

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UN BIO-INOCULANTE SOBRE LA DEGRADACIÓN DE
MORTALIDAD EN UNA GRANJA PORCÍCOLA



Realizado por:

María Alejandra Ahumada Forero, Gloria Milena Arango Gonzalez

Directora:

Adriana Matiz Villamil M.Sc

Co-directora:

Ivonne Gutiérrez Rojas M.Sc., Ph.D

Laboratorio de Biotecnología Aplicada

Carrera de Microbiología Industrial

Facultad de Ciencias

Pontificia Universidad Javeriana

Bogotá D.C.

2018

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UN BIO-INOCULANTE, SOBRE LA DEGRADACIÓN DE
MORTALIDAD EN UNA GRANJA PORCÍCOLA

Aprobado

María Alejandra Ahumada Forero, Gloria Milena Arango Gonzalez

Concepción Judith Puerta Bula Ph.D

Decana Facultad de ciencias

Marcela Franco Correa Ph,D.

Directora de Carrera Microbiología Industrial

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UN BIO-INOCULANTE, SOBRE LA DEGRADACIÓN DE
MORTALIDAD EN UNA GRANJA PORCÍCOLA

Trabajo de grado para optar por el título de Microbiólogo Industrial

Aprobado

María Alejandra Ahumada Forero, Gloria Milena Arango Gonzalez

Adriana Matiz Villamil M.Sc.

Directora

Ivonne Gutiérrez Rojas M.Sc, .Ph.D

Co Directora

Luis David Gómez Méndez M.Sc.,Ph.D.

Jurado

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución Número 13 de Julio de 1946 “La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Sólo velará porque 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”

Agradecimientos

A Dios quien ha iluminado nuestras vidas con sabiduría y paciencia para culminar esta etapa.

A nuestros padres y familiares por su apoyo, dedicación y amor incondicional, por ser nuestros guías para el desarrollo de nuestra vida personal y profesional.

A nuestra directora Adriana Matiz y co-directora Ivonne Gutiérrez por ser nuestras guías en la culminación de este trabajo, por su entrega y compromiso en cada momento.

A Leidy Ardila por apoyarnos y acompañarnos en el monitoreo y montaje del biorreactor, por ser guía en este proceso, que fue parte fundamental en el desarrollo del trabajo.

A la profesora Adriana Pulido por su aporte en conocimiento y cumplimiento, para culminar parte del trabajo.

A todas aquellas personas (compañeros) que hacen parte del laboratorio de biotecnología aplicada, por esos momentos de dispersión.

Tabla de contenido

RESUMEN

	Pàg
1. INTRODUCCIÓN	11
2. MARCO TEÓRICO	14
2.1 Compostaje	14
2.1.1 Procesos de compostaje.....	14
2.1.2 Propiedades físico - químicas del compostaje	15
2.2 Inoculantes biológicos	16
2.2.1 Acelerantes del compostaje	16
2.3 Antecedentes.....	17
3. OBJETIVO	18
3.1 Objetivo general	18
4. METODOLOGÍA	19
4.1 Ubicación.....	19
4.2 Producción del bioinoculante	19
4.2.1 consorcio bacteriano.....	19
4.2.2 Cepa fúngica.....	20
4.3 Montajes de los cajones de compostaje.....	20
4.3.1 Inoculación.....	21
4.4 Manejo y evaluación del proceso de compostaje.....	21
4.4.1 Análisis de las características microbiológicas.....	21
4.4.2 Análisis de las características físico - químicas.....	23
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	23
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
6.1 Evaluación de las actividad biológica del Bio-inoculante	24

6.2 Evaluación de la efectividad del bioinoculante en el proceso de compostaje.....	26
6.2.1. Evaluación de parámetros físico-químicos.....	26
6.2.1.2 Comportamiento del pH.....	26
6.2.1.3 Comportamiento de la temperatura.....	28
6.2.1.4 Características cualitativas del tratamiento y el control.....	31
6.2.2 Evaluación de parámetros microbiológico.....	32
6.2.2.1 <i>Salmonella</i> spp.....	32
6.2.2.2 Coliformes totales.....	34
6.2.2.3 <i>Clostridium</i> sp.....	34
6.2.2.4 Protozoos y helmintos.....	35
7. CONCLUSIONES.....	39
8. RECOMENDACIONES.....	39
9. BIBLIOGRAFÍA.....	40
10. ANEXOS.....	46

Lista de figuras	Pág
Figura 1. Actividad amilolítica y proteolítica de los dos lotes del consorcio bacteriano del bioinoculante.	24
Figura 2. Actividad celulolítica de los dos lotes de la cepa fúngica (<i>Talaromyces sayulitenses</i> HC1).	26
Figura 3. Comportamiento del pH en función del tiempo, para el control y tratamiento.	27
Figura 4. Comportamiento de la temperatura en función del tiempo, para el control y tratamiento.	28
Figura 5. Evaluación de <i>Salmonella</i> spp. NMP/4g de materias primas. A) día 0 B) día 30 C) día 45	33
Figura 6. Recuento coliformes totales durante el proceso. A) día 0 B) día 30 C) día 45	34
Figura 7. Recuento de <i>Clostridium</i> durante el proceso. A) día 0 B) día 30 C) día 45	35
Figura 8. Presencia de quistes compatibles con <i>B. coli</i> (A) y huevos compatibles con <i>A. suum</i> (B) y <i>Strongylus</i> sp.(C) en el proceso de compostaje.	36
Figura 9. Presencia de ooquistes compatibles con el proceso de compostaje a lo largo del proceso. A) día 0. B) día 30. C) día 45.	38

Lista de tablas

pág

Tabla 1. Disposición de los residuos orgánicos en los tratamientos experimentales. **20**

Tabla 2. Características fisicoquímicas y micronutrientes evaluados en el tiempo de compostaje (0, 30 y 45 días). **29**

RESUMEN

En la industria porcícola se realizan monitoreos en las unidades de producción, con el fin de garantizar la salud, crecimiento y calidad de los cerdos. Aún así, se genera muerte de los porcinos. Tradicionalmente, la disposición de estos residuos denominados mortalidad animal (cadáveres, restos de necropsias y placentas porcícolas) se hace mediante procesos de incineración, quema y entierro que afectan la salud de los seres humanos y generan daños irreparables en el medio ambiente. Una alternativa sostenible y segura para el aprovechamiento de la mortalidad porcícola es el compostaje, este proceso puede prolongarse por largos periodos por la complejidad de los sustratos y falta de enzimas microbianas necesarias para degradarlos. Para reducir el tiempo del proceso, se adicionan bioinoculantes capaces de producir gran variedad de enzimas, mejorando la degradación de los sustratos.

En el presente estudio, se evaluó la actividad biológica de un consorcio bacteriano 8AP y 12 AP y una cepa fúngica *Talaromyces sayulitensis* HC1, estas fueron incluidas a un bioinoculante compuesto, se aplicó en cajones de compostaje, que presentaban diferentes proporciones de viruta, porcínaza y mortalidad animal; se evaluaron parámetros fisicoquímicos y microbiológicos al inicio y durante el proceso. Finalmente, la adición del bioinoculante no generó un efectos sobre dichos parámetros; sólo en alguno de ellos como lo fue temperatura y pH, los cuales presentaron diferencias significativas.

1. INTRODUCCIÓN

Según la FAO, la producción de carne de cerdo en todo el mundo en el año 2015, fue de 110,2 millones de toneladas y se espera que para el año 2030 se produzcan 124,5 millones de toneladas (Bruinsma 2015). En Colombia la porcicultura ha evidenciado un proceso de expansión dentro de la economía nacional con señales de dinamismo, reflejadas en el aumento sostenido del sacrificio este pasó de sacrificar en 71 municipios del país 1´198.224 cabezas de porcinos en el 2004, a 1´752.255 en el 2009 (de enero a noviembre de 2009), lo cual se reflejó en un incremento del 65.7% en el número de kilos producidos, llevando la eficiencia productiva de 86.9 a 98.4 kg por animal al sacrificio (Díaz et al; 2011) en el 2013 la producción de carne de cerdo fue de 254 toneladas (Asociación Colombiana de Asoporicultores-PORKCOLOMBIA, 2013).

En la producción industrial porcícola por lo general se poseen granjas de cría e instalaciones de procesamiento, donde el destete de lechones se realiza aproximadamente a los 21-24 días de edad en las unidades de parto de los cuales se realizan lotes semanalmente, estos lotes de destete son enviados a granjas integradas de engorde los cuales permanecen en esta hasta que alcancen los pesos estipulados en el mercado, después son transportados a plantas de sacrificio para luego ser comercializados (Piewthongngam et al. 2012).

Durante ésta cadena de producción, prevalece una problemática y es la tasa de mortalidad de lechones lactantes las cuales varían entre el 4,7% al 12%. La mortalidad neonatal es una causa importante de pérdidas previas al destete y las primeras 24 h después del nacimiento es el período más crítico, cuando se produce el 28% de la mortalidad previa al destete. Bajo peso al nacer (14%), inanición (7%), aplastamiento por la cerda, de lechones enfermos (5%) y diarrea (4%), se encuentran entre las causas más frecuentes de muerte en la maternidad. Los lechones que no ingieren calostro o consumen una cantidad insuficiente de calostro están sujetos a la inanición y por lo tanto, están predispuestos a aplastamiento y diarrea, lo que aumenta las pérdidas en el sistema productivo (Ferrari *et al*; 2014). Según un estudio realizado por la Asociación Colombiana de Asoporicultores (PORKCOLOMBIA, 2013), en el año 2016, en 39 granjas porcícolas se obtuvo que el número de cerdos nacidos muertos correspondió al 4,98%, los momificados (escaso tamaño y peso y alto grado de deshidratación) al 4,16% y la mortalidad pre-destete correspondió al 6,92%.

Otra causa de mortalidad porcícola es la relacionada con el transporte de los animales, ya que algunos factores como el confinamiento con una gran cantidad de población, condiciones climáticas como la temperatura y humedad, al igual que el tiempo prolongado de transporte, pueden ocasionar la muerte de los lechones (Knaue et al; 2013). Así mismo, durante la cadena de producción de los cerdos, estos pueden morir por microorganismos patógenos, virus, donde cada uno de ellos son causantes de enfermedades respiratorias y gastrointestinales (Sanchez, 2017).

Es de considerar que la mortalidad en las granjas porcícolas (cerdos muertos, fetos, placentas, etc.), conforman la mayor parte del volumen de residuos sólidos de manejo especial; el inadecuado manejo y disposición de este tipo de residuos sólidos, es fuente de proliferación de ambientes nocivos, la cual puede transmitir enfermedades infecciosas y representar un riesgo de bioseguridad en las operaciones. Los residuos sólidos dispuestos inadecuadamente, también pueden generar gases, suspensión de partículas y polvos que contribuyen a la contaminación atmosférica. Además pueden llegar a originar problemas de contaminación de los mantos acuíferos, por la percolación de sus lixiviados en el subsuelo (Bonhotal *et al*; 2014).

Los métodos principalmente utilizados para la eliminación de la mortalidad son el entierro, incineración o quema (Bonhotal *et al*; 2014). Sin embargo, la implementación del reglamento de subproductos animales de la Unión Europea (UE), prohíbe estas prácticas dentro de Europa. La prohibición de estos métodos se basó principalmente en el riesgo percibido por la presencia de microorganismos patógenos como *E.coli* O157, *Cryptosporidium* sp, *Salmonella* sp, coliformes fecales y otros agentes infecciosos debido a su destrucción incompleta durante el entierro y la quema de las mortalidades porcinas. Esto se evidencia por el aumento en las concentraciones de nitrógeno soluble en el suelo debido al entierro. La incineración, genera problemas de olor en el momento que se liberan dioxinas y furanos en el aire como resultado de la combustión incompleta de este tipo de materia orgánica (Gwyther *et al*; 2011).

Por lo anterior, la mortalidad es un residuo que debe ser manejado con precaución, por ende, se debe cumplir adecuadamente con su manejo y disposición final. Existe alternativas sostenibles para el aprovechamiento de estos residuos como es el compostaje que es un proceso biológico aeróbico, mediante el cual los microorganismos actúan sobre la materia orgánica (InfoAgro, 2005). Es un método efectivo de eliminación de porcinos muertos ya que permite la supresión de materiales de difícil degradación como lo son sustancias proteicas entre ellas queratina, colágeno y elastina presentes en el pelo, piel, ligamentos y huesos (Price *et al*; 1982).

Al compostar la mortalidad porcina, los animales muertos que son ricos en nitrógeno, se les adiciona como fuente de carbono materiales como aserrín, tallos de maíz picados u otro material similar, para promover la actividad metabólica por parte de los microorganismos presentes en esta materia orgánica, y así permitir la degradación de la misma. Las bacterias y hongos que se encuentran naturalmente en la mezcla causan la conversión de estos componentes en ácidos húmicos, biomasa bacteriana, fúngica, presentes en el compost obtenido. Durante este proceso, el dióxido de carbono, el vapor de agua y el calor entre otros, se generan como subproductos. En el compostaje de mortalidad, es esencial que cada canal, grande o pequeña, esté completamente cubierta y rodeada con el agente de carga para permitir la interacción completa de los materiales ricos en carbono y nitrógeno y absorber la humedad y los olores liberados por la mortalidad. Durante el proceso de compostaje, debe ser utilizado un material considerado como "llenante", que sirve como un aislante para retener el calor y los lixiviados que se generan durante la degradación de la materia orgánica. Estos residuos son generalmente, vegetales no maderables como viruta, hojarasca, poda, entre otros (Compost, 2011).

Los microorganismos mesófilos y termófilos funcionan mejor entre gamas de temperaturas específicas, los mesófilos frecuentemente son los que generan calor suficiente para crear condiciones óptimas para el grupo de termófilos entre este se encuentran bacterias del género *Pseudomonas* sp y *Bacillus* sp y hongos del género *Aspergillus* sp, *Trichoderma*, *Pleurotus* y *Geotrichum* (Berge *et al*; 2009), luego de estos se da el paso a los termófilos, los cuales se evidencian en un aumento en la temperatura que puede alcanzar hasta 70°C, especialmente actinomicetos (*Streptomyces*). Estos microorganismos son nativos de los residuos a compostar y se encuentran involucrados de manera directa, ya que, son los principales actores de la biotransformación de sustratos orgánicos (Berge *et al*; 2009).

Trabajos realizados en el laboratorio de Biotecnología Aplicada de la Pontificia Universidad Javeriana, han mostrado que *Talaromyces sayulitensis* HC1, tiene la capacidad de colonizar sustratos y desintegrarlos mediante la producción de enzimas celulolíticas, estas han sido empleadas en la degradación de residuos agrícolas (principalmente en tamo de arroz), compuestos principalmente por celulosa o hemicelulosa (Gutiérrez *et al*; 2015). Por otro lado, Galindo y Londoño (Galindo *et al*; 2005), aislaron 13 cepas del género *Bacillus* sp, que poseen la capacidad metabólica para degradar materia orgánica, mediante la producción de enzimas amilolíticas y proteolíticas, las cuales han sido usadas en el compostaje de residuos sólidos orgánicos. Teniendo en cuenta lo anterior, la adición de este hongo y algunas de estas cepas bacterianas al proceso de compostaje de mortalidades, permitirá la degradación de compuestos como residuos vegetales y materia orgánica presente. Por lo tanto, el

objetivo de este trabajo es evaluar los efectos de un inoculante compuesto por *Talaromyces sayulitensis*. HC1 y un consorcio bacteriano, en el proceso de compostaje de mortalidades porcícolas (Chowdhury *et al*; 2013)

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Compostaje

El compostaje es un proceso en el cual la materia orgánica urbana y agrícola es transformada mediante un proceso de degradación en condiciones aerobias, controlando la humedad, temperatura y pH, para obtener compost o abono orgánico, el cual se puede utilizar como fertilizante natural en suelo y de esta manera aumentar la productividad del mismo (Meléndez y Soto, 2013). De igual forma, el compostaje es una fuente de microorganismos responsables de la asimilación de nutrientes que son absorbidos por las plantas. Los diferentes tipos de microorganismos presentes en el proceso de degradación son de gran importancia debido a su metabolismo, ya que las enzimas viabilizan la degradación de los polímeros que constituyen los nutrientes (Rudnik, 2010).

2.1.1 Proceso del compostaje

El proceso de compostaje consta de 3 fases consecutivas:

La primera es la fase mesofílica. Esta fase ocurre aproximadamente en los primeros 25 días del proceso, en el cual la temperatura aumenta de 25°C-45°C empezando la degradación de los residuos. Esta degradación se lleva a cabo por la actividad enzimática de hongos y bacterias mesofílicas, los cuales generan ácidos orgánicos que disminuyen el pH del medio. Al final de la fase la temperatura empieza a aumentar por las reacciones metabólicas exotérmicas que se llevan a cabo, y se disminuye la producción de ácidos orgánicos, es decir, el pH empieza a aumentar debido al producto obtenido en la degradación de las proteínas que genera el amonio; el pH tiene una variación de 4.9 a 8.3. (Vakili *et al*; 2010; Li *et al*; 2013).

La segunda es la fase termofílica. Esta fase ocurre entre los días 30 y 130 días del proceso de compostaje en el cual aumenta la temperatura a 60°C o más como resultado de la degradación de la materia orgánica por la acción de las bacterias y hongos. Los microorganismos presentes transforman el nitrógeno en amoniaco lo que hace que el pH aumente obteniendo una variación de 6.0 a 8.5 (Román, 2013). Es de gran importancia mantener una aireación en el proceso de compostaje; sin embargo, se pueden generar gases como el sulfuro de hidrógeno. Los gases generados se ubican en

zonas anaeróbicas en donde son mineralizados por la acción de microorganismos produciendo agua y dióxido de carbono (Langston *et al.* 2002; Kalbasi *et al.* 2005).

Por último, la tercera fase es la final o de enfriamiento. En esta fase, hay una disminución de la temperatura de 60°C – 45°C, se disminuye la velocidad de descomposición de la materia orgánica y el pH se neutraliza variando entre 6.5 a 7.5 y la relación C/N es <20. Debido a las condiciones del medio se favorece el crecimiento de microorganismos patógenos y no patógenos; los microorganismos no patógenos tienen una mejor asimilación debido a que estos son más tolerantes frente a condiciones de humedad y pH (Langston *et al.* 2002; Kalbasi *et al.* 2005).

2.1.2 Propiedades físico-químicas del compostaje

Unas de las propiedades fisicoquímicas del compostaje es la temperatura. El aumento de esta es un indicador de la actividad microbiana; sin embargo, la disminución permite determinar el estado del proceso de compostaje. Durante el compostaje se puede observar un rango amplio de temperatura que evidencia el crecimiento de microorganismos mesófilos y termófilos (30°C a 70°C). En el rango de temperatura de 55°C a 70°C, se pueden inactivar microorganismos patógenos. La humedad es necesaria para las actividades metabólicas ya que permiten la degradación de la materia orgánica, pero el exceso de humedad puede generar condiciones de anaerobiosis que permiten la producción de metabolitos indeseable y olores durante el proceso, por lo cual, es de gran importancia el equilibrio entre los materiales, presencia de material llenante y la aireación (Suman *et al.*, 2015). El valor de humedad óptimo para el compost se encuentra alrededor del 55%, aunque puede variar dependiendo del tamaño de residuos a utilizar, así como del sistema empleado para realizar el proceso. Durante todo el proceso se debe tener un rango de humedad entre 50 % a 80% (Román, 2013).

Por otro lado, el pH es de gran importancia durante el proceso debido a que además de ser indicador de la fase en la que se encuentra el proceso, puede inhibir la actividad de los microorganismos al tener valores muy ácidos o alcalinos. Durante la degradación de la materia orgánica se producen ácidos orgánicos y amonio que favorecen el pH ácido y alcalino, en un rango de 4,9 a 8,3. En el rango óptimo de pH se evidencia que la mayor degradación de la materia orgánica está entre 6-8, por tal motivo para mantener el pH en un rango deseado, se debe disminuir el tiempo del proceso del compostaje o adicionar aditivos como soluciones amortiguadoras del pH (Kalbasi *et al.*; 2005). Las reacciones bioquímicas que se producen en el proceso de compostaje de mortalidad animal liberan NH₃ (base) y CO₂ (ácido), los cuales confieren función de buffer para lograr que el pH se encuentre en condiciones óptimas para el proceso (pH) (pH óptimo para procesos de mortalidades porcícolas es de 6,5-8,0).

Teniendo en cuenta que la fuente principal de la mortalidad animal es el nitrógeno, se deben adicionar materiales como aserrín, viruta de madera, tallos de maíz o heno los cuales no solo modifican la relación carbono nitrógeno, sino que también tienden a disminuir la humedad que se presenta en la mortalidad animal, absorben los lixiviados generados en el proceso y se mantiene la porosidad para facilitar la entrada y salida de aire, la cual es fundamental para el proceso debido a que es un proceso aerobio (Berg, 2009; Sun *et al.* 2015).

Y, por último, se encuentra la relación C: N, esta refleja el contenido de carbono y nitrógeno total durante el proceso de compostaje, una relación C: N aceptable oscila entre 25:1 a 40:1 (Owen *et al.* 2014).

2.2 inoculantes biológicos

Los bio-inoculantes están conformados por 2 o más microorganismos, que por sus actividades enzimáticas pueden estar clasificados como: biofertilizantes quienes promueven el acceso de las plantas a los nutrientes disponibles en el entorno (Panda *et al.* 2016), aceleradores que aumentan la concentración microbiana presente en la materia orgánica (nativa), por lo tanto, permiten llevar a cabo la descomposición de materia orgánica en menor tiempo (Vargas *et al.*; 2016) y por último, los biocontroladores que son microorganismos que pueden ser fitopatógenos o productores de bacteriocinas, que se encargan de eliminar hongos y/o bacterias patógenas en plantas y suelo, por lo tanto, disminuyen el uso de los pesticidas y fungicidas. Los bio-inoculantes están compuestos por bacterias, hongos o ambos los cuales pueden emplearse de forma individual o en conjunto. Las bacterias pueden acelerar el proceso y aumentar la cantidad de nutrientes que se encuentran presentes al final del proceso, donde también los hongos degradan los residuos compuestos por celulosa y hemicelulosa (Owen *et al.* 2014; Sarkar *et al.*; 2014).

En la mayoría de los bio-inoculantes se encuentra el género *Bacillus sp.*, que tiene como característica pertenecer a la familia de las bacterias Gram positivas, aerobias facultativas o anaerobias y en la gran mayoría mesófilas (Fadzilah *et al.*; 2015). Algunas especies de este género, tiene la capacidad de hidrolizar los enlaces peptídicos de las proteínas por medio de las proteasas y de igual forma tiene la capacidad de hidrolizar el almidón y polisacáridos por medio de las proteasas (Elorrieta *et al.*; 2002). Con respecto a los hongos, *Penicillium sp.*, tiene la capacidad de aumentar el proceso de compuestos difíciles de degradar como la lignocelulosa y de esta manera obtener una mejor eficiencia en el proceso (Wang *et al.*; 2011). Sumando a esto, también tiene la capacidad de secretar enzimas como proteasa, celulasa, amilasa y xilanasa las cuales son importantes para el proceso de degradación durante todo el proceso (Zeng *et al.*; 2006)

2.2.1 Acelerantes del compostaje

Los acelerantes de compostaje, son microorganismos aerobios como *Bacillus sp.*, *Aspergillus sp.*, *Trichoderma sp.*, los cuales aceleran la degradación de los compuestos lignocelulolíticos durante el compostaje (Van Fan *et al*; 2016; Cariello *et al*; 2010). Otros microorganismos, tienen la capacidad de degradar compuestos lignocelulolíticos y promueven el desarrollo del compost (Ji 2005). La inoculación de dichos microorganismos permite la mejor de degradación de la materia orgánica, lo que está relacionado directamente con el aumento de la descomposición de los residuos (Sarkar *et al*; 2014; Cariello *et al*; 2010; Matiz *et al*; 2015).

2.3 ANTECEDENTES

En un estudio realizado por Beidou Xi *et al.* (2015), se reportó que el compostaje es un método efectivo para tratar los residuos orgánicos sólidos, donde el uso de bio-inoculantes en el compostaje, aumenta la actividad enzimática microbiana, promoviendo la biodegradación de la materia orgánica y acelerando el proceso de compostaje. En el estudio realizado por Cariello *et al* (2010), se evaluó un proceso control sin bio-inoculante y un proceso con bio-inoculante frente a condiciones de humedad, T°, relación C: N y pH durante un tiempo de 12 semanas. Se observó que en el compostaje final tuvo una humedad del 40% en el control y en el proceso bio-inoculado se obtuvo una humedad menor al 40%. Con respecto a la T°, el proceso control alcanzó un T° máxima de 57°C, mientras que el proceso bio-inoculado, alcanzó una T° máxima del 63°C en el mismo periodo de tiempo. En la relación C: N, se observó que el proceso control al final tuvo una relación 20:1, mientras que el proceso bio-inoculado tuvo relación 15:1. En estudios anteriores, se reportó que la inoculación con bacterias y hongos permite la aceleración del proceso pasando de una fase mesofílica a termofílica, lo que da como resultado una mayor producción de sustancias degradadas al final del proceso y una mejor maduración Cariello *et al* (2010).

En cuanto al compostaje de mortalidades porcícolas en Colombia, se lleva a cabo mediante una mezcla de porcinaza fresca (humedad entre el 45-55%), material vegetal seco, cadáveres, placentas, entre otros, (PORKCOLOMBIA, 2013). El proceso de degradación ha sido conducido únicamente por la microbiota nativa, lo que ha generado un aumento en el tiempo de degradación de esto compuestos. Inicialmente, el compostaje de mortalidad se implementó en granjas de producción avícola Song *et al.* (2010), donde se observó que la inoculación de cepas de *Bacillus licheniformis* y *Streptomyces sp* acelera el proceso de degradación de desechos de aves de corral (especialmente de las plumas), además de aumentar la degradación de queratina.

Por otro lado, la inoculación de microorganismos compuestos (CMs) (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*, *Trametes*, *Phanerochaete*), en el compostaje de residuos provenientes de estiércol de ganado vacuno, de estiércol de cerdo y residuos de biogás aumenta el grado de condensación y aromatización, por otra parte aumenta la cantidad y diversidad de microorganismos presentes de forma natural en el proceso, además mejora la eficiencia de compostaje y mejora la calidad del compost aumentando la fase termófila por lo cual hay mayor degradación de materia orgánica Rodríguez et al (2006).

De acuerdo con lo anterior, en este proyecto de investigación se plantea evaluar el efecto de un bio-inoculante constituido por dos cepas bacterianas termófilas del género *Bacillus* sp, con actividad amilolítica y proteolítica y una cepa fúngica identificada como *Talaromyces sayulitensis* HC1. la cual produce altas cantidades de enzimas celulolíticas y xilanolíticas, por ende, tiene la capacidad de degradar residuos celulósicos agrícolas Gutiérrez et al (2015).

Con base en los antecedentes y lo reportado en la literatura, con el presente trabajo se pretende responder la siguiente pregunta de investigación ¿Cuál es el efecto de un bio-inoculante sobre la degradación de mortalidad en una granja porcícola ?

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de un bio-inoculante sobre la degradación de mortalidad en una granja porcícola.

4. METODOLOGÍA

4.1 Ubicación

Este proyecto se realizó en una granja porcícola tecnificada asociada a **PORKCOLOMBIA**, con importantes niveles de producción, registrada ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) ubicada en Fusa, Cundinamarca.

4.2 Producción del bio-inoculante

4.2.1. Consorcio bacteriano

La producción del bioinoculante se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología Aplicada de la Pontificia Universidad Javeriana. Se produjo el bioinoculante necesario para aplicar una dosificación de 1 litro / t de residuos, en dilución 1/5, por cuatro aplicaciones durante el proceso de compostaje.

Preinóculo

Se reactivaron las cepas 8AP y 12AP, a partir del banco de cepas del laboratorio de Biotecnología Aplicada, en agar combinado (ver anexo 1) y se llevaron a incubar a 55°C por 72 horas. Posteriormente, se realizaron suspensiones celulares de cada cepa en 30mL de solución salina al 0.85% (p/v), en matraz de 100 mL y se igualó al tubo número 5 de McFarland, correspondiente a 10×10^8 Cel/mL y se confirmó registrando absorbancia a 540 nm (Rodríguez *et al.* 2006).

Inóculo

Cada una de las suspensiones se mezclaron en un matraz con una capacidad 1000 mL y un volumen de caldo combinado (ver anexo 1) de 540 mL, posteriormente fueron incubadas en las siguientes condiciones: 55°C, 150 rpm durante 21 horas (Rodríguez *et al.*; 2006).

Fermentación discontinua

Se prepararon 5,4 L de medio combinado (ver anexo 1), a los cuales se agregaron 0,6 L de inóculo para realizar la fermentación discontinua con un volumen efectivo de trabajo de 6L, en un reactor de 10 L, en las siguientes condiciones: 55°C, 18 horas, 155 rpm y 0,5 VVM. Después del tiempo propuesto se detuvo el proceso del reactor y en 2 botellones estériles se cosecharon 6 L de bio-inoculante. A partir del bio-inoculante se realizó coloración de Gram, evaluación de la biomasa por recuento en placa en

agar combinado (ver anexo 1) y evaluación de la actividad enzimática proteolítica y amilolítica por medio de la técnica TCA (Uwe et al. 1993; Hmidet *et al*; 2009) y DNS (Miller 1959) respectivamente (Rodríguez *et al*; 2006) .

4.2.2 Cepa fúngica

Producción

La cepa fúngica (*Talaromyces sayulitensis* HC1) se obtuvo del cepario de la Pontificia Universidad Javeriana, se reactivó en agar PDA y se incubó durante 8 días a 28°C. Posteriormente, se realizó el preinóculo raspando las esporas con solución salina 0.85% (p/v) y tween 80 0.1% (p/v), se realizó recuento de conidios a partir de cámara de Neubauer, con el fin de ajustar la concentración a 10*8 conidios/mL. Se obtuvieron 75 mL de conidios que se agregaron a 750 mL de caldo almidón modificado (se realizó por quintuplicado). Se incubó durante 10 días a 28°C con 120 rpm. Después del tiempo propuesto se detuvo la incubación y se tomó una muestra con el fin de determinar la biomasa por recuento en placa en agar PDA, concentración de conidios por medio de cámara de Neubauer. Así mismo, se evaluó cuantitativamente la actividad celulolítica, mediante la técnica de DNS (Miller, 1959).

4.3 Montaje de cajones de compostaje

Se llevó a cabo el proceso de compostaje de la mortalidad, mediante el montaje de un control y un tratamiento 1, cada uno por triplicado, siendo el control el proceso que tradicionalmente se llevó a cabo en la granja. El tratamiento 1 tuvo la adición de bioinoculante acelerante, mayor frecuencia en los volteos e incorporación de 5 tubos de PVC con perforaciones, para alcanzar una mayor disponibilidad de aire. Adicionalmente, se modificaron las proporciones de los materiales para alcanzar una mejor relación C/N al inicio del proceso. Para el proceso se empleó 6 cajones bajo cubierta, compuestos de guadua rústica de dimensiones de 1.0 mts de alto x 1.0 mts de ancho x 1.20 mts de largo. La disposición de los materiales se realizó como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Disposición de los residuos orgánicos en los tratamientos experimentales.

Tratamientos	%Mortalidad animal	%viruta	%Estiércol	Adición bio-inoculante
Control	54,99	20,26	24,75	Ausente
1	45,11	33,33	21,55	Presente

4.3.1 Inoculación

El bio-inoculante acelerante conformado por las bacterias y el hongo, tuvo una concentración bacteriana de 10×10^9 UFC/mL y de hongo 10^8 conidios/mL y fue aplicado 1 litro/ por tonelada de residuo, diluido $\frac{1}{5}$ (Matiz et al. 2015).

4.4 Manejo y evaluación del proceso de compostaje

El T1 se volteo manualmente, cada 15 días hasta alcanzar 45 días de proceso. El control no tuvo volteo a los 45 días, como se realizan tradicionalmente en la granja. Se tomaron muestras de cada una de las réplicas tanto del control como el T1 al inicio, mitad y final del proceso y se les realizó los siguiente análisis:

4.4.1 Análisis de las características microbiológicas

En el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Pontificia Universidad Javeriana se determinó la presencia *Salmonella* sp mediante el NMP (Usepa 2006) y se realizó recuento de Coliformes.

Método De Número Más Probable (NMP) para *Salmonella* sp.

- **Procesamiento de Las Muestras.**

Se pesaron 30 g de la muestra lo cual fue agregado a 270 mL de agua peptonada bufferada y se agitó para homogenizar la muestra. Posterior a esto se realizó diluciones: La serie de 5 tubos tenían 10 mL de TSB tres por cada uno. A estos se les agregó 2 mL de la muestra homogenizada. La serie de 5 tubos tenían 5 mL de TSB tres por cada uno. A estos se les agregó 10 mL de la muestra homogenizada. La serie de 5 tubos tenía 10 mL de TSB uno por cada uno. A estos se les agrega 1 mL de la muestra homogenizada. Se llevaron a incubar los tubos por 24 ± 2 horas a $36^\circ\text{C} \pm 1.5^\circ\text{C}$. Después del tiempo de incubación, se colocaron 5 gotas de 30 μL de cada uno de los tubos TSB en una caja de Petri con medio Rappaport Vassiliadis Semisólido (MSRV) . **No invertir las cajas.** Se dejó que las gotas se absorbieran en el medio durante aproximadamente una hora a temperatura ambiente y se llevaron a incubar a $42^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ durante 16 a 18 horas. Después del tiempo de incubación, se revisaron las cajas para observar la motilidad que rodea las gotas; para una motilidad positiva se observa un "halo blanquecino" de crecimiento aproximadamente de 2 cm desde el centro de la mancha. Usando un asa, se tomó muestra en un halo desde el borde exterior de una colonia del medio MSRV y se aisló en una caja de Petri con medio selectivo para *Salmonella* (agar hektoen, XLD o chromagar). se llevó a Incubar las cajas del agar selectivo durante 24 horas a $36^\circ\text{C} \pm 1.5^\circ\text{C}$.

- **Determinación total de sólidos**

Determinación del porcentaje de peso en seco: cuando los resultados de la muestra se calcularon en base al peso seco, una segunda porción de la muestra se pesó al mismo tiempo que la porción utilizada para la determinación analítica. Inmediatamente después de pesar la muestra para el examen microbiológico, se pesaron 4 g de muestra en un crisol embreado o plato de evaporación de aluminio. se secó esta alícuota durante la noche a 103 ° C a 105 ° C. se dejó enfriar en un desecador antes de pesar. Posteriormente se calculó el % de peso seco.

Recuento de Coliformes

Recuento de *E.coli*

De la muestra previamente homogenizada se tomó 1 mL y se realizaron diluciones seriadas 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} . Para realizar el recuento en placa en profundidad, se tomó 1 mL de cada dilución y se sembró en una caja petri vacía. Se sirvió en agar cromogénico y se movió la caja de forma que la muestra y el agar se homogenice. Posteriormente se llevó a incubar a 35°C por 24 horas.

Recuento de *Clostridium* sp.

De la muestra previamente homogenizada se tomó 1 mL y se realizó diluciones seriadas 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} . Para realizar el recuento en placa en profundidad, se tomó 1mL de cada dilución y se sembró en una caja petri vacía. Se sirvió en agar SPS y se movió la caja de forma que la muestra y el agar se homogenice. Las cajas se pusieron en cámara de anaerobiosis, con su respectivo sobre e indicador de anaerobiosis. Posteriormente se llevó a incubar a 35°C por 24 horas.

- **Protozoos y Helmintos de origen animal**

Para la determinación de la presencia de larvas de parásitos, huevos, quistes, y protozoarios, se realizaron mediante las siguientes técnicas:

- **Método directo**

En una lámina portaobjetos se adiciono una gota de solución salina (0,85%) y al otro lado una gota de lugol. Luego, se añadió a cada lado una pequeña muestra y se homogeneizó. Se colocó una laminilla cubreobjeto sobre cada preparación (lámina-muestra-laminilla) Finalmente, se observó bajo el microscopio óptico con el objetivo de 10 y 40 X. (Laboratorio de parasitología PUJ, 2016)

- **Método de flotación**

Se tomó la muestra y se depositó en un frasco de compota (2 g preferiblemente o la cantidad posible). Se agregó suficiente solución de McMaster y se agitó hasta homogeneizar la muestra (solución ligeramente acuosa). En seguida, la solución + muestra se filtró por medio de una gasa doblada varias veces que fue colocada en un embudo. El filtrado se recibió en un tubo de ensayo llenándolo hasta el borde formando un menisco y se colocó una laminilla que hizo contacto con el filtrado. Se dejó en reposo por 30 minutos, posteriormente se retiró la laminilla y se colocó sobre una lámina portaobjetos (con o sin solución salina y/o lugol) para su observación bajo el microscopio óptico. Se observó bajo el microscopio óptico con el objetivo de 10 y 40 X. (Laboratorio de parasitología PUJ, 2016)

- **Método de sedimentación**

Se tomó la muestra y se depositó en un frasco de compota (10 g preferiblemente o la cantidad posible). Se agregó suficiente agua y se agitó hasta homogeneizar la muestra (solución ligeramente acuosa). En seguida, la solución + muestra se filtró por medio de una gasa doblada varias veces que debe ser colocada en un embudo. El filtrado se recibió en un tubo de ensayo y se dejó en reposo por 45 minutos. Se descartó el sobrenadante y se agregó agua nuevamente, se homogeneizó y se dejó en reposo por 30 minutos. Posteriormente se descartó el sobrenadante y con una pipeta pasteur se recogió muestra del sedimento. En una lámina portaobjetos se adicionó una gota de solución salina (0,85%) y al otro lado una gota de lugol y sobre ellas se puso una gota del sedimento. Se observó en el microscopio óptico con el objetivo de 10 y 40 X. (Laboratorio de parasitología PUJ, 2016)

4.4.2 Análisis características físico-químicas

Las muestras del compost se llevaron a un laboratorio de referencia con registro ICA, con el fin de determinar el carbono orgánico total, el nitrógeno total, pH, la relación carbono nitrógeno, la capacidad de intercambio catiónico, y el porcentaje de humedad.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

De acuerdo a las variables obtenidas se realizaron determinaciones mediante estadística descriptiva y se realizaron análisis de varianza entre tratamientos para establecer si existen o no diferencias significativas. Teniendo en cuenta lo anterior, como modelo estadístico, para el análisis de los resultados obtenidos en cada tratamiento se aplicó el coeficiente de asimetría para observar la distribución normal de los datos; si los datos presentan una distribución normal se aplicó la prueba F y para determinar la mejor mezcla se aplicó ANOVA de una vía (statistix). Así mismo, la prueba de Kruskal Wallis.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Evaluación de la actividad biológica del Bio-inoculante

La Norma Técnica Colombiana (NTC) 5842 del 2011 del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), indica que los microorganismos transformadores de materia orgánica clasificados dentro de los inoculantes biológicos, deben presentar una pureza mínima del 95% y no deben contener microorganismos contaminantes, patógenos de animales, humanos o plantas. Adicionalmente como requisito de su elaboración debe tener una concentración mínima 1×10^6 UFC/mL, y así mismo presentar actividad enzimática proteolítica, celulolítica o amilolítica.

Las tinciones de Gram realizadas al consorcio bacteriano que hace parte del bioinoculante compuesto, mostraron la presencia de Bacilos Gram positivos, siendo esta la microscopia esperada, lo que indica que no hay contaminación con otro tipo de microorganismos. Por otra parte, la evaluación de la biomasa indicó un recuento de 1×10^7 UFC/mL lo que concuerda con lo exigido en la NTC. Se debe tener en cuenta que los lotes 1 y 2 corresponden a un solo tratamiento, lo que quiere decir un bioinoculante

En cuanto a la actividad enzimática se observa actividad proteolítica donde disminuye 294000 unidades en el segundo lote, mientras que la actividad amilolítica se mantiene y lo que aumentó en el lote 2 fueron valores mínimos (figura 1). La diferencia puede deberse a la presencia de entrada de flujo de aire (0,5 VVM) y agitación en el primer lote, mientras que el segundo lote solo presentaba agitación.

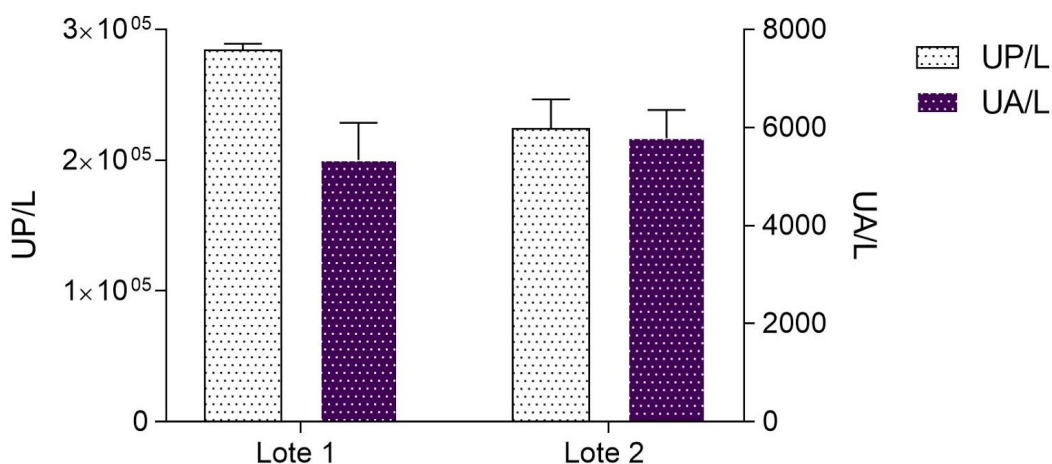


Figura 1. Actividad proteolítica y amilolítica de los dos lotes del consorcio bacteriano del bioinoculante.

Uno de los factores más limitantes en la actividad de las proteasas y amilasas del género *Bacillus* es la aireación. Cuando se presentan niveles bajos de aire puede disminuir la formación de biomasa y la utilización de los sustratos, lo que genera niveles bajos de producción enzimática. Adicionalmente, se ha visto que cuando se emplea agitación y entrada de flujo de aire existe mayor eficiencia en la producción de las enzimas. Lo que puede explicar por qué se presenta mayor producción proteolítica en el lote 1 con respecto al lote 2. Así mismo, se ha evidenciado que cuando se emplea únicamente agitación, se pueden presentar problemas en la transferencia de oxígeno, por lo cual no se puede satisfacer la demanda de este para la formación de productos (Singh *et al*; 2014; Nikiforova *et al.*; 2016).

En diferentes estudios se ha demostrado que la producción de amilasas y proteasas se ve afectada por una variedad de factores físico químicos, donde se incluye el tipo y composición del sustrato, el tiempo y la agitación, la concentración y el tipo de las fuentes de carbono y nitrógeno (Blanco *et al.* 2016). Teniendo en cuenta lo anterior, se ha reportado que para algunas especies de *Bacillus* las amilasas son producidas desde la fase exponencial mientras que las proteasas se producen al final de esta fase, lo cual se ha atribuido a obtener nutrientes de supervivencia para una fase post-exponencial (Mukhtar & Haq 2012).

La actividad proteasa está estrechamente relacionada con el ciclo del N y cataliza la hidrólisis de las proteínas al amoníaco, actuando sobre los sustratos de polipéptidos de cadena corta. La actividad de la proteasa aumento y se mantuvo en los 2 lotes (figura 1), debido a la eliminación del amoníaco a través de la aireación. De lo contrario, el amoníaco puede actuar como un inhibidor, ya que es el producto de las reacciones hidrolíticas catalizadas por las ureasas y las proteasas (Paut *et al*; 2008).

En cuanto a la cepa fúngica presenta un recuento de conidios de $1,3 \times 10^6$ conidios /mL, estos resultados cumplen con el requisito de concentración mínima de microorganismos presente en el bioinoculante de la NTC 5842. Se evidencio la producción de celulasas por parte de *Talaromyces sayulitensis* HC1 obteniendo 4000 UC/L y 5000 UC/L (figura 2), respectivamente. Es de importancia la actividad celulolítica presentada por parte del hongo en el bioinoculante, de tal manera que las enzimas producidas puedan hidrolizar la viruta presente en los cajones de compostaje. La viruta de madera presenta en su composición celulosa, hemicelulosa y lignina (Sjostrom, 2013).

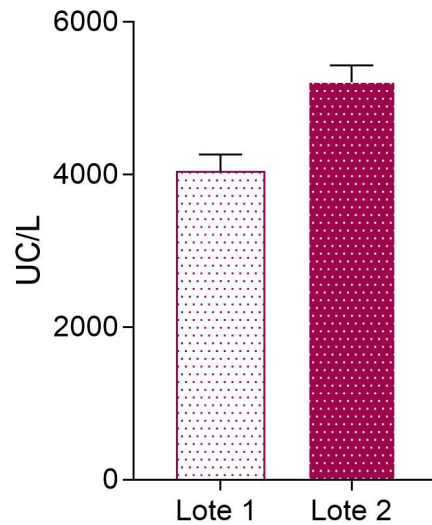


Figura 2. Actividad celulolítica de los dos lotes de la cepa fúngica (*Talaromyces sayulitenses* HC1).

En estudios realizados demuestran que el hongo es capaz de producir enzimas como β – *glucosidasa* , donde la inducción de estas se da principalmente por la presencia de celobiosa u otros oligosacáridos presentes (Bennet 2014). Otro estudio realizado por Correa (2016), encontró que el al utilizar como sustrato cascarilla de cebada, *Talaromyces sayulitensis*. HC1 produce endoglucanasas (954,3 U/L), celobiohidrolasas (103,3±1 U/L) y β 1,4-D-glucosidasas (4490U/L).

6.2. Evaluación de la efectividad del bioinoculante en el proceso de compostaje

6.2.1. Evaluación de parámetros físico-químicos

6.2.1.1 Comportamiento del pH

El pH es un parámetro muy importante siendo indicador del estado de degradación de la materia orgánica durante el proceso de compostaje, y así mismo el pH en el compost obtenido permite establecer si es posible su uso en campo (Wang *et al*; 2015).

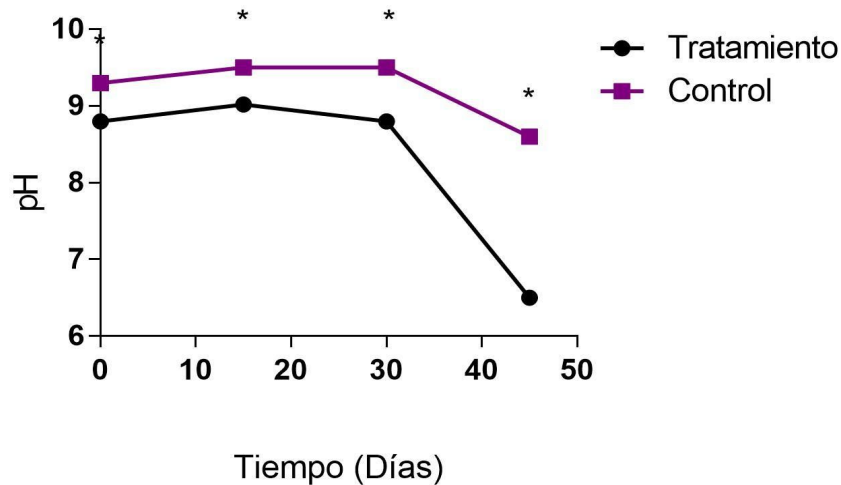


Figura 3. Comportamiento del pH en función del tiempo, para el control y tratamiento. *significancia $p \leq 0,05$

Durante el proceso de compostaje el pH en el tratamiento disminuyó de 8.8 a 6.5 (Figura 3), donde se logra evidenciar que se estaba llevando a cabo la transformación de la materia orgánica. Inicialmente presentan valores de pH alcalinos lo que indica la presencia de tejido animal, la degradación de proteínas presentes (lo que generó amonio), y a la descomposición de los ácidos orgánicos presentes en los primeros días del proceso (Warman *et al*; 2005). A medida que avanza el proceso estos valores se vuelven a un pH cercano a la neutralidad (6.5 -7), esto puede ser debido a la alta cantidad de proteínas presentes en las materias primas, lo que permite una mayor producción de compuestos alcalinos (Pan & Sen 2013, Nakasaki & Hirai; 2017).

El óptimo rango de pH se encuentra entre 6.5 - 8 donde se evidencia mayor degradación de la materia orgánica (Knauer *et al.* 2013), como se logró evidenciar en el tratamiento a diferencia del control, el cual se mantuvo por todo el proceso de compostaje en pH alcalino (8.5 - 9.2), esto se pudo haber presentado porque la fase termofílica es tan prolongada que ocurre la degradación de proteínas y amonificación. (Oviedo *et al*; 2014).

La adición de microorganismos al proceso de compostaje permite mayor actividad enzimática por lo cual, se favorece la degradación de la materia orgánica; las bacterias del género *Bacillus* sp inoculadas producen proteasas que actúan a pH de 6.0 -9.0 con óptimo de 7, mientras que las amilasas presentan mayor actividad en un rango de pH 6.0-8.0 (Kumar *et al*; 2010; Panda *et al*; 2016; Padmapriya & Williams 2017). Mientras que el hongo del género *Talaromyces* produce celulasas que presentan su mayor actividad en un rango de pH de 5.0 -6.5 (Muthukrishnan, 2017).

De acuerdo a lo anteriormente mencionado, se observa que en el tratamiento (figura 3) se estaba llevando a cabo una mineralización adecuada de la materia orgánica, donde se favoreció las actividades enzimáticas del bioinoculante favoreciendo la disponibilidad de nutrientes, observando diferencias significativas frente al control. Por otra parte, la NTC 5167 del 2011, indica que un abono orgánico obtenido a partir de la estabilización de residuos animales, vegetales o residuos sólidos debe presentar un pH mayor a 4 y menor a 9. Basado en lo anterior, el producto obtenido a partir del compostaje cumple con este parámetro para ser empleado como abono orgánico, ya que el pH final presentado en el tratamiento es de 6.5.

6.2.1.2 Comportamiento de temperatura

Durante el proceso de compostaje se observaron cambios de temperatura en el tratamiento (figura 4) donde en el día 20 se alcanzaron temperaturas mayores a 40°C lo que corresponde a la fase termofílica, esta etapa ocurre entre los 20 y 30 días del proceso de compostaje.

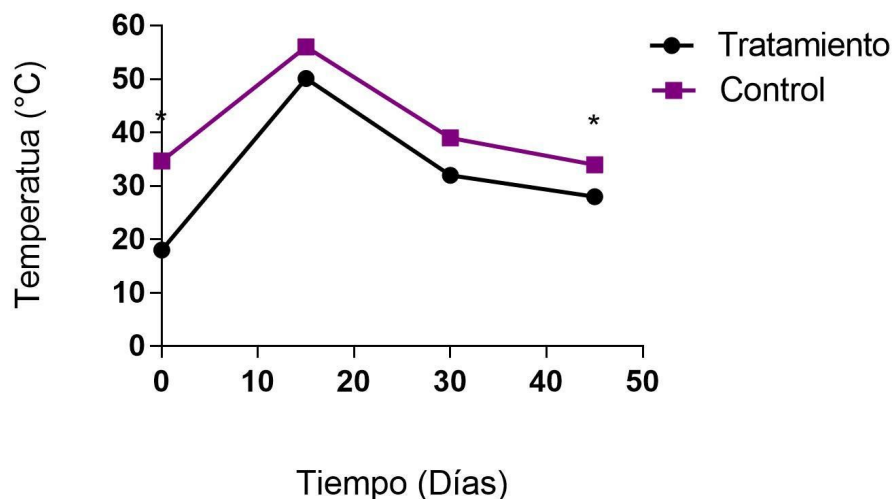


Figura 4. Comportamiento de la temperatura, durante el tiempo del proceso del compostaje en el control y tratamiento. * significancia $p \leq 0,05$

Como se evidencia en la figura 4 se presenta un aumento de la temperatura en los 20 días del proceso en el tratamiento, a diferencia que el control el cual tardó más días de proceso en el aumento de la temperatura. Este aumento indica que se está presenciando una fase termofílica, se favorece la tasa de degradación de materia orgánica por parte de los microorganismos. Lo cual es realizada por hongos y bacterias termofílicas. En un estudio realizado por Teodoro & Martins (2000), se afirman que bacterias del género *Bacillus* sp sintetizan amilasas a temperaturas entre 45 y 55°C, teniendo actividades óptimas en pH ligeramente ácidos (figura 3), en otro estudio reportado por Uyar *et al.* (2011), especies del género *Bacillus* sp y de *Talaromyces* un rango óptimo de temperatura para síntesis de proteasas y

celulasas es entre 30 y 60°C, cómo se logra evidenciar en la (figura 1 y 2), el bioinoculante compuesto por un consorcio bacteriano y cepa fúngica presentaba tanto actividad amilolítica como proteolítica y celulolítica. Cabe resaltar que el incremento se debe a la generación de calor producto de reacciones exotérmicas por la rápida degradación de compuestos orgánicos por parte de los microorganismos. Adicionalmente, la prolongación de altas temperaturas durante varios días indica una degradación eficiente durante el proceso (Wang *et al*; 2011; Zhang *et al*; 2011).

Después de la fase termófila se observó una disminución gradual hasta llegar a una temperatura ambiente (30°C), donde se evidencio la maduración del proceso días antes que el control, respectivamente. La disminución se puede haber presentado por la baja disponibilidad de nutrientes, lo que conlleva a una baja actividad microbiana y en la producción de calor. Por otra parte, el retorno de a las condiciones ambientales indica que el compost es estable (Nolan *et al*; 2011; Wang *et al*;2011).

En cuanto a los demas parametros fisico-quimicos, esta tendencia de la degradación de la materia orgánica en el tiempo establecido de compostaje y la efectividad del bioinoculante compuesto, no se ve reflejada en el tratamiento comparado con el control, en los cuales no se evidencia diferencia significativa (tabla 2). Esto se pudo haber presentado probablemente porque hubo contaminación cruzada en el momento de toma de muestras para la realización de estos análisis, debido a la poca disponibilidad de espacio en la construcción de los cajones dispuestos para el compostaje, por estas razones no se evidencio lo esperado en los parámetros fisicoquímicos y que sí evidencian los resultados de temperatura, pH y microbiológicos. Cabe resaltar que Las proporciones de adición de material tanto en el tratamiento como en control son diferentes, que hace que la relación C/N sean distintas. En el control la relación C/N fue desequilibrada, ya que se agregó mayor cantidad de nitrógeno que de carbono (tabla 1), en comparación con el tratamiento donde la relación de C/N fue más equilibrada con adición de carbono y nitrógeno de acuerdo a lo reportado en literatura, donde mencionan que la relación C/N de inicio de un proceso de compostaje debe estar en un rango de 25:1 - 30:1 (Knauer *et al*; 2013)

Tabla 2. Características fisicoquímicas y micronutrientes evaluados en el tiempo de compostaje (0, 30 y 45 días).

Tabla 2.1 Resultados físico – químicos del día 0 del proceso

Día 0	Humedad	Cenizas	P. volatilización	R. insoluble ácido	CIC	CIC/CO
Control	52,233 ±9,620	27,467 ±1,677	20,300 ±7,957	22,733 ±4,954	59,100 ±1,744	161,600 ±4,927

Tratamiento	15,767 ±2,290	25,633 ±±1,429	58,567 ±1,305	40,967 ±0,603	63,267 ±5,613	175,000 ±6,844
-------------	------------------	-------------------	------------------	------------------	------------------	-------------------

**Entiéndase el ± cómo la diferencia entre los datos.

Día 0	COT oxidable	pH	Densidad	C.E	Relación C/N	NOT
Control	36,533 ±0,777	8,077 ±0,067	0,287 ±0,049	0,717 ±0,322	11,267 ±0,907	3,250 ±0,295
Tratamiento	36,233 ±4,200	8,067 ±0,117	0,327 ±0,006	0,697 ±0,299	11,400 ±0,173	3,187 ±0,398

**Entiéndase el ± cómo la diferencia entre los datos.

Día 0	Cd	Ca	Cr	Mg	Ni	Pb	K	Na
Control	2,032 ±1,173	5,710 ±0,981	1,020 ±0,589	1,930 ±0,118	1,399 ±1,111	0,00 ±0,000	1,125 ±0,291	0,219 ±0,082
Tratamiento	0,00 ±0,000	5,837 ±0,676	2,312 ±1,335	2,924 ±0,961	4,060 ±2,620	0,568 ±0,328	1,264 ±0,067	0,212 ±0,015

**Entiéndase el ± cómo la diferencia entre los datos.

Día 0	Mn	S	Br	P total	Zn	Cu	Fe
Control	0,042 ±0,001	0,323 ±0,038	6,567 ±0,862	5,940 ±1,389	0,062 ±0,004	0,012 ±0,001	0,067 ±0,044
Tratamiento	0,044 ±0,003	0,310 ±0,250	6,500 ±0,458	6,213 ±0,631	0,077 ±0,006	0,011 ±0,000	0,078 ±0,006

**Entiéndase el ± cómo la diferencia entre los datos.

Tabla 2.2 Resultados fisicoquímicos del día 30 del proceso

Día 30	Humedad	Cenizas	P. volatilización	R. insoluble ácido	CIC	CIC/CO
Control	27,867 ±13,103	31,267 ±4,786	40,867 ±17,884	49,467 ±8,597	59,400 ±10,461	180,967 ±45,704
Tratamiento	13,870 ±3,803	19,733 ±6,236	66,433 ±2,468	48,067 ±4,119	64,033 ±6,959	190,733 ±33,431

**Entiéndase el ± cómo la diferencia entre los datos.

Día 30	COT oxidable	pH	Densidad	C.E	Relación C/N	NOT
Control	33,300 ±3,477	7,987 ±0,170	0,393 ±0,110	0,488 ±0,172	13,900 ±8,669	2,897 ±1,230
Tratamiento	33,867 ±2,665	7,943 ±0,236	0,313 ±0,038	0,357 ±0,052	12,500 ±1,732	2,743 ±0,385

**Entiéndase el ± cómo la diferencia entre los datos.

Día 30	Cd	Ca	Cr	Mg	Ni	Pb	K	Na
Control	0,868 ±0,103	0,436 ±0,084	9,333 ±2,458	3,037 ±0,456	15,300 ±3,568	3,303 ±3,658	2,200 ±1,044	0,231 ±0,094
Tratamiento	0,729 ±0,088	0,463 ±0,037	8,033 ±1,815	2,738 ±0,056	10,050 ±5,803	0,00 ±0,000	1,750 ±0,501	0,164 ±0,073

**Entiéndase el ± cómo la diferencia entre los datos.

Día 30	Mn	S	Br	P total	Zn	Cu	Fe
Control	0,077 ±0,012	0,200 ±0,071	0,001 ±0,000	7,097 ±1,982	1,080 ±0,041	0,019 ±0,003	0,130 ±0,050
Tratamiento	0,066 ±0,008	0,173 ±0,074	0,009 ±0,007	7,443 ±0,357	1,043 ±0,198	0,013 ±0,003	0,120 ±0,009

**Entiéndase el \pm cómo la diferencia entre los datos.

Tabla 2.3 Resultados fisicoquímicos del día 45 del proceso

Día 45	Humedad	Cenizas	P. volatilización	R. insoluble ácido	CIC	CIC/CO
Control	41,30 \pm 21,209	28,13 \pm 3,201	30,53 \pm 18,968	27,00 \pm 9,289	52,10 \pm 11,130	186,67 \pm 65,987
Tratamiento	15,4 \pm 1,852	23,6 \pm 3,911	61,0 \pm 4,943	40,0 \pm 1,877	45,4 \pm 23,604	140,7 \pm 86,048

**Entiéndase el \pm cómo la diferencia entre los datos.

Día 45	COT oxidable	pH	Densidad	C.E	Relación C/N	NOT
Control	29,10 \pm 3,637	8,45 \pm 0,302	0,33 \pm 0,042	0,37 \pm 0,056	7,73 \pm 1,861	3,98 \pm 1,413
Tratamiento	33,7 \pm 8,248	7,7 \pm 0,914	0,3 \pm 0,040	0,9 \pm 0,726	10,3 \pm 1,457	3,3 \pm 0,380

**Entiéndase el \pm cómo la diferencia entre los datos.

Día 45	Cd	Ca	Cr	Mg	Ni	Pb	K	Na
Control	0,56 \pm 0,197	0,32 \pm 0,026	6,16 \pm 4,093	2,37 \pm 0,451	11,84 \pm 7,409	4,48 \pm 1,400	1,55 \pm 0,660	0,18 \pm 0,047
Tratamiento	0,8 \pm 0,480	0,3 \pm 0,112	4,1 \pm 2,369	2,1 \pm 0,257	9,8 \pm 2,702	1,9 \pm 1,419	1,2 \pm 0,505	0,2 \pm 0,096

**Entiéndase el \pm cómo la diferencia entre los datos.

Día 45	Mn	S	Br	P total	Zn	Cu	Fe
Control	0,06 \pm 0,014	0,14 \pm 0,025	0,00 \pm 0,000	6,77 \pm 0,918	0,84 \pm 0,142	0,02 \pm 0,009	0,12 \pm 0,048
Tratamiento	0,0 \pm 0,025	0,2 \pm 0,099	0,0 \pm 0,000	5,8 \pm 1,527	0,7 \pm 0,236	0,0 \pm 0,003	0,1 \pm 0,003

**Entiéndase el \pm cómo la diferencia entre los datos.

6.2.1.3 Características cualitativas del tratamiento y control

Las características cualitativas o específicas, fueron consideradas como aquellas que se evidenciaron durante el proceso de compostaje como: textura, visualización de la degradación de la mortalidad, presencia de larvas, presencia de moscas, emisión de olores, entre otros. Las características que permitieron evidenciar una diferencia entre el proceso control y tratamiento (ver anexo 3) son las siguientes:

- Después de finalizado el proceso de compostaje, en el control se observaba presencia de tejido animal aún sin degradar, a diferencia del tratamiento ya no se observaban este tipo de estructuras.

- Durante el proceso de compostaje en el tratamiento se mantuvo aireación mediante volteos cada 15 días y la presencia de tubos de PVC, con perforaciones que permitieron la entrada de aire, mientras que el control no se llevó a cabo ningún mecanismo de aireación. Lo anterior influyó en la homogeneización del material que fue evidente en el tratamiento y en la aireación constante, que es un factor importante teniendo en cuenta que los microorganismos que hacen parte del bioinoculante y el compostaje son aerobios.

- El contenido de humedad disminuyó en el tratamiento, esto pudo deberse a la actividad microbiana y la pérdida de agua por evaporación y esto se evidenció finalizando el proceso de compostaje, a diferencia del control donde aún llegando al final del proceso se observaba presencia de lixiviados, lo que puede causar disminución en la mineralización de la materia orgánica, también pueden producir zonas de anaerobiosis y microaerofilia que generan gases efecto invernadero como óxido nítrico y nitroso (proceso de desnitrificación) y metano por la mineralización de compuestos como la celulosa o el almidón (Stres *et al*; 2008; Makan *et al*. 2013; Misra *et al*; 2016).

Por tal razón la adición de viruta se realiza para disminuir el contenido de humedad, ya que permite absorber el agua que presenta y libera la mortalidad porcícola (Bonhotal *et al*; 2014). Por esta razón se adiciono un porcentaje más alto de viruta en el tratamiento que en el control (tabla 1).

6.2. 2 Evaluación de parámetros microbiológico

6.2.2.1 *Salmonella* spp.

Se evaluó la presencia de *Salmonella* spp y recuento de coliformes totales, en las materias primas (mortalidad de cerdos, porcinaza y viruta) y durante el proceso de compostaje (Datos obtenidos de los laboratorios de alimentos de la universidad javeriana, 2018).

Los resultados encontrados en el análisis de *Salmonella* spp con respecto al día 30 del proceso de compostaje fue de 0.65 NMP/4g (figura 8) evidenciando la presencia de *Salmonella* spp. En el día 45 el cual fue finalizado el proceso de compostaje se observó un aumentó de la concentración de *Salmonella* spp de 0.67 NMP/4g. Se presentó ausencia/30g.

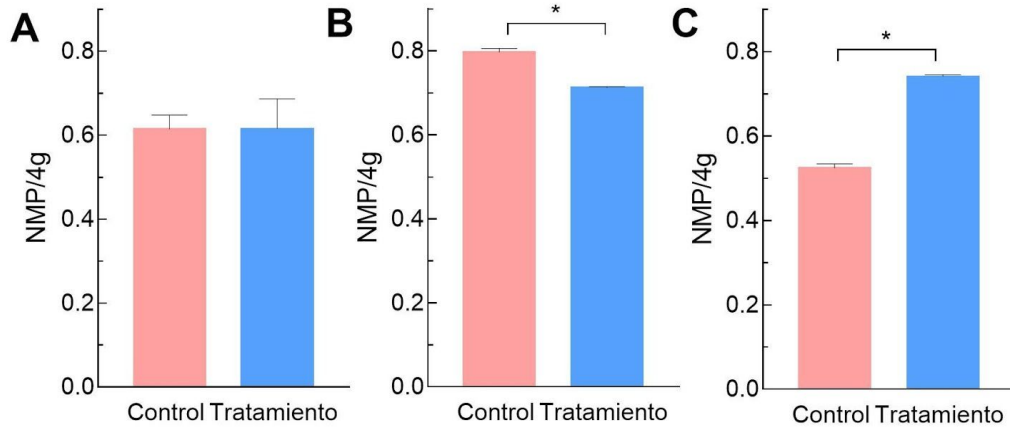


Figura 5. Evaluación de *Salmonella* spp. NMP/4g de materias primas. **A)** día 0 **B)** día 30 **C)** día 45
* significancia $p \leq 0,05$

Se reportó presencia de *Salmonella* spp, tanto en las materias primas y durante el proceso de compostaje. El aumento de *Salmonella* observado al final del proceso (día 45) se pudo haber presentado porque el proceso de compostaje está llegando al punto de maduración, las temperaturas que se encuentran en 55°C (fase termófila) empiezan a disminuir a temperatura ambiente, cuando se da esta estabilización de temperatura se puede presentar una re contaminación de la pila por microorganismos patógenos (Casco & Herrero 2008).

Con respecto al día 30 del proceso de compostaje, el tratamiento en comparación con el control, se evidenció una disminución de *Salmonella* (figura 5) esto se pudo presentar es porque una de las principales funciones del compostaje es la eliminación o disminución de microorganismos patógenos. También porque se observa un aumento de la temperatura a 55°C (figura 4) presente durante el proceso, permite eliminar o disminuir indicadores sanitarios como coliformes fecales y *Salmonella*, además de distribuir patógenos presentes en sustratos como la porcinoza (Bernal et al. 2009; Rashad et al. 2010; Sundberg et al. 2011).

La NTC 5167 del 2011, indica que se debe presentar ausencia/25 g muestra de *Salmonella*, los resultados obtenidos cumplen con este requisito.

6.2.2.2 Coliformes totales

Para el caso de los coliformes totales, en el día 45 final del proceso de compostaje, se evidenció una disminución de coliformes en el tratamiento (figura 6) de 3.894 unidades logarítmicas (UL) en comparación con el día 0 que arrancó con un recuento de coliformes de 6.386 UL.

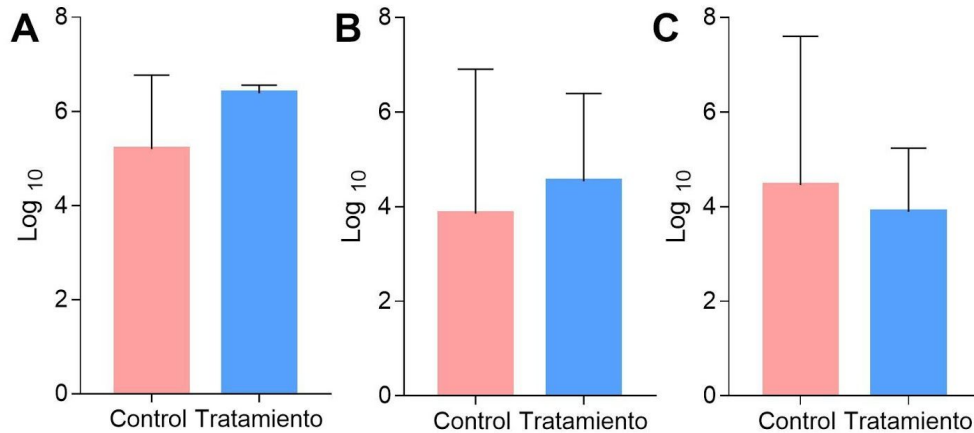


Figura 6. Recuento coliformes totales durante el proceso. **A)** día 0 **B)** día 30 **C)** día 45

La disminución de recuento de coliformes en el día 45 se pudo haber presentado, porque hay poca materia orgánica o sustratos fácilmente degradables para este tipo de microorganismos, cuando se presenta sustratos complejos, los coliformes no pueden hacer uso de la degradación de estos y aparecen en las fases finales del compostaje (Topal et al. 2016).

Los coliformes crecen en el compostaje si el proceso se realiza a temperaturas de 37°C (Jones *et al*; 2003). En la norma NTC 5167 de 2011 en el parámetro de coliformes totales se estipula como requisito <1000 NMP o UFC/g o ml, donde se observa que no cumple con la norma establecida.

5.2.2.3 *Clostridium* sp.

En cuanto al recuento de *Clostridium* spp, durante el proceso de compostaje en el día 30 se observó un aumento considerable de *Clostridium* de 5.500 UL en comparación con el control. A diferencia del día 45 que disminuyó a 4.500 UL (figura 7).

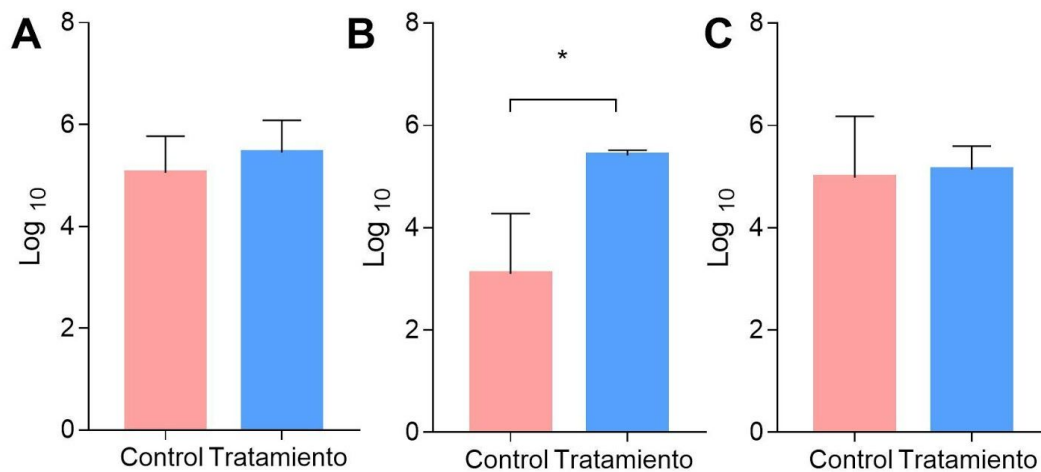


Figura 7. Recuento de *Clostridium* durante el proceso. **A)** día 0 **B)** día 30 **C)** día 45
* significancia $p \leq 0,05$

Se debe tener en cuenta que el proceso de compostaje por sí mismo no logra destruir la concentración de esta bacteria, la cual es esporulada, por lo que las temperaturas del compost no garantizan su completa eliminación; sin embargo, se observó disminución (figura 7). En Colombia, en la norma NTC 5167 de 2011 no se hace referencia a *Clostridium* spp. como parámetro de evaluación microbiológica. La reducción de *Clostridium* spp en el proceso de compostaje se debe a los volteos realizados durante su elaboración donde se permite la oxigenación en el proceso que favorece la multiplicación del bioinoculante y al ser *Clostridium* spp un microorganismo anaerobio se ve inhibido frente al oxígeno que se vuelve tóxico para este. Cabe resaltar que la heterogeneidad de las muestras, puede generar también la presencia de *Clostridium* spp (Matiz et al. 2017).

El proceso de compostaje adecuado, destruye eficazmente los patógenos vegetativos por las altas temperaturas (>60°C), sin embargo, se han reportado esporas de algunas especies de *Clostridium* que son altamente resistentes a la temperatura, desecación, así como a varios productos químicos y desinfectantes. Por lo tanto, las esporas de estas especies de *Clostridium* pueden sobrevivir en compost, incluso después del tratamiento de compostaje (Usui 2017).

6.2.2.4 Protozoos y Helmintos de origen animal

Dada la composición material compostado (mortalidad con órganos intestinales y restos fecales), se esperaba abundante presencia de parásitos gastrointestinales (PGI); sin embargo, los resultados obtenidos por los métodos de sedimentación y flotación, evidenciaron la presencia de quistes de *Balantidium coli* (*B. coli*), y huevos de *Ascaris suum* (*A. suum*) y *Strongylus* spp.

Como se presenta en la figura 8(A) hubo presencia de quistes de *B. coli* en el control en las tres épocas evaluadas. Sin embargo, al comparar con el tratamiento se observa que solo hay presencia del parásito en el día 30. Así mismo, en la figura 8(B) se presentan los resultados de *A. suum* teniendo presencia en el control solo en el día 30 y en el tratamiento se presenta un aumento en este mismo día en donde hubo una diferencia significativa con un P valor <0,05. Por último, en la figura 8(C), se evidencia que en el control no hubo presencia de *Strongylus* sp, en comparación del tratamiento en donde se presentó a los 30 y 45 días del muestreo.

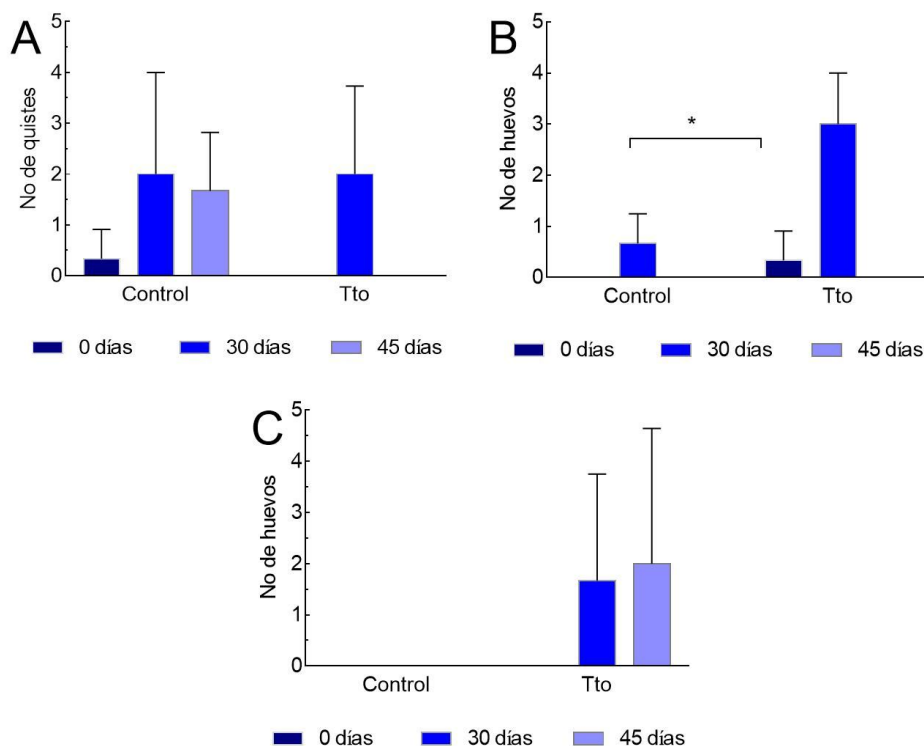


Figura 8. Presencia de quistes compatibles con *B. coli* (A) y huevos compatibles con *A. suum* (B) y *Strongylus* sp.(C) en el proceso de compostaje. * significancia $p \leq 0,05$

Balantidium coli tiene como hospedero principal el cerdo. Este parásito puede encontrarse en forma de trofozoito o como quiste; en los resultados obtenidos se encontró la presencia del parásito en forma de quiste al los 30 días del tratamiento. En la literatura está reportado que distintos factores como el pH y la temperatura pueden influir en la persistencia del parásito en el ambiente (Betancur *et al*; 2017). A los 30 días del proceso ya se había alcanzado la máxima temperatura y el pH se estaba empezando a acidificar, por lo cual el quiste le puede conferir resistencia de tal forma que tenga la capacidad de permanecer por más tiempo en tratamiento.

En la literatura está reportado que los huevos de *A. suum* se pueden inactivar a una temperatura de 45°C (Arianne L *et al*; 2018), lo que se puede relacionar con los resultados obtenidos en el día 0 del proceso en donde, en comparación con el día 30 es menor, esto puede deberse a una inactivación a causa de la temperatura, debido a que la máxima alcanzada (49°C) fue superior a la reportada.

Como se presenta en la figura 8, hay un aumento de protozoos y helmintos a los 30 días del tratamiento. Esto puede deberse a que probablemente en el muestreo, en los volteos realizados o en la disposición de los cajones se presentó contaminación cruzada con protozoos como *Eimeria* sp, e *Isospora* sp, y/o con helmintos como *Trichinella* sp y *Trichuris* sp, quienes también como uno de sus hospederos es el cerdo y por ende se esperaría encontrar estos parásitos en las muestras analizadas (Mendoza M, Pulido A, *et al*; 2015).

Por otro lado, el aumento de protozoos y helmintos en los últimos días del proceso está relacionado con el manejo de los cajones debido a que en el control no se realizaron volteos durante el proceso, por lo cual la toma de muestras se realizó de la superficie del material dispuesto en el cajón por lo que no se obtenía una homogeneización en esta. Sin embargo, al comparar con el tratamiento en donde se realizaron volteos cada 15 días, las muestras fueron homogeneizadas de tal forma que los parásitos que se encontrarán en el fondo del cajón estuvieran presentes en la parte superior haciendo que en el muestreo se evidenciará su presencia por medio de las técnicas utilizadas haciendo una presencia constante durante el proceso.

En los resultados obtenidos por medio de la tinción de Ziehl neelsen se evidenció la presencia de ooquistes compatibles con *Cryptosporidium* sp. Como se observa en la figura 9, en el día 0 (cero) del proceso se presentó una cantidad aproximada de ooquistes tanto en el control (4 ooquistes) como en el tratamiento (3 ooquistes). Al comparar el inicio del proceso con los días 30 y 45 (en donde se volvieron a tomar muestras) se evidencia que hay una disminución obteniendo 2 ooquistes en el tratamiento del día 30 y, la presencia de 1 ooquiste en el control y 4 ooquistes en el tratamiento al final de proceso.

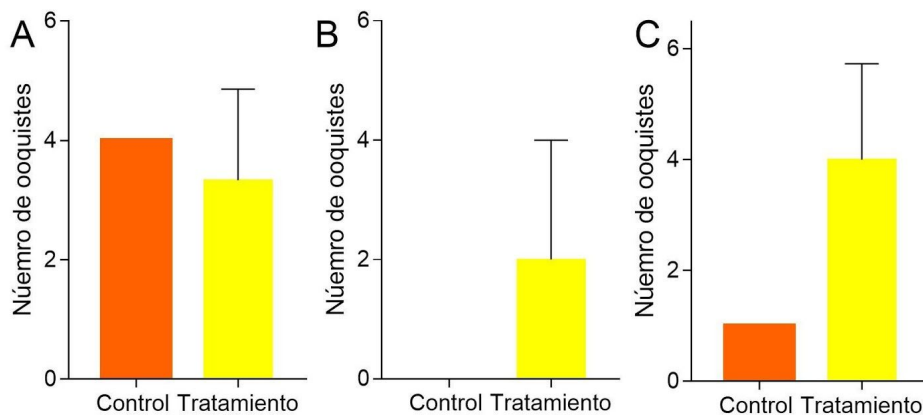


Figura 9. Presencia de ooquistes compatibles con el proceso de compostaje a lo largo del proceso. A) día 0. B) día 30. C) día 45.

En el estudio realizado por Herk Van F. y colaboradores en el 2004, se reporta que los ooquistes de *Cryptosporidium* sp. pueden ser inactivados a una temperatura de 50°C. En los resultados obtenidos y presentados en la figura 9 se evidencia que en los primeros 30 días del proceso hay una disminución de ooquistes los que está relacionado con la temperatura máxima alcanzada del proceso la cual fue de 49°C, por lo cual se pudieron a ver inactivado los ooquistes presentes. Sin embargo, en la literatura está reportado que la contaminación por *Cryptosporidium* sp. se puede dar por el contacto con agentes contaminados como agua, lixiviados o por un proceso de zoonosis (Mendoza M, Pulido A, *et al*; 2015) Esto, se relaciona con el aumento del parásito en los últimos días del proceso en donde se pudo haber dado una re-contaminación por parte del personal al momento de hacer los volteos o la toma de muestras a analizar.

Por último, aunque estos parásitos pueden ser patógenos tanto para humanos como para porcinos, la cantidad detectada no altera la calidad de compost obtenido y no representa riesgo para la salud pública y animal.

7. CONCLUSIONES

La adición de un bioinoculante compuesto por un consorcio bacteriano del género *Bacillus* sp. y *Talaromyces sayulitensis*. HC1 (tratamiento 1) bajo las condiciones evaluadas, no presenta un efecto sobre la degradación de mortalidad porcícola

La adición del bioinoculante permitió reducir microorganismos patógenos en el compostaje, aunque en el tiempo de finalización del proceso (día 45) se presentó una reactivación de algunos patógenos como *Salmonella*, coliformes totales y Ooquistes de *Cryptosporidium*, en la cantidad presentada no alteran la calidad del compostaje, y tampoco representa riesgos de salud para el animal y el ser humano.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer una optimización del medio a utilizar, de tal forma que se establezcan las fuentes de carbono y nitrógeno específicas requeridas para el crecimiento óptimo de los microorganismos

Es recomendable evaluar el recuento de los microorganismos amilolíticos, celulolíticos y proteolíticos durante el proceso de compostaje para determinar cuándo las poblaciones microbianas disminuyen, con el fin de realizar inoculaciones en esos periodos y favorecer la degradación de la materia orgánica por parte de los microorganismos inoculados.

Es importante evaluar el efecto de la inoculación del consorcio bacteriano y *Talaromyces sayulitensis*. HC1 en los cajones de compostaje, los microorganismos pueden comportarse diferente en los cajones de compostaje debido a que las condiciones varían.

Realizar un análisis más detallado y preciso de los parámetros fisicoquímicos, ya que son factores determinantes en cuanto a la efectividad del bioinoculante en el compostaje.

Analizar de manera más detallada la influencia de microorganismos patógenos en el compostaje, para así evitar riesgos tanto en la salud humana ,como en el animal.

9. BIBLIOGRAFÍA

Allen F. Harper MJE. Composting for Mortality Disposal on Hog Farms. Virginia Coop Extension, Virginia Tech, Virginia State Univ. 2009;1

Arianne L, Paller V. Effect of Various Composting Methods on the Concentration and Viability of *Ascaris suum* Eggs in Organic Fertilisers. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.*41(2): 687 – 698, 2018.

Asociación Colombiana de Porcicultores. Informe de los proyectos de inversión desarrollados durante el año 2013. Bogotá: Fondo Nacional de la Porcicultura, 2013.

Berge A., Glanville TD, Millner P, Klingborg D. Methods and microbial risks associated with composting of animal carcasses in the United States. *J Am Vet Med Assoc.* 2009; 234:47–56.

Berg G. Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied microbiology and biotechnology*, 84(1): 11-18, 2009.

Bernal MP, Albuquerque JA, Moral R. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. *Bioresource technology*. 100 (22): 5444–5453, 2009. doi:10.1016/j.biortech.2008.11.027

Betancourt O, Betancourt A, Estrada J, et al. Persistence of pathogens in liquid pig manure processed in manure tanks and biodigesters. *Rev.MVZ Córdoba* 21(1):5237-5249, 2016.

Bennett DM. [No Title]. *Br J Psychiatry* [Internet]. 2014;205(1):76–7. Available from:https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0007125000277040/type/journal_article

Blanco AS, Durive OP, Pérez SB, Montes ZD, Guerra NP. Simultaneous production of amylases and proteases by *Bacillus subtilis* in brewery wastes. *brazilian journal of microbiology*, 47(3): 665-674, 2016. doi:10.1016/j.bjm.2016.04.019

Bruinsma J. *World agriculture: towards 2015/2030: an FAO perspective*. Earthscan, 160-164, 2015.

Bonhotal J, Schwarz M, Rynk R. Composting Animal Mortalities. Cornell Waste Management Institute, 1-23, 2014.

Casco M, Herrero M. Compostaje. 2008;

Chowdhury AK, Akrotos CS, Vayenas DV & Pavlou S. Olive mill waste composting: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 85, 108-119, 2013.

Correa A. Evaluación de la producción de celulasas y xilanasas empleando *Penicillium* sp. HC1 en cultivo sumergido sobre cascarilla de cebada. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología. Bogotá, Colombia 1-52, 2016.

Díaz CA, Rodríguez MN, Vera VJ, Ramírez G, Casas GA, Mogollón JD. Caracterización de los sistemas de producción porcina en las principales regiones porcícolas colombianas. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2011; 24:131-144

Elorrieta MA, López MJ, Suárez-Estrella F, Vargas-García MC, Moreno J. Composting of different horticultural wastes: effect of fungal inoculation. Insam H, Riddech N, Klammer S, editors. *Microbiology of composting*. Berlin: Springer. 119–132, 2002.

Ferrari C V., Sbardella PE, Bernardi ML, Coutinho ML, Vaz IS, Wentz I, et al. Effect of birth weight and colostrum intake on mortality and performance of piglets after cross-fostering in sows of different parities. *Prev Vet Med*. 2014;114(3–4):259–66

Fadzilah, K, Saini HS, Atong M. Identification of Microbial Population during Oil Palm Frond (OPF) Composting using Light and Scanning Electron Microscopy. *Journal Of Agrobiotechnology*, 6: 33-5, 2015.

Galindo L, Londoño N. Aislamiento de bacterias termofílicas y hongos mesófilos a partir de la fracción orgánica de residuos sólidos. Urbanos. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología. Bogotá, Colombia P 1-103 ,2005.

Gutierrez-Rojas I, Tibasosa-Rodríguez, G, Moreno-Sarmiento N, Rodríguez-Bocanegra MIX, Montoya D. Carbon and nitrogen sources differently influence *Penicillium sp.* HC1 conidiation in solid and liquid culture. *African Journal of Microbiology Research*. 9(47): 2290-2299, 2015.

Gwyther CL, Williams AP, Golyshin PN, Edwards-Jones G, Jones DL. The environmental and biosecurity characteristics of livestock carcass disposal methods: A review. *Waste Manag* . 2011;31(4):767–78.

Harper A. Composting for mortality disposal on hog farms. Virginia State University, 2009.

Herk Van F, McAllister T, Cockwill C, et al. Inactivation of Giardia Cysts and Cryptosporidium Oocysts in Beef Feedlot Manure By Thermophilic Windrow Composting. *Compost Science & Utilization*: 12(3); 2004.

Hmidet N, El-hadj Ali N, Haddar A, Kanoun S, Alya SK, Nasri M. Alkaline proteases and thermostable α -amylase co-produced by *Bacillus licheniformis* NH1: Characterization and potential application as detergent additive. *Biochemical Engineering Journal* 47(1-3):71-79, 2009.

Info Agro. ¿Qué es el compostaje? 2005;(37):3.

Ji R, Chen Z, Corvini PFX, Kappler, Brune A, Haider K, Schaffer A. Synthesis of [¹³C]- and [¹⁴C]-labeled phenolic humus and lignin monomers. *Chemosphere*. 60: 1169–1181, 2005.

Kalbasi A, Mukhtar S, Hawkins SE & Auvermann BW. Carcass composting for management of farm mortalities: A review. *Compost science & utilization*, 13(3): 180-193, 2005.

Knauer MT & Hostetler CE. US swine industry productivity analysis, 2005 to 2010. *J Swine Health Prod*, 21: 248-52,2013.

Kumar R, Verma D, Singh BL, Kumar U. Composting of sugar-cane waste by-products through treatment with microorganisms and subsequent vermicomposting. *Bioresource Technology*, 101(17): 6707-6711, 2010. doi: 10.1016/j.biortech.2010.03.111

Langston J, Carman,D, VanDevender, K. & Boles JC (2002). Disposal of swine carcasses in Arkansas. MP397- 5M-9-97N, Cooperative Extension Service, Division of Agriculture, University of Arkansas. Little Rock, AR 72204

Li Z, Lu H, Ren L, He L. Experimental and modeling approaches for food waste composting: A review. *Chemosphere*, 93(7), 1247-1257, 2013

Makan A, Assobhei O, Mountadar M. Effect of initial moisture content on the in-vessel composting under air pressure of organic fraction of municipal solid waste in Morocco. *Iranian journal of environmental health science & engineering*, 10(1): 3, 2013. doi: 10.1186/1735-2746-10-3

María Ester Cariello, L. C., & González, J. Inoculante de microorganismos endógenos para acelerar el proceso de compostaje de residuos sólidos urbanos. *Scielo*, 7(3), 26-37, 2010

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, Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia. 2015.

Meléndez y Soto. Taller de abonos orgánicos. Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica y la Cámara de Insumos agropecuarios no sintético, 2013

Microorganismos implicados en el proceso de elaboración de compost [Internet] [citado 19 Jun 2018]. Disponible en: <http://www.ugr.es/~cjl/compost.pdf>.

Miller, G. Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31,426-428, 1959. doi: 10.1021/ac60147a30

Misra RV, Roy RN, Hiraoka H. *On-farm composting methods*. Rome, Italy: UN-FAO, 2016

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. doi:10.1590/S1517-83822012000300033

Muthukrishnan S. Optimization and Production of Industrial Important Cellulase Enzyme from *Penicillium citrinum* in Western Ghats of Sathuragiri Hills Soil Sample Isolat, 5(1): 7-16, 2017. doi: 10.13189/ujmr.2017.050102

Nakasaka K, Hirai H. Temperature control strategy to enhance the activity of yeast inoculated into compost raw material for accelerated composting. *Waste Management*, 1-8, 2017 doi:10.1016/j.wasman.2017.04.019

Nikiforova OA, Klykov S, Volski A, Dicks LM, Chikindas ML. Subtilisin A production by *Bacillus subtilis* KATMIRA 1933 and colony morphology are influenced by the growth medium. *Annals of Microbiology*, 66(2): 661-671, 2016. doi:10.1007/s13213-015-1149-3

Norma Técnica Colombiana 5842. Bioinoculantes para Uso Agrícola, Inoculantes Biológicos. Editada por ICONTEC. Bogotá. Colombia. 6, 2011.

Norma Técnica Colombiana 5167. Productos Para la Industria Agrícola. Productos Orgánicos Usados como Abonos o Fertilizantes y Enmiendas de Suelo. Editada por ICONTEC. Bogotá – Colombia. 96, 2011.

Nolan T, Troy SM, Healy MG, Kwapinski W, Leahy JJ, Lawlor PG. Characterization of compost produced from separated pig manure and variety of bulking agents at low initial C/N ratios. *Bioresource technology*, 102: (14): 7131–7138, 2011. doi:10.1016/j.biortech.2011.04.066

Oviedo E, Marmolejo L, Torres P (2014) Evaluation of the Addition of Wood Ash to Control the pH of Substrates in Municipal Biowaste Composting. *Ingeniería Investigación y Tecnología*3 (15): 469-478.

Owen D, Williams AP, Griffith GW, Withers PJA. Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphorus acquisition. *Applied Soil Ecology*. 86: 41-54, 2014.

Padmapriya M, Williams BC. Purification and characterization of neutral protease enzyme from *Bacillus subtilis*. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 2(4): 612-618, 2017.

Pailli ME. Determinación de la actividad celulolítica, ligninolítica y amilolítica de actinobacterias aisladas de suelo rizosférico de trébol blanco. 2012;1–44.

Pan I, Sen S. Microbial and physico-chemical analysis of composting process of wheat straw. *Indian Journal of Biotechnology*. 12 (1): 120-128, 2013.

Panda SK, Mishra SS, Kayitesi E & Ray RC. Microbial-processing of fruit and vegetable wastes for production of vital enzymes and organic acids: Biotechnology and scopes. *Environmental research*. 146: 161-172, 2016.

Piewthongngam K, Pathumnakul S, Homkhampad S. An interactive approach to optimize production-distribution planning for an integrated feed swinecompany. *Int J Prod Econ* [Internet]. 2013;142(2):290–301.

Porcicultura.com [Internet]. México: Sánchez; 2017 [actualizado 15 May 2017; citado 19 Jun 2018].

Pontificia Universidad Javeriana. Colombia: Laboratorio de parasitología; 2016 [Citado 27 Nov 2018].

Price MF, Wilkinson ID, Gentry LO. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*, 20(1): 7-14, 1982.

Rashad FM, Saleh WD, Moselhy MA. Bioconversion of rice straw and certain agro-industrial wastes to amendments for organic farming systems: 1. Composting, quality, stability and maturity indices. *Bioresource Technology*, 101(15): 5952-5960, 2010. doi:10.1016/j.biortech.2010.02.103

Rodríguez D & Ruiz M. Evaluación de un inóculo termofílico con actividad enzimática amilolítica y proteolítica acelerador del proceso de compostaje en diferentes mezclas de residuos sólidos urbanos. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia, 2006.

Román O. Manual de compostaje del agricultor. Santiago de Chile: FAO. 2013: 122

Rudnik E. Compostable polymer materials. Elsevier. 92-93, 2010.

Sarkar P K, & Nout MR. Handbook of Indigenous Foods Involving Alkaline Fermentation. CRC Press. Ed Taylor & Francis group. 260, 2014.

Singh P, Singh R, Gupta P, Shrivastava A. α -Amylase Production by *Bacillus amyloliquefaciens* using Agro wastes. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 5(1): 3265- 3269, 2014.

Sjostrom E. Wood chemistry: fundamentals and applications. Elsevier, Segunda edición: 54-71, 2013.

Stres B, Danevčič T, Pal L, Fuka MM, Resman L, Leskovec S, Mandic-Mulec I. Influence of temperature and soil water content on bacterial, archaeal and denitrifying microbial communities in drained fen grassland soil microcosms. *FEMS microbiology ecology*, 66(1): 110-122, 2008. doi:10.1111/j.1574-6941.2008.00555.x

Sundberg C, Franke-Whittle IH, Kauppi S, Yu D, Romantschuk M, Insam H, Jönsson H. Characterisation of source-separated household waste intended for composting. *Bioresource technology*, 102(3): 2859-2867, 2011. doi: 10.1016/j.biortech.2010.10.075

Sun P, Zhao X, Shangguan N, Chang D, Ma Q. The roles of inoculants' carbon source use in the biocontrol of potato scab disease. *Canadian journal of microbiology*, 61(4): 257-262, 2015.

Suman A, Yadav AN, Verma P. Endophytic microbes in crops: Diversity and beneficial impact for sustainable agriculture. In *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity. Research Perspectives*, Vol. 1. Springer-Verlag. 117-143, 2015.

Song C, Li M, Wei Z, Jia X, Xi B, Liu D, et al. Effect of inoculation with multiple composite microorganisms on characteristics of humic fractions and bacterial community structure during biogas residue and livestock manure co-composting. *J Chem Technol Biotechnol* [Internet]. 2016;91(1):155–64.

Teodoro CEDS, Martins MLL (2000) Culture conditions for the production of thermostable amylase by *Bacillus* sp. *Brazilian Journal of Microbiology* 31 (4): 298-302.

Topal EIA, Ünlü A, Topal M. Effect of aeration rate on elimination of coliforms during composting of vegetable–fruit wastes. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 5(3): 243-249, 2016. doi: 10.1007/s40093-016-0134-6

USEPA. Method 1682: Salmonella in Sewage Sludge (Biosolids) by Modified Semisolid Rappaport-Vassiliadis (MSR/V) Medium. *Environ Prot.* 2006;(July):42.

Usui M, Kawakura M, Yoshizawa N, San LL, Nakajima C, Suzuki, Tamura Y Survival and prevalence of *Clostridium difficile* in manure compost derived from pigs. *Anaerobe*, 43: 15-20, 2017. doi: 0.1016/j.anaerobe.2016.11.004

Uwe Hubner, Ulrich Bock, Karl Schugert. Production of alkaline serine protease subtilisin Carlsberg by *Bacillus licheniformis* on complex medium in a stirred tank reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 40 (2-3), 1993.

Vakili M, Rafatullah M, Ibrahim MH, Salamatinia B, Gholami Z & Zwain HM. A review on composting of oil palm biomass. *Environment, Development, and Sustainability*, 17(4): 691-709, 2015.

Van Fan Y, Lee CT, Leow CW, Chua LS, Sarmidi MR. Physico-chemical and biological changes during co-composting of model kitchen waste, rice bran and dried leaves with different microbial inoculants. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 20(6): 1447-145, 2016.

Vargas-García CM, Suárez-Estrella FF, López MJ, Moreno J. Influence of microbial inoculation and co-composting material on the evolution of humic-like substances during composting of horticultural wastes. *Process Biochemistry*. 41(6): 1438-1443, 2006.

Wang X, Cui H, Shi J, Zhao X, Zhao Y, Wei Z. Relationship between bacterial diversity and environmental parameters during composting of different raw materials. *Bioresour Technol*, 198: 395-402, 2015.

Wei B, Xi Y, Zhao W, Wang H, Liu Y, Jiang. Effect of inoculating microbes in municipal solid waste composting on characteristics of humic acid *Chemosphere*. 68 (2): 368–374, 2007.

Xi B, He X, Dang Q, Yang T, Li M, Wang X, et al. Effect of multi-stage inoculation on the bacterial and fungal community structure during organic municipal solid wastes composting. *Bioresour Technol*. 2015;196:399–405.

Zhang J, Zeng G, Chen Y, Yu M, Yu Z, Li H, Huang, H. Effects of physico-chemical parameters on the bacterial and fungal communities during agricultural waste composting. *Bioresour Technol*, 102(3): 2950-2956, 2011. doi: 10.1016/j.biortech.2010.11.089

10. ANEXOS

10.1 Anexo 1. Composición de Medios de cultivo

Medio combinado

Maicena 1,2 % (p/v)

Leche 1,2 % (p/v)

Glucosa 1 g/L.

Extracto de levadura 2,5 g/L.

Sulfato de amonio 1 g/L.

Cloruro de calcio 0,5 g/L.

Fosfato monobásico de sodio 0,5 g/L.

Fosfato dibásico de sodio 0,5 g/L.

Agar 15 g/L.

Medio almidón modificado

Almidón 10 g/L

Extracto de levadura 1,255 g/L.

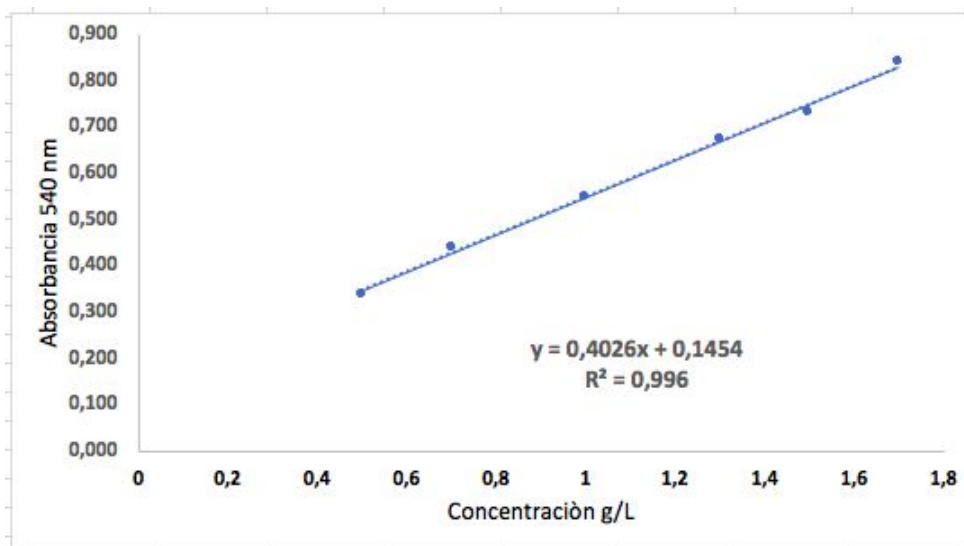
Sulfato de magnesio heptahidratado 0,5 g/L.

Cloruro de calcio 0,5 g/L.

Carbonato de calcio 0,5 g/L.

Fosfato dipotásico 1,0 g/L.

10.2 Anexo 2. Curva patrón glucosa (g/L)



10.3 Anexo 3. Características cualitativas



Imagen, Cajón de compostaje control



Imagen, Cajón de compostaje Tratamiento