

Elaboración y caracterización de bioles de residuos orgánicos

Elaboration and characterization of bioles from organic waste

Janneth Jara-Samaniego

Escuela Superior Politécnica
de Chimborazo
Riobamba, Ecuador

ljara@epoch.edu.ec

Alejandra Cruz-Torres

Escuela Superior Politécnica
de Chimborazo
Riobamba, Ecuador

acruz@epoch.edu.ec

Janneth Gallegos-Núñez

Escuela Superior Politécnica
de Chimborazo
Riobamba, Ecuador

jgallegos@epoch.edu.ec

RESUMEN: Se obtuvieron bioles, mediante la co-digestión anaeróbica de residuos de leguminosas y excretas de bovinos. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con 3 repeticiones por tratamiento. A cada una de las 3 mezclas base de materia orgánica se inocularon: bacterias ácido lácticas en cultivo mixto (T1), leche cruda (T2) y suero de leche (T3). Los sustratos se prepararon siguiendo una fórmula empírica y se fermentaron en un biodigestor artesanal de 6 Litros. Los bioles demostraron propiedades funcionales compatibles con su uso en la agricultura ecológica.

PALABRAS CLAVE: biomasa, contaminación ambiental, fertilizante, tratamiento de desechos

ABSTRACT: Bioles were obtained through the anaerobic co-digestion of plant residues and excreta from cattle. A completely randomized design was applied with 3 repetitions per treatment. To each of 3 base mixtures of organic matter were inoculated: lactic acid bacteria in mixed culture (T1), raw milk (T2) and whey (T3). The substrates were prepared by hand according to empirical formulas and fermented in a 6-liter artisanal biodigester. The bioles showed functional properties compatible with their use in organic farming.

PALABRAS CLAVE: biomass, environmental pollution, fertilizer, waste treatment

Recibido: 10-8-2020 | Aceptado: 17-03-2021

CÓMO CITAR (APA): Jara-Samaniego, J. et al. (2021). Elaboración y caracterización de bioles de residuos orgánicos. *InterSedes*, 22(45), 189-203. DOI 10.15517/isucr.v22i45.46013

Introducción

En sentido general, un biofertilizante es un producto que contiene microorganismos vivos. Después de su aplicación en semillas, plantas o suelos, éstos colonizan la rizósfera o la superficie de los tejidos vegetales desarrollando varias actividades fisiológicas (Naganda, Das, Bhattacharya, Kalpana, 2010). Sin embargo, este término no es muy claro porque se asocia a muchos compuestos tales como: extractos de plantas, residuos urbanos compostados, mezclas microbianas con constituyentes definidos y se incluye también fertilizantes químicos suplementados con compuestos orgánicos (Boraste et al., 2009).

A los biofertilizantes se les atribuye el mantenimiento del balance físico químico y biológico en el sistema planta suelo, lo cual mantiene la fertilidad del suelo y suministra nutrientes en un nivel óptimo para sostener la productividad del cultivo mejorando las utilidades de los agricultores (Hazarika et al., 2015). Además, las comunidades microbianas promueven la salud de las plantas y ayudan a soportar la salinidad, la sequedad y la acidez de los suelos (Smith et al., 2015). Por otra parte, los efectos sinérgicos de los microorganismos también conducen a la biorremediación de suelos contaminados por la agricultura intensiva, al mejoramiento de los cultivos y la restauración de suelos dañados (Seufert, 2012).

En muchos países de América Latina, se han usado como biofertilizantes productos llamados popularmente bioles. Estos productos corresponden a la fracción líquida de la co-digestión anaeróbica de residuos orgánicos. Este efluente líquido contiene bajo potencial de biogás residual pero alta concentración de Demanda Química de Oxígeno (DQO), Nitrógeno total y amoniacal así como nutrientes (Xia y Murphy, 2016).

Se conoce que la digestión anaeróbica ha sido ampliamente utilizada en países desarrollados para el tratamiento de un gran número de residuos orgánicos con la finalidad de obtener metano, un biogás usado como carburante de vehículos, cogeneración de energía eléctrica y energía térmica. Sin embargo, en estos países prácticamente no existen aplicaciones de la fracción líquida, en contraste a la experiencia regional de Latinoamérica y El Caribe.

En efecto, en el campo los bioles se elaboran de modo artesanal, en base a conocimientos empíricos, sin una composición química

definida. Algunos estudios revelan que sus características químicas y nutricionales dependen del origen de la materia orgánica, de las condiciones climáticas y del tipo de biodigestor.

En base a lo mencionado, este trabajo se enfocó en la preparación de bioles, a escala de laboratorio, a partir de excretas de bovinos y residuos de leguminosas, provenientes de un matadero y del Mercado Mayorista ubicados en la ciudad de Riobamba-Ecuador. Se realizaron análisis biológicos y físico químicos con la finalidad de caracterizar estas formulaciones, conocer su valor nutricional, gestionar adecuadamente los residuos orgánicos destinados a veredero y sobre todo dar el soporte científico a un producto de uso tradicional en agricultura orgánica en países latinoamericanos.

Materiales y métodos

Lugar de estudio

El trabajo experimental se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias y en el Centro de Acopio de residuos sólidos de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

Materia prima

Por muestreo aleatorio simple, se recolectaron muestras representativas de 24 Kg de excretas de bovinos y 4 Kg de hojas de leguminosas: habas (*Vicia faba*), fréjol (*Phaseolus vulgaris*), arveja (*Pisum sativum*) y alfalfa (*Medicago sativa*).

En el sustrato, se analizaron los contenidos de nitrógeno total, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro y humedad de acuerdo al procedimiento específico de ensayo para fertilizantes (Laboratorio de Agrocalidad Ecuador). El pH y la Conductividad Eléctrica (CE) se determinaron en extracto acuoso 1:10 (peso/volumen). La materia orgánica (MO) se determinó por pérdida de peso por ignición a 430°C durante 24 horas. Estos análisis se realizaron en los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

El contenido de carbono orgánico (C org) para estimar la relación C/N se calculó según la expresión $C_{org} = MO/1.84$, donde, MO es materia orgánica (Iglesias y Pérez, 1992).

Adecuación de biodigestores artesanales

Las botellas de polietilentereftalato (PET) de 6 L de capacidad, fueron adaptadas como biodigestores. En su parte lateral superior se colocó una manguera plástica de 5 mm de diámetro para la salida de los gases formados durante la fermentación, los cuales fueron recogidos en una botella plástica de 500 mL colocada en el extremo opuesto de la manguera. Se perforó la tapa para insertar un termómetro. Las conexiones fueron selladas herméticamente para evitar el escape de gases a la atmósfera.

Microorganismos: Aislamiento, purificación, caracterización y selección de bacterias ácido lácticas a inocular

A partir de una muestra de suero de leche se prepararon diluciones decimales seriadas en agua de triptona para obtener aislamientos de bacterias ácido lácticas (BAL) en medio Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA Oxoid CM0361) acidificado a pH 5,4 y suplementado con actidiona. Los cultivos se incubaron en microaerofilia a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48-72 h.

Para seleccionar las BAL se examinó la morfología macroscópica y microscópica de las colonias purificadas. Los aislamientos típicos se confirmaron con los ensayos de catalasa, oxidasa, y la tinción Gram (Holzapfel, Wood, 2014).

Seis colonias típicas de BAL fueron sometidas a pruebas de antagonismo para lo cual, una suspensión de cada cepa en solución salina al 0,85%, se ajustó a la turbidez del estándar 0.5 Mac-Farland y se inoculó masivamente por separado sobre placas de (MRSA Oxoid CM0361). Las 5 cepas restantes se inocularon por separado en el centro de cada placa con siembra masiva, los cultivos se incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 h. Después se observó si había o no zonas de inhibición (Younis, Awass, Dawod, Yousef, Nehal, 2017). En ningún caso se presentó antagonismo entre los aislamientos. Se empleó un inóculo de 20mL de un cultivo en leche descremada de cada una de las 6 cepas para conformar el cultivo mixto de BAL.

Montaje y monitoreo del experimento

Se emplearon 10 biodigestores artesanales. El tratamiento testigo (To) consistió en una mezcla de 2400 g de estiércol, 240 g de leguminosas, 120 g de azúcar, 120 g de ceniza, 24 g de levadura

(*Saccharomyces cerevisiae*), 60 g de cáscara triturada de huevo y se agregó 3000 mL de agua libre de cloro. Los tres tratamientos comparativos se formaron por la mezcla de residuos del tratamiento testigo y la adición de 120 mL de un cultivo mixto de BAL (T_1), 120 mL de leche pura (T_2) y 120 mL de suero de leche (T_3). A lo largo del proceso se monitoreó la evolución del pH y la temperatura y se inspeccionaron los cambios de aspecto, color y olor de los materiales en co-digestión, desde el inicio del proceso hasta su estabilización.

Una vez concluido el proceso, evidenciado por la ausencia de generación de biogás, el biol se separó del digestato a través de un tamiz fino de lienzo y se almacenó a temperatura ambiente (12°C) y en oscuridad.

Diseño experimental

Se empleó un Diseño Completo al Azar (DCA) con un total de tres tratamientos con sus respectivas réplicas y el testigo; el número de unidades experimentales fue $(\text{txr})+1=10$. Los resultados se analizaron utilizando el programa INFOSTAT versión 2017.

Análisis físico-químicos del biol

En la fracción líquida estabilizada de la co-digestión anaeróbica, se analizó: Nitrógeno total, Fósforo, Potasio, Calcio, Magnesio, Demanda Química de Oxígeno (DQO), Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5) de acuerdo con métodos analíticos estandarizados.

Análisis microbiológico

En los bioles se analizaron los indicadores de calidad higiénico-sanitaria, coliformes totales y coliformes termotolerantes siguiendo la metodología del Bacteriological Analytical Manual (Molina-Bolívar y Jiménez-Pitre, 2017).

Resultados

Los resultados de la caracterización química del sustrato empleado en la co-digestión anaerobia, se indican en la Tabla 1.

TABLA 1

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL SUSTRATO

Parámetro	Muestra inicial	Método
Nt (%)	2.2	PEE/F/14
² P ₂ O ₅ (%)	1.19	PEE/F/04
² K ₂ O (%)	2.92	PEE/F/19
² CaO (%)	8.32	PEE/F/11
² MgO (%)	1.23	PEE/F/11
Fe (%)	0.39	PEE/F/12
MO (%)	64.98	PEE/F/09
Humedad	79.35	PEE/F/18

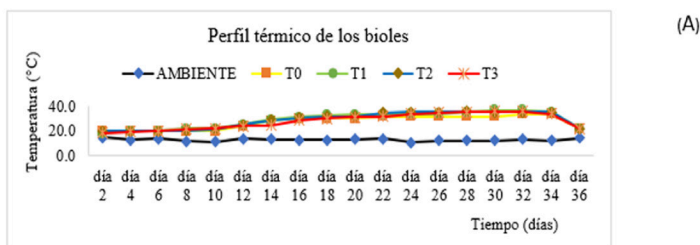
² Resultado obtenido por cálculo

PEE/F= Procedimiento Específico de Ensayo/Fertilizantes, Nt= Nitrógeno total, P₂O₅= Fósforo, K₂O= Potasio, CaO=Calcio, MgO=Magnesio, MO=Materia orgánica

El proceso de co-digestión anaerobia se desarrolló bajo temperaturas mesófilas y duró 36 días. La evolución de la temperatura y el pH se aprecian en la Figura 1 (A) y (B).

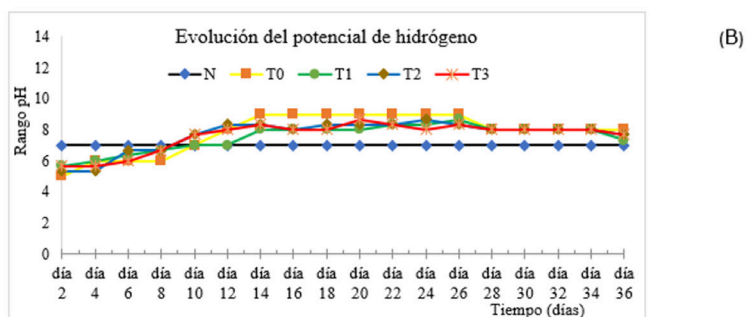
FIGURA 1

(A) PERFIL TÉRMICO DE BIOLES



T₀= Testigo, T₁= Mezcla base + cultivo de BAL, T₂= Mezcla base + leche cruda,
T₃= Mezcla base + suero de leche

(B) EVOLUCIÓN DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO



N=pH normal, T₀=Testigo, T₁=Mezcla base + cultivo de BAL, T₂= Mezcla base + leche cruda, T₃= Mezcla base + suero de leche

La evolución de la temperatura durante la codigestión anaeróbica de los sustratos T₀, T₁, T₂ y T₃, correspondió al rango mesofílico, mientras la temperatura ambiental se mantuvo en el orden de los 12°C. Figura 1 (A)

Los valores de conductividad eléctrica de los bioles fueron: T₀ (2840 μS/cm), T₁ (2910 μS/cm), T₂ (2740 μS/cm) y T₃ (2770 μS/cm).

El análisis organoléptico de los bioles se llevó a cabo sobre el producto estabilizado y se muestra en la Tabla 2.

TABLA 2
ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DE LOS BIOLES

Tratamiento	Color	Olor	Aspecto
T ₀	Verde oscuro	Putrefacto	Grumoso
T ₁	Café claro	Herbáceo	Lodoso
T ₂	Café claro	Herbáceo	Lodoso
T ₃	Café oscuro	Herbáceo	Lodoso

T₀= Testigo, T₁= Mezcla base + cultivo de BAL, T₂= Mezcla base + leche cruda, T₃= Mezcla base + suero de leche

En la Tabla 3 se aprecian las principales características de los bioles obtenidos en los diferentes tratamientos, las mismas que indican el contenido en nutrientes en el producto obtenido.

TABLA 3
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LOS BIOLES

Parámetro	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	Probabilidad	Significancia
Nt (%)	0.30 a	0.28 a	0.31 a	0.26 a	0.259807849	ns
P ₂ O ₅ (%)	0.451 c	0.1259 a	0.1284 b	0.2579 d	2.58119E-16	**
K ₂ O (%)	0.3520 b	0.3485 b	0.3072 a	0.3440 b	0.002206596	**
CaO (%)	1.3938 b	1.3342 a b	1.6035 c	1.1978 a	0.000449504	**
MgO (%)	0.1919 a	0.1945 b	0.2174 d	0.1965 c	7.3956E-08	**
Fe (%)	0.0159 b	0.0124 a	0.0121 a	0.0187 c	4.50349E-05	**
DQO (mg/L)	67 800 b	68 100 b	80 400 c	46 400 a	2.55332E-08	**
DBO ₅ (mg/L)	26 300 c	24 800 b	33 700 d	19 300 a	1.33005E-08	**

Nt= Nitrógeno total, P₂O₅= Fósforo, K₂O= Potasio, CaO=Calcio, MgO= Magnesio, DQO= Demanda Química de Oxígeno, DBO= Demanda Bioquímica de Oxígeno.

**Estadísticamente significativo p<0.001. ns= no significativo. Valores medios en Columnas seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes a p<0.05 (Tukey-b test).

Análisis microbiológico

Los resultados del análisis microbiológico de los bioles evidenciaron la ausencia de coliformes totales, y coliformes termotolerantes (UFC/ mL).

Discusión

Los productos finales de la digestión anaerobia fueron tres: biogás, digestato o fracción semisólida o sólida y el biol o la fracción líquida. En la actualidad, la mayoría de los estudios de co-digestión anaeróbica realizados en países desarrollados, se han centrado en la obtención de biogás, pues constituye una fuente de energía renovable y amigable con el ambiente que puede reemplazar el uso de combustibles fósiles, minimizando las emisiones de gases efecto invernadero (Visva, Vaibhav, Ajay, 2018). La fracción sólida del digestato (separada por prensas de tornillo, de tambor, mallas vibratorias y centrifugación) pueden ser compostadas o aplicadas directamente como fertilizante orgánico (Tambone, Terruzzi, Scaglia, Adani, 2015; Zeng, De Guardia Dabert, 2015). La fracción líquida, por ser rica en nitrógeno total, nitrógeno amoniacal (Xia, Murphy, 2016) y por presentar altas concentraciones de DQO (Ganesh y otros, 2013; Li y otros, 2015) es separada del digestato e ingresa como inóculo a nuevos procesos de digestión. Si se dispone este líquido en los suelos puede generar problemas como la lixiviación de nitrógeno (Svoboda y otros, 2013) y la infiltración en aguas subterráneas, contaminando ríos cercanos y afectando la vida acuática. En América Latina, esta tecnología ha servido de base para la obtención de la fracción líquida, utilizada, en mezcla con agua, como un biofertilizante foliar por su contenido de macro y micronutrientes, este producto ha tenido amplias aplicaciones en agricultura orgánica. En este trabajo se ha conjugado el fundamento teórico de la digestión anaerobia con las prácticas tradicionales de países en desarrollo con el fin de establecer si una de las fórmulas empíricas empleadas para la elaboración de bioles resulta efectiva o puede ser mejorada. Adicionalmente, el conocimiento de la composición química de esta fracción permitirá su correcta valorización.

Relación C/N inicial

La composición química de los substratos empleados (sin inóculos) en la co-digestión anaerobia se ha resumido en la Tabla 1. La relación C/N inicial influye notablemente en la producción de biogás (Wang, 2012), por lo tanto, en la actividad microbiana. En este experimento la formulación empírica presentó una relación C/N de 16.66. (Puyuelo, Ponsa, Gea, Sánchez, 2011), indican que la relación C/N óptima es 20-30 para la producción de biogás, se puede tomar estos valores como referentes de una digestión anaeróbica adecuada y por lo tanto de la generación de su efluente-líquido. Desde este criterio, la relación C/N inferior a los valores referenciados resulta desfavorable, por lo que para mejorar esta fórmula empírica, se debería añadir materiales lignocelulósicos ricos en carbono, tales como rastrojo de maíz, paja, cascarilla de arroz, poda de árboles, residuos de cosechas (Rahman y otros, 2017; Jara-Samaniego, 2017).

Parámetros físico químicos

Los valores de pH de los tres tratamientos fluctuaron ligeramente sobre el rango de neutralidad mientras el tratamiento testigo presentó un pH 6, ligeramente ácido.

Cabe anotar que la evolución del pH de los tratamientos varía en dependencia de la etapa del proceso. Un pH entre 7.0 y 8.0 es adecuado para la degradación de proteínas y entre 6.0 y 9.0 para la degradación de carbohidratos (Walker, 2010).

Los valores de Conductividad eléctrica de los 3 tratamientos fluctuaron entre 2740 y 2910 $\mu\text{S}/\text{cm}$, estos valores son mucho más bajos que los obtenidos por (Akhiar, Battimelli, Torrijos, Carre-re, 2017), cuyos valores oscilan entre 14000 y 38000 $\mu\text{S}/\text{cm}$; por tanto, los bioles obtenidos presentan baja salinidad, favoreciendo su aplicación directa en agricultura orgánica.

Análisis organoléptico

Los bioles obtenidos en los 3 tratamientos presentaron olor herbáceo, sus coloraciones fluctuaron en una gradiente de café oscuro y su aspecto fue lodoso homogéneo. Por el contrario, el tratamiento testigo T_0 , presentó un olor desagradable, con un color verdoso y un aspecto grumoso, indicando en este caso que la

co-digestión de materiales orgánicos evolucionó hasta la hidrólisis completa de proteínas con producción de aminoácidos implicados en los olores de la putrefacción.

Composición en nutrientes

La capacidad fertilizante de un producto depende principalmente de las concentraciones de tres nutrientes esenciales para las plantas: nitrógeno, fósforo y potasio. Para los biofertilizantes, estos valores varían en función de la clase de residuos empleados y del tipo de tratamiento. En el caso de los bioles no se dispone de valores de referencia para establecer su calidad, sin embargo, se conoce que su composición puede variar en función de los sustratos de origen, los parámetros de operación usados en la digestión y el tipo de separación sólido-líquida; sabiendo que este último parámetro define las concentraciones de macro y micronutrientes (Akhlar, Battimelli, Torrijos, Carrere, 2017). De ahí, la necesidad de estandarizar los procedimientos de obtención para cada tipo de biol, caracterizarlos y llegar a validarlos.

El estudio comparativo entre los bioles obtenidos, no mostró diferencias significativas en los contenidos de nitrógeno indicando un proceso similar de degradación de materia orgánica por parte de la microbiota implicada, proveniente del sustrato base (excretas, residuales de leguminosas, levaduras) y de las adiciones de cultivos de BAL, leche y suero lácteo residual. En este sentido, conviene emplear el residuo industrial antes que los otros materiales. El tratamiento T₃, en el que se utilizó suero de leche, presentó los contenidos más altos de fósforo y hierro, pero cantidades inferiores de calcio. Estos valores se consideran aceptables debido a que los nutrientes se distribuyen heterogéneamente entre las fases sólida y líquida, siendo la fracción sólida la que presenta mayores cantidades (Walker, 2010).

DQO y DBO₅

Los bioles obtenidos evidenciaron una alta cantidad de materia orgánica disuelta o en suspensión. Los valores de DQO fluctuaron entre 46400 y 80400 mg/L, esto se explica por una mayor cantidad de partículas suspendidas en los bioles de elaboración artesanal, al ser separados del digestato sólo por decantación y filtración a

través de un lienzo fino y no por otras técnicas que combinan la centrifugación, prensado y el paso por filtros de distinto diámetro de poro.

Como se esperaba, los valores de DQO fueron más altos que la DBO₅, la DQO puede reflejar las sustancias inorgánicas susceptibles de ser oxidadas (sulfuros, sulfitos, yoduros, etc) por métodos químicos.

Coliformes totales y termotolerantes

La ausencia del grupo coliforme y de los coliformes termotolerantes resalta la ventaja de la co-digestión anaeróbica de la materia orgánica con inoculantes bacterianos provenientes de la leche y suero, los que interactúan con la microbiota nativa y de contaminación de los residuales dando lugar a la producción de metabolitos que controlan a potenciales patógenos y a sus indicadores de calidad higiénico-sanitaria, siendo ésta una característica deseable para un biofertilizante, el cual debe ser seguro para su aplicación en cultivos de interés agroalimentario y para su manejo por el agricultor.

Conclusiones

El desafío de obtener bioles a partir de fórmulas empíricas es balancear la relación C/N, así como mantener el equilibrio de macro y micronutrientes para asegurar el funcionamiento de las asociaciones microbianas responsables del proceso.

En este trabajo, aunque el balance C:N (16,6) de la materia prima no alcanzó el límite mínimo deseable (25:1), su composición corrobora su riqueza en macro y micro nutrientes avalando su potencial uso en agricultura orgánica, pero a la vez evidenciando la necesidad de caracterizar y acondicionar estas preparaciones, previa validación en cultivos a fin de transformar la fórmula empírica en una fórmula con garantía de calidad para el uso previsto.

El aprovechamiento de la fracción líquida de una co-digestión anaeróbica es una solución alternativa, frente al compostaje para el aprovechamiento de residuos orgánicos de origen agroalimentario que de otra manera se destinan al vertedero.

Además, en la formulación de bioles se pueden incluir ejemplares de la flora nativa de nuestro país que tradicionalmente se han

utilizado para control biológico de plagas, sinergizando su actividad y dando un valor agregado al producto.

Agradecimiento

Los autores agradecen a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por facilitar el uso del Centro de acopio de residuos sólidos y sus laboratorios de investigación.

Referencias

- Akhiar, A., Battimelli, A., Torrijos, M. y Carrere, H. (2017). Comprehensive characterization of the liquid fraction of digestates from full-scale anaerobic co-digestion. *Waste Manage*, 59:118-128.
- Boraste, A., Vamsi, K., Jhadav, A., Khairnar, Y., Gupta, N., Trivedi, S., Patil, P., Gupta, G., Gupta, Mujapara, A. y Joshi, B. (2009). Biofertilizers: A novel tool for agricultural. *Int J Microbiol Res*, 1(2):23-31.
- Ganesh, R., Torrijos, M., Sousbie, P., Steyer, J. P., Lugardon, A. y Delgenes, J. P. (2013). Anaerobic co-digestion of solid waste: effect of increasing organic loading rates and characterization of the solubilized organic matter. *Bioresour Technol*, 130:559-569
- Hazarika, T. K., Bhattacharyya, R. K. y Nautiyal, B. P. (2015). Growth Parameters, Leaf Characteristics and Nutrient Status of Banana as Influenced by Organics, Biofertilizers and Bioagents. *J Plant Nutr*, 38:8, 1275-1288
- Holzapfel, W. H., Wood, J. B. (2014). Introduction to the LAB. En W. H. Holzapfel y J. B. Wood (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxomy* Wiley Blackwell (pp. 1-12). Willey Blackwell.
- Iglesias, E. y Pérez, V. (1992). Determination of maturity indices for city refuse compost. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 38, 331-343.
- Jara-Samaniego, J., Pérez-Murcia, M. D., Bustamante, M.A., Pérez-Espinoza, A., Paredes, C., López-Lluch, D. B., Gavilanes-Terán, I. y Moral, M. (2017). Composting as sustainable strategy for municipal solid waste management in the

- Chimborazo Region, Ecuador: Suitability of the obtained composts for seedling production. *J Clean Prod*, 141:1349-1358.
- Li, D., Liu, S., Mi, L., Li, Z., Yuan Yan, Z. y Liu, X. (2015). Effects of feedstock ratio and organic loading rate on the anaerobic mesophilic co-digestion of rice straw and cow manure. *Bioresour Technol*; 189:319-326.
- Molina-Boliívar, G. y Jiménez-Pitre, I. (2017). Análisis de la contaminación por Coliformes Termotolerantes en el estuario del río Ranchería, La Guajira (Colombia). *Bol Cient Mus Hist Nat U. de Caldas*, 21 (2): 41-50. DOI: 10.17151/bccm.2017.21.2.3
- Naganda, G., Das, A., Bhattacharya, S. y Kalpana, T. (2010). In vitro Studies on the Effects of Biofertilizers (Azotobacter and Rhizobium) on Seed Germination and Development of *Trigonella foenum-graecum* L. using a Novel Glass Marble containing Liquid Medium. *Int J Bot*, 6(4):394-403.
- Puyuelo, B., Ponsa, S., Gea, T. y Sánchez, A. (2011). Determining C/N ratios for typical organic wastes using biodegradable fractions. *Chemosphere*, 85(4): 653-650.
- Rahman, M. A., Moller, H. B., Sah, a C. K., Alam, M. M., Wahid, R. y Feng, L. (2017). Optimal ratio for anaerobic co-digestion of poultry droppings and lignocellulosic-rich substrates for enhanced biogas production. *Energy Sustain Dev*, 39:59-66.
- Seufert, V. (2012). Comparing the yields of organic and conventional agriculture. *Nature*, 485:229-232.
- Smith, D. L., Subramanian, S., Lamont, J. R. y Bywater-Ekegård, M. (2015). Signaling in the phytomicrobiome: breadth and potential. *Front. Plant Sci*, 6:709.
- Svoboda, N., Taube, F., Wienforth, B., Kluß, C., Kage, H. y Herrmann, A. (2013). Nitrogen leaching losses after biogas residue application to maize. *Soil Tillage Res*, 130:69-80.
- Tambone, F., Terruzzi, L., Scaglia, B. y Adani, F. (2015). Composting of the solid fraction of digestate derived from pig slurry: biological processes and compost properties. *Waste Manage*, 35:55-61.
- Visva, B., Vaibhav, B. y Ajay, S. (2018). Microbial pretreatment of water yacynth for enhanced hydrolysis followed by biogas production. *Renew Ener*, 126:21-29.

- Walker, L. R. (2010). An investigation into the bioprocesses of Di-COM: a technology combining composting and thermophilic anaerobic digestion for the treatment of municipal solid waste. Perth, Western Australia: Murdoch University.
- Wang, X., Yang, G., Feng, Y., Ren, G. y Han, X. (2012). Optimizing feeding composition and carbon nitrogen ratios for improved methane yield during anaerobic co-digestion of dairy, chicken manure and wheat straw. *Bioresour Technol*, 120:78-83.
- Xia, A. y Murphy, J. D. (2016). Microalgal cultivation in treating liquid digestate from biogas systems. *Trends Biotechnol*, 34:264-275.
- Younis, G., Awass, A., Dawod, R., Yousef, E. y Nehal, E. (2017). Antimicrobial Activity of yeasts against some pathogenic bacteria. *Veterinary World*, 10(8): 979-983.
- Zeng, Y. y De Guardia, P. (2015). Improving composting as a post-treatment of anaerobic digestate. *Bioresour Technol*, 201:293-303.