

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA Y FÍSICO-QUÍMICA DE LOS SUBPRODUCTOS DEL BENEFICIO DEL CAFÉ EN PROCESO DE COMPOSTAJE¹

Gladis Blandón-Castaño^{*}; Nelson Rodríguez-Valencia^{**}; Marfa Teresa Dávila-Arias^{**}

RESUMEN

BLANDÓN C., G.; RODRÍGUEZ V., N.; DÁVILA A., M. T. Caracterización microbiológica y físico-química de los subproductos del beneficio del café en proceso de compostaje. *Cenicafé* 49(3): 169-185. 1998.

Se realizó un estudio microbiológico y fisicoquímico de la pulpa de café, sola y mezclada con mucílago en tres estados: fresca, a los dos meses de someterse a descomposición y en el producto final del proceso de compostaje, con el fin de identificar los microorganismos presentes en ella. Se estableció que en los sustratos frescos actúan principalmente bacilos gram(-) y levaduras; a los dos meses se observó la presencia de hongos y levaduras y en menor proporción, bacterias gram(+), gram(-) y actinomicetos. En el producto final del compostaje de la pulpa sola se identificaron 11 géneros de bacterias, 4 de hongos, 2 de actinomicetos y en el composte final de la pulpa mezclada con mucílago, se identificaron 8 géneros de bacterias, 5 de hongos, 3 de levaduras y 5 de actinomicetos. El producto final del compostaje de la pulpa sola presentó unos contenidos de minerales, porcentuales y en peso, superiores a los presentados por el material final obtenido de la pulpa mezclada con mucílago. Los rendimientos medios para el proceso de compostaje de la pulpa sola y de la pulpa mezclada con mucílago fueron del 16,58% y 31,99%, en base seca.

Palabras claves: Café, *Coffea arabica*, subproductos, pulpa, mucílago, compostaje, composte, microorganismos, abono orgánico.

ABSTRACT

A microbiological and physico-chemical study of coffee pulp, alone and mixed with mucilage, was carried out for three states: fresh, after two months of composting in turned piles, and final compost. Gram (+) bacillus and yeasts were predominant in fresh substrates. Fungi, yeasts, and smaller proportions of bacteria and actinomycetes were observed in the two-month composting substrates. Eleven genera of bacteria, 4 genera of fungi, and 2 genera of actinomycetes were identified in the final compost of coffee pulp alone. Whereas 8 genera of bacteria, 5 genera of fungi, 3 genera of yeasts, and 5 genera of actinomycetes were identified in final compost from coffee pulp mixed with mucilage. Final compost from coffee pulp alone showed higher mineral content than final compost from coffee pulp mixed with mucilage. Mean process efficiencies were 16,58% dry base (d.b.) for the first, and 31,99% d.b. for the second.

Keywords: Coffee, *Coffea arabica*, by-products, coffee pulp, coffee mucilage, composting, compost, microorganisms, organic fertilizer.

Fragmento del trabajo de tesis "Caracterización microbiológica cualitativa de la flora presente en el producto final del compostaje de pulpa de café" presentado a la Universidad Católica de Manizales para optar al título de Bacterióloga y Laboratorista Clínica. Manizales. 1996.

Bioquímica de la Universidad de Caldas y Bacterióloga y Laboratorista Clínica de la Universidad Católica de Manizales.

Asistentes de Investigación. Química Industrial. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

El composte es el producto obtenido del compostaje de los residuos orgánicos. El compostaje se define como la descomposición biológica y la estabilización de los sustratos orgánicos en condiciones que permitan el desarrollo de temperaturas termófilas, resultado de una producción calorífica de origen biológico, con la obtención de un producto final suficientemente estable, higiénico, semejante a un mantillo rico en sustancias húmicas, para la disposición y utilización sobre los suelos sin impacto negativo sobre el ambiente. El compostaje es también una ecotecnología porque permite el retorno de la materia orgánica al suelo y por tanto, su re inserción en los grandes ciclos ecológicos vitales en nuestro planeta (6).

El compostaje es un proceso dinámico que involucra la actividad combinada de una mezcla de microorganismos (bacterias, hongos, actinomicetos y otras poblaciones biológicas), cada uno de los géneros de microorganismos, más activo en la descomposición de algunas partículas de la materia orgánica. Los más activos son los aerobios y los anaerobios facultativos: la actividad de cada grupo complementa la de los otros. La sucesión de la población refleja un medio ambiente cambiante debido a que la temperatura y los sustratos están en un estado de flujo continuo. El sustrato cambia por el rompimiento de sustancias complejas en sustancias más simples (7).

La microbiología de los compostes es una ciencia difícil en un medio que ha sido poco explorado: para los microbiólogos que trabajan sobre los compostes, los problemas de fondo se presentan en el estudio de las poblaciones de microorganismos. Dos aspectos principales se están investigando: la cuantificación de los microorganismos por unidad de volumen y de masa y el reconocimiento taxonómico (clasificación) y bioquímica (identificación de las funciones y actividad enzimática) de las especies (6).

El conocimiento de cómo varían las características físico-químicas y microbiológicas del sustrato, durante el proceso de compostaje, es importante porque permite, en un momento dado, aislar microorganismos que se generen como productos intermedios y que tengan importancia biológica e industrial.

La identificación de la microflora presente en el composte, permite realizar el estudio de las funciones específicas de cada grupo de microorganismos y determinar su acción potencial, en el área de la nutrición vegetal, cuando el producto es agregado al suelo.

Los microorganismos sólo fueron reconocidos como los responsables del proceso de compostaje con el desarrollo de las medidas de observación microscópica. Los progresos que se han realizado posteriormente, han estado en el dominio de la bioquímica y la fisiología de las especies que en él intervienen. La genética y la biotecnología están llamadas a jugar un papel importante en el futuro del proceso de compostaje (6).

Todos los parámetros ambientales son de gran importancia en el proceso de compostaje ya que influyen sobre las poblaciones de microorganismos, la gran mayoría de los cuales están ya presentes en gran cantidad, en todos los sustratos orgánicos destinados a ser descompuestos. Las bacterias, actinomicetos y hongos son responsables por más del 95% de la actividad microbiana que ocurre en el proceso de compostaje (6).

En el beneficio húmedo del café, la pulpa y el muello constituyen los subproductos más abundantes y representan alrededor del 60% del peso del fruto fresco (2). La pulpa generalmente ha sido sometida a un proceso de descomposición aeróbica para ser utilizada posteriormente, en el campo, como abono orgánico y reducir así los costos de la fertilización química.

La calidad del composte final a partir de la pulpa de café, se ha medido por la composición físico-química del mismo, sin tener en cuenta su riqueza microbiana. La adición de mucílago sobre la pulpa tiene por objetivo no sólo controlar la contaminación potencial que se genera por su mala disposición, sino también incrementar el contenido de carbohidratos en el sustrato inicial, buscando favorecer la calidad microbiana y físico-química del producto obtenido.

La importancia del reciclaje de la materia orgánica, mediante el compostaje, radica en la influencia benéfica del humus sobre la calidad de las plantas. La aplicación del material final al suelo produce múltiples beneficios: aumenta la permeabilidad, la agregación de partículas, de macro y microelementos, corrige la acidez, incrementa la población de microorganismos y mejora la eficiencia y el uso de nutrientes por parte de las plantas (7).

Esta investigación tuvo como objetivo la caracterización físico-química y microbiológica del proceso de compostaje de pulpa de café sola y mezclada con mucílago y el cálculo de los rendimientos obtenidos durante el mismo, para generar de esta forma, el conocimiento básico necesario para la realización de investigaciones posteriores sobre la aplicación al suelo de los compostes finales obtenidos y su influencia en las áreas de acondicionamiento de los suelos y la nutrición vegetal.

MATERIALES Y MÉTODOS

La etapa de campo del experimento se realizó en la Central de Beneficio Ecológico de Anserma (Caldas), que posee las siguientes condiciones: latitud norte: 5°14', longitud oeste: 75°47', altitud: 1550 msnm, temperatura media anual: 19,6°C, precipitación: 2000 mm/año¹.

La etapa de laboratorio se realizó en los laboratorios de la Disciplina de Química Industrial del Centro Nacional de Investigaciones de Café "Pedro Uribe Mejía" Cenicafé, Chinchiná, Colombia, ubicado a (3); Latitud norte: 5°00', longitud oeste: 75°36', altitud: 1310 msnm, temperatura media anual: 21,3°C, precipitación: 2982,3 mm/año, días de lluvia: 239, humedad relativa: 78,1% y brillo solar: 1686,1 horas.

Materiales. Pulpa de café, 3600kg de pulpa provenientes del despulpado en seco de café cereza especie *Coffea arabica*.

Pulpa de café mezclada con mucílago, 4800kg de este sustrato fresco proveniente del beneficio de café cereza especie *C. arabica*, en los módulos BECOLSUB* de la Central de Beneficio Ecológico de Anserma.

Diseño experimental. Se utilizó un diseño de clasificación simple para evaluar la presencia de microorganismos en los sustratos pulpa sola y pulpa mezclada con mucílago, en diferentes estados de descomposición: frescos, semidescompuestos por volteos durante dos meses y en los productos finales del compostaje.

Tratamientos. Los tratamientos para la caracterización físico-química y microbiológica de los sustratos se describen en la Tabla 1.

Para los tratamientos 1, 2 y 3, se utilizó como sustrato pulpa de café sola. Inmediatamente se realizó el beneficio, se recogieron 1200kg, los cuales se distribuyeron en dos pilas de 600kg, las cuales se sometieron a dos volteos semanales, hasta obtener el producto final del compostaje. Transcurridos dos meses, se tomaron de las dos pilas de pulpa, al azar, ocho muestras compuestas de 200g, cuatro para análisis físico-químico y cuatro para análisis mi-

¹ BALDIÓN R., J.V. Agroclimatología. Cenicafé (Comunicación personal)

* Beneficio Ecológico del Café y de los Subproductos

TABLA 1. Tratamientos evaluados en el compostaje de los subproductos del beneficio del café.

Tratamiento	Descripción
1	Pulpa de un despulpado en seco, sola y fresca
2	Pulpa sola, de un despulpado en seco, después de ser sometida a volteos (2/semana) durante dos meses
3	Producto final (composte) del compostaje (2 volteos/semana) de pulpa sola
4	Pulpa mezclada con mucílago, fresca
5	Pulpa mezclada con mucílago, después de ser sometida a volteos (2/semana) durante dos meses
6	Producto final (composte) del compostaje (2 volteos/semana) de pulpa mezclada con mucílago

crobiológico. Cuando se obtuvo el producto final del compostaje se realizó un muestreo así: seis muestras compuestas de 200g al azar por pila, tres para análisis físico-químico y tres para análisis microbiológico.

Para los tratamientos 4, 5 y 6, se utilizó pulpa mezclada con mucílago. Inmediatamente se realizó el beneficio se recogieron 2400kg y se tomaron al azar ocho muestras compuestas de 200g, cuatro para análisis físico-químico y cuatro para análisis microbiológico. La pila inicial de pulpa mezclada con mucílago se distribuyó en cuatro pilas de 600kg, cada una. Los muestreos y los volteos de la pulpa mezclada con mucílago se hicieron en la misma forma que para el sustrato pulpa sola.

Toma de muestras. Las muestras se recolectaron con guantes esterilizados y se depositaron en frascos de vidrio también esterilizados; se refrigeraron a 4°C durante su transporte, hasta su análisis físico-químico y microbiológico.

Análisis microbiológico. Para cada muestra de sustratos frescos, con dos meses de compostaje y productos finales, se hicieron las siguientes determinaciones: aerobios mesófilos UFC/g, hongos y levaduras UFC/g, coliformes totales y

fecales NMP/g, actinomycetos UFC/g, microorganismos nitrificantes NMP/g e identificación de los microorganismos presentes. La metodología utilizada para efectuar los análisis microbiológicos tanto en el recuento como en la identificación aparece condensada en la Figura 1.

Análisis físico-químico. Se hicieron los siguientes: pH, humedad, contenido de materia orgánica, cenizas, nitrógeno, proteína, fibra, carbohidratos solubles, grasas y minerales.

Los métodos empleados fueron: para el pH el método Potenciométrico 1:4; para cenizas la incineración a 475°C; para N₂ el de semimicro Kjeldahl; para la MO la fórmula: 100 - %cenizas; para la humedad, el calentamiento en estufa a 60°C hasta peso constante; para proteína la fórmula N₂ x 6.25; para los elementos K, Ca, Mg la espectrofotometría de absorción atómica; el P utilizando el método colorimétrico (fosfomolibdovanadato de amonio); las grasas mediante Soxhlet; la fibra cruda mediante Weende A.O.A.C.; los carbohidratos solubles con la fórmula 100 - (%grasas + %proteína + %fibra cruda + %cenizas); y el C mediante la fórmula (100 - % cenizas)/1.8.

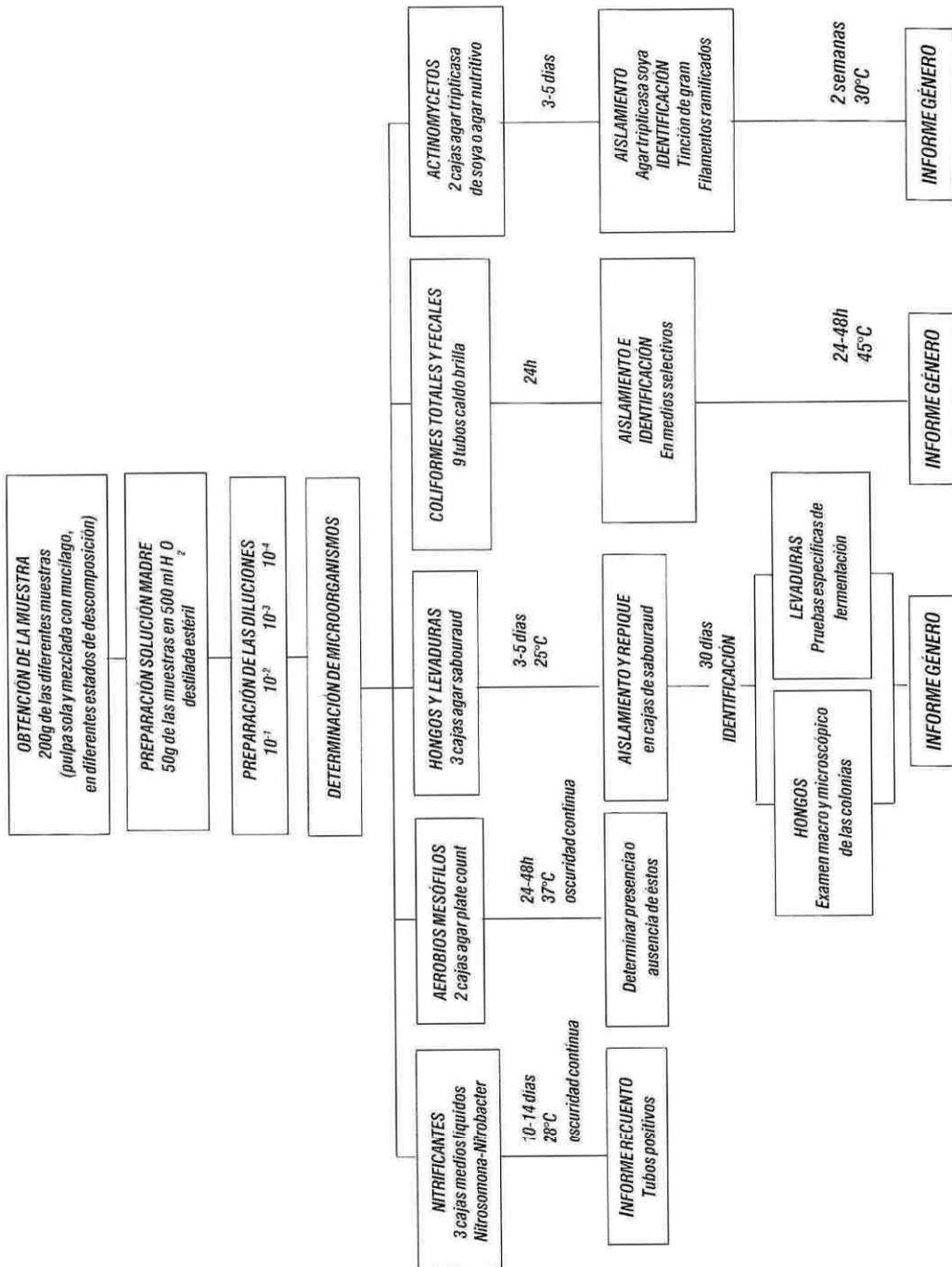


Figura 1. Metodología para el análisis microbiológico de las diferentes muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sustratos frescos. Recuentos de microorganismos. La microflora presente en el sustrato inicial de pulpa sola mostró un valor para los aerobios mesófilos del orden de $4,6 \times 10^7$ UFC/g, y para los hongos y levaduras de $3,1 \times 10^8$ UFC/g. El recuento microbiano en el sustrato inicial de pulpa mezclada con mucílago fue también alto: para aerobios mesófilos del orden de $1,8 \times 10^6$ UFC/g, y para hongos y levaduras de $2,1 \times 10^7$ NMP/g con predominio absoluto de las levaduras (Tabla 2).

Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos pulpa sola y pulpa mezclada con mucílago en los grupos de

microorganismos hongos y levaduras, coliformes totales y coliformes fecales ($P=5\%$).

Se encontró un mayor contenido de aerobios mesófilos, levaduras y actinomycetos en la pulpa sola que en la pulpa mezclada con mucílago, debido al menor contenido de humedad, 74,83% en la pulpa sola contra 87,90% en la pulpa con mucílago y al mayor contenido de carbohidratos solubles en el sustrato, 69,31% en la pulpa sola contra 61,44% en la pulpa mezclada con mucílago. Lo anterior permitió que se tuviera en la pulpa sola, una mayor disponibilidad de nutrientes para el establecimiento de estos microorganismos y unas condiciones físicas del medio más propicias para su crecimiento, como la aireación y el pH (Tabla 3).

TABLA 2. Cuantificación de los microorganismos en el proceso de compostaje de la pulpa sola y mezclada con mucílago.

Tratamiento	Aerobios mesófilos (UFC/g $\times 10^5$)	Actinomycetos (UFC/g $\times 10^5$)	Hongos y Levaduras (UFC/g $\times 10^5$)	Coliformes totales (NMP/g)	Coliformes fecales (NMP/g)
Pulpa de un despulpado en seco. sola y fresca	4.59×10^2	105	3117.5	1100	1100
Pulpa sola. de un despulpado en seco. después de ser sometida a volteos (2/semana) durante dos meses	9.13×10^5	277.25	35.1	1100	1100
Compost obtenido de pulpa sola. de un despulpado en seco	1.97×10^5	2445	2.47	1100	1100
Pulpa mezclada con mucílago. fresca	18.48	0	210.40	67.25	0
Pulpa mezclada con mucílago. después de ser sometida a volteos (2/semana) durante dos meses	3.15×10^5	139.75	26.53	1100	1100
Composte obtenido de pulpa mezclada con mucílago	4.51×10^5	209.58	3.52	1100	0

TABLA 3. Resultados del análisis físico-químico de los sustratos de la pulpa de café sola y mezclada con mucílago en tres pasos del proceso de compostaje.

Determinación	Pulpa de café sola			Pulpa de café mezclada con mucílago		
	Fresca	Dos meses, con volteos	Composte	Fresca	Dos meses, con volteos	Composte
Humedad (%)	74,83	70,00	52,83	87,90	77,85	55,50
pH	4,40	8,90	8,32	4,13	8,58	7,95
Cenizas (%)	6,66	18,59	45,56	7,30	14,67	20,65
Grasas (%)	1,60	1,06	0,27	2,00	1,06	0,31
Proteína (%)	11,00	21,31	17,22	12,11	24,74	25,22
Fibra (%)	11,43	25,38	26,48	17,16	23,13	24,85
CHO totales (%)	69,31	33,67	10,47	61,44	36,42	28,99
MO (%)	93,34	81,41	54,44	92,70	85,33	79,36
C/N	30,72	11,65	7,47	27,95	13,50	11,62
N (%)	1,76	4,06	4,24	1,94	3,70	3,98
P (%)	0,13	0,27	0,27	0,13	0,25	0,25
K (%)	2,82	6,90	5,27	2,75	4,82	4,10
Ca (%)	0,32	0,92	0,91	0,37	0,90	1,18
Mg (%)	0,08	0,19	0,19	0,11	0,20	0,26
Fe (ppm)	158,75	2510,00	3413,33	700,00	3230,00	3425,00
Mn (ppm)	69,00	100,00	155,17	43,00	128,75	169,25
Zn (ppm)	8,25	109,50	158,83	45,75	88,00	162,58
Cu (ppm)	9,75	12,00	14,67	17,75	26,75	40,42
B (ppm)	21,75	61,00	65,33	18,75	52,25	64,33

Comparación de las características físico-químicas. Se presentaron diferencias significativas, al 5%, en las variables humedad, grasas y fibra. Los porcentajes de materia orgánica fueron similares en ambos sustratos, no así el contenido de humedad que fue mayor en el sustrato pulpa mezclada con mucílago, debido a que durante la mezcla de estos dos subproductos se presentaron unos drenados que tuvieron un efecto lixivador sobre la pulpa, que arrastró parte de sus minerales. De esta forma el peso de la materia orgánica fue mayor en la pulpa fresca.

Géneros de microorganismos identificados. Se identificaron para la pulpa fresca los siguientes géneros: *Enterobacter*,

Staphylococcus, *Serratia*, *Candida*, *Torulopsis*, *Rhodotorula*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Hafnia* y *Streptomyces*. Todos éstos, excepto *Hafnia* y *Streptomyces*, fueron encontrados igualmente en la pulpa mezclada con mucílago (Tabla 4).

En la pulpa mezclada con mucílago se encontraron géneros de microorganismos que no estuvieron presentes en la pulpa sola como *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Saccharomyces*. De ellos, *Saccharomyces*, es una levadura de gran aplicación industrial y tiene un gran potencial, una vez aislada, para ser utilizada en la producción de alcohol a partir del mucílago de café.

TABLA 4. Microorganismos identificados en el composte de pulpa de café sola y mezclada con mucílago.

Pulpa de café sola			Pulpa de café mezclada con mucílago		
Fresca	Dos meses, con volteos	Composte	Fresca	Dos meses, con volteos	Composte
<i>Candida</i> ✓	<i>Aspergillus</i>	<i>Actinomadura</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Actinomadura</i>
<i>Citrobacter</i> ✓	<i>Bacillus</i>	<i>Achromobacter</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Enterobacter</i> ✓	<i>Citrobacter</i>	<i>Bacilos gram(+)</i>	<i>Candida</i> ✓	<i>Aspergillus</i>	<i>Bacilos gram(+)</i>
<i>Escherichia</i> ✓	<i>Escherichia</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Citrobacter</i> ✓	<i>Bacilos gram(+)</i>	<i>Candida</i>
<i>Hafnia</i>	<i>Geotrichum</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Enterobacter</i> ✓	<i>Bacillus</i>	<i>Chromobacterium</i>
<i>Rhodotorula</i> ✓	<i>Intraesporangium</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Escherichia</i> ✓	<i>Candida</i>	<i>Flavimonas</i>
<i>Serratia</i> ✓	<i>Pseudomona</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Flavobacterium</i>
<i>Staphylococo</i> ✓	<i>Sacchapolyspora</i>	<i>Estaphylococo</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Chromobacterium</i>	<i>Fusarium</i>
<i>Streptomyces</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Proteus</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Geotrichum</i>
<i>Torulopsis</i> ✓		<i>Geotrichum</i>	<i>Pseudomona</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Intraesporangium</i>
		<i>Penicillum</i>	<i>Rhodotorula</i> ✓	<i>Flavobacterium</i>	<i>Mucor</i>
		<i>Proteus</i>	<i>Saccharomyces</i>	<i>Geotrichum</i>	<i>Nocardia</i>
		<i>Rhodotorula</i>	<i>Serratia</i> ✓	<i>Nocardia</i>	<i>Penicillum</i>
		<i>Serratia</i>	<i>Staphylococo</i> ✓	<i>Pseudomona</i>	<i>Pseudomonas</i>
		<i>Streptomyces</i>	<i>Torulopsis</i> ✓	<i>Rhodotorula</i>	<i>Rhodotorula</i>
		<i>Vibrio</i>		<i>Saccharomyces</i>	<i>Sacchapolyspora</i>
		<i>Xanthomonas</i>		<i>Sarcina</i>	<i>Serratia</i>
		<i>Yersinia</i>		<i>Serratia</i>	<i>Streptomyces</i>
				<i>Streptomyces</i>	<i>Shewanella</i>
				<i>Shigella</i>	<i>Torulopsis</i>
				<i>Torulopsis</i>	<i>Xanthomonas</i>
				<i>Xanthomonas</i>	

Sustratos a los dos meses. Recuento de microorganismos. A medida que transcurrió el proceso de transformación de la materia orgánica en los sustratos pulpa sola y pulpa mezclada con mucílago, se observó un incremento en el recuento microbial de aerobios mesófilos y de actinomycetos, al cabo de dos meses de iniciado el proceso de transformación de la materia orgánica.

En el sustrato de pulpa sola, los aerobios mesófilos pasaron de $4,6 \times 10^7$ UFC/g en el sustrato inicial a $9,1 \times 10^{10}$ UFC/g en el sustrato a los dos meses. En la pulpa mezclada con mucílago los aerobios mesófilos pasaron de

$1,8 \times 10^6$ UFC/g en el sustrato inicial a $3,1 \times 10^{10}$ UFC/g en el sustrato a los dos meses.

En cuanto a la presencia de actinomycetos en la pulpa, éstos pasaron de 1×10^7 UFC/g en el sustrato inicial a $2,8 \times 10^7$ UFC/g en el sustrato a los dos meses. En este tiempo se realizó un recuento de actinomycetos del orden de $1,4 \times 10^7$ UFC/g en la pulpa mezclada con mucílago sometida a compostaje, los cuales no aparecieron en el recuento inicial; las variaciones se debieron a las condiciones de aerobividad y a las relaciones nutritivas en el composte en evaluación, que variaron consecuentemente con los grupos de microorganismos presentes. Hay

que anotar que al interior de un mismo grupo todos los microorganismos no se activan de la misma manera sobre el sustrato.

La presencia de los actinomicetos se vio favorecida por el incremento de fibra de los sustratos durante el compostaje. En la pulpa sola se pasó de un contenido inicial de 11,4% a 25,4% y para la pulpa mezclada con mucílago de 17,2% a 23,1%.

Como era de esperarse, se presentó una disminución en el grupo hongos y levaduras en los sustratos a los dos meses, respecto a los sustratos iniciales, tanto para la pulpa sola como para la pulpa mezclada con mucílago por el agotamiento de los carbohidratos solubles.

El recuento de hongos y levaduras pasó de $3,1 \times 10^8$ UFC/g a $3,5 \times 10^6$ UFC/g en el sustrato pulpa sola y de $2,1 \times 10^7$ UFC/g a $2,7 \times 10^6$ UFC/g en el sustrato pulpa mezclada con mucílago. Las levaduras se encontraron en un rango menor pero continuaron con su proceso de fermentación.

El recuento de coliformes totales y coliformes fecales se mantuvo por encima de 1100 NMP/g para el sustrato pulpa en compostaje. Para la pulpa mezclada con mucílago, a los dos meses se presentó un incremento de coliformes totales pasando de 67,25 NMP/g a 1100 NMP/g. Igual comportamiento se presentó para este sustrato en el resultado de coliformes fecales que no se encontraron en el sustrato fresco, determinándose un valor de 1100 NMP/g en el sustrato a los dos meses, donde su crecimiento se vio favorecido por las condiciones físico-químicas predominantes en el sustrato en este tiempo.

Aunque ha sido difícil esclarecer el papel real de los microorganismos en el proceso de compostaje, se acepta que probablemente son las bacterias las que inician el proceso de

degradación dando origen a la elevación de la temperatura. Su acción es necesaria para el rompimiento de moléculas orgánicas de estructuras más complejas como las proteínas. Cuando las condiciones ya son más adecuadas, se establecen los actinomicetos, entre los cuales se distinguen: *Micromonospora*, *Streptomyces* y *Actinomyces* (5).

Los actinomicetos son los responsables en gran parte del ataque sobre la celulosa y por ello, no es sorprendente descubrir que prácticamente están ausentes en procesos de compostaje efectuados en desechos sólidos con alto contenido de materia orgánica rápidamente fermentable. Los hongos aparecen también en esta fase, pero debido a las altas temperaturas de la masa, 70°C en los puntos más calientes, y a que son aerobios crecen en capas un tanto superficiales (5).

Rodríguez (8) ha registrado temperaturas de 62°C en masas de pulpa de 300kg en compostaje, a los 10 días. En pilas de dos toneladas, este mismo autor registró temperaturas de 64°C, a los 17 días. Las pilas de pulpa estuvieron cubiertas con el fin de mantener la humedad del sustrato, que se mantuvo en un promedio de 78%. En otro trabajo, Arias (1) registró una temperatura de 75°C a los 16 días en pilas de pulpa en proceso de descomposición, con humedades del 70%. La importancia de estas altas temperaturas es que los patógenos mueren en rangos de temperaturas termófilas.

Evolución de las características físico-químicas de los sustratos. Tal como se aprecia en el análisis físico-químico, el contenido de carbohidratos solubles pasó de 69,31% en la pulpa sola a 33,67% en el sustrato a los dos meses. Y de 61,44% en la pulpa mezclada con mucílago inicial a 36,42% en la pulpa mezclada con mucílago a los dos meses. La humedad de ambos sustratos a los dos meses disminuyó favoreciendo el establecimiento de varias especies de hongos, y pasó de 74,83% a 70,00% en

la pulpa sola y en la pulpa mezclada con mucílago de 87,90% a 77,85%.

Se observó que durante el compostaje se presentó un incremento del pH en los sustratos de pulpa sola y pulpa mezclada con mucílago, pasando en el primero de 4,40 a 8,90 y en el segundo de 4,13 a 8,58 probablemente por el asentamiento de una microbiota capaz de neutralizar el medio. Si bien los microorganismos no pueden regular su propia temperatura, sí pueden regular su pH interno, no obstante la concentración de hidrogeniones en el medio exterior (6).

El pH del medio de compostaje depende de los sustratos de partida. Además, puede estar igualmente modificado por el metabolismo de los microorganismos en crecimiento. Hay microorganismos anaerobios que tienden a neutralizar su propio medio de vida y volverlo así más favorable (6).

En este trabajo se observaron diferencias significativas según el análisis de varianza en las variables N. P. K. Ca. Mg. Fe. B. cenizas. proteína, fibra y pH (las cuales aumentaron), materia orgánica, relación C/N, grasas y carbohidratos solubles (las cuales disminuyeron), en la pulpa en compostaje a los dos meses con respecto a la pulpa fresca. De igual manera se presentaron diferencias significativas en el grupo de microorganismos hongos y levaduras, cuyo recuento fue mayor para el sustrato fresco.

Para la pulpa mezclada con mucílago con volteos durante dos meses, con respecto al sustrato inicial, se presentaron diferencias significativas en el análisis de varianza, en las variables N. P. K. Ca. Mg. Fe. Mn. B. proteína, fibra, pH (las cuales aumentaron), humedad, relación C/N, grasas, carbohidratos solubles (las cuales disminuyeron).

De igual manera, se presentaron diferencias significativas al 5%, en el grupo de

microorganismos de coliformes totales y fecales, cuyo recuento fue mayor para el sustrato a los dos meses.

Al realizar un análisis comparativo de los sustratos a los dos meses, se encontraron sólo diferencias significativas en las variables K (6,90% en la pulpa sola en compostaje y 4,82% en la pulpa mezclada con mucílago en compostaje) y humedad (valores de 70,00% y 77,85%, respectivamente). A los dos meses, los recuentos de aerobios mesófilos, hongos y levaduras y actinomicetos fueron similares en ambos sustratos.

Géneros de microorganismos identificados.

Los géneros de microorganismos presentes, comunes en los dos sustratos, fueron: *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Citrobacter*, *Bacillus* y *Streptomyces*.

Los géneros de microorganismos que estuvieron presentes en la pulpa mezclada con mucílago con volteos, que no estuvieron presentes en pulpa sola con volteos, fueron: *Flavobacterium*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Xanthomonas*, *Chromobacter*, *Rhodotorula*, *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Sarcina*, *Nocardia* y bacilos gram (+).

Los géneros de microorganismos que estuvieron presentes en pulpa sola con volteos y que no estuvieron presentes en pulpa mezclada con mucílago, sometida a volteos, fueron los actinomicetos *Intraesporangium* y *Sacchapolyspora*.

Los microorganismos aislados, en género, de pulpa mezclada con mucílago sometida a volteos durante dos meses, nos dan una visión de la flora existente. De esto se puede inferir que en el proceso de descomposición de este subproducto actuaron principalmente bacilos gram(-), importantes porque cumplen

funciones de oxidación-reducción y fermentación.

Géneros como *Serratia*, *Citrobacter*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Candida* y *Rhodotorula* se mantuvieron en el sustrato de pulpa mezclada con mucílago fresca y a los dos meses de volteos.

Productos finales. Recuento de microorganismos. En el producto final del compostaje de pulpa sola se notó una reducción en la población de aerobios mesófilos, pasando de 9.1×10^{10} UFC/g en el sustrato a los dos meses a 2.0×10^{10} UFC/g en el producto final; y de hongos y levaduras, pasando de 3.5×10^6 UFC/g a 2.5×10^5 UFC/g y se observó la presencia de actinomicetos en mayor proporción en el composte final (2.4×10^8 UFC/g) comparado con el recuento en el sustrato a los dos meses (2.8×10^7 UFC/g).

En lo que respecta a la carga microbiana en el composte final generado a partir de la pulpa mezclada con mucílago, se observó un incremento en el recuento de aerobios mesófilos y de actinomicetos, comparado con los obtenidos en el sustrato a los dos meses. El recuento de los coliformes totales en el material final, fue superior a 1.1×10^3 NMP/g y no se observó la presencia de coliformes fecales.

Sí se observó una disminución de hongos y levaduras pasando de 2.7×10^6 UFC/g en el sustrato a los dos meses a 3.5×10^5 UFC/g en el producto final. Esta disminución se debió a las condiciones de humedad del sustrato (55,5%)

Recuento de microorganismos nitrificantes. No se observó crecimiento de este tipo de microorganismos en ninguna de las muestras de los materiales finales del proceso de compostaje, tanto de la pulpa sola como de la pulpa mezclada con mucílago. Esto se debió, probablemente, a que los requerimientos nutritivos y el pH de los sustratos no fueron los adecuados.

Se presentaron valores de pH de 8.32 y 7.95 y carbohidratos solubles de 10.47% y 28.99%, en los productos finales obtenidos a partir de pulpa sola y pulpa mezclada con mucílago, respectivamente. Dado que los valores óptimos para el crecimiento de estos microorganismos, en la variable pH oscilan en el rango 6.6-7.4, se podría establecer que no se tuvieron las condiciones adecuadas para el desarrollo de estos microorganismos en tales productos.

Características físico-químicas. Los análisis en el composte obtenido de la pulpa sola mostraron un contenido de humedad del 52.83%, factor que limitó el crecimiento de los hongos. La relación C/N en este material, ya descompuesto, fue de 7.47 y su contenido de materia orgánica de 54.44%. Al analizar la composición química de los productos finales se observó un mayor contenido de materia orgánica en el material obtenido a partir de pulpa mezclada con mucílago, 79,36%, contra 54,44% en el material obtenido a partir de pulpa sola. Este mayor contenido de materia orgánica se debió, probablemente, a un mayor contenido de fibra que, de acuerdo con los análisis físico-químicos, estuvo presente en este sustrato. Este mayor contenido de carbono hizo que se tuviera una relación C/N en el composte de la pulpa mezclada con mucílago, de 11,62 en comparación con el composte de pulpa sola de 7,47.

Dependiendo de las características físico-químicas del composte, éste tiene diferentes aplicaciones en el suelo. Para el caso de un producto final con un alto contenido de materia orgánica (como sucede con el obtenido a partir de la pulpa mezclada con mucílago) su aplicación en el suelo podría ser como una enmienda. Para el caso de un composte con un alto contenido de minerales, éste tendría su aplicación, en el campo, como fertilizante orgánico.

Balance de materia del proceso de compostaje. Durante el compostaje disminuye el

volumen y la masa del material en descomposición. Esta reducción es debida a varios factores:

Hay una disminución del volumen por compresión y descomposición del sustrato (destrucción progresiva de partículas).

Hay una disminución de la masa por la degradación de la materia orgánica (degradación acompañada de pérdida de carbono por salida de dióxido de carbono y de compuestos volátiles).

Paralelamente, la elevación de la temperatura lleva consigo pérdida de agua por evaporación.

En promedio, se estima que la pérdida de materia orgánica para una relación C/N de partida óptima, varía entre 35 y 50% (6).

En el proceso de compostaje de la pulpa sola, se partió de 600kg de pulpa apilada, con un contenido de materia seca, promedio, de 150.9kg y un contenido medio de materia orgánica de 140.86kg. Al final se obtuvieron, en promedio, 53.22kg de material descompuesto con un contenido de materia seca de 25.03kg y un contenido de materia orgánica de 13.59kg. Los rendimientos medios para este proceso fueron del 8.87% en base húmeda, del 16.58% en base seca y del 9.65% en términos de materia orgánica.

Para el caso de pulpa mezclada con mucílago se partió, igualmente, de pilas de 600kg con un contenido medio de materia seca de 73.5kg y de materia orgánica de 68.16kg y se obtuvo un material final con un peso promedio de 52.08kg, con un contenido medio de materia seca de 23.11kg y de materia orgánica de 18.34 kg. Los rendimientos medios para este proceso fueron del 8.68% en base húmeda, del 31.99% en base seca y del 27.18% en términos de materia orgánica.

Al comparar los rendimientos obtenidos en el proceso de compostaje de la pulpa sola y la pulpa mezclada con mucílago, se encuentra que los rendimientos, en base húmeda, son muy similares (8,87% y 8,68%). En lo que respecta a la materia seca, los rendimientos para el sustrato de pulpa son aproximadamente el 50% de los obtenidos con el sustrato pulpa mezclada con mucílago (31,99% y 16,58%) y para el caso de la materia orgánica, los rendimientos para el sustrato de pulpa son aproximadamente la tercera parte de los obtenidos con la pulpa mezclada con mucílago (27,18% y 9,65%).

Tal como lo reporta Mustin (6) las reducciones promedio de los compuestos en el proceso de compostaje están alrededor de un 40% de la materia seca; las reducciones, lo expresa el autor, son mayores, superiores al 50%, en el caso de desechos fácilmente fermentables y menores, alrededor del 25-40%, en el caso de desechos lignocelulósicos.

En los dos sustratos evaluados se aprecia que las pérdidas de materia orgánica fueron menores para la pulpa mezclada con mucílago (72,82%), material que presentó el mayor contenido de fibra en los análisis físico-químicos y del 90,35% para el caso de la pulpa sola. No obstante, si analizamos la materia seca final en los compostes producidos, se aprecia que para aquel generado a partir de pulpa sola se obtienen 25.03kg (de 600kg de material fresco). Para el caso del composte generado a partir de pulpa mezclada con mucílago se obtienen 23.11kg (de 600kg de material fresco), lo que realmente no marcaría una diferencia acentuada en los rendimientos, en peso de materia seca/peso de material fresco, que para el caso del composte de pulpa sería de 4.17% y para el de pulpa mezclada con mucílago de 3.85%.

El tiempo de descomposición fue muy similar en ambos sustratos: para el caso de pulpa sola el tiempo medio de descomposición fue de 111 días y para la pulpa mezclada con mucílago

de 115 días. En otros estudios de compostaje realizados en Cenicafé, se reporta un tiempo de descomposición de la masa de pulpa de 110 días, con volteos cada 15 días y con un porcentaje de materia orgánica en el composte del 56.7%, muy similar al encontrado en este estudio, para la pulpa sola, del 54.4% (4).

Cambios físico-químicos y microbiológicos durante el proceso de compostaje. En la Figura 2 se muestra una evolución gráfica de la apariencia física de los sustratos de pulpa sola y pulpa mezclada con mucílago, durante todo el proceso de compostaje.

Se encontraron diferencias significativas, al 5%, para N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, B, Zn, cenizas, proteína, fibra y pH (las cuales aumentaron); humedad, materia orgánica, relación C/N, grasas y carbohidratos solubles (las cuales disminuyeron), al comparar el producto final del compostaje de pulpa de café con respecto al sustrato inicial. En lo que respecta a los grupos de microorganismos se presentaron diferencias significativas en los hongos y levaduras (los cuales disminuyeron) y los actinomycetos (los cuales aumentaron).

En el producto final de compostaje de pulpa mezclada con mucílago se presentaron diferencias significativas en el análisis de varianza, con respecto al sustrato inicial, en las variables N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, B, Zn, Cu, cenizas, proteína, fibra y pH (las cuales aumentaron), humedad, materia orgánica, relación C/N, grasas y carbohidratos solubles (las cuales disminuyeron). En lo que respecta a los grupos de microorganismos, se presentaron diferencias significativas en los coliformes totales (que aumentaron).

Para la pulpa sola se presentaron diferencias significativas, al comparar el sustrato a los dos meses de compostaje, con el producto final obtenido, en las variables Mn (100ppm vs 155,17ppm), cenizas (18,59% vs 45,56%), hu-

medad (70.00% vs 52.83%), materia orgánica (81,41% vs 54,44%), relación C/N (11,65 vs 7,47), grasas (1,06% vs 0,27%) y carbohidratos solubles (33,67% vs 10,47%), y en el grupo de microorganismos en los actinomycetos ($2,8 \times 10^7$ UFC/g vs $2,4 \times 10^8$ UFC/g).

Para la pulpa mezclada con mucílago se presentaron diferencias significativas, al comparar el sustrato a los dos meses de compostaje con el producto final obtenido, en las variables Ca (0,90% vs 1,18%), Mg (0,20% vs 0,26%), Mn (128,75 ppm vs 169,25 ppm), B (52,25 ppm vs 64,33 ppm), cenizas (14,67% vs 20,65%), humedad (77,85% vs 55,50%), grasas (1,06% vs 0,31%), carbohidratos solubles (36,42% vs 28,99%) y en el grupo de microorganismos en los coliformes fecales ($1,1 \times 10^3$ NMP/g vs 0).

Comparación físico-química entre los compostes obtenidos. Al comparar los dos productos finales del compostaje (el obtenido de pulpa sola y el obtenido de pulpa mezclada con mucílago), se presentaron diferencias significativas en las variables K (5,27% vs 4,10%), Ca (0,91% vs 1,18%), Mg (0,19% vs 0,26%), Cu (14,67 ppm vs 40,42 ppm), cenizas (45,56% vs 20,65%), materia orgánica (54,44% vs 79,36%), relación C/N (7,47 vs 11,62), proteína (17,22% vs 25,22%), carbohidratos solubles (10,47% vs 28,99%) y en el grupo de microorganismos coliformes fecales ($1,1 \times 10^3$ NMP/g vs 0) y actinomycetos ($2,4 \times 10^8$ UFC/g vs $2,1 \times 10^7$ UFC/g).

Géneros de microorganismos identificados en los productos finales. Los géneros de microorganismos encontrados, comunes en ambos sustratos, fueron: *Actinomadura*, *Xanthomonas*, *Flavobacterium*, *Serratia*, *Penicillium*, *Streptomyces*, *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Rhodotorula* y Bacilos gram(+).

Los géneros reportados en el producto final de pulpa mezclada con mucílago, que no se encontraron en el producto final de pulpa sola,

Sustratos frescos



Pulpa de café



Pulpa mezclada con mucilago

Sustratos con dos meses de volteos



Pulpa de café



Pulpa mezclada con mucilago

Productos finales



Composte de pulpa sola



Composte de pulpa mezclada con mucilago

Figura 2. Apariencia física de los sustratos durante el proceso de compostaje.

fueron: *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Candida*, *Flavimonas*, *Intraesporangium*, *Nocardia*, *Sacchapolyspora*, *Torulopsis*, *Mucor*, *Shewanella* y *Fusarium*.

Los géneros de microorganismos registrados en el producto final de pulpa sola y que no se encontraron en el producto final de pulpa mezclada con mucílago, fueron: *Achromobacter*, *Yersinia*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Vibrio*, *Cladosporium*.

Al analizar los microorganismos identificados al nivel de género, en los productos finales del compostaje, que no fueron comunes en ambos sustratos, se observa una mayor variedad de géneros en el composte de pulpa mezclada con mucílago, 11, contra 8 que estuvieron presentes sólo en el composte de pulpa sola. Esta mayor cantidad y variedad de géneros encontrados en el producto final proveniente de pulpa mezclada con mucílago, en donde se identificaron actinomycetos, hongos, levaduras y bacterias, está íntimamente relacionada con la composición química (disponibilidad de nutrimentos) y características físicas del producto final.

Géneros de microorganismos como *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Escherichia* son de gran interés ya que cumplen funciones de fijación del nitrógeno y transformación de éste. Géneros como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Xanthomonas*, *Flavobacterium*, *Serratia*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Erwinia*, *Nitrosomonas*, *Aspergillus*, *Penicillium*, y *Fusarium* son de gran importancia porque son microorganismos que actúan en la solubilización y asimilación del fósforo (9).

La vitalidad de los suelos puede asociarse con los microorganismos claves en las transformaciones orgánicas y minerales que realizan gran parte de sus funciones enzimáticas; los microorganismos deben

actuar en equipo porque una especie sólo puede sintetizar pocas enzimas que no le alcanzan para su metabolismo e influyen en otros procesos (6).

Dentro de los géneros de microorganismos presentes en los compostes provenientes de la transformación de diferentes sustratos orgánicos, se tienen bacterias de la familia Pseudomonaceae, estando presente los géneros *Pseudomonas*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Thiobacillus*, *Vibrio*, *Acetobacter*. De la familia Azotobacteriaceae: *Azotobacter*, *Beijerinckia*, fijadores libres de nitrógeno atmosférico. De la familia Rhizobacteriaceae: *Rhizobium*, en simbiosis con las raíces de varias familias de plantas fijadoras de nitrógeno. De la familia Achromobacteriaceae: *Achromobacter*, *Flavobacterium*, productores de pigmentos. De la familia Enterobacteraceae: *Escherichia*, *Proteus*, *Aerobacter*, *Serratia*, degradadores de la materia orgánica. De la familia Lactobacillaceae: *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, degradadores de azúcares. De la familia Bacillaceae: *Bacillus*, aerobios, *Clostridium* (6).

Actinomycetos de la familia Actinomycetaceae: *Nocardia*, *Pseudonocardia*. De la familia Streptomycetaceae, la más difundida en el suelo y en los compostes, con los géneros *Streptomyces*, *Micromonospora* y numerosos géneros termofílicos como *Thermonospora*, *Thermopolyspora*, *Thermoactinomyces*. Hongos Zygomycetos, como los Mucorales que están presentes en todos los sustratos vegetales antes del compostaje, juegan un papel importante en la descomposición de la materia orgánica a partir del almidón y de las celulosas, como *Mucor* y *Rhizopus* (6).

Géneros de microorganismos que se conservaron durante el proceso de compostaje. Con respecto a los géneros de microorganismos que se conservaron durante todo el proceso de compostaje de pulpa sola, se encontraron

Escherichia y *Streptomyces*. Géneros como *Citrobacter* se conservaron en la pulpa sola fresca y en la pulpa en compostaje durante dos meses; géneros como *Enterobacter*, *Rhodotorula* y *Serratia*, estuvieron presentes en los productos iniciales y finales; géneros como *Aspergillus* y *Geotrichum* aparecieron en la pulpa sola en compostaje a los dos meses y se mantuvieron en el producto final.

En lo que se refiere al compostaje de la pulpa mezclada con mucílago, los géneros de microorganismos que se conservaron durante todo el proceso fueron *Candida*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodotorula*, *Serratia* y *Torulopsis*. Géneros de microorganismos como *Alcaligenes*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* y *Saccharomyces* se mantuvieron en el sustrato fresco y a los dos meses de compostado; géneros como *Aspergillus*, *Bacillus* gram(+), *Chromobacterium*, *Streptomyces*, *Geotrichum*, *Nocardia* y *Xanthomonas* aparecieron en el sustrato en compostaje a los dos meses y se mantuvieron en el producto final.

Existe una relación entre la permanencia de géneros de los diferentes microorganismos durante los procesos de compostaje de la pulpa sola y mezclada con mucílago, y la disponibilidad de nutrientes derivada de la dinámica en la composición química del sustrato y las condiciones físicas del material descompuesto.

La mayor disponibilidad de nutrientes en el sustrato pulpa mezclada con mucílago, durante todo el proceso de compostaje, explica el mayor número y variedad de géneros de microorganismos encontrados en este sustrato en el tiempo cero, a los dos meses de compostaje y en el producto final, al compararlo con los géneros de microorganismos que tuvieron asentamiento en el sustrato de pulpa sola durante todo el proceso de compostaje.

En la presente investigación se logró determinar que los materiales finales provenientes del proceso de compostaje de los subproductos del proceso de beneficio húmedo del café (pulpa y mucílago), presentaron una gran riqueza microbiana, tanto en variedad como en cantidad, aislándose 17 géneros para el caso del composte proveniente de pulpa y 21 para el caso de la pulpa mezclada con mucílago. Esta condición, aunada a la composición físico-química de los materiales finales caracterizados en este estudio, hace que éstos sean considerados como un insumo básico en la agricultura orgánica.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos al personal de la Central de Beneficio Ecológico de Anserma, al de las Disciplinas de Química Industrial, Ingeniería Agrícola y Química Agrícola y al Dr. Bernardo Cháves C., Líder de la Disciplina de Biometría, del Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé.

LITERATURA CITADA

1. ARIAS H., J. J. Caracterización de la pulpa de café en diferentes tiempos de descomposición y su efecto en almácigos de café. Manizales. Universidad de Caldas. Facultad de Agronomía. 1995. 98 p. (Tesis: Ingeniero Agrónomo).
2. CALLE V., H. Subproductos del café. Chinchiná. Cenicafé. 1977. 84 p. (Boletín Técnico N° 6).
3. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. CENICAFÉ. Anuario meteorológico cafetero 1995. Chinchiná. Cenicafé. 1995. p.107.
4. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. CENICAFÉ. DISCIPLINA DE QUÍMICA INDUSTRIAL. Estrategias para el manejo y valorización de los subproductos del proceso de beneficio húmedo del café. In: SEMINARIO Sobre Control de la Contaminación en la Agroindustria Cafetera. Chinchiná. Cenicafé. 1993. 82 p.

5. LEÓN, L. R. DE. Degradación aeróbica termofílica. Su aplicación en el manejo de desechos sólidos. *In*: SIMPOSIO sobre Fermentación en Sustratos Sólidos. Tegucigalpa, 2-4 agosto, 1982, Guatemala. ICAITI, 1982, p. 3-1-3-18.
6. MUSTIN, M. Le compost. Gestion de la matière organique. París, Editions Francais Dubuse, 1987, 954 p.
7. RODALE, J. I. The complete book of composting. Washington, Department of Agriculture, 1971, 1007 p. (Agriculture Information Bulletin N°464).
8. RODRÍGUEZ V., N. Informe anual de actividades de la Disciplina de Química Industrial 1992-1993. Chinchiná, Cenicafé, 1993, 91p. (Mecanografiado).
9. SUBBA RAO, N. S. Biofertilizers in agriculture, 2 ed. New Delhi, Oxford & IBH Publishing, 1992, 208 p.