



Universidad Tecnológica Nacional  
Facultad Regional Concepción del Uruguay

Maestría en Ingeniería Ambiental

**“Mejoramiento del compostaje de residuos orgánicos de la  
avicultura mediante la utilización de microorganismos efectivos”**

Tesis presentada para el grado de

**MAGISTER EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

Tesista: Esp. Ing. Fernando Carlos Raffo

Director: Dr. Dante Javier Bueno

Concepción del Uruguay, noviembre de 2021

A mi esposa Liliana,  
a mis hijos Justo y Francisco,  
a mis padres Ines y Eduardo,  
que siempre me han acompañado

## **AGRADECIMIENTOS**

Quisiera agradecer a todas las personas e instituciones que de una u otra manera han colaborado en el desarrollo de esta tesis, deseo agradecer especialmente a:

La Facultad Regional C. del Uruguay, a sus autoridades, por la colaboración y marco brindado para su desarrollo.

Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, a través de la Estación Experimental Agropecuaria Concepción del Uruguay, por la colaboración y marco brindado para su desarrollo.

Al personal del EEA Concepción del Uruguay, especialmente a la Lic. Corina Bernigaud y a la Ing. Magali Hoffman por su colaboración en los resultados analíticos.

Al Director de la tesis el Dr. Dante Javier Bueno, por sus aportes y apoyo técnico, por su permanente contribución en cada etapa del trabajo, por su dedicación y aporte intelectual y por el ejemplo brindado ante cada uno de los requerimientos planteados.

Mi familia por su constante apoyo y colaboración.

## **RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue mejorar la performance del compostaje de la cama de pollo, incorporando microorganismos efectivos (EM). Se realizaron dos ensayos sobre camas de una y tres crianzas con la que se armaron pilas de 1 m<sup>3</sup> con tres replicas para el ensayo A y 2 réplicas para el ensayo B. Se realizaron tres tratamientos: control (C) sin EM, tratamiento 1 (EM-1® 1:50) y tratamiento 2 (EM-1® 1:10). Los datos fueron evaluados estadísticamente por un modelo factorial para el análisis de la varianza (ANOVA). Las medias que mostraron diferencias significativas fueron comparadas utilizando el test de Tukey. Se analizaron variables fisicoquímicas: temperatura, PH, conductividad eléctrica, humedad y microbiológicas. Los ensayos se desarrollaron durante 81 días, ensayo A y 55 días, ensayo B. En general, todos los parámetros de compostaje muestran que los tratamientos tienen un patrón similar, cumplimentando con la normativa vigente como un compost de clase B para los indicadores de calidad y nivel de patógenos. La disminución en los valores de coliformes y Salmonella sp. indica que con una pila menor a 1 metro de altura se pueden eliminar la carga de patógenos a partir del segundo volteo. El tratamiento 2 de (EM-1® 1:10) mejora los parámetros de PH y conductibilidad eléctrica en la cama apilada en algunas etapas del proceso de compostaje.

**Palabras Claves:** Compostaje, Microorganismos Efectivos, Producción Avícola

## **ABSTRACT**

The objective of this work was to improve the composting performance of the chicken litter, incorporating effective microorganisms (EM). Two trials are carried out on beds of one and three broods with which 1 m<sup>3</sup> piles were assembled with three replicas for trial A and 2 replicates for trial B. Three treatments were carried out: control (C) without EM, treatment 1 (EM-1® 1:50) and treatment 2 (EM-1® 1:10). The data were statistically evaluated by a factorial model for the analysis of variance (ANOVA). The means that appeared significant differences were compared using the Tukey test. Physicochemical variables were analyzed: temperature, PH, electrical conductivity, humidity and microbiological. The trials were developed for 81 days, trial A and 55 days, trial B. In general, all the composting parameters show that the treatments have a similar pattern, complying with current regulations as a class B compost for quality indicators and level of pathogens. The decrease in the values of coliforms and Salmonella sp. indicates that with a pile less than 1 meter high, the pathogen load can be eliminated from the second turning. The treatment 2 (EM-1® 1:10) improves the PH parameters and electrical conductivity in the stacked litter in some stages of the composting process.

**Key Words:** Composting, Effective Microorganisms, Poultry Production

## ÍNDICE.

1.	INTRODUCCIÓN.	7
1.1.	Producción Avícola	7
1.2.	Cama de pollo	11
1.2.1.	Aspectos microbiológicos.	11
1.2.2.	Manejo regional.	13
1.2.3.	Legislación.	13
1.2.4.	Tratamiento.	18
1.3	Microorganismos efectivos (EM).	21
2.	OBJETIVOS	25
2.1.	Objetivo general	25
2.2.	Objetivo específico	25
3.	HIPOTESIS	26
4.	MATERIALES Y MÉTODOS.	27
4.1.	Lugares de los ensayos.	27
4.2.	Manejo de la cama.	28
4.3.	Tratamientos.	30
4.4.	Muestreo.	32
4.5.	Variables fisicoquímicas.	33
4.5.1.	Temperatura.	33
4.5.2.	PH y conductibilidad eléctrica.	34
4.5.3.	Contenido de humedad.	34
4.5.4.	Carbono orgánico total.	35
4.5.5.	Nitrógeno total.	35
4.6.	Variables microbiológicas.	35
4.7.	Análisis estadístico.	36
5.	RESULTADOS	37
5.1.	Variables fisicoquímicas.	37
5.1.1.	Temperatura.	37
5.1.2.	PH.	43
5.1.3	Conductibilidad eléctrica.	44
5.1.4	Humedad.	46
5.1.5.	Relación Carbono Nitrógeno	48
5.2.	Variables microbiológicas.	48
6.	DISCUSIÓN.	56
6.1.	Variables fisicoquímicas.	56
6.1.1.	Temperatura.	56
6.1.2.	PH.	57
6.1.3	Conductibilidad eléctrica.	58
6.1.4	Humedad.	58
6.1.5.	Relación Carbono-nitrógeno	59
6.2.	Variables microbiológicas.	60
7.	CONCLUSIONES.	62
8.	PROYECCIONES.	63
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	64
10.	ANEXOS	72

**ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS**

TABLAS		
Tabla 1	Producción mensual de aves en Argentina, durante 2018 y 2019.	8
Tabla 2	Exportación de aves en Argentina, durante 2018 y 2019.	9
Tabla 3	Distribución de granjas avícolas en Entre Ríos, durante 2018.	10
Tabla 4	Nivel de patógenos indicados por la Resolución Conjunta 1/2019 entre el MAyDS y el SENASA	17
Tabla 5	Indicadores de calidad indicados por la Resolución Conjunta 1/2019 entre el MAyDS y el SENASA.	18
Tabla 6	Horas acumuladas con temperaturas mayores o iguales a 45, 50 y 55 <sup>a</sup> C, para los ensayos A y B	42
Tabla 7	Relación carbono nitrógeno en el ensayo A.	48
FIGURAS		
Figura 1:	Vista externa de los galpones de donde se tomó la cama para el ensayo A.	27
Figura 2:	Vista interna de los galpones desde donde se tomó la cama para en ensayo A.	28
Figura 3	Agregado de agua del ensayo A	29
Figura 4	Vista de las pilas del ensayo A	29
Figura 5	Vista del volteo y aplicación de los tratamientos del ensayo B	30
Figura 6	Vista de las pilas del ensayo B	30
Figura 7	Vista de los volteos en el ensayo A	31
Figura 8	Agregado de EM-1® activado en el ensayo A	31
Figura 9	Muestras tomadas por muestreo en el ensayo A	32
Figura 10	Medición de temperatura en el ensayo A	34
Figura 11	Variación de la temperatura en el ensayo A, en función del tiempo	38
Figura 12	Evolución de las temperaturas en las pilas 1 y 2 (control), del ensayo B.	39
Figura 13	Evolución de las temperaturas en las pilas 3 y 4 (EM-1® 1:50), del ensayo B.	40
Figura 14	Evolución de las temperaturas en las pilas 5 y 6 (EM-1® 1:10), del ensayo B.	41
Figura 15	Variación del pH en función del tiempo. Ensayo A y B	43
Figura 16	Variación de la conductibilidad eléctrica en función del tiempo. Ensayo A y B	45
Figura 17	Variación de la humedad en función del tiempo. Ensayo A y B	47
Figura 18	Variación de los aerobios termófilos en función del tiempo. Ensayo A y B.	49
Figura 19	Variación de los aerobios mesófilos en función del tiempo. Ensayo A y B.	50
Figura 20	Variación de las enterobacterias en función del tiempo. Ensayo A y B.	51
Figura 21	Variación de las bacterias coliformes en función del tiempo. Ensayo A y B	53
Figura 22	Variación de Staphylococcus coagulasa en función del tiempo. Ensayos A y B.	54
Figura 23	Variación de las bacterias lácticas en función del tiempo. Ensayos A y B.	55

## **1. INTRODUCCION.**

### **1.1. Producción avícola.**

La producción avícola a nivel mundial es una actividad que viene creciendo sostenidamente y continuara liderando la producción de carne en los próximos 10 años, gracias a que su ciclo de producción es relativamente corto en comparación a otras producciones, lo que permite a los productores responder más rápido que otras carnes a las demandas del mercado.

En 2018 la producción de carne de aves de corral alcanzó casi 125 millones de toneladas métricas y se prevé que aumente casi el 3% en 2019, según las proyecciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).

Brasil, China y EE. UU., lideraran la producción de carne de aves de corral hasta 2028. Aunque la tendencia indica que si bien los países productores más grandes aún dominan el volumen de producción avícola mundial las nuevas regiones en desarrollo en las que se incluye América Latina, también están creciendo gracias a la incorporación de nuevas tecnologías de producción. Los países en desarrollo seguirán siendo los principales importadores de carne de aves de corral durante la próxima década. (Conwell, 2019)

Según datos de la FAO, el consumo pronosticado de aves per cápita en América Latina y el Caribe se estima en 35 kg / persona / año para 2030, siendo este más del doble de las tasas mundiales de consumo proyectadas. Esto posicionan a la región, no sólo como exportadora, sino también como un mercado potencial de importancia que impulsara la actividad avícola en la próxima década por sobre otras producciones de carnes.

La producción avícola Argentina es una actividad en expansión, originando una importante transformación de productos primarios (maíz y soja fundamentalmente) y generando altas tasas de empleo en zonas rurales y urbanas. La Argentina, país productor de granos, está en una situación privilegiada para la elaboración de alimentos económicos para aves de corral. Es mucho más rentable

para nuestro país exportar carne y huevos con un 10% más de valor agregado que exportar los granos como tales.

Según lo publicado por el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MAGyP), en el Boletín Avícola 2019, la faena nacional de aves en establecimientos con habilitación del SENASA (95 % del total) alcanzó 757 millones, 6,4% por encima del año 2018, distribuyéndose, mayoritariamente en las provincias de Entre Ríos (51%) y Buenos Aires (36%) y, en menor medida, entre Santa Fe (5%), Córdoba (3%) y Río Negro (3%). El 2% restante se reparte entre las provincias de Mendoza, Salta, Jujuy y La Rioja (Tabla 1).

**Tabla 1** Producción mensual de aves en Argentina, durante 2018 y 2019 <sup>1</sup>

Mes	Miles de cabezas según año		Variación % 2019/2018
	2018	2019	
Enero	58.253	65.174	11,9
Febrero	50.502	57.157	13,2
Marzo	59.944	58.651	-2,2
Abril	58.408	60.773	4,0
Mayo	62.130	66.790	7,5
Junio	57.447	57.300	-0,3
Julio	61.500	68.384	11,2
Agosto	63.512	65.234	2,7
Septiembre	55.326	61.674	11,5
Octubre	63.381	66.803	5,4
Noviembre	61.700	62.648	1,5
Diciembre	59.357	66.360	11,8
Total 2019	711.460	756.949	6,4

Las exportaciones de carne aviar y subproductos del año 2019 totalizaron 335.7 mil toneladas por un valor de 454.5 millones de U\$S FOB. No se registraron

<sup>1</sup> Fuente: Elaborado por Area Avícola, Dirección de Porcinos, Aves de Granja y No Tradicionales – SSG – MAGyP con datos de Senasa

exportaciones de productos de otras especies tales como pavos y patos. En la tabla N° 2 puede apreciarse el total desagregado de forma mensual.

**Tabla 2:** Exportación de aves en Argentina, durante 2018 y 2019 <sup>2</sup>

Año Mes	2018		2019		2019/2018	
	miles de tn	miles U\$S FOB	miles de tn	miles U\$S FOB	Variación Tn %	Variac.\$S FO %
Enero	20.650	26.708	22.159	29.307	7,3	9,7
Febrero	17.990	22.016	21.727	27.453	20,8	24,7
Marzo	13.546	19.741	20.240	27.141	49,4	37,5
Abril	14.501	22.189	25.948	34.451	78,9	55,3
Mayo	12.199	18.850	25.538	37.016	109,4	96,4
Junio	15.547	22.849	27.733	41.009	78,4	79,5
Julio	18.723	27.642	28.553	39.735	52,5	43,7
Agosto	18.312	25.545	32.223	42.076	76,0	64,7
Septiembre	16.717	25.096	34.475	46.301	106,2	84,5
Octubre	19.369	28.218	30.403	41.840	57,0	48,3
Noviembre	15.467	23.112	32.125	44.189	107,7	91,2
Diciembre	18.875	27.964	34.635	44.021	83,5	57,4
Total 2019	201.895	289.931	335.760	454.538	66	57

De acuerdo con el volumen, las exportaciones totales avícolas en el 2019 se distribuyeron principalmente entre los siguientes países: 35% China (91% pollo trozado, incluyendo garras y el resto a pollo entero), 13% Sudáfrica (99% pollo trozado y el resto pollo entero), 8% Chile (71% pollo entero y el resto, pollo trozado), 6% Vietman y Hong Kong, Rusia y Colombia con 4% cada uno. El 26% restante corresponde a Cuba, Arabia Saudita, Angola, Yemen y Hong Kong, entre otros. Son más de 60 países los destinos de las exportaciones.

El consumo aparente total de carne aviar registrado durante el año 2019 aumentó 3% en relación con el mismo período del año 2018. Por su parte, el

<sup>2</sup> Fuente: Elaborado por Area Avícola, Dirección de Porcinos, Aves de Granja y No Tradicionales – SSG – MAGyP con datos de Indec

consumo per cápita alcanzó 43.3kg/persona/año, un aumento de 1% respecto al año anterior.

En la provincia de Entre Ríos la actividad avícola es sumamente relevante en el contexto nacional, ya que se concentra más de la mitad de la faena nacional de parrilleros habilitada por el SENASA. En el año 2016 fue el 51,0% en el año 2017 el 50,0%, en el año 2018 el 53,0 % y en el año 2019 el 51,0 % (Martínez y Borghello, 2019).

Un indicador de la relevancia del sector es el ingreso de divisas por exportación que en el año 2018 fue el principal producto exportado con el 16.7 % (pollo entero y trozado) del total de exportaciones de la provincia, por sobre el maíz, el trigo y la soja. (Ministerio de Hacienda de la Nación, 2018).

En la tabla 3 puede observarse la distribución de las granjas por actividad productiva que desarrollan, siendo el 90 % del total las que están dedicadas a la producción de carne y su distribución geográfica se concentra en los departamentos Colon y Concepción del Uruguay con más del 50 % de las mismas.

**Tabla 3:** Distribución de granjas avícolas en Entre Ríos, durante 2018<sup>3</sup>

<b>Granjas por actividad</b>	<b>Cantidad</b>
Producción de Carne	2.382
Producción Huevos	199
Producción Carne y Huevos	26
Planta de Incubación - Parrilleros	2
Planta de Incubación - Ponedoras	2
Recría - Padres Pesados	26
Recría – Ponedoras	14
Recría Reproducción e Incubación(abuelos pesados)	2
Recría Reproducción e Incubación(padres pesados)	2

<sup>3</sup> Fuente: Elaborado por la Dirección de Ganadería y Pesca de Entre Ríos con datos de Senasa 2018

Recría y Reproducción (huevos)	96
Recría y Reproducción(abuelos pesados)	2
Recría y Reproducción(padres livianos)	1
Recría y Reproducción(padres pesados)	18
Reproducción(padres livianos)	2
Reproducción(padres pesados)	68
Reproducción e Incubación(padres pesados)	2
<b>TOTAL GRANJAS</b>	<b>2.645</b>

## 1.2. CAMA DE POLLO.

La producción de aves de corral genera, entre otros, residuos derivados de la incubación, el guano (excrementos de aves), la cama (materiales como aserrín, virutas de madera, paja y cáscara de arroz) y la mortalidad en las granjas, siendo la cama y el guano los principales residuos generados en volumen. La cama, como otros residuos, pueden proporcionar nutrientes orgánicos e inorgánicos de valor si se gestionan y reciclan correctamente. Además, se ha aplicado durante siglos a las tierras para aumentar la producción de cultivos. (Bueno y col., 2016).

La cama es un material que se distribuye sobre el piso de los galpones con el fin de evitar el contacto directo del ave con el suelo, brindar confort y un desarrollo adecuado de las aves. La cama debe ayudar a absorber el agua que se derrama de los bebederos, también a diluir las materias fecales, servir como aislante del frío proveniente del piso de los galpones y generar calor por acción de la descomposición de los componentes orgánicos, debido a los microorganismos presentes dentro de la misma. Otras características de la cama son el tamaño, textura y color del material a usar. (Luyo Flores, 2014).

### 1.2.1 Aspectos microbiológicos

La cama proveniente de la crianza de pollos parrilleros contiene una carga importante de microorganismos, los cuales son originadas por diversas fuentes, siendo la principal el tracto gastrointestinal de las aves, además de la carga que

podiera tener el material del que está compuesto la cama, las cargas microbianas transportadas por el aire, más la del personal y equipo que entra al galpón (Bernigaud y col., 2016).

El papel de los microorganismos en la cama depende de su habilidad para sobrevivir en ese ecosistema. Siendo la cama el principal reservorio de patógenos que en un mayor o menor grado afectan la salud de las aves, y, por otra parte, la presencia de microorganismos que aun siendo inocuos para las aves representan un peligro para la salud del hombre, por lo que el control de estas poblaciones de patógenos debe ser la meta prioritaria en los programas de manejo de cama (Castillo, 2002).

Por otro lado, la implicancia sanitaria de la reutilización de la cama es una preocupación para la avicultura mundial, pues las camas contaminadas pueden actuar como reservorios de patógenos aviares y zoonóticos (Williams y col., 1999). También puede relacionarse con la seguridad alimentaria, cuando las aves contaminadas entran en la planta de procesamiento y con la seguridad ambiental, cuando la cama se utiliza como fertilizante

La cama proporciona una condición especial para un adecuado crecimiento bacteriano cuando los valores de pH se encuentran entre 8 y 9 en camas reutilizadas (Dai Prá y col., 2010). Sumado a esto las temperaturas en el galpón oscilan normalmente entre 20 y 32 °C dependiendo de la semana de cría, completando un hábitat óptimo para las bacterias, especialmente aeróbicas mesófilas o microaerófilas (Luyo Flores, 2014). En este sentido la cama puede ser un reservorio de *Salmonella* sp. cuyo origen pueden ser las mismas aves o los vectores que permanecen en la instalación durante el período de vacío sanitario. La población de esta bacteria en la cama está correlacionada positivamente con su presencia en heces de aves. En Argentina, la presencia de *Salmonella* sp. es mayor en la cama de las aves que en el alimento, 40,5-46 % y 5,1-21 % respectivamente (Bueno y col., 2016).

### **1.2.2 Manejo regional**

El manejo de la cama debería ser tan importante como la ventilación, la nutrición, el programa de luz, la calidad del agua y la eficiencia del programa sanitario. En la industria avícola, el manejo de la cama en las granjas es vital para proteger a las aves y otorgarles las mejores condiciones sanitarias y de bioseguridad. Por lo cual, el material de la cama avícola debe estar libre de cualquier contaminante, como productos químicos y organismos que causen enfermedades y puedan dañar a las aves (Noll, 1992; Bland y Ghazikhanian, 1998).

La reutilización de la cama de pollo es una práctica común en la industria avícola, tanto en Australia, Brasil, Estados Unidos y Argentina en lotes de pollos sanos, debido a tres aspectos: disponibilidad limitada, alto costo de la cama y la sostenibilidad ambiental (Roll y col., 2011; Barker col, 2011; Islam y col., 2013; Virtuose y col., 2015;).

En la provincia de Entre Ríos, la cama ya usada, puede reutilizarse durante varias crianzas, y en caso de que haya habido enfermedades infecto contagiosas debe tratarse para recibir el siguiente lote de crianza (Bernigaud y col, 2016). Un punto a favor de esta práctica ha sido la obligatoriedad de realizar un vacío sanitario entre crianzas de al menos 10 días, lo que ha permitido a los avicultores realizar tareas para la mejora y acondicionamiento de la misma. Entre las prácticas habituales que se realizan durante este “vacío” de la granja se destaca el triturado de la “champa” o costra, en los sectores con excesiva humedad en donde se retira parcialmente la cama de pollo y se ingresa material nuevo para reponerla y dentro de las empresas que exigen tratamientos a sus integrados el más frecuente es el apilado (Bernigaud y col, 2016).

### **1.2.3. Legislación**

El marco regulatorio en Argentina está orientado al abordaje de dos cuestiones referidas a la gestión de la cama de pollo, la primera es sanitaria, fundamentalmente en evitar los riesgos de transmisión de enfermedades a las aves en producción y eventualmente a las personas. La segunda se refiere a la utilización

como fertilizante, enmienda y/o sustrato para la mejora de los suelos agrícolas, reconociendo la capacidad de los cultivos de extraer nutrientes y la capacidad del propio suelo como ecosistema vivo de purificar dichos materiales a través de procesos físicos, químicos y biológicos. (Gangee y col., 2016).

La resolución 1699/2019 SENASA, reemplazó a la Resolución 542/2010 que era la norma base para la actividad avícola en general. En el artículo 19 de la primera se detalla el manejo sanitario, más precisamente en los incisos i, j y l, que establecen que la cama usada y el guano podrán ser eliminados dentro del predio del establecimiento o trasladarse en camiones cerrados y tapados que no pierdan su contenido, a destinos autorizados por las normas provinciales, municipales y departamentales vigentes, acompañados por el documento de tránsito electrónico (DT-e) y el "Certificado sanitario de desechos de la producción avícola (aves muertas, cama usada de galpón, guano u otros)," avalado por el veterinario acreditado en sanidad aviar del establecimiento, de acuerdo con el modelo que figura como Anexo V (IF-2019-109060365-APN-DPYESA#SENASA) de la presente. Si se esparce en un campo de otra propiedad, debe hacerlo con el consentimiento del propietario del mismo. Así mismo, se prohíbe el traslado sin tratamiento del guano o la cama usada de galpón u otros desechos, cuando en el establecimiento y durante los últimos TRES (3) meses anteriores a la finalización de la crianza, se hubieran presentado brotes de enfermedades infectocontagiosas de declaración obligatoria. Los mismos deben ser tratados en el establecimiento por compostaje u otro método que garantice la inactivación de patógenos. Así también indica que, todas las granjas de aves para carne, de huevos para consumo, y los núcleos de aves reproductoras deben cumplir con un período de descanso sanitario obligatorio, comprendido entre la salida de las últimas aves del lote y la entrada de las primeras aves del siguiente. Durante dicho período se deben realizar las tareas de tratamiento de cama usada o guano, limpieza, desinfección, desinsectación, desratización y preparación para la entrada del nuevo lote. El tiempo mínimo exigido es inicialmente de DIEZ (10) días. La Dirección Nacional de Sanidad Animal, a través del Sistema Integrado de Gestión de Sanidad Animal (SIGSA), implementará su obligatoriedad y podrá establecer un período de descanso obligatorio mayor, en

función del tipo de producción (reproducción, engorde o producción de huevos), el tamaño del establecimiento, la incidencia de las enfermedades o patologías que se presenten y el historial de mortandad de los lotes anteriores.

A nivel provincial, la Secretaría de Ambiente de Entre Ríos solicita detalles de los tratamientos y sitios de disposición final de los residuos para otorgar el Certificado de Aptitud Ambiental de acuerdo al Decreto 4977/09, paso necesario para lograr la habilitación de una granja en SENASA. El auto calentamiento de los residuos orgánicos de cama de pollo y guano de la actividad avícola es uno de los tratamientos sugeridos por el organismo provincial a los efectos de las evaluaciones de impacto ambiental.

Los municipios de la provincia de Entre Ríos también pueden exigir este tipo de información respecto del tratamiento/disposición final, de acuerdo al Decreto 3498/16, de la Secretaria de Ambiente que delegó la emisión del certificado de aptitud ambiental a los mismos. También previo al otorgamiento del permiso de uso de suelo, podrán pedir información complementaria o de las ordenanzas específicas si las tuvieren que emitan relacionadas con la gestión de la cama de pollo.

Con respecto a la utilización de la cama de pollo como fertilizante existe la Ley de Fiscalización de Fertilizantes y Enmiendas N° 20.466/1973, que establece el control de la elaboración, importación, exportación, tenencia, fraccionamiento, distribución y venta de fertilizantes y enmiendas, en todo el territorio de la República Argentina, a los efectos de asegurar al usuario su bondad y calidad. Que, a su vez, el Artículo 4° de la referida ley establece que todos los fertilizantes y enmiendas que se elaboren, importen, fraccionen y se destinen a la venta o a la exportación, deberán ser previamente autorizados por el organismo de aplicación al solo efecto de certificar su aptitud para el empleo como fertilizante o enmienda. Que el organismo de aplicación de dicha ley, conforme el Decreto N° 4.830 del 23 de mayo de 1973, es el SENASA.

En el año 2011 el SENASA emitió la Resolución N° 264, en donde se aprobó el reglamento para el registro de fertilizantes, enmiendas, sustratos, acondicionadores, protectores y materias primas en la República Argentina.

En el año 2015 se promulgo la Ley N° 27.233, que declara de interés nacional la sanidad de los animales y los vegetales, así como la prevención, el control y la erradicación de las enfermedades y de las plagas que afecten la producción silvo-agropecuaria nacional, la flora y la fauna, la calidad de las materias primas producto de las actividades silvo-agrícolas, ganaderas y de la pesca, así como también la producción, inocuidad y calidad de los agro alimentos, los insumos agropecuarios específicos y el control de los residuos químicos y contaminantes químicos y microbiológicos en los alimentos y el comercio nacional e internacional de dichos productos y subproductos. Que el citado Servicio Nacional es la autoridad de aplicación de la mencionada ley y el encargado de planificar, ejecutar y controlar el desarrollo de las acciones allí previstas. Que, en tal sentido, se encuentra facultado para establecer los procedimientos y sistemas para el control público y privado de los productos fármaco-veterinarios y fitosanitarios, fertilizantes y enmiendas, adecuando los sistemas de fiscalización y certificación higiénico-sanitaria actualmente utilizados.

En el año 2019 se emitió la Resolución Conjunta 1/2019, entre el MAyDS y el SENASA que complementa las normas anteriores. Entre sus considerandos podemos destacar:

- ✓ Que el uso de compost tiene múltiples beneficios debido a su capacidad para mejorar las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos y medios de cultivo a través de mejorar su estructura, porosidad y densidad; aumentar la infiltración y la permeabilidad; mejorar la capacidad de retención de agua; suministrar una variedad de macro y micronutrientes, así como también aportar materia orgánica.
- ✓ Que en mérito a las demandas de asistencia técnica por parte de las distintas jurisdicciones, resulta necesario conformar un marco normativo de referencia nacional para la producción y uso del compost elaborado a partir de residuos orgánicos, separados en origen y recolectados de manera diferenciada, como residuos domésticos, de

producción agropecuaria, agroindustrial o cualquier actividad productiva.

Dentro de sus aspectos resolutivos podemos mencionar al Artículo 2º: La presente norma tiene por objeto definir las posibles aplicaciones y establecer los requisitos necesarios que debe cumplir el compost elaborado a partir de residuos orgánicos separados en origen y recolectados de manera diferenciada, a efectos de su registro, asegurando una gestión sustentable y promoviendo su producción, uso y aplicación en las distintas jurisdicciones provinciales.

En el anexo 4 de dicha normativa se establecen los límites y parámetros de calidad para el nivel de patógenos, los indicadores de estabilidad y madurez y los indicadores de calidad que permiten establecer si el compost obtenido a través de un proceso de estabilización puede ser considerado una enmienda orgánica y por lo tanto obtener el registro del producto final (Tablas 4 y 5). A continuación se adjuntan las mencionadas tablas.

**Tabla 4:** Nivel de patógenos indicados por la Resolución Conjunta 1/2019 entre el MAyDS y el SENASA.

Parámetro	Proceso	Valor Límite
I. Coliformes fecales	Sistemas abiertos ≥55°C, 15 días con al menos 5 volteos	<1000 NMP por gramo de compost, en base seca;
II. <i>Salmonella sp.</i>	≥ 55°C, 3 días consecutivos con cobertura que asegure temperatura en la superficie de la pila	<1 NMP/ 4 gramos de compost en base seca;
III. <i>Ascaris lumbricoides</i>	Sistemas cerrados ≥ 60°, 7 días	< 1 huevo viable de <i>Ascaris</i> en 4g de compost en base seca

NM P – Numero Más Probable. Para los compost donde se puede certificar el proceso se exige que se cumpla con I) o con II) y no se exige III). Para el caso de los compost donde no se pueda certificar el proceso se exige que se cumpla con I), II) y III).

**Tabla 5:** Indicadores de calidad indicados por la Resolución Conjunta 1/2019 entre el MAyDS y el SENASA.

<b>Parámetros</b>	<b>Compost Clase A</b>	<b>Compost Clase B</b>
pH	5,0 - 8,5	
Olores	No debe presentar olores desagradables	
Humedad (%)	< 60	
Conductividad Eléctrica (dS/m)	<4	<6
Relación carbono/nitrogeno (%)	≤20	< 30
Materia orgánica (%)	≥20	

#### 1.2.4. Tratamiento

La cama cruda de pollo se ha aplicado ampliamente a las tierras cultivables como fertilizante orgánico o enmienda del suelo para mejorar la fertilidad y la estructura del mismo. Para prevenir posibles problemas de seguridad microbiológica para el medio ambiente y los cultivos de alimentos que se producen en el campo, se deben desarrollar tratamientos prácticos y efectivos específicamente para la cama de pollos cruda antes de la aplicación en la tierra. (Chen y col., 2014)

Existen diferentes alternativas para el tratamiento de la cama de pollo, siendo el compostaje la más utilizada por los productores avícolas ya que es fomentada por los organismos técnicos como INTA, en concordancia con la normativa vigente. Además, el capital inicial, así como los costos de operación y mantenimiento para el compostaje son más bajos en comparación con otras técnicas de tratamiento (Millner y col., 2009). El compostaje puede considerarse como una técnica efectiva que agrega valor a los desechos de aves de corral para aplicaciones agrícolas.

El compostaje de desechos animales es un proceso biooxidativo espontáneo para producir productos finales más uniformes, concentrados y seguros en

comparación con el estiércol fresco, lo que permite una fácil propagación en el suelo y también una eliminación significativa de patógenos (Bernal y col., 2009). En comparación con la acumulación, el compostaje es un proceso controlado de mezcla de desechos orgánicos con otros ingredientes en una proporción adecuada para optimizar el crecimiento microbiano.

El interés en el compostaje ha aumentado considerablemente en los últimos años debido a la necesidad de tecnologías de tratamiento de desechos animales aceptables para el medio ambiente y también para cubrir la demanda de fertilizantes orgánicos en el sistema de producción agrícola orgánica (Chen y col., 2014). Una gran parte de los estudios realizados sobre la preparación del compost y su aplicación a los cultivos sobre el terreno se han centrado en los efectos de la fertilidad de los suelos y la calidad de los cultivos. Sin embargo es necesario hacer notar acerca de la sobrevivencia de los patógenos en el compost y de los tratamientos para reducir los niveles de estos microorganismos.

El compostaje es típicamente el proceso de descomposición biológica de desechos orgánicos biodegradables en un ambiente predominantemente aeróbico por un consorcio de microorganismos. En general, es un proceso rápido de biodegradación, que requiere de 4 a 6 semanas de acción microbiana para descomponer los materiales orgánicos en sustancias orgánicas estables y utilizables llamadas compost. El compostaje permite un fácil manejo y eliminación de patógenos, junto con la reducción del volumen de los desechos y la destrucción de semillas de malezas. Sin embargo, también se documentan las desventajas del compostaje, como la pérdida de nitrógeno y otros nutrientes durante el proceso, el costo de instalación y mano de obra, el olor y el requisito de terrenos disponibles para almacenamiento y operación (Sweeten y col., 1988).

El proceso de compostaje se divide típicamente en cuatro fases principales basadas en la temperatura y la comunidad microbiana activa: fases mesofílicas (10 a 40 °C), termofílicas (45 a 75 ° C), de enfriamiento y de maduración. La actividad microbiana es crítica para un proceso de compostaje satisfactorio, en el que las bacterias mesofílicas, termotolerantes y termofílicas, los actinomicetos y los hongos

están todos muy implicados (Hassen y col., 2001). La descomposición microbiana aerobia genera suficiente calor para aumentar la temperatura de las mezclas de compost a la zona termofílica (45 a 75 ° C). Las temperaturas alcanzadas en una operación de compost bien administrada deben estar dentro de un rango de 55 a 65 ° C (Erickson y col., 2009). Dichas temperaturas están muy por encima de los puntos de muerte térmica de los patógenos mesófilos, como *E. coli* O157: H7 y *Salmonella spp.* (Talaro y col., 2002). Además de la temperatura alta, también se sabe que otros mecanismos se involucran en la inactivación de patógenos transmitidos por los alimentos durante el compostaje, incluido el antagonismo microbiano, la producción de ácidos orgánicos, el cambio de pH, el desecado y el estrés por inanición, la exposición a la emisión de amoníaco y la competencia por los nutrientes (Wilkinson, y col., 2011).

El compost se trata con alta temperatura para reducir la aparición de patógenos de los productos de desecho animal. Sin embargo, este proceso puede no reducir los patógenos a niveles aceptables (Sarmiento y col., 2014). Por lo tanto, algunas pautas actuales para los desechos de animales tratados térmicamente pueden no ser suficientes para eliminar los patógenos de la cama de pollos utilizada como fertilizante orgánico. (Chen y col., 2014)

Para determinar que un proceso de compostaje llega a su fin se tienen en cuenta la estabilización de la temperatura, los indicadores de madurez y calidad, la determinación de la relación carbono/nitrogeno, la conductibilidad eléctrica, el conteo de coliformes fecales y *Salmonella sp.*, ya detallado en el punto de la legislación (SENASA-MAYDS Resolución 1/2019).

El tratamiento de la cama recomendado por el INTA, a través de la EEA (Concepción del Uruguay) se basó en la realización de pilas longitudinales con la cama tal cual se presentaba al finalizar la crianza a lo largo de todo el galpón. El trabajo se realizó con una pala autopropulsada. La altura de las pilas fue desde 1 a 1.40 m según la disponibilidad de la maquinaria. Las variables que se consideraron fueron la temperatura, la altura de la pila y la carga bacteriológica (enterobacterias y anaerobios sulfito reductores). La evaluación se realizó por 7 días sin hacer volteo

ni agregado de agua. Complementariamente se realizaron mediciones de humedad, pH, conductividad eléctrica (CE), carbono total (C), nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT). La evolución de la temperatura se realizó mediante sensores del tipo ibutton a diferentes profundidades durante el tiempo de apilado, registrándose diferentes patrones. A nivel más superficial (30cm) se produjeron aumentos más rápidos que se sostuvieron durante menos días, mientras que a mayor profundidad (60 cm) la temperatura aumentó más lento y se sostuvo hasta el final del proceso. El volumen de la pila disminuyó notablemente con el transcurso de los días producto de la compactación. Se pudo observar una importante disminución de la carga bacteriana resultado de las altas temperaturas generadas en el interior de la pila lo que indica que el proceso fue efectivo desde el punto de vista sanitario. (Bernigaud y col., 2015).

Por lo expresado anteriormente, la información disponible sobre el compostaje de desechos de aves de corral indica que el compostaje es un método adecuado y ambientalmente racional para reducir o eliminar los patógenos transmitidos por los alimentos. Además, se debe enfatizar que la gestión adecuada del compostaje es necesaria para garantizar que el proceso alcance el nivel objetivo de la combinación de tiempo y temperatura para matar patógenos.

### **1.3. Microorganismos efectivos (EM)**

Una forma de mejorar y agilizar el proceso de compostaje consiste en adicionar inóculos que contienen microorganismos como bacterias y hongos, que aceleran la descomposición de la materia orgánica reduciendo el tiempo de biodegradación y mejorando la eficiencia del proceso de compostaje a través de la baja relación carbono/nitrógeno del sustrato, indicador de la estabilidad del producto final (Camacho y col., 2014). Referido a ello el estudio realizado por Daur (2016) demostró que el agregado de los llamados microorganismos efectivos (del inglés *Effective Microorganisms*, EM) en el compost de estiércol de vaca, estiércol de aves y desechos de cocina, en relación 2:1:1 por volumen produjo una mayor degradación del carbono. Así, la estabilización de la relación C / N tomó 6 semanas

en el compost con EM, en comparación con las 18 semanas en el compostaje normal, lo que condujo a la finalización rápida del proceso. A su vez, se registró un rango de temperatura bajo (24-24), un pH bajo (6,7-7,2) y un contenido de N mayor (1,15-1,40) para el compost con EM en comparación con el compost normal.

El producto EM-1® es una combinación de microorganismos benéficos naturales que pertenecen a los géneros *Lactobacillus* sp. (Bacterias ácido lácticas), *Saccharomices* sp. (Levaduras) y *Rhodopseudomonas* sp. (Bacterias fotosintéticas o fototróficas). La Tecnología EM fue desarrollada por el Dr. Teruo Higa en la Universidad de Ryukyus, Okinawa, Japón, a partir de 1982. El principio fundamental de este producto fue la introducción de un grupo de microorganismos benéficos para mejorar las condiciones del suelo, suprimir putrefacción (incluyendo enfermedades) microbios y mejorar la eficacia del uso de la materia orgánica por las plantas (Higa, 2006). Estos microorganismos ayudan al proceso de descomposición de materiales orgánicos y durante la fermentación produce ácidos orgánicos (ácidos lácticos, ácidos acéticos y ácidos málicos), aminoácidos, sustancias bioactivas y vitaminas que normalmente no están disponibles. Originalmente fue desarrollada como alternativa para los fertilizantes químicos y pesticidas. El uso de esta tecnología, en las dos últimas décadas, se ha expandido de la agricultura al tratamientos de aguas y efluentes, control de malos olores, granjas y salud animal e innumerables tratamientos industriales.

El compostaje fue el primer concepto para el uso de EM en la gestión ambiental. Los residuos de los cultivos y los desechos de los animales han sido efectivamente compostados para producir biofertilizantes. Básicamente, esta solución microbiana se desarrolló para sistemas agrícolas naturales u orgánicos. Sin embargo, con más investigaciones, sus usos se han ampliado para resolver algunos problemas ambientales, a través de los cuales se facilita la reutilización de la mayoría de los desechos (Van Bruchem y col., 1999).

El compost convencional es producido por la descomposición de la materia orgánica por la acción de microorganismos aeróbicos principalmente, bajo las condiciones de oxidación. Es por ello que en el proceso de elaboración se necesita

voltearlo varias veces para permitir el ingreso de aire al interior de la cama y así promover la descomposición. Por el contrario, el compost fermentado con EM, es elaborado al fermentar la materia orgánica bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas, por acción de microorganismos facultativos. El compost pierde mucha energía, puesto que durante el proceso de elaboración se produce una gran cantidad de calor y gases que son residuos de la quema de la materia orgánica. Estos salen al ambiente y con ello la energía es liberada, por lo que al final se va a obtener un producto mineralizado con poca energía acumulada. Por otro lado, la fermentación de la materia orgánica con EM se da por procesos de baja temperatura, lo que permite que la energía no sea liberada al exterior durante la elaboración. De esta manera se puede aprovechar la máxima energía del producto final procesado. El uso de EM asegura una buena fermentación, evitando que las bacterias de ácido butírico comiencen a actuar sobre la materia orgánica, provocando putrefacción y malos olores. En el caso del compost convencional, para poder ser utilizado, debe estar bien descompuesto, requiriendo un mínimo de tres meses de preparación. En el compost fermentado con EM, el tiempo que tarda todo el proceso de fermentación es menor (aproximadamente de 8 a 15 días), puesto que no se necesita que el material esté totalmente descompuesto para poder ser utilizado, ya que los microorganismos siguen actuando y descomponiendo el material orgánico aún después de ser llevado al campo. Esto representa un ahorro de mano de obra y tiempo. (Yepez y col., 2002)

De acuerdo a lo estudiado por Dengel (2010), el compostaje con EM tiene algunas ventajas comparativas con otros procesos:

- 1) Ahorra energía en maquinaria y mano de obra al reducir la necesidad de voltear el material ya que se puede hacer principalmente como un proceso anaeróbico, por lo tanto, no hay necesidad de volteo frecuente; en general, un volteo después de dos semanas es suficiente. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el efecto del volteo tiene principalmente el efecto de romper ramas y fibras abiertas y, por lo tanto, facilita el acceso microbiano al material.

2) Los microorganismos presentes en el EM regulan la temperatura en la pila, tiene menos pérdidas de calor o energía que los métodos de compostaje ordinarios, y por lo tanto produce mayores volúmenes del producto de compost final.

3) Crea un compost de valor agregado. Si bien los valores de los macronutrientes en el compost con EM son comparables con los valores en otros composts, los rendimientos en el cultivo del compost con EM son más altos y de mayor calidad.

La investigación en Holanda y en Costa Rica (Shitani, 2000) ha puesto de relieve que existe potencial para el compost a partir del desperdicio de animales o cultivos, cuyos resultados aumentan los rendimientos de los cultivos suministrados con EM en comparación con el rendimiento de los sistemas orgánicos tradicionales. Sin embargo, no existen estudios de compostaje en cama de pollos parrilleros utilizando EM para acelerar el proceso y la disminución de patógenos en el compost.

## **2. OBJETIVOS.**

### **2.1. Objetivo General.**

Mejorar la performance del compostaje de los residuos orgánicos de la producción avícola incorporando EM, para facilitar el cumplimiento de la legislación vigente en la materia y darle sustentabilidad a la producción.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Estudiar el comportamiento de la temperatura en el proceso de maduración del compost con y sin la aplicación de EM en las diferentes pilas de cama de pollo.
- Caracterizar físico, química y microbiológicamente al compost obtenido con y sin la aplicación de EM.
- Comprobar el efecto de dosis de aplicación de EM en el tiempo de maduración del compost.

### **3. HIPÓTESIS**

Es posible mejorar la inocuidad y disminuir el tiempo de maduración del compostaje de residuos orgánicos de la producción avícola incorporando EM en su tratamiento para de esta forma generar una alternativa superadora a las utilizadas actualmente en cuanto a los tiempos de proceso y a la calidad del producto final y que facilite el cumplimiento de la legislación vigente. De esta manera el productor tendría una opción técnica económica adecuada para el correcto tratamiento de los mismos, minimizando los conflictos con actividades vecinas y preservando al ambiente circundante.

## 4. MATERIALES Y METODOS

### 4.1. Lugares de los ensayos

Se realizaron dos ensayos, uno (ensayo A), en un galpón tipo invernadero de la localidad de Colonia Hugues, Departamento Colon, Entre Ríos, que comenzó el 01 de julio de 2019 y duro 81 días. La cama fue extraída de galpones para la producción de pollos parrilleros, situados en una granja en la localidad de Colonia Hugues, Departamento Colon, Entre Ríos ( $32^{\circ}17'46,04''$  S;  $58^{\circ}14'21,20''$  O). Los mismos tenían una ventilación de cortinas manuales y con una utilización de tres crianzas. Según el propietario, las aves que tenían esa cama en el galpón no presentaban problemas de mortandad o signos clínicos relevantes. En las figuras 1 y 2 pueden observar la tipología constructiva y el sistema de ventilación de la granja en donde fue retirada la cama para el ensayo.



**Figura 1.** Vista externa de los galpones de donde se tomó la cama para el ensayo A.

El otro ensayo (ensayo B) se realizó en un galpón experimental de pollos parrilleros con cortinas manuales, ubicado en el INTA Estación Experimental Agropecuaria de Concepción del Uruguay, Departamento Uruguay, Entre Ríos, ( $32^{\circ}29'32,27''$  S;  $58^{\circ}20'56,58''$  O), desde el día 6 de agosto de 2019 por un plazo de 55 días, en donde por razones externas al experimento se solicitaron las instalaciones, por lo que se tuvo que suspender el mismo. La cama fue extraída de

un ensayo realizado en dicha estación experimental, donde se aisló *Salmonella* spp. de los animales que allí habitaban.



**Figura 2.** Vista interna de los galpones desde donde se tomó la cama para en ensayo A.

#### 4.2 Manejo de la cama

En ambos ensayos se siguió la misma metodología en cuanto al armado de las pilas, los tratamientos, la frecuencia de volteos y la extracción de muestras, aunque con diferentes números de réplicas. El tiempo de finalización del ensayo A, se debió a que la temperatura de la pila fue disminuyendo gradualmente hasta acercarse a los valores de la temperatura ambiente, mientras que en el ensayo B, el espacio en donde se estaba desarrollando la investigación fue solicitado por los responsables para desarrollar tareas inherentes a su función.

El volumen inicial de las pilas de compostaje fue de aproximadamente  $1 \text{ m}^3$ , que se conformó con una pirámide de base cuadrada de 1.2 m de lado y una altura de 80 cm. En el ensayo A se ubicaron en líneas sobre un plástico apoyado sobre el piso natural del invernadero consistente en suelo calcáreo compactado. Para que la cama no se mezcle en los diferentes tratamientos se separaron las líneas mediante un separador de madera. En las figuras precedentes (Fig. 3 y 4) puede observarse la adición de agua y la vista de las pilas dentro del invernadero.



**Figura 3.** Agregado de agua del ensayo A

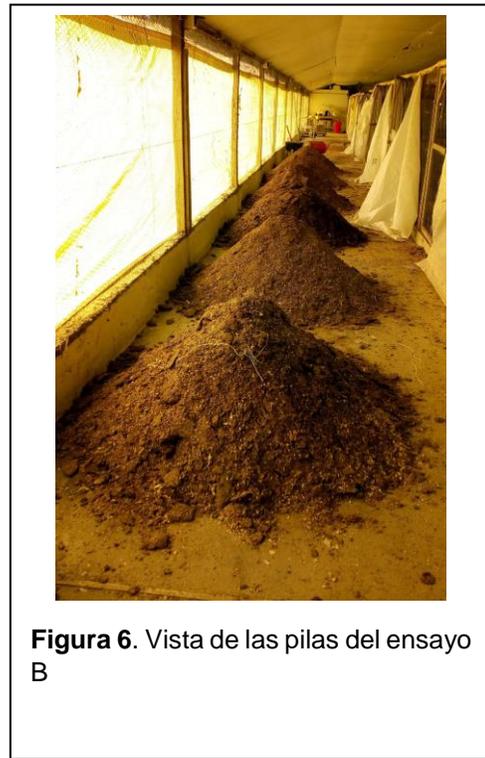
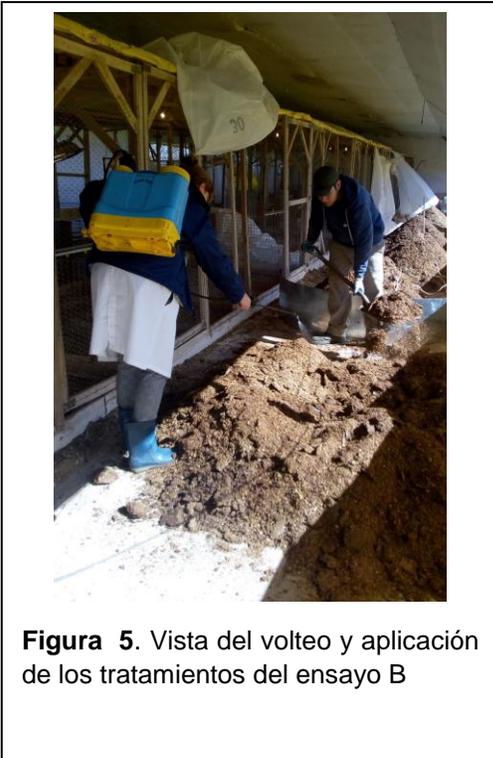
En el ensayo B, las pilas se ubicaron en una línea sobre el piso de cemento del galpón. Para que la cama no se mezcle en los diferentes tratamientos se separaron las pilas con una chapa cuando se realizó el volteo y la inoculación de microorganismos



**Figura 4.** Vista de las pilas del ensayo A

Semanalmente durante los volteos se adiciono agua de forma manual en un volumen de 5 a 10 litros por pila. En las figuras 5 y 6), puede observarse una vista

del lugar en donde fueron armadas las pilas en el ensayo B y las tareas de volteo y aplicación del tratamiento.



### 4.3. Tratamientos

Bajo un diseño completamente aleatorizado se realizaron tres tratamientos con 3 réplicas cada uno, con un total de 9 pilas de compostaje en el ensayo A y 2 réplicas por tratamiento, con un total de 6 pilas de compostaje en el ensayo B. El material de cama tenía el mismo origen. Un tratamiento que se compuso de cama de pollo sin ningún agregado, a la que se la denominó control (C). El otro tratamiento conformado por cama de pollo al que se le inoculó el producto EM-1® activado, en una concentración 1:50, a la que se denominó tratamiento 1 (EM-1® 1:50), y un tercer tratamiento conformado por cama de pollo al que se le inoculó el producto en una concentración de 1:10 que es la indicada para compostaje de acuerdo a las recomendaciones de los manuales del producto y a la que denominé tratamiento 2 (EM-1® 1:10).

La inoculación de EM-1® activado se realizó con una mochila manual de 12 litros de capacidad en el momento de realizar los volteos que tuvieron una frecuencia semanal, buscando mojar la mayor cantidad de material de la pila con la solución, mientras que los volteos se realizaron a pala según se observa en la figura 7. En general una persona realizaba el volteo de la cama y la otra iba pulverizando con el auxilio de la mochila (Fig. 5).



**Figura 7.** Vista de los volteos en el ensayo A



**Figura 8.** Agregado de EM-1® activado en el ensayo A

En el caso de que sólo se encontraba una persona al momento del volteo, la pulverización se realizaba de forma gradual luego de que se iba realizando el volteo, para intentar mojar la mayor superficie de cama de la pila (Fig. 8).

En el tratamiento 1 se agregaron 200 cm<sup>3</sup> de EM-1® activado en 9.8 litros de agua (EM-1® 1:50) y en el tratamiento 2 se agregaron 1 litro de EM-1® activado en 9 litros de agua (EM-1® 1:10). El EM-1® fue activado previamente en el lugar del ensayo A según las recomendaciones del fabricante (Anexo 1) y mezclado con agua cada vez que se realizaron los volteos.

#### 4.4. Muestreo.

La toma de las muestras se realizó en forma aleatoria., en tres sectores de la pila de compostaje (superior, medio e inferior) para el ensayo A y B, respectivamente. Las muestras fueron homogeneizadas y cuarteadas hasta obtener una alícuota representativa de 1 Kg (Riera y col., 2014). Posteriormente, fueron conservadas en heladera a 4°C hasta su procesamiento.



**Figura 9.** Muestras tomadas por muestreo en el ensayo A

En cada repetición se tomó una muestra. Para el ensayo A fueron un total de nueve muestras por muestreo (Fig. 9), mientras que para el ensayo B, fueron 6 muestras. La frecuencia de muestreo se estableció de acuerdo a la sensibilidad de cada parámetro indicador de la actividad microbiana durante el proceso de degradación.

## **Determinaciones.**

Las determinaciones físico-químicas y microbiológicas se realizaron antes del armado de las pilas y durante todo el proceso. Se tomaron tres submuestras de cada pila. La temperatura fue medida diariamente, mientras que la humedad, conductividad eléctrica y el pH, semanalmente (9 lecturas para el ensayo A durante 70 días y 8 lecturas para el ensayo B durante 55 días), mientras que el carbono orgánico total y el nitrógeno total se determinaron, al inicio y al final del ensayo A. Las variables microbiológicas fueron medidas quincenalmente (3 lecturas para el ensayo A durante 56 días y 5 lecturas para el ensayo B durante 55 días).

## **4.5. Variables fisicoquímicas**

### **4.5.1. Temperatura**

#### **Ensayo A.**

Diariamente este parámetro fue determinado con termómetro bimetálico de acero inoxidable con una sonda de 30 cm de longitud (Fig. 10). Se midieron temperaturas en tres franjas horarias definidas entre las 09.00 a 10.00 hs, las 14.00 a 15.00 hs y las 21.00 a 22.00hs. Por cada una de las nueve pilas del ensayo se realizaron tres lecturas a igual profundidad buscando llegar al centro de la misma y separadas entre sí por un ángulo de 120 °. Diariamente en cada pila se tomaron 9 lecturas y 27 por cada tratamiento durante 81 días. La temperatura ambiente dentro del invernadero fue tomada con una estación meteorológica.

#### **Ensayo B.**

Se utilizó el equipo data logger fabricado por INTA, con ocho sensores siguiendo la metodología de medición propuesta en el informe técnico N° 1 de (Bernigaud y col., 2015). En las pilas 4 y 5 se colocaron tres sensores, mientras que en la pila 6 se colocaron 2 sensores. Para las pilas 1,2 y 3 se colocaron sensores i-button a razón de uno por cada pila. La frecuencia de medición fue horaria para todos los sensores. A partir del día 23 y hasta el día 45 inclusive el equipo data

logger presento fallas que impidieron obtener datos (pilas 4,5 y 6), mientras que los sensores i-button entre los días 35 al 45 inclusive presentaron discontinuidad en sus mediciones (pilas 1,2 y 3). No se pudieron determinar el origen de las fallas.



#### **4.5.2. PH y conductibilidad eléctrica.**

El pH y la conductibilidad eléctrica fueron determinados según el procedimiento descrito por Sadzawka y col., (2005).

Ambos parámetros se determinaron sobre extracto acuoso, la relación utilizada muestra /agua destilada es fue de 1/5. Los resultados fueron adimensionales y se expresaron como unidades de pH en relación 1:5, mientras que para la conductibilidad eléctrica en suspensión los resultados se expresaron en dS.m-1 en relación 1:5. Se analizaron 3 sub muestras de cada muestra tomada.

#### **4.5.3 Contenido de Humedad.**

La medición de la humedad fue realizada mediante la metodología descrita por Sadzawka y col. (2005). Se procedió a tomar una alícuota de 20 gr. de la muestra fresca y se secó a  $70 \pm 5^{\circ}\text{C}$  hasta masa constante, para evaporar el

contenido de agua, durante un período de secado de 18 a 48 hs, dependiendo del contenido y tipo de muestra. Luego de dicho periodo se dejó enfriar a temperatura ambiente dentro de un desecador. Se analizaron 3 sub muestras de cada muestra tomada.

#### **4.5.4. Carbono Orgánico (%bs) = MO bs/1,8.**

La medición de carbono orgánico fue realizada mediante la metodología descrita por Sadzawka y col. (2005). , donde 1,8 fue el factor de conversión utilizado para asumir que el 56% de la materia orgánica en un compost estaba compuesta por carbono.

#### **4.5.5. Nitrógeno Total.**

La medición de nitrógeno total fue realizada mediante la metodología descrita por Sadzawka y col. (2005), donde una alícuota de muestra húmeda se digirió con ácidos sulfúrico y salicílico con catalizadores mediante el método de Kjeldahl. El producto de la digestión se alcalinizó y el amoniaco formado se destiló por arrastre de vapor quedando atrapado en ácido bórico. Posteriormente, se tituló con ácido sulfúrico.

#### **4.6. Variables microbiológicas.**

Se pesó 25 g de cada muestra de cama a la que se le agregó 225 de agua peptona bufferada (APB, Acumedia, Michigan, Estados Unidos). La temperatura del diluyente fue aproximada a la temperatura ambiente, para evitar daños de los microorganismos por cambios bruscos. Se mezcló bien y se tomó 1 ml de la solución, que se la agregó a un tubo con 9 ml de solución fisiológica (CINa al 0,85%) estéril. Luego se transfirió 100 µl a un microtubo con 900 µl de solución fisiológica estéril. Posteriormente, se realizaron diluciones sucesivas hasta 10<sup>-5</sup>. Las diluciones fueron sembradas por técnica de la gota (Miles y col., 1938) en distintos medios de cultivos; agar recuento en placa (Acumedia), agar MRS (Acumedia) agar sal manitol (Oxoid Ltd., Basingstoke, Hampshire, Inglaterra), agar violeta rojo bilis glucosa (Biokar, Allonne, Francia), agar violeta rojo bilis (Britania, Buenos Aires, Argentina) para el recuento de aerobios mesófilos, bacterias ácido lácticas,

*Staphylococcus coagulasa* positivo, enterobacterias y coliformes, respectivamente. Las placas fueron incubadas a  $37,0 \pm 0,5$  °C durante 18-24 hs. Para el caso de aerobios termófilos, se sembraron 0,1 ml de distintas diluciones en superficie en agar recuento en placa (Acumedia) y se incubó a  $55 \pm 1$  °C durante 48 hs.

A su vez, la muestra en APB se incubó a  $37,0 \pm 0,5$  °C durante 18-24 hs. Luego de ese tiempo, se inocularon en 3 puntos separado de 30 µl cada uno en medio modificado semisólido Rappaport Vassiliadis (MSRV, Acumedia) complementado con 1 ml/l de una solución de novobiocina (Sigma, Steinheim, Alemania) al 2%, que se incubó a  $41,5 \pm 1$  °C durante 18-24 hs. Posteriormente, se tomó de la zona periférica del crecimiento con un ansa y se sembró en estrías por agotamiento en los medios selectivos- diferenciales agar XLD (Difco™, Sparks, Estados Unidos) y agar *Salmonella-Shigella* (Oxoid Ltd.) y se los incubó a  $37 \pm 0,5$  °C durante 18-24 hs. En todos los casos, se tomaron de cada placa de agar selectivo-diferencial al menos dos colonias compatibles con *Salmonella sp.* Cuando no había colonias bacterianas compatibles con *Salmonella sp.* se tomaron igualmente dos colonias. Se confirmaron mediante pruebas bioquímicas utilizando agar de hierro triple azúcar (Britania, Buenos Aires, Argentina), agar lisina hierro (Britania), orto-nitrofenilgalactopiranosido (Britania), agar citrato Simmons (Oxoid), medio sulfuro indol movilidad (Oxoid Ltd.), agar tartrato de Jordan, rojo metilo Voges-Proskauer (Oxoid Ltd.), agar fenilalanina (Britania) y agar urea (Britania). Todas las cepas compatibles con *Salmonella sp.* fueron conservadas en agar nutritivo (Acumedia) hasta su tipificación, la cual fue realizada de acuerdo al esquema de White-Kauffmann-Le Minor, utilizando antígenos somáticos y flagelares (Grimont & Weill, 2007).

#### **4.7. Análisis estadístico.**

Los datos fueron analizados por el test de ANOVA de una vía, usando IBM SPSS Statistics y considerando un nivel de significancia de 0,05. Las medias que mostraron diferencias significativas fueron comparadas utilizando el test de Tukey. Todos los informes de significación estadística están basados en el nivel de 0,05 de probabilidad (Rossman y Chance, 1998).

## RESULTADOS

### 5.1 Variables Físicoquímicas

En el anexo 2 se muestran las tablas con los detalles de los valores de temperatura, humedad, pH y conductividad de los ensayos A y B

#### 5.1.1. Temperatura

La temperatura se mantuvo con la misma tendencia durante los primeros 23 días. El patrón fue similar con valores crecientes, luego de los tres primeros volteos con temperaturas máximas superiores a los 65 ° C, en el ensayo A y 60 ° C, en el ensayo B.

En el ensayo A, la tendencia entre los tratamientos fue similar a lo largo del tiempo con un patrón similar de temperaturas en aumento luego de los volteos y decreciendo hasta valores cercanos a la temperatura ambiente durante los nueve ciclos que duró el ensayo. En el sexto y séptimo ciclo, en la curva de decrecimiento hubo un aumento de temperatura, que se acentuó más en el control. En el día 81 se dio por finalizado el ensayo, ya que los valores a partir del día 79 se mantuvieron constantes y cercanos a la temperatura ambiente. Los valores fueron para el control ( $22.4 \pm 1.0$ ), para EM-1® 1:50 ( $21.7 \pm 0.5$ ) y para EM-1® 1:10 ( $22.1 \pm 0.8$ ), mientras que la temperatura ambiente alcanzó 18.3 °C, con tendencia creciente.

De los 81 días que duró el ensayo, ambos tratamientos alcanzaron 29 y 46 días con diferencias significativas en la temperatura, ( $p < 0,05$ ) con respecto al control, respectivamente. El patrón general fue que EM-1® 1:10 alcanzó menores temperaturas luego de los volteos a partir del quinto ciclo, mientras que EM-1® 1:50 se ubicó entre el control y EM-1® 1:10.

En la figura 11, se observa la variación de la temperatura para el ensayo A, mientras que en las figuras 12,13 y 14, se presentan la variación de temperaturas en las seis pilas de compostaje del ensayo B hasta los 23 días que se obtuvieron lecturas horarias continuas de todas las pilas.

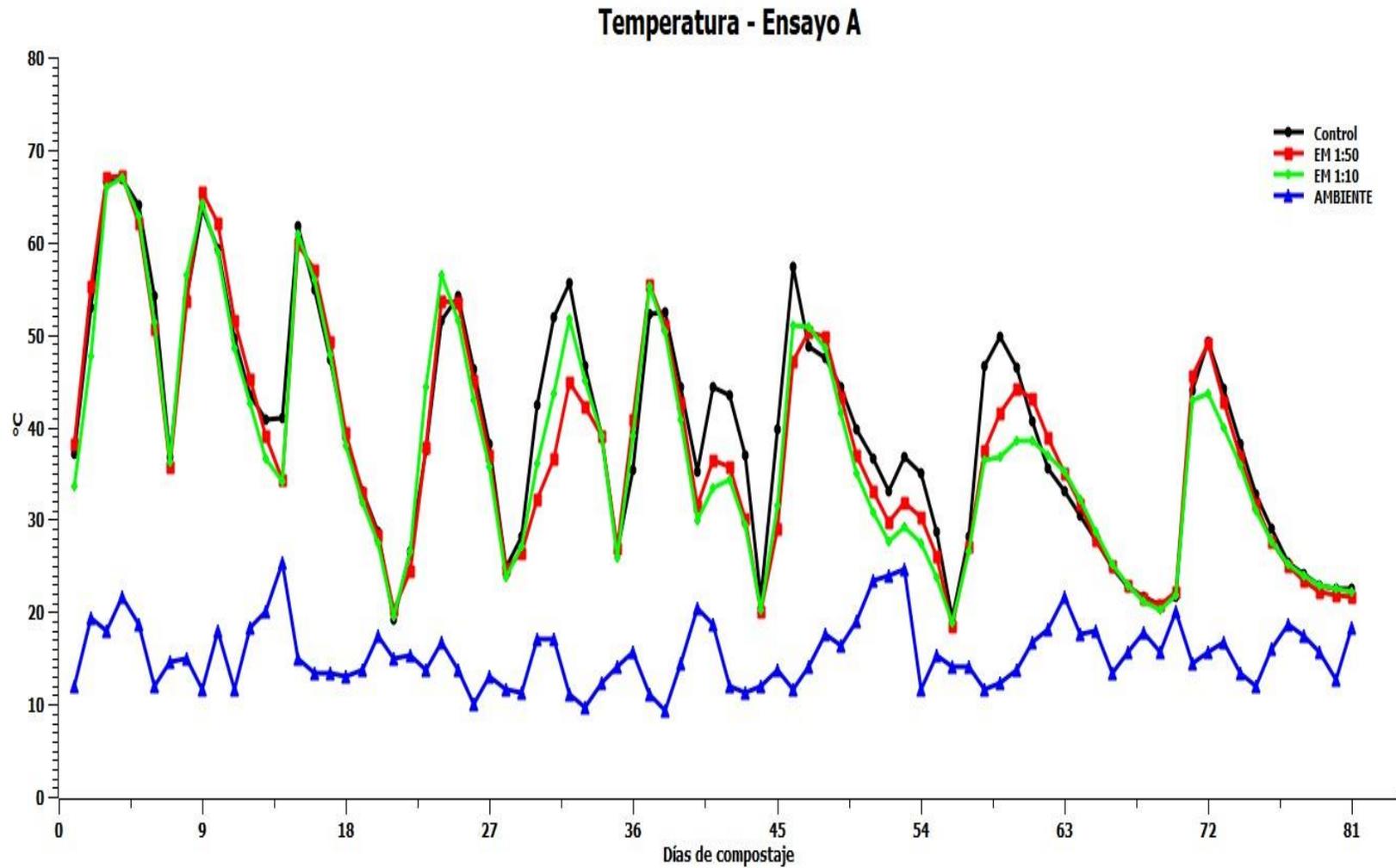


Figura 11: Variación de la temperatura en el ensayo A, en función del tiempo.

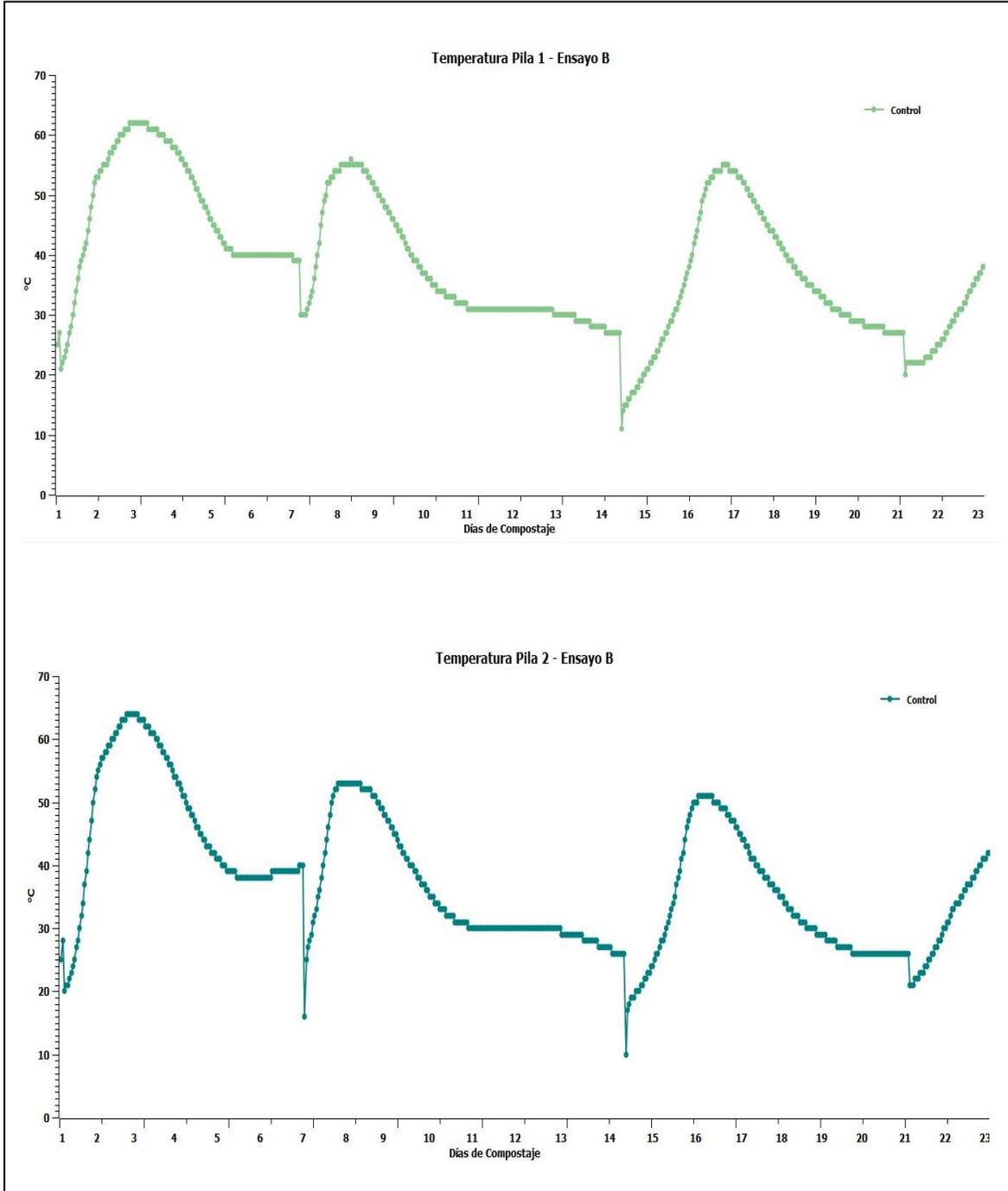
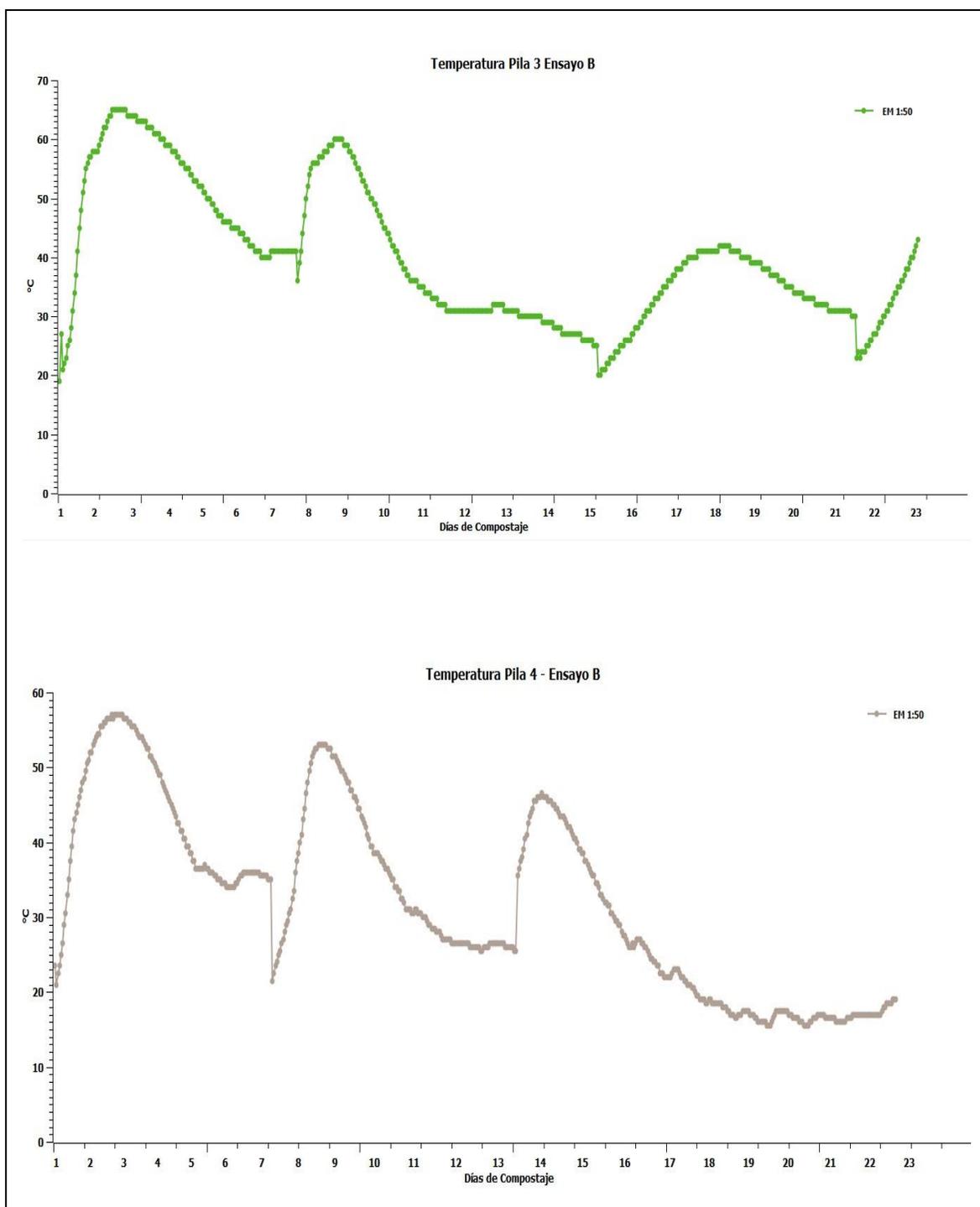


Figura 12. Evolución de las temperaturas en las pilas 1 y 2 (control), del ensayo B.



**Figura 13.** Evolución de las temperaturas en las pilas 3 y 4 (EM-1<sup>®</sup> 1:50), del ensayo B.

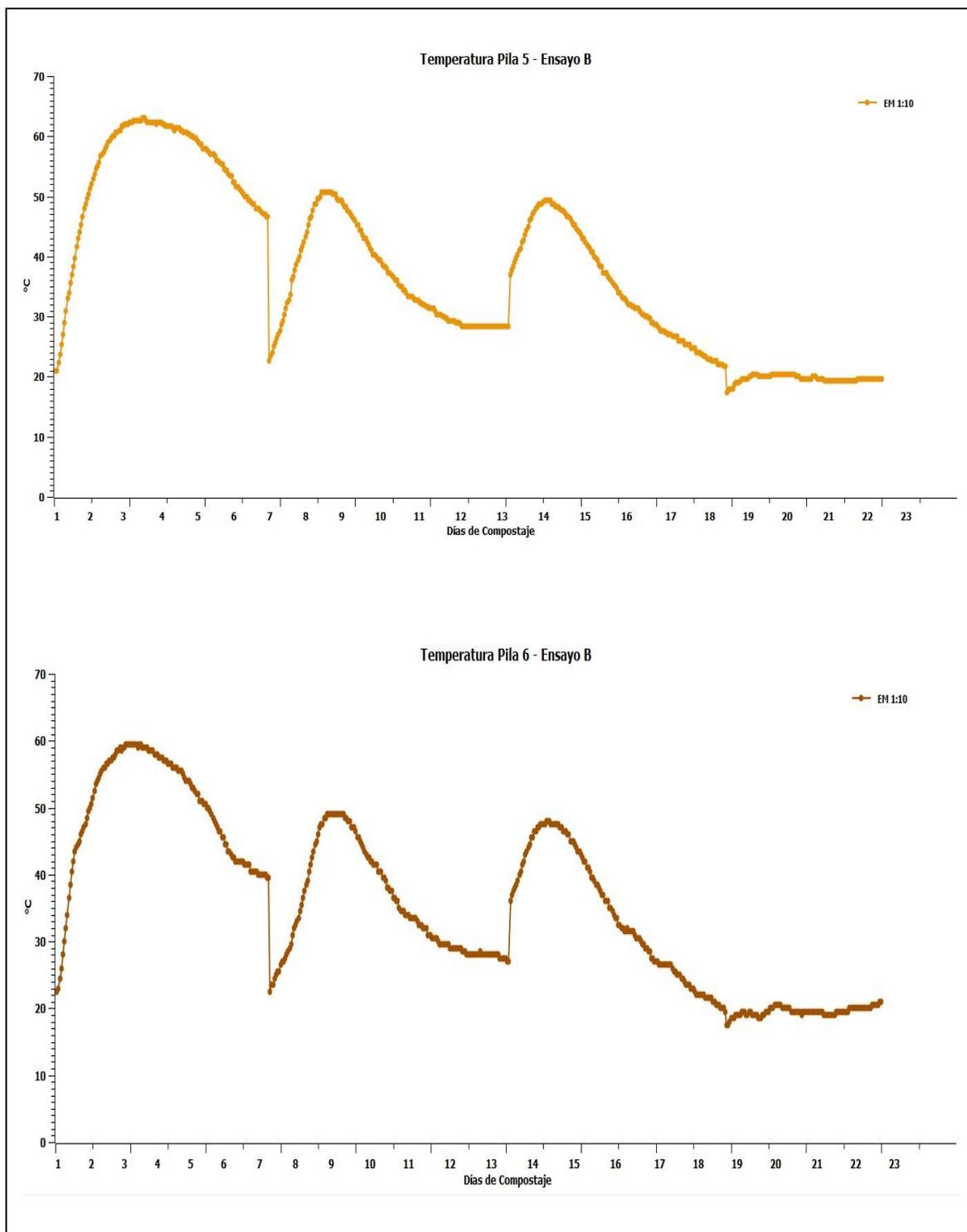


Figura 14. Evolución de las temperaturas en las pilas 5 y 6 (EM-1® 1:10), del ensayo B.

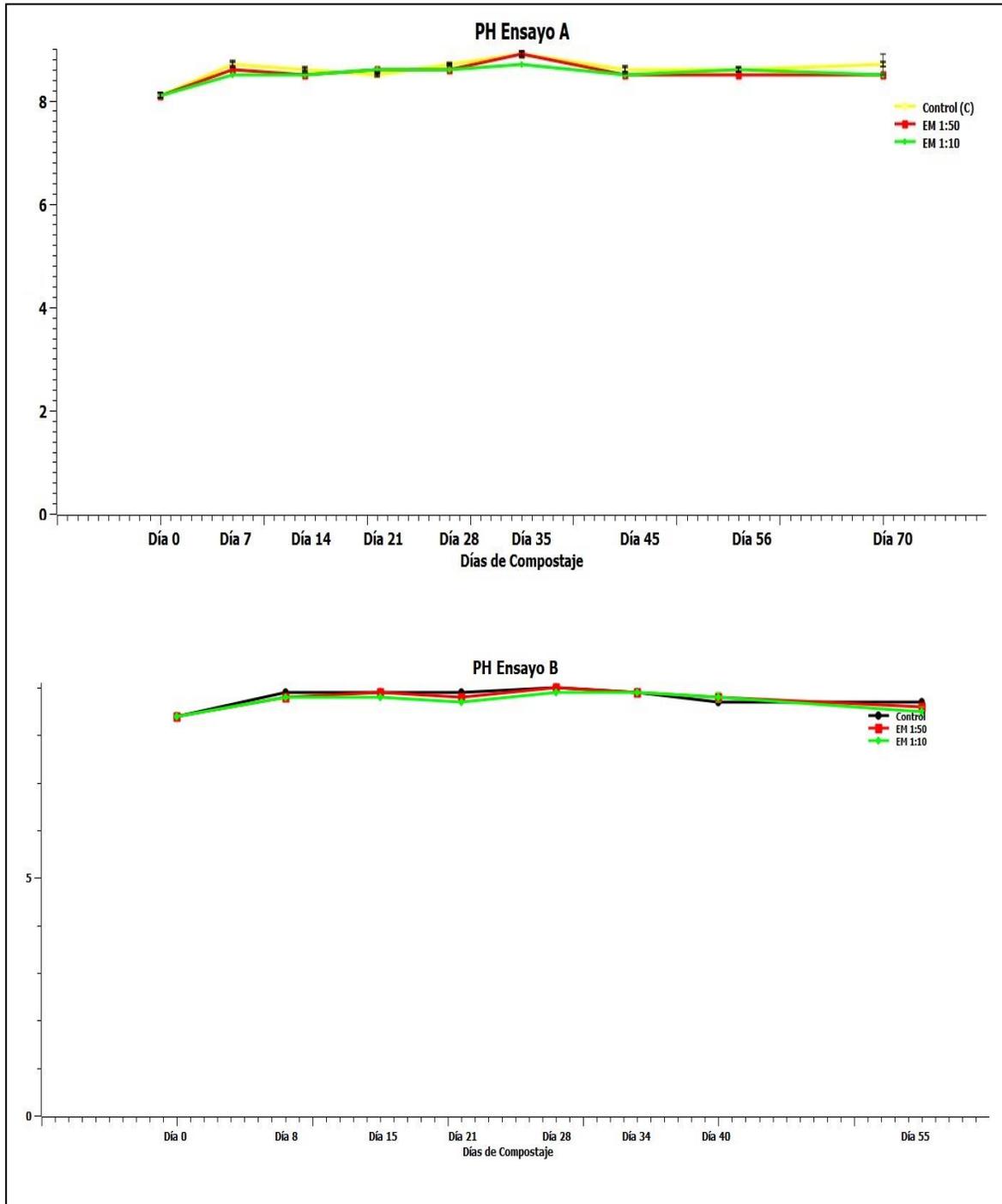
En la tabla 6. Se presentan las horas acumuladas durante el ensayo con temperaturas mayores o iguales 45 ° C, 50 ° C y 55 ° C, para los ensayos A y B, en la fase termofílica del proceso de compostaje. Siendo 45 ° C, la temperatura de inicio de la fase y 55 ° C la temperatura de referencia para la inactivación de patógenos (coliformes totales y *salmonella sp.*), indicados por la Resolución Conjunta 1/2019 entre el MAyDS y el SENASA (Tabla 4). Cabe aclarar que las horas acumuladas no siempre se correspondieron a días consecutivos.

**Tabla 6:** Horas acumuladas con temperaturas mayores o iguales a 45, 50 y 55 ° C, para los ensayos A y B

Días de ensayo	Tratamiento	Horas acumuladas en el ensayo A con temperaturas iguales o mayores a:		
		≥55°C	≥50°C	≥45°C
15	Control	169	217	257
	EM-1® 1:50	153	204	247
	EM-1® 1:10	168	198	229
23	Control	186	252	298
	EM-1® 1:50	177	239	295
	EM-1® 1:10	185	233	277
35	Control	203	356	441
	EM-1® 1:50	177	287	360
	EM-1® 1:10	209	305	379
56	Control	227	428	590
	EM-1® 1:50	190	369	486
	EM-1® 1:10	222	383	506
81	Control	227	439	675
	EM-1® 1:50	190	369	510
	EM-1® 1:10	222	383	506
Días de ensayo	Tratamiento	Horas acumuladas en el ensayo B con temperaturas iguales o mayores a:		
		≥55°C	≥50°C	≥45°C
15	Control	54	147	274
	EM-1® 1:50	59	152	274
	EM-1® 1:10	72	170	314
23	Control	56	169	311
	EM-1® 1:50	59	152	281
	EM-1® 1:10	72	170	344

### 5.1.2. P.H

El PH tuvo comportamientos diferentes entre los ensayos A y B (Fig.15), sin embargo entre el control y los tratamientos en ambos ensayos el comportamiento en cuanto a los ciclos de crecimiento y decrecimiento fue similar.



**Figura 15:** Variación del pH en función del tiempo. Ensayo A y B

En el ensayo A, existieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), entre los tratamientos y el control durante los días 7,14,21,35,45 y 70, mientras que para el ensayo B durante los días 8,15,21,28 y 55. EM-1<sup>®</sup> 1:10 mostro mayor número de diferencias significativas respecto al control para el ensayo A, mientras que para el ensayo B los tratamientos mostraron igual número de diferencias significativas respecto al control.

Los valores en el ensayo A, estuvieron en un rango de 8.1 a 8.9, siendo el valor de inicio ( $8,1 \pm 0,05$ ), el máximo en el día 35 para el control y EM-1<sup>®</sup> 1:50, ( $8,9 \pm 0,03$ ;  $8,9 \pm 0,05$ ) y en el final para el control ( $8,7 \pm 0,2$ ), para EM-1<sup>®</sup> 1:50 ( $8,5 \pm 0,04$ ) y para EM-1<sup>®</sup> 1:10 ( $8,5 \pm 0,05$ ). Los valores en el ensayo B, estuvieron en un rango de 8.4 a 9, siendo el valor de inicio ( $8,4 \pm 0$ ), el máximo en el día 24 para el control y EM-1<sup>®</sup> 1:50, ( $9,0 \pm 0$ ) y en el final para el control ( $8,7 \pm 0,1$ ), para EM-1<sup>®</sup> 1:50 ( $8,6 \pm 0$ ) y para EM-1<sup>®</sup> 1:10 ( $8,5 \pm 0$ ), que fue el menor valor encontrado en este ensayo.

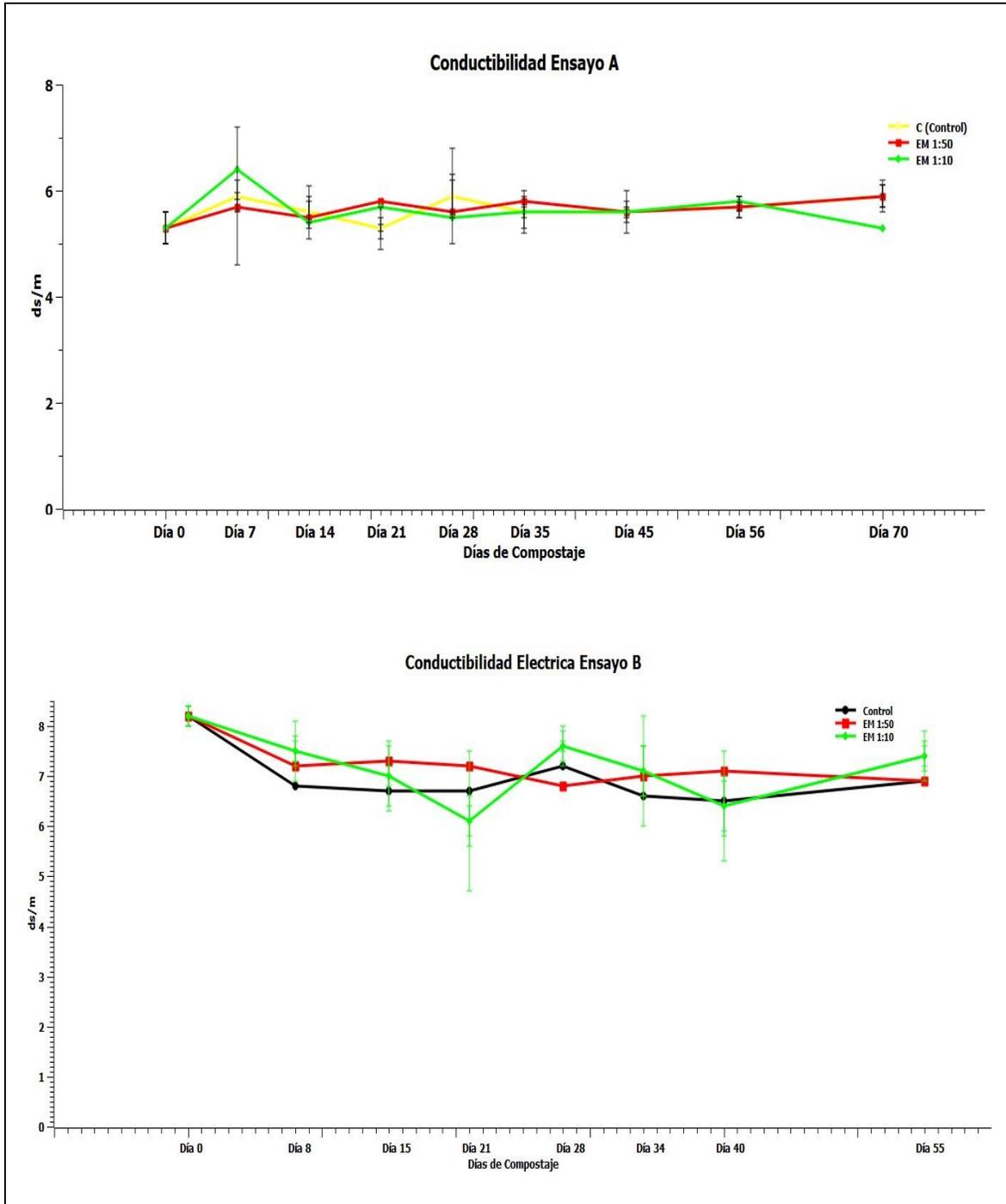
El valor de 8.5 es el límite superior de PH para compost clase A y B indicados por la Resolución Conjunta 1/2019 entre el MAyDS y el SENASA (Tabla 5), cumplimentando dicho valor ambos tratamientos en el final del ensayo A y EM-1<sup>®</sup> 1:10 en el final del ensayo B.

### **5.1.3 Conductividad Eléctrica**

En los ensayos A y B, la conductibilidad eléctrica tuvo comportamientos diferentes (Fig.16), a lo largo del tiempo en cuanto a las curvas de crecimiento y decrecimiento y a las magnitudes de los valores obtenidos, mientras que para ambos ensayos entre el control y los tratamientos el comportamiento fue semejante.

En el ensayo A, existieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), entre los tratamientos y el control durante los días 21 y 70, mientras que para el ensayo B, entre el control, EM-1<sup>®</sup> 1:10 y EM-1<sup>®</sup> 1:50 el día 28. Ambos tratamientos mostraron igual número de diferencias significativas respecto al control en el ensayo A,

mientras que el control y EM-1<sup>®</sup> 1:10 mostraron igual número de diferencias significativas respecto a EM-1<sup>®</sup> 1:50 para el ensayo B.



**Figura 16:** Variación de la conductibilidad eléctrica en función del tiempo. Ensayo A y B

Los valores en el ensayo A, estuvieron en un rango de 5.3 a 6.4, siendo el valor de inicio ( $5,3 \pm 0,3$ ), el máximo en el día 7 para EM-1® 1:10, ( $6,4 \pm 1,3$ ) y en el final para el control ( $5,9 \pm 0,2$ ), para EM-1® 1:50 ( $5,9 \pm 0,2$ ) y para EM-1® 1:10 ( $5,3 \pm 0,3$ ). Los valores en el ensayo B, estuvieron en un rango de 6.1 a 8.2, siendo el valor de inicio ( $8,2 \pm 0,2$ ), el máximo coincidió con los valores de inicio y en el final para el control ( $6,9 \pm 0,2$ ), para EM-1® 1:50 ( $6,9 \pm 0,5$ ) y para EM-1® 1:10 ( $7,4 \pm 0,3$ ).

El valor de 6 es el límite superior de la conductibilidad eléctrica para compost clase B, indicados por la Resolución Conjunta 1/2019 entre el MAyDS y el SENASA (Tabla 5), cumplimentando dicho valor, el control y ambos tratamientos durante todo el tiempo del ensayo A, mientras que para el ensayo B el control y los tratamientos estuvieron por encima de dicho valor durante todo el tiempo que duro el ensayo.

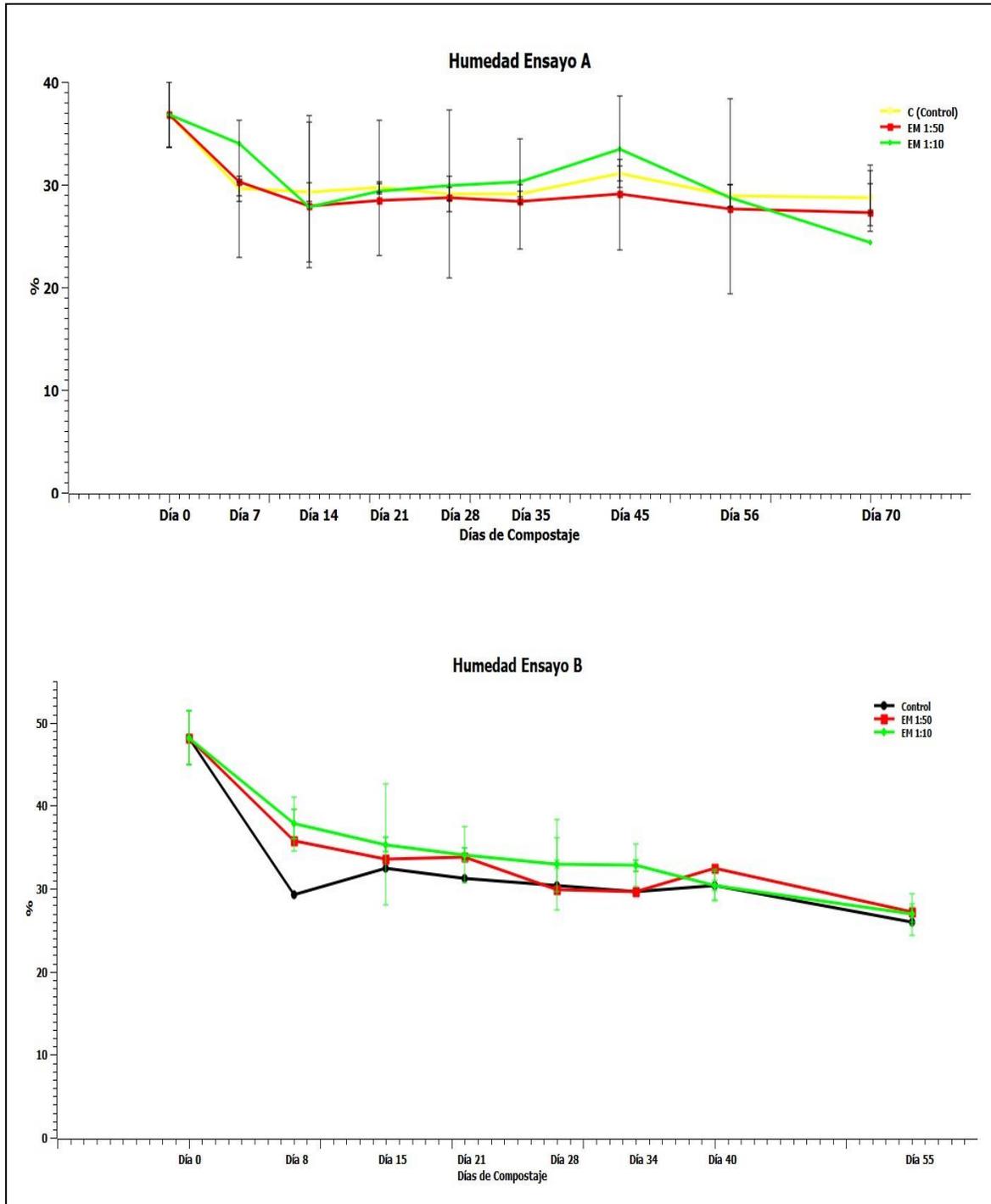
#### **5.1.4. Humedad**

En los ensayos A y B, la humedad tuvo comportamientos similares (Fig.17), con valores que fueron decreciendo en el tiempo con respecto a sus valores iniciales. Entre el control y los tratamientos el comportamiento para ambos ensayos fue semejante.

En el ensayo A, existieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), entre los tratamientos y el control durante el día 70, mientras que para el ensayo B, entre el control y los tratamientos los días 8,15, 21 y 28, mientras que entre EM-1® 1:10 el control y EM-1® 1:50 el día 55. Ambos tratamientos mostraron igual número de diferencias significativas respecto al control en el ensayo A, mientras que EM-1® 1:10 mostro mayor número de diferencias significativas respecto a EM-1® 1:50 y al control para el ensayo B.

Los valores en el ensayo A, estuvieron en un rango de 26 a 36.8, siendo el valor de inicio ( $36,8 \pm 3,2$ ), el máximo coincidió con los valores de inicio y en el final para el control ( $28,7 \pm 2,7$ ), para EM-1® 1:50 ( $27,3 \pm 1,4$ ) y para EM-1® 1:10 ( $24,4 \pm 3,2$ ). Los valores en el ensayo B, estuvieron en un rango de 26 a 48.2, siendo el

valor de inicio ( $48,2 \pm 3,2$ ), el máximo coincidió con los valores de inicio y en el final para el control ( $26,0 \pm 1,3$ ), para EM-1<sup>®</sup> 1:50 ( $27,2 \pm 2,5$ ) y para EM-1<sup>®</sup> 1:10 ( $26,9 \pm 0,9$ ).



**Figura 17:** Variación de la humedad en función del tiempo. Ensayo A y B

El valor de 60 % es el límite superior de la humedad para compost clase A y B, indicado por la Resolución Conjunta 1/2019 entre el MAyDS y el SENASA (Tabla 5), cumplimentando dicho valor para ambos ensayos el control y los tratamientos respectivamente durante todo el tiempo de duración de los mismos.

### 5.1.5. Relación carbono nitrógeno

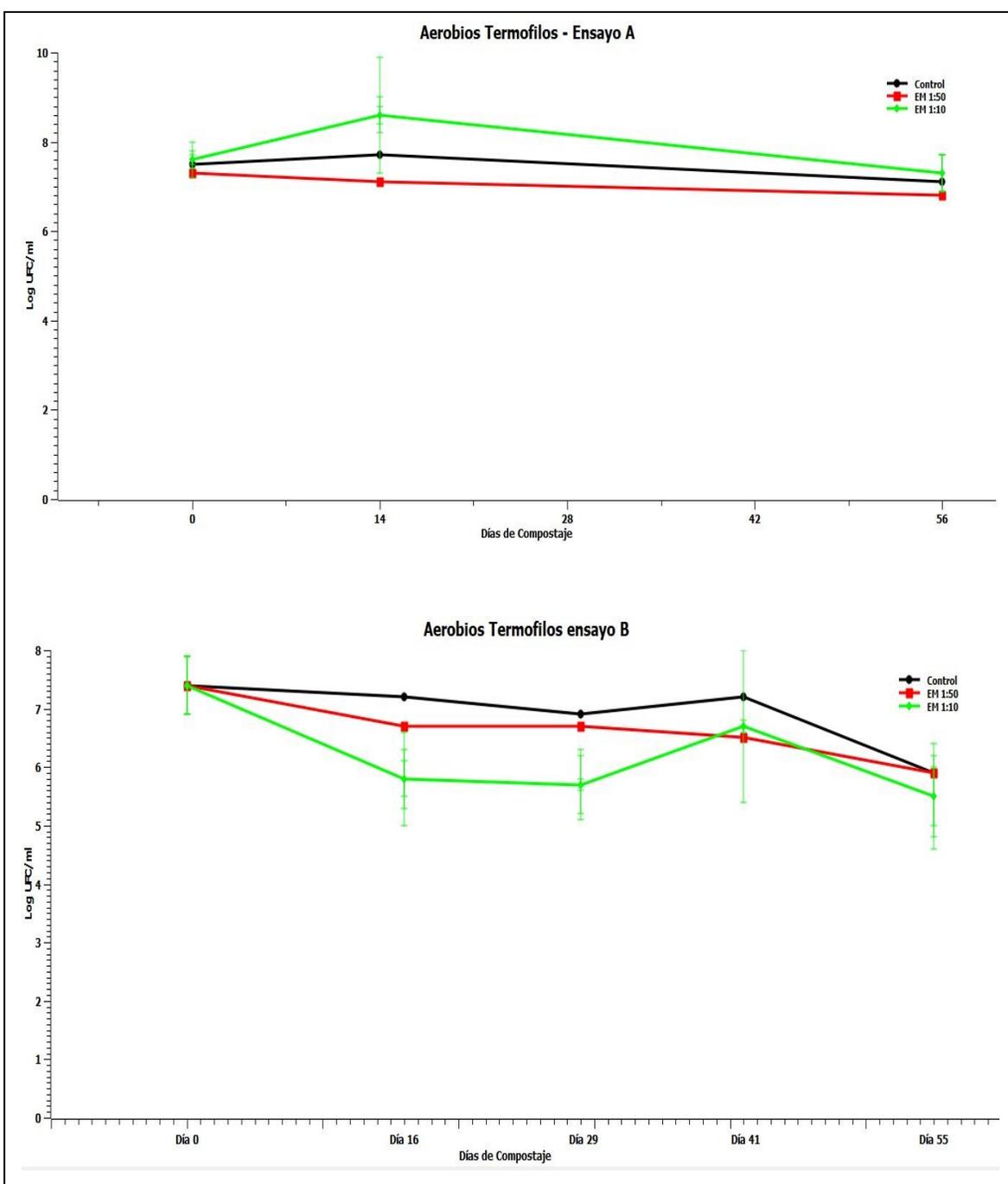
La relación carbono/nitrógeno se obtuvo en el ensayo A, para lo cual se analizaron las muestras al inicio y al final del mismo, siendo las variables analizadas el nitrógeno total (NT) y el carbono orgánico total (COT) cuyos resultados están expresados en la tabla 7.

**Tabla 7:** Relación carbono nitrógeno en el ensayo A.

Fecha 07/07/2019	NT %	COT %	Relación Carbono/ Nitrogeno	Fecha 15/09/2019	NT %	COT %	Relación Carbono/ Nitrogeno
Control	3.17	47.8	15.1	Control	2.21	48	21.7
EM-1® 1:50	3.17	47.8	15.1	EM-1® 1:50	2.31	47	20.3
EM-1® 1:10	3.17	47.8	15.1	EM-1® 1:10	1.91	46	24.1

### 5.2. Variables microbiológicas.

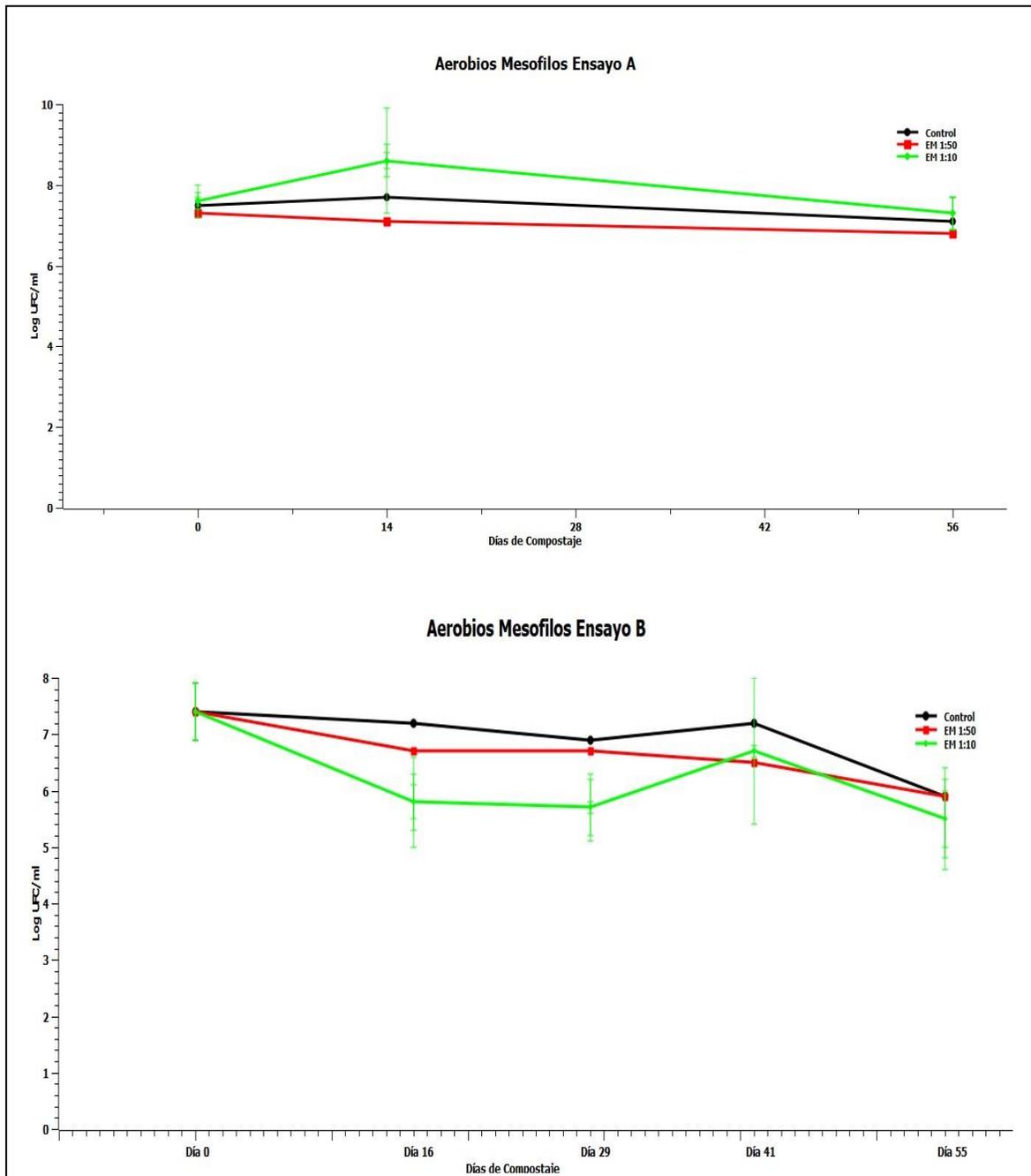
En el anexo 3 se muestran los valores microbiológicos obtenidos a lo largo del experimento realizado en los ensayos A y B. En el ensayo A se realizaron 3 lecturas debido a la baja carga inicial de microorganismos presentes en la cama, finalizando en el día 56, y en el ensayo B se realizaron 5 lecturas finalizando el día 55. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en los dos ensayos, salvo para el recuento de bacterias lácticas a los 14 días de empezado el ensayo A y el recuento de coliformes al día 29 del ensayo B. El recuento de aerobios mesófilos fue similar al de *Staphylococcus coagulasa* positiva en ambos ensayos y al de bacterias ácido lácticas sólo en el ensayo B, pero mayor que el de aerobios termófilos en todos los tiempos para ambos ensayos.



**Figura 18.** Variación de los aerobios termófilos en función del tiempo. Ensayo A y B.

El recuento de aerobios termófilos tuvo patrones diferentes en ambos ensayos, pero el recuento final fue similar entre los ensayos (Figura 18). En el ensayo A, el recuento inicial promedio de la cama estuvo entre 3,4 a 3,9 log UFC/g, bajando en el día 14 y luego volviendo a los valores iniciales a los 56 días. Por su

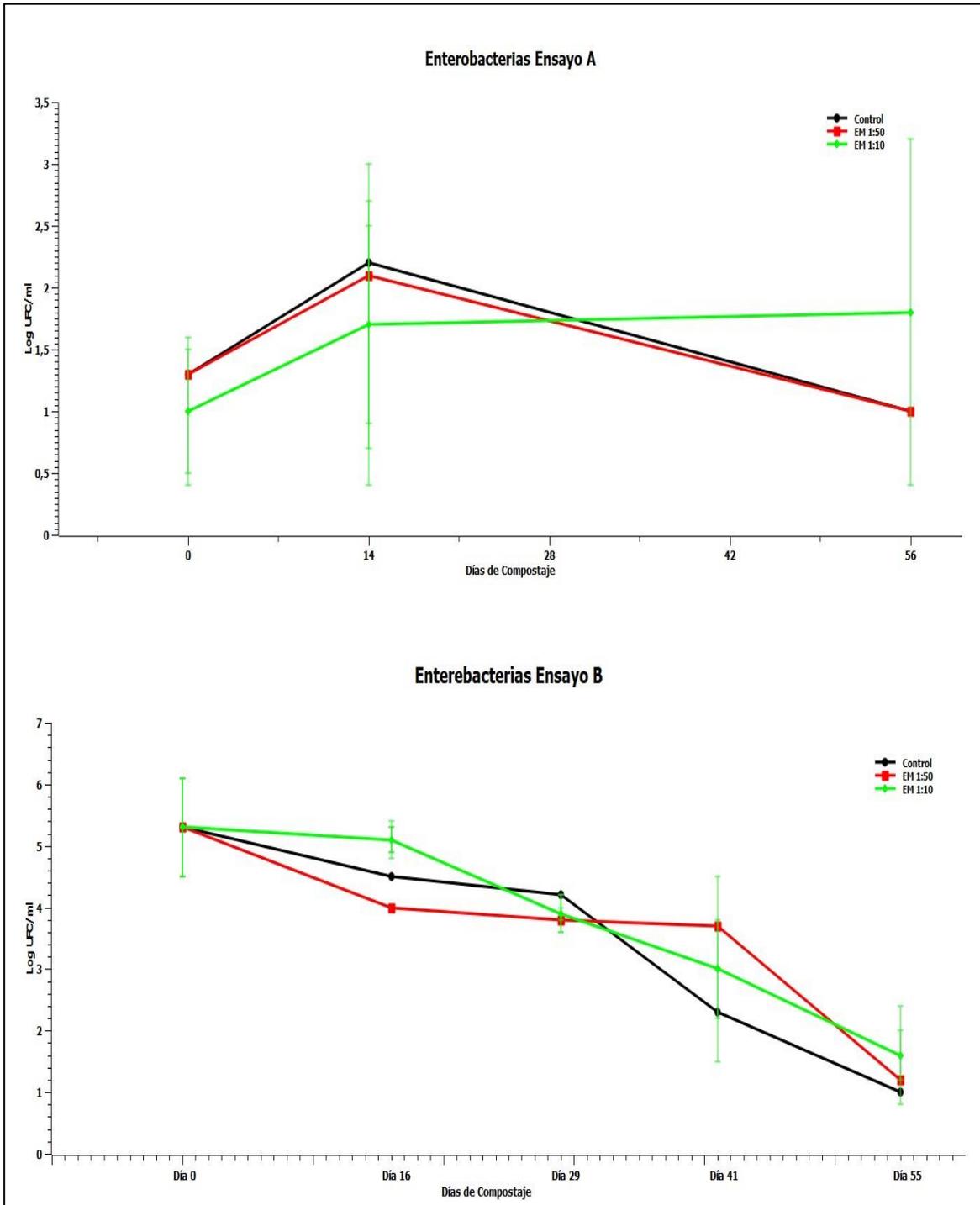
parte, en el ensayo B el recuento inicial promedio de la cama fue de 2,6 log UFC/g, subiendo en el día 16 y manteniendo esos valores hasta el día 55.



**Figura 19:** Variación de los aerobios mesófilos en función del tiempo. Ensayo A y B.

En cuanto al recuento de aerobios mesófilos, se observaron patrones diferentes en ambos ensayos (Figura 19). En el ensayo A, los valores iniciales promedios de la cama estuvieron entre 7,3 a 7,6 log UFC/g, manteniendo esos

valores en los distintos tiempos estudiados. Por su parte, en el ensayo B el recuento inicial promedio de la cama fue de 7,4 log UFC/g, manteniendo esos valores hasta el día 41, para disminuir el recuento a 5,5 a 5,9 log UFC/g al día 55.



**Figura 20:** Variación de las enterobacterias en función del tiempo. Ensayo A y B.

Respecto al recuento de enterobacterias, se observaron patrones diferentes en ambos ensayos (Figura 20). En el ensayo A, los valores iniciales promedios de la cama estuvieron entre 1 a 1,3 log UFC/g, manteniendo esos valores en los distintos tiempos estudiados. Por su parte, en el ensayo B el recuento inicial promedio de la cama fue de 5,3 log UFC/g. El mismo fue bajando a través del tiempo para ubicarse en 1-1,6 log UFC/g al día 55.

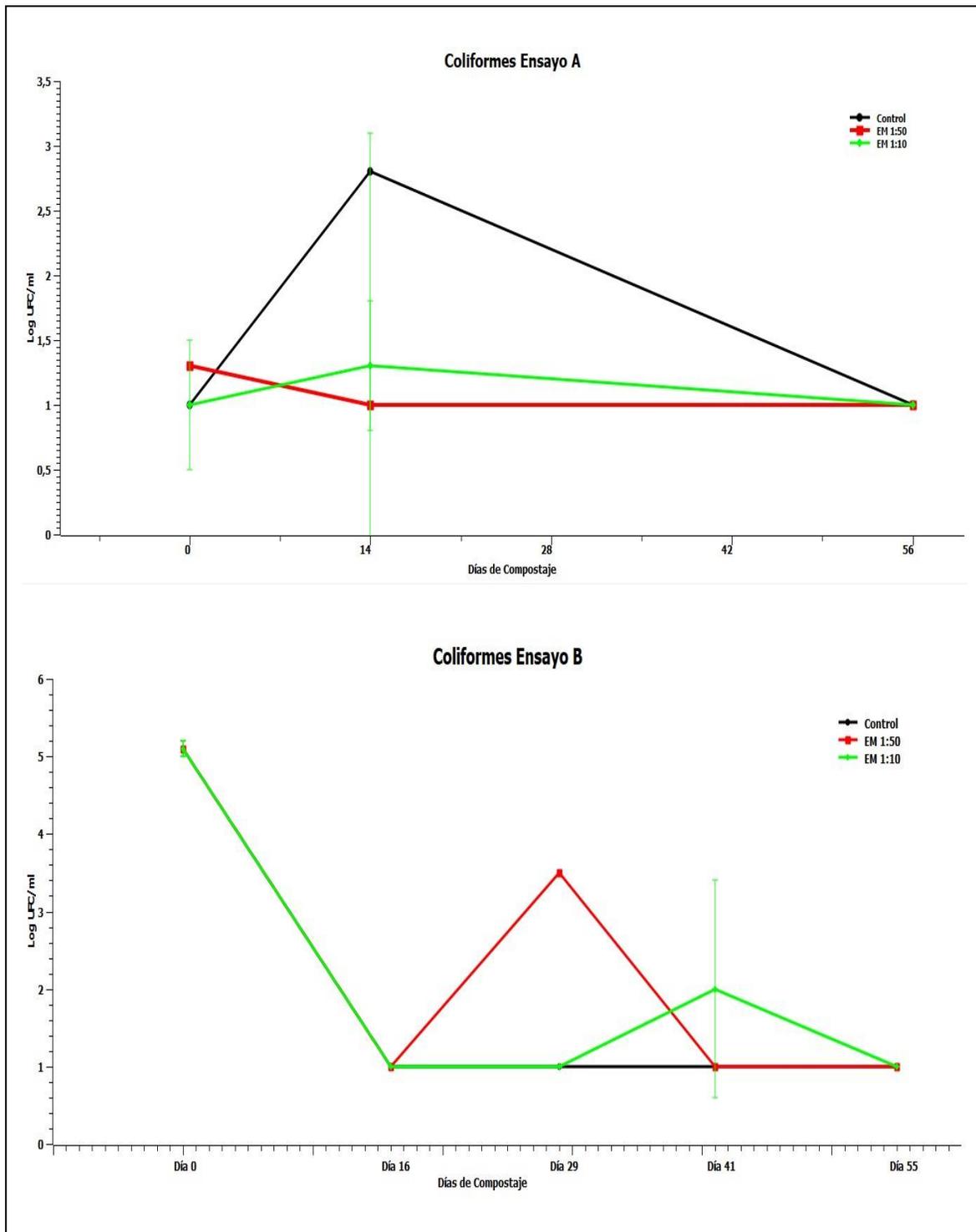
El número de coliformes mostró niveles y perfiles similares a los de enterobacterias para ambos ensayos (Figura 21). En el ensayo A, los valores iniciales promedios de la cama estuvieron entre 1 a 1,3 log UFC/g, manteniendo esos valores en los distintos tiempos estudiados. Por su parte, en el ensayo B el recuento inicial promedio de la cama fue de 5,1 log UFC/g. El mismo fue bajando a través del tiempo para ubicarse en 1 log UFC/g al día 55. Sólo en el día 29 el tratamiento 1 (EM-1® 1:50) mostró valores más altos respecto a los otros tratamientos.

El recuento de *Staphylococcus* coagulasa positiva fue similar para ambos ensayos a lo largo del tiempo (Figura 22). En el ensayo A, los valores iniciales promedios de la cama estuvieron entre 7,3 a 7,4 log UFC/g, manteniendo esos valores en los distintos tiempos estudiados. Por su parte, en el ensayo B el recuento inicial promedio de la cama fue de 7,1 log UFC/g, manteniéndose en esos niveles hasta el día 55.

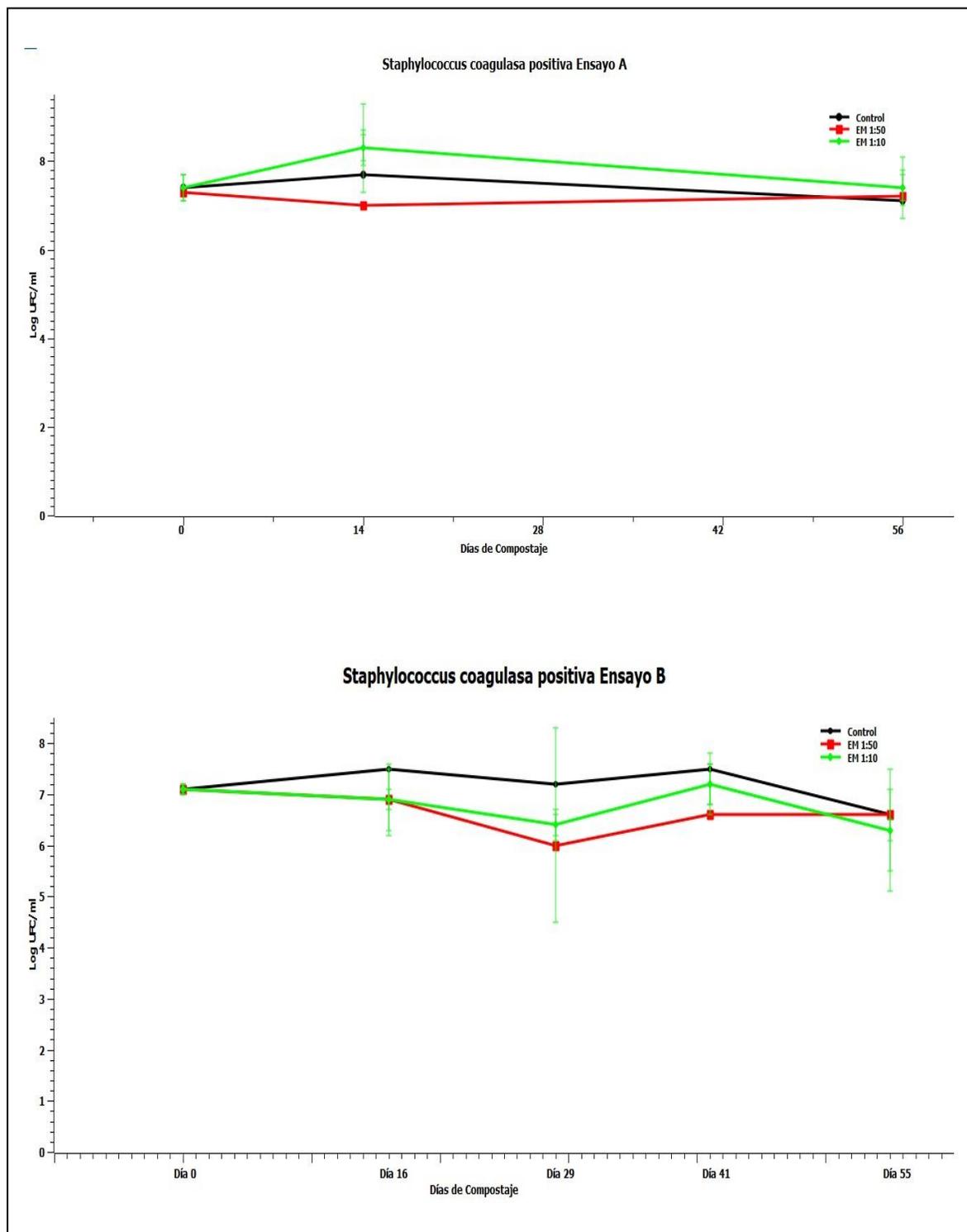
Respecto al recuento de bacterias ácido lácticas, se observaron patrones diferentes en ambos ensayos (Figura 23). En el ensayo A, los valores iniciales promedios de la cama estuvieron entre 2,4 a 3,5 log UFC/g, aumentando esos valores a 4,3-4,6 log UFC/g en el día 56, salvo a los 14 días para el tratamiento 2, donde levantó el recuento a 7,4 log UFC/g. Por su parte, en el ensayo B el recuento inicial promedio de la cama fue de 7 log UFC/g. El mismo bajó al día 16, se mantuvo hasta el día 29, luego se incrementó al día 41 (6,6-7,5 log UFC/g) para disminuir a valores promedios entre 2,9 a 3,2 log UFC/g al día 55.

La presencia de *Salmonella* sp. sólo fue observada en las muestras de cama del ensayo B. Las 3 submuestras analizadas en el día 0 de ese ensayo resultaron

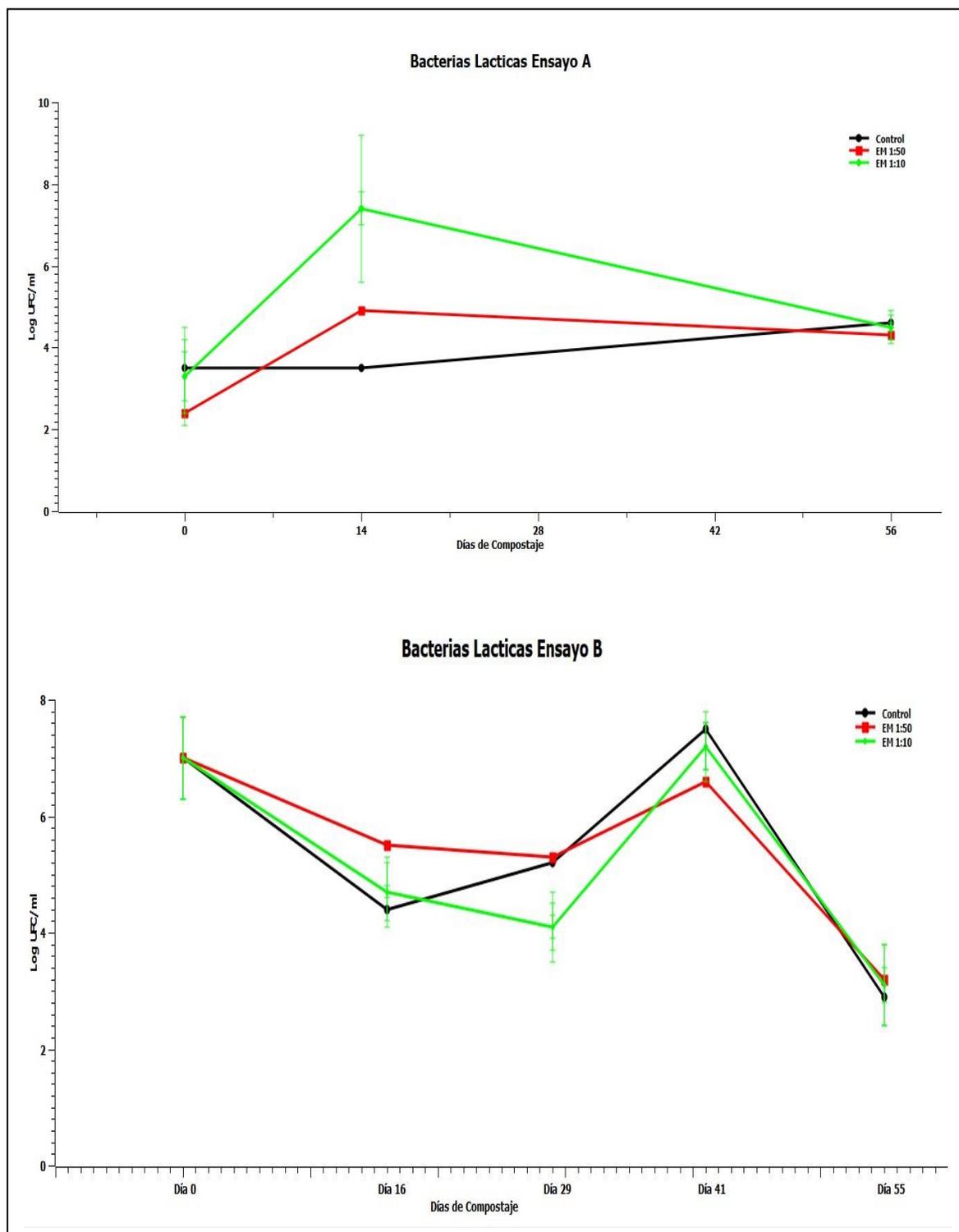
positivas a *Salmonella* spp. Santiago. A los 16 días, ninguna muestra analizada de las pilas de cama fue positiva a *Salmonella* spp.



**Figura 21:** Variación de las bacterias coliformes en función del tiempo. Ensayo A y B.



**Figura 22:** Variación de *Staphylococcus coagulasa* en función del tiempo. Ensayos A y B.



**Figura 23:** Variación de las bacterias lácticas en función del tiempo. Ensayos A y B.

## **6. DISCUSIÓN**

### **6.1. Variables fisicoquímicas.**

#### **6.1.1. Temperatura.**

La temperatura es uno de los factores más importantes que gobiernan la velocidad de las reacciones bioquímicas (Epstein 1997; McKinley y col., 1985). Tiquia y col., (1996) reportó que las altas y bajas temperaturas han sido correlacionadas con el incremento y descenso de la actividad microbiana.

Las fluctuaciones observadas durante este experimento, siguen un patrón similar a lo observado por otros sistemas de compostaje (Ros y col., 2006). En donde, la temperatura inicial aumenta como consecuencia de la rápida degradación de la materia orgánica disponible por los microorganismos; cuando este parámetro comienza a estabilizarse, la actividad microbiológica y los rangos de descomposición de materia orgánica decrecen y la temperatura disminuye gradualmente hasta niveles de temperatura ambiental, marcando el final del proceso. (Turan y col., 2009).

Como se observa en las figuras 11 a 14, durante las dos primeras semanas del ensayo, las temperaturas alcanzaron valores superiores a los 60°C y cercanos a los 70°C en el ensayo A. Resultados similares se obtuvieron para pilas altas (120 cm) en la primera semana de compostaje en el trabajo desarrollado por (Bernigaud y col., 2015). Esto es importante destacar, ya que se presume que por las temperaturas alcanzadas hubo una higienización de los materiales, con la consecuente eliminación de posibles patógenos presentes en el material (Stentiford y col., 1998; EPA 1994).

De acuerdo con la tabla 4, se necesitan para sistemas abiertos de compostaje 15 días (360 horas), con temperaturas superiores o iguales a 55 °C y a al menos 5 volteos para alcanzar el valor máximo permitido por la normativa vigente de coliformes fecales (1000 NMP por gramo de compost, en base seca) y 72 horas (3 días), consecutivos con cobertura para alcanzar el valor máximo de *Salmonella sp.* (1 NMP/ 4 gramos de compost en base seca).

En el ensayo A (81 días) no se llegó a la cantidad de horas necesarias para la inactivación de coliformes fecales fijada en la tabla 4, sin embargo para el día 56 el control y los tratamientos presentaron valores por debajo del límite, situación similar a la ocurrida en el ensayo B para el día 55. La forma de poder alcanzar la cantidad de horas necesarias fue tomando como nuevo límite el valor de la temperatura  $\geq 50^{\circ}\text{C}$ , ya que en el día 56 (tabla 6), para el ensayo A, el control y los tratamientos superaron las 360 horas con 6 volteos.

En el ensayo B, EM-1<sup>®</sup> 1:10 alcanzo la cantidad de horas necesarias para la inactivación de *Salmonella sp.* a los 15 días, mientras que el control y EM-1<sup>®</sup> 1:50 lo hicieron tomando como nuevo límite la temperatura de  $\geq 50^{\circ}\text{C}$ , aunque a diferencia de lo que solicita la normativa no fueron consecutivas. Para los tres casos a los 15 días la presencia de *Salmonella sp.* no fue observada.

Con estos resultados podemos inferir que las horas acumuladas de temperaturas necesarias para la inactivación de patógenos pueden ser menor de  $55^{\circ}\text{C}$  en sistemas abiertos de compostaje, pero el tiempo necesario de compostaje debería ser mayor.

Un aspecto relevante fue que pese a utilizar pilas de compostaje más bajas que las usuales se alcanzaron temperaturas similares durante las dos primeras semanas del proceso y se produjo una efectiva inactivación de los patógenos presentes en la cama.

### **6.1.2. P.H**

Los valores iniciales para ambos ensayos fueron alcalinos (8,3 y 8,2), estos valores concuerdan con el trabajo expuesto por (Tiquia y col., 2001) y (Guerrera-Rodriguez (2001) quienes encontraron en residuos avícolas, valores de pH iniciales entre 8,18 y 8.33.

El incremento del PH durante la primera fase de compostaje, fue observado por (Leconte y col., 2009). Este aumento podría atribuirse a la mineralización de

proteínas, aminoácidos y péptidos que producen amoníaco (Castrillón Quintana y col., 2006).

De acuerdo a la bibliografía y a trabajos precedentes, los valores más cercanos a la neutralidad, son indicadores de la estabilización de la materia orgánica, (Sesay y col., 1995), y es coincidente por lo establecido en la tabla 5 para valores de PH entre 5 y 8.5, siendo el tratamiento EM-1® 1:10, el que tuvo la mejor performance alcanzando el límite superior en el final de los ensayos A y B.

### **6.1.3. Conductividad Eléctrica**

La conductibilidad eléctrica está determinada por la presencia de las sales (iones amonio o nitratos) formados a lo largo del proceso de compostaje. El aumento durante los primeros días, puede atribuirse al incremento de la salinidad del material provocado por la pérdida de masa durante la mineralización de la materia orgánica (Fang y col., 1998); (Cáceres y col., 2006), mientras que la disminución de esta variable hacia el final del proceso puede deberse a la lixiviación de dichas sales (Laos y col., 2002), cuestión esta última que no se vio reflejada en los ensayos.

Los valores iniciales en ambos ensayos fueron diferentes, cumplimentando con el valor límite de la tabla 5 para ser utilizada como enmienda orgánica clase B el control y los tratamientos EM-1® 1:50, y EM-1® 1:10 hacia el final del ensayo A, mientras que en el ensayo B no se pudo observar una tendencia similar ya que por razones externas al experimento finalizo en el día 55, que fue el periodo de tiempo cuando los valores en el ensayo A comenzaron a descender y por lo tanto no se pudo obtener una correlación entre ambos ensayos.

### **6.1.4. Humedad**

El control de humedad es un factor importante en el desarrollo del proceso de compostaje ya que incide en el crecimiento bacteriano, debido a que los

microorganismos requieren agua para cumplir con sus necesidades fisiológicas y no pueden sobrevivir en ausencia de esta (Silva y col., 2012).

En todos los tratamientos la humedad se mantuvo por debajo de los valores óptimos entre el 50 y 60 % recomendados para el desarrollo del proceso de compostaje, (Haug, R 1993), aunque se mantuvo por encima del 30 %, que es límite para que las reacciones biológicas en una pila de compost se retarden considerablemente y la elevación de temperatura disminuya (kim y col., 2012).

Las causas de las caídas de humedad pueden encontrarse por la acción de diversos factores como la evaporación, lixiviación y aireación (Kelleher y col., 2002), aunque la causa más probable fue un insuficiente agregado de agua durante los volteos que no se observó a tiempo y por ende no se pudo rectificar.

#### **6.1.5. Relación carbono nitrógeno**

En el proceso de compostaje el carbono es la fuente de energía utilizada por los microorganismos para la activación de sus procesos metabólicos, mientras que el nitrógeno, es el material básico para la síntesis de material celular, por lo tanto la relación carbono/nitrogeno es uno de los aspectos más importantes en el balance nutricional del compost. La relación carbono/nitrogeno al comienzo del compostaje debería ser próxima a 25-30, y al final cuando se alcanza la maduración del compost puede ser de 10:1 (Tchobanoglous 1993).

Para el caso de la cama seleccionada en el ensayo A esta relación fue de 15.1, esto obedece a que la cama de pollo está condicionada por el sustrato utilizado por los granjeros que aporta mayoritariamente el carbono y la cantidad de crías en la que fue utilizada, que aporta mayoritariamente el nitrógeno.

De acuerdo a lo observado para los tratamientos y el control, el carbono orgánico total se mantuvo con muy poca variación, mientras que el nitrógeno total en EM-1® 1:10 mostro mayor disminución con respecto al control y a EM-1® 1:50. La relación carbono nitrógeno se ubicó de acuerdo a lo fijado por la normativa vigente como un compost clase B (entre 20 a 30), la mejor tendencia la obtuvo el

tratamiento 1 (EM-1® 1:50) que se ubicó apenas por encima del límite de la clase A  $\leq 20$ .

## 6.2. Variables microbiológicas

En los dos ensayos realizados, los recuentos bacterianos fueron variables dependiendo tanto del ensayo realizado como del tipo de microorganismo estudiado. Además, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en los dos ensayos, salvo para el recuento de bacterias lácticas a los 14 días de empezado el ensayo A y el recuento de coliformes al día 29 del ensayo B. Con esta metodología de compostaje la incorporación de EM en los tratamientos no mostró ventajas comparativas con respecto al control. Las temperaturas alcanzadas durante el proceso en las primeras semanas y la humedad menor al 50% en las pilas pudieron haber afectado a los microorganismos benéficos presentes en el EM (Haug, 1993), por lo que la opción de estudiar la metodología de compostaje a menor temperatura y con menor número de volteos (Daur y col., 2016) puede ser una alternativa de tratamiento.

Aunque las metodologías de medición de coliformes y *Salmonella* spp. fueron diferentes a la propuesta por la normativa vigente (MAyDS y SENASA, 2019), la disminución de los recuentos de coliformes fecales en los tratamientos y el control al final de los ensayos A y B y la ausencia de *Salmonella* spp. a los 15 días del ensayo B, respectivamente, demostraron que realizando volteos semanales y pilas de 80 cm se logró la meta de la inactivación de patógenos. Esto facilitaría la gestión del volteo dentro de los galpones durante los vacíos sanitarios y eventualmente fuera de los mismos para su tratamiento final, lo que da una ventaja operativa a lo establecido por otros autores con pilas superiores a un 1 metro (Bernigaud y col., 2015), siendo más efectivo asegurar una frecuencia mayor de volteos con pilas bajas, que una altura de apilado superior sin volteos frecuentes.

Por otro lado, en el ensayo B, donde la cama tenía *Salmonella* spp. inicialmente, a los 15 días del inicio no se encontró esta bacteria, al margen del

tratamiento con EM-1<sup>®</sup>, lo que indicó que esto se produjo por un efecto netamente físico. Kim y col. (2012) demostró que *Salmonella* sp. pudo ser aislada en cama de aves que tenían humedades de 30 a 50% y tratada a 70°C durante 300 minutos. La humedad de la cama en los 15 días del ensayo B estuvo entre 32,4% y 48,2% y la temperatura fue menor a 70°C, pero el tiempo de exposición fue mayor a lo planteado por esos autores.

## 7. CONCLUSION

El análisis de la variación de la temperatura durante el ensayo indica que se produce un proceso de descomposición de la materia orgánica a los 80 días del inicio del mismo. Si bien existieron diferencias significativas en las mediciones de temperatura para el tratamiento 2 (EM-1® 1:10), no influyeron en el tiempo de maduración del compost con respecto al tratamiento 1 (EM-1® 1:50) y al control.

En general, todos los parámetros de compostaje muestran que los tratamientos tienen un patrón similar, cumplimentando con la normativa vigente como un compost de clase B para los indicadores de calidad y nivel de patógenos.

La disminución en los valores de coliformes y *Salmonella* sp. indica que con una pila menor a 1 metro de altura se pueden disminuir la carga de patógenos a partir del segundo volteo.

El tratamiento 2 de (EM-1® 1:10) muestra una tendencia de mejora para los parámetros de PH y conductibilidad eléctrica en la cama apilada en algunas etapas del proceso de compostaje.

## **8. PROYECCIONES**

Es necesario seguir profundizando el estudio del compostaje con la incorporación de EM-1<sup>®</sup>, tanto con la metodología descrita en el presente trabajo, como con otras alternativas.

Estudiar los nutrientes presentes en el compost y su valor agronómico una vez estabilizado el mismo, tomando como referencia la normativa vigente como enmienda orgánica.

Analizar metodologías de tratamiento durante los vacíos sanitarios con la incorporación de tecnologías que faciliten el trabajo de los granjeros y como tratamiento final, tomando como meta la inactivación de patógenos y la disminución de emisiones.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bernal, M.P.; Alburquerque, J.A.; Moral, R. 2009 “Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment”. A review. *Bioresource Technol.* 100, 5444–5453.
- Bernigaud, C.; Gange J. 2015. “Tratamiento de la cama de pollo mediante apilado: evaluación en granja comercial” Informes técnicos N° 1 y 2. INTA.
- Bernigaud, C.; Gange, J. M. y Gallinger, C. I. 2016. “Eficiencia del tratamiento de cama de pollo mediante apilado en granjas comerciales en cama de pollo en Entre Ríos”. Aportes para su uso y manejo. Ed. Gange, J. M. ISBN 978-987-521-772-0 Ediciones INTA, EEA Concepción del Uruguay, pp. 8-18. Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/cama-de-pollo-en-entre-rios-aportes-para-su-uso-y- manejo en Entre Ríos>.
- Bland, M., y Ghazikhanian, Y. 1998. Litter management and poultry health. Nebraska Department of Veterinary and Biomedical Sciences Extension Newsletters, USA. 8 p.
- Bueno, D.; Soria, M.; Gentab, G.; Procura, F.; Rodriguez, F. 2016. “*Salmonella sp.* en cama de aves”. Aportes para su uso y manejo. Ed. Gange, J. M. ISBN 978-987-521-772-0 Ediciones INTA, EEA Concepción del Uruguay, pp. 19-35. Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/cama-de-pollo-en-entre-rios-aportes-para-su-uso-y- manejo en Entre Ríos>.
- Cáceres R, flotats X, Marfa O. 2006. “Changes in the chemical physicochemical properties of the solid fraction of cattle slurry during composting using different aeration strategies”. *Waste Mang* 26: 1081-1091.
- Camacho, A.; Martinez, L.; Ramirez, H.; Valenzuela, R.; Valdes, M. 2014. “Potencial de algunos microorganismos en el compostaje de residuos sólidos”.

- Castillo, M. 2002. “Algunas consideraciones y alternativas en la reutilización de la cama en las operaciones avícolas”. Tecnología Avícola en Latinoamérica. Año 15, No. 178: 46 – 50.
- Castrillón Quintana, O. C.; Mejía, B. O.; Martínez, D. V. 2006. “Efecto del pH sobre el crecimiento de microorganismos durante la etapa de maduración en pilas estáticas de compost”. Producción + Limpia. 1(2): 88-97.
- Chen, Z; Jiang, X. 2014. “Microbiological Safety of Chicken Litter or Chicken Litter-Based Organic Fertilizers: A Review”. Agriculture. ISSN 2077-0472. Agriculture 2014, 4, 1-29; doi: 10.3390/agriculture4010001. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2077-0472/4/1/1>.
- Conwell, A. 2019. “World poultry production to top 128 million tons in 2019” Poultry Trends.
- Dai Prá, M., Kunde Corrêa, E., Buttow Roll, V.F., Goncalves Xavier, E., Nichelle Lopes, D.C., Fernandes Lourenço, F., Teixeira Zanusso, J., y Piccini Roll, P. 2010. “Quicklime reduces Salmonella and Clostridium spp counts in used broiler litter”. WPSA J. 66 S: 555.
- Daur, I. 2016. “Study of commercial effective microorganism on composting and dynamics of plant essential metal micronutrients”. Journal of Environmental Biology. ISSN: 2394-0379 (Online).
- Dengel, L. 2010. “Composting with EM”. Auroville Green Practices. Disponible en: <http://www.green.aurovilleportal.org/agro/72-composting-with-em->
- EPA, 1994. A Plain English Guide to the EPA part 503 Biosolids rule, EPA/832/R-93/003, Washington, D.C.
- Epstein, E. 1997. The Science of Composting. Technomic Publishing Company. Inc., USA.
- Erickson, M.; Liao, J.; Ma, L.; Jiang, X.; Doyle, M.P. 2009. “Inactivation of Salmonella spp. in cow manure composts formulated to different initial C:N ratios”. Bioresour. Technol. 100, 5898–5903.

- Fang, M, Wong, W.C., Li, G.X; Wong, M.H. 1998. "Changes in biological parameters during co-composting of sewage sludge and coal ash residues". *Bioresource technology* 64: 55-61.
- Frioni Lillian. 1999. "Procesos microbianos". Editorial de la Fundación Universidad Nacional de Rio Cuarto.
- Gange, J. 2016. "Aproximación al valor potencial de la cama de pollo como fertilizante en el centro este de Entre Ríos. En: Cama de pollo en Entre Ríos". Aportes para su uso y manejo. ISBN 978-987-521-772-0 Ediciones INTA, EEA Concepción del Uruguay, pp. 48-60. Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/cama-de-pollo-en-entre-rios-aportes-para-su-uso-y-manejo-en-Entre-Rios>.
- Grimont, P.A.D. y Weill, F.X. 2007. "Antigenic formulae of the Salmonella serovars". 9th edition. Institut Pasteur, 28 rue du Dr. Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.
- Guerrero – Rodriguez, E.; Diaz – Ravina, M.; Vazquez, M. 2001. Composting of chestnut burr and leaf litter with solid poultry manure. *Bioresour. Technol.* 78: 107 – 109.
- Hassen, A.; Belguith, K.; Jedidi, N.; Cherif, A.; Cherif, M.; Boudabous, A. 2001. "Microbial characterization during composting of municipal solid waste". *Bioresour. Technol.* 80, 217–225.
- Haug, R. T. 1993. "The Practical Handbook of Compost Engineering". Lewis Publishers, Boca raton, FL. pp. 71-77.
- Higa, T. 2006. "Una revolución para salvar la tierra". Una forma para resolver los problemas de nuestro mundo a través de los microorganismos eficientes. EM Japan Technology Argentina SA. Córdoba Argentina.
- Islam A.F., Mahmoud M.A.O., Burgess S., Renz K., y Walkden-Brown S.W. 2013. "Effect of heap size, shape, covering, and turning on litter

pasteurization during in-shead partial composting”. Western Popultry Disease Conference.

- Kelleher, B.P.; Leahy, J.J.; Henihan, A.M.; O’Dwyer, T.F.; Sutton, D.; Leahy, M.J. 2002. “Advances in poultry litter disposal technology”. A review. *Bioresource Technol.*, 83, 27–36.
- KIM, J.; DIAO, J.; SHEPHERD, M.W.; SINGH, R.; HERINGA, S.D.; GONG, C.; JIANG, X. 2012. “Validating thermal inactivation of Salmonella spp. in fresh and aged chicken litter”. *Applied and environmental microbiology*, v. 78, p. 1302-1307.
- Laos, F.; Mazzarino, M. J.; Walter, I.; Roselli, L.; Satti, P.; Moyano, S. 2002. “Composting of fish offal and biosolids in northwestern Patagonia”. *Bioresour technol.* 81: 179-186.
- Leconte, M. C.; Mazzarino, M. J.; Satti, P.; Iglesias, M. C.; Laos, F. 2009. “Composting poultry manure with rice hulls and/or sawdust in NE Argentina”. *Waste Management.* 29: 2446-2453.
- Luyo Flores, J.H. 2014. “Evaluación sanitaria en pollos de engorde (Ross 308), criados en cama nueva vs. cama reciclada (7 reusos/flameado) en granjas comerciales”. Tesis de Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina Veterinaria E.A.P. de Medicina Veterinaria. Lima, Perú.
- Martínez, R; Borghello, C. 2019. “Informe Avícola 2019”. Dirección de Ganadería y Pesca, Provincia de Entre Ríos. Disponible en: <http://www.entrerios.gov.ar/minpro/userfiles/files/DIRECCION%20GRAL%20GANADERIA/AVICULTURA/INFORME%20AV%3%8DCOLA%202019.pdf>
- MAGyP. 2018. “Boletín Avícola 2018”. Año XXI N° 81. Disponible en: [https://www.magyp.gov.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/\\_archivos//000000\\_Datos%20Hist%C3%B3ricos/000081\\_Nro%2081%20Anuario%20Avicola%202018.pdf](https://www.magyp.gov.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/_archivos//000000_Datos%20Hist%C3%B3ricos/000081_Nro%2081%20Anuario%20Avicola%202018.pdf).

- MAGyP. 2019. “Boletín Avícola 2019”. Año XXII N° 82. Disponible en: [https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/\\_archivos//000000\\_Datos%20Hist%C3%B3ricos/000082\\_Nro%2082%20Anuario%20Avicola%202019.pdf](https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/_archivos//000000_Datos%20Hist%C3%B3ricos/000082_Nro%2082%20Anuario%20Avicola%202019.pdf).
- McKinley, V. L; Vestal, J. R. 1985. “Effects of different temperatura regimes on microbial activity and biomass in composting municipla sewage sludge”. Can J. Microbiol. 31: 919 – 925.
- Millner, P. 2009. “Manure Management. In The Production Contamination Problem”. Matthews, K., Solomon, E., Sapers, G., Eds.; U.S. Department of Agriculture (USDA): Beltsville, MD, USA, Volume 1, pp. 79–104.
- MINAGRI. 2017. “Anuario Avícola 2017”. Disponible en: [https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/\\_archivos//000000\\_Datos%20Hist%C3%B3ricos/000080\\_Nro%2080%20Anuario%20Avicola%202017.pdf](https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/_archivos//000000_Datos%20Hist%C3%B3ricos/000080_Nro%2080%20Anuario%20Avicola%202017.pdf).
- Noll., S.L. 1992. “Interacciones entre el manejo de la cama y la salud de la parvada”. Avic. Prof. 10(1): 42-43.
- Riera, N.; Della Torre, V.; Rizzo, P.; Butti, M.; Bressan, F.; Zarate, N; Weigandt, C.; Crespo, D. 2014. “Evaluación del proceso de compostaje de dos mezclas de residuos avícolas”. Rev. FCA UNCUYO. 46(1): 195-203. ISSN impreso 0370-4661. ISSN (en línea) 1853-8665.
- Roll, V.F.B., Dai Prá, M.A. y Roll, A.P. 2011. “Research on Salmonella in broiler litter reused for up to 14 consecutive flocks”. Poult Sci. 90:2257–2262.
- Rossman, A.J., and B.L. Chance. 1998. Whorshop Statistics: discovery with data and Minitab. Springer-Verlag, New York, USA.
- Sadzawka, R.; Carrasco, M.; Grez, Z.; y Mora, M. 2005. “Métodos de análisis de compost”. Instituto de Investigaciones INIA.

- Sarmiento, J; Gazal,E; Medeiros,L; Nishio,E; Kobayashi,R ; Nakazato, G. 2014. “Identificación de cepas de Escherichia coli diarreogénicas de fertilizantes orgánicos aviares”. Environ. Res. Public Health, 11, 8924-8939.
- SENASA. 2010. Resolución 504. Disponible en:  
<http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-504-2010-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria>
- SENASA. 2011. “Manual para el registro de fertilizantes, enmiendas, sustratos, acondicionadores, protectores y materias primas en la República Argentina” Anexo 1
- SENASA. 2017. “Establecimientos con Avicultura por Tipo de Producción”. Disponible en:  
[http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL\\_SENASA/INFORMACION/INFORMES%20Y%20ESTADISTICAS/Informes%20y%20estadisticas%20Animal/AVES/INDICADORES%20GANADEROS/distribucion\\_de\\_granjas\\_avicolas\\_por\\_provincia\\_-\\_marzo\\_2017.xls](http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/INFORMACION/INFORMES%20Y%20ESTADISTICAS/Informes%20y%20estadisticas%20Animal/AVES/INDICADORES%20GANADEROS/distribucion_de_granjas_avicolas_por_provincia_-_marzo_2017.xls)
- SENASA. 2019. “Resolución Conjunta 1/2019”. Disponible en:  
<https://www.boletinoficial.gob.ar/#!DetalleNorma/199874/20190110>.
- Sesay, A. A.; Lasaridi, K.; Stentiford, E.; Budd, T. 1997. “Controlled composting of paper pulp sludge using aerated static pile method”. Compost. Sci. Util. 5: 82 – 96.
- Shitani M. 2020. “Proceedings of the 13th International Scientific Conference of IFOAM: 28 to 31 August 2000”. Basel. Alfoeldi T, Lockerezt W, Ninggli U, editor. Organic fertilizer – Managing banana residues with Effective Microorganisms; pp. 08–28.
- Silva J., López P., Valencia P. 2012. “Recuperación de nutrientes en fase sólida a través de compostaje”. Escuela de Ingeniería de los Recursos naturales y del Ambiente (EIDENAR), Universidad del Valle-Facultad de Ingeniería. Cali-Colombia.

- Stentiford, E. I.; Mara, D.D.; Taylor, P. L. 1998. "Forced aeration co-composting of domestic refuse and sewage in static piles". Gasser J. K. R. *Composting of Agricultural and other wastes*. Elsevier Applied Science Publishers, London. pp: 42 – 55
- Sweeten, J.M. 1998. "Composting Manure and Sludge". In *Proceedings of the National Poultry Waste Management Symposium*, Columbus, OH, USA, 18–19 April 1988; Ohio State University: Columbus, OH, USA.
- Talaro, K.P.; Talaro, A. 2002. "Physical and Chemical Control of Microbes". In *Foundations in Microbiology*, 4th ed.; The McGraw-Hill Companies: New York, NY, USA, pp. 325–326.
- TCHOBANOGLOUS, G. 1993. "Gestión Integral de los residuos Sólidos". Vol. II McGraw Hill. Madrid.
- Tiquia, S.M.; Tam, S.M; Hodgkiss, I. J. 1996. "Microbial activities during composting of spent pig-manure sawdust litter and different moisture contentes". *Biores. Technol.* 55: 201 – 206.
- Tiquia SM, Wan JHC, Tam NFY. 2001. "Extracellular enzyme profiles during co- composting of poultry manure and yard trimmings". *Process Biochem.* 36:813–820. doi: 10.1016/S0032-9592(00)00281-8.
- TMECC. 1995. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) y la Fundación de Investigación y Educación del Consejo de Compostaje (CCREF).
- Turan, N. G.; Akdermir, A. Ergun, O. N. 2009. "Removal of volatile organic compounds by natural materials during composting of poultry litter". *Bioresource Technology* 100: 798 – 803.
- Van Bruchem J, Lantinga EL, Overvest J, Jovink JPM. 1998. "Proceedings of the 5th International Conference on Kyusei Nature Farming". Bangkok. Senanayake YDA, Sangakkara UR, editor. 1999. *Environmental tuning of agriculture in the Netherlands*; pp. 233–245.

- Virtuose, MCS, Oliveira DG, Dias LNS, Fagundes PSF and Leite PRSC. 2015. "Reutilização da cama de frango". Revista Eletrônica Nutritime, 12:3964-3979.
- Wilkinson, K.G.; Tee, E.; Tomkins, R.B.; Hepworth, G.; Premier, R. 2011. "Effect of heating and aging of poultry litter on the persistence of enteric bacteria". Poultry Sci. 90, 10–18.
- Williams, M.; Barker, J.; and J. Sims. 1999. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 162: 105–157.
- Yépez, A.; Shintani, M.; Botero, P.; Okumoto, S.; Tylor, R. 2002. "Guía para el uso del EM en la producción animal sostenible". Ed. EARTH. Costa Rica.

## 9. ANEXO

### ANEXO 1

#### ACTIVACION

El usuario debe proveerse para la activación del producto EM-1® con lo siguiente:

##### 1- Lugar:

Lugar limpio para la activación.

Deberá mantenerse una temperatura entre los 30° a 40°C durante el proceso de fermentación.

Puede disponer un lugar cálido por ejemplo debajo de una cubierta de chapa.

##### 2- Equipamiento:

Tanque de PVC, capacidad según necesidad. Recomendamos tanque marca "Rotoplas" o similar para uso domiciliario. Este posee salida lateral para la colocación de la válvula de salida y tapa de cierre hermético cuyo diámetro coincide con el cuello del tanque.

Una base de apoyo para el tanque. Altura de 50 cm. para la descarga del líquido en bidones.

- Baldes y paleta mezclador.
- Termómetro

##### 3- Otros:

Agua de buena calidad. Si es potable y contiene cloro, dejar reposar por 24 hs. para liberar el cloro.

Al momento de activar el EM-1®, la temperatura del agua deberá estar entre los 30° a 40°C.

#### **Procedimiento para la activación**

Las proporciones para la activación del producto EM-1® son:

EM-1®: 5 %

Melaza de caña de azúcar: 5 %

Agua limpia 90 %

Ejemplo: Para obtener 600 litros de EM activado:

N°	ITEM	VOLUMEN (Litros)
1	EM-1®	30
2	Melaza de caña de azúcar	30
3	Agua limpia	540

- 1- En el tanque de 600 litros se agrega agua limpia aproximadamente a la mitad del mismo y a una temperatura en lo posible superior a los 30 ° C.
- 2- Disolver en varios baldes los 30 litros (45 kg) de melaza de caña de azúcar con agua tibia formando una solución homogénea.
- 3- Agregar la melaza diluida al interior del tanque.
- 4- Agregar los 30 litros de EM-1® al tanque.
- 5- Completar con agua tibia la capacidad del tanque dejando una pequeña cámara de aire y remover la solución obtenida con una paleta.
- 6- Cerrar la tapa y encintar el mismo con cinta adhesiva para asegurar la condición anaeróbica.
- 7- Aproximadamente a partir del 5º día, (según la temperatura del lugar) se deberán liberar los gases que se generan en el interior del tanque accionando la válvula de venteo sólo por unos 2 segundos para volver a cerrarla herméticamente.
- 8- La fermentación habrá finalizado luego de 10 a 15 días y estará en condiciones para ser utilizado.

Importante:

Durante la fermentación, no debe ingresar oxígeno al interior del tanque y para ello se sellará la tapa del tanque con cinta adhesiva y mantener cerrada la válvula de venteo.

El producto estará listo cuando:

- 1- Se hayan producido los gases y se haya liberado los mismos.
- 2- El color se torna más claro.
- 3- El olor es a fermentación.
- 4- El pH haya descendido de los 3,9 (si disponen de un pHímetro: opcional)

## ANEXO 2- Valores físico-químicos

Tabla 1. Valores de humedad, PH y conductibilidad eléctrica a través del tiempo en el ensayo A. Promedio  $\pm$  desvío estándar.

Dias	Variables								
	Humedad (%) en los distintos tiempos de muestreo			PH en los distintos tiempos de muestreo			Conductibilidad (ds/m) en los distintos tiempos de muestreo		
	Control	EM-1® 1:50	EM-1® 1:10	Control	EM-1® 1:50	EM-1® 1:10	Control	EM-1® 1:50	EM-1® 1:10
0	36,8 $\pm$ 3,2 <sup>a</sup>	36,8 $\pm$ 3,2 <sup>a</sup>	36,8 $\pm$ 3,2 <sup>a</sup>	8,1 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	8,1 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	8,1 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	5,3 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	5,3 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	5,3 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
7	29,6 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	30,3 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	34,0 $\pm$ 6,7 <sup>a</sup>	8,7 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	8,6 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	8,5 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	5,9 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	5,7 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	6,4 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>
14	29,3 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	27,9 $\pm$ 7,4 <sup>a</sup>	27,8 $\pm$ 6,8 <sup>a</sup>	8,6 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	8,5 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	8,5 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	5,6 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	5,5 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	5,4 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>
21	29,7 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	28,5 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	29,4 $\pm$ 6,6 <sup>a</sup>	8,5 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	8,6 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	8,6 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	5,3 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	5,8 $\pm$ 0,06 <sup>ab</sup>	5,7 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>
28	29,1 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	28,7 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	29,9 $\pm$ 8,2 <sup>a</sup>	8,7 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	8,6 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	8,6 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	5,9 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	5,6 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	5,5 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>
35	29,1 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	28,4 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	30,3 $\pm$ 5,4 <sup>a</sup>	8,9 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	8,9 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	8,7 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	5,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	5,8 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	5,6 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
45	31,1 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	29,1 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	33,5 $\pm$ 7,5 <sup>a</sup>	8,6 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	8,5 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	8,5 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	5,6 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	5,6 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	5,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
56	28,9 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	27,6 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	28,7 $\pm$ 9,5 <sup>a</sup>	8,6 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	8,5 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	8,6 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	5,7 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	5,7 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	5,8 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>
70	28,7 $\pm$ 2,7 <sup>a</sup>	27,3 $\pm$ 1,4 <sup>ab</sup>	24,4 $\pm$ 3,2 <sup>b</sup>	8,7 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	8,5 $\pm$ 0,04 <sup>ab</sup>	8,5 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	5,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	5,9 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	5,3 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Medias con diferentes letras en la misma fila difieren significativamente entre los tratamientos (P<0,05).

Tabla 2. Valores de humedad, PH y conductibilidad eléctrica a través del tiempo en el ensayo B. Promedio  $\pm$  desvío estándar.

Días	Variables								
	Humedad (%) en los distintos tiempos de muestreo			PH en los distintos tiempos de muestreo			Conductibilidad (ds/m) en los distintos tiempos de muestreo		
	Control	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	Control	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	Control	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	EM-1 <sup>®</sup> 1:10
0	48,2 $\pm$ 3,2 <sup>a</sup>	48,2 $\pm$ 3,2 <sup>a</sup>	48,2 $\pm$ 3,2 <sup>a</sup>	8,4 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	8,4 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	8,4 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	8,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	8,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	8,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
8	29,3 $\pm$ 1,8 <sup>b</sup>	35,8 $\pm$ 1,8 <sup>b</sup>	37,8 $\pm$ 3,2 <sup>b</sup>	8,9 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	8,8 $\pm$ 0 <sup>ab</sup>	8,8 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	6,8 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	7,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	7,5 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
15	32,4 $\pm$ 7,3 <sup>b</sup>	33,6 $\pm$ 0,8 <sup>bc</sup>	35,3 $\pm$ 0,9 <sup>b</sup>	8,9 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	8,9 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	8,8 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	6,7 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	7,3 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	7,0 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>
21	31,2 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>	33,8 $\pm$ 0,8 <sup>bc</sup>	34,1 $\pm$ 3,4 <sup>b</sup>	8,9 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	8,8 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	8,7 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	6,7 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	7,2 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	6,1 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>
28	30,4 $\pm$ 5,5 <sup>b</sup>	29,9 $\pm$ 3,2 <sup>c</sup>	32,9 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	9,0 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	9,0 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	8,9 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	7,2 $\pm$ 0,3 <sup>ab</sup>	6,8 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	7,6 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>
34	29,6 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	29,6 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	32,8 $\pm$ 2,6 <sup>b</sup>	8,9 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	8,9 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	8,9 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	6,6 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	7,0 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	7,1 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>
40	30,4 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	32,5 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	30,4 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	8,7 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	8,8 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	8,8 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	6,5 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	7,1 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	6,4 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>
55	26,0 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	27,2 $\pm$ 2,5 <sup>a</sup>	26,9 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	8,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	8,6 $\pm$ 0 <sup>ab</sup>	8,5 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	6,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	6,9 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	7,4 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Medias con diferentes letras en la misma fila difieren significativamente entre los tratamientos (P<0,05).

Tabla 3. Valores de temperatura a través del tiempo en el ensayo A. Promedio  $\pm$  desvío estándar.

Días	Temperatura (°C) en los distintos tratamientos			Días	Temperatura (°C) en los distintos tratamientos		
	Control	EM-1® 1:50	EM-1® 1:10		Control	EM-1® 1:50	EM-1® 1:10
1	37,1 $\pm$ 5,0 <sup>a</sup>	38,1 $\pm$ 5,7 <sup>a</sup>	33,6 $\pm$ 5,0 <sup>b</sup>	42	43,4 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>	35,6 $\pm$ 5,4 <sup>b</sup>	34,2 $\pm$ 3,3 <sup>b</sup>
2	53,0 $\pm$ 5,3 <sup>a</sup>	55,2 $\pm$ 5,6 <sup>a</sup>	47,6 $\pm$ 7,9 <sup>b</sup>	43	36,9 $\pm$ 3,3 <sup>a</sup>	30,2 $\pm$ 3,7 <sup>b</sup>	29,4 $\pm$ 2,7 <sup>b</sup>
3	66,5 $\pm$ 2,9 <sup>a</sup>	67,1 $\pm$ 2,5 <sup>a</sup>	66,0 $\pm$ 2,5 <sup>a</sup>	44	21,5 $\pm$ 6,6 <sup>a</sup>	20,0 $\pm$ 5,3 <sup>a</sup>	20,2 $\pm$ 4,0 <sup>a</sup>
4	66,9 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	67,2 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	67,0 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	45	39,8 $\pm$ 9,1 <sup>a</sup>	29,0 $\pm$ 3,5 <sup>b</sup>	31,5 $\pm$ 4,3 <sup>b</sup>
5	64,0 $\pm$ 4,1 <sup>a</sup>	62,0 $\pm$ 4,0 <sup>a</sup>	62,7 $\pm$ 2,2 <sup>a</sup>	46	57,3 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>	47,2 $\pm$ 7,7 <sup>b</sup>	51,0 $\pm$ 4,2 <sup>b</sup>
6	54,2 $\pm$ 5,7 <sup>a</sup>	50,1 $\pm$ 4,1 <sup>b</sup>	51,3 $\pm$ 3,3 <sup>a</sup>	47	48,6 $\pm$ 3,0 <sup>a</sup>	50,2 $\pm$ 4,2 <sup>a</sup>	50,8 $\pm$ 2,7 <sup>a</sup>
7	36,7 $\pm$ 9,6 <sup>a</sup>	35,8 $\pm$ 8,6 <sup>a</sup>	36,2 $\pm$ 7,7 <sup>a</sup>	48	47,5 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	49,8 $\pm$ 2,5 <sup>a</sup>	48,4 $\pm$ 2,2 <sup>a</sup>
8	53,9 $\pm$ 6,3 <sup>a</sup>	53,7 $\pm$ 6,3 <sup>a</sup>	56,4 $\pm$ 4,2 <sup>a</sup>	49	44,3 $\pm$ 2,7 <sup>a</sup>	43,2 $\pm$ 4,4 <sup>a</sup>	41,6 $\pm$ 2,2 <sup>b</sup>
9	63,7 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup>	65,3 $\pm$ 1,2 <sup>b</sup>	64,7 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	50	39,8 $\pm$ 2,5 <sup>a</sup>	36,9 $\pm$ 4,2 <sup>b</sup>	34,9 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>
10	62,3 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>	62,1 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>	58,9 $\pm$ 2,4 <sup>b</sup>	51	36,6 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	33,1 $\pm$ 3,2 <sup>b</sup>	30,7 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>
11	52,3 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>	51,6 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup>	48,5 $\pm$ 1,8 <sup>b</sup>	52	33,1 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	29,6 $\pm$ 2,0 <sup>b</sup>	27,5 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>
12	45,4 $\pm$ 2,2 <sup>a</sup>	45,2 $\pm$ 2,0 <sup>a</sup>	42,5 $\pm$ 2,2 <sup>b</sup>	53	36,8 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup>	31,9 $\pm$ 1,5 <sup>b</sup>	29,2 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>
13	39,6 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	39,0 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup>	36,6 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>	54	35,1 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	30,2 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>	27,4 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>
14	36,4 $\pm$ 3,6 <sup>a</sup>	34,3 $\pm$ 3,6 <sup>a</sup>	34,1 $\pm$ 3,6 <sup>a</sup>	55	28,7 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	26,0 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>	23,7 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>
15	60,4 $\pm$ 3,7 <sup>a</sup>	59,7 $\pm$ 5,7 <sup>a</sup>	60,9 $\pm$ 4,2 <sup>a</sup>	56	19,3 $\pm$ 4,3 <sup>a</sup>	18,5 $\pm$ 2,8 <sup>a</sup>	18,7 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>
16	57,3 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	57,0 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	56,0 $\pm$ 1,7 <sup>b</sup>	57	28,2 $\pm$ 3,2 <sup>a</sup>	27,1 $\pm$ 3,7 <sup>a</sup>	26,6 $\pm$ 4,0 <sup>a</sup>
17	49,9 $\pm$ 2,7 <sup>a</sup>	49,2 $\pm$ 2,9 <sup>a</sup>	47,8 $\pm$ 2,7 <sup>b</sup>	58	46,7 $\pm$ 6,8 <sup>a</sup>	37,4 $\pm$ 5,9 <sup>b</sup>	36,3 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>

18	41,5 ± 2,3 <sup>a</sup>	39,4 ± 2,5 <sup>b</sup>	38,0 ± 2,3 <sup>b</sup>	59	49,7 ± 4,4 <sup>a</sup>	41,5 ± 3,4 <sup>b</sup>	36,7 ± 8,9 <sup>b</sup>
19	36,8 ± 3,2 <sup>a</sup>	36,8 ± 3,2 <sup>b</sup>	36,8 ± 3,2 <sup>b</sup>	60	46,5 ± 2,2 <sup>a</sup>	44,1 ± 1,8 <sup>b</sup>	38,5 ± 4,8 <sup>b</sup>
20	29,9 ± 1,5 <sup>a</sup>	28,2 ± 1,7 <sup>b</sup>	27,4 ± 1,0 <sup>b</sup>	61	40,6 ± 3,2 <sup>a</sup>	43,1 ± 3,9 <sup>a</sup>	38,6 ± 5,2 <sup>b</sup>
21	21,0 ± 4,5 <sup>a</sup>	20,2 ± 4,2 <sup>a</sup>	19,5 ± 4,3 <sup>a</sup>	62	35,6 ± 2,0 <sup>a</sup>	38,8 ± 3,9 <sup>b</sup>	37,0 ± 5,6 <sup>a</sup>
22	23,4 ± 1,7 <sup>a</sup>	24,5 ± 2,0 <sup>a</sup>	26,6 ± 2,8 <sup>b</sup>	63	33,0 ± 1,4 <sup>a</sup>	35,0 ± 3,1 <sup>a</sup>	35,2 ± 5,9 <sup>a</sup>
23	33,1 ± 3,3 <sup>a</sup>	37,9 ± 3,3 <sup>b</sup>	44,3 ± 5,5 <sup>b</sup>	64	30,5 ± 1,9 <sup>a</sup>	31,6 ± 2,0 <sup>a</sup>	32,2 ± 5,9 <sup>a</sup>
24	48,3 ± 6,6 <sup>a</sup>	53,6 ± 3,6 <sup>b</sup>	56,5 ± 2,4 <sup>b</sup>	65	27,7 ± 0,9 <sup>a</sup>	27,7 ± 1,5 <sup>a</sup>	28,6 ± 4,2 <sup>a</sup>
25	54,2 ± 2,3 <sup>a</sup>	53,5 ± 1,8 <sup>a</sup>	51,4 ± 1,3 <sup>b</sup>	66	24,9 ± 0,7 <sup>a</sup>	24,9 ± 0,9 <sup>a</sup>	25,2 ± 3,1 <sup>a</sup>
26	46,3 ± 3,4 <sup>a</sup>	45,0 ± 3,3 <sup>a</sup>	42,9 ± 3,1 <sup>b</sup>	67	22,7 ± 0,7 <sup>a</sup>	22,9 ± 0,9 <sup>a</sup>	22,9 ± 2,3 <sup>a</sup>
27	38,2 ± 1,8 <sup>a</sup>	37,0 ± 2,2 <sup>a</sup>	35,7 ± 2,2 <sup>b</sup>	68	21,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	21,5 ± 0,8 <sup>a</sup>	21,0 ± 1,5 <sup>a</sup>
28	24,8 ± 6,3 <sup>a</sup>	24,7 ± 5,6 <sup>a</sup>	23,7 ± 4,7 <sup>a</sup>	69	20,8 ± 0,7 <sup>a</sup>	20,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	20,2 ± 1,0 <sup>a</sup>
29	28,1 ± 2,8 <sup>a</sup>	26,3 ± 1,9 <sup>a</sup>	27,0 ± 2,4 <sup>b</sup>	70	22,3 ± 2,0 <sup>a</sup>	22,9 ± 2,3 <sup>a</sup>	22,5 ± 2,5 <sup>a</sup>
30	39,7 ± 3,8 <sup>a</sup>	31,1 ± 2,1 <sup>b</sup>	34,2 ± 4,1 <sup>b</sup>	71	43,9 ± 2,5 <sup>a</sup>	45,6 ± 1,7 <sup>a</sup>	42,9 ± 3,4 <sup>a</sup>
31	51,9 ± 5,0 <sup>a</sup>	36,6 ± 4,1 <sup>b</sup>	43,7 ± 6,4 <sup>b</sup>	72	49,2 ± 1,0 <sup>a</sup>	49,1 ± 1,0 <sup>a</sup>	43,7 ± 3,1 <sup>b</sup>
32	55,5 ± 2,0 <sup>a</sup>	44,8 ± 3,7 <sup>b</sup>	51,7 ± 3,2 <sup>b</sup>	73	44,1 ± 1,5 <sup>a</sup>	42,8 ± 2,2 <sup>a</sup>	39,9 ± 1,1 <sup>b</sup>
33	46,6 ± 2,2 <sup>a</sup>	42,2 ± 3,3 <sup>b</sup>	45,0 ± 2,0 <sup>a</sup>	74	38,2 ± 1,2 <sup>a</sup>	36,8 ± 2,5 <sup>a</sup>	35,9 ± 0,9 <sup>b</sup>
34	39,0 ± 2,2 <sup>a</sup>	39,0 ± 3,2 <sup>a</sup>	39,0 ± 2,8 <sup>a</sup>	75	32,8 ± 0,8 <sup>a</sup>	31,7 ± 2,4 <sup>a</sup>	31,0 ± 1,1 <sup>a</sup>
35	26,6 ± 5,7 <sup>a</sup>	26,9 ± 7,8 <sup>a</sup>	25,9 ± 6,1 <sup>a</sup>	76	29,0 ± 0,5 <sup>a</sup>	27,6 ± 1,4 <sup>b</sup>	27,6 ± 0,9 <sup>b</sup>
36	35,4 ± 3,5 <sup>a</sup>	49,8 ± 8,5 <sup>b</sup>	39,0 ± 6,0 <sup>a</sup>	77	25,3 ± 0,9 <sup>a</sup>	24,9 ± 1,1 <sup>a</sup>	25,2 ± 0,7 <sup>a</sup>
37	52,2 ± 2,3 <sup>a</sup>	55,3 ± 5,6 <sup>b</sup>	55,3 ± 3,4 <sup>b</sup>	78	24,1 ± 0,8 <sup>a</sup>	23,4 ± 0,9 <sup>a</sup>	24,0 ± 0,7 <sup>a</sup>
38	52,4 ± 2,5 <sup>a</sup>	51,0 ± 3,0 <sup>a</sup>	50,2 ± 2,2 <sup>b</sup>	79	22,8 ± 0,7 <sup>a</sup>	22,1 ± 0,6 <sup>a</sup>	22,8 ± 1,0 <sup>a</sup>
39	44,4 ± 3,0 <sup>a</sup>	42,6 ± 4,8 <sup>a</sup>	40,7 ± 2,2 <sup>b</sup>	80	22,6 ± 0,9 <sup>a</sup>	22,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	22,4 ± 0,7 <sup>a</sup>
40	35,2 ± 4,3 <sup>a</sup>	31,4 ± 4,2 <sup>b</sup>	29,9 ± 2,2 <sup>b</sup>	81	22,4 ± 1,0 <sup>a</sup>	21,7 ± 0,5 <sup>a</sup>	22,1 ± 0,8 <sup>a</sup>

41	44,3 ± 3,9 <sup>a</sup>	36,5 ± 6,8 <sup>b</sup>	33,4 ± 2,6 <sup>b</sup>		
----	-------------------------	-------------------------	-------------------------	--	--

<sup>a,b</sup> Medias con diferentes letras en la misma fila difieren significativamente entre los tratamientos (P<0,05).

### ANEXO 3- Valores microbiológicos

Tabla 1. Recuento de microorganismos a través del tiempo en el ensayo A. Promedio  $\pm$  desvío estándar.

Variables	Tratamiento	Log UFC/g en los distintos tiempos de muestreo		
		0 días	14 días	56 días
Aerobios termófilos	Control	3,4 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	2,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	3,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	3,9 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	No realizado	3,9 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	3,9 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	2,5 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	4,1 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>
Aerobios mesófilos	Control	7,5 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	7,7 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	7,1 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	7,3 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	7,1 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	6,8 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	7,6 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	8,6 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	7,3 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
Enterobacterias	Control	1,3 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	2,2 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	1,3 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	2,1 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	1,7 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	1,8 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>
Coliformes	Control	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	2,8 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	1,3 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	1,3 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
<i>Staphylococcus</i> coagulasa positiva	Control	7,4 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	7,7 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	7,1 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	7,3 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	7,0 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	7,2 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	7,4 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	8,3 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	7,4 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
Bacterias lácticas	Control	3,5 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	3,5 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	4,6 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	2,4 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	4,9 $\pm$ 1,8 <sup>ab</sup>	4,3 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	3,3 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	7,4 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	4,5 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Medias con diferentes letras en la misma fila difieren significativamente entre los tratamientos (P<0,05).

Tabla 2. Recuento de microorganismos a través del tiempo en el ensayo B. Promedio  $\pm$  desvío estándar.

Variables	Tratamiento	Log UFC/g en los distintos tiempos de muestreo				
		0 días	16 días	29 días	41 días	55 días
Aerobios termófilos	Control	2,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	3,9 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	3,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	3,5 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	3,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	2,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	3,3 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	3,4 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	3,8 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	3,7 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	2,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	3,4 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	3,2 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	3,7 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	3,0 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
Aerobios mesófilos	Control	7,4 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	7,2 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	6,9 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	7,2 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	5,9 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	7,4 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	6,7 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	6,7 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	6,5 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	5,9 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	7,4 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	5,8 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	5,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	6,7 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	5,5 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>
Enterobacterias	Control	5,3 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	4,5 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	4,2 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	2,3 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	5,3 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	4,0 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	3,8 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	3,7 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	1,2 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	5,3 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	5,1 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	3,9 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	3,0 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	1,6 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>
Coliformes	Control	5,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	5,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	3,5 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	5,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	2,0 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
<i>Staphylococcus</i> coagulasa positiva	Control	7,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	7,5 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	7,2 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	7,5 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	6,6 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	7,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	6,9 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	6,0 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	6,6 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	6,6 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	7,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	6,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	6,4 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	7,2 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	6,3 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>
Bacterias lácticas	Control	7,0 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	4,4 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	5,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	7,5 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	2,9 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:50	7,0 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	5,5 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	5,3 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	6,6 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	3,2 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
	EM-1 <sup>®</sup> 1:10	7,0 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	4,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	4,1 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	7,2 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	3,1 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Medias con diferentes letras en la misma fila difieren significativamente entre los tratamientos (P<0,05).