

**PRODUCCIÓN DE UN BIOFERTILIZANTE A PARTIR DE BAGAZO DE
AGAVE CON UN PROCESO DE VERMICOMPOSTEO ACELERADO**

UTILIZANDO *Bjerkandera adusta*

**PRODUCTION OF A BIOFERTILIZER FROM AGAVE BAGASSE WITH
AN ACCELERATED VERMICOMPOSTING PROCESS USING**

Bjerkandera adusta

R. G. Morán-Salazar^a, R. Prado-Ramírez^a, J. L. Flores-Montaño^a, A. López-López^a, G.

Dávila-Vázquez^a, S. M. Contreras-Ramos^{a*}

^a Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ), Av. Normalistas No. 800, Col. Colinas de la Normal, CP 44270, Guadalajara, Jalisco, México. Fax: +52 (33)

3345.5200 ext. 1001 *Correo electrónico: smcontreras@ciatej.net.mx

RESUMEN

La producción de fructanos y de tequila genera grandes cantidades de bagazo de agave (399.36 millones de toneladas en proceso de tequila en 2011) como residuo. El bagazo se ha utilizado para la producción de ladrillos, de alimentos para rumiantes sin mucho éxito. El uso más común

es para la producción de compostas, sin embargo el tiempo del proceso es muy largo (7 a 8 meses). Por tal motivo es necesario buscar alternativas para disminuir el tiempo de degradación. El objetivo de este trabajo fue producir un biofertilizante de bagazo de agave con un pre-tratamiento *Bjerkandera adusta* para reducir el tiempo de proceso seguido de un vermicomposteo con *E. fetida*. Se utilizó bagazo fraccionado (< 3 mm) y entero en un pretratamiento con *Bjerkandera adusta* durante 45 días seguido de un proceso de vermicomposteo con *Eisenia fetida*. Se determinó la degradación de hemicelulosa, celulosa, lignina, carbono orgánico y carbohidratos totales, actividad enzimática de lingninoperoxidas (LnP), manganeso peroxidasa (MnP) y Lacasa a los 0, 30 y 45 días, así como parámetros de madurez y estabilidad del biofertilizante. La mayor degradación en el pre-tratamiento fue con los hongos nativos y *B. adusta* en bagazo fraccionado (hemicelulosa 72%, celulosa 43%, y lignina del 70%) durante 45 días. Se encontraron actividades de MnP y Lacasa desde los 30 días más no de LnP. La degradación fue mayor en el vermicomposteo con bagazo fraccionado y pre-tratado con *B. adusta* en conjunto con los hongos nativos (hemicelulosa 93%, celulosa 93% y lignina 76%) comparado con los hongos nativos (hemicelulosa 94%, celulosa 86% y lignina 91%). Además, se logró obtener un biofertilizante estable y maduro en 90 días. Se logró reducir el tiempo de degradación del bagazo de agave de 8 meses a 3 meses con un vermicomposteo acelerado con *B. adusta*.

Palabras clave: *Vermicomposta, Eisenia fetida, Residuos de tequila.*

SUMMARY

The production of fructans and of tequila generates big quantities of bagasse of agave (399.36 million tons in tequila process at 2011) as waste. It had been used for the production of bricks and animal's food without success. Its most common use is in the production of compost, however, the time of process is very long (7 to 8 months). For this reason, it is necessary looking for alternative process to diminish the time of degradation. The objective of this work was to produce a biofertilizer from agave bagasse of fructans. Whole (6-8 cm) and fractionated (<4mm) bagasse were used in a pre-treatment with *Bjerkandera adusta* for 45 days followed by vermicomposting process with *Eisenia fetida* during other 45 days. Hemicellulose, cellulose, lignin, total carbohydrates and organic carbon, enzymatic activity of lignin peroxidase (LnP), manganese peroxidase (MnP), and Laccase (Lac) was determined at 0, 30 and 45 days. During the vermicomposting same parameters were evaluated as well as microbiological (fecal coliform and *Salmonella ssp.*) and maturity and stability of obtained biofertilizers. The higher degradation in the pre-treatment was found with native fungi plus *B. adusta* in fractionated bagasse (71% hemicellulose, 43% cellulose and 71% lignin) than other treatments at 45 days. Only MnP and Lac activity but not LnP were detected with at 30 days with the addition of *B. adusta*. The higher degradation in vermicomposting was found in fractionated bagasse with native fungi (93% hemicellulose, cellulose and lignin 93% 76%) compared with native fungi (94% hemicellulose, cellulose and lignin 86% 91%). Also, a stable and mature biofertilizer was obtained at 90 days. In an accelerated vermicomposting the degradation time was reduced from 8 to 3 months.

Index words: *Vermicomposta, Eisenia fetida, Residuos de tequila.*

INTRODUCCIÓN

La producción de fructanos y de tequila genera grandes cantidades de bagazo de agave como residuo. Tan sólo en el 2011 se generaron 399.36 millones de toneladas de bagazo después de la producción de tequila (CRT, 2012). Aún cuando su uso principal es para la producción de tequila, actualmente el cultivo de agave también se está utilizando para la producción de fructanos representando una opción viable para diversificar el uso industrial de esta especie vegetal. La alta generación del bagazo de agave ocasiona problemas económicos y ambientales para su disposición final, teniendo grandes cantidades de bagazo sin tratamiento final. El bagazo residual del tequila se ha utilizado para la producción de alimentos para animales (Iñiguez *et al.*, 2001), en la producción de hongos de comestibles, (Hernández-González y Bautista-Justo, 2000), de etanol (Hernández-Salas *et al.*, 2009), de tableros de fibra (Iñiguez *et al.*, 2001), entre otros. El uso más común del bagazo es para la producción de abonos orgánicos como las compostas (Iñiguez *et al.*, 2005; 2011), sin embargo el tiempo del proceso del composteo es muy largo con un promedio de 7 a 8 meses. Por tal motivo es necesario buscar alternativas para disminuir el tiempo de degradación como alternativa para tratamiento del bagazo de agave. El objetivo de esta investigación fue realizar un pre-tratamiento del bagazo de agave con el hongo *Bjerkandera adusta* en bagazo entero y fraccionado seguido de un vermicomposteo con *Eisenia fetida*, para la obtención de un biofertilizante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron muestras de bagazo de agave de la producción de fructanos, provenientes del estado de Zacatecas. Se utilizó bagazo fraccionado (< 3 mm) y entero (6-8 cm) en a una fermentación en estado sólido con el hongo *Bjerkandera adusta*, durante 45 días (Cuadro 1). Se determinó la degradación de la materia orgánica por la cuantificación de hemicelulosa, celulosa, lignina (Van Soest y Wine, 1967), carbono orgánico (NMX-FF-109-SCFI-2007) y carbohidratos totales (Dubois *et al.*, 1956) a los 0, 30 y 45 días. Además, se evaluó la actividad enzimática de lingninoperoxidasa (LnP), manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa (Lac) (Leonowicz y Grzywnowicz, 1981) de los tratamientos con *Bjerkandera adusta* y los hongos nativos del bagazo de agave durante la experimentación. Después del pre-tratamiento se realizó un proceso de vermicomposteo con *E. Fetida* complementando el aporte de nitrógeno con un biosólido obtenido de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas, el cual estuvo libre de patógenos y con metales pesados por debajo de los límites máximos permisibles de la NOM-004-SEMARNAT-2000 y de la USEPA, con 146 mg kg⁻¹ de N inorgánico y 1525 mg kg⁻¹ de fósforo disponible. A los días 0, 30 y 45 se determinó la humedad, pH, conductividad eléctrica, carbono orgánico, hemicelulosa, celulosa, lignina y cenizas para monitorear los cambios producidos en la materia orgánica durante el vermicomposteo y controlar el nivel de humedad.

Cuadro 1. Tratamientos con *B. adusta* y en el proceso de vermicomposteo con *E. fetida*.

BAGAZO	Pre-tratamiento con <i>B. adusta</i>		Vermicomposteo	
	ESTERIL (e)	NO ESTERIL (Ne)	Con Lombriz	Sin Lombriz
FRACCIONADO (F)	Sin hongo (C)	Sin hongo (C)	+L	-L

	Con hongo (B)	Con hongo (B)		
ENTERO (E)	Sin hongo (C)	Sin hongo (C)	+L	-L
	Con hongo (B)	Con hongo (B)		

Al producto final se le determinó además, el pH, conductividad eléctrica, nitrógeno inorgánico en forma de NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ y fósforo disponible, índice de germinación (Mathur *et al.*, 1993b), índice de respiración (Bartha y Pramer, 1965), ácidos húmicos y fúlvicos, carbón orgánico oxidable, y el contenido de *Salmonella spp.* y coliformes fecales. NMX-AA-042-1987. Todos los parámetros evaluados fueron sujetos a un análisis de varianza (ANOVA) usando un PROC GLM con el programa estadístico SAS (2009) para analizar las diferencias significativas entre los tratamientos en el pre-tratamiento con *Bjerkandera adusta* y en el proceso de vermicomposteo con la prueba de Tukey con un P-value < 0.005.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los hongos nativos del bagazo y *B. adusta* consumieron los azúcares residuales (carbohidratos totales) del bagazo en 30 días, sin diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 1).

De forma general, se observó que el bagazo fraccionado favoreció la degradación en lignina ya sea por los hongos nativos, la mezcla de éstos con *B. adusta* o *B. adusta* sólo (CFNe, BFNe y BFe), donde la degradación de lignina fue BFe > CFNe > BFNe sin diferencias significativas entre ellos (P>0.05) (Tabla 2). Similares degradaciones han sido encontradas por otros autores utilizando bagazo de caña con hongos como *Lenzites betulina*, *Daedalea elegans*, *Polyporus giganteus* sobre bagazo de caña logrando una degradación de lignina del 47%, 59% y 65%

respectivamente en 90 días (Oluseyi y Isola, 2009). Los tratamientos de los hongos nativos y *B. adusta* presentaron actividades de MnP y Lac a los 30 días. el tratamiento en bagazo entero con hongos nativos más *B. adusta* (BENe) mostró actividades enzimáticas para el día 30 de MnP ($7.65 \times 10^{-6} \text{ U g}^{-1}$) y Lac ($44 \times 10^{-6} \text{ U g}^{-1}$), mientras que en bagazo fraccionado (BFNe) sólo mostró actividad de MnP de $155.5 \times 10^{-6} \text{ U g}^{-1}$. Donde se evaluó *B. adusta* en bagazo entero (BEe) en el día 30 sólo se tuvo actividad de Lac ($34.5 \times 10^{-6} \text{ U g}^{-1}$) y para el día 45 presentó ambas MnP ($12.4 \times 10^{-6} \text{ U g}^{-1}$) y Lac ($84.5 \times 10^{-6} \text{ U g}^{-1}$). El mismo tratamiento (*B. adusta*) con bagazo fraccionado (BFe) sólo presentó actividad de MnP ($812.15 \times 10^{-6} \text{ U g}^{-1}$) en el día 30 degradando el 72%, y para el día 45 presentó las dos actividades de MnP ($77.52 \times 10^{-6} \text{ U g}^{-1}$) y Lac ($60.5 \times 10^{-6} \text{ U g}^{-1}$) con una degradación de 74% de lignina. Esto demostró que la presencia de *B. adusta* favoreció la producción de estas enzimas las cuales lograron la ruptura de la lignina como pretratamiento biológico para degradar el bagazo de agave y así el hongo pudo acceder a las fibras de hemicelulosa y celulosa. Además, se observó que la actividad enzimática y la degradación de lignina fueron mayores en el bagazo fraccionado. García-Torres y Torres-Sáe (2003), encontraron en bagazo de caña (tamaño de partícula de 0.08 cm) con los hongos de la pudrición blanca *Trametes versicolor* y *Pleurotus floridae* una concentración de lacasa de 0.11 U g^{-1} y 0.05 U g^{-1} ; MnP en una concentración de 0.03 U g^{-1} , 0.05 U g^{-1} y 0.01 U g^{-1} respectivamente, en un tiempo de 21 días.

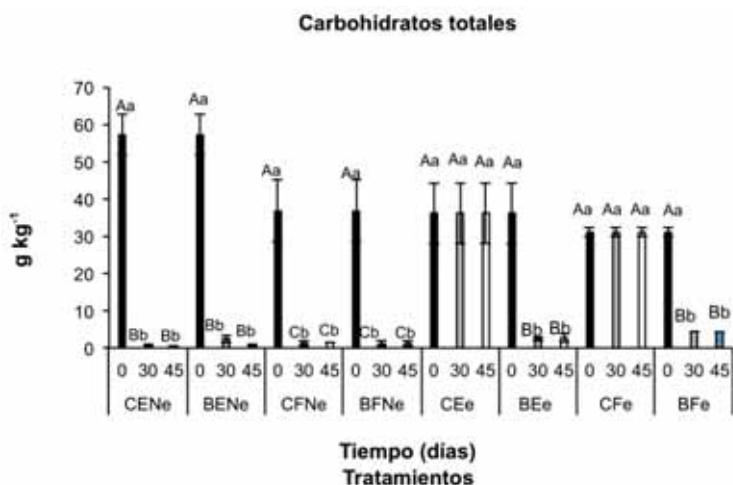


Figura 1. Concentración de carbohidratos totales durante el pre-tratamiento sin (C) o con *B. adusta* (B) en bagazo Entero (E) o Fraccionado (F) y en condiciones estériles (e) o no estériles (Ne).

La degradación fue mayor en el vermicomposteo con bagazo fraccionado y pre-tratado con *B. adusta*+los hongos nativos (BFNe) (hemicelulosa 93%, celulosa 93% y lignina 76%) comparado con los hongos nativos (CFNe) (hemicelulosa 94%, celulosa 86% y lignina 91%). Los tratamientos con bagazo entero (CENE, CEE, BENE, BEE) tuvieron menor degradación que los de bagazo fraccionado (CFNe, CFe, BFNe, BFe) (Cuadro 2). Esto sugirió que el tamaño de partícula tiene un importante papel en la colonización del hongo y el tamaño de partícula más pequeño favoreció la degradación del bagazo de agave en el vermicomposteo acelerado con un pre-tratamiento con hongos de la pudrición blanca.

Cuadro 2. Porcentajes de degradación de hemicelulosa (Hem), Celulosa (Cel) y Lignina (Lig) en el pre-tratamiento con *B. adusta*, en vermicomposteo y en total.

Tratamiento	Porcentajes de degradación (%)								
	Pre-tratamiento			Vermicomposteo			Total		
	Hem	Cel	Lig	Hem	Cel	Lig	Hem	Cel	Lig
CENe	64	51	56	15	36	0	79	88	56
CFNe	67	43	74	27	43	16	94	86	91
CEe	0	0	0	21	29	15	21	29	15
CFe	0	0	0	0	29	24	0	29	24
BENe	51	58	61	43	34	12	93	92	73
BFNe	71	43	71	22	50	5	93	93	76
BEe	54	32	62	39	59	12	94	92	74
BFe	65	49	72	0	0	0	65	49	72
CENe*	40	0	33	12	24	14	52	24	47
CFNe*	41	0	29	5	26	24	46	26	54
BEe*	54	32	62	17	12	4	71	45	66
BFe*	65	49	72	3	0	1	68	49	73

*Tratamientos sin lombriz (-L)

El biofertilizante del tratamiento de *B. adusta*+hongos nativos (BENe) tuvo características de madurez y estabilidad muy cercanas o dentro de los índices reportados por otros autores, como son 200 mg NH₄⁺ kg⁻¹, 8 mg NO₂⁻ kg⁻¹, 175 mg NO₃⁻ kg⁻¹, 1.3 NH₄⁺/NO₃⁻, 1.4 de AH/AF y 175 mg CO₂ kg⁻¹h⁻¹. Seguido de los tratamientos CFNe y BFNe que tuvieron valores de dichos índices adecuados. Todos los tratamientos tuvieron valores >100 en el índice de germinación lo cual indicó que no fueron fitotóxicas (Cuadro 3).

Cuadro 3. Valores de los índices de madurez y estabilidad de los tratamientos in las vermicompostas.

Tratamiento	N-NH ₄ (mg Kg ⁻¹)	N-NO ₃ (mg Kg ⁻¹)	N-NO ₂ (mg Kg ⁻¹)	NH ₄ /NO ₃	AH/AF	CO ₂ (mg Kg ⁻¹ h ⁻¹)
CENe+L	45 ± 49	1322 ± 676	16 ± 0	0.033 ± 0.05	1.24 ± 0.14	143.3 ± 14.1
BENe+L	200 ± 99	175 ± 42	8 ± 0	1.300 ± 0.9	1.37 ± 0.08	57.60 ± 8.98
CFNe+L	186 ± 0	772 ± 0	24 ± 0	0.241 ± 0.1	0.41 ± 0.00	15.56 ± 0.00
BFNe+L	40 ± 0	532 ± 0	8 ± 0	0.075 ± 0.04	1.07 ± 0.28	65.02 ± 0.00
CEe+L	30 ± 14	312 ± 66	10 ± 8	0.093 ± 0.05	0.53 ± 0.27	45.28 ± 17.57
BEe+L	40 ± 0	347 ± 211	15 ± 2	0.163 ± 0.1	0.88 ± 0.17	57.06 ± 6.24
CFe+L	50 ± 0	1936 ± 0	8 ± 0	0.026 ± 0.01	0.53 ± 0.0	15.21 ± 0.00
Índices de estabilidad	75-500 ²	>40 ²	<5 ²	0.5-3 ²	>1.9 ¹	≤120 ³

¹ (Raj y Antil, 2011); ² (Wichuk y McCartney, 2010); ³ (Hue y Liu, 1995)

CONCLUSIONES

Se logró reducir el tiempo de degradación del bagazo de agave de 8 meses a 3 meses con un vermicomposteo acelerado con *B. adusta* y se obtuvo un biofertilizante estable y maduro.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el fondo Sectorial de Investigación en materia Agrícola, Pecuaria, Acuicultura, Agrobiotecnología y Recursos Filogenéticos con clave SAGARPA-2009-109799.

LITERATURA CITADA

- Bartha, R. y D. Pramer. 1965. Features of a flask method for measuring the persistence and biological effects of pesticides in the soil. *Soil Science* 100: 68-70.
- CRT. 2012. Estadísticas de economía. Consejo Regulador del Tequila (CRT). Consulta Marzo, 2012.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- García-Torres, A.M. y R.G. Torres-Sáe. 2003. Producción de enzimas lignolíticas por *Basidiomycetes* mediante la técnica de fermentación en sustrato sólido. *Revista Colombiana de Biotecnología* 5: 55-64.
- Hernández-González, M. y M. Bautista-Justo. 2000. Valor nutricional de setas *pleurotus ostreatus* cultivadas en paja de trigo y bagazo de agave *Agave tequilana* weber var azul enriquecido con col. Universidad de Guanajuato, Leon, Guanajuato.
- Hernández-Salas, J.M., M.S. Vill-Ramírez, J.S. Veloz-Rendón, K.N. Rivera-Hernández, R.A. Gonzáles-Cesar, M.A. Plascencia-Espinosa y S.R. Trejo-Estrada. 2009. Comparative hydrolysis and fermentation of sugarcane and agave bagasse. *Bioresource Technology* 100: 1238-1245.
- Hue, N.V. y J. Liu. 1995. Predicting compost stability. *Compost science and utilization* 3: 8-15.
- Iñiguez, C.G., T.N. Acosta, C.L. Martinez, J. Parra y O. Gonzales. 2005. Utilización de subproductos de la industria tequilera, parte 7. Compostaje de bagazo de agave y vinazas tequileras. *Revista Internacinal de Contaminación Ambiental* 21: 37-50.

- Iñiguez, C.G., S.E. Lange y R.M. Rowell. 2001. Utilization of byproducts from the tequila industry: part 1: Agave bagasse as a raw material for animal feeding and berboard. *Bioresource Technology* 77: 25-32.
- Iñiguez, G., G.A. Martínez, P.A. Flores y G. Virgen. 2011. Utilización de subproductos de la industria tequilera. Parte 9. Monitoteo de la evolución del compostaje de dos fuentes distintas de bagazo de agave para la obtención de un substrato para jitomate. *Revista Internacinal de Contaminacin Ambiental* 27: 47-59.
- Leonowicz, A. y K. Grzywnowicz. 1981. Quantitative estimation of laccase forms in some white-rot fungi using syringaldazine as a substrate. *Enzyme and Microbial Technology* 3: 55-58.
- Mathur, S.P., H. Dinel, G. Owen, M. Shnitzer y J. Dugan. 1993b. Determination of compost maturity I. *Biology, Agriculture and Horticulture* 10: 87-108.
- NMX-FF-109-SCFI-2007. Humus de lombriz (Lombricomposta) especificaciones y métodos de prueba. Mexico, Diario oficial de la federación, p. 14.
- Oluseyi, D.A. y O.F. Isola. 2009. Bidegradation of agro-wastes by some nigerian white-rot fungi. *BioResources* 4: 816-824.
- Raj, D. y R.S. Antil. 2011. Evaluation of maturity and stability parameters of composts prepared from agro-industrial wastes. *Bioresource Technology* 102: 2868-2873.
- Van Soest, P.J. y R.H. Wine. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *Journal of Association of Official Analytical Chemists* 50: 50-54.



Wichuk, K.M. y D. McCartney. 2010. Compost stability and maturity evaluation a literature review. Canadian Journal of Civil Engineering 37: 1505-1523.