbiológicos, conforme con la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, 2008 (RM 727-2009), se observó la ausencia de contaminantes patógenos (*Salmonella* y *E. coli*), mientras que las características organolépticas (olor, color y aspecto) respaldan su estabilidad y aceptabilidad.
3. Se pudo obtener el perfil bromatológico proximal en las 3 concentraciones del 50%, 75% y 100%, que reveló que el bioestimulante contiene un alto porcentaje de humedad (46.67 al 93.33%), carbohidratos (2.54 al 5.08%), en proteínas (0.58 al 1.16%), y minerales esenciales para el suelo como el fósforo (310 mg/100 ml), carbono 1.92%, nitrógeno 0.17%. Esta composición proporciona una fuente de nutrientes adecuada para el desarrollo de microorganismos benéficos, maximizando su potencial como un suplemento nutritivo en suelos.
4. Se pudo determinar la concentración óptima para el crecimiento de *Trichoderma Spp*; en donde se concluye que desde el 50%, 75% y 100% del bioestimulante, se da un mayor desarrollo de colonias a medida del aumento de concentración, para promover el crecimiento de *Trichoderma*.

5. Se determino la concentración óptima para el crecimiento de *Actinomyces viscosus*, en donde se observó que al 75% del bioestimulante hay una mejor proliferación de esta bacteria.
6. Se determino la concentración óptima para el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus*, resultando la mejor concentración al 75% ya que con esta se alcanza un crecimiento adecuado para su reproducción.

## **SUGERENCIAS**

A Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, para que pueda seguir dando espacio por medio de incentivos económicos a más investigaciones que solucionen problemas de la localidad, generando así un ambiente amigable con nuestro departamento de Cusco.

A la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica a seguir motivando a los docentes y estudiantes a seguir realizando investigaciones de tipo experimentales ya que estos tienen una mayor relevancia con sus resultados obtenidos, así como también la mejora en la implementación de los laboratorios.

A todos los docentes de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica a seguir forjando estudiantes investigadores, enseñándonos desde los primeros semestres metodología y estadística.

A los estudiantes de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica a seguir su instinto de investigación para seguir resolviendo algunos problemas de nuestra población.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ostos Ortíz OL, Rosas Arango SM, González Devia JL. Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. Vol. 17, Nova. 2019. 129–163 p.
2. Of F, Production A. Agricultura en Sudamérica: la huella ecológica y el futuro de la producción agrícola. Chakiñan, Rev Ciencias Soc Y Humanidades. 2018;(5):90–101.
3. Soria MA. ¿Por qué son importantes los microorganismos del suelo para la agricultura? QuímicaViva [Internet]. 2016;15(2):3–10. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86347590002>
4. Korswagen R, Ibáñez A. Justus Liebig, la química agrícola, y el colapso de una economía basada en el salitre. Rev Química. 2000;14(2):225–37.
5. Juárez J. “ La innovación es el mejor aliado de la agricultura del siglo XXI .” 2009;
6. Polo RF. “Biofertilizantes” una revisión sistemática de la literatura científica en los últimos 10 años. :90–7.
7. Patrick D. Bioestimulantes Agrícolas, Definición, Principales Categorías y Regulación a Nivel Mundial | Intagri S.C. Intagri [Internet]. 2017;1–4. Available from: <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/bioestimulantes-agricolas-definicion-y-principales-categorias%0Afile:///C:/Users/c/Downloads/94. Bioestimulantes Agrícolas Definición Principales Categorías y Regulación a Nivel Mundial.pdf>
8. Castillo M. La Agricultura Peruana. Friedrich-Ebert-Stiftung [Internet]. 2021;1–10. Available from: <https://library.fes.de/pdf-files/bueros/peru/18971.pdf>
9. Villagarcía S, Aguirre G. Manual De Uso De Fertilizantes Para Las Condiciones Del Perú. Man Uso Fertil Para Las Condiciones Del Perú [Internet]. 2014;15. Available from: <https://www.fondoeditorialunalm.com/wp-content/uploads/2020/09/MANUAL-DE-USO-DE-FERTILIZANTES.pdf>
10. Valverde Álvarez A. Manual de análisis para el control de calidad de la cerveza en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental. 2020;1–123. Available from: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/106310/TFG-3285-VALVERDE ALVAREZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
11. Torres MA, Valdez AL, Angelicola MV, Raimondo EE, Pajot HF, Nieto-Peñalver CG. Vinasse as a substrate for inoculant culture and soil fertigation: Advancing the circular and green economy. Sci Total Environ. 2023;887(April).
12. Fernández M. Obtención de fertilizantes líquidos a partir de material

- bioestabilizado. UVA [Internet]. 2022;1–267. Available from: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/55127/Tesis2047-220915.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
13. Peñalba J. Efecto de *Trichoderma harzianum* luego de una biofumigación para el biocontrol de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en tomate. 2022;(0221).
  14. Rosales-Bravo, A , Vázquez-Martínez H, Morales-Torres, Olalde-Portugal. Evaluación de propiedades tecno-funcionales de cepas probióticas comerciales del género *Lactobacillus* Evaluation of techno-functional properties of commercial probiotic of *Lactobacillus* genus strains. Rev Int Investig E Innov Tecnol [Internet]. 2020;8(45):1–19. Available from: [www.riiit.com.mx](http://www.riiit.com.mx)
  15. Cordero JF. Evaluación de dos tipos de vinaza como fertilizante y acondicionador de suelo en el cultivo de frijol. 2019;
  16. Rodríguez E. TESIS DOCTORAL Bruno Rodríguez Morgado Sevilla, 2018. 2018;
  17. Palacios A. Determinación de la actividad antagonista de microorganismos ambientales frente a *Escherichia coli* ATCC 25922. 2022;
  18. MEDINA YAURI EF. Accionar del bioestimulante orgánico sobre los componentes asociados de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) resilientes al estrés hídrico, Yanamucllo, Matahuasi-Concepción. Univ Nac Del Cent Del Cent Posgrado. 2013;10–1.
  19. Díaz R, Maicol A. Propuesta de factibilidad para la producción y comercialización de un fertilizante orgánico a partir de la vinaza en la región Lambayeque. 2022;
  20. Diaz Y. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Ciencias Biológicas Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología Aislamiento y caracterización de cepas nativas de *Bacillus* spp y *Trichoderma* spp de la rizosfera de café con potencial antagoni. 2019;
  21. CRUZADO C. Universidad nacional de cajamarca. 2022;
  22. Carrasco M. Universidad Nacional De San Antonio Abad Del Cusco Secretaría General. Pagina Repos UNSAAC [Internet]. 2020;3:1–3. Available from: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/5181/253T20201002.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  23. Chaiña Pinedo LD. La Universidad Andina del Cusco. Universidades. 2019;70(80):98–101.

24. Yepez Ccama D. Efecto de Bioestimulantes orgánicos en el rendimiento de dos variedades de brócoli (*Brassica Oleracea* Var. *Italica*) por fertirriego en condiciones de fitotoldo del CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA – Cusco. 2021;1–163. Available from: [https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/6191/253T20210384\\_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/6191/253T20210384_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
25. Yesica HL. EFECTO DE CUATRO CONCENTRACIONES DEL BIOESTIMULANTE FLOWER POWER EN LA PRODUCCIÓN DEL CULTIVO DE PEPINO (*Cucumis sativus* L.) EN EL SECTOR TIOBAMBA – SANTA ANA - LA CONVENCION. UNSAAC. 2020;
26. Mamani R, Quispe T. Aprovechamiento de los residuos orgánicos con biotecnología de lombricultura, en la disminución de la contaminación ambiental de la ciudad de Juliaca. *Rev Científica Investig Andin* [Internet]. 2022;21(2):1–10. Available from: <https://revistas.uancv.edu.pe/index.php/RCIA/article/view/955>
27. Jurado Gámez H, Ramírez C, Aguirre D. Cinética de fermentación de *Lactobacillus plantarum* en un medio de cultivo enriquecido como potencial probiótico. *Vet y Zootec*. 2014;7(2):37–53.
28. Molina M. EFECTO PROBIÓTICO DE *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* EN CUYES ( *Cavia porcellus* ) DE ENGORDE. 2008;1–139.
29. Pacheco C, Herrera R. Universidad técnica de cotopaxi [Internet]. Vol. 1, Universidad técnica de cotopaxi. 2021. 101 p. Available from: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4501/1/PI-000727.pdf>
30. Serrano JA, Sandoval y Trujillo HA. Identificación y diagnóstico de Actinomicetales patógenos. 2005. 256 p.
31. Hernández-Melchor DJ, Ferrera-Cerrato R, Alarcón A. Trichoderma: Agricultural and biotechnological importance, and fermentation systems for producing biomass and enzymes of industrial interest. *Chil J Agric Anim Sci*. 2019;35(1):98–112.
32. Salazar López MJ. Efecto del *Trichoderma harzianum* en el agua de riego y la microbiología del suelo. Univ Técnica Ambato - Fac Ciencias Agropecu [Internet]. 2017;1–74. Available from: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27126/1/Tesis-186Ingeniería Agronómica -CD 554.pdf>
33. Rolleri J, Stocco M, Moya P, Mónaco C. Posibilidades del uso de *Trichoderma harzianum* en el biocontrol del marchitamiento y cancro bacteriano del tomate. *Rev la Fac Agron*. 2021;120(2):080.
34. Cifuentes L. Revaloración de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) residual

del proceso de elaboración de cerveza y obtención de fertilizante orgánico. 2023;33–7. Available from: <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/21/BC-TES-3626.pdf?>

35. Desarrollo I De, Instituto A, Agropecuarias DI, Agrónomo I, Coordinador MS, Transferencia N De, et al. Manual de manejo agronómico del arándano.
36. Periodo I, Forestal I, Valenzuela D. Facultad De Ingenieria En Ciencias Agropecuarias Y. 2009;1–79.
37. García SC. Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. Ct. 2011;3:173–86.
38. Cardozo MP. Ing . Agr . María Pereyra Cardozo Facultad de Agronomía Universidad de La Pampa. Arch Internet. 2001;
39. Brown P, Hu H. Funciones del fosforo en las plantas \*. Inf Agronómicas. 1999;83(36):9–10.
40. Ruiz S, Sadzawka R. La Dinámica del Potasio (K) en el Suelo | Intagri S.C. 2005;1–3. Available from: <https://www.intagri.com/articulos/suelos/la-dinamica-del-potasio-en-el-suelo>
41. Méndez-Gálvez S, Esquivel-Quispe R, Ochoa-Yupanqui WW. Indicators of colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in “potato” ( *Solanum tuberosum* L.) . J Selva Andin Biosph. 2021;9(1):53–63.
42. Ramírez Aristizábal LS, Ospina Ocampo LF, Arango Londoño ÁM. Manual de microbiología guías prácticas de laboratorio. Manual de microbiología guías prácticas de laboratorio. 2022.
43. Barbosa Suárez JL. ANÁLISIS DE LAS MEDIDAS DE CONTROL DE CALIDAD APLICABLES EN CADA ETAPA DEL PROCESO PRODUCTIVO DE BEBIDAS GASIFICADAS A NIVEL GENERAL. Univ PAMPLONA. 2019;3(1):18–23.
44. HUILLCA YAPURA MA; HCLJ. CONTROL ORGANOLÉPTICO, FÍSICOQUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE SHAMPOOS COMERCIALIZADOS DE FORMA AMBULATORIA EN LA AV. EJÉRCITO Y SUS ALREDEDORES EN LA CIUDAD DEL CUSCO [Internet]. 2021. Available from: [https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/6828/253T20220284\\_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/6828/253T20220284_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
45. MINSA. Norma Sanitaria que Establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano. Resolución Ministerial N° 591 - 2008 / MINSA. [Internet]. El Peruano. 2008. p. 26. Available from:

[http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v6n3/a03v6n3.pdf?fbclid=IwAR3kTvpY4bLfGT2WFck-ZCnypk010XTGkoUht9drrtixEMH8c5K91vdfL\\_I](http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v6n3/a03v6n3.pdf?fbclid=IwAR3kTvpY4bLfGT2WFck-ZCnypk010XTGkoUht9drrtixEMH8c5K91vdfL_I)

46. Canaza L. Determinación De La Calidad Microbiológica De Jugo De Naranja (*Citrus Sinensis* L.), De Los Puestos De Venta Ambulatoria En Los Mercados De La Plataforma Andrés Avelino Cáceres, Arequipa, 2019. Univ Nac San Agustín Arequipa [Internet]. 2021;80. Available from: [http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12773/12478/Blcaval\\_a.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12773/12478/Blcaval_a.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
47. Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R. Manual de Medios de Cultivo 2018. Cent Nac Bioprep [Internet]. 2018;4:73–4. Available from: [www.biocen.cu](http://www.biocen.cu)
48. Hernández Sampieri R. Metodología de la investigación (6ta edición) [Internet]. Vol. 11, Sustainability (Switzerland). 2019. 1–14 p. Available from: [http://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1091/RED2017-Eng-8ene.pdf?sequence=12&isAllowed=y%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.regsciurbeco.2008.06.005%0Ahttps://www.researchgate.net/publication/305320484\\_SISTEM\\_PEMBETUNGAN\\_TERPUSAT\\_STRATEGI\\_MELESTARI](http://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1091/RED2017-Eng-8ene.pdf?sequence=12&isAllowed=y%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.regsciurbeco.2008.06.005%0Ahttps://www.researchgate.net/publication/305320484_SISTEM_PEMBETUNGAN_TERPUSAT_STRATEGI_MELESTARI)
49. Ramírez Navarro VM, Peñuela Sierra LM, García Saavedra YM, Pérez Rubio M. Caracterización organoléptica, nutricional, microbiológica y digestibilidad in vitro de ensilados con diferentes niveles de inclusión de desperdicios de alimentos. *Rev la Fac Med Vet y Zootec*. 2019;66(3):245–59.
50. Carlos B, Ccanchi J, Yuri A, Ponce L, Otazu DL. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Profesional de Medicina Humana Médico Cirujano CUSCO-PERÚ. 2021;
51. Díaz D. Manual del Laboratorio de Bromatología. Univ Veracruzana [Internet]. 2017;1:3–33. Available from: <https://www.uv.mx/pozarica/cba/files/2017/09/MANUAL-DE-BROMATOLOGIA-2017.pdf>
52. Carolina BV. Metodologías para el análisis bromatológico, físico y químico del cacao fermentado y seco, dentro del marco normativo internacional. *Químico Farm Dr en Ciencias Químicas* [Internet]. 2016;1(May):31–48. Available from: [http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/2064/1/Metodologias\\_analisis\\_bromatologico\\_cacao.pdf](http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/2064/1/Metodologias_analisis_bromatologico_cacao.pdf)



## ANEXOS

### Anexo 1 Resultados del análisis bromatológico



#### UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO FACULTAD DE CIENCIAS

Av. de la Cultura 722 - Pabellón "C" Of. 106 1er. piso Telefax: 224831 Apartado Postal 921 Cusco Perú



UNIDAD DE PRESTACION DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICO  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE QUÍMICA

#### INFORME DE ANÁLISIS

NR0738-24-1 AQ

SOLICITANTE : LISBETH SURCO CONDORI  
SHANDA OLMEDO ZAVALA

MUESTRA : RESIDUO DE CERVEZA

FECHA : C/19/06/2024

#### ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO:

	1
Humedad %	93,33
Proteína %	1,16
Grasa %	0,01
Ceniza %	0,42
Fibra %	0,00
Carbohidratos %	5,08
Calcio mg/100	19,00
Fosforo mg/100	310,00
Carbono %	1,92
Etanol %	0,13

Métodos: AOAC 964.22, AOAC 955.04, AOAC 920.39, AOAC 942.09, AOAC 962.05

Gravimétrico 404°C, NTP 211.010

Cusco, 08 de Julio 2024



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco  
Facultad de Ciencias - Programa de Estudios de Análisis Químico

Melipistides Herrera Arizola  
RESPONSABLE DEL LABORATORIO  
DE ANÁLISIS QUÍMICO

## Anexo 2

### Resultado del análisis de nitrógeno, densidad a 4°C y a 20°C.



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO FACULTAD DE CIENCIAS

Av. de la Cultura 733 - Pabellón "C" Of. 106 1er. piso - Telefax: 224831 - Apartado Postal 921 - Cusco Perú



UNIDAD DE PRESTACIÓN DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICO  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE QUÍMICA

## INFORME DE ANÁLISIS

Nº0390-24-LAQ

SOLICITANTE : LIZBETH SURCO CONDORI

SHANDAL ALEXI OLMEDO ZAVALA

MUESTRA : RESIDUO DE CERVEZA

FECHA : C/03/09/2024

### RESULTADO ANALISIS:

Nitrógeno %	0,17
Densidad g/cc 4°C	1,0376
Densidad g/cc 20°C	1,0196

Cusco, 10 de Setiembre 2024

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco  
Departamento Académico de Química  
Unidad de Prestación de Servicios de Análisis Químico  
RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO

**Anexo 3**  
**DATOS DEL TRICHODERMA**

N°	Microorganismo	Concentración	Dilución	Medio de cultivo	# de ensayos	# UFC/ml
1	Trichoderma	control negativo	4	Agar agar	1	<30
2	Trichoderma	control negativo	4	Agar agar	2	<30
3	Trichoderma	control negativo	4	Agar agar	3	<30
4	Trichoderma	control negativo	5	Agar agar	1	<30
5	Trichoderma	control negativo	5	Agar agar	2	<30
6	Trichoderma	control negativo	5	Agar agar	3	<30
7	Trichoderma	control negativo	6	Agar agar	1	<30
8	Trichoderma	control negativo	6	Agar agar	2	<30
9	Trichoderma	control negativo	6	Agar agar	3	<30
	<b>Trichoderma</b>	<b>control negativo</b>	<b>4</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Trichoderma</b>	<b>control negativo</b>	<b>5</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Trichoderma</b>	<b>control negativo</b>	<b>6</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
1	Trichoderma	control positivo	4	papa	1	<30
2	Trichoderma	control positivo	4	papa	2	<30
3	Trichoderma	control positivo	4	papa	3	<30
4	Trichoderma	control positivo	5	papa	1	<30
5	Trichoderma	control positivo	5	papa	2	<30
6	Trichoderma	control positivo	5	papa	3	<30
7	Trichoderma	control positivo	6	papa	1	34
8	Trichoderma	control positivo	6	papa	2	36
9	Trichoderma	control positivo	6	papa	3	38
	<b>Trichoderma</b>	<b>control positivo</b>	<b>4</b>	<b>papa</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Trichoderma</b>	<b>control positivo</b>	<b>5</b>	<b>papa</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Trichoderma</b>	<b>control positivo</b>	<b>6</b>	<b>papa</b>	<b>promedio</b>	<b>36</b>
1	Trichoderma	50%	4	Agar agar	1	<30
2	Trichoderma	50%	4	Agar agar	2	<30
3	Trichoderma	50%	4	Agar agar	3	<30
4	Trichoderma	50%	5	Agar agar	1	<30
5	Trichoderma	50%	5	Agar agar	2	<30
6	Trichoderma	50%	5	Agar agar	3	<30
7	Trichoderma	50%	6	Agar agar	1	52
8	Trichoderma	50%	6	Agar agar	2	54
9	Trichoderma	50%	6	Agar agar	3	50
	<b>Trichoderma</b>	<b>50%</b>	<b>4</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Trichoderma</b>	<b>50%</b>	<b>5</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Trichoderma</b>	<b>50%</b>	<b>6</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>52</b>
1	Trichoderma	75%	4	Agar agar	1	<30

2	Trichoderma	75%	4	Agar agar	2	<30
3	Trichoderma	75%	4	Agar agar	3	<30
4	Trichoderma	75%	5	Agar agar	1	<30
5	Trichoderma	75%	5	Agar agar	2	<30
6	Trichoderma	75%	5	Agar agar	3	<30
7	Trichoderma	75%	6	Agar agar	1	71
8	Trichoderma	75%	6	Agar agar	2	66
9	Trichoderma	75%	6	Agar agar	3	70
	<b>Trichoderma</b>	<b>75%</b>	<b>4</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Trichoderma</b>	<b>75%</b>	<b>5</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Trichoderma</b>	<b>75%</b>	<b>6</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>69</b>
1	Trichoderma	100%	4	Agar agar	1	<30
2	Trichoderma	100%	4	Agar agar	2	<30
3	Trichoderma	100%	4	Agar agar	3	<30
4	Trichoderma	100%	5	Agar agar	1	<30
5	Trichoderma	100%	5	Agar agar	2	<30
6	Trichoderma	100%	5	Agar agar	3	<30
7	Trichoderma	100%	6	Agar agar	1	76
8	Trichoderma	100%	6	Agar agar	2	74
9	Trichoderma	100%	6	Agar agar	3	72
	<b>Trichoderma</b>	<b>100%</b>	<b>4</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Trichoderma</b>	<b>100%</b>	<b>5</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Trichoderma</b>	<b>100%</b>	<b>6</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>74</b>

**Anexo 4**  
**DATOS DEL LACTOBACILLUS**

N°	Microorganismo	Concentracion	Dilución	Medio de cultivo	# de ensayos	# UFC/ml
1	Lactobacillus	control negativo	4	Agar agar	1	<30
2	Lactobacillus	control negativo	4	Agar agar	1	<30
3	Lactobacillus	control negativo	4	Agar agar	1	<30
4	Lactobacillus	control negativo	5	Agar agar	2	<30
5	Lactobacillus	control negativo	5	Agar agar	2	<30
6	Lactobacillus	control negativo	5	Agar agar	2	<30
7	Lactobacillus	control negativo	6	Agar agar	3	<30
8	Lactobacillus	control negativo	6	Agar agar	3	<30
9	Lactobacillus	control negativo	6	Agar agar	3	<30
	<b>Lactobacillus</b>	<b>control negativo</b>	<b>5</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Lactobacillus</b>	<b>control negativo</b>	<b>6</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Lactobacillus</b>	<b>control negativo</b>	<b>7</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
1	Lactobacillus	control positivo	4	M.R.S	1	<30
2	Lactobacillus	control positivo	4	M.R.S	1	<30
3	Lactobacillus	control positivo	4	M.R.S	1	<30
4	Lactobacillus	control positivo	5	M.R.S	2	<30
5	Lactobacillus	control positivo	5	M.R.S	2	<30
6	Lactobacillus	control positivo	5	M.R.S	2	<30
7	Lactobacillus	control positivo	6	M.R.S	3	10
8	Lactobacillus	control positivo	6	M.R.S	3	14
9	Lactobacillus	control positivo	6	M.R.S	3	15
	<b>Lactobacillus</b>	<b>control</b>	<b>5</b>	<b>M.R.S</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Lactobacillus</b>	<b>control</b>	<b>6</b>	<b>M.R.S</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Lactobacillus</b>	<b>control</b>	<b>7</b>	<b>M.R.S</b>	<b>promedio</b>	<b>13</b>
1	Lactobacillus	50%	4	M.R.S	1	<30
2	Lactobacillus	50%	4	M.R.S	1	<30
3	Lactobacillus	50%	4	M.R.S	1	<30
4	Lactobacillus	50%	5	M.R.S	2	<30
5	Lactobacillus	50%	5	M.R.S	2	<30
6	Lactobacillus	50%	5	M.R.S	2	<30
7	Lactobacillus	50%	6	M.R.S	3	0
8	Lactobacillus	50%	6	M.R.S	3	0
9	Lactobacillus	50%	6	M.R.S	3	0
	<b>Lactobacillus</b>	<b>50%</b>	<b>5</b>	<b>M.R.S</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Lactobacillus</b>	<b>50%</b>	<b>6</b>	<b>M.R.S</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Lactobacillus</b>	<b>50%</b>	<b>7</b>	<b>M.R.S</b>	<b>promedio</b>	<b>0</b>

1	Lactobacillus	75%	4	M.R.S	1	<30
2	Lactobacillus	75%	4	M.R.S	1	<30
3	Lactobacillus	75%	4	M.R.S	1	<30
4	Lactobacillus	75%	5	M.R.S	2	<30
5	Lactobacillus	75%	5	M.R.S	2	<30
6	Lactobacillus	75%	5	M.R.S	2	<30
7	Lactobacillus	75%	6	M.R.S	3	79
8	Lactobacillus	75%	6	M.R.S	3	80
9	Lactobacillus	75%	6	M.R.S	3	81
	<b>Lactobacillus</b>	<b>75%</b>	<b>5</b>	<b>M.R.S</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Lactobacillus</b>	<b>75%</b>	<b>6</b>	<b>M.R.S</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Lactobacillus</b>	<b>75%</b>	<b>7</b>	<b>M.R.S</b>	<b>promedio</b>	<b>80</b>
1	Lactobacillus	100%	4	M.R.S	1	<30
2	Lactobacillus	100%	4	M.R.S	1	<30
3	Lactobacillus	100%	4	M.R.S	1	<30
4	Lactobacillus	100%	5	M.R.S	2	<30
5	Lactobacillus	100%	5	M.R.S	2	<30
6	Lactobacillus	100%	5	M.R.S	2	<30
7	Lactobacillus	100%	6	M.R.S	3	79
8	Lactobacillus	100%	6	M.R.S	3	80
9	Lactobacillus	100%	6	M.R.S	3	81
	<b>Lactobacillus</b>	<b>100%</b>	<b>5</b>	<b>M.R.S</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Lactobacillus</b>	<b>100%</b>	<b>6</b>	<b>M.R.S</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Lactobacillus</b>	<b>100%</b>	<b>7</b>	<b>M.R.S</b>	<b>promedio</b>	<b>0</b>

**Anexo 5**  
**DATOS DEL ACTINOMYCES**

N°	Microorganismo	Concentracion	Dilución	Medio de cultivo	# de ensayos	# UFC/ml
1	Actinomyces	control negativo	6	Agar agar	1	<30
2	Actinomyces	control negativo	6	Agar agar	2	<30
3	Actinomyces	control negativo	6	Agar agar	3	<30
4	Actinomyces	control negativo	7	Agar agar	1	<30
5	Actinomyces	control negativo	7	Agar agar	2	<30
6	Actinomyces	control negativo	7	Agar agar	3	<30
7	Actinomyces	control negativo	8	Agar agar	1	<30
8	Actinomyces	control negativo	8	Agar agar	2	<30
9	Actinomyces	control negativo	8	Agar agar	3	<30
	<b>Actinomyces</b>	<b>control negativo</b>	<b>6</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Actinomyces</b>	<b>control negativo</b>	<b>7</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Actinomyces</b>	<b>control negativo</b>	<b>8</b>	<b>Agar agar</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
1	Actinomyces	control positivo	6	sangre	1	<30
2	Actinomyces	control positivo	6	sangre	2	<30
3	Actinomyces	control positivo	6	sangre	3	<30
4	Actinomyces	control positivo	7	sangre	1	<30
5	Actinomyces	control positivo	7	sangre	2	<30
6	Actinomyces	control positivo	7	sangre	3	<30
7	Actinomyces	control positivo	8	sangre	1	40
8	Actinomyces	control positivo	8	sangre	2	36
9	Actinomyces	control positivo	8	sangre	3	38
	<b>Actinomyces</b>	<b>control positivo</b>	<b>6</b>	<b>sangre</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Actinomyces</b>	<b>control positivo</b>	<b>7</b>	<b>sangre</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Actinomyces</b>	<b>control positivo</b>	<b>8</b>	<b>sangre</b>	<b>promedio</b>	<b>38</b>
1	Actinomyces	50%	6	sangre	1	<30
2	Actinomyces	50%	6	sangre	2	<30
3	Actinomyces	50%	6	sangre	3	<30
4	Actinomyces	50%	7	sangre	1	<30
5	Actinomyces	50%	7	sangre	2	<30
6	Actinomyces	50%	7	sangre	3	<30
7	Actinomyces	50%	8	sangre	1	38
8	Actinomyces	50%	8	sangre	2	36
9	Actinomyces	50%	8	sangre	3	40
	<b>Actinomyces</b>	<b>50%</b>	<b>6</b>	<b>sangre</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Actinomyces</b>	<b>50%</b>	<b>7</b>	<b>sangre</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Actinomyces</b>	<b>50%</b>	<b>8</b>	<b>sangre</b>	<b>promedio</b>	<b>38</b>

1	Actinomyces	75%	6	sangre	1	<30
2	Actinomyces	75%	6	sangre	1	<30
3	Actinomyces	75%	6	sangre	1	<30
4	Actinomyces	75%	7	sangre	2	<30
5	Actinomyces	75%	7	sangre	2	<30
6	Actinomyces	75%	7	sangre	2	<30
7	Actinomyces	75%	8	sangre	3	48
8	Actinomyces	75%	8	sangre	3	50
9	Actinomyces	75%	8	sangre	3	46
	<b>Actinomyces</b>	<b>75%</b>	<b>6</b>	<b>sangre</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Actinomyces</b>	<b>75%</b>	<b>7</b>	<b>sangre</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Actinomyces</b>	<b>75%</b>	<b>8</b>	<b>sangre</b>	<b>promedio</b>	<b>48</b>
1	Actinomyces	100%	6	sangre	1	<30
2	Actinomyces	100%	6	sangre	1	<30
3	Actinomyces	100%	6	sangre	1	<30
4	Actinomyces	100%	7	sangre	2	<30
5	Actinomyces	100%	7	sangre	2	<30
6	Actinomyces	100%	7	sangre	2	<30
7	Actinomyces	100%	8	sangre	3	40
8	Actinomyces	100%	8	sangre	3	38
9	Actinomyces	100%	8	sangre	3	42
	<b>Actinomyces</b>	<b>100%</b>	<b>6</b>	<b>sangre</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Actinomyces</b>	<b>100%</b>	<b>7</b>	<b>sangre</b>	<b>promedio</b>	<b>&lt;30</b>
	<b>Actinomyces</b>	<b>100%</b>	<b>8</b>	<b>sangre</b>	<b>promedio</b>	<b>40</b>




**Anexo 6**  
**Certificación del Lactobacillus acidophilus ATCC 4356**



**Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release**

<p><b>Specifications</b>  <b>Microorganism Name:</b> Lactobacillus acidophilus  <b>Catalog Number:</b> 0243  <b>Lot Number:</b> 243-41**  <b>Reference Number:</b> ATCC® 4356™**  <b>Purity:</b> Pure  <b>Passage from Reference:</b> 3</p>	<p><b>Expiration Date:</b> 2019/10/31  <b>Release Information:</b>  <b>Quality Control Technologist:</b> Christine Condon  <b>Release Date:</b> 2018/2/23</p>
---	---

<b>Performance</b>	
<p><b>Macroscopic Features:</b>  Two colony types are present. The predominant colonies are medium to large, circular to slightly irregular, low convex, erose edge and rough; the other type is small, circular, convex, entire edge and smooth. Colonies are translucent and weakly alpha hemolytic.</p> <p><b>Microscopic Features:</b>  Gram positive rods with rounded ends, occurring singly, in pairs, and in short chains.</p>	<p><b>Medium:</b>  CNA</p> <p><b>Method:</b>  Gram Stain (1)</p>

<p><b>ID System:</b> MALDI-TOF  See attached ID System results document.</p>	<p><b>Other Features/ Challenges: Results</b>  (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative  PCR Screen for Group B Streptococcus: negative</p> <div align="center" style="margin-top: 20px;">   Amanda Kuperus  Quality Control Manager  AUTHORIZED SIGNATURE </div>
--	--

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005

## Anexo 7 Certificación del Actinomyces viscosus ATCC 15987



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>SPECIFICATIONS:</b> Product Name: Actinomyces viscosus Catalog Number: 0750 Lot Number: 750-38** Reference Number: ATCC® 15987™* Passage from Reference: 3 Expiration Date: 2025/01/31	<b>RELEASE INFORMATION:</b> Quality Control Technologist: Margaret E Wagener Release Date: 2023/02/24
---	---

Performance	
<b>Macroscopic Features:</b> Two colony types: small, circular, convex, entire edge, pale white, shiny, translucent; and small to large, circular, dome, entire, white, dull, opaque.	<b>Medium:</b> A/R SBAP
<b>Microscopic Features:</b> Straight to slightly curved gram positive rods and slender filaments, also some short rods; branching may be observed.	<b>Method:</b> Gram Stain (1)

**ID System: MALDI-TOF (1)**  
 See attached ID System results document.

**Other Features/ Challenges: Results**

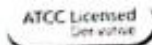
(1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive

Amanda Kuperus  
 Director of Quality Control  
 AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.  
 Individual products are traceable to a recognized culture collection.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



**Anexo 8**  
**Certificación del *Trichoderma Harzianum* (cepa nativa)**

 **CORPORACIÓN LABORATORIOS**  
**BIOplag**

**REGENERANDO VIDA**

**CARTA N° CLB-01-03-2024**

**A:** Olmedo Zavala Shanda Alexvy  
Surco Condori Lisbeth  
Estudiantes: Escuela profesional; Farmacia y Bioquímica  
Universidad Nacional De San Antonio Abad del Cusco.

**DE:** Corporación Laboratorios BIOplag E.I.R.L  
Mg.Cs. Bióloga Marcia Cárdenas Roque  
Gerente General

**ASUNTO:**

De mi mayor consideración:

Blga: Marcia Cárdenas Roque representante legal de la empresa **Corporación Laboratorios BIOplag E.I.R.L.** Con RUC: 20490060121 con dirección en PP.JJ. C. Civil L-3 Santiago y/o Calle Lechugal N° 351-B del mercado de Cusco.

Se informa sobre la compra de microorganismos; con fines de investigación; tesis; título:  
**"Evaluación nutritiva del bioestimulante líquido elaborado a partir de cerveza residual en el desarrollo de microorganismos benéficos: Trichoderma, Lactobacillus y Actinomicetos".**

**Que la cepa adquirida corresponde al HONGO ANTAGONISTA:** Trichoderma harzianum (Cepa nativa CLB-Th-2601); el laboratorio garantiza y certifica la especie adquirida para fines que viera por conveniente.

Cusco, 07 de marzo del 2024

**Atentamente:**

  
BIOPLAG E.I.R.L.  
Marcia Cárdenas Roque  
GERENTE GENERAL

**Mg. Cs. Blga. Marcia Cárdenas Roque**  
**Gerente General BIOplag E.I.R.L.**

## Anexo 9

### Informe de análisis de Enmenda orgánica líquida-nutricional



SOLICITANTE : JMC GERENCIA Y CONSTRUCCION SAC  
 PREDIO : JMC GERENCIA Y CONSTRUCCION SAC  
 MATRIZ : ENMIENDA ORGANICA LIQUIDA

ANÁLISIS N° : 785-01EOL -2022  
 LUGAR : CUZCO  
 FECHA DE RECEP. : 21/07/2022

#### INFORME DE ANÁLISIS DE ENMIENDA ORGÁNICA LÍQUIDA - NUTRICIONAL MUESTRA : MUESTRA DE BIOESTIMULANTE

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	MÉTODO	TÉCNICA
pH a Temp 19 °C	5.93		MEOL - 001	Electrométrico
Conductividad Eléctrica a 25 °C	8.80	dS/m	MEOL - 002	Electrométrico
Densidad a Temp 19 °C	1.04	g / cm <sup>3</sup>	MEOL - 003	Gravimétrico
Sólidos Totales	7.83	%	MEOL - 004	Gravimétrico
Materia Orgánica	6.90	%	MEOL - 005	Gravimétrico
Carbono Orgánico	4.00	%		
Cenizas Solubles (*)	0.89	%	MEOL - 006	Gravimétrico
Impurezas	0.04	%	MEOL - 007	Gravimétrico
Nitrógeno Total ( N <sub>t</sub> )	5768.13	ppm	MEOL - 008	Kjeldahl
Fósforo Total ( P )	479.79	ppm	MEOL - 009	Colorimétrico
Potasio Total ( K )	2437.70	ppm	MEOL - 010	FAAS
Calcio Total ( Ca )	50.63	ppm	MEOL - 011	FAAS
Magnesio Total ( Mg )	163.88	ppm	MEOL - 012	FAAS
Azufre Total ( S )	1187.13	ppm	MEOL - 013	Turbidimétrico
Sodio Total ( Na )	72.52	ppm	MEOL - 014	FAAS
Cloro Total ( Cl )	113.60	ppm	MEOL - 015	Argentométrico
Cobre Total ( Cu )	0.93	ppm	MEOL - 016	FAAS
Zinc Total ( Zn )	14.76	ppm	MEOL - 017	FAAS
Manganeso Total ( Mn )	1.46	ppm	MEOL - 018	FAAS
Hierro Total ( Fe )	34.50	ppm	MEOL - 019	FAAS
Boro Total ( B )	4.23	ppm	MEOL - 020	Colorimétrico

Los resultados están expresados en muestra original.

**DONDE:**

(\*) : Cenizas solubles en HCl ( 50 % (v/v) )  
 % : Masa / Volumen  
 ppm : mg / L  
 FAAS : Espectrometría de Absorción Atómica por Llama  
 MEOL : Método Propio del Laboratorio.

**NOTA:**

- 1: Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada.
- 2: Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente informe sin la autorización del Laboratorio de Química Agrícola.

  
**MSc. Quím. Alexis Saucedo Chacón**  
 JEFE DEL LABORATORIO



  
**MSc. Agr. Julio Castro Lazo**  
 DIRECTOR DEL LABORATORIO

Promotora de Obras Sociales y de Instrucción Popular  
 Panamericana Sur Km. 144, San Vicente de Cañete, Lima - Perú  
 Teléfono: (511) 581 2261 | Celular: 991 692 563  
 Email: laboratorio@vallegrande.edu.pe | Web: www.vallegrande.edu.pe

## Anexo 10 Activación de cepas, técnica de KwikStik



### INSTRUCCIONES CON ILUSTRACIONES

- 

Deje que la bolsa de KWIK-STIK sin abrir se adapte a la temperatura ambiente. Abra la bolsa rasgando a la altura de la muesca y quite la unidad de KWIK-STIK.
- 

Retire la porción de la etiqueta de tirar y rasgar y colóquese a la placa de cultivo principal o al registro de CC. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
- Sobre el borde de la mesa de trabajo o la encimera, agriete la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK (justo debajo del menisco del líquido de la ampolla) para liberar el líquido hidratante.
- 

Manténgalo vertical y golpee suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad que contiene el gránulo.
- 

Apriete la parte inferior de la unidad para que el gránulo se disuelva en el líquido hasta lograr una suspensión homogénea.
- 

De inmediato, sature el hisopo abundantemente con el material hidratado y transféralo al medio con agar correspondiente o utilícelo según el procedimiento operativo estándar del laboratorio.
- 

Inocule la placa de cultivo principal girando con suavidad el hisopo sobre un tercio de la placa.
- 

Por medio de un asa esterilizada, haga estrías para facilitar el aislamiento de la colonia.
- 

Descarte el KWIK-STIK de forma apropiada para desechos de riesgo biológico.
- De inmediato, incube la(s) placa(s) invertida(s) de cultivo principal inoculada(s) a temperatura y en condiciones apropiadas para el microorganismo.  
Para ver el método de cultivo ingrese a la página del producto en [www.microbiologics.com](http://www.microbiologics.com).

## REGISTRO FOTOGRÁFICO

**Fotografía N° 1**



**Fotografía N° 2**



Las imágenes N°1 y N°2 corresponde a la recolección de la muestra, obtenida de la empresa JMC SAC, cuya planta está ubicada en distrito de Chinchero, de la provincia de Urubamba. El bioestimulante fresco se ha recolectado en los envases estériles para llevarlos al laboratorio de Microbiología para su almacenamiento.

**Fotografía N°3**



**Fotografía N°4**



**Fotografía N°5**



Las imágenes N°3, N°4 y N°5 corresponden a la esterilización de material de laboratorio, esto antes de cada ejecución de los procedimientos experimentales, garantizando así la eliminación de microorganismos que puedan comprometer la validez de los resultados.

**Fotografía N° 6**



**Fotografía N°7**



**Fotografía N°8**



Las imágenes N°6, N°7 y N°8 corresponden al análisis fisicoquímico que se realizó para medir el pH utilizando el método del potenciómetro a distintas temperaturas en el laboratorio de microbiología.

**Fotografía N° 9**



**Fotografía N°10**

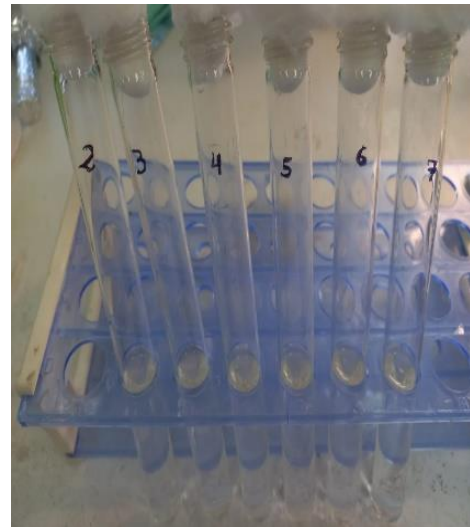


Las imágenes N° 9 y 10 corresponden a la evaluación organoléptica del bioestimulante líquido en el laboratorio de Microbiología.

**Fotografía N° 11**



**Fotografía N° 12**

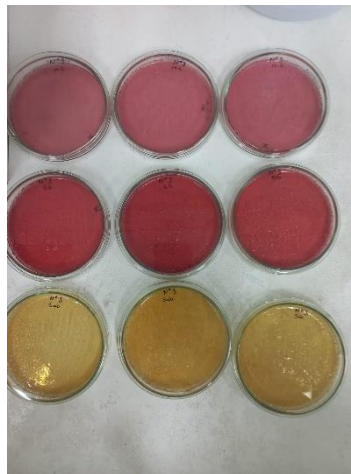


Las imágenes N°11 y N°12 corresponden a la toma de 1 ml de las soluciones previamente preparadas, que luego se cultivaron por triplicado. Para el control microbiológico.

**Fotografía N° 13**



**Fotografía N° 14**



**Fotografía N° 15**



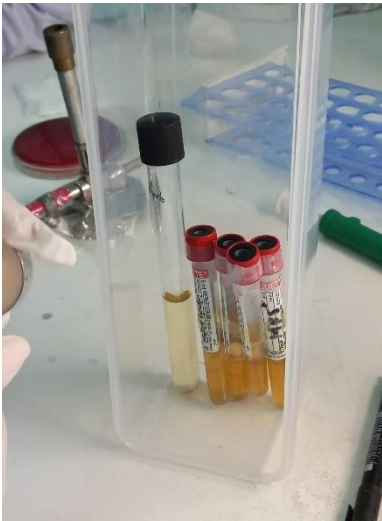
Las imágenes N°13, N°14 y N°15 corresponden a la preparación de medios de cultivo en agar y al control microbiológico realizado en agar MacConkey, Sabouraud y agar selectivo para Salmonella-Shigella. Las muestras fueron sembradas por triplicado e incubadas a 37°C durante 72 horas.



Fotografía N°16



Fotografía N°17



Fotografía N°18

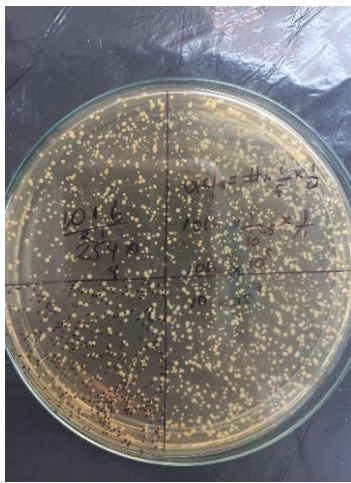


Las imágenes N°16,17 y 18 corresponden al proceso de activación y cultivo de *Lactobacillus acidophilus atcc*. Para ello se *inoculo* la cepa de la bacteriana liofilizada en un tubo con tapa rosca con 7ml de caldo M.R.S, incubando el tubo con la cepa bacteriana por 48 horas a 37°C en condiciones de anaerobiosis.

Fotografía N°19



Fotografía N°20

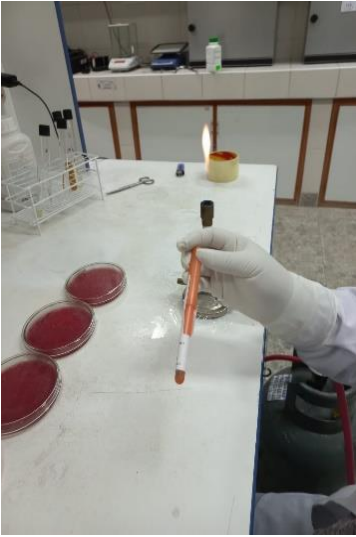


Fotografía N°21



Las imágenes N°19,20 y 21 corresponden a los resultados del crecimiento *Lactobacillus acidophilus* en las placas de MRS.

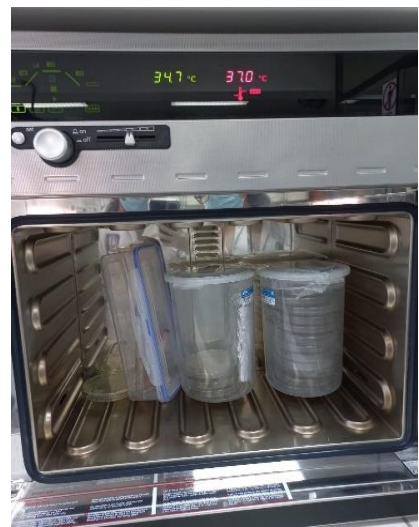
**Fotografía N°21**



**Fotografía N°22**



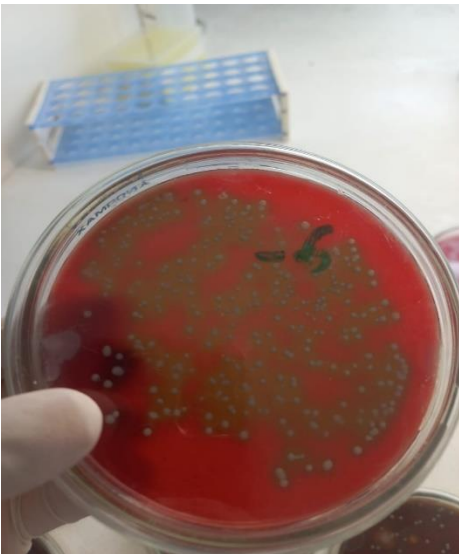
**Fotografía N°23**



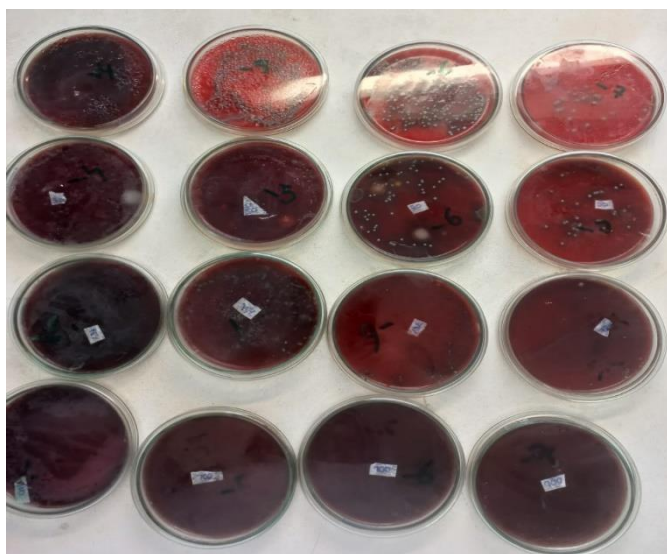
Las imágenes N°21, N°22 y N°23 documentan el proceso de activación de la cepa de *Actinomyces viscosus* en agar sangre y la incubación en anaerobiosis a 37°C.

El agar sangre, debido a su composición rica en nutrientes y factores de crecimiento, es adecuado para el desarrollo de este microorganismo permitirá evaluar las características morfológicas de las colonias.

**Fotografía N°24**



**Fotografía N°25**



Las imágenes N°24 y N°25 corresponden a los resultados de *Actinomyces viscosus* en agar sangre , tras su incubación en condiciones anaeróbicas..

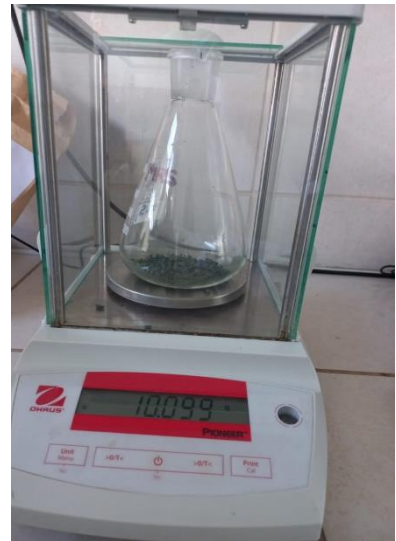
Fotografía N°26



Fotografía N°27



Fotografía N°28



Las imágenes N°26, N°27 y N°28 corresponden al procedimiento de pesaje del *Trichoderma Harzianum* para la preparación de soluciones o medios de cultivo. Este proceso implica la medición precisa de los ingredientes necesarios para garantizar la correcta formulación y concentración de las soluciones. El pesaje se realiza utilizando una balanza analítica, y cada componente se mide con alta precisión.

Fotografía N°29

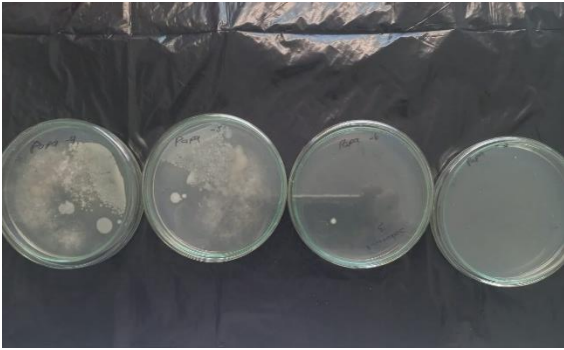


Fotografía N°30

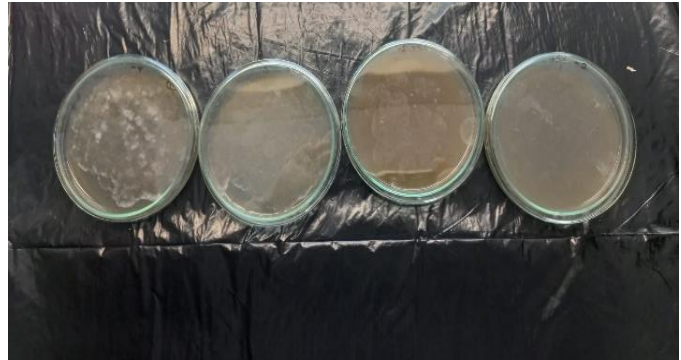


Las imágenes N°29 Y N°30 corresponden al cultivo del trichoderma harzianum en la campana de extracción para evitar alguna contaminación además se llevo la incubación en anaerobiosis a 26°C.

**Fotografía N°31**



**Fotografía N°32**



Las imágenes N°31 y N° 32 corresponden a los resultados del crecimiento de *Trichoderma harzianum*.