

**Efecto de la inoculación de *Talaromyces sayulitensis* HC1 y los
aislamientos de *Bacillus* sp. 8AP1 y 14P, sobre el proceso de compostaje de
residuos sólidos orgánicos**



Realizado por:

Sebastián Cárdenas Arenas

Directora

Ivonne Gutiérrez Rojas M.sc., Ph.D.

Co - directora

Adriana Matiz Villamil M.Sc.

Asesora

María Ximena Rodríguez Bocanegra Ph.D.

Trabajo de Grado

Programa de Microbiología Industrial

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

BOGOTÁ D.C. 2021

**Efecto de la inoculación de *Talaromyces sayulitensis* HC1 y los
aislamientos de *Bacillus* sp. 8AP1 y 14P, sobre el proceso de compostaje de
residuos sólidos orgánicos**

Aprobado

Sebastián Cárdenas Arenas

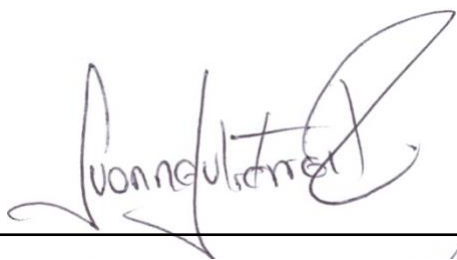
Alba Alicia Trespalacios Rangel
Decana Académica
Facultad de Ciencias

Marcela Franco Correa
Directora de carrera
Microbiología Industrial

**Efecto de la inoculación de *Talaromyces sayulitensis* HC1 y los
aislamientos de *Bacillus* sp. 8AP1 y 14P, sobre el proceso de compostaje de
residuos sólidos orgánicos**

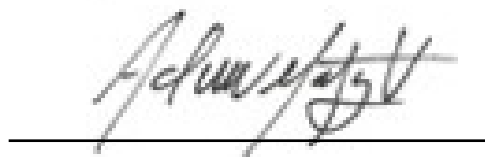
Aprobado

Sebastián Cárdenas Arenas



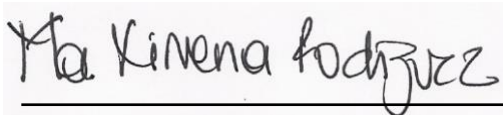
Ivonne Gutiérrez Rojas M.Sc., Ph.D.

Directora



Adriana Matiz Villamil M.Sc.

Co - directora



María Ximena Rodríguez Bocanegra Ph.D.

Asesora



Claudia Marcela Rivera Hoyos M.Sc., Ph.D.

Jurado

NOTA DE ADVERTENCIA

“La universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

Artículo 23 de la Resolución No 13 de Julio de 1946

Agradecimientos

Primeramente, quiero agradecer a familia por ser mi principal motivación, y en especial mi madre María Arenas, mi padre Luis Cárdenas y mi hermano Carlos Cárdenas, por brindarme el apoyo y la confianza necesaria para poder cumplir cada una de las metas personales y académicas que he planteado en mi vida.

A mi directora Ivonne Gutiérrez, quien me ha guiado a lo largo de varios semestres en la realización del proyecto de investigación, enseñándome y apoyándome en cada momento. Lo cual me permitió conocer y aplicar una rama muy interesante de la microbiología.

A mi codirectora Adriana Matiz, por el apoyo y disposición en la elaboración del montaje, y también el aporte en conocimiento que me ayudó a culminar este trabajo.

A María Ximena Rodríguez, por su constante dedicación durante todo el proceso, y así mismo por todos sus consejos y enseñanzas que me brindó cuando presentaba algún problema en el laboratorio

De igual forma, quiero agradecer a mis amigos, David Alvear, Ana Sofía Pacheco, Carlos Herrera y David Zúñiga, por estar siempre dispuestos a ayudarme y motivarme en cada momento de dificultad. Parte de la realización de este trabajo, es gracias a ellos.

Además, a todas aquellas personas que hacen parte del Laboratorio de Biotecnología Aplicada y de monitoría de la Facultad de Ciencias.

Tabla de contenido

	Pág.
Resumen	10
1. Introducción	11
2. Marco Teórico	12
2.1. Marco Conceptual	12
2.2. Antecedentes	16
3. Objetivos	17
3.1. Objetivo general	17
3.2. Objetivos específicos	17
4. Metodología	18
4.1. Microorganismos	18
4.2. Selección de la materia prima	18
4.3. Producción del bioinoculante	18
4.3.1. Cultivo bacteriano	18
4.3.2. Producción cepa fúngica	19
4.4 Montaje de cajones para el compostaje	19
4.5 Inoculación	20
4.6 Muestreo	20
4.7 Evaluación de temperatura y pH	20
4.8 Evaluación de la actividad enzimática	21
4.8.1 Celulasas	21
4.8.2 Amilasas	21
4.8.3 Proteasas	22
4.9 Evaluación del CO ₂	22
4.10 Evaluación de características fisicoquímicas	23
5. Análisis estadístico	23
6. Resultados	23
6.1 Evaluación de la efectividad del bioinoculante	23
6.1.1 Temperatura	23

6.1.2 pH	24
6.1.3 Respirimetría	25
6.1.4 Aspecto del producto final	26
6.1.5 Caracterización fisicoquímica y composición mineral del producto final	26
6.2 Evaluación de la actividad enzimática	28
6.2.1 Actividad celulolítica	28
6.2.2 Actividad amilolítica	29
6.2.3 Actividad proteolítica	30
7. Discusión	30
8. Conclusiones	35
9. Recomendaciones	36
10. Bibliografía	36
11. Anexos	42
11.1 Composición de medios de cultivo	42
11.2 Diseño y montaje de los cajones	43
11.3 Curva patrón de glucosa	43

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Medición de la temperatura de los microcosmos	24
Figura 2. Medición del pH en función del tiempo para el control y el tratamiento	25
Figura 3. Evaluación de la producción de CO ₂ en los microcosmos	26
Figura 4. Apariencia del compost	26
Figura 5. Evaluación de la actividad celulolítica	29
Figura 6. Evaluación de la actividad amilolítica	29
Figura 7. Evaluación de la actividad proteolítica	30
Figura 8. Cajones de madera para el proceso de compostaje	43
Figura 9. Curva patrón de glucosa	43

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Tratamientos realizados en los cajones de compost	20
Tabla 2. Caracterización fisicoquímica y composición de la fracción mineral del producto obtenido en los cajones de compostaje del control y el tratamiento	27

Resumen

El desaprovechamiento de los residuos sólidos orgánicos, producidos por sectores domésticos e industriales, generan una serie de problemáticas ambientales tras la acumulación de este tipo de materiales en rellenos sanitarios y botadores a cielo abierto, ya que se generan agentes contaminantes de las fuentes hídricas y de la atmósfera, como lo son los lixiviados y los gases de efecto invernadero. Por tal motivo, se han planteado una serie de estrategias que permitan transformar los residuos orgánicos en un producto aprovechable, como el compostaje. Este proceso naturalmente involucra largos periodos de tiempo, por lo cual no se logran emplear todos los desechos dispuestos, generando una acumulación de estos y por tanto, la generación de agentes tóxicos. De modo que, se ha planteado la adición de bioinoculantes al compostaje, los cuales mediante la producción de enzimas, son capaces de degradar de una forma más eficiente las diferentes estructuras de la materia orgánica, como las proteínas, los lípidos y la biomasa lignocelulósica (lignina, celulosa y hemicelulosa), llegando así a reducir el tiempo de operación de este tratamiento.

Ante la situación planteada, en el presente estudio se evaluó el efecto de la inoculación de *Talaromyces sayulitensis* HC1 y los aislamientos de *Bacillus* sp. 8AP1 y 14P, sobre el proceso de compostaje de residuos de plaza de mercado, cascarilla de arroz, gallinaza y porquinaza. Determinando, durante los 45 días que se llevó a cabo el proceso, la temperatura, pH, producción de CO₂, y la actividad enzimática (celulolítica, amilolítica y proteolítica). A partir de esto, se evidenció un comportamiento similar respecto a la temperatura del control y el tratamiento, la cual comenzó con $45 \pm 0,1$ °C, y fue disminuyendo a las mismas condiciones del ambiente hasta finalizar el proceso. En cuanto al pH, se obtuvieron los mismos datos para los dos montajes, iniciando con un valor de 7 y finalizando con pH de 8. Por otro lado, en la prueba de respirometría, se observó una producción total para el tratamiento y el control de 0,35 mg CO₂/g. Además, se determinó la caracterización fisicoquímica y la composición de la fracción mineral del producto obtenido al finalizar el proceso, obteniendo resultados semejantes entre los dos procesos para cada uno de los parámetros evaluados.

Con relación a la actividad enzimática, se evidenció el mismo comportamiento para los montajes evaluados, en la producción de amilasas, celulasas y proteasas. Obteniendo respectivamente, un máximo de actividad al inicio del proceso con 257 UA, a los 12 días generando 17 UC y a los 22 con 1425 UP.

Por tal motivo, se determinó que la adición del bioinoculante (*Talaromyces sayulitensis* HC1 y *Bacillus* sp. 8AP1 y 14P), no generó un efecto sobre la degradación de residuos orgánicos en el sistema de cajones, ya que el comportamiento fue el mismo con relación al control, en cada uno de los parámetros fisicoquímicos y biológicos evaluados.

1. Introducción

Según el Banco Internacional de Reconstrucción y Fomento (IBRD), anualmente se producen 2,01 toneladas de residuos municipales, de las cuales aproximadamente el 50% se encuentran constituidos por residuos orgánicos a nivel mundial [1]. En Colombia se presenta una situación similar, ya que en el año 2018 se generaron 11,3 millones de toneladas de residuos sólidos [2], de los cuales el 55 % representaron aquellos de carácter orgánico [3]. De esta fracción de residuos, se aprovecharon el 27 % por medio de diferentes tratamientos como el compostaje, elaboración de biocombustibles, incineración con producción de energía, entre otros métodos; mientras que el resto, se llevó para su disposición final a los rellenos sanitarios, botaderos a cielo abierto y celdas de contingencia [4, 5].

El desaprovechamiento de este tipo de residuos, involucra una reducción en la vida útil de estos espacios de disposición final, por el hecho de depositar una alta cantidad de residuos orgánicos. De igual forma, implica un aumento en la producción de lixiviados y gases de efecto invernadero, los cuales son agentes capaces de afectar el aire y las fuentes hídricas subterráneas [5]. Estos factores ambientales son de vital importancia, puesto que, en el caso de ser alterados por las emisiones pueden llegar a ser un potencial riesgo para la salud humana, tanto a nivel respiratorio por la liberación de dichos gases, como a nivel alimenticio por la potabilidad del agua [6].

Una de las alternativas planteadas para solucionar estos problemas ambientales es el proceso de compostaje, el cual permite transformar los residuos orgánicos en un producto aprovechable, conocido como compost. Sin embargo, cabe mencionar, que una de las principales problemáticas de este tratamiento, es el tiempo de transformación de los residuos orgánicos, el cual es de aproximadamente 45 a 90 días según el tipo de montaje empleado [7]. De modo que, no pueden ser tratados simultáneamente todos los residuos orgánicos producidos, siendo entonces depositados en los rellenos sanitarios. Otro inconveniente que presenta el proceso de compostaje, es la acumulación de desechos en los lugares donde se llevan a cabo estos tratamientos, generando de igual forma en los rellenos sanitarios, una serie de problemas ambientales como lo son la producción de lixiviados y la liberación de gases de efecto invernadero [8].

La inoculación de microorganismos en el proceso de compostaje, tales como *Talaromyces sayulitensis* HCl y cepas del género *Bacillus*, puede ser una alternativa para mejorar el tratamiento de residuos orgánicos. Puesto que, la actividad enzimática de estos microorganismos, permitiría degradar de una forma más eficiente las diferentes estructuras de la materia orgánica, como el almidón, las proteínas, los lípidos y la biomasa lignocelulósica (lignina, celulosa y hemicelulosa), y por tanto, habría una reducción en el tiempo de operación de este tratamiento. Asimismo, al aumentar la concentración de microorganismos,

incrementaría la degradación de los residuos sólidos orgánicos, permitiendo la disponibilidad de una mayor cantidad de nutrientes para el suelo y por tanto, para las plantas.

En este orden de ideas, al requerir un menor tiempo de compostaje, se lograría evitar la acumulación de residuos, de modo que, se reduciría el tiempo de producción de lixiviados y se disminuiría la concentración de gases de efecto invernadero producidos, que como se mencionó anteriormente, tienen un efecto negativo en la salud y el medio ambiente. De igual forma, al ser más rápido el tiempo de operación, permitiría aprovechar una mayor cantidad de residuos orgánicos, lo cual reduciría la cantidad de desechos llevados a disposición final y por tanto, se podría aumentar la vida útil de los rellenos sanitarios.

Teniendo en cuenta lo anterior, los sectores agrícolas de Fómeque, Cundinamarca, requieren de una optimización en el sistema de compostaje, para poder transformar los residuos orgánicos producidos en un menor tiempo, evitando la acumulación de este tipo de materiales, y por tanto la producción de agentes contaminantes. Por tal motivo, en el presente proyecto de investigación, se evaluará el efecto del bioinoculante compuesto por *Talaromyces sayulitensis* HC1 y dos cepas de *Bacillus* sp. 8AP1 Y 14P sobre los residuos sólidos orgánicos, en un sistema de cajones durante 45 días de tratamiento.

2. Marco teórico

2.1. Marco conceptual

Como bien se mencionó anteriormente, los residuos que son producidos diariamente, se encuentran constituidos por diferentes tipos de materiales, siendo la materia orgánica uno de los desechos más representativos del total de residuos generados [1]. Este tipo de residuos, pueden ser tanto de origen vegetal o animal, los cuales se caracterizan por ser susceptibles a ser transformados por medio de diferentes procesos de descomposición [9].

Los residuos orgánicos se pueden clasificar según el sector donde son producidos, de modo que se pueden generar este tipo de desechos a partir de tres fuentes: domiciliario, industrial, y agrícola. En primer lugar, los residuos producidos en las viviendas, son aquellos compuestos principalmente por restos de alimentos y desechos de jardín. Por otro lado, están los residuos orgánicos producidos por las industrias y el sector agrícola, siendo este último, un sector que produce un alto contenido de este tipo de desechos, puesto que suelen estar compuestos por los residuos de las cosechas y plazas de mercado [10]. Es así como, estas tres fuentes de producción de desechos orgánicos generan anualmente en Colombia cerca

de 178 millones de toneladas, motivo por el cual se han establecido diferentes alternativas con el fin de tratar y aprovechar este tipo de recursos [11].

En tal sentido, ante la alta producción de residuos orgánicos en Colombia, se ha planteado una estrategia capaz de otorgarle un valor agregado a estos materiales, dentro del marco de la economía circular. Según el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, la economía circular permite establecer un flujo de materiales, con el propósito de extender la vida útil de los residuos por medio de alternativas tecnológicas, evitando así, el modelo de producción y consumo lineal, en el cual los productos son elaborados, utilizados y desechados [9]. Con el fin de lograr una transición del modelo económico lineal, hacia la economía circular de sostenibilidad ambiental, el gobierno desarrolló un marco normativo, en el cual se destaca la Política Nacional para la Gestión Integral de Residuos Sólidos (PGIRS). Esta se estableció en el documento CONPES 3874, en el que se plantean diversos principios, con el propósito de gestionar el tratamiento y aprovechamiento de biomasa residual [12]. Una de las iniciativas planteadas dentro de esta política, es el modelo de valoración de residuos, el cual contempla al compostaje como una alternativa para transformar biomasa residual.

El compostaje es un proceso aeróbico controlado, en el cual la materia orgánica es transformada en lo que se conoce como compost, que es una matriz estable y orgánica, con disponibilidad de nutrientes, que posteriormente, puede ser empleada como fertilizante para el suelo [10]. La descomposición de residuos orgánicos, es mediada por la actividad enzimática de sucesivas poblaciones microbianas, que combinan actividades mesofílicas y termofílicas, empleando los desechos como fuente de carbono y nitrógeno. De tal forma que, al cabo de 4 a 6 meses de compostaje, se obtenga como producto de valor agregado, abono o humus de características definidas, que permita mejorar la productividad y estabilidad del suelo en el sector agrícola [13].

Para llevar a cabo la descomposición de residuos orgánicos, y obtener un producto estable como resultado; la biomasa se transforma a medida que transcurren las diferentes etapas del proceso, las cuales están relacionadas con el metabolismo de los microorganismos inoculados [7]. Como primera etapa, el proceso de compostaje empieza por la degradación de materia orgánica, la cual cuenta con un alto porcentaje de compuestos fácilmente asimilables, tales como azúcares y proteínas. Esta etapa, corresponde a la fase mesofílica del tratamiento, en la que solo en un par de días de proceso, la temperatura aumenta gradualmente de 10 °C a 40 °C, como consecuencia de la energía térmica generada por el metabolismo de los microorganismos, tales como *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Lactobacillus* spp. y *Acetobacter* spp. Así pues, la actividad enzimática a partir de hongos y bacterias mesofílicas, empieza a

elevar la temperatura de la pila de compostaje, hasta el punto de inhabilitar el crecimiento de estos microorganismos [7].

Ante el aumento de la temperatura, los microorganismos adaptados a estas condiciones, reemplazan a los hongos y bacterias mesofílicas. De modo que, el proceso de compostaje entra en una fase termofílica (40 °C a 70 °C), la cual tiene un tiempo de duración aproximado entre 1 a 4 semanas, que inclusive puede llegar a prolongarse, dependiendo del tamaño del compostaje y la composición de la biomasa residual empleada [14]. Esta etapa del proceso, es llevada a cabo por microorganismos capaces de degradar compuestos más complejos, tales como: celulosa, lignina y ácidos grasos, siendo *Bacillus* y *Actinomyces* las bacterias termofílicas que se encuentran mayoritariamente en esta fase del compostaje. Cabe mencionar, que si bien los hongos no se encuentran dentro del rango de temperatura de la fase termofílica, algunos son termotolerantes y cuentan con la capacidad de degradar compuestos con un alto contenido de celulosa y lignina, los cuales continúan el proceso, elevando la temperatura de la materia prima hasta los 70°C o más. La temperatura que alcanza el compostaje en esta etapa, es esencial para la obtención de un producto estable al final del proceso, puesto que es suficiente para destruir patógenos y compuestos fitotóxicos que pudiesen estar presentes en la materia prima.

Una vez terminada la fase termofílica, la temperatura del compostaje empieza a disminuir gradualmente, producto de la limitación de sustratos orgánicos. En esta etapa mesofílica o de enfriamiento, empiezan a recolonizar microorganismos que si bien también son mesofílicos (rango óptimo de 10 °C a 40 °C), poseen una actividad metabólica distinta respecto a aquellos involucrados en la fase de calentamiento [15]. Por tal motivo, las bacterias capaces de degradar celulosa y hongos con actividad lignocelulolítica como *Aspergillus*, empiezan a colonizar el compost y a transformar los compuestos orgánicos complejos residuales [7]. De modo que, hay una reducción en el proceso de descomposición, y por tanto, un enfriamiento de la materia orgánica hasta alcanzar una temperatura ambiente, para que posteriormente, finalice el proceso de compostaje con su última etapa.

La fase maduración del compostaje, corresponde a la transformación de algunos compuestos orgánicos complejos en coloides húmicos, por medio de la actividad enzimática de microorganismos nitrificantes y el metabolismo de consumidores de segundo y tercer nivel, tales como protozoos y artrópodos [13]. Los que finalmente, generan un producto estable con características definidas (humus), el cual es aplicado como abono del suelo en el sector agrícola [16].

Las anteriores afirmaciones sugieren, que la efectividad del proceso de compostaje y la calidad del producto, se encuentran estrechamente relacionados. Por lo que es necesario tener en cuenta parámetros

tanto físicos como químicos que requieren de un adecuado control durante el tratamiento de los residuos orgánicos.

El balance nutricional, es una de las medidas más importantes del control de producción, puesto que los microorganismos siendo los principales actores durante este proceso, requieren carbono, nitrógeno, fósforo y potasio como nutrientes primarios. Por lo cual, es de gran importancia la relación C:N de la biomasa empleada como materia prima, cuya proporción óptima para el compostaje se considera alrededor de 30:1. Puesto que en caso tal de tener una relación inferior a este valor, si bien permiten una descomposición rápida, existe la posibilidad de que el exceso de nitrógeno no puede ser asimilado, y por tanto, se pierda en la atmósfera como amoníaco. Por otra parte, si la relación C:N es superior a la ideal, la insuficiencia de nitrógeno reduce el metabolismo de los microorganismos, y por consiguiente, aumenta el tiempo de duración del tratamiento de compostaje [15].

Asimismo, el compostaje al ser un proceso aerobio, requiere de una aeración apropiada que suministre el oxígeno suficiente para los microorganismos, de tal manera que estos sean capaces de oxidar la materia orgánica, y liberar CO₂ como producto metabólico. Cuando el suministro de oxígeno no es suficiente, el crecimiento de microorganismos aeróbicos es limitado, lo que resulta en una descomposición más lenta. Otro factor importante es la humedad del proceso de compostaje, puesto que este debe mantener un contenido de humedad entre el 50 al 60 %. En caso tal de tener un contenido de humedad inferior al 20 %, la pila estará demasiado seca como para llevar a cabo los procesos biológicos, y si llegase a ser superior al 70 %, se lixiviarían los nutrientes y patógenos. Por otro lado, el compostaje aeróbico cuenta con un pH que puede variar entre 5,5 y 8,5, el cual desciende al inicio del proceso, a causa de la producción de ácidos orgánicos, facilitando el crecimiento de hongos degradadores de celulosa y lignina. Para que finalmente, llegue a ser ligeramente básico por la producción de metano y dióxido de carbono, obteniendo abono con un pH entre 6 y 8 [15].

Lo anteriormente expuesto, permite evidenciar la importancia de las medidas de control tanto físicas como químicas, que se deben tener en cuenta durante el proceso de compostaje. Pero cabe mencionar, que la variable biológica es la más importante a tener en cuenta para la transformación de los residuos orgánicos, ya que los microorganismos adicionados al proceso en forma de bioinoculantes descomponen la materia orgánica, llegando no solo a acelerar el proceso de compostaje, sino también, a mejorar las características finales del abono [17].

Es por esta razón, que la adición de acelerantes biológicos al proceso de compostaje, es una alternativa a este tratamiento que se ha ido aplicando en diversos agroecosistemas. Con la finalidad de lograr una

reducción en el tiempo de formación y maduración del compost, y por tanto, evitar la acumulación de residuos orgánicos capaces de generar agentes contaminantes [6]. Estos bioinoculantes, pueden llegar a estar constituidos por bacterias tales como *Bacillus* spp. y *Streptomyces* spp., y hongos como lo son *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp., a los cuales se les ha evaluado la producción de enzimas capaces de degradar compuestos complejos como celulosa, lignocelulosa, xilano, quitina, polisacáridos en general y proteínas [18].

2.2. Antecedentes

La implementación del uso de bioinoculantes en el proceso de compostaje, ha demostrado en diversos estudios un efecto positivo en este tratamiento, llegando a reducir el tiempo de degradación de los residuos orgánicos [8,19]. De igual forma, según un estudio realizado por Tortarolo et al., la adición de determinados microorganismos al compost, genera un aumento significativo en la temperatura durante la fase termofílica, asegurando una destrucción eficaz de posibles patógenos, y por tanto, una mejor calidad del producto [20].

Teniendo en cuenta lo anterior, se ha determinado la capacidad de bacterias y hongos, para generar enzimas capaces de degradar material orgánico. Como bien se demostró en un estudio de Bekele y colaboradores, en el cual observaron la capacidad de transformar la celulosa, a partir de hongos aislados de la podredumbre de la acacia y de las aguas residuales industriales, tales como *Penicillium* sp., *Alternaria* sp. y *Aspergillus terreus*. De modo que, concluyeron la posible bioprospección de las cepas aisladas, para la degradación de biopolímeros producidos en diferentes industrias [21]. Además, esta capacidad de los hongos para producir celulasas, se evidenció en un estudio en el que evaluaron a *Aspergillus oryzae* para producir este tipo de enzimas, con el propósito de transformar mediante el proceso de compostaje, al jacinto de agua en abono orgánico [22].

De igual forma, en la investigación de Pedraza y colaboradores, la cepa fúngica *Talaromyces sayulitensis* HC1 (anteriormente *Penicillium* sp. HC1), aislada de suelos rizosféricos de cultivos de arroz en el departamento de Tolima, Colombia, ha demostrado tener la capacidad para producir enzimas celulolíticas y xilanolíticas, siendo estas capaces de degradar compuestos complejos presentes en la biomasa residual [23]. Por otro lado, las cepas del género *Bacillus* presentan actividad proteolítica y amilolítica, motivo por el cual esta bacteria es comúnmente empleada en los procesos de compostaje [24]. Asimismo, se realizó un estudio en el cual determinaron que varias cepas de *B. licheniformis*, contaron con la capacidad de utilizar varias fuentes de carbono, tales como: xilano, celobiosa, manosa y carboximetilcelulosa, de modo que, este género puede producir enzimas idóneas para degradar compuestos orgánicos complejos [25].

Es por esta razón, que se ha empleado a *Talaromyces sayulitensis* HC1 y a cepas del género *Bacillus*, como bioinoculantes capaces de degradar residuos orgánicos. Uno de estos tratamientos, se formuló como una alternativa capaz de degradar eficazmente la mortalidad porcícola, la cual es un agente contaminante cuando es dispuesta tradicionalmente (incineración, quema y entierro). Este estudio consistió, en la formulación de un bioinoculante compuesto por dos aislamientos de *Bacillus* sp. (8AP y 14AP) y un hongo del género *Talaromyces* HC1, sobre el proceso de compostaje de mortalidad porcícola, en una finca registrada ante el ICA en Antioquia. En el cual, se compararon los resultados del comportamiento de la temperatura en diferentes tratamientos, evidenciando una disminución en el tiempo de maduración de la materia orgánica [26]. De forma similar, se evaluó la coinoculación de *Bacillus* sp. (8AP1 y 14P) y *Talaromyces sayulitensis* HC1, en una granja de mortalidad porcícola ubicada en el municipio de Ebéjico, Antioquia. En el que posterior a la fase termofílica del proceso, la temperatura del tratamiento empezó a disminuir antes del control [27].

Al comparar estos estudios, se puede evidenciar que la inoculación de *Bacillus* sp. y *Talaromyces sayulitensis* HC1, tiene un efecto positivo sobre el proceso de compostaje de mortalidad porcícola. Esto como resultado de la producción de enzimas, las cuales aceleran el metabolismo microbiano, llegando a aumentar la temperatura de la materia orgánica, y por tanto, reduciendo el tiempo de maduración del compost. Pero cabe destacar, que si bien la adición del bioinoculante presentó un resultado deseado en el compostaje de mortandad de cerdos, se desconoce respecto a: ¿Cuál es el efecto de la inoculación de *Talaromyces sayulitensis* HC1 y *Bacillus* sp 8AP1 y 14P sobre residuos sólidos orgánicos recolectados en granjas agrícolas y en plazas de mercado?

3. Objetivos

3.1. Objetivo general:

Evaluar el efecto de la inoculación de *Talaromyces sayulitensis* HC1 y los aislamientos de *Bacillus* sp. 8AP1 y 14P, sobre el proceso de compostaje de residuos sólidos orgánicos.

3.2. Objetivos específicos:

- Evaluar la actividad celulolítica, amilolítica y proteolítica de cada uno de los montajes.
- Evaluar el pH, la temperatura y la producción de CO₂ durante el proceso de compostaje.
- Determinar las características fisicoquímicas y la fracción mineral del producto final.

4. Metodología

4.1. Microorganismos

Para la preparación del bioinoculante, se utilizó a *Talaromyces sayulitensis* HC1 y a los dos aislamientos bacterianos de *Bacillus* sp. (8AP1 y 14P), provenientes del banco de cepas del Laboratorio de Biotecnología Aplicada de la Pontificia Universidad Javeriana. Los cuales se encontraban conservados en glicerol al 20 % (v/v) con una temperatura de -20 °C.

4.2. Selección de la materia prima

Para el montaje de los cajones de compostaje, se recolectó como materia prima, residuos sólidos orgánicos constituidos por cascarilla de arroz, gallinaza, porquinaza y residuos de plaza, obtenidos en el municipio de Fómeque, Cundinamarca.

4.3. Producción del bioinoculante

4.3.1. Cultivo bacteriano

Preinóculo

En esta primera etapa, se reactivaron en agar almidón (fécula de maíz, Maizena® 1,2 % (p/v), cloruro de calcio 0,5 g/L, sulfato de amonio 1 g/L, extracto de levadura 2,5 g/L, triptosa 2,5 g/L, fosfato dibásico de sodio 0,5 g/L y agar 15 g/L) (Anexo 11.1) las cepas proteolíticas y amilolíticas de *Bacillus*, provenientes del cepario del Laboratorio de Biotecnología Aplicada de la Pontificia Universidad Javeriana. Pasadas las 72 horas de incubación a 55 °C, se realizó para cada cepa una suspensión en solución salina al 0,85 % (p/v), ajustando la turbidez a 10⁸ Cel/mL [28].

Cultivo

Una vez se obtuvieron las dos suspensiones bacterianas a la misma concentración celular, se adicionaron en proporciones iguales a un Erlenmeyer de 250 mL con caldo combinado (fécula de maíz, Maizena® 12 g/L, leche descremada 12 g/L, glucosa 1 g/L, sulfato de amonio 1 g/L, extracto de levadura 2 g/L, cloruro de calcio 0,5 g/L, fosfato de sodio monobásico 0,5 g/L y fosfato de sodio dibásico 0,5 g/L) (Anexo 11.1). Este se incubó durante 21 horas a 55 °C y 150 rpm. Pasado este tiempo, se tomó una muestra del bioinoculante para realizar un recuento en placa para evaluar la viabilidad de la cepa, una coloración de Gram para establecer la pureza del microorganismo, y se determinó la actividad proteolítica mediante la técnica del ácido tricloroacético (TCA) y la amilolítica con la técnica de DNS [29].

4.3.2. Producción cepa fúngica

Preinóculo

Como primera medida, se reactivó la cepa fúngica de *Talaromyces sayulitensis* HC1, por medio de la siembra en agar PDA (infusión de papa 200 g/L, glucosa 20 g/L, agar-agar 15 g/L) (Anexo 11.1), incubando a 28 °C durante 8 días. Una vez pasado este tiempo, se realizó un recuento de conidios en cámara de Neubauer, y se ajustó con solución salina con el propósito de ajustar la concentración a 10^9 conidios/mL [26].

Cultivo

Posteriormente, se recuperaron los conidios producidos por *Talaromyces sayulitensis* HC1 de las placas de agar, mediante una solución de agua y Tween 80 al 0,1 % (v/v) y con la ayuda de una pipeta estéril para desprender por remoción física los conidios. Una vez hecho esto, se transfirió la solución de conidios a un tubo falcon de 50 mL, se realizó un recuento de conidios en cámara de Neubauer, y finalmente se con solución salina se ajustó la concentración a $1,5 \times 10^7$ conidios/mL. De igual forma se estableció la pureza del cultivo con una tinción de azul de lactofenol [26].

4.4. Montaje de cajones para el compostaje

Para el proceso de compostaje de residuos orgánicos, se emplearon 6 contenedores de madera de 20 cm de largo x 20 cm de ancho x 40 cm de alto, los cuales permitieron conservar la humedad y la temperatura del proceso. Adicionalmente, los cajones contaron con perforaciones de 1cm de diámetro en la parte inferior, con el propósito de recolectar los lixiviados generados durante el proceso. De modo que, estos contenedores se ubicaron en recipientes de aluminio de 30 cm x 50 cm, que permitieron recolectar los lixiviados, y así, evitar que se contamine la pila de compostaje [30]. Adicionalmente, por cada cajón se adicionó 1 tubo de PVC perforado, esto con el fin de proveer aire al proceso (Anexo 11.2).

En los 6 contenedores, se llevaron a cabo 2 tratamientos por triplicado durante 45 días (Tabla 1), de los cuales uno correspondió al control absoluto, es decir que a este no se le agregó ningún bioinoculante. En el segundo tratamiento, se coinoculó la suspensión de conidios *Talaromyces sayulitensis* HC1 y el cultivo celular bacteriano de los aislamientos de *Bacillus* sp. (8AP1 y 14P). Este montaje se llevó a cabo durante 45 días, tiempo en el cual se reinocularon los microorganismos a los 21 días y además, se realizaron volteos a las pilas de compostaje cada 2 semanas.

Tabla 1. Tratamientos realizados en los cajones de compost

Tratamiento	Inóculo	
	<i>Talaromyces sayulitensis</i> HC1	<i>Bacillus</i> sp. (8AP1 y 14P)
1	-	-
2	+	+

A cada uno de los 6 contenedores, se agregó 8 Kg materiales orgánicos por cada cajón, los cuales contaban con residuos de plaza de mercado 68,3 % (p/p), porquinaza y gallinaza 19,5 % (p/p) y cascarilla de arroz 12,2 % (p/p). Es preciso señalar, que se adicionó agua para mantener la humedad de las pilas de compostaje, realizando la prueba del guante, verificando que no se desmorone la mezcla en el caso de estar seca, o se filtre agua al estar en exceso húmeda [31].

4.5. Inoculación

Los bioinoculantes microbianos, contaron con una concentración de $3,1 \times 10^8$ células/mL para los aislamientos de *Bacillus* sp. y de $1,07 \times 10^7$ conidios/mL para *T. sayulitensis* HC1 en el caso del segundo montaje. Estos bioinoculantes, se adicionaron a las pilas de residuos orgánicos antes de ser agregados a los cajones de madera, y se dosificaron según la fórmula: 1 L/tonelada de residuos diluido 1/5 [32].

4.6. Muestreo

Para medir de las características del compostaje, se emplearon unas pinzas metálicas mediante las cuales se tomaron 25 g correspondientes a una muestra representativa de cada cajón, es decir que, por cada pila se recolectaron muestras en 5 puntos distintos y luego se mezclaron como un único muestreo característico. Esto con el propósito de medir tanto para el control como para el tratamiento, el pH y la actividad enzimática (celulolítica, amilolítica y proteolítica) cada 7 días durante los 45 días del proceso.

4.7. Evaluación de temperatura y pH

La temperatura del compost se evaluó diariamente por los 45 días, empleando un termómetro de punzón que permitió llegar al interior de la pila de compost, midiendo este parámetro en 5 puntos distintos de cada cajón para obtener un dato representativo. En cuanto al pH, este se midió con un pH-metro, realizando una pasta a partir de la mezcla de 5 g de residuo y 10 mL de agua destilada.

4.8. Evaluación de la actividad enzimática

4.8.1. Celulasas

En primer lugar, para obtener los extractos enzimáticos de cada uno de los tratamientos, se tomaron 10 g de muestra representativa, los cuales se les agregó 20 mL de buffer fosfato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 35,61g/L y $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 31,21g/L) 0.1M a pH 7. Estas muestras posteriormente se llevaron a agitar a 5000 rpm durante 20 minutos, recuperando la solución con Buffer en otro tubo, y luego se llevó a centrifugar a 6000 rpm durante 15 minutos para obtener el sobrenadante correspondiente al extracto enzimático [23]. Esto se realizó por triplicado con cada una de las réplicas del control y el tratamiento.

Para la reacción enzimática, se mezcló 1 mL del extracto diluido, junto con 1 mL de la solución de carboximetilcelulosa (CMC) 1% (p/v) y se incubó durante 60 minutos a 55 °C en un baño termostatado. Respecto al blanco, este se preparó con 1 mL de buffer fosfato y 1 mL de CMC. Pasado el tiempo, se detuvo la reacción con hielo por 5 minutos y se centrifugó cada muestra durante 10 minutos a 6000 rpm. Al sobrenadante recuperado, se le adicionaron 0,25 mL de DNS, llevando a ebullición cada tubo por 5 minutos, y posteriormente se detuvo la reacción con hielo. Una vez hecho esto, se agregaron 2,5 mL de agua destilada y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm. Así pues, se determinaron los azúcares reductores comparando con una curva patrón de glucosa y se calcularon las unidades celulolíticas (Anexo 11.3). Una unidad celulolítica corresponde a la cantidad de enzima capaz de liberar 1 μmol de glucosa por minuto por litro bajo las condiciones de reacción [33].

4.8.2. Amilasas

Los extractos enzimáticos para amilasas, se obtuvieron a partir del mismo procedimiento anteriormente mencionado de celulasas.

Para la reacción enzimática, se mezcló 1 mL del extracto diluido, junto con 1 mL de la solución de almidón al 1 % (p/v) y se incubó durante 60 minutos a 55 °C en un baño termostatado. Respecto al blanco, este se preparó con 1 mL de buffer fosfato y 1 mL de sustrato (almidón). Pasado este tiempo, se detuvo la reacción con hielo por 5 minutos y se centrifugó cada muestra durante 10 minutos a 6000 rpm para separar el almidón no hidrolizado. Este sobrenadante, se transfirió a 0,25 mL de DNS, y se llevó a ebullición cada uno de los tubos de reacción por 5 minutos, y posteriormente se detuvo la reacción por inmersión en hielo. Una vez hecho esto, se adicionaron 2,5 mL de agua destilada y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm. De este modo, se determinaron los azúcares reductores comparando con una curva patrón de glucosa y se calcularon las unidades amilolíticas (Anexo 11.3). Una unidad

amilolítica corresponde a la cantidad de enzima capaz de liberar 1 μ mol de azúcares reductores (glucosa) por minuto por litro bajo las condiciones de reacción [33].

4.8.3. Proteasas

Para la obtención del extracto crudo, por cada tratamiento se tomaron 10 g de una muestra compuesta y se suspendieron en 20 mL de buffer Tris-HCl 50 mM pH8. Esta solución se llevó a agitar a 5000 rpm durante 20 minutos, recuperando el sobrenadante el cual se centrifugó a 6000 rpm por 15 minutos [23]. Esto se realizó por triplicado con cada una de las réplicas del control y el tratamiento.

La evaluación de la actividad proteolítica, se realizó mediante la mezcla de 50 μ L de extracto crudo con 80 μ L de azocaseína, la cual se incubó 45 °C durante 60 minutos. Respecto al blanco, este se preparó con 1 mL de buffer Tris-HCl y 1 mL de sustrato (azocaseína). Para detener la reacción, se sumergieron los tubos en hielo durante 10 minutos y se agregó 400 μ L de ácido tricloroacético 15% (p/v). Una vez hecho esto, se centrifugaron las muestras por 15 minutos a 10000 rpm, para luego adicionar 600 μ L de NaOH (1 N) para estabilizar la reacción y finalmente, se evaluó la absorbancia de las muestras a 440 nm [34]. Una unidad proteolítica, es la cantidad de enzima necesaria para producir un aumento en absorbancia de 0,01 por minuto bajos condiciones normales de ensayo [35].

4.9. Evaluación de la producción de CO₂

Empleando la técnica de respirometría, se ubicaron cada 4 a 7 días 3 frascos de vidrio en la parte superior de cada cajón, con 20 mL de hidróxido de sodio 0,3 N, los cuales se taparon con un frasco de mayor tamaño, funcionando así como una trampa de CO₂. Pasado el tiempo establecido, se tituló el NaOH con ácido clorhídrico 0.3 N, 0.1 mL de fenolftaleína y 1 mL de cloruro de bario 1 M [36]. De modo que, los gramos de CO₂ producidos en cada tratamiento, se determinaron a partir de la cantidad de NaOH que no reaccionaron con el ácido, es decir, que reaccionaron con el CO₂, siguiendo entonces la Ecuación 1:

$$\text{mg CO}_2 = (\text{g NaOH}_{\text{Iniciales}} - \text{g NaOH}_{\text{Reacción}}) \times \frac{\text{PM CO}_2}{\text{PM NaOH} \times 2} \times 1000 \quad (1)$$

Donde:

- g NaOH_{Iniciales} : Gramos de NaOH que se obtuvieron de la concentración inicial del hidróxido de sodio en las trampas.
- g NaOH_{Reacción} : Gramos de NaOH que se obtuvieron de la relación entre las moles del ácido clorhídrico que se empleó en la titulación y las moles de NaOH que reaccionaron.
- PM CO₂ : Peso molecular del dióxido de carbono

- PM NaOH: Peso molecular del hidróxido de sodio

4.10. Análisis de características fisicoquímicas

Para evaluar las características fisicoquímicas y la composición de la fracción mineral del producto obtenido al final del proceso, se mezclaron las 3 réplicas del control y se recolectó en total 500 g para obtener una muestra representativa, realizando este mismo procedimiento con las réplicas del tratamiento. Estas muestras, se llevaron al laboratorio especializado en el análisis de productos del sector agrícola AGRILAB, para evaluar las propiedades fisicoquímicas tales como: Humedad, pH, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico, densidad, cenizas, relación C/N, carbono orgánico total, nitrógeno orgánico, y la presencia de elementos como el fósforo, magnesio, potasio, calcio, azufre, hierro, manganeso, cobre, zinc, boro, sodio y silicio [29].

5. Análisis estadístico

Para determinar si existen o no diferencias estadísticas entre el control y el tratamiento a través del tiempo, se realizó una prueba no pareada t de Student con un nivel de significancia del 0,05 siempre y cuando se cumplieren los supuestos de normalidad y de varianzas iguales. Para esto, se empleó el programa estadístico GraphPad Prism Versión 9.2.0.

6. Resultados

6.1. Evaluación de la efectividad del bioinoculante

6.1.1. Temperatura

A lo largo del proceso de compostaje de los residuos sólidos orgánicos, se presentó un comportamiento semejante entre la temperatura del tratamiento y del control (Figura 1). En primer lugar, se evidencia en la Figura 1A que ambos montajes iniciaron con una temperatura de $45 \pm 0,1$ °C, la cual fue disminuyendo hasta los 22 °C a los 6 días del montaje, manteniéndose entre el rango de 23 °C y 27 °C hasta el día 12. Momento en el cual, se realizó el primer volteo a cada una de las pilas de compost, observando un aumento de la temperatura que para el caso del tratamiento fue de 32,7 °C y para el control de 30,1 °C, presentando así, diferencia significativa ($P=0,003$) en este punto del tratamiento. Pasado este tiempo, nuevamente disminuyó la temperatura hasta los 22 °C para los dos procesos, pero a los 21 días esta incrementó a 27 °C, en el momento en el que se realizó la reinoculación en las pilas correspondientes al tratamiento.

A partir de este punto, tanto para el tratamiento como para el control, se evidenció el mismo comportamiento de la temperatura, variando entre los 15 °C y los 25 °C hasta la finalización del proceso, esto a pesar de haberse realizado otro volteo a los 34 días. Por otro lado, al comparar el área bajo la curva del tratamiento y del control (Figura 1B), se presenta un valor que es significativamente mayor ($P=0,0483$) para el montaje con el bioinoculante, que si bien es pequeña la diferencia, el comportamiento de la temperatura no fue semejante para los dos procesos.

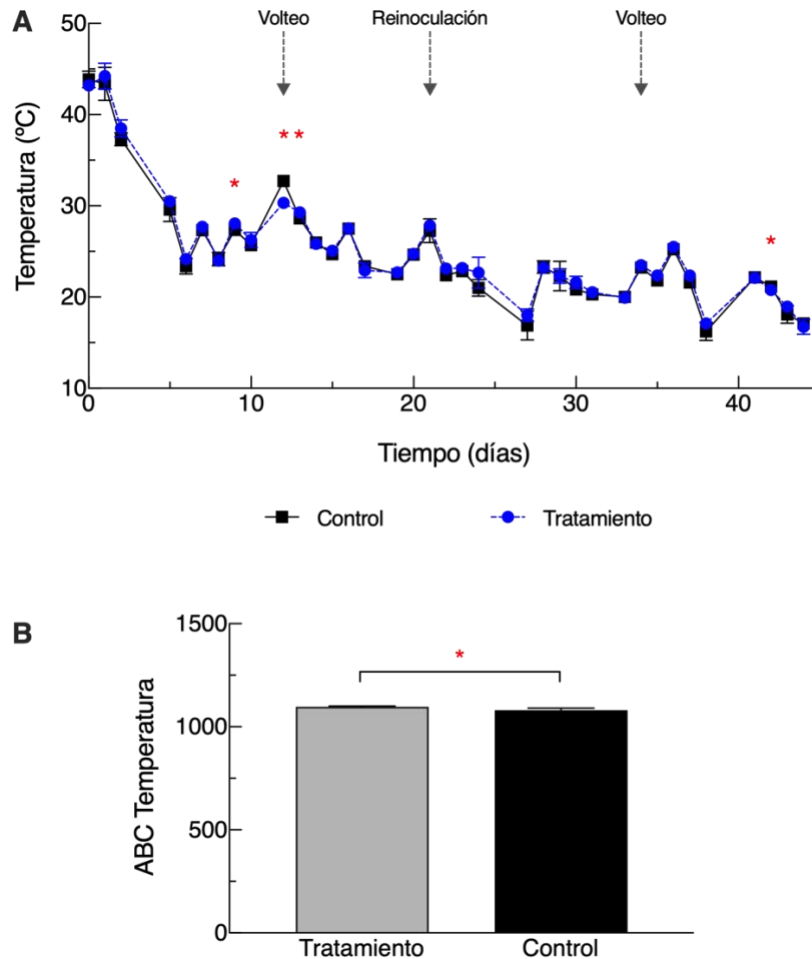


Figura 1. Medición de la temperatura de los microcosmos. (A) Temperatura del control y el tratamiento en función del tiempo de montaje del compost. (B) Comparación del área bajo la curva de los tratamientos.

6.1.2. pH

El pH evaluado durante los 45 días (Figura 2), evidenció un pH cercano a 7 al inicio del proceso, tanto para el control como el tratamiento, llegando a acidificarse ligeramente el proceso hasta 6,7 en el día 12.

A partir de esta fecha, se realizó el volteo de las pilas, evidenciando un pH de 9 a los 22 días del proceso, junto con la reinoculación de los microorganismos en ese momento tratamiento. Para finalmente, observar desde el día 22 hasta el 45 una ligera disminución de este parámetro fisicoquímico, obteniendo como dato final 8,5. Cabe destacar que, no se presentaron diferencias significativas entre los datos del tratamiento y del control en ninguno de los tiempos de muestreo, por lo cual, el comportamiento del pH es el mismo para los dos montajes.

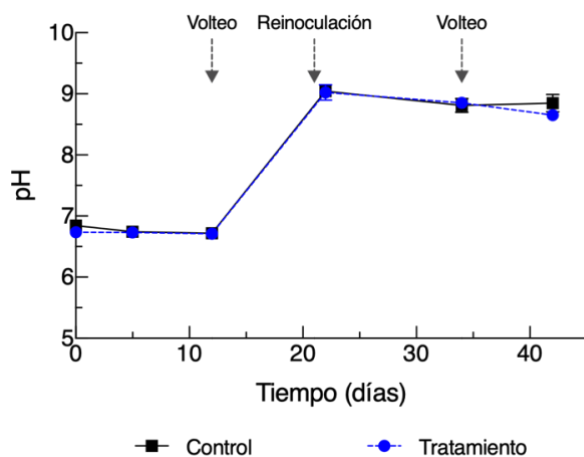


Figura 2. Medición del pH en función del tiempo para el control y el tratamiento

6.1.3. Respirometría

La producción de CO₂ evaluada mediante la prueba de respirometría, permitió evidenciar el comportamiento de la tasa de respiración microbiana, con el propósito de determinar el consumo de la materia orgánica fácilmente degradable. Por lo cual, en el presente estudio se observó que tanto para el control como para el tratamiento, la cantidad de mg de CO₂/g acumulado fue la misma durante los 45 días de compostaje, ya que no se evidenciaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en ninguno de los tiempos evaluados (Figura 3A). En lo que corresponde a la cinética de CO₂, esta inicia con 0,05 mg de CO₂/g a los 5 días del proceso, posteriormente a partir del primer volteo en el día 12, aumenta la tendencia de acumulación del gas hasta obtener en el día 22 0,21 mg CO₂/g. A partir de este punto, se presentó una disminución en la producción de CO₂, porque en los 23 días restantes se acumuló 0,15 mg, siendo esta una menor cantidad en comparación con lo evidenciado al inicio del proceso (0,21 mg). Cabe mencionar que, esta reducción en la producción del gas se presentó durante los procesos de reinoculación y volteo.

Por otro lado, se comparó el área bajo la curva del tratamiento y el control en función de los mg de CO₂/g/día (Figura 3B), es decir, que se comparó entre los dos montajes la producción total de CO₂. Para

lo cual se obtuvo el mismo valor, ya que no se evidenciaron diferencias significativas ($P=0,1161$) cuando se realizó la prueba estadística.

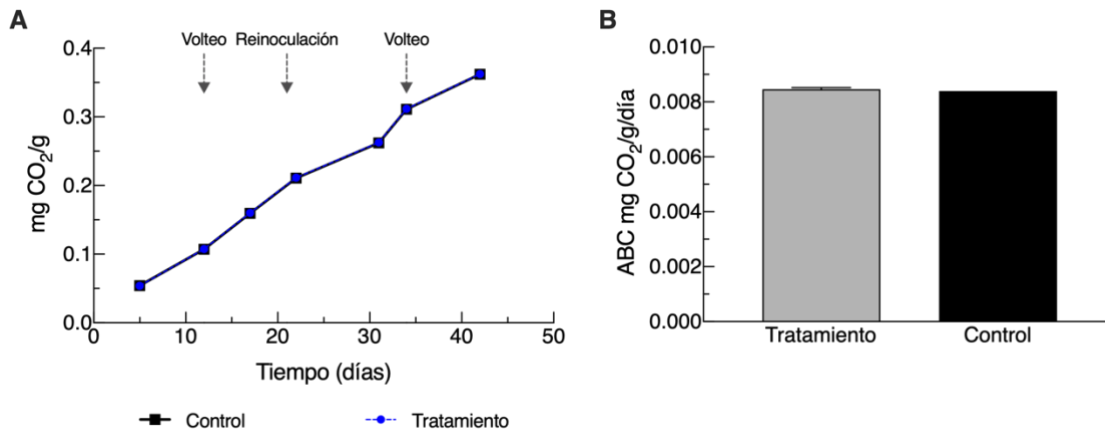


Figura 3. Evaluación de la producción de CO₂ en los microcosmos. (A) Producción de mg de CO₂/g del control y el tratamiento durante el tiempo de montaje del compost. (B) Comparación del área bajo la curva para los tratamientos.

6.1.4. Aspecto del producto final

Al terminar el proceso de compostaje, se mezclaron las réplicas de cada uno de los procesos evaluados, con el propósito de comparar el aspecto del producto final. Obteniendo tanto para el control como para el tratamiento una apariencia semejante (Figura 4), en la que se evidenció el mismo sólido de color marrón claro, una textura compacta y rígida con fragmentos de cáscaras de fruta y huevo, y además se observó una predominancia en la cantidad de cascarilla en relación a los demás residuos.

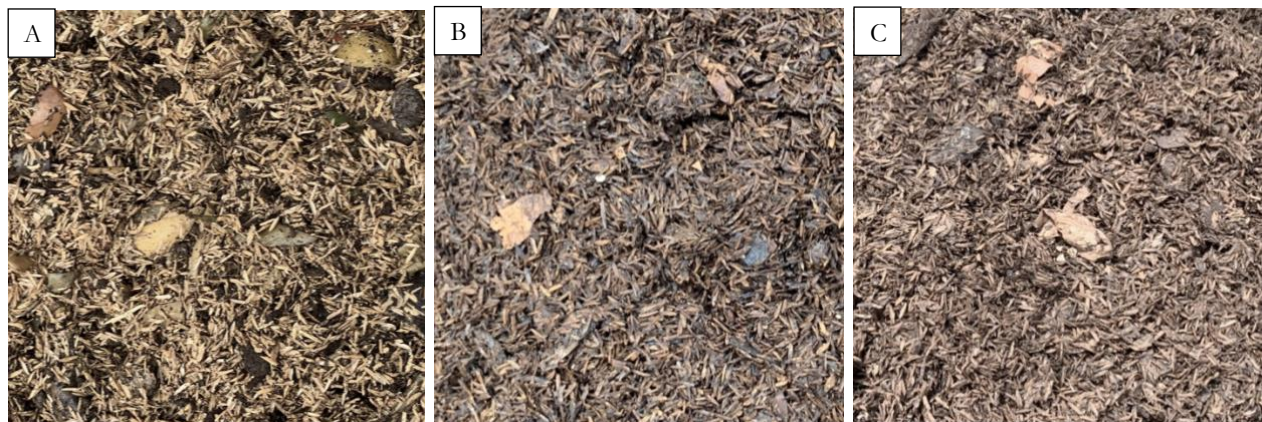


Figura 4. Apariencia del compost. (A) Mezcla inicial. (B) Control y (C) Tratamiento a los 45 días.

6.1.5. Caracterización fisicoquímica y composición mineral del producto final

El análisis realizado a partir de las muestras finales del control y el tratamiento, evidenció diferencias (Tabla 2) tanto en las características fisicoquímicas, así como también en la composición de la fracción mineral. En primer lugar, se presentó una humedad entre el 50 y 55 % para el control y el tratamiento, respectivamente, siendo estos valores superiores a los recomendados por la Norma Técnica Colombiana 5167. Con relación al pH, para los dos procesos se encontraba alrededor de 8,3, es decir que era ligeramente básico. Otros parámetros fisicoquímicos, como las cenizas, la conductividad eléctrica, las pérdidas por volatilización, la densidad real y el carbono orgánico oxidable, presentaron diferencias no mayores al 5 % entre los montajes evaluados. Es preciso señalar, que para estos dos procesos la retención de humedad sobrepasó el porcentaje que indica la norma, y además, la conductividad eléctrica para el tratamiento no alcanzó el mínimo requerido de 30 meq/100 g.

Por otro lado, en cuanto a la composición de la fracción mineral, se evidenciaron valores semejantes entre el control y el tratamiento respecto a la relación C/N, al nitrógeno total, nitrógeno orgánico, fósforo, potasio, azufre, cobre y sodio. Mientras que se presentaron diferencias superiores a 0,1 % para el magnesio y el hierro, y a 0,5 % con relación al silicio y el residuo insoluble en ácido. De igual forma, para el manganeso, zinc y boro, la divergencia de los datos para los dos montajes fue alrededor de los 8 mg/Kg.

Tabla 2. Caracterización fisicoquímica y composición de la fracción mineral del producto obtenido en los cajones de compostaje del control y el tratamiento.

Variable	Unidad	Control	Tratamiento	NTC 5167
Humedad	%	50,6	54,5	< 35 *
pH	Unidades pH	8,28	8,34	4 - 9
Conductividad eléctrica	dS/m	13,1	15,9	Reportar
Retención de humedad	%	71,0	65,9	35 - 45
Cenizas	%	17,1	15,6	< 60 *
Pérdidas por Volatilización	%	32,3	29,9	- *
Capacidad de Intercambio Catiónico	meq/100g	32,0	27,5	> 30
Densidad real (Base seca)	g/cm ³	0,581	0,572	< 0,6
Carbono Orgánico Oxidable Total	%	11,2	10,2	< 15
C/N	Adimensional	12	11	< 25
Nitrógeno total	%	0,939	0,937	> 1 **
Nitrógeno orgánico	%	0,939	0,937	> 1 **
Fósforo total	%	1,46	1,33	> 1 **
Potasio total	%	1,47	1,46	> 1 **
Calcio total	%	5,52	4,98	-

Magnesio total	%	0,868	0,686	-
Azufre total	%	0,295	0,287	-
Hierro total	%	0,124	0,042	-
Manganeso total	mg/Kg	252	143	-
Cobre total	mg/Kg	87,8	88,1	-
Zinc total	mg/Kg	242	259	-
Boro total	mg/Kg	18,8	11,1	-
Sodio total	%	0,197	0,199	-
Silicio (Soluble en HF)	%	7,21	6,50	-
Residuo Insoluble en Ácido	%	7,25	6,65	< 50

Nota: NTC: Norma Técnica Colombiana, * La suma de estos parámetros debe ser 100, ** Reportar si la riqueza total de cada uno es mayor a 1 %.

6.2. Evaluación de la actividad enzimática

6.2.1. Actividad celulolítica

La determinación cuantitativa de la actividad enzimática, se evaluó mediante la comparación de las unidades enzimáticas (celulolítica, amilolítica y proteolítica) a través del tiempo de tratamiento de los residuos sólidos orgánicos. En primer lugar, la actividad celulolítica de los dos montajes evidenció un aumento a partir del día 5, alcanzando una actividad de 17 UC para el tratamiento y 13,6 UC para el control a los 21 días (Figura 5A). En ese momento del proceso, se realizó el primer volteo y se observó una disminución de la actividad celulolítica tanto para el tratamiento como para el control. Esta tendencia se mantuvo únicamente en el compost con el bioinoculante, evidenciando una ausencia de la actividad enzimática a los 34 días, mientras que el control incrementó a 11 UC. Presentando así, diferencias significativas ($P=0,0280$ y $P=0,0467$) entre el tratamiento y el control en esos dos tiempos del proceso. De igual forma, se evidencia que a partir del día 34, momento en el cual se realizó otro volteo, la actividad enzimática de los dos montajes incrementa, obteniendo al final del proceso 16 UC para el control y 7,9 UC en el tratamiento. Pero cabe mencionar que, si bien se observan diferencias en el primer montaje respecto a la actividad celulolítica evaluada en 45 días, al determinar el área bajo la curva entre el tratamiento y el control, no se presentaron diferencias significativas entre estos dos (Figura 5B).

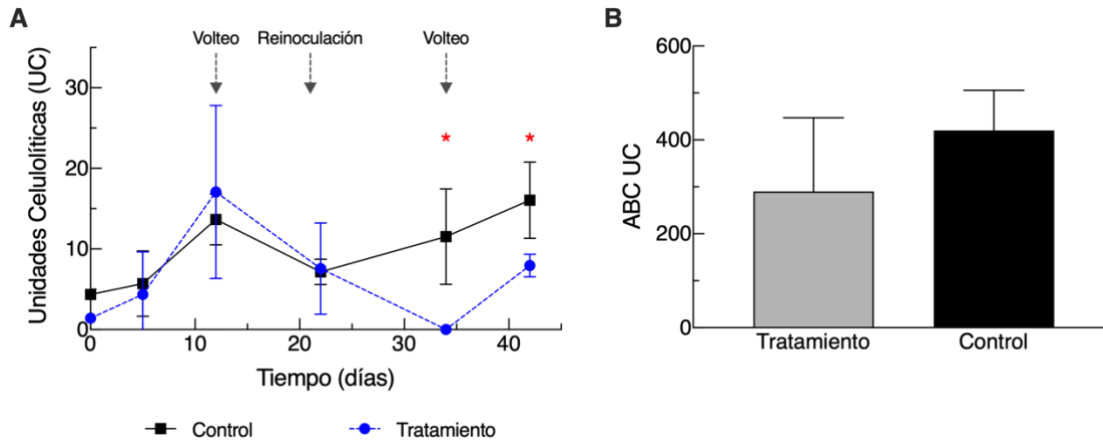


Figura 5. Evaluación de la actividad celulolítica. (A) Actividad celulolítica del control y el tratamiento en función del tiempo. (B) Comparación del área bajo la curva de los tratamientos.

6.2.2. Actividad amilolítica

Por otro lado, los resultados obtenidos a partir de la cuantificación de amilasas, permitieron evidenciar un comienzo de la actividad enzimática diferente entre el tratamiento y el control, con 257 UA y 144 UA respectivamente (Figura 6A). A partir de este punto, la producción de amilasas fue disminuyendo para los dos montajes conforme fue pasando el tiempo de compostaje, siendo significativamente menor ($P=0,0180$) la actividad amilolítica del tratamiento al día 34 con 11,3 UA, en comparación con las 41,7 UA del control. Es preciso mencionar que, al comparar el área bajo la curva respecto a la cuantificación de amilasas (Figura 6B), no se observaron diferencias significativas ($P=0,2274$) entre el tratamiento y el control.

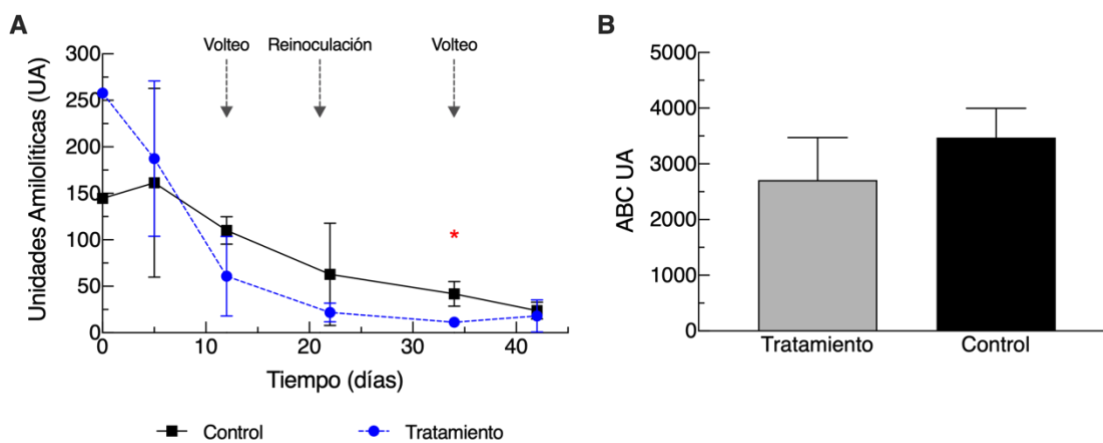


Figura 6. Evaluación de la actividad amilolítica. (A) Actividad amilolítica del control y el tratamiento en función del tiempo. (B) Comparación del área bajo la curva de los tratamientos.

6.2.3. Actividad proteolítica

En relación con la actividad proteolítica del proceso de compostaje, se evidenció el mismo comportamiento para el tratamiento y para el control (Figura 7A), puesto que en ninguno de los muestreos realizados, se obtuvieron diferencias significativas ($P=0,1975$) entre los dos procesos. En cuanto a la cuantificación de proteasas durante los 45 días de tratamiento, se presentó una actividad al inicio del montaje con 244 UP, manteniéndose posteriormente en un rango de 400 UP hasta el momento que se realiza el primer volteo. En este instante, la producción de enzimas comenzó a aumentar, obteniendo un máximo de actividad a los 22 días con 1425 UP, y luego se observó una disminución hasta el punto de no presentar actividad alguna al finalizar el proceso. Así pues, al comparar el área bajo la curva entre tratamiento y del control (Figura 7B), no se presentó ninguna diferencia significativa ($P=0,1975$).

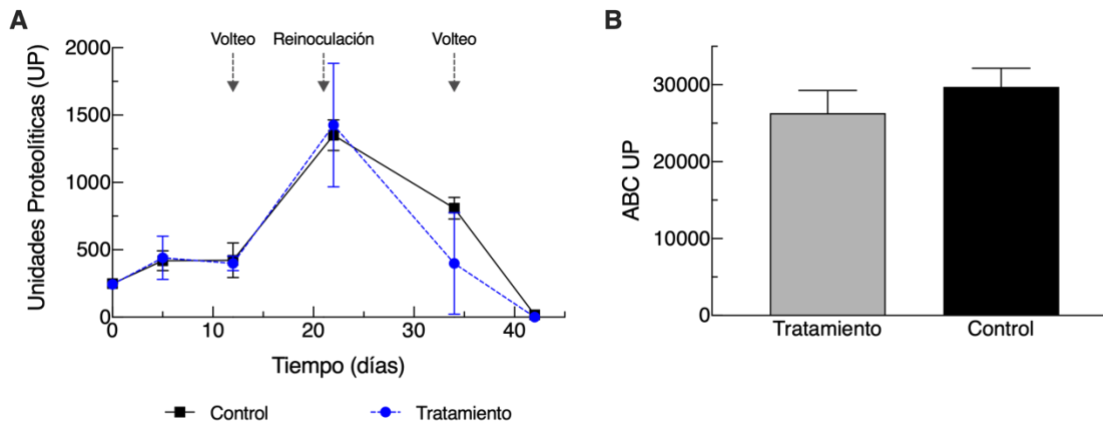


Figura 7. Evaluación de la actividad proteolítica. (A) Actividad proteolítica del control y el tratamiento en función del tiempo. (B) Comparación del área bajo la curva de los tratamientos.

7. Discusión

Con el propósito de comprobar la efectividad la coinoculación de *Talaromyces sayulitensis* HC1 y los aislamientos de *Bacillus* sp. 8AP1 y 14P, sobre los residuos sólidos orgánicos adicionados a un sistema de microcosmos, se evaluaron parámetros fisicoquímicos asociados a la degradación de la materia orgánica y además, la actividad enzimática del bioinoculante adicionado al sistema de compostaje.

Uno de los principales parámetros que se evaluó, para poder determinar la efectividad en la transformación de los residuos orgánicos, en relación con las diferentes etapas del proceso, fue la temperatura [37]. Dado que, esta variable fisicoquímica se encuentra asociada a la actividad metabólica de los microorganismos, en función de la variación de nutrientes agregados al sistema de compostaje [38].

Así pues, la temperatura evaluada en los cajones de compostaje evidenció un arranque de 45 °C (Figura 1A), siendo este el punto que delimita la fase mesofílica de la termofílica [39]. Este comienzo del proceso, fue causado por la gallinaza y la porquinaza que se adicionaron al inicio del tratamiento, debido a que estos materiales se recolectaron en el momento en el que se estaban estabilizando, es decir que contaban con una temperatura entre 45 °C y 60 °C [40,41]. Por lo tanto, la condición térmica que se presentó al inicio del montaje no estuvo relacionada con la actividad biológica del inóculo, puesto que el aumento de la temperatura en procesos de compostaje se tiende a presentar entre los 2 y los 7 días [15,42]. Así como se evidenció, en el estudio realizado por Jia y colaboradores (2021), en cual emplearon un inóculo constituido por 7 cepas de hongos y 15 de bacterias para degradar materiales lignocelulósicos, el momento en el que evidenciaron a partir del día 3 un cambio de la fase mesofílica a la termofílica [43]. De igual forma, en otra investigación en la que se compostó bagazo de maguey con *Aspergillus* sp. y *Trichoderma harzianum*, se presentó un aumento significativo de la temperatura en comparación con la del ambiente, a partir del día 7 de tratamiento [44].

La temperatura evaluada durante un proceso de compostaje, ha demostrado ser uno de los parámetros fisicoquímicos que se encuentra directamente relacionado con la actividad enzimática de los microorganismos [44]. Por tal motivo, las pilas de compostaje al haber empezado con 45 °C, siendo esta una temperatura ideal en el proceso, permitió que la actividad amilolítica presentara su máximo valor (Figura 6A). Dado que, se ha demostrado que las α -amilasas producidas por el género *Bacillus* sp., presentan una gran estabilidad en función de un amplio rango de temperatura (30 a 70 °C), y por tanto una actividad favorable para hidrolizar el almidón. Concretamente, en un estudio purificaron y evaluaron la actividad enzimática de una α -amilasa generada a partir de *Bacillus* sp. BBM1, obteniendo una actividad superior al 70 % entre los 30 y 60 °C [45]. De igual forma, en otra investigación que buscaba producir dicha enzima con *B. cereus* y *B. licheniformis* en fermentación sólida, se evidenció un mayor rendimiento en el día 5 cuando se cultivaron a 45 °C [46]. De modo que, la cuantificación de amilasas del tratamiento en comparación con el control al inicio del montaje, no pudo deberse a la actividad metabólica del bioinoculante, ya que los cajones de compostaje alcanzaron una temperatura de 45 °C tan solo al primer día, tiempo que no es suficiente para producir este tipo de enzimas [46].

Con relación a la cuantificación de celulasas y proteasas al inicio del montaje, estas recién estaban empezando a ser producidas, ya que casi no se presentó actividad de estas dos enzimas en ese momento del proceso. En primer lugar, con relación a la actividad celulolítica (Figura 5A), esta obtuvo tanto para el control como el tratamiento valores inferiores a 5 UC, siendo estos muy cercanos a la ausencia de la enzima. Esto pudo deberse, a la temperatura de 45 °C y el pH de 7 en el que se encontraban los cajones de compostaje en el instante en el que fueron montados. Puesto que, en otros estudios se ha evidenciado

que el mayor rendimiento que se obtuvo en la producción de celulasas a partir de hongos, fue a 37 °C con un pH ácido [47]. Así mismo, se ha reportado un máximo de actividad celulolítica cuando se realizó el cultivo de diferentes hongos como *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp. y *Rhizopus* sp. a 28 °C con un pH óptimo para la producción de enzimas de 6 [48]. Es decir, que al inicio del montaje no se presentaron las condiciones óptimas de temperatura y pH para la producción de celulasas.

Por otro lado, en cuanto a la evaluación de proteasas en los primeros 5 días, se obtuvo la menor producción de esta enzima con relación a los demás días de tratamiento (Figura 7A), lo cual pudo deberse al igual que las celulasas, a las condiciones (temperatura y pH) en las que se encontraban los cajones en ese instante del montaje. Puesto que se ha reportado que para los microorganismos capaces de degradar proteínas, se requieren de temperaturas superiores a 45 °C con pH alcalinos, como bien se evidenció en un estudio realizado por Suleiman y colaboradores (2020), en el que evaluaron el efecto de las condiciones de cultivo de *Geobacillus thermoglucosidasius* para la producción de proteasas, obtuvieron que las condiciones óptimas de temperatura eran entre 60 y 65 °C, y entre 7 a 8 de pH [49]. De igual forma, en otra investigación resumieron los parámetros para la óptima producción de proteasas alcalinas en diferentes microorganismos, evidenciando que varias especies de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp., llegan a producir proteasas cuando se cultivan entre 37 y 60 °C con un pH alrededor de 9 [50]. De acuerdo con los razonamientos que se han venido realizando, la producción de proteasas en los dos procesos fue baja al inicio del proceso, ya que no se presentaron las condiciones adecuadas para su síntesis. Además, se ha reportado que diferentes especies de *Bacillus* sp., producen este tipo de enzimas al finalizar la fase exponencial del cultivo [51]. Momento en el cual no se encontraba el proceso, ya que recién se habían montado las pilas de compostaje, por lo cual requerían de más tiempo para alcanzar esa fase de crecimiento.

Una vez se transcurrieron 5 días desde que se adicionó el bioinoculante (*Talaromyces sayulitensis* HC1 y *Bacillus* sp. 8AP1 y 14P), la temperatura disminuyó hasta alcanzar valores semejantes al ambiente (Figura 1A), lo cual quiere decir, que se disminuyó la actividad metabólica de los microorganismos en el sistema [44]. Esto pudo deberse a diferentes factores, uno de estos es el tamaño de la partícula, ya que se recomienda fragmentar los residuos a compostar para que sea mayor el área de superficie, y por tanto la degradación de estos materiales por medio de los microorganismos sea más rápida y eficiente [52]. Proceso que no se realizó en el presente estudio, debido a que no se contó con un sistema para moler los residuos, en comparación con los sistemas agroindustriales que si realizan esta actividad previa y que han reportado una mayor velocidad en la degradación de los residuos sólidos [52]. Cabe mencionar, que no se puede adicionar a un sistema de compostaje partículas finas, puesto que puede llegar a compactar la pila y por tanto restringiría el intercambio de gases, generando un proceso anaerobio [53].

Otro de los factores, que probablemente influyó en la disminución de la temperatura de las pilas del control y el tratamiento, pudo ser la humedad. Puesto que, este parámetro fisicoquímico está directamente relacionado con la actividad metabólica de los microorganismos, los cuales requieren de un contenido de humedad adecuado para poder degradar los residuos orgánicos, lo que involucra reacciones exotérmicas que llegan a aumentar la temperatura en la superficie de los materiales [54,55]. De este modo, las zonas de alta temperatura se presentan más cerca de la superficie, en comparación cuando el contenido de humedad es bajo. Es por esto que, la temperatura, humedad, y el tamaño de partícula, son factores importantes que permiten la difusión de oxígeno y la retención de humedad en un nivel adecuado para promover la actividad metabólica de los microorganismos.

Sin embargo, como no se lograron mantener estos parámetros, la temperatura de dos montajes disminuyó alrededor de los $22 \pm 0,1$ °C entre el día 6 y 10, y por tanto, se presentó una disminución en la actividad enzimática, concretamente en la actividad amilolítica y proteolítica. Por lo que, como bien se mencionó anteriormente, los microorganismos requieren de una temperatura superior a 30 °C para producir ese tipo de enzimas. Exceptuando a las celulasas, las cuales siguieron aumentando entre ese intervalo de tiempo, debido que la temperatura era inferior a 39 °C, condición de cultivo que favorece la actividad celulolítica [56,57]. Pero, como esta actividad fue la misma para el control y el tratamiento, se infiere que el bioinoculante no fue el responsable en producir este tipo de enzimas. Puesto que, en otro estudio relacionado en el cual se empleó a *Talaromyces sayulitensis* HC1 y dos aislamientos de *Bacillus* sp., la cuantificación de celulasas fue mayor en comparación con el control [28]. Lo que quiere decir, que la actividad celulolítica que se presentó en los cajones, estuvo relacionada con los microorganismos provenientes de los residuos orgánicos y no con el bioinoculante.

Esto mismo se presentó con la cuantificación de amilasas y proteasas, ya que al comparar el área bajo la curva entre el control y el tratamiento, no se evidenciaron diferencias significativas ($P > 0,05$). De modo que, los aislamientos de *Bacillus* sp. 8AP1 y 14P, que han demostrado tener la capacidad para producir amilasas y proteasas respectivamente [27], no fueron los responsables de la actividad enzimática evaluada en los montajes. Este comportamiento pudo deberse a factores limitantes en la actividad metabólica de los microorganismos, como lo son la aireación y la temperatura. Por un lado, se ha demostrado que los niveles bajos de aireación, reducen la utilización de sustratos y la formación de biomasa, lo que involucra una disminución de la actividad enzimática [58]. Concretamente, en una investigación en la que se evaluó la producción simultánea de α -amilasas y proteasas a partir de *Bacillus subtilis*, se determinó que el nivel óptimo en el que se obtenían estas dos enzimas era de 0,6 L/L/min, y que a medida que se reducía la aireación al biorreactor, también lo hacían las Unidades Amilolíticas (UA) y Proteolíticas (UP) [59]. Lo

que quiere decir, que posiblemente el sistema de cajones empleado en el presente estudio, no permitió que ingresara una aireación adecuada, y por tanto, no se pudo alcanzar la demanda de oxígeno requerido por los microorganismos para la transformación de los residuos [60].

Así mismo, el hecho de que no se evidenciara una mayor actividad celulolítica, amilolítica y proteolítica del tratamiento con relación al control, pudo deberse a la temperatura externa del invernadero en donde se encontraban los cajones de compostaje. Dado que, se ha evaluado el efecto de la temperatura ambiente sobre las pilas de compostaje, determinando que existe una relación directamente proporcional entre estos dos, es decir, que al disminuir la temperatura ambiente, también se reduce este parámetro al interior de las pilas [61]. Esto sucede, debido a que el metabolismo microbiano se ralentiza cuando la temperatura se encuentra alrededor de los 10 °C, lo que conduce a una baja producción de energía térmica y por tanto, una mayor dificultad en la transformación de residuos [62]. En tal sentido, es probable que el bioinoculante agregado al sistema, se viera afectado por la temperatura ambiente de Bogotá en la época en la que se realizó el montaje (14 °C con una mínima de 8 °C) [63], y por tanto, no llegase a producir el efecto deseado sobre los residuos. Resultado que no solo se evidenció con la actividad enzimática, sino también con el pH y la producción de CO₂, al presentar los mismos valores entre el control y el tratamiento.

De igual forma, la ausencia de actividad del bioinoculante sobre los residuos orgánicos, pudo estar relacionada con el inóculo. Dado que, a pesar de que se mantuvo la misma proporción con relación a la dosificación, la cual se ha empleado en otros procesos de compostaje con los mismos microorganismos [28,29,58], posiblemente esta puede llegar a no ser la adecuada para el sistema de cajones planteado, ya que este diseño es a escala laboratorio y no se ha evaluado en otros estudios. Cabe mencionar, que la concentración del inóculo es otro factor a tener en cuenta, porque este puede llegar a no tener efecto sobre los residuos, presentando el mismo comportamiento que el control cuando la concentración es inferior a 10⁶ UFC/g [64]. Valor que también es el mínimo requerido por la Norma Técnica Colombiana (NTC) 5842, para la producción de inoculantes biológicos [65]. De modo que, es probable que no existiese la concentración suficiente de microorganismos viables y eficientes, que permitieran colonizar rápidamente el sustrato para su posterior hidrólisis.

Con relación a la caracterización fisicoquímica y la composición de la fracción mineral del producto final (Tabla 2), tanto del tratamiento como del control, se comparó con la NTC 5167 la cual establece los lineamientos para los productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes [66]. Evidenciando que, parámetros como el % de humedad, superó el máximo permitido por la mayor a la norma para los dos montajes evaluados. Una posible razón, se relaciona con la temperatura del sistema, porque al no

aumentar a más de 45 °C, no es posible evaporar el agua presente en los cajones y por tanto, el % de humedad se mantendrá alto (> 35 %) [67]. Por otro lado, el pH aproximado de 8,3 que se presentó en control y el tratamiento si cumplió con el rango establecido en la norma, presentándose este valor ligeramente básico por la producción de amonio, al descomponerse la biomasa lignocelulósica (lignina, celulosa y hemicelulosa) [68]. En cuanto a la relación C/N, conductividad eléctrica, densidad real, cenizas, pérdidas por volatización, carbono orgánico oxidable, y la mayoría de los microelementos, cumplieron con los máximos y mínimos permitidos por la norma, presentando diferencias no mayores al 5 % entre los montajes evaluados. Confirmando de esta forma, que los cambios en los parámetros evaluados del tratamiento fueron producto de la actividad metabólica de los microorganismos propios de los residuos. Cabe señalar, que no se pudo determinar el proceso transformación de los residuos, ya que no se realizó la caracterización inicial de la mezcla de los materiales recolectados.

8. Conclusiones

La inoculación de *Talaromyces sayulitensis* HC1 y los aislamientos de *Bacillus* sp. 8AP1 y 14P, sobre el proceso de compostaje de residuos de plaza de mercado, cascarilla de arroz, gallinaza y porquinaza, evidenció un comportamiento similar, entre el control y el tratamiento para los parámetros fisicoquímicos (Temperatura, pH y producción de CO₂) y biológicos (Actividad celulolítica, amilolítica y proteolítica) evaluados.

Con relación a la temperatura, pH y producción de CO₂, al no presentar diferencias en los datos obtenidos durante los 45 días en el control y el tratamiento, se valida que los cambios de estos parámetros fisicoquímicos, correspondieron a la actividad metabólica de los microorganismos propios de los residuos orgánicos antes de ser inoculados. Este mismo comportamiento, se evidenció con la actividad enzimática, ya que al cuantificar la producción de enzimas (celulasas, amilasas y proteasas), se obtuvieron los mismos resultados entre el control y el tratamiento. Así mismo, la caracterización fisicoquímica y la composición de la fracción mineral del producto obtenido al finalizar el proceso, permitió evidenciar el mismo comportamiento entre los dos procesos para cada uno de los parámetros evaluados.

Por las consideraciones anteriormente mencionadas, se puede concluir que la inoculación de *Talaromyces sayulitensis* HC1 y los dos aislamientos de *Bacillus* sp. 8AP1 y 14P, no generó un efecto sobre la degradación de residuos sólidos orgánicos de granjas agrícolas y plazas de mercado, en el sistema de cajones evaluado. Debido a que el comportamiento fue el mismo con relación al control, en cada uno de los parámetros fisicoquímicos y biológicos evaluados.

9. Recomendaciones

Una vez analizados los resultados obtenidos, se recomienda para futuras investigaciones, estandarizar una dosificación del bioinoculante (*Talaromyces sayulitensis* HC1 y *Bacillus* sp. 8AP1 y 14P) para las diferentes escalas, porque si bien se mantuvo la misma proporción a la empleada a nivel industrial, esta puede llegar a ser diferente en una escala de laboratorio.

Así mismo, se sugiere realizar el proceso de compostaje durante más tiempo, con el propósito de evidenciar el comportamiento completo de las características fisicoquímicas y biológicas, desde la fase mesofílica, hasta la maduración de los residuos.

También, es recomendable moler los residuos orgánicos empleados en el sistema, de modo que se obtenga un tamaño de partícula adecuado, permitiendo así, una mayor mejor difusión de oxígeno en los cajones, un nivel de retención de humedad adecuado, y una mayor área de contacto al material, para que los microorganismos inoculados tengan una mayor actividad metabólica en comparación con el control.

Además, es importante determinar las características fisicoquímicas y la composición de la fracción mineral al inicio del proceso, con la finalidad de poder observar el comportamiento de estos parámetros con relación al producto final para cada uno de los montajes evaluados.

10. Bibliografía

- [1] Kaza S, Yao L, Bhada P, Van W. What a waste 2.0 : A global snapshot of solid waste management to 2050. *World bank: Urban development*, 1-295, 2018.
- [2] DNP. Informe de disposición final de residuos sólidos – 2018, Superintendencia de Servicios públicos domiciliarios, 2019.
- [3] Secretaría distrital de hábitat. Guía para el aprovechamiento de residuos orgánicos a través de metodologías de compostaje y lombricultura, Unidad Administrativa Especial de Servicios Públicos, 2018.
- [4] Alcaldía Municipal de Villa Leyva. Plan de gestión integral municipio de Villa De Leyva, 2015.
- [5] Jaramillo G, Zapata L. Aprovechamiento de los residuos sólidos orgánicos en Colombia. Universidad de Antioquia, 2008.
- [6] Kiss G, Aguilar G. Los productos y los impactos de la descomposición de residuos sólidos urbanos en los sitios de disposición final. *Gac Ecológica*, 79: 39-51, 2006.
- [7] Misra R, Roy R, Hiraoka H. On-farm composting methods, *Land and water discussion paper*, 2: 1-35,

2003.

[8] Medina M, Quintero R, Espinosa D, Alarcón A, Etchevers J, Trinidad A, et al. Production of a compost accelerator inoculant, *Rev Argent Microbiol*, 50(2): 206-210, 2018.

[9] CCA. Caracterización y gestión de los residuos orgánicos en América del Norte. Comisión para la Cooperación Ambiental Montreal, 1-52, 2017.

[10] Action P, Centre TS. Recycling of organic waste. *Pract Action*, 1-44, 2012.

[11] Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. Estrategia nacional de economía circular. Gobierno de Colombia, 1-86, 2019.

[12] Departamento Nacional de Planeación. Documento CONPES 3874, política nacional para la gestión integral de residuos solidos. 1-73, 2016.

[13] Polprasert C. Organic waste recycling, *Water Intelligence*, 3(6): 516, 2015.

[14] Stentiford E, Bertoldi M. Composting: Process, *Solid Waste Technol Manag*, 2: 513-532, 2010.

[15] Trautmann N, Krasny M. Composting in the classroom: Scientific inquiry for high school students. *Cornell Department of Natural Resources*, 1-118, 2014.

[16] Kalil S. Seguimiento del proceso de humificación en compost inoculado, Pontificia Universidad Javeriana, 2007.

[17] Vargas M, García M, Francisca S, Estrella F, López J, Moreno J. Influence of microbial inoculation and co-composting material on the evolution of humic-like substances during composting of horticultural wastes, *Process Biochem*, 41(6): 1438-1443, 2006.

[18] Escobar N, Mora J, Romero N. Identificación de poblaciones microbianas en compost de residuos orgánicos de fincas cafeteras de cundinamarca, *Boletín Científico*, 16(1): 75-88, 2012.

[19] Méndez A, Robles C, Ruiz J, Castañeda E. Compostaje de residuos agroindustriales inoculados con hongos lignocelulósicos y modificación de la relación C/N, *Rev Mex Ciencias Agrícolas*, 9(2): 271-280, 2018.

[20] Tortarolo M, Pereda M, Palma M, Arrigo N. Influencia de la inoculación de microorganismos sobre la temperatura en el proceso de compostaje, *Cienc del Suelo*, 26(1): 41-50, 2008.

[21] Bekele A, Abena T, Habteyohannes A, Nugissie A, Gudeta F, Getie T, Kelel M, Berhanu A. Isolation and characterization of efficient cellulolytic fungi from degraded wood and industrial samples, *African Journal of Biotechnology*, 14(48): 3228-3234, 2015.

[22] Nhan T, Anh L, Tri M. Isolation of cellulolytic fungi and their application for production of organic fertilizer from water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Biotech Studies*, 30(1): 16-21, 2021.

[23] Pedraza D, Sánchez A, Quevedo B, Moreno N, Gutiérrez I. Promising cellulolytic fungi isolates for

rice straw degradation, *J Microbiol*, 55(9): 711, 2017.

[24] De La Mora A, Covarrubias F, González J. Sucesión bacteriana del género *Bacillus* en el proceso de compostaje y lombricompostaje con diferentes fuentes de estiércol, *Medio Ambient y Desarro Sustentable*, 10(1): 23-31, 2016.

[25] Nallusamy S, Amira AZ, Saif A, Abdulkhadir E, Elsadig A. Isolation and characterization of cellulolytic *Bacillus licheniformis* from compost, *African Journal Biotechnology*, 15(43): 2434-2446, 2016.

[26] Matiz A, Chamorro I, Sáenz A, Pulido A, Carrascal A, Gutiérrez I, Sánchez A, Barrientos I, Zambrano D, Poutou R. Management of swine mortalities through the use of a mixed composting-accelerating bio-inoculant, *Heliyon*, 7(1), 2021.

[27] Becerra L, Sorzano G. Diseño de un medio de cultivo para la formación de esporas de *Bacillus* sp., Pontificia Universidad Javeriana, 2021.

[28] Ahumada M, Arango G. Evaluación del efecto de un bio-inoculante sobre la degradación de mortalidad en una granja porcícola, Pontificia Universidad Javeriana, 2018.

[29] Díaz L. Evaluación del efecto de la adición de un bioinoculante durante el proceso de compostaje de mortalidad de granja porcícola de Lerida, Tolima, Pontificia Universidad Javeriana, 2019.

[20] Zahrim A, Leong P, Ayisah S, Janaun J, Chong K, Cooke F, Haywood S. Composting paper and grass clippings with anaerobically treated palm oil mill effluent, *Int J Recycl Org Waste Agricult*, 2016.

[31] ICA. Cartilla práctica para la elaboración de abono orgánico, Ministerio de agricultura, 2015.

[32] Matiz L, Ramírez S. Evaluación del efecto de un bio-inoculante termofílico con adición de tween 80 al 0.15% en la degradación de residuos orgánicos, Pontificia Universidad Javeriana, 2015.

[33] Pedroza A, Quevedo B, Matiz A. Manual de laboratorio de procesos biotecnológicos. Pontificia Universidad Javeriana, 21:91, 2007.

[34] Megazyme. Assay of endo-protease using azocasein, 2020.

[35] Gautam S., Bundela P., Pandey A., Awasthi M., Sarsaiya S., Board P., et al. Microbial consortium for effective composting of municipal solid waste by enzymatic activities, 5(3): 301-308, 2010.

[36] Pedraza D. Evaluación de la actividad enzimática de aislamientos microbianos celolíticos y lignolíticos, y su aplicación en la degradación de tamo de arroz (*Oryza sativa*), Pontificia Universidad Javeriana, 2014.

[37] Lau A, Lo K, Liao P, Yu J. Aeration experiments for swine waste composting, *Bioresource Technology*, 41(2): 145-152, 1992.

[38] Meléndez G, Soto G. Taller de abonos orgánicos, *Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad*

de Costa Rica y la Cámara de Insumos Agropecuarios No Sintéticos, 1-25, 2003.

[39] Pedraza S, Hernández L. Disminución del tiempo de obtención de abono orgánico mediante vermicompostaje como método de estabilización de un residuo en proceso de compostaje, *Investigación en Ingeniería*, 16(1): 52-63, 2019.

[40] Leveau R. Caracterización química y microbiológica de abonos orgánicos a partir de gallinaza y rastrojos de cosecha para la producción agrícola, *Universidad Nacional de San Martín*, 1-101, 2009.

[41] Nieto J. Estabilizador del suelo a partir de gallinaza/pollinaza, *Fondo Nacional de Avicultores de Colombia*, 1-24, 2018.

[42] Departamento de Agricultura de Estados Unidos. Composting, *Environmental Engineering National Engineering Handbook*, 210(367): 2-67, 2000.

[43] Xiaojun J, Xiaomeng Q, Xueping T, Yuan, Tao Y, Jun. Inoculating with the microbial agents to start up the aerobic composting of mushroom residue and wood chips at low temperature, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4): 1-10, 202.

[44] Méndez A, Robles C, Ruiz J, Castañeda E. Compostaje de residuos agroindustriales inoculados con hongos lignocelulósicos y modificación de la relación C/N, *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(2): 271-280, 2018.

[45] Quintero M, Montoya O, Gutiérrez P. Purificación y caracterización de una α -amilasa producida por la cepa nativa *Bacillus* sp. BBM1, *Biotechnología Microbiana*, 77(162): 31-38, 2010.

[46] Issac R, Prince R. Production of alpha-amylase by solid state fermentation using *Bacillus cereus* MTCC 7524 and *Bacillus licheniformis* MTCC 7445 from dairy sludge - A comparative study, *International Journal of PharmTech Research*, 8(9): 111-117, 2015.

[47] Jahangeer S, Khan N, Jahangeer S, Sohail M, Shahzad S, Khan S. Screening and characterization of fungal cellulases isolated from the native environmental source, *Pakistan Journal of Botany*, 37(3): 739-748, 2005.

[48] Chandel K, Jandaik S, Kumar D, Kumari D, Sarswati S. Screening of cellulolytic fungi from production of enzyme (cellulase), *International Journal of Current Research*, 2018.

[49] Suleiman A, Abdul N, Mohd H, Mohd F, Adeela N. Effect of cultural conditions on protease production by a thermophilic *Geobacillus thermoglucosidasius* SKF4 isolated from Sungai Klah hot spring park, Malaysia, *Molecules*, 25(2609): 1-14, 2020.

[50] Sharma K, Kumar R, Panwar S, Kumar A. Microbial alkaline proteases: Optimization of production parameters and their properties, *J Genet Eng Biotechnol*, 15(1): 115-126, 2017.

- [51] Mukhtar H, Haq IU. Concomitant production of two proteases and alpha-amylase by a novel strain of *Bacillus subtilis* in a microprocessor controlled bioreactor, *Brazil Journal of Microbiology*, 43: 1072–1079, 2012.
- [52] Bueno P, Díaz M, Cabrera F. Factores que afectan al proceso de Compostaje, *Departamento de Ingeniería Química*, 4: 1-10, 2005.
- [53] Haug R. The practical handbook of compost engineering, *Lewis Publishers*, 1993.
- [54] Zein A, Seif H, Gooda E. Moisture content and thermal balance during composting of fish, banana mulch & municipal solid wastes, *European Scientific Journal*, 11(5): 169-187, 2015.
- [55] Nelson M, Marchant T, Wake G, Balakrishnan E, Chen X. Self-heating in compost piles due to biological effects, *Chemical Engineering Science*, 4612-4619, 2007.
- [56] Mahmoud M, Zayat S, Sayed M. Cellulolytic activity of cellulose-decomposing fungi isolated from Aswan hot desert soil, Egypt, *Journal of Biological Studies*, 1(2): 35-48, 2018.
- [57] Islam M, Kumar P, Mohiuddin A, Suzauddula M. Optimization of fermentation condition for cellulase enzyme production from *Bacillus* sp., *Malaysian Journal of Halal Research Journal*, 2(2): 19-24, 2019.
- [58] Serrano A, Torres A. Evaluación del efecto de un bioinoculante, en el proceso de compostaje de mortalidades porcícolas, Pontificia Universidad Javeriana, 2017.
- [59] Mukhtar H, Haq I. Concomitant production of two proteases and alpha-amylase by a novel strain of *Bacillus subtilis* in a microprocessor controlled bioreactor, *Brazilian journal of microbiology*, 43: 1072-1079, 2012.
- [60] Vengadaramana A, Balakumar S, Arasaratnam V. Production and optimization of α -amylase by *Bacillus licheniformis* ATCC 6346 in lab bench-scale fermenter, *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 2(1): 190-211, 2017.
- [61] Khater E. Effect of ambient temperature and air flow rate on the temperature inside the compost pile, *Biological Engineering*, 33(3): 1017-1032, 2016.
- [62] Xin X, Yue Z, Qing S, Xue W, Hong C, Xu Z, Yan L, Zi W. A novel method for contributing to composting start-up at low temperature by inoculating cold-adapted microbial consortium, *Bioresour Technol*, 238: 39-47, 2017.
- [63] IDEAM. Características climatológicas de ciudades principales y municipios turísticos, Ministerio de Ambiente, 1-48, 2021.
- [64] Barrera R, Pagans E, Faltys G, Sánchez A. Effect of inoculum dosing on the composting of source-selected organic fraction of municipal solid wastes, *Journal of chemical technology and biotechnology*, 4(3): 420-

425, 2006.

[65] ICONTEC. Norma Técnica Colombiana 5842, Bioinsumos para uso agrícola e Inoculantes biológicos, 2011.

[66] ICONTEC. Norma Técnica Colombiana 5167, Productos para la industria agrícola, 2004.

[67] FAO. On-farm composting methods, 1980.

[68] Arkus A , Syed O, Shamsuddin J, Fauziah C. Changes in properties of composting rice husk and their effects on soil and cocoa growth, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 39: 2221-2249, 2008.

11. Anexos

11.1. Composición de medios de cultivo

Agar almidón

- Maicena 1,2 % (p/v)
- Cloruro de calcio 0,5 g/L
- Sulfato de amonio 1 g/L
- Extracto de levadura 2,5 g/L
- Triptosa 2,5 g/L
- Fosfato dibásico de sodio 0,5 g/L
- Agar 15 g/L

Agar PDA

- Infusión de papa 200 g/L
- Glucosa 20 g/L
- Agar-Agar 15 g/L

Caldo combinado

- Maicena 12 g/L
- Leche 12 g/L
- Glucosa 1 g/L
- Sulfato de amonio 1 g/L
- Extracto de levadura 2 g/L
- Cloruro de calcio 0,5 g/L
- Fosfato de sodio monobásico 0,5 g/L
- Fosfato de sodio dibásico 0,5 g/L

Caldo almidón

- Maicena 1,2 % (p/v)
- Cloruro de calcio 0,5 g/L
- Sulfato de amonio 1 g/L
- Extracto de levadura 2,5 g/L
- Triptosa 2,5 g/L
- Fosfato dibásico de sodio 0,5 g/L

11.2. Diseño y montaje de los cajones

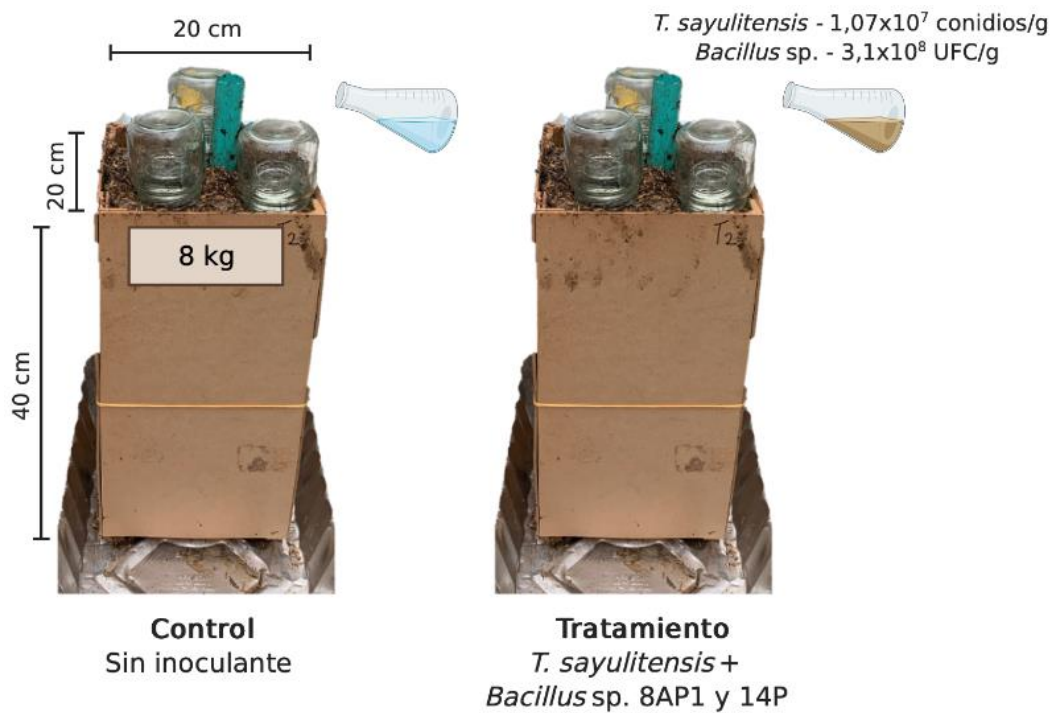


Figura 8. Cajones de madera para el proceso de compostaje

11.3. Curva patrón de glucosa

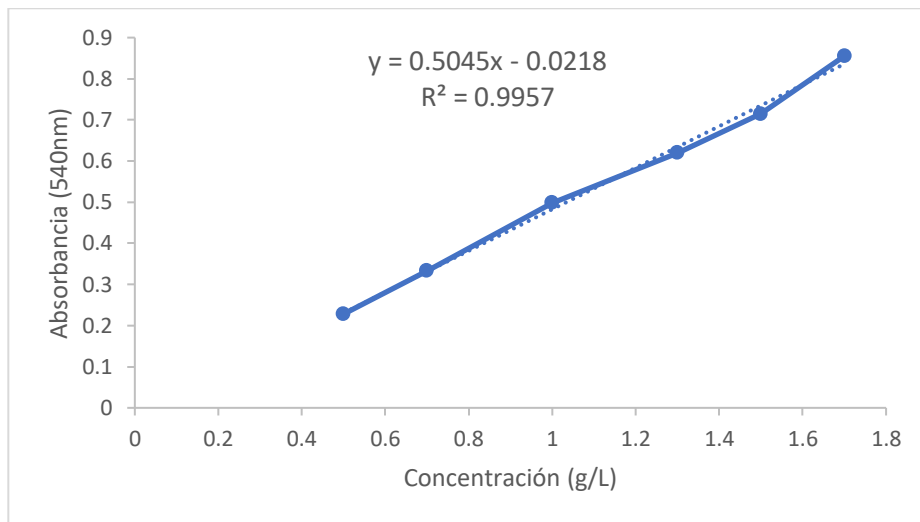


Figura 9. Curva patrón de glucosa (g/L) para la determinación de la actividad celulolítica y amilolítica, mediante la técnica de DNS.