

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD CELULOLÍTICA DE *Brevibacillus brevis* PARA
EL TRATAMIENTO DE RESIDUOS ORGÁNICOS**

CAMILO JOSÉ GÁMEZ DURÁN

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE
FACULTAD DE CIENCIAS
Programa de Biología
BOGOTÁ D.C
Diciembre de 2022**

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD CELULOLÍTICA DE *Brevibacillus brevis* PARA
EL TRATAMIENTO DE RESIDUOS ORGÁNICOS**

CAMILO JOSÉ GÁMEZ DURÁN

Trabajo de grado presentado para optar título de:
BIÓLOGO

Directora: Virginia Roa Angulo
Microbióloga Industrial
M.Sc. Gestión Sostenible del Ambiente

UNIVERSIDAD EL BOSQUE
FACULTAD DE CIENCIAS
Programa de Biología
BOGOTÁ D.C
Diciembre de 2022

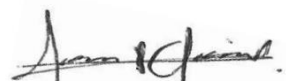
NOTA DE APROBACIÓN



VIRGINIA ROA ANGULO
Microbióloga Industrial
MSc. Gestión Sostenible del Ambiente
DIRECTORA



RUBÉN DARÍO GONZÁLEZ ROMÁN
Biólogo
MSc. Ciencias Biológicas
JURADO



JUAN PABLO HERNÁNDEZ SÁNCHEZ
Biólogo
Dr. Ciencias de la Sustentabilidad
JURADO



ROSA REYES QUIÑONES
Bióloga
JURADO

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a Dios por darme confianza, paciencia e inspiración para la realización del proyecto.

A mi familia por confiar en mí, acompañarme y darme amor e inspiración en todo el proceso. Especialmente a mi madre Mónica Durán, a mi padre Álvaro Gámez y a mi hermana María Fernanda Gámez por ser vitalmente mi fuente de inspiración, amor y confianza en momentos complicados durante todo el proceso de la carrera.

A mi directora Virginia Roa por la confianza, acompañamiento, enseñanza y sobre todo paciencia para la realización del proyecto. Por todo el crecimiento académico y personal que realizó en mí y por todo el cariño y respeto que tuvo hacia mí, comportándose como una segunda madre.

A mis amigas Mariana España y Juana Castro por todo el apoyo y acompañamiento para la realización total del proyecto y durante toda la carrera, por brindarme inspiración, risas, crecimiento personal y sobre todo confianza demostrando que existen personas maravillosas con las que puedo contar.

A los profesores William Andrade, Juan Pablo Hernández y Helber Balaguera por el asesoramiento y ayuda con el desarrollo del trabajo, gracias por la confianza, las risas y los buenos momentos.

A la ingeniera ambiental Magally Cantor y al administrador Jorge Contreras por el apoyo durante el procedimiento en la Central de Abastos Codabas.

Y por último al Programa de Biología por hacer que deposite mucho cariño y amor hacia la carrera.

NOTAS DE SALVEDAD

"La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por el Investigador en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia".

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Celulosa.....	3
2.1.1 Degradación de celulosa	3
2.2 Microorganismos celulolíticos.....	4
2.3 Residuos orgánicos	4
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	5
4. JUSTIFICACIÓN	6
5. OBJETIVOS.....	8
5.1 Objetivo General.....	8
5.2 Objetivos Específicos.....	8
6. MATERIALES Y MÉTODO.....	9
6.1 Fase de campo.....	9
6.1.1 Toma de muestras	9
6.2 Fase de laboratorio	10
6.2.1 Determinación de pureza de cepa bacteriana	10
6.2.2 Determinación de concentraciones preliminares de <i>Brevibacillus brevis</i> ...	10
6.2.2.1 Determinación del índice de eficiencia celulolítica (IEC) de las concentraciones de <i>Brevibacillus brevis</i>	10
6.2.3 Preparación del inóculo de <i>Brevibacillus brevis</i>	11

6.2.4 Clasificación de los residuos orgánicos	11
6.2.4.1 Extracción de pulpa de celulosa de los residuos orgánicos	11
6.2.4.2 Determinación de cantidad de celulosa en residuos orgánicos	14
6.2.5 Diseño experimental	14
6.2.6 Toma de variables ambientales	14
6.2.7 Toma de variables para los tratamientos.....	14
6.2.8 Análisis estadístico.....	14
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
7.1 Identificación de pureza y viabilidad bacteriana	16
7.2 Índice de eficiencia celulolítica (IEC) de <i>Brevibacillus brevis</i>	17
7.3 Clasificación según porcentaje de celulosa y frecuencia diaria de recolección de residuos orgánicos.....	19
7.4 Variables para los tratamientos	20
7.4.1 Humedad	20
7.4.2 Temperatura	22
7.4.3 pH.....	24
7.4.4 CO ₂	25
7.4.5 Degradación de celulosa	27
8. CONCLUSIONES.....	29
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
10. ANEXOS.....	36

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Índice de eficiencia celulolítica (IEC) en concentraciones preliminares de <i>Brevibacillus brevis</i>	17
Tabla 2. Clasificación de residuos en el almacén de residuos orgánicos de Central de Abastos Norte de Bogotá (Codabas) según cantidad de celulosa y frecuencia diaria de recolección	20

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Almacén de residuos orgánicos de Central de Abastos Norte (Codabas) de Bogotá, Colombia.....	9
Figura 2. Pre hidrólisis de residuos orgánicos.....	12
Figura 3. Residuos orgánicos en mezcla de NaOH (2,5 mol L ⁻¹) + Na ₂ SO ₃ (0,4 mol L ⁻¹) para retirar la lignina presente	12
Figura 4. Pulpa de celulosa en residuos orgánicos.....	13
Figura 5. Blanqueamiento de residuos orgánicos con hipoclorito de sodio al 5,25%	13
Figura 6. Cepa de <i>Brevibacillus brevis</i>	16
Figura 7. Tinción Gram de <i>Brevibacillus brevis</i> (bacilos Gram positivos)	16
Figura 8. Índice de eficiencia celulolítica (IEC) de <i>Brevibacillus brevis</i>	18
Figura 9. Halo de crecimiento de <i>Brevibacillus brevis</i> en agar Rojo Congo.....	19
Figura 10. Porcentaje de humedad en diferentes sustratos orgánicos con y sin inoculación de <i>B. brevis</i> en 4 meses	21
Figura 11. Temperatura en diferentes sustratos orgánicos con y sin inoculación de <i>B. brevis</i> en 4 meses	23
Figura 12. pH presente en diferentes sustratos orgánicos con y sin inoculación de <i>B. brevis</i> en 4 meses	24
Figura 13. Partes por millón de CO ₂ emitido por diferentes sustratos orgánicos con y sin inoculación de <i>B. brevis</i> en 4 meses.	26
Figura 14. Degradación de celulosa en diferentes sustratos orgánicos con y sin inoculación de <i>B. brevis</i> en 4 meses	27

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
<i>Anexo 1. Composición del agar Rojo Congo</i>	36
<i>Anexo 2. Composición del agar Brain Heart Infusion (BHI)</i>	36
<i>Anexo 3. Absorbancia para determinar la longitud de onda a trabajar con B. brevis</i>	36
<i>Anexo 4. Regresión lineal para determinar la concentración a inocular de B. brevis</i>	37
<i>Anexo 5. Temperatura ambiental semanal promedio del lugar de estudio a tres diferentes horas del día.</i>	37
<i>Anexo 6. Humedad relativa ambiental semanal promedio del lugar de estudio a tres diferentes horas del día.....</i>	37

RESUMEN

Brevibacillus brevis es una bacteria que se encuentra comúnmente en suelos y plantas, teniendo un papel importante en ciclos metabólicos como el ciclo de carbono y de nitrógeno. Son habitantes comunes de aguas frescas y estancadas; particularmente activos en sedimentos y en materia en descomposición. Presenta actividad celulolítica, degradando este compuesto hasta glucosa, no sólo para satisfacer las necesidades energéticas de la planta sino además como alternativa para el tratamiento y aprovechamiento de residuos orgánicos. Teniendo en cuenta la situación en Colombia con relación al bajo nivel de aprovechamiento de los materiales de celulosa de bajo valor y de los no reciclables, por falta de mecanismos para su reciclaje o aprovechamiento; y los porcentajes de pérdida de alimentos que se presentan en las centrales de abasto de la ciudad de Bogotá se plantea en este trabajo evaluar la capacidad celulolítica de *Brevibacillus brevis* para el tratamiento de residuos orgánicos. Para esto, se determinó la viabilidad y pureza de la bacteria, así como la capacidad y el índice de eficiencia celulolítica para posteriormente ser inoculada en cuatro diferentes tratamientos de residuos orgánicos clasificados según su concentración de celulosa y la frecuencia de obtención en la Central de Abastos Norte (Codabas) de Bogotá, Colombia. Con el análisis de las variables estudiadas se determinó una mayor degradación de celulosa superior al 20% por parte de *Brevibacillus brevis* con respecto a los tratamientos control, siendo así *Brevibacillus brevis* una bacteria promotora de un mayor protocolo de tratamiento para residuos orgánicos.

Palabras Clave: Degradación, celulosa, tratamiento, aprovechamiento.

ABSTRACT

Brevibacillus brevis is a bacterium commonly found in soils and plants, playing an important role in metabolic cycles such as carbon and nitrogen cycling. They are common inhabitants of fresh and stagnant waters; particularly active in sediments and decaying matter. It presents cellulolytic activity, degrading this compound to glucose, not only to satisfy the energetic needs of the plant but also as an alternative for the treatment and use of organic waste. Taking into account the situation in Colombia regarding the low level of utilization of low-value cellulose materials and non-recyclable materials, due to the lack of mechanisms for their recycling or utilization; and the percentages of food losses that occur in the food supply centers of the city of Bogotá, this work proposes to evaluate the cellulolytic capacity of *Brevibacillus brevis* for the treatment of organic wastes. For this purpose, the viability and purity of the bacteria were determined, as well as the capacity and the cellulolytic efficiency index to be subsequently inoculated in four different organic waste treatments classified according to their cellulose concentration and the frequency of obtaining them in the Central de Abastos Norte (Codabas) of Bogotá, Colombia. With the analysis of the variables studied, it was determined that *Brevibacillus brevis* degraded more than 20% of cellulose compared to the control treatments, thus making *Brevibacillus brevis* a promoter bacterium of a greater treatment protocol for organic waste

Keywords: Degradation, cellulose, treatment, utilization.

1. INTRODUCCIÓN

Las bacterias son microorganismos unicelulares procariotas los cuales se clasifican según su estructura, forma, temperatura, pH y requerimiento de oxígeno para su crecimiento en el ambiente donde se encuentren (Mollinedo & Gonzáles, 2014). Asimismo, la comunidad microbiana es un componente funcional importante dentro de la biota del suelo, debido a su rol en cuanto al flujo de energía, así como también en la transformación de nutrientes y el constante ciclo de bioelementos en el ambiente (Hoffman *et al.*, 2003). Esta microbiota interviene en procesos que involucran nutrientes como la fijación del nitrógeno, la solubilización de fosfatos y la degradación de compuestos carbonados, influyendo así en el contenido o concentración de materia orgánica que sea generada (Kim *et al.*, 2011).

Brevibacillus brevis (Migula, 1900) Shida *et al.*, 1996, es una bacteria, bacilo Gram-positivo aerobio formador de esporas que se encuentra comúnmente en suelos y plantas, teniendo un papel importante en ciclos metabólicos como el ciclo de carbono y de nitrógeno (Reinoso Pozo, 2007). Es una rizobacteria promotora del crecimiento vegetal con alta capacidad celulolítica que pertenece a la familia Paenibacillaceae, anteriormente conocida como *Bacillus brevis*. Por otro lado, son habitantes comunes de aguas frescas y estancadas; particularmente activos en sedimentos y en materia en descomposición; cuentan con actividad celulolítica, degradando este compuesto hasta glucosa con el fin de satisfacer las necesidades energéticas para la planta, así mismo para la producción de carbono dentro de este ciclo (Acharya & Chaudhary, 2011; Viviano *et al.*, 2011). De igual manera, esta especie de bacteria presenta una gran importancia para su aplicación en el tratamiento de residuos orgánicos (Vivas Ramírez, 2003).

La materia orgánica involucra procesos de degradación a través de microorganismos que producen enzimas que ayudan a la degradación de los componentes dentro de esta, en el cual

se inicia una fragmentación hacia partículas más pequeñas para favorecer todo el proceso de transformación (Ruíz Hernández, 2020). Por otro lado, se ha evidenciado que la microbiota aumenta los procesos de degradación de compuestos orgánicos e impiden que se generen patógenos dentro de estas (Borrero González, 2014). *Brevibacillus brevis* cuenta con la capacidad de degradar celulosa mediante sistemas enzimáticos conformados por endo β 1-4 glucanasas y β glucosidasas presentes en la bacteria que mejoran la degradación al inocularse en residuos orgánicos con altas concentraciones de celulosa (Viviano *et al.*, 2011).

Considerando la importancia del proceso de degradación de celulosa de *Brevibacillus brevis* y la cantidad de compuestos orgánicos generados, el presente estudio pretende determinar la capacidad que tiene la bacteria celulolítica *Brevibacillus brevis* de degradar residuos orgánicos como posible promotor de tratamiento para estos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Celulosa

La celulosa es una biomolécula orgánica muy abundante y forma la mayor parte de la biomasa terrestre ya que se encuentra en las paredes de las células vegetales. Es un polisacárido estructural compuesto exclusivamente de moléculas de glucosa que a su vez está formado por la unión de diferentes β -D-glucopiranosas por enlaces 1-4; esta molécula no presenta ramificaciones y está constituida por cadenas lineales de glucopiranosas con disposición helicoidal, en el cual los diferentes monómeros, se estabilizan entre ellos mediante puentes de hidrógeno, haciendo que la molécula de celulosa se vuelva impermeable e insoluble en agua, asimismo, la celulosa se considera químicamente como un polímero natural (Franco *et al.*, 2009; Gómez *et al.*, 2013).

2.1.1 Degradación de celulosa

Las cadenas lineales de moléculas de glucosa en la celulosa como polisacárido estructural, interactúan entre ellas mediante los puentes de hidrógeno, formando así unas microfibrillas que se conocen como regiones cristalinas. Al formarse estas regiones, se producen regiones amorfas, permitiendo así la hidratación y acción de enzimas como las celulasas (Ruíz Hernández, 2020). Estas enzimas llevan a cabo la fragmentación de la molécula mediante una acción secuencial y sinérgica de un grupo de estas que presentan diferentes lugares de enlaces debido a la naturaleza compleja de la molécula de celulosa (Viteri Florez, 2016), por lo que los microorganismos específicos capaces de sintetizar estas enzimas, facilitan el proceso de fragmentación de la macromolécula de celulosa para procesos metabólicos (Gómez *et al.*, 2013; Hendricks *et al.*, 1995).

Por otro lado, el complejo de acción de celulasas se da inicio con una endo- β -1,4-glucanasa la cual rompe los enlaces β -1,4 en las regiones amorfas internas de la macromolécula de celulosa, dando como resultado largos fragmentos solubles (oligosacáridos). A su vez la exo-

β -1,4-glucanasa separa la celobiosa (disacárido) desde los extremos de la molécula y esta última es hidrolizada por la β -glucosidasa para la formación y obtención de glucosa (Schlegel & Zaborosch, 1993).

2.2 Microorganismos celulolíticos

Estas bacterias tienen la habilidad bioquímica de producir celulasas como enzimas que pueden hidrolizar o fragmentar la celulosa. También pueden utilizar celobiosa (disacárido) y otros carbohidratos para degradar residuos orgánicos que presentan polisacáridos aprovechados por estos mismos para la transformación de los complejos celulolíticos en azúcares que posteriormente son fermentados hasta alcohol u otros productos de valor agregado (Viteri Florez, 2016).

2.3 Residuos orgánicos

Son todos aquellos residuos que provienen de origen natural o que han pertenecido a un ser vivo, por lo tanto, son biodegradables y pueden ser desintegrados con facilidad por organismos o seres vivos descomponedores como las bacterias que desintegran estos residuos orgánicos biodegradables en componentes más sencillos para su alimentación. Un ejemplo de estos residuos son las cáscaras residuos de frutas, animales muertos, troncos caídos y heces de animales (Ruíz Hernández, 2020).

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la capacidad celulolítica de *Brevibacillus brevis* para el tratamiento de residuos orgánicos?

4. JUSTIFICACIÓN

Según el Sistema Único de Información (SUI) en Colombia existe un bajo nivel de aprovechamiento de los materiales de celulosa de bajo valor y de los no reciclables, por falta de mecanismos para su reciclaje o aprovechamiento, por lo que hay una acumulación de materiales de bajo valor y poco atractivos en las bodegas de acopio como los residuos orgánicos provenientes de centrales de abasto en el país principalmente (Noguera & Olivero, 2010). Por otro lado, en Colombia los encargados del aprovechamiento de residuos ricos en celulosa se han enfocado en materiales como cartón, archivo, periódico y demás cuyo mercado está más desarrollado; a pesar de esto, falta identificar oportunidades de aprovechamiento con el material que es rechazado y de esa manera incrementar los índices de tratamiento de residuos orgánicos ricos en celulosa (Romero Gutiérrez, 2020).

En Colombia, la pérdida de alimentos representa un 34%, uno de los principales actores son las centrales de abasto de alimentos (CONPES 3874., 2016). Dado esto, La Corporación de Abastos de Bogotá (CORABASTOS) siendo la mayor central de abastos en el país, genera entre 80 y 100 toneladas diarias que, dentro de estas, se calcula que alrededor del 80% son de origen orgánico y en la sede Norte de Central de Abastos de Bogotá (Codabas) se calculan entre 40 y 60 toneladas diarias de residuos orgánicos aprovechables (Castillo & Arrieta, 2014; Consorcio NAM, 2008). En total, diariamente al relleno sanitario “Doña Juana” de Bogotá, llegan aproximadamente 6.400 toneladas de residuos de los cuales un 7% son orgánicos y un 3% inorgánicos. Debido a esto, la meta del Distrito es reducir el 10% del total de estos (Castillo & Arrieta, 2014; Romero Gutiérrez, 2020).

La gran mayoría de las empresas que transforman celulosa de residuos orgánicos afirman que existe un déficit para abastecer la demanda hasta del 35% de residuos aprovechables para

tratamiento de estos (Rondón Toro *et al.*, 2016), siendo así que la celulosa como una de las moléculas poliméricas más abundantes en el planeta, al degradarse naturalmente por sistemas enzimáticos presentes en microorganismos, transforman de manera sinérgica la molécula de celulosa en D-glucosa, comportándose como una posible especie de bacteria promotora de tratamiento de residuos orgánicos (Santos Bacariza, 2016).

Forero en 2018 estudió el comportamiento de microorganismos celulíticos y solubilizadores de fosfato asociados al suelo rizosférico de *Espeletia grandiflora* en dos zonas con diferentes grados de intervención en el páramo de Ocetá, Boyacá donde determinó a *Brevibacillus brevis* como una de las especies celulolíticas más frecuentes en el suelo rizosférico de *Espeletia grandiflora* (Forero, 2018). Por otro lado, Gutiérrez en el 2020 evaluó el comportamiento de microorganismos nitrificantes y solubilizadores de fosfato asociados a suelo rizosférico de *Espeletia argentea* en dos zonas con diferente grado de intervención en el Páramo de Rabanal, Boyacá en donde indica que *Brevibacillus brevis* fue la especie más frecuente en las zonas de muestreo (Gutiérrez, 2020). Por último, Acosta Salinas en el 2022 determinó la evaluación de la capacidad solubilizadora de fosfato de *Brevibacillus brevis* como estimulante de crecimiento vegetal en cultivos de uchuva (*Physalis peruviana*), indicando que esta especie de bacteria aceleró el inicio de la germinación en las plantas aumentando el tamaño de la raíz y tallo de los brotes obteniendo una mayor producción de biomasa aérea y radicular demostrando que *Brevibacillus brevis* podría ser utilizado como posible biofertilizante reemplazando el uso de químicos en las plantas por lo que su uso en la inoculación del suelo aumenta la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Acosta Salinas, 2022). Es por esto que *Brevibacillus brevis* podría tener un papel importante en residuos orgánicos con el fin de aumentar el aprovechamiento o tratamiento de estos (Jaramillo Henao & Zapata Márquez, 2008; Vivas Ramírez, 2003).

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Evaluar la capacidad celulolítica de *Brevibacillus brevis* para el tratamiento de residuos orgánicos.

5.2 Objetivos Específicos

- ❖ Determinar la capacidad celulolítica de *Brevibacillus brevis*.
- ❖ Definir el índice de eficiencia celulolítica de *Brevibacillus brevis*.
- ❖ Estabilizar la capacidad celulolítica de *Brevibacillus brevis*.

6. MÉTODO

6.1 Fase de campo

6.1.1 Toma de muestras

Se recolectaron en bolsas de cierre hermético 1000 g frescos de cada uno de los 8 residuos orgánicos clasificados según la frecuencia de recolección diaria en los almacenes de residuos orgánicos de la Central de Abastos Norte, (Codabas) en Bogotá, Colombia (**Figura 1**); comprendidos entre los meses de marzo y abril del año 2022.

Figura 1. Almacén de residuos orgánicos de Central de Abastos Norte (Codabas) de Bogotá, Colombia.



Fuente: Autor, 2022

6.2 Fase de laboratorio

Todas las fases de laboratorio se llevaron a cabo en el cepario y laboratorio de biología aplicada del programa de Biología de la Universidad El Bosque de Bogotá, Colombia.

6.2.1 Determinación de pureza de cepa bacteriana

A partir de una cepa de *Brevibacillus brevis* aislada de suelos rizosféricos de los páramos Ocetá y el Rabanal como resultado de proyectos anteriores enmarcados en la ecología microbiana de estas zonas, se realizó la confirmación de la cepa bajo el sistema VITEK y BBL-Crystal GP.

Se realizaron repiques en agar BHI para determinar la viabilidad de ésta mediante la verificación de sus características macroscópicas y microscópicas.

6.2.2 Determinación de concentraciones preliminares de *Brevibacillus brevis*

Se determinaron 3 concentraciones de *Brevibacillus brevis* mediante la técnica de espectrofotometría con una regresión lineal bajo el criterio de la ley de Beer-Lambert según la absorbancia de la bacteria a una longitud de onda de 535 nm (**Anexo 4**). La ecuación que mayor ajuste tuvo fue:

$$\text{Concentración de } B. \text{ brevis} = 2\text{E}+09x - 2\text{E}+07 \\ r^2 = 0,9491$$

6.2.2.1 Determinación del índice de eficiencia celulolítica (IEC) de las concentraciones de *Brevibacillus brevis*

Se inocularon 200 µL de cada una de las 3 concentraciones de *Brevibacillus brevis* previamente determinadas en 4 pocillos en agares rojo congo y se incubaron las cajas Petri a 35°C. Posteriormente se determinó el índice de eficiencia celulolítica (IEC) para cada concentración trabajada bajo la medición del promedio del diámetro del halo incoloro/diámetro

de crecimiento de la colonia de la bacteria cada 24 horas durante 5 días consecutivos determinando este comportamiento bajo una regresión lineal positiva. Por último, se definió la concentración a inocular en los residuos orgánicos de *Brevibacillus brevis* dado su mayor índice de eficiencia celulolítica (IEC).

6.2.3 Preparación del inóculo de *Brevibacillus brevis*

Se prepararon 20 mL de la concentración determinada con mayor índice de eficiencia celulolítica (IEC) en agua destilada como inóculo de *Brevibacillus brevis* hacia los tratamientos bajo el factor de inoculación de la bacteria con variables estandarizadas ambientales (temperatura y humedad relativa).

6.2.4 Clasificación de los residuos orgánicos

Se clasificaron inicialmente 8 residuos orgánicos según la frecuencia de recolección en el almacén de residuos orgánicos de la Central de Abastos Norte (Codabas) de Bogotá, Colombia. Posteriormente se determinó el porcentaje celulosa mediante una modificación del método Kraft para definir los cuatro residuos orgánicos con mayor concentración a ser evaluados en este trabajo.

6.2.4.1 Extracción de pulpa de celulosa de los residuos orgánicos

Cada muestra de residuo orgánico fue sometida a hidrólisis durante 30 min previo a la extracción química (**Figura 2**). Luego se añadió cada una de estas muestras a una mezcla de NaOH ($2,5 \text{ mol L}^{-1}$) + Na₂SO₃ ($0,4 \text{ mol L}^{-1}$) durante 2-4 horas a 80°C aproximadamente para retirar la lignina (**Figura 3**). Al obtener la pulpa de celulosa (**Figura 4**), se le realizó un blanqueamiento con hipoclorito de sodio al 5,25% para eliminar los excesos de lignina de la muestra obtenida (**Figura 5**).

Figura 2. Pre hidrólisis de residuos orgánicos.



Fuente: Autor, 2022

Figura 3. Residuos orgánicos en mezcla de NaOH ($2,5 \text{ mol L}^{-1}$) + Na_2SO_3 ($0,4 \text{ mol L}^{-1}$) para retirar la lignina presente.



Fuente: Autor, 2022

Figura 4. Pulpa de celulosa en residuos orgánicos. A. Pulpa de celulosa de tallo de plátano. B. Pulpa de celulosa de cáscara de yuca. C. Pulpa de celulosa de tusa de maíz. D. Pulpa de celulosa de cáscara de arveja. E. Pulpa de celulosa de cáscara de plátano. F. Pulpa de celulosa de cáscara de apio. G. Pulpa de celulosa de cáscara de habichuela y H. Pulpa de celulosa de cáscara de espinaca.

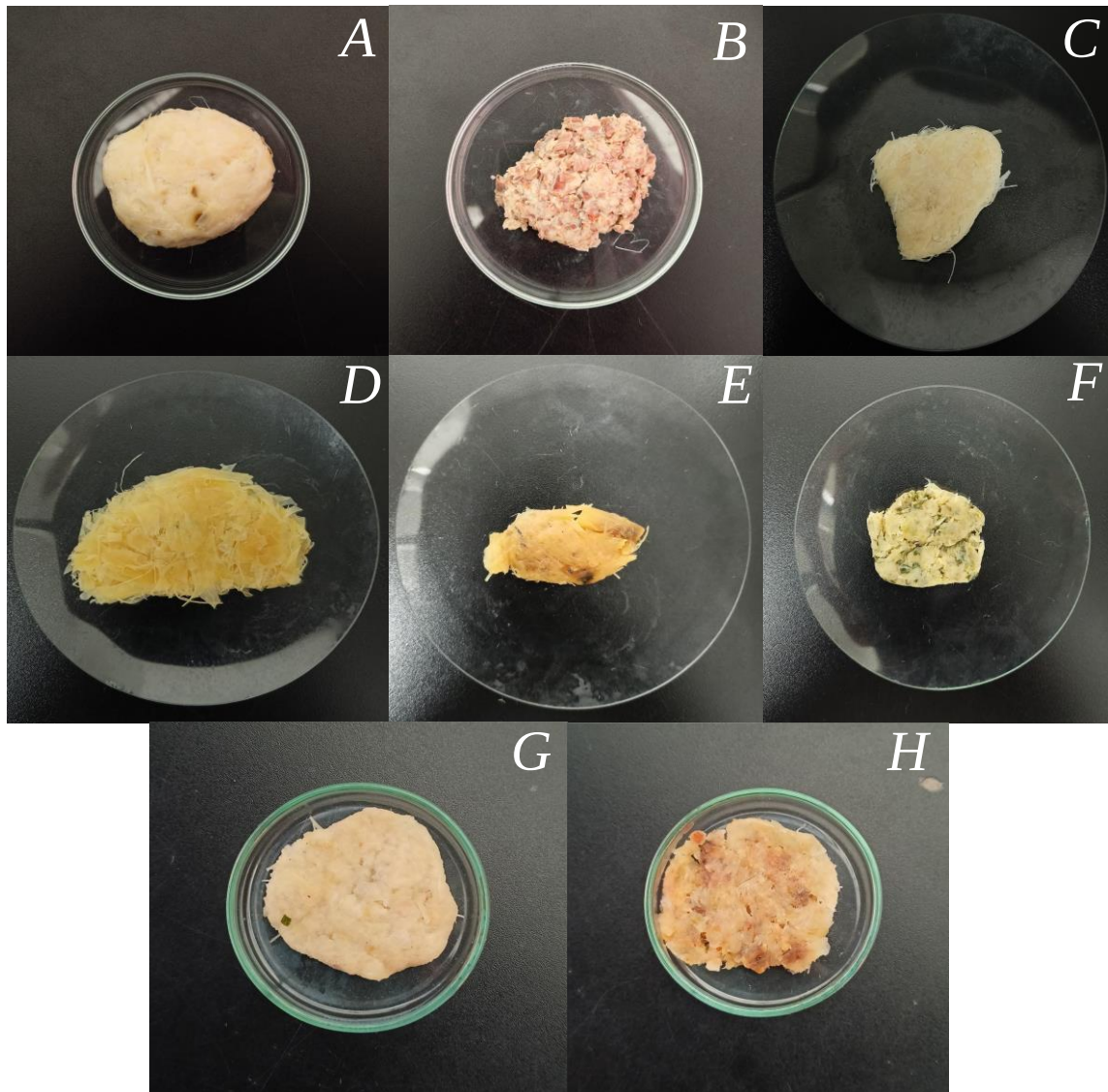
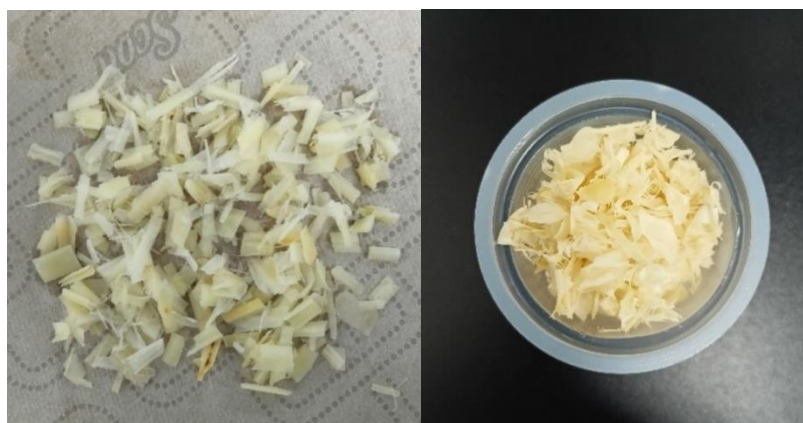


Figura 5. Blanqueamiento de residuos orgánicos con hipoclorito de sodio al 5,25%.



Fuente: Autor, 2022

6.2.4.2 Determinación de cantidad de celulosa en residuos orgánicos

Se pesaron cada una de las muestras de los residuos orgánicos antes y después de la extracción química, logrando así obtener el porcentaje de cantidad de celulosa con la fórmula:

$$(\%)Celulosa = \frac{Peso\ resultante\ pulpa\ (g)}{Peso\ original\ residuo\ (g)} \times 100$$

6.2.5 Diseño experimental

Se realizó un diseño completamente al azar (DCA) definido por 2 factores (inoculación de *Brevibacillus brevis* y sin inoculación de *Brevibacillus brevis*) seguido por 5 repeticiones para cada factor en cada uno de los 4 residuos orgánicos como tratamientos definidos según la frecuencia de recolección y porcentaje de celulosa, para un total de 40 unidades experimentales.

6.2.6 Toma de variables ambientales

Se tomaron las variables ambientales de temperatura y humedad relativa del lugar de estudio con un termohigrómetro digital 5 días a la semana en 3 diferentes horas (9:00, 13:00 y 16:00) durante 4 meses promediados semanalmente (**Anexo 5 y Anexo 6**).

6.2.7 Toma de variables para los tratamientos

Para todos los tratamientos se registraron un total de 5 variables (pH, temperatura, humedad, porcentaje de celulosa y CO₂ liberado) semanalmente promediados para 4 meses medidos con un pHmetro digital, termómetro digital, medidor de pH del suelo, método Kraft modificado para obtención de pulpa de celulosa y un medidor de calidad de aire respectivamente.

6.2.8 Análisis estadístico

Para los datos obtenidos se aplicó una prueba de normalidad, homogeneidad y análisis de varianza para corroborar el cumplimiento de supuestos. Al obtener el cumplimiento de estos

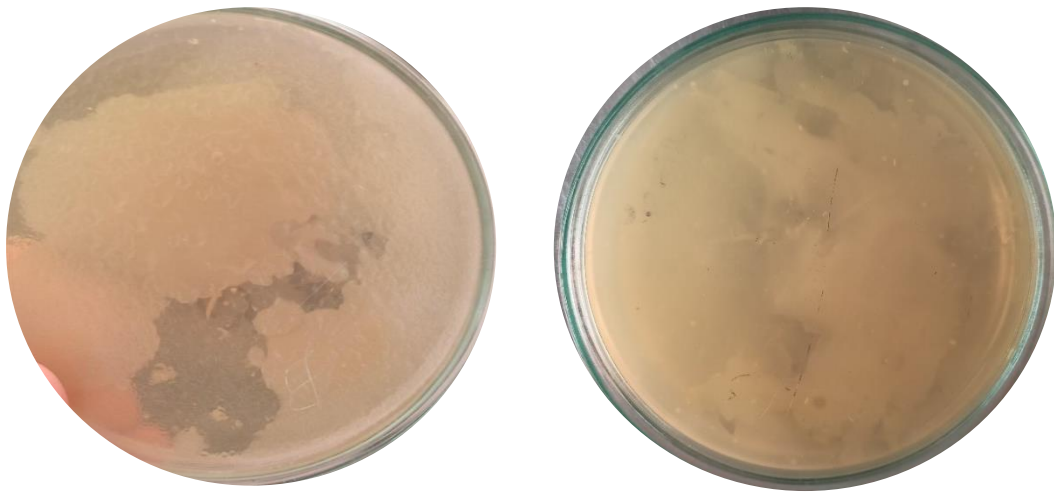
supuestos, se implementó la prueba de ANOVA y Tukey para establecer si existían diferencias significativas entre los valores resultantes. Todos los datos fueron digitados en el software estadístico IBM SPSS Statistics 2.0.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Identificación de pureza y viabilidad bacteriana

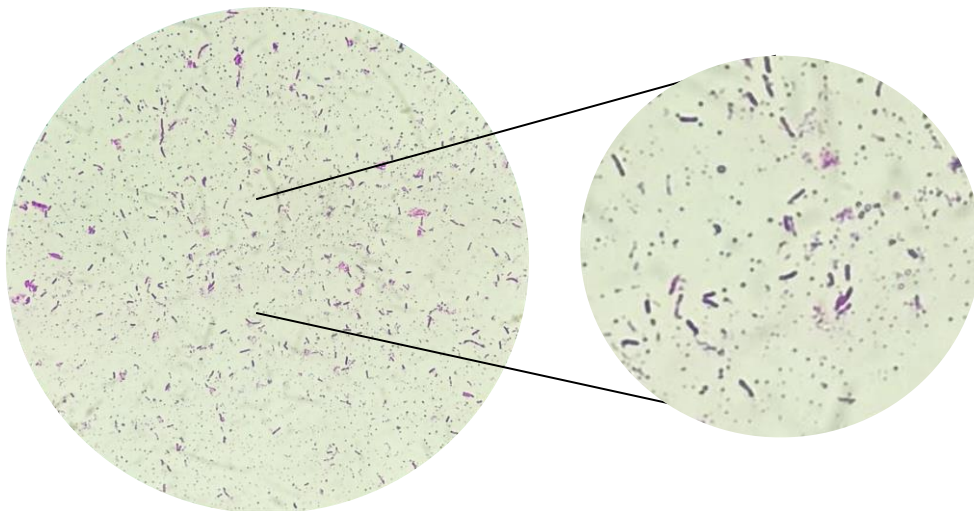
Se identificó la especie *Brevibacillus brevis* bajo pruebas bioquímicas y técnica VITEK de la cepa tratada con un factor de cobertura $K=2$, correspondiente al 95% de confianza. Por otro lado, se confirmó la viabilidad de la cepa bacteriana a partir del crecimiento en el medio y por características macroscópicas y microscópicas de esta especie, confirmando la presencia de colonias lisas y planas de color café claro (**Figura 6**) y bacilo Gram positivo (**Figura 7**) formadora de esporas respectivamente (Johnson & Dunlap, 2019).

Figura 6. Cepa de *Brevibacillus brevis*.



Fuente: Autor, 2022

Figura 7. Tinción Gram de *Brevibacillus brevis* (bacilos Gram positivos).



Fuente: Autor, 2022

7.2 Índice de eficiencia celulolítica (IEC) de *Brevibacillus brevis*

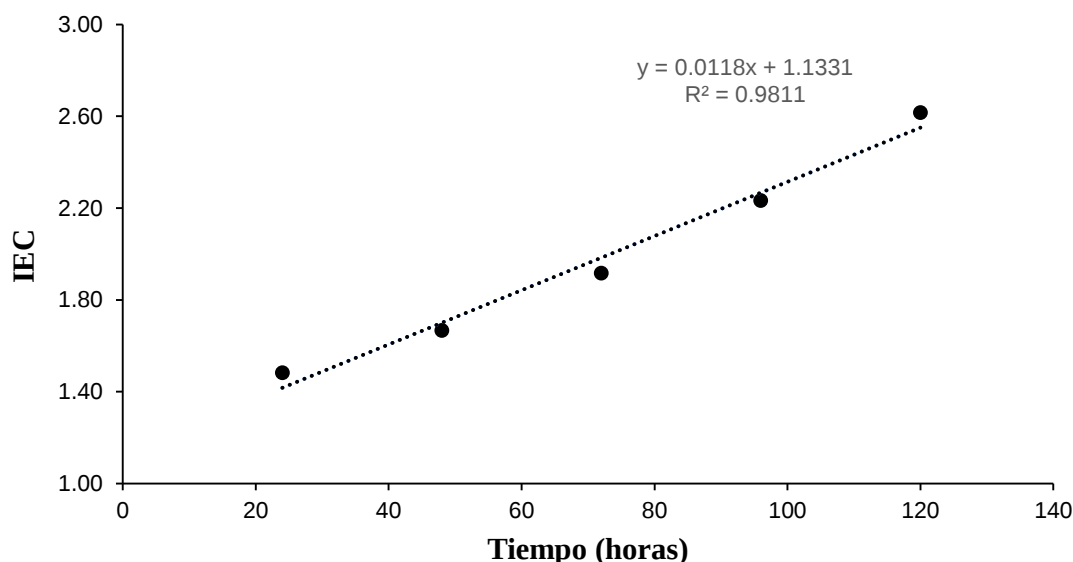
Se definió la concentración $2,77 \times 10^7$ UFC/mL de *Brevibacillus brevis* para inocular en los tratamientos de residuos orgánicos, debido a que esta concentración obtuvo el mayor promedio de índice de eficiencia celulolítica bajo el promedio calculado durante el monitoreo de 5 días de incubación, pasando de un halo de eficiencia celulolítica de 0,2 mm a 1,1 mm con el paso del tiempo (**Tabla 1**).

Tabla 1. Índice de eficiencia celulolítica (IEC) en concentraciones preliminares de *Brevibacillus brevis*.

Concentración	Tiempo (horas)	IEC
$2,77 \times 10^6$ UFC/mL	24	1,433
	48	1,583
	72	1,717
	96	2,017
	120	2,150
	Promedio	1,780
$2,77 \times 10^7$ UFC/mL	24	1,483
	48	1,667
	72	1,917
	96	2,233
	120	2,617
	Promedio	1,983
$2,77 \times 10^8$ UFC/mL	24	1,217
	48	1,417
	72	1,533
	96	1,817
	120	2,033
	Promedio	1,603

Asimismo, esta concentración presentó una regresión lineal positiva debido a que, al aumentar el número de horas, la eficiencia celulolítica aumenta de manera lineal (**Figura 8**).

Figura 8. Índice de eficiencia celulolítica (IEC) de *Brevibacillus brevis*.



Brevibacillus brevis es reconocida como una bacteria celulolítica por su proceso aerobio con actividades de sistemas enzimáticos formados por endo β 1-4 glucanasas, exo β 1-4 glucanasas y β glicosidasas que se encuentran separados de la superficie celular y actúan como moléculas aisladas, funcionando como un sistema no agregativo que generalmente se excretan al medio de cultivo creando un dominio que enlaza la celulosa para posteriormente degradarla eficientemente (Lynd *et al.*, 2002; Cuervo & Quiroz, 2009; Viviano *et al.*, 2011). Este proceso se evidencia en el medio de cultivo por la presencia de halos claros alrededor de la colonia (**Figura 9**) bajo un índice de eficiencia celulolítica (IEC) con una concentración estable de la bacteria para la mayor eficiencia celulolítica (**Tabla 1** y **Figura 8**).

Figura 9. Halo de crecimiento de *Brevibacillus brevis* en agar Rojo Congo.



Fuente: Autor, 2022

Según Acharya y Chaudha en el 2011, la actividad celulolítica trabajada in vitro únicamente incrementaba hasta las 24 h de cultivo de la bacteria, permaneciendo constante o disminuía en tiempos más altos sugiriendo inhibición por productos finales (Acharya & Chaudhary, 2011). Sin embargo, contrariamente según lo reportado por Omer y El-Hadidy en el 2012 indican que *Brevibacillus brevis* reveló la presencia de una significativa acción antagónica sobre los patógenos de la pudrición de la raíz del guisante (*Pisum sativum*), determinando una larga vida útil de la bacteria que osciló entre el 68,3 y el 52,4 % de células viables tras 180 días con una sola incorporación directa de la bacteria (Omer & El-Hadidy, 2012). Por tal motivo, se decidió evaluar la capacidad que tiene *B. brevis* para degradar celulosa con una sola inoculación directa hacia los residuos orgánicos.

7.3 Clasificación según porcentaje de celulosa y frecuencia diaria de recolección de residuos orgánicos

Los residuos orgánicos trabajados se seleccionaron bajo los criterios de mayor porcentaje de celulosa y mayor frecuencia de recolección diaria (Muy alta: $\geq$ un contenedor de 200 L y Muy

baja: < un contenedor de 200 L) en el almacén de residuos orgánicos de Central de Abastos Norte, (Codabas) comprendidos entre los meses de marzo y abril del año 2022. Los residuos orgánicos determinados como tratamientos a trabajar fueron: tallo de plátano, cáscara de yuca, tusa de maíz y cáscara de arveja; debido a que cumplen con los criterios de mayor porcentaje de celulosa y mayor frecuencia de recolección diaria (**Tabla 2**).

Tabla 2. Clasificación de residuos en el almacén de residuos orgánicos de Central de Abastos Norte de Bogotá (Codabas) según cantidad de celulosa y frecuencia diaria de recolección.

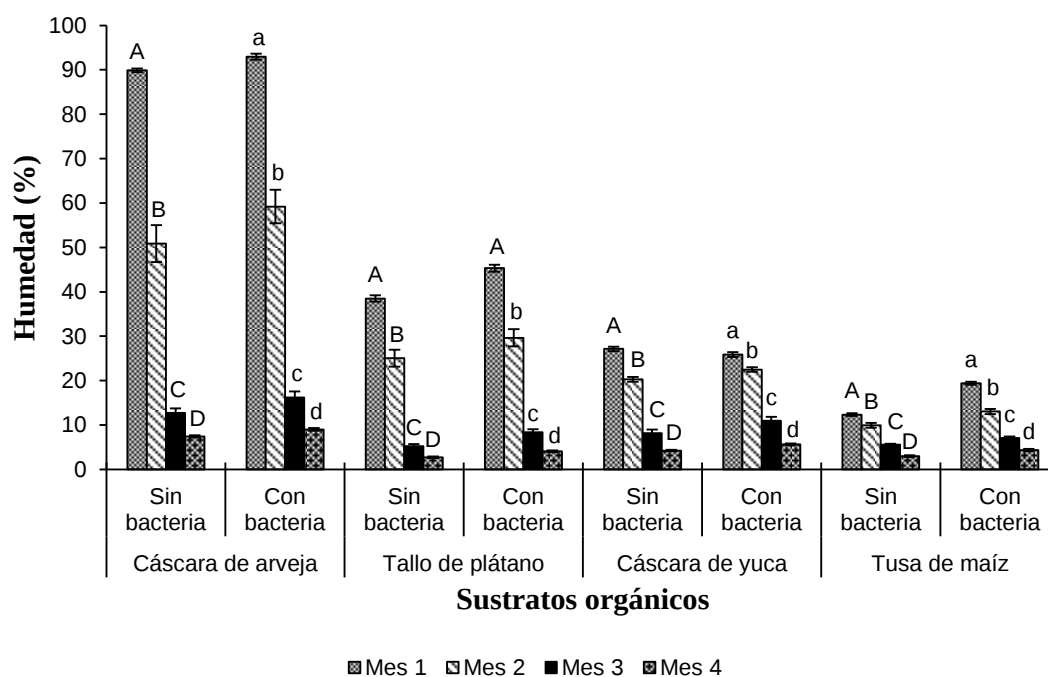
Muestra	Celulosa (%)	Frecuencia de recolección
Tallo de plátano	50,13	Muy alta
Cáscara de yuca	49,71	Muy alta
Tusa de maíz	45,89	Muy alta
Cáscaras de arveja	23,6	Muy alta
Cáscaras de plátano verde	29,01	Muy baja
Cáscaras de habichuelas	19,33	Muy baja
Apio	4,43	Muy alta
Espinaca	4,41	Muy alta

7.4 Variables para los tratamientos

7.4.1 Humedad

Se presentaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,01$) entre sustratos orgánicos. El mayor porcentaje de humedad se obtuvo con el sustrato cáscara de arveja ($92,95 \pm 4,15\%$), mientras que con el sustrato tallo de plátano se encontró el menor porcentaje ($2,75 \pm 0,14\%$) (**Figura 10**).

Figura 10. Porcentaje de humedad en diferentes sustratos orgánicos con y sin inoculación de *B. brevis* en 4 meses. Promedios seguidos de letras mayúsculas distintas presentan diferencias estadísticas entre tratamientos sin inoculación de la bacteria y promedios seguidos de letras distintas minúsculas presentan diferencias significativas entre tratamientos con inoculación de la bacteria según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).



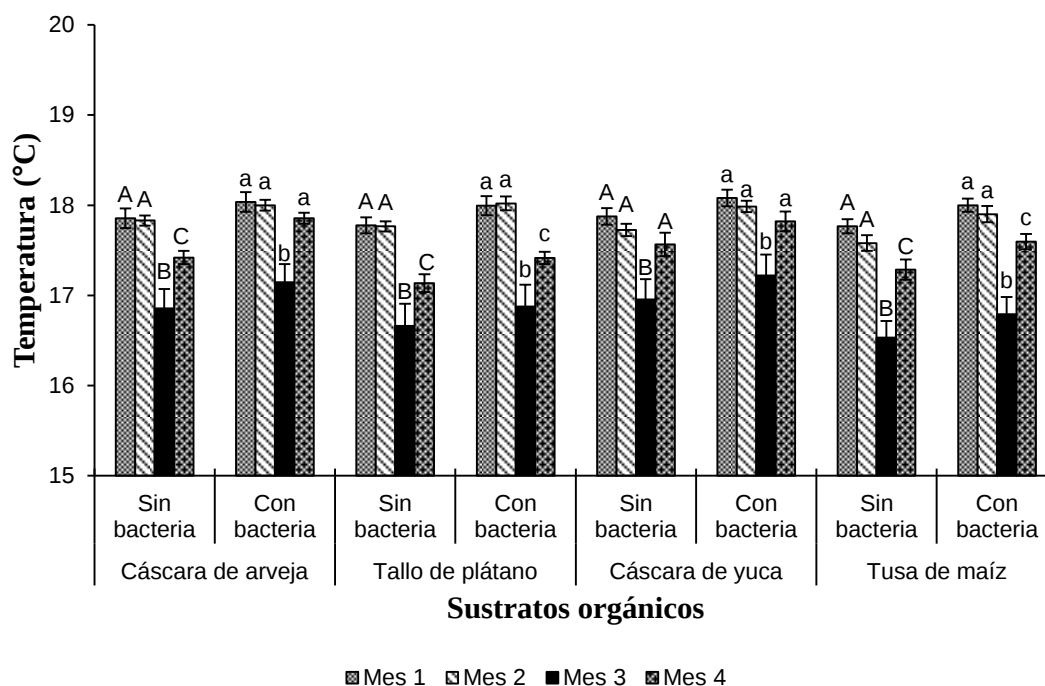
Al evaluar el comportamiento de los residuos orgánicos con respecto al porcentaje de humedad, se evidenció un mayor porcentaje de humedad en el primer mes con respecto a los demás meses (**Figura 10**) debido a que el agua toma un punto de partida hacia el proceso de degradación a través de la hidrólisis y sirve como medio principal para el transporte y transformación de nutrientes encargado por los microorganismos que la utilizan para realizar sus actividades fisiológicas y metabólicas (Ruíz Hernández, 2020). En el caso de la inoculación de *Brevibacillus brevis* se registró mayor porcentaje de humedad en los residuos orgánicos durante todos los meses con respecto a los residuos orgánicos control (**Figura 10**) dado que la bacteria, aumenta las actividades biológicas de degradación generando una mayor eficiencia del proceso, sin embargo, no representa diferencias significativas con respecto a los residuos orgánicos control.

Los resultados del porcentaje de humedad en cáscara de arveja con y sin la inoculación de la bacteria en el primer mes concuerdan con lo indicado por Barrera Beltrán y Charry Uribe en el 2008 en donde resaltan que cuando el porcentaje de humedad es muy alto (mayor al 65%) se pueden generar condiciones anaeróbicas que además de generar malos olores, disminuye la eficiencia de degradación del residuo orgánico (Barrera Beltrán & Charry Uribe, 2008) esto se evidencia porque la cáscara de arveja cuenta con un 76% de cantidad de agua por lo que demuestra este comportamiento para el residuo orgánico (González Ávila, 2016). Sin embargo, este comportamiento se evidencia en caso contrario en los demás residuos orgánicos tratados con y sin la inoculación de la bacteria ya que estos presentan un porcentaje bajo de humedad, lo que concuerda con lo indicado por Vallini y Pera en 1984 que el bajo porcentaje de humedad podría indicar la deshidratación del sustrato y genera como consecuencia la disminución de actividades biológicas (Vallini & Pera, 1984) ya que, en este caso, los sustratos tallo de plátano, tusa de maíz y cáscara de yuca, son generalmente secos con bajo porcentaje de humedad (**Figura 10**).

7.4.2 Temperatura

Se presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos. El registro de temperatura más bajo fue del sustrato tallo de plátano ($16,66 \pm 0,21^{\circ}\text{C}$), de igual manera, el mayor registro de temperatura fue del sustrato cáscara de yuca ($18,08 \pm 0,08^{\circ}\text{C}$) (**Figura 11**).

Figura 11. Temperatura en diferentes sustratos orgánicos con y sin inoculación de *B. brevis* en 4 meses. Promedios seguidos de letras mayúsculas distintas presentan diferencias estadísticas entre tratamientos sin inoculación de la bacteria y promedios seguidos de letras distintas minúsculas presentan diferencias significativas entre tratamientos con inoculación de la bacteria según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).



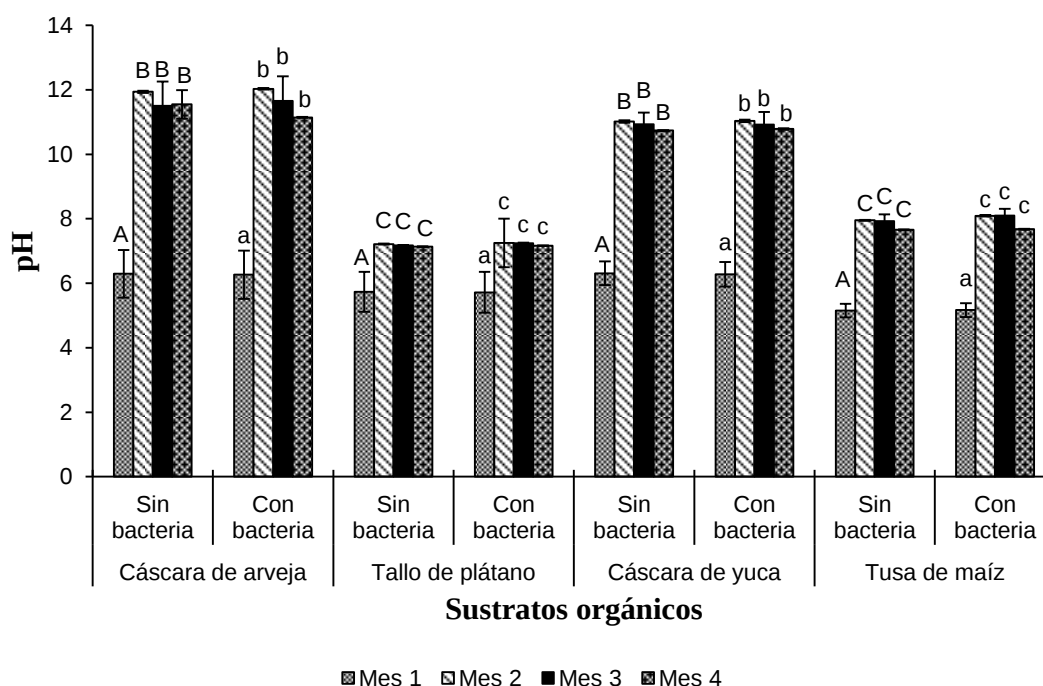
Si bien la temperatura durante el proceso de degradación de residuos orgánicos aumenta a medida que los microorganismos realizan sus actividades de digestión y altas temperaturas son necesarias para contribuir sustancialmente altos índices de degradación (Ruíz Hernández, 2020); se evidenció una temperatura mayor de 18,08°C y una menor de 16,66°C en los residuos orgánicos tratados (**Figura 11**) lo que estaría en contra según lo indicado por Liang y McClendon en el 2003; en donde evidencian que las altas temperaturas contribuyen sustancialmente a altos índices de degradación recomendando que la temperatura máxima se encuentre entre los 52 y los 60°C para obtener el mayor índice de degradación de los compuestos orgánicos (Liang & McClendon, 2003); sin embargo, este comportamiento y criterio se aplicaría para masivas cantidades de residuos orgánicos, como su aplicación en pilas de compostaje, alrededor de 500 kg por pila para su posterior tratamiento y seguimiento (Barrera Beltrán & Charry Uribe, 2008). En este caso, se utilizó 1000 g de cada residuo

orgánico con la inoculación directa de la bacteria, obteniendo en promedio 17,37°C lo que concuerda con lo obtenido por Margesin y Schinner en el 2006 en donde indican que a pesar de que el amplio rango de temperaturas que se manejen, hace que se encuentren distintos tipos de microorganismos que facilitaría y aumentaría el proceso de degradación. Generalmente se tiende a incrementar la temperatura a más de 10,1°C hasta los 30°C indicando que el rango de temperatura factible para la degradación de compuestos orgánicos esté dentro de una temperatura ambiente cercana a los 20°C hasta los 30°C (Margesin & Schinner, 2006).

7.4.3 pH

Se presentaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre sustratos orgánicos. Todos los tratamientos registraron un pH ácido en el primer mes y básico en el segundo, tercer y cuarto mes (**Figura 12**).

Figura 12. pH presente en diferentes sustratos orgánicos con y sin inoculación de *B. brevis* en 4 meses. Promedios seguidos de letras mayúsculas distintas presentan diferencias estadísticas entre tratamientos sin inoculación de la bacteria y promedios seguidos de letras distintas minúsculas presentan diferencias significativas entre tratamientos con inoculación de la bacteria según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).



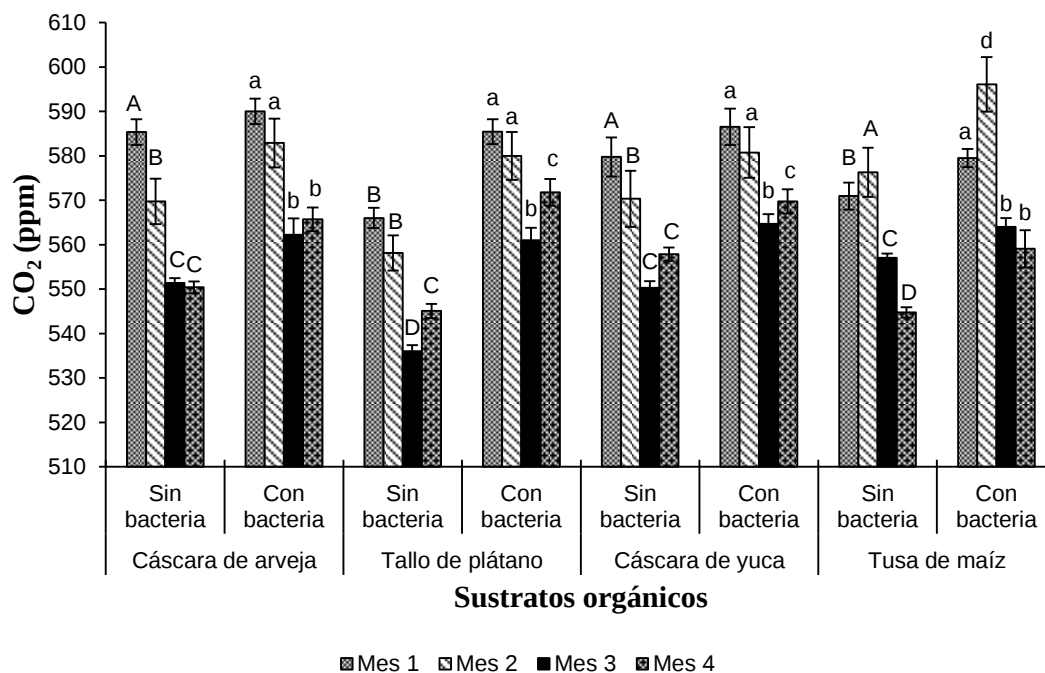
La variable de pH es considerada de gran importancia para la degradación de compuestos orgánicos, muchas veces se relaciona directamente con las variaciones de temperatura en el proceso y se han evidenciado cambios de pH que coinciden con variaciones de temperatura (Barrera Beltrán & Charry Uribe, 2008). En el caso de los residuos orgánicos tratados hay un cambio de pH de ácido a alcalino a partir del primer mes (**Figura 12**), esto se debe a que se producen ácidos orgánicos como lo son el lactato y acetato que, en un inicio, disminuyen el pH del medio y generan procesos de corrosión y malos olores (Sundberg *et al.*, 2004) como se evidenció en el primer mes para todos los residuos orgánicos tratados.

Por otro lado, estos ácidos orgánicos son consumidos por microorganismos como *Brevibacillus brevis* generando un aumento de pH en el medio (Sundberg & Jönsson, 2008), como se registró a partir del segundo mes para todos los residuos orgánicos (**Figura 12**) en donde se obtuvo registros superiores en el intervalo de pH comprendidos entre 5,5 y 8,5, sin embargo el mayor efecto sobre la actividad enzimática de *Brevibacillus brevis* fue bajo un pH óptimo igual o cercano a 7, lo que concuerda con los datos obtenidos de Viviano y colaboradores en el 2011 en donde la actividad celulolítica enzimática para *Brevibacillus brevis* alcanzó valores con un $\text{pH} \geq 7$ (Viviano *et al.*, 2011) determinando que la actividad enzimática dentro de sistemas celulolíticos como esta especie de bacteria, muestran actividad máxima a pH cercanos a la neutralidad (Ibrahim & El-diwany, 2007).

7.4.4 CO₂

Se presentaron diferencias estadísticas significativas entre sustratos orgánicos ($P < 0,05$). La mayor producción de CO₂ se obtuvo con el sustrato orgánico tusa de maíz ($596 \pm 2,77$ ppm) mientras que con el sustrato de tallo de plátano se evidenció la menor cantidad producida de CO₂ ($536 \pm 1,14$ ppm) (**Figura 13**).

Figura 13. Partes por millón de CO₂ emitido por diferentes sustratos orgánicos con y sin inoculación de *B. brevis* en 4 meses. Promedios seguidos de letras mayúsculas distintas presentan diferencias estadísticas entre tratamientos sin inoculación de la bacteria y promedios seguidos de letras distintas minúsculas presentan diferencias significativas entre tratamientos con inoculación de la bacteria según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

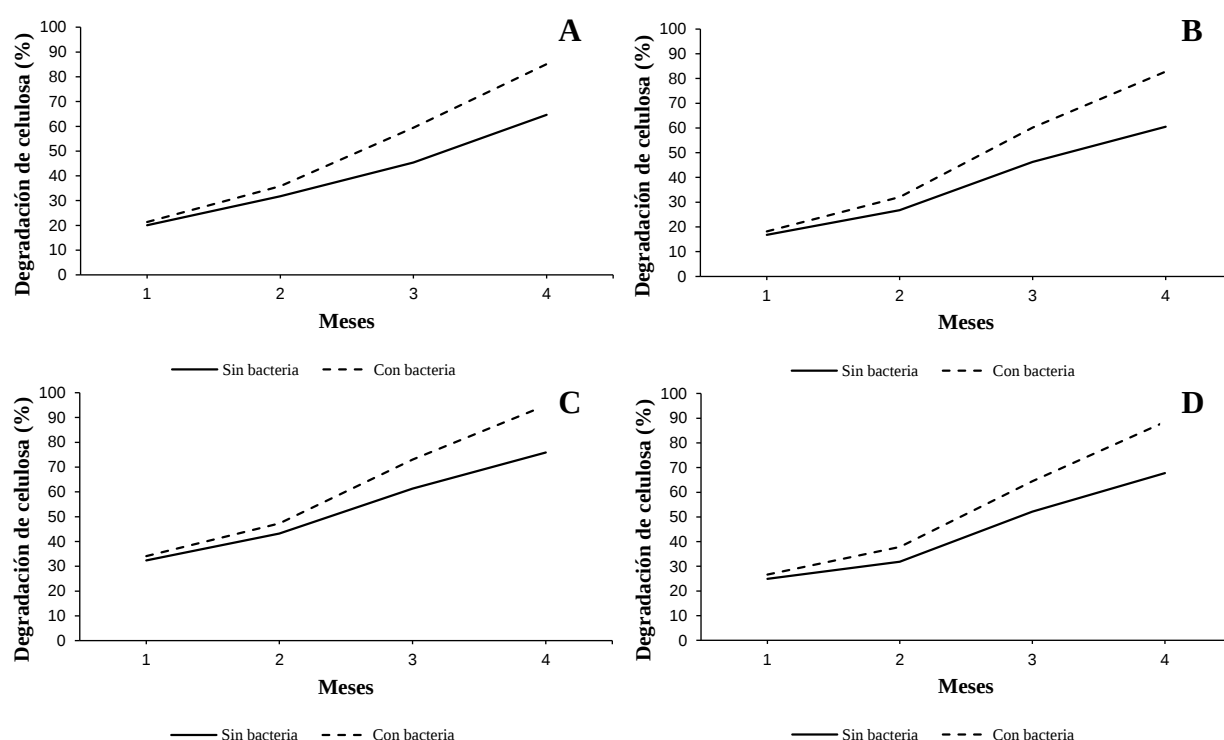


La respiración medida en el material orgánico es determinada por la actividad biológica en su totalidad, el cual es resultante de la degradación de los residuos orgánicos, generando CO₂ como una última etapa de mineralización del carbono presente en el medio (Margesin & Schinner, 2006). Según Sparling en 1997, la respiración de la biomasa microbiana en los compuestos orgánicos disminuye después de 20 días, considerándose esta actividad como respuesta al estrés (Sparling, 1997). Sin embargo, en este estudio no se evidenció este comportamiento en su totalidad, debido a que, si bien disminuye la cantidad de CO₂ generado en los primeros meses para todos los residuos orgánicos tratados, esta aumenta para todos los residuos orgánicos bajo la inoculación de *Brevibacillus brevis* (Figura 13), esto podría deberse a que las actividades enzimáticas por parte de la bacteria fueron capaces de sintetizarse necesariamente para la hidrólisis de sustancias complejas dentro de los residuos orgánicos, por el cual, al aumentar el metabolismo de la bacteria, aumenta la generación de CO₂ (Tuomela *et al.*, 2000) como se evidencia en la Figura 13.

7.4.5 Degradación de celulosa

Según los datos obtenidos hay un incremento de degradación de celulosa para cada sustrato orgánico junto con ambos factores (con y sin inoculación de *B. brevis*) al transcurrir el tiempo. Se evidencia que, a partir del segundo mes para todos los tratamientos con factor de inoculación con la bacteria, se incrementa más del 15% la degradación de celulosa (**Figura 14**).

Figura 14. Degradación de celulosa en diferentes sustratos orgánicos con y sin inoculación de *B. brevis* en 4 meses. A. Degradación de celulosa cáscara de arveja con y sin inoculación bacteriana. B. Degradación de celulosa en tallo de plátano con y sin inóculo de la bacteria. C. Degradación de celulosa cáscara de yuca con y sin inoculación de *B. brevis*. D. Degradación de celulosa en tusa de maíz con y sin inoculación de la bacteria.



Al evaluar el porcentaje de degradación de celulosa en los residuos orgánicos con y sin la inoculación de la bacteria, si bien, según Vallini y Pera en 1984 indicaron que un nivel bajo de porcentaje de humedad podría generar además de la deshidratación del sustrato, también una baja actividad biológica; el cual no concuerda con lo registrado en este estudio en cuanto a la actividad de degradación, debido a que a partir del tercer mes en adelante se evidencia una diferencia de más del 15% de degradación de celulosa por parte de *Brevibacillus brevis* para

todos los residuos orgánicos tratados (**Figura 14**), esto puede deberse a que *B. brevis* a pesar de tener en cuenta la cantidad de agua disponible para realizar su metabolismo, al transcurrir el tiempo, obtiene como fuente de carbono y de energía la cantidad de celulosa disponible en el residuo orgánico como principal carbohidrato en el medio, generando el aumento de la velocidad de degradación de los residuos orgánicos (Bigurra-Quintero, 2020).

A pesar de que anteriormente se haya determinado que especies de bacterias celulolíticas como *Brevibacillus brevis* con sistemas enzimáticos celulolíticos, muestran una actividad máxima a pH cercanos o mayores a la neutralidad (Ibrahim & El-diwany, 2007; Viviano *et al.*, 2011), varios autores comparan estos comportamientos bajo condiciones de volúmenes masivos de residuos orgánicos en pilas de compostaje, por lo que el comportamiento de los resultados de las variables en este estudio, se deben en gran parte por la pequeña cantidad tratada de residuos orgánicos en comparación con estudios previamente realizados, por lo que se sugiere que en futuros estudios, se implemente un nuevo diseño experimental que involucre nuevas medidas de tratamientos para la bacteria.

Asimismo, en este estudio se evidenció que para todos los residuos orgánicos a partir del tercer mes se produce una diferencia de más del 15% de degradación de celulosa a pesar de tener valores de pH de 11 y 7 dentro de estos, si bien existen cambios relacionados con la degradación de celulosa con el pH, para todos los residuos orgánicos bajo la inoculación de *Brevibacillus brevis* se obtuvo una diferencia de más del 20% de degradación de celulosa con respecto al residuo orgánico control (**Figura 14**) gracias a que *Brevibacillus brevis* ayuda sintetizar todas las enzimas necesarias para facilitar la hidrólisis de sustancias complejas presentes dentro de los residuos orgánicos como lo es la celulosa.

8. CONCLUSIONES

- La concentración $2,77 \times 10^7$ UFC/mL de *Brevibacillus brevis* fue la que obtuvo mayor índice de eficiencia celulolítica con un promedio de 1,953.
- La cepa de *Brevibacillus brevis* presenta un incremento continuo sobre la eficiencia de la capacidad celulolítica por lo que aumenta la eficiencia celulolítica con respecto al tiempo de incubación.
- Todos los valores resultantes de las variables trabajadas presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos bajo la inoculación de *B. brevis*.
- La bacteria aceleró el proceso de degradación de los residuos orgánicos representando más del 20% de degradación de celulosa con respecto a los residuos orgánicos control.
- Se determinó a *Brevibacillus brevis* como una posible especie de bacteria para el tratamiento de residuos orgánicos ricos en celulosa.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta Salinas, M. I. (2022). Evaluación de la capacidad solubilizadora de fosfato de *Brevibacillus brevis* como estimulante de crecimiento vegetal en cultivos de uchuva (*Physalis peruviana*).
- Acharya, S., & Chaudhary, A. (2011). Effect of nutritional and environmental factors on cellulases activity by thermophilic bacteria isolated from hot spring.
- Barrera Beltrán, L. C., & Charry Uribe, N. (2008). Producción y evaluación de un inoculante microbiano con capacidad amilolítica a partir de un proceso de compostaje de residuos de lechuga.
- Bigurra-Quintero, U., Mendoza-Villarreal, R., Robledo-Torres, V., & Paredes-Jácome, J. R. (2020). Cinética de crecimiento in vitro de *Brevibacillus brevis* en diferentes medios de cultivo. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 7(2).
- Borrero González, G. P. (2014). Estudio comparativo del uso de dos sustratos con inóculos microbiales para el tratamiento de residuos orgánicos sólidos en compostaje doméstico (Doctoral dissertation).
- Castillo, H. H., & Arrieta, G. (2014). Plazas de mercado en Bogotá, generadoras de residuos y desarrollo. *Bogotá: CONAMA*.
- Chalé-Carrillo, V. M., Ruiz-Sánchez, E., Reyes-Ramírez, A., Borges-Gómez, L., Cristobal-Alejo, J., & Pacheco-Aguirre, J. (2016). Crecimiento y respuesta a *Bemisia tabaci* en genotipos de *Capsicum annuum* inoculados con *Brevibacillus brevis* CEPA CBTC1. *Agrociencia*, 50(3), 323-334.
- CONPES 3874. (2016). Política Nacional para la Gestión Integral de los Residuos Sólidos Documento. Bogotá.
- Consorcio NAM, L. (2008). Gestión de los residuos sólidos en las plazas de mercado de Bogotá. Obtenido de Ambiente Bogotá: <http://ambientebogota.gov.co/documents/sda/Plazas.pdf>

- Cuervo, L., Folch, J. L., & Quiroz, R. E. (2009). Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol. *BioTecnología*, 13(3), 11-25.
- Estrada Bonilla, G. (2017). Factores que afectan el buen desarrollo del compostaje de mortalidad porcina.
- Flotats, X., & Campos, E. (2001). Hacia la gestión integrada y co-tratamiento de residuos orgánicos. In 1st internacional meeting of organic waste management in the mediterranean region.
- Forero, A. (2018). Estudio del comportamiento de microorganismos celulolíticos y solubilizadores de fosfato asociados a suelo rizosférico de *Espeletia grandiflora* en dos zonas con diferentes grados de intervención en el páramo de Ocetá, Boyacá. Programa de Biología. Universidad El Bosque.
- Franco, A. G., Yépes, P. N. M., & Sánchez, H. A. V. (2009). Pretratamientos de la celulosa y biomasa para la sacarificación. *Scientia et technica*, 15(42), 284-289.
- Gómez, A., Silvia, F., Sarmiento, G., Leonardo, F., Delgado, C., & Diana, C. (2013). Caracterización de microorganismos celulolíticos y amilolíticos de residuos sólidos orgánicos dispuestos en la planta Ecosangil del municipio de San Gil, Santander. *Matices Tecnológicos*, 6(5), 29-36.
- González Ávila, I. (2016). Estudio experimental para la obtención de azúcares reductores a partir de la vaina de *Pisum sativum* L. (Arveja) mediante hidrólisis en agua supercrítica. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/567
- Gutiérrez, S. (2020). Estudio del comportamiento de microorganismos nitrificantes y solubilizadores de fosfato asociados a suelo rizosférico de *Espeletia argentea* en dos zonas con diferente grado de intervención en el páramo de Rabanal, Boyacá, Colombia, Programa de biología. Universidad El Bosque.

- Hendricks, C. W., Doyle, J. D., & Hugley, B. (1995). A new solid medium for enumerating cellulose-utilizing bacteria in soil. *Applied and environmental microbiology*, 61(5), 2016-2019.
- Hoffman, J., J. Bezchlebová, L. Dusek, L. Dolezal, I. Holoubek, P. Andel, A. Ansorgová y S Maly. 2003. Novel approach to monitoring of the soil biological quality. *Environ. Intl.* 28, 771-778.
- Ibrahim, A. S. S., & El-diwany, A. I. (2007). Isolation and identification of new cellulases producing thermophilic bacteria from an Egyptian hot spring and some properties of the crude enzyme. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(4), 473-478.
- Jaramillo Henao, G., & Zapata Márquez, L. M. (2008). Aprovechamiento de los residuos sólidos orgánicos en Colombia.
- Johnson, E. T., & Dunlap, C. A. (2019). Phylogenomic analysis of the *Brevibacillus brevis* clade: a proposal for three new *Brevibacillus* species, *Brevibacillus fortis* sp. nov., *Brevibacillus porteri* sp. nov. and *Brevibacillus schisleri* sp. nov. *Antonie van Leeuwenhoek*, 112(7), 991-999.
- Kim, W. I., Cho, W. K., Kim, S. N., Chu, H. S., Ryu, K. Y., Yun, J. C., & Park, C. S. (2011). Genetic diversity of cultivable plant growth-promoting rhizobacteria in Korea. *Journal of microbiology and biotechnology*, 21(8), 777-790.
- Liang, C., Das, K. C., & McClendon, R. W. (2003). The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend. *Bioresource technology*, 86(2), 131-137.
- Lynd, L. R., Weimer, P. J., Van Zyl, W. H., & Pretorius, I. S. (2002). Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and molecular biology reviews*, 66(3), 506-577.

- Margesin, R., Cimadom, J., & Schinner, F. (2006). Biological activity during composting of sewage sludge at low temperatures. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 57(2), 88-92.
- Mollinedo Patzi, M. A., & Gonzáles Villalobos, C. (2014). Bacterias Gram negativas. *Revista de Actualización Clínica Investigada*, 49, 2609-2609.
- Noguera, K., & Olivero, J. (2010). Los rellenos sanitarios en Latinoamérica: caso colombiano. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 34(132), 347-356.
- Omer, A., & El-Hadidy, A. (2012). Evaluation of some Bacterial Formulations Used for Biocontrol of Pea Root-Rot Disease. *Egyptian Journal of Phytopathology*, 40(2), 79-93.
- Parmar, P., Sivapragasam, M., & Corrales-Medina, V. (2020). A Case of *Brevibacillus brevis* Meningitis and Bacteremia. *Case Reports in Infectious Diseases*, 2020.
- Reinoso Pozo, Y. (2007). Aislamiento, seleccion e identificacion de bacterias de los generos *Bacillus*, *Brevibacillus* y *Paenibacillus* con potencialidades para el control biologico de bacterias y hongos fitopatogenos del cultivo de la Papa (*Solanum tuberosum* L.)/Fitosanidad (No. ANALI).
- Romero Gutiérrez, J. A. (2020). Análisis de alternativas para el tratamiento de residuos sólidos orgánicos con posibilidad de aplicación por parte de la corporación de abastos de Bogotá–Corabastos.
- Rondón Toro, E., Szantó Narea, M., Pacheco, J. F., Contreras, E., & Gálvez, A. (2016). Guía general para la gestión de residuos sólidos domiciliarios.
- Ruíz Hernández, Y., & RUIZ HERNANDEZ, Y. O. L. A. N. D. A. (2020). Degradación de residuos orgánicos domésticos a través de un consorcio bacteriano para la formación de una composta (Bachelor's thesis).

- Santos Bacariza, A. D. L. (2016). Celulosoma: Implicaciones en la biorrefinería del futuro.
- Schlegel, H. G., & Zaborosch, C. (1993). General microbiology. Cambridge university press.
- Sogari, N., & Busso, A. (2011). Análisis de las propiedades físico químicas del biogás obtenido de la degradación anaeróbica de residuos orgánicos. Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente-AVERMA, 17-21.
- Sparling, G. P. (1997). Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. Biological indicators of soil health., 97-119
- Sundberg, C., & Jönsson, H. (2008). Higher pH and faster decomposition in biowaste composting by increased aeration. Waste Management, 28(3), 518-526.
- Sundberg, C., Smårs, S., & Jönsson, H. (2004). Low pH as an inhibiting factor in the transition from mesophilic to thermophilic phase in composting. Bioresource technology, 95(2), 145-150.
- Tuomela, M., Vikman, M., Hatakka, A., & Itävaara, M. (2000). Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. Bioresource technology, 72(2), 169-183.
- Vallini, G., & Pera, A. (1984). Technological aspects of composting including modelling and microbiology. Gasser, JKR, 27-40.
- Viteri Florez, P. A., Castillo Guerra, D. A., & Viteri Rosero, S. E. (2016). Capacidad y diversidad de bacterias celulolíticas aisladas de tres hábitats tropicales en Boyacá, Colombia. Acta Agronómica, 65(4), 362-367.
- Vivas Ramírez, A. C. (2003). Interacción micorrizas arbusculares-rizobacterias como herramienta biotecnológica en relación con la nutrición y protección de la planta frente a estreses abióticos.

- Viviano, F., Medina, L., Ramos, N., Amaíz, L., & Valbuena, O. (2011). Degradación de celulosa por bacterias de aguas termales de Las Trincheras, Venezuela. Rev. Latinoam. Biotechnol. Amb. Algal, 2(1), 18-29.

10. ANEXOS

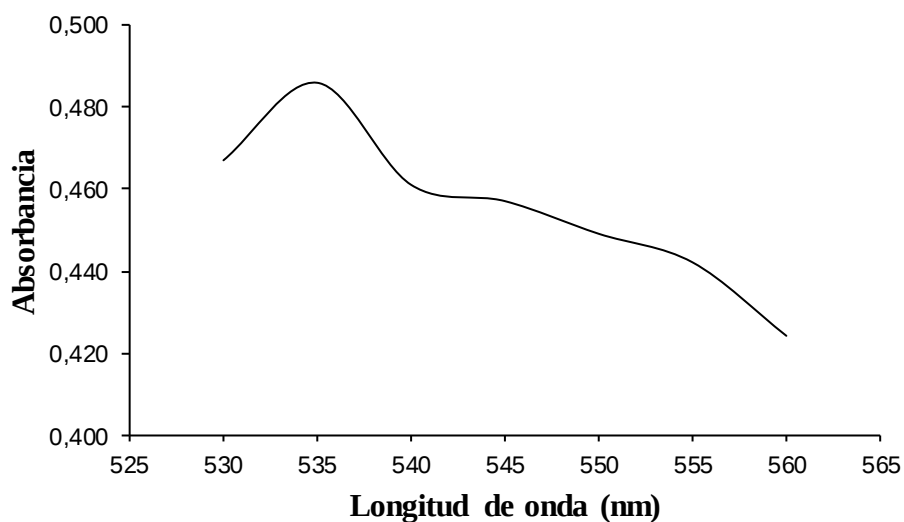
Anexo 1. Composición del agar Rojo Congo.

Material	1000 mL
Fosfato dipotásico (K_2HPO_4)	0,5 g
Sulfato de magnesio heptahidratado ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,5 g
Cloruro de amonio (NH_4Cl)	0,5 g
Rojo Congo	10,0 g
Agar-Agar	20,0 g
pH	6,5 - 6,8

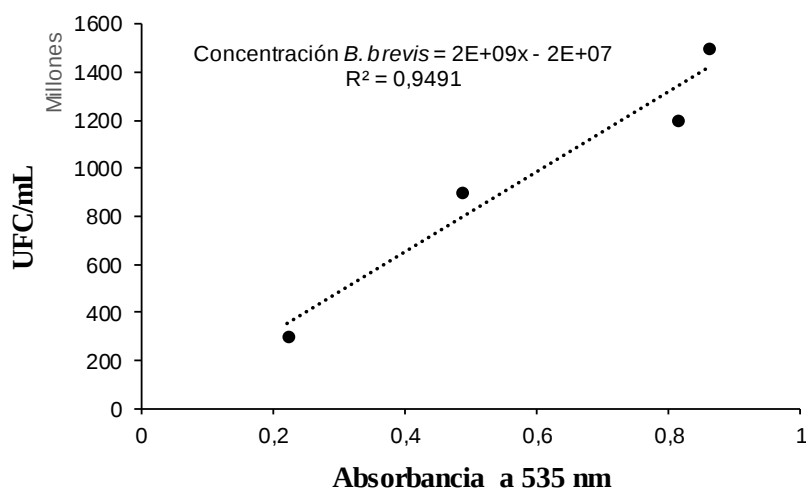
Anexo 2. Composición del agar Brain Heart Infusion (BHI).

Material	1000 mL
Infusión de cerebro y corazón de (sólidos)	8,0 g
Digerido péptico de tejido animal	5,0 g
Digerido pancreático de caseína	16,0 g
Cloruro sódico ($NaCl$)	5,0 g
Glucosa ($C_6H_{12}O_6$)	2,0 g
Fosfato disódico de hidrógeno (Na_2HPO_4)	2,5 g
Agar-Agar	13,5 g
pH	7,4 $\pm$ 0,2

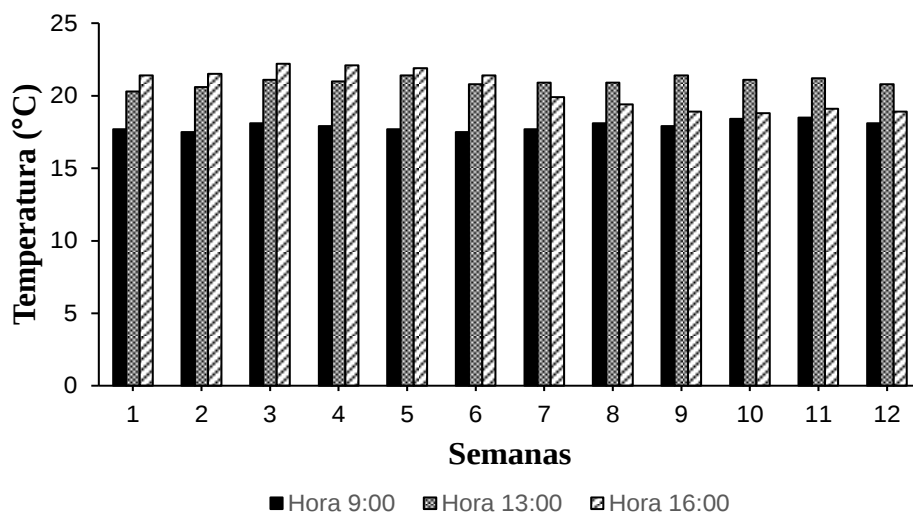
Anexo 3. Absorbancia para determinar la longitud de onda a trabajar con B. brevis.



Anexo 4. Regresión lineal para determinar la concentración a inocular de *B. brevis*.



Anexo 5. Temperatura ambiental semanal promedio del lugar de estudio a tres diferentes horas del día.



Anexo 6. Humedad relativa ambiental semanal promedio del lugar de estudio a tres diferentes horas del día.

