

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**CO-ESTABILIZACIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS DE CERVECERÍA
ARTESANAL PARA OBTENER ENMIENDAS DE SUELOS**

POR

DIEGO ANDRÉS AGUILERA LERMANDA

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CONCEPCIÓN-CHILE
2023**

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**CO-ESTABILIZACIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS DE CERVECERÍA
ARTESANAL PARA OBTENER ENMIENDAS DE SUELOS**

POR

DIEGO ANDRÉS AGUILERA LERMANDA

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CONCEPCIÓN-CHILE
2023**

Aprobada por:

Profesora Asociada, M. Cristina Muñoz V.
Ing. Agrónoma, Dr. Cs.

Guía

Profesor Asociado, Mauricio Schoebitz C.
Ing. Agrónomo, Ph. D.

Asesor

Profesora Asociada, Marisol Vargas C.
Ing. Agrónoma, Dr. Cs.

Asesor

Profesor Asociado, Guillermo Wells M.
Ing. Agrónomo, Mg. Cs.

Decano

RECONOCIMIENTOS

Este trabajo de investigación se enmarca en el proyecto FONDECYT regular 1210503 “Biochar activated for bio-remediation and bio-recovery of soils to promote a climate-smart agriculture”, financiado por la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo - ANID.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen.....	1
Summary.....	1
Introducción.....	2
Materiales y Métodos.....	5
Resultados y Discusión.....	8
Conclusiones.....	24
Referencias.....	24

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

		Página
Tabla 1	Descripción y composición de los tratamientos.....	6
Tabla 2	Efecto simple de los factores sustrato y levadura en parámetros nutricionales de los tratamientos.....	9
Tabla 3	Efecto de la interacción de los factores sustrato y levadura en los valores de pH y C.E.....	10
Tabla 4	Efecto del factor sustrato en el porcentaje de C total de los tratamientos.....	12
Tabla 5	Efecto de la interacción de los factores sustrato y levadura en el N total y relación C/N.....	13
Tabla 6	Efecto del factor sustrato en el contenido de amonio (NH ₄ ⁺) de los tratamientos.....	15
Tabla 7	Efecto de la interacción de los factores sustrato y levadura en el contenido de nitrato (NO ₃ ⁻) y la relación NH ₄ ⁺ /NO ₃ ⁻ de los tratamientos.....	16
Tabla 8	Efecto de la interacción de los factores sustrato y levadura en la actividad enzimática de ureasa, fosfatasa y β-glucosidasa.....	20
Figura 1	Relación NH ₄ ⁺ /NO ₃ ⁻ de los tratamientos durante el proceso de estabilización.....	17
Figura 2	Efecto del factor sustrato en resultados del test de respiración.....	18
Figura 3	Efecto del factor sustrato en la longitud de tallo (Lt) de <i>Raphanus sativus</i> L. para el control con agua destilada y los tratamientos aplicados.....	23

CO-ESTABILIZACIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS DE CERVECERÍA ARTESANAL PARA OBTENER ENMIENDAS DE SUELOS

CO-ESTABILIZATION OF ORGANIC WASTE FROM CRAFT BREWERY TO OBTAIN SOIL AMENDMENTS

Palabras índice adicionales: Sustratos orgánicos, compostaje, levaduras, biocarbón, producción de bebidas alcohólicas.

RESUMEN

Las enmiendas orgánicas mejoran las propiedades de los suelos y los efectos negativos de su degradación. Éstas se obtienen a partir de la estabilización de materiales de origen vegetal y/o animal provenientes de distintos sectores agrícolas. En este estudio se evaluó el proceso de estabilización de residuos orgánicos de cervecería artesanal: bagazo de cebada (B) y levaduras residuales (L), los que fueron mezclados con biocarbón (BC) y estiércol bovino (ES) en un diseño de bloques completo al azar con arreglo factorial 3x2. El factor sustrato (B, B+BC, B+ES) se incubó en ausencia y presencia de inóculo de L durante 4 meses. Luego se evaluó: pH, conductividad eléctrica (C.E), nutrientes disponibles, carbono (C) y nitrógeno (N) total, amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-), relación C/N y $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$. También se evaluó la actividad microbiológica (respirometría, actividad enzimática) y fitotoxicidad. Los factores y su interacción tuvieron efectos significativos ($\alpha \leq 0,05$) sobre algunas variables. La adición de L afectó la actividad enzimática de los tres sustratos y también su composición química. Añadir BC en el sustrato disminuyó las emisiones de CO_2 y la C.E, también aumentó el C total. El inóculo de L tuvo efecto en el sustrato ES al aumentar su pH, y decrecer su C.E, contenido de NO_3^- y N total. Todos los tratamientos carecen de fitotoxicidad y se encuentran en rangos óptimos de pH y relación C/N para ser utilizados como enmiendas orgánicas de suelos.

SUMMARY

Organic amendments improve soil properties and the negative effects of its degradation. They can be obtained from the stabilization of vegetable and/or animal

waste from different agricultural sectors. In the present study, the stabilization process of organic waste from craft brewery was analyzed: brewer's spent grain (B) and spent yeast (L) were both mixed with biochar (BC) and cow manure (ES) in a randomized complete block design with factorial arrangement of 3x2. For 4 months, the substrate factor (B, B+BC, B+ES) was incubated in the absence and addition of L inoculum where the $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio was analyzed. After that period, chemical composition was evaluated, including pH, electrical conductivity (C.E), available nutrients, total carbon (C) and nitrogen (N), ammonium (NH_4^+), nitrates (NO_3^-), C/N and $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratios. Microbiological activity (respirometry, enzymatic activity) and phytotoxicity were also evaluated. The factors and their interactions had significant effects ($\alpha \leq 0.05$) over some variables. The L inoculum affected the enzymatic activity of the three substrates and their chemical composition. Adding biochar decreased CO_2 emissions and the C.E. This also increased total C. The L inoculum had effect over ES substrate, increasing its pH and decreasing C.E, nitrates and total N content. Since every treatment lacks phytotoxicity, with optimal ranges of pH and C/N ratio, they can be used as soil organic amendments.

INTRODUCCIÓN

La degradación de suelos es una problemática que conlleva la pérdida de propiedades físicas, químicas y biológicas de estos, la emisión de gases de efecto invernadero, la pérdida de biodiversidad y la fragmentación de ecosistemas (Ortiz, 2022); con externalidades negativas en los sistemas de producción agrícola. En este contexto surgen prácticas para mitigar dichos efectos en el marco del cambio climático y seguridad alimentaria, tales como enfoques agroecológicos de producción (FAO, 2015), el fomento de economías circulares (MINAGRI, 2022), el uso de biotecnología para optimizar distintos procesos (Haider y Schäffer, 2009), la valorización de residuos agroindustriales y su utilización para la elaboración de enmiendas (Sánchez-Monedero *et al.*, 2019).

Las enmiendas orgánicas se obtienen de materiales carbonosos de origen vegetal y/o animal, y su función es mejorar las propiedades de los suelos, además de mantener o aumentar su contenido de materia orgánica (MO) (Delgado, 2017). La

producción de enmiendas orgánicas ha cobrado relevancia como alternativa al uso de fertilizantes de origen inorgánico que, a raíz de la pandemia de Covid-19 y diversos conflictos bélicos a nivel internacional, registraron una menor disponibilidad y aumento considerable en sus precios, lo que dificulta la provisión para diversos segmentos de productores agrícolas (FAO, 2022). La elaboración de enmiendas orgánicas permite el aprovechamiento de subproductos (residuos) generados en distintos sectores productivos (Rosas *et al.*, 2016), incluyendo los rubros frutícola, ganaderos, silvícola y de bebidas alcohólicas (Vargas *et al.*, 2018; INN, 2004).

La cerveza es una de las bebidas alcohólicas más comercializadas en Chile, con un consumo per cápita que ha aumentado en un 96,7 % durante los últimos 17 años, siendo durante el 2022 de hasta 59 litros anuales (ACECHI, 2023). Esta alta demanda ha incentivado el desarrollo de nuevos productos, incluyendo variedades artesanales de cerveza que según Soto (2019), son valoradas por sus atributos de calidad a nivel de ingredientes, percepciones sensoriales y estilos. Esta bebida se elabora utilizando cebada malteada (*Hordeum vulgare* L.), flores de lúpulo (*Humulus lupulus* L.), levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) y agua; difiriendo de la cerveza industrial por la exclusión de adjuntos, los que pueden ser otros cereales añadidos al proceso para disminuir sus costos (Morales, 2019). La oferta nacional de cerveza asciende a 7,2 millones de hectolitros anuales (ACECHI, 2023), dentro de la cual el mercado de cerveza artesanal es incipiente, con una producción de 7,8 millones de litros por año (Morales, 2019). Existen más de 300 cervecerías artesanales en el país, de las cuales la mayoría son consideradas microcervecerías de índole familiar (Morales, 2019) con volúmenes de producción entre los 200 y 5.000 litros mensuales (Kausel y Behn, 2016), lo que conlleva la generación de residuos orgánicos durante su elaboración.

El proceso de elaboración, como indica Galle (2019), consta de la molienda de granos de cebada malteada, su maceración (obtención del mosto) y posterior filtración, cocción, enfriamiento, fermentación por levaduras, maduración y envasado. En la cocción del mosto se obtiene un líquido rico en azúcares fermentables, el cual es separado de los granos de cebada cocinados. Dichas azúcares son convertidas en alcohol y CO₂ mediante la acción de levaduras durante

la fermentación, obteniéndose como residuos la masa de levadura en forma de flóculos espesos, y el bagazo de cebada compuesto por los granos no degradados en la cocción (Assandri *et al.*, 2021a).

La masa de levadura obtenida puede ser reutilizada para procesos de fermentación posteriores según Jaeger *et al.* (2020) y tiene una composición rica en proteínas (40 %), polisacáridos (25 %), ácidos nucleicos (15 %), lípidos (15 %), además de vitaminas y otros compuestos hidrosolubles. Se obtienen 2 kg de levaduras por cada 100 litros de cerveza elaborada (Torrente, 2019), de manera que se estima una cantidad de 156.000 kg de levaduras residuales en el ámbito de la cerveza artesanal al año. Este subproducto se utiliza principalmente en la industria alimentaria (Torrente, 2019) y en la obtención de extractos que sirven como medios de cultivo para microorganismos; sin embargo continúa siendo un residuo rico en nutrientes que es sub-utilizado y generalmente descartado (Vollet *et al.*, 2020).

El bagazo es considerado el residuo más importante del proceso de la producción de cerveza, ya que representa un 85 % del total de subproductos, obteniéndose 20 kg de éste por cada 100 litros de cerveza elaborada (Assandri *et al.*, 2021a), lo que permite estimar que se generan 1.560.000 kg de bagazo anualmente, según las cifras de producción de cerveza artesanal en Chile (Morales, 2019). El bagazo se caracteriza como un subproducto heterogéneo debido al origen de la cebada, los tiempos de cocción (Assandri *et al.*, 2021a), y la mezcla de distintas variedades en la receta de cada cervecero (Torrente, 2019). Es descrito como un material lignocelulósico (Mussato *et al.*, 2006), rico en carbohidratos (25 – 35 %), celulosa y hemicelulosa (17 – 25 %), lignina (8 – 28 %) y proteínas (10 – 30 %). Su alto contenido de humedad (75 %) y la presencia de azúcares fermentables, lo hacen susceptible a la degradación por microorganismos en períodos cortos de tiempo (7 - 10 días) (Assandri *et al.*, 2021a), lo que dificulta almacenar este residuo. Bianco *et al.* (2021) menciona que esta inestabilidad microbiológica impide que el bagazo sea utilizado directamente como fertilizante, por lo que la aplicación de técnicas de estabilización a este residuo permite utilizarlo como enmienda de suelos o fertilizante de origen orgánico. La estabilización de estos sustratos se alcanza

cuando la actividad microbiológica de los residuos orgánicos en descomposición disminuye, y puede estimarse por indicadores de estabilización y madurez tales como su respiración (emisión de CO₂), relación amonio/nitrato, relación C/N, fitotoxicidad (INN, 2004; Moreno y Moral, 2008; Khan *et al.* 2014), entre otros parámetros como la actividad enzimática, que permite cuantificar de manera más específica la degradación del sustrato.

Una técnica de estabilización para el bagazo es el compostaje (Assandri *et al.*, 2021a), proceso aeróbico que consiste en la descomposición de MO e implica la reducción en volumen y peso de los residuos debido a la actividad de microorganismos. El proceso de estabilización se puede favorecer con aditivos (co-estabilización) como el biocarbón, que potencialmente evitaría pérdidas de nutrientes durante el proceso de estabilización y presentaría distintos beneficios al suelo (Sánchez-Monedero *et al.*, 2018).

La inoculación con microorganismos, tales como levaduras del género *Saccharomyces* spp. (Fauzan *et al.*, 2022), entre otras bacterias y hongos (De Guzmán y Dagupan, 2022), puede acelerar el proceso de estabilización, y por lo general se aplica en el sustrato inicial (Loarte *et al.*, 2018). De este modo se obtiene un producto estable y de bajo costo conocido como compost (SAG, 2013; Damián, 2018) en un tiempo aproximado de 4 meses (Martínez *et al.*, 2016). Este producto se caracteriza por ser rico en nutrientes y libre de compuestos fitotóxicos (Assandri *et al.*, 2021a).

Por la naturaleza orgánica y las propiedades químicas y biológicas de los subproductos generados en la elaboración de cerveza artesanal, se plantea como objetivo del presente estudio, evaluar alternativas de co-estabilización en residuos orgánicos de la industria de cerveza artesanal para su uso como enmienda de suelos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de las materias primas. Desde una cervecería artesanal de la región de Ñuble se obtuvo el bagazo de cebada y flóculos de levaduras residuales. El bagazo fue pre-tratado mediante secado al aire en un invernadero con la finalidad

de disminuir su contenido de humedad. La levadura fue extraída en contenedores plásticos y almacenada a 4 °C hasta su aplicación, siendo previamente analizada en el laboratorio de Virología de la Universidad de Concepción, donde se determinó una población de levaduras presentes en los flóculos de $6,9 \times 10^7$ UFC mL⁻¹.

En predios agrícolas de la región de Ñuble se obtuvo estiércol fresco de bovino, el que fue utilizado de manera directa; y el biocarbón fue obtenido desde un horno abierto con baja disponibilidad de oxígeno utilizando como materia prima restos de podas de cerezo. El biocarbón se tamizó a 2 mm para homogeneizar el tamaño de las partículas.

Co-compostaje de sustratos orgánicos. Las unidades experimentales (U.E) consistieron en bidones plásticos de 6 L de volumen y fueron expuestas a condiciones controladas de temperatura (22 °C) en el laboratorio de Materiales Carbonosos y Agricultura de la Universidad de Concepción, Chillán, durante un tiempo de cuatro meses. Los tratamientos incubados consistieron en mezclas diferentes de los residuos orgánicos y que considera al bagazo de cebada como sustrato base. Se aplicó levadura a cuatro de estos tratamientos para contrastar el proceso de estabilización con los que no fueron inoculados. La descripción y composición de dichos tratamientos es detallada a continuación.

Tabla 1. Descripción y composición de los tratamientos

Tratamiento	Descripción	Composición*
B (control)	Bagazo de cebada	1 kg B
B + L	Bagazo + levaduras	1 kg B; 0,0025 kg L
B + BC	Bagazo + biocarbón	1 kg B; 0,05 kg BC
B + BC + L	Bagazo + biocarbón + levaduras	1 kg B; 0,05 kg BC; 0,0025 kg L
B + ES	Bagazo + estiércol bovino	1 kg B; 0,5 kg ES
B + ES + L	Bagazo + estiércol + levaduras	1 kg B; 0,5 kg ES; 0,0025 kg L

*La composición de B, BC y ES están en base a su peso húmedo. L en base a peso seco.

Los tratamientos fueron volteados periódicamente para incorporar la mezcla. Durante el proceso de estabilización, se obtuvieron sub-muestras para cuantificar la concentración de amonio (N-NH_4^+) y nitrato (N-NO_3^-). Una vez finalizado el tiempo de incubación de 4 meses, se recolectaron muestras de las enmiendas orgánicas para los respectivos análisis de laboratorio, manteniéndolas a 4 °C y en oscuridad.

Evaluación química de los tratamientos. Se realizó un análisis químico del compost para cuantificar los niveles de pH, conductividad eléctrica (C.E), fósforo disponible (P_2O_5), potasio disponible (K_2O), calcio (CaO), magnesio (MgO), amonio (N-NH_4^+) y nitrato (N-NO_3^-). Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Suelos de la Universidad de Concepción, bajo protocolo para análisis de compost (Sadzawka *et al.*, 2005). También se analizó el contenido de carbono (C) total y nitrógeno (N) total en el Laboratorio de Suelos y Medioambiente de la Universidad de Concepción; mediante combustión seca en el equipo analizador elemental Leco (modelo truSpec CN 630-100-100, Estados Unidos). Las relaciones C/N y de amonio/nitrato se determinaron como el cociente entre los respectivos parámetros.

Actividad microbiológica. Luego del tiempo de estabilización, se realizó un análisis de respiración (evolución de CO_2) durante siete días y se cuantificó en tres tiempos (día 3, 5 y 7) utilizando espectroscopía infra-roja mediante un equipo analizador de gases Licor (modelo LI-820, Estados Unidos). Para informar la tasa respiratoria específica (por gramo de materia orgánica), se determinó el porcentaje de MO multiplicando el valor de C total por el factor 1,8 (Sadzawka *et al.*, 2005).

Se analizó la actividad enzimática de las enmiendas utilizando los métodos descritos en García *et al.* (2003). Esta actividad fue determinada de manera colorimétrica, mediante el amoniaco liberado para ureasa; y el p-nitrofenol liberado para fosfatasa y β -glucosidasa. Las lecturas de absorbancia se realizaron con un espectrofotómetro a 636 nm (ureasa) y 400 nm (fosfatasa y β -glucosidasa). Los análisis mencionados en esta sección fueron realizados en el Laboratorio de Suelos y Medio Ambiente de la Universidad de Concepción.

Análisis de fitotoxicidad. Para ello se realizó el test de germinación de rabanito (Celis *et al.*, 2008). Se obtuvo un extracto líquido de cada tratamiento agitando una muestra de 4 g de sustrato con agua destilada (1:10 v/v) en un agitador recíproco a

180 rpm durante 20 minutos. Después de filtrado el extracto, se colocaron 10 semillas de la especie *Raphanus sativus* L. en cápsulas Petri con papel filtro y 4 mL del extracto de los distintos tratamientos, además de un control negativo con agua destilada. Las placas se dejaron cubiertas con papel aluminio en oscuridad y a una temperatura de 20 ± 2 °C durante 5 días. Posteriormente se contabilizó el número de semillas germinadas (G) con radícula ≥ 5 mm de longitud, además del largo de sus radículas (Lr) y tallos primarios (Lt). Así se pudo determinar el índice de germinación (%G.I) para cada tratamiento, de acuerdo a la fórmula: $\%GI = [(G \times Lr / Gc \times Lc) \times 100]$, donde Gc y Lc son el G y Lr en el control con agua destilada, respectivamente (Tiquia y Tam, 1998).

Análisis estadístico. El diseño experimental corresponde a bloques completos al azar, con un arreglo factorial de dos factores en 3 x 2 niveles. Así se tienen 6 tratamientos con cuatro repeticiones. Los factores son 3 niveles de sustratos (B; B+BC; B+ES) y el inóculo de levadura con 2 niveles (sin y con inóculo).

Una vez corroborados los supuestos de normalidad y homeostacidad, se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) a las distintas variables evaluadas luego del tiempo de estabilización, para determinar si hubo efecto significativo ($\alpha \leq 0,05$) de los factores (sustrato e inóculo de levaduras) y su interacción sobre los resultados. Luego, como prueba de diferencias de medias se aplicó test de Tukey con una significancia de 5 %, utilizando el software Infostat versión estudiantil, donde se analizó el efecto combinado y simple de ambos factores. En el caso de ser significativa ($P \leq 0,05$) la interacción entre los factores, se analizó utilizando tablas de doble entrada. Las variables analizadas corresponden a: pH, C.E, N-NH₄⁺, N-NH₃⁻, relación NH₄⁺/NH₃, P₂O₅, K₂O, CaO, MgO, N total, C total, relación C/N, actividad de Ureasa, Fosfatasa y β -glucosidasa, evolución de CO₂, índice de germinación (%G.I), largo de radículas (Lr) y largo de tallos primarios (Lt).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químico de los productos estabilizados. Las enmiendas orgánicas pueden ser una fuente importante de nutrientes al ser aplicadas al suelo, tanto en sus formas orgánicas como disponibles para los cultivos, logrando rendimientos

similares a los obtenidos con fertilización convencional (Hirzel y Salazar, 2016; Montiel, 2020) y aportando a la fertilidad de los suelos. En las enmiendas evaluadas, el factor sustrato tiene un efecto significativo ($P \leq 0,05$) sobre el P disponible, donde el mayor contenido lo presenta el sustrato B (3,5 %), siendo superior en un 0,6 % al sustrato con biocarbón (B+BC = 2,9 %). En contraste, el sustrato B+ES tiene los menores niveles de P disponible, siendo de 2,2 %. En la Tabla 2, se observa que el factor levadura también tuvo efecto significativo en esta variable, teniendo un mayor porcentaje (3,2 %) de P disponible en los tratamientos que fueron inoculados.

En cuanto al contenido de bases, el factor levadura aumenta la cantidad de potasio (K_2O) en los tratamientos con inóculo en un 0,7 %. El efecto del factor sustrato, muestra que el control (B) contiene el menor valor de potasio (0,6 %), mientras que para B+BC se tiene un 0,7 %. Estos sustratos tienen cantidades significativamente inferiores que B+ES, que presenta niveles superiores al 2,5 %. Los tratamientos con sustrato B+ES indican contenidos de calcio superiores a un 3 %, presentando diferencias con los otros dos sustratos, que contienen entre 1,1 y 1,5 % de calcio. De igual manera, el sustrato B+ES presenta el mayor porcentaje de magnesio disponible, donde tiene un valor de 0,9 %, lo que supera significativamente a los tratamientos con los sustratos B y B+BC. Para el contenido de calcio y de magnesio el factor levadura no tuvo efecto significativo (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto simple de los factores sustrato e inóculo de levadura en parámetros nutricionales de los tratamientos

Factores		Nutrientes			
		P ₂ O ₅ (%)	K ₂ O (%)	CaO (%)	MgO (%)
Sustrato	B	3,5 a	0,6 b	1,1 b	0,6 b
	B+BC	2,9 b	0,7 b	1,5 b	0,6 b
	B+ES	2,2 c	2,7 a	3,2 a	0,9 a
Levadura	Sin inóculo	2,5 b	1,1 b	2,0 a	0,7 a
	Con inóculo	3,2 a	1,5 a	1,9 a	0,7 a

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los niveles de cada factor para un mismo parámetro nutricional, utilizando test de Tukey.

Los sustratos B y B+BC no presentan diferencias entre sí al tener valores de pH cercanos a 6, al igual que los compost analizados en Assandri *et al.* (2021b), donde se estabilizó bagazo de cebada junto a aditivos orgánicos. El sustrato B+ES presenta los valores de pH más altos, ya que el estiércol bovino como materia prima para enmiendas orgánicas tiene un pH cercano a 8, según indican Hirzel y Salazar (2016) y Saba *et al.* (2019), lo que eleva el pH de este sustrato en comparación a B y B+BC. En este sentido, Saba *et al.* (2019) indica un pH superior en 1,6 unidades para B+ES en comparación al sustrato B al final del tiempo de estabilización. Este sustrato reacciona de manera significativa al inóculo de L, aumentando su pH de 6,95 a 8,48. De este modo, la adición de levaduras residuales genera distintos efectos de acuerdo al sustrato, lo que implica una interacción significativa entre ambos factores.

Los valores de pH de todos los tratamientos (Tabla 3) coinciden con el rango óptimo de pH para compost estabilizado (6 – 8,5) indicado por Khan *et al.* (2014) y Assandri *et al.* (2021b), como también por el rango establecido en INN (2004).

Tabla 3. Efecto de la interacción de los factores sustrato y levadura en los valores de pH y C.E

Variable	Sustrato	Inóculo de L		
		Sin inóculo	Con inóculo	
pH	B	5,97 b	5,92 b	
	B + BC	6,05 b	6,03 b	
	B + ES	6,95 a	8,48 a	*
Conductividad eléctrica (dS/m)	B	8,18 a	8,80 a	
	B + BC	7,09 b	7,85 a	
	B + ES	7,85 ab	4,97 b	*

Letras minúsculas diferentes dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los sustratos. * Indica diferencia significativa ($P \leq 0,05$) dentro de la fila, para un mismo sustrato al ser inoculado con levadura (L).

La C.E se considera un indicador de la salinidad en el sustrato estabilizado, donde es indeseable un exceso de sales disueltas en las enmiendas orgánicas porque podrían afectar de manera perjudicial a los cultivos y acumularse en los suelos al ser aplicadas (Moreno y Moral, 2008). En los tratamientos evaluados, el sustrato B presenta los valores más elevados de C.E superando los 8 dS/m, y se diferencia significativamente con B+BC mientras que B+ES no presenta diferencias con B y B+BC. Al ser inoculados con L, los sustratos B y B+BC tienen diferencias significativas con B+ES por 3,83 y 0,95 dS/m, respectivamente, siendo el sustrato con estiércol el menor valor para esta variable (Tabla 3). B+ES es el único sustrato que reacciona de manera significativa a la adición de L, disminuyendo su C.E de 7,85 a 4,97 dS/m. Las levaduras adquieren compuestos disueltos en el medio rápidamente, debido a su alta relación superficie/volumen (Kurtzman *et al.*, 2010), lo que posiblemente podría influir en la reducción de la C.E al ser inoculadas en el sustrato B+ES.

La Norma Chilena 2880 considera como requisito de C.E un valor inferior o igual a 8 dS/m para los compost maduros (INN, 2004), valor que es cumplido en los tratamientos con sustrato B+BC y B+ES, mientras que B lo excede en 0,18 y 0,8 dS/m. De este modo, se evidencia que la adición de biocarbón puede disminuir la C.E en el sustrato B al ser utilizado como aditivo, posiblemente por su capacidad de adsorber compuestos disueltos.

Contenido de C total, N total y relación C/N. El contenido de C total (%) presenta diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los tres niveles del factor sustrato (Tabla 4), donde los tratamientos con sustrato B tienen valores cercanos al 40,5 %. Mathias *et al.* (2015) y Assandri *et al.* (2021b) indican un contenido de C total sobre el 50 % para este sustrato en estado fresco, relacionado a un elevado contenido de compuestos orgánicos recalcitrantes en los granos de cebada, como hemicelulosa, lignina y celulosa (Bianco *et al.*, 2021; Mussato *et al.*, 2006), que son polímeros difícilmente degradables por microorganismos (Khan *et al.*, 2014) y por lo tanto mantienen un alto contenido de C total después del tiempo de descomposición aeróbica del sustrato, donde parte del C total decrece al ser mineralizado por la actividad microbiana (Assandri *et al.*, 2021b).

Los mayores valores de C total se observan en el sustrato B+BC, lo que coincide con Khan *et al.* (2014) quien indica que el biocarbón como aditivo en compostaje aporta cantidades elevadas de carbono recalcitrante por contener compuestos aromáticos en su estructura, la que es difícilmente degradable durante el proceso de compostaje (Khan *et al.*, 2023). De esta manera, el sustrato B+BC presenta un contenido de C total sobre un 46 % después del período de estabilización debido al aporte de C del biocarbón, que puede persistir durante muchos años sin ser degradado (Schmidt *et al.*, 2021).

El sustrato B+ES presenta un contenido de C total significativamente inferior ($P \leq 0,05$), resultando en 35,8 % para ambos tratamientos, lo que se relaciona a que el estiércol bovino contiene 34 % C total (Hirzel y Salazar, 2016), siendo menor que los otros sustratos y más susceptible a la degradación por microorganismos al presentar fracciones de C lábiles. De igual modo, Saba *et al.* (2019) reporta un mayor contenido de C total en el sustrato B en comparación a B+ES, previa y posteriormente al periodo de estabilización.

Tabla 4. Efecto del factor sustrato en el porcentaje de C total de los tratamientos

Sustrato	B	B + BC	B + ES
C total (%)	40,6 b	46,8 a	35,8 c

Letras minúsculas diferentes dentro de las filas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) para los valores entre los distintos sustratos, utilizando test de Tukey.

El nitrógeno tiene gran importancia en los agroecosistemas, ya que forma parte de la biomasa vegetal, animal y microbiana. De esta manera, la estabilización de residuos orgánicos contribuye al reciclaje de N, y permite su reincorporación a los sistemas agrícolas (Moreno y Moral, 2008) tanto como enmiendas orgánicas que mejoran las propiedades químicas de los suelos, y en su uso como sustrato orgánico para la propagación vegetal en viveros (Simiele *et al.*, 2022).

En cuanto al N total, los tratamientos evaluados varían su contenido dependiendo del factor sustrato. Los resultados de la Tabla 5 indican para B un contenido de 4 % en ambos casos, siendo significativamente superior a los otros dos sustratos. Según Mussato *et al.* (2006), el bagazo de cebada tiene un alto contenido de proteínas, lo que permite considerarlo un sustrato rico en N. En una revisión, Assandri *et al.* (2021a) reporta valores de N total superiores y cercanos a 4 % al caracterizar el sustrato B. Para B+BC el contenido de N es de 3,6 % y 3,7 % en ambos tratamientos, lo que difiere de B+ES por más de un 0,5 %, teniendo este último sustrato el menor valor de N total en ambos tratamientos. Al igual que en Saba *et al.* (2019), el sustrato B contiene un mayor contenido de N total que B+ES luego de 5 meses de estabilización aeróbica. El sustrato B+ ES decrece significativamente su contenido de N total (0,3 %) al ser inoculado con L. Esta diferencia podría estar relacionada al aumento del pH en este sustrato al ser inoculado con L (Tabla 3), ya que puede incrementar las pérdidas por volatilización de NH₃, a valores de pH que tienden a la alcalinidad (Khan *et al.*, 2014; Sánchez-Monedero *et al.*, 2018). Para el N total y la relación C/N, se tiene que la interacción entre ambos factores (sustrato y levadura) es significativa, la que es analizada a continuación.

Tabla 5. Efecto de la interacción de los factores sustrato y levadura en el N total y relación C/N

Variable	Sustrato	Inóculo de L		
		Sin inóculo	Con inóculo	
N total (%)	B	4,0 a	4,0 a	
	B + BC	3,7 b	3,6 b	
	B + ES	3,0 c	2,7 c	*
Relación C/N	B	10,2 c	9,9 b	
	B + BC	12, 8 a	12,7 a	
	B + ES	11,8 b	13,1 a	*

Letras minúsculas diferentes dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los sustratos. * Indica diferencia significativa ($P \leq 0,05$) dentro de la fila, para un mismo sustrato con inóculo de levadura (L), utilizando test de Tukey.

La relación C/N corresponde al cociente entre el C y N total, y representa uno de los indicadores de madurez para compostaje más utilizados (Saba *et al.*, 2019), considerándose óptimo un valor ≤ 25 para compost maduros según INN (2004) y de 20 según Moreno y Moral (2008) y Assandri *et al.* (2021b). En los resultados de la Tabla 5, se indican valores entre 9,9 y 13,1 para las combinaciones de factores evaluadas, siendo significativa la diferencia entre los tres sustratos. El mayor valor se tiene para B+BC que supera a B+ES y B en 1 y 2,6 unidades, respectivamente. De acuerdo a Khan *et al.* (2014) el alto contenido de C recalcitrante en el biocarbón resulta en un aumento de la relación C/N del compost al haber una menor descomposición de su estructura. En contraste, el sustrato B presenta un valor significativamente inferior a B+BC y B+ES tanto en ausencia y presencia del inóculo de L, lo que se relaciona a su alto contenido de N total, disminuyendo el valor de esta relación.

Al ser inoculados con L los sustratos B y B+BC mantienen su valor, mientras que B+ES lo aumenta significativamente de 11,8 a 13,1, lo que se atribuye a la disminución significativa en el N total del sustrato al ser inoculado con L (Tabla 5), por lo que el valor de la relación C/N aumenta para el tratamiento mencionado.

Contenido de amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) y relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$. El nitrógeno (N) contenido en residuos orgánicos es convertido hacia formas inorgánicas más simples y solubles, mediante la actividad de microorganismos en el proceso de mineralización. Entre estas formas de N se tienen el amonio y nitrato, las que son asimilables por las plantas (Paul, 2007). Para el contenido de amonio, se obtuvo que es significativo el efecto del factor sustrato ($P \leq 0,05$), siendo los tratamientos con sustrato B los que presentan los niveles más altos de nitrógeno en forma de NH_4^+ (Tabla 6), lo que es un indicador de una activa mineralización de N orgánico hacia amonio. En contraste, los sustratos que contienen estiércol (B+ES) tienen el menor contenido de NH_4^+ , que es cercano a 500 mg Kg^{-1} en promedio. Tal como en el valor de N total, esta disminución podría deberse al pH elevado de este sustrato y por ende en la volatilización de NH_3 favorecida por dicho parámetro.

El sustrato B+BC presenta contenidos de NH_4^+ superiores a 9.000 mg Kg^{-1} , siendo niveles estadísticamente mayores a B+ES y menores que B. En la norma chilena de compostaje, INN (2004) establece como indicador de calidad de compost una concentración de amonio igual o inferior a 500 mg Kg^{-1} , valor que es superado por el sustrato B+ES en 48 mg Kg^{-1} .

Tabla 6. Efecto del factor sustrato en el contenido de amonio (NH_4^+) de los tratamientos

Sustrato	B	B + BC	B + ES
N- NH_4^+ (mg Kg^{-1})	13.149 a	9.040 b	548 c

Letras minúsculas diferentes dentro de las filas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) para los valores entre los distintos tratamientos, utilizando test Tukey.

En el proceso de nitrificación se oxida el amonio en condiciones aerobias para generar nitrato, forma mineral de N que es más móvil en el suelo y que presenta carga negativa (Paul, 2007). En los resultados de la Tabla 7, se tiene que el valor más alto de NO_3^- es para el sustrato B+ES, aunque sin representar diferencias significativas con B y B+BC. Al ser inoculado con L, el sustrato B+ES reacciona de manera significativa, decreciendo en $4.452,5 \text{ mg/kg}$ su contenido de NO_3^- . De esta manera, la interacción de ambos factores resulta significativa para el valor de esta variable, indicando una menor nitrificación en el sustrato B+ES que fue inoculado con L.

Kurtzman *et al.* (2010) indica que la asimilación de nitrógeno por parte de microorganismos puede ser de fuentes como nitratos, los que transforman en biomoléculas mediante actividades anabólicas. Lo anterior probablemente fue afectado por la presencia del inóculo de L. Por otro lado, en Paul (2007) se indica un pH óptimo entre 7,5 y 8 para una nitrificación óptima, por lo que el aumento de

pH (Tabla 3) en el sustrato B+ES al ser inoculado con L, podría haber afectado el proceso de nitrificación en dicho tratamiento.

La relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ es el cociente entre el valor de ambos parámetros y permite estimar en términos de nitrificación la descomposición de los sustratos, por lo que es considerada como un indicador de estabilización de residuos orgánicos (INN, 2004; Moreno y Moral. 2008; Assandri *et al.*, 2021b). En los resultados de la Tabla 7 se tienen valores inferiores a 5 para todas las combinaciones de factores al finalizar el ensayo, siendo superiores para los tratamientos B y B+L debido a los altos contenidos de NH_4^+ en el sustrato (Tabla 6). El sustrato B+ES presenta la relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ más baja, la que aumenta su valor de manera significativa al ser inoculado con L de 0,2 a 3,0, respectivamente.

Tabla 7. Efecto de la interacción de los factores sustrato y levadura en el contenido de nitrato (NO_3^-) y la relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ de los tratamientos

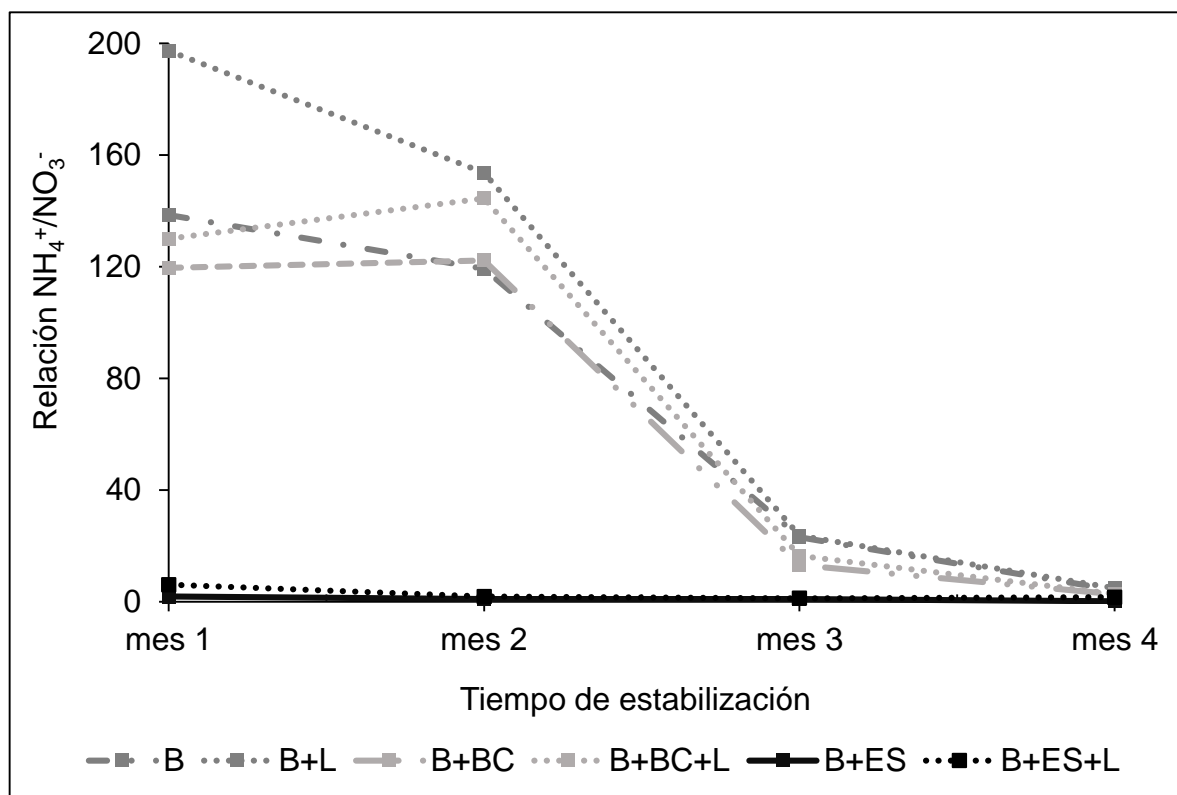
Parámetro	Sustrato	Inóculo de L	
		Sin inóculo	Con inóculo
N- NO_3^- (mg/kg)	B	3.161 a	2.719 a
	B + BC	3.423 a	3.299 a
	B + ES	4.734 a	147 b
Relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$	B	4,4 a	4,9 a
	B + BC	2,6 ab	2,8 a
	B + ES	0,2 b	3,0 a

Letras minúsculas diferentes dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los sustratos. * Indica diferencia significativa ($P \leq 0,05$) dentro de la fila, para un mismo sustrato al ser inoculado con L.

En la Figura 1 se puede observar la evolución de esta relación durante el tiempo de estabilización. Se tiene que para los sustratos B y B+BC decrece el valor hacia el final del ensayo, al igual que en Assandri *et al.* (2021b), donde el valor disminuye para el sustrato B estabilizado junto a estiércoles animales, indicando la degradación del sustrato inicial durante el proceso de compostaje. Según lo

mencionado en INN (2004), una relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ menor o igual a 3 es aceptada para sustratos que se encuentran estabilizados, valor que es alcanzado al final del tiempo de estabilización por los tratamientos con sustrato B+BC y B+ES.

Figura 1. Relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ de los tratamientos durante el proceso de estabilización

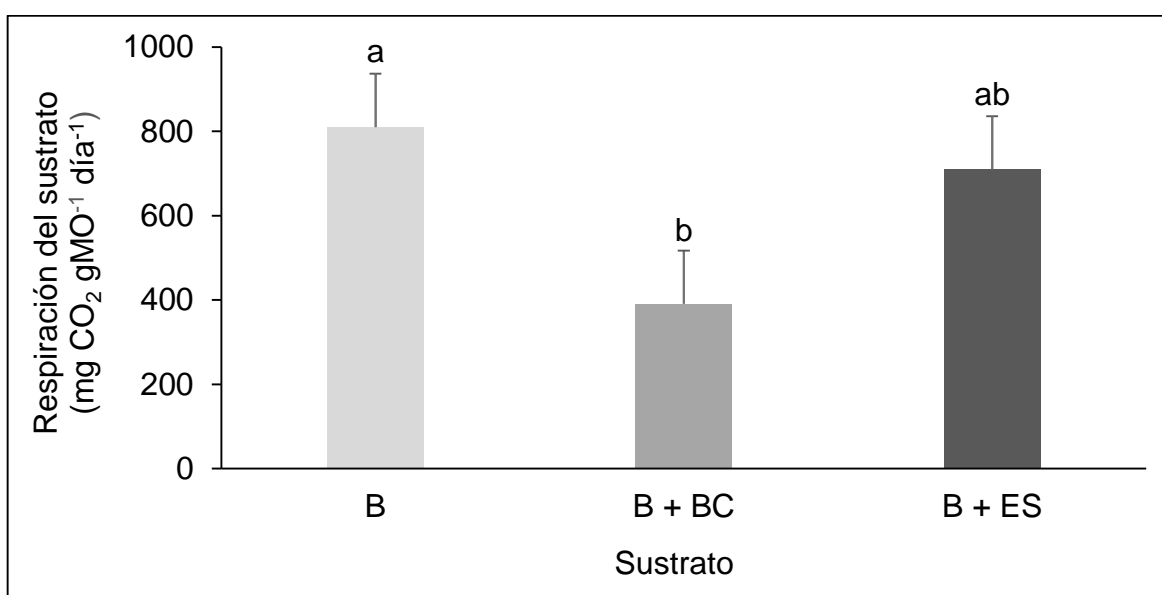


Respiración del sustrato. Durante la descomposición aeróbica de residuos orgánicos, tal como se señala en UCC (2002), los microorganismos heterotróficos consumen la materia orgánica en presencia de oxígeno y generan CO_2 como subproducto de su metabolismo, por lo que la cuantificación de este gas permite estimar la actividad microbiológica del sustrato en descomposición. La emisión de CO_2 (respirometría) es considerada un indicador de estabilización para el proceso de compostaje (Moreno y Moral, 2008), donde las emisiones aumentan en sustratos que se encuentran durante un proceso inicial e intenso de degradación (Sánchez-Monedero *et al.*, 2018) y mineralización de su materia orgánica hacia CO_2 (Assandri

et al., 2021b), y que por lo tanto están menos estables al presentar una elevada actividad microbiológica.

Al final del ensayo, el efecto del factor sustrato es significativo ($P < 0,05$) para el test de respiración, donde B alcanza los mayores valores, siendo de 810 mg CO₂ g MO día⁻¹, mientras que B+ES tiene una media menor que B en 100 mg de CO₂. En contraste, el sustrato con biocarbón (B+BC) alcanza un valor de 390 mg CO₂ g MO día⁻¹, siendo significativamente inferior a B (Figura 2).

Figura 2. Efecto del factor sustrato en resultados del test de respiración



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en test de Tukey.

De acuerdo con Lehmann y Joseph (2009), el CO₂ respirado por suelos podría ser adsorbido químicamente en la superficie porosa del biocarbón, lo que reduciría la emisión de este gas en ensayos de respiración de suelos, como en lo reportado por Gao *et al.* (2022), donde la aplicación de un co-compost con biocarbón en el suelo redujo las emisiones de CO₂ en un 25%. Por otra parte, Jia *et al.* (2016) determinó que en procesos de compostaje de estiércol animal donde se aplicó biocarbón como aditivo, se tuvo una mayor emisión de CO₂ durante los primeros días de estabilización, debido a la rápida degradación de compuestos orgánicos por microorganismos, lo que es estimulado con la adición de biocarbón al compostaje.

Esto disminuye el tiempo de estabilización al incrementar la actividad y el crecimiento microbiano en el sustrato (Sánchez-Monedero *et al.*, 2018).

En este sentido, es posible que el sustrato B+BC haya disminuido su respiración de manera anticipada a B y B+ES, debido a los cambios en la disponibilidad de compuestos degradables del sustrato para la actividad de microorganismos (Lehmann y Joseph, 2009). El estudio de respiración durante el proceso de estabilización permitiría determinar la evolución de las emisiones de CO₂ en el tiempo y los momentos de máxima actividad para cada sustrato, lo que puede ser foco de futuros estudios relacionados a la co-estabilización de residuos de cervecería con biocarbón.

Análisis enzimático. Las enzimas de origen microbiano con actividad extracelular, tienen un rol importante en las transformaciones de nutrientes en el suelo y en la descomposición de residuos orgánicos desde polímeros complejos hacia moléculas de menor tamaño. Por ende, son indicadores de la actividad microbiológica en los sustratos analizados, la que se relaciona con la mineralización y disponibilidad de nutrientes importantes en agricultura como el N y P; y en la degradación de compuestos orgánicos (Cenciani *et al.*, 2011). Para las actividades enzimáticas de ureasa, fosfatasa y β -glucosidasa, se obtuvo que la interacción entre los factores sustrato y levadura es significativa luego del tiempo de estabilización, por lo que los niveles de sustrato responden de manera diferente a la adición de L.

Ureasa es una enzima de actividad extracelular que participa en el ciclo del nitrógeno (N) al catalizar la hidrólisis de urea hacia amoníaco, por lo tanto, tiene un rol importante en la transformación de N orgánico hacia inorgánico (Kujur y Kumar, 2014) y su actividad es favorecida por sustratos ricos en N, como el bagazo de cebada (Saba *et al.*, 2019). En los resultados de la Tabla 8, no se observan diferencias significativas ($P \geq 0,05$) entre los tres sustratos evaluados. Sin embargo, al ser inoculados con L el valor se mantiene similar en B y aumenta significativamente para B+BC y B+ES, donde el sustrato con biocarbón supera los 6.000 $\mu\text{g N-NH}_3 \text{g}^{-1} \text{hr}^{-1}$, mientras que para B+ES aumenta en 1.280 unidades.

La adición de L puede haber incrementado la actividad de ureasa al ser un residuo con un alto contenido de N orgánico en forma de proteínas y aminoácidos (Mathias

et al., 2015). Este aumento en los sustratos B+BC y B+ES puede atribuirse a la capacidad de adsorción que tienen compuestos orgánicos sobre enzimas extracelulares, disminuyendo así su degradación por microorganismos u otras enzimas (Haider y Schäffer, 2009), siendo mayor este efecto en B+BC por la alta superficie específica del biocarbón, que puede adsorber de manera química a las enzimas excretadas por microorganismos (Lehmann y Joseph, 2009) y así protegerlas de la desnaturalización dentro de su estructura. Lo anterior coincide con Sánchez-Monedero *et al.* (2018), quien reporta aumentos de la actividad de ureasa entre un 30 y 40 % para compost en los que se adicionó biocarbón.

Tabla 8. Efecto de la interacción de los factores sustrato y levadura en la actividad enzimática de ureasa, fosfatasa y β -glucosidasa

Enzima	Sustrato	Inóculo de L		
		Sin inóculo	Con inóculo	
Ureasa ($\mu\text{g N-NH}_3 \text{ g}^{-1} \text{ hr}^{-1}$)	B	3.904 a	3.581 b	
	B + BC	2.911 a	6.006 a	*
	B + ES	3.280 a	4.560 b	*
Fosfatasa ($\mu\text{moles PNF liberado g}^{-1} \text{ hr}^{-1}$)	B	9,5 a	2,2 c	*
	B + BC	8,4 a	6,3 b	*
	B + ES	9,9 a	13,3 a	*
β -glucosidasa ($\mu\text{moles PNF liberado g}^{-1} \text{ hr}^{-1}$)	B	8,7 b	6,1 c	*
	B + BC	13, a	14,9 a	*
	B + ES	5,8 c	7,3 b	*

Letras minúsculas diferentes dentro de las columnas indican diferencias significativas entre factor sustrato ($P \leq 0,05$), utilizando test de Tukey. * Indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) dentro de la fila para un mismo sustrato, al ser inoculado con levaduras.

La actividad de fosfatasa se relaciona al ciclo del fósforo (P), donde esta enzima participa en la hidrólisis de formas orgánicas de P hacia formas inorgánicas mediante la actividad de microorganismos heterotróficos (Du *et al.*, 2018). De este modo, el P inorgánico (disponible) puede ser asimilado por los cultivos, inmovilizado

por la biomasa microbiana o adsorbido en superficies minerales del suelo (Paul, 2007). Como se observa en la Tabla 8, los tres sustratos sin inóculo de L no presentan diferencias significativas entre sí, sin embargo al ser inoculados con L, la actividad de fosfatasa decrece en los sustratos B y B+BC de 9,5 a 2,2 y de 8,4 a 6,3 $\mu\text{moles PNF liberado g}^{-1} \text{ hr}^{-1}$, respectivamente.

A medida que los sustratos son estabilizados, la actividad de fosfatasa decrece en el tiempo. La adición de L podría haber favorecido la hidrólisis de compuestos orgánicos de P en B y B+BC, disminuyendo así la actividad de fosfatasa en dichos sustratos al final del ensayo, donde es mayor la actividad en B+BC por el hábitat favorable que entrega el biocarbón para la colonización de microorganismos heterotróficos (Du *et al.*, 2018). En cambio, B+ES tiene un aumento en la actividad de fosfatasa al ser inoculado con L, de 9,9 a 13,3, lo que podría tener relación con el P orgánico que aporta al sustrato la estructura de las levaduras.

Un pH alcalino, como el del sustrato B+ES (Tabla 3), podría estimular la actividad de dicha enzima (Akmal *et al.*, 2019), como se observa en los resultados de Renella *et al.* (2006) tras haber aplicado residuos orgánicos de centeno a suelos con diferentes niveles de pH.

En el ciclo del carbono (C), la enzima β -glucosidasa participa en la degradación de compuestos celulósicos, específicamente en la hidrólisis de celobiosa, permitiendo así la liberación de moléculas carbonadas simples a partir de fuentes de C más complejas (Moreno y Moral, 2008). Por lo tanto, esta enzima extracelular actúa como indicador de la degradación de la materia orgánica (Saba *et al.*, 2019). En la Tabla 8 se observa que la actividad de β -glucosidasa presenta diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los tres sustratos siendo B+BC el con mayor actividad, lo que puede explicarse por la protección que entrega la estructura del biocarbón a las enzimas que son excretadas por microorganismos, como también por su capacidad de adsorber compuestos carbonados y ser hábitat para microorganismos productores de enzimas (Sánchez-Monedero *et al.*, 2018).

Los tratamientos B y B+ES presentan menor actividad de β -glucosidasa, lo que difiere con Saba *et al.* (2019), quien reporta mayor actividad de β -glucosidasa en el sustrato B+ES sobre B al finalizar el ensayo de estabilización. Al ser inoculados con

L, se observan efectos significativos para los tres sustratos, donde aumenta la actividad de esta enzima en B+BC y B+ES, en 1,94 y 1,4 $\mu\text{moles PNF liberado g}^{-1} \text{ hr}^{-1}$, respectivamente. Este aumento de actividad puede asociarse a la adición de compuestos carbonados en la estructura de las levaduras inoculadas, como carbohidratos y aminoácidos (Mathias *et al.*, 2015), lo que podría estimular la actividad de microorganismos descomponedores de materia orgánica en dichos sustratos.

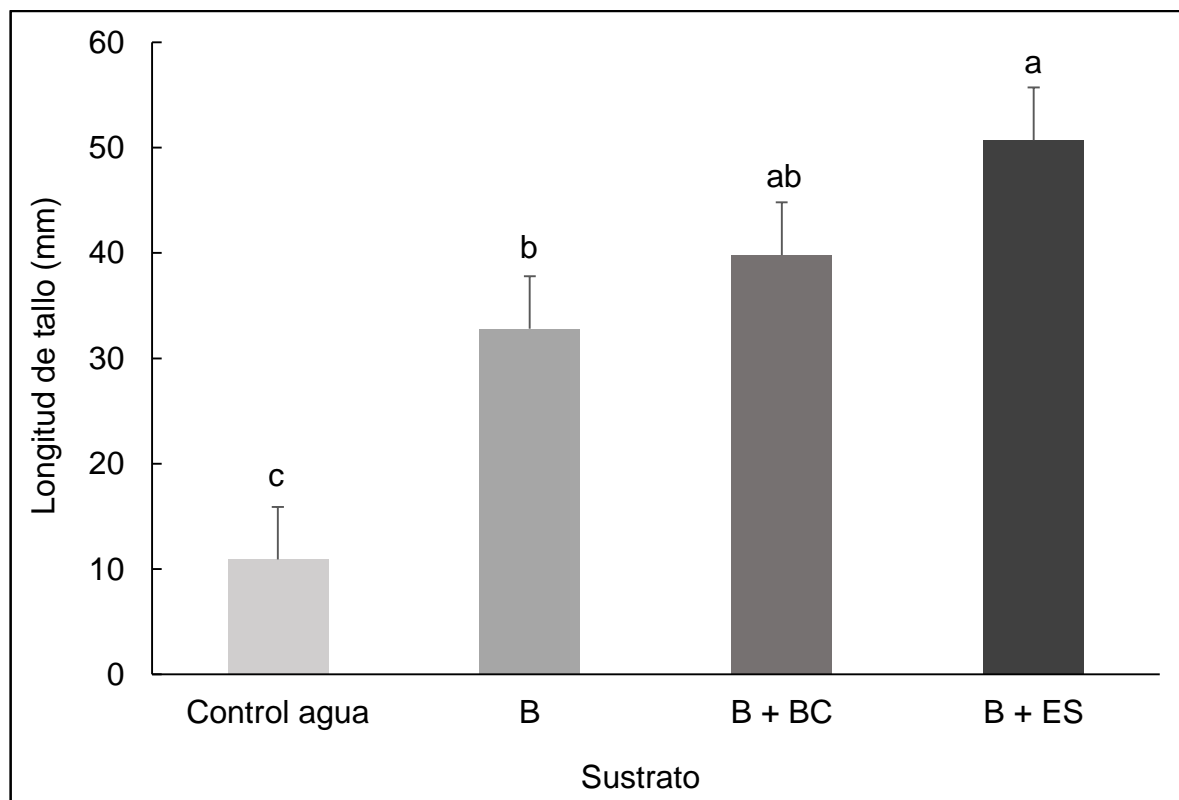
En contraste, la adición de L reduce la actividad de β -glucosidasa de 8,74 a 6,06 $\mu\text{moles PNF liberado g}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ en la estabilización de B, un sustrato con un alto contenido de C en formas orgánicas como la celulosa (Mathias *et al.*, 2015). En este sentido, la menor actividad enzimática podría indicar una disminución en la disponibilidad de compuestos celulósicos degradables por microorganismos.

Fitotoxicidad. El test de germinación de rabanitos como indicador de fitotoxicidad, según indica INN (2004) en la norma chilena 2880, permite considerar que una enmienda orgánica contiene elementos fitotóxicos si el índice de germinación (%G.I) en semillas de *Raphanus sativus L.* es igual o inferior a un 80 %. Así este parámetro biológico es considerado un indicador de madurez para compostaje (Khan *et al.*, 2014; Moreno y Moral, 2008; Assandri *et al.*, 2021b), ya que permite evaluar la ausencia de elementos que puedan ser tóxicos para las plantas en las enmiendas orgánicas.

El índice de germinación para los tratamientos evaluados es de un 138 % en promedio, sin presentar diferencias significativas entre estos ($P > 0,05$) como tampoco con el control con agua destilada (control = 100 %). Dicho valor indica que no existen indicios de fitotoxicidad para ningún tratamiento, coincidiendo con lo deseable para compost altamente maduros mencionado en Zhengyu *et al.* (2023), equivalente a un índice de germinación superior a 90 %. Así mismo, el valor obtenido se ajusta al índice de germinación superior a 50 %, que es indicador de madurez según Khan *et al.* (2014), como también con lo estipulado en INN (2004) y Assandri *et al.* (2021b), quienes consideran la ausencia de fitotoxicidad en enmiendas orgánicas al obtener un índice de germinación superior a 80 % en el test de germinación.

No existen diferencias significativas entre la longitud de radícula (L_r) del control con agua destilada y la de los distintos tratamientos evaluados. En este sentido se tiene una longitud de radícula promedio de 55,5 mm para los tratamientos incubados. Adicionalmente se midió el largo del tallo primario (L_t) de las semillas germinadas, donde se tiene un efecto significativo del factor sustrato. En la Figura 3 se observa que todos los tratamientos superan el L_t del control con agua destilada, siendo los tratamientos con sustrato B+ES los que presentan la mayor longitud de tallo, seguido por B+BC y B. De este modo, se evidencia un mayor desarrollo de tallos primarios en estados tempranos de crecimiento para *Raphanus sativus L.* con la aplicación de enmiendas obtenidas mediante la co-estabilización del bagazo de cebada junto a los distintos aditivos evaluados, en comparación al L_t alcanzado en los tratamientos con agua destilada.

Figura 3. Efecto del factor sustrato en la longitud de tallo (L_t) de *Raphanus sativus L.* para el control con agua destilada y los tratamientos aplicados



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los distintos sustratos, utilizando test de Tukey.

CONCLUSIONES

La co-estabilización de residuos orgánicos de cervecería artesanal, permite obtener enmiendas orgánicas de suelos en un tiempo de cuatro meses, las que al ser evaluadas no presentan indicios de fitotoxicidad y se encuentran en rangos de pH y relación C/N óptimos según la normativa vigente en Chile. Éstas varían su composición química y sus propiedades biológicas de acuerdo a los aditivos aplicados.

La aplicación de levaduras residuales de cervecería en el proceso de co-estabilización de bagazo de cebada, afecta de manera diferente la actividad enzimática de los sustratos. Además, alcalinizó el sustrato orgánico y disminuyó su C.E, contenido de NO_3^- y por ende su relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$.

El biocarbón como aditivo en la descomposición de residuos de cervecería artesanal permitió reducir las emisiones de CO_2 en el producto final, como también contribuyó al aumento del C total de las enmiendas obtenidas. Además, su adición reduce el contenido de amonio, la C.E y la relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ del bagazo.

REFERENCIAS

1. Akmal, M., Z. Maqbool, K. Saifullah, Q. Hussain, S. Sohail, M. Iqbal, I. Aziz, A. Hussain, M. Subtain and H. Ullah. 2019. Integrated use of biochar and compost to improve soil microbial activity, nutrient availability, and plant growth in arid soil. *Arabian Journal of Geosciences* 12: 232.
2. Asociación de productores de cerveza de Chile A.G. (ACECHI). 2023. Evolución en el Mercado de la cerveza. Artículo disponible en: <https://acechi.cl/consumo-de-cerveza-en-chile/>
3. Assandri, D., N. Pampuro, G. Zara, E. Cavallo and M. Budroni. 2021a. Suitability of Composting Process for the Disposal and Valorization of Brewer's Spent Grain. *Agriculture Journal* 2021, 11, 2.
4. Assandri, D., N. Pampuro, G. Zara, A. Bianco, E. Cavallo and M. Budroni. 2021b. Co-composting of brewer's spent grain with animal manures and wheat straw: Influence of two composting strategies on compost quality. *Agronomy* 11.

5. Bianco, A., F. Fancello, M. Garau, M. Deroma, A. Atzori, P. Castaldi, G. Zara and M. Budroni. 2021. Microbial and chemical dynamics of brewer's spent grain during a low-input pre-vermicomposting treatment. *Science of the Total Environment* 802.
6. Celis, J., M. Sandoval and R. Barra. 2008. Plant response to salmon wastes and sewage sludge used as organic fertilizer on two degraded soils under greenhouse conditions. *Chilean Journal of Agricultural Research* 68:274–283.
7. Cenciani, K., S. Santos, S. Auxiliadora, M. Critter and C. Airoidi. 2011. Enzymatic activity measured by microcalorimetry in soil amended with organic residues. *R. Bras. Ci. Solo*, 35:1167-1175.
8. Damián, L. 2018. Aplicación de tres tratamientos aceleradores para la elaboración de compost de residuos del Mercado Los Cedros, Distrito de Chorrillos, 2018. Universidad César Vallejos. Lima, Perú.
9. De Guzmán, R. and J. Dagupan. 2022. Growth and yield performance of radish as affected by different amount of EM-Bokashi in Lahar Soil. *European Journal of Agricultural and Rural Education (EJARE)*. Vol. 3 No. 4.
10. Delgado, D. 2017. Aplicación de enmiendas orgánicas para la recuperación de propiedades físicas del suelo asociadas a la erosión hídrica. *Lámpsakos*, núm. 17, pp. 77-83. Universidad Católica Luis Amigó.
11. Du, J., Y. Zhang, M. Qu, Y. Yin, K. Fan, B. Hu, H. Zhang, M. Wei and C. Ma. 2018. Effects of biochar on the microbial activity and community structure during sewage sludge composting. *Bioresource Technology* 272: 171-179.
12. Fauzan, F., M. Fadhil, I. Irfan, D. Yunita, C. Erika and R. Lahmer. 2022. Study of C/N ratio of organic materials and its application in the production of natural fertilizer (bokashi). 3rd International Conference on Agriculture and Bio-industry.
13. Galle, F. 2019. Evaluación económica de una planta para elaboración de cerveza artesanal en la comuna de Los Lagos, Región de Los Ríos. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
14. Gao, S., B. Harrison, T. Thao, M. Gonzales, D. An, T. Ghezzehei, G. Diaz and

- R. Ryals. 2022. Biochar co-compost improves nitrogen retention and reduces carbon emissions in a winter wheat cropping system. *GCB Bioenergy*.
15. García, C., F. Gil, T. Hernández y C. Trasar. 2003. Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Ediciones Mundi-Prensa.
 16. Haider, K. and A. Schäffer. 2009. *Soil biochemistry*. Science Publishers. USA.
 17. Hirzel, J. y F. Salazar. 2016. Guía de manejo y buenas prácticas de aplicación de enmiendas orgánicas en agricultura. Boletín INIA N°325. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Chillán, Chile.
 18. Instituto Nacional de Normalización (INN). 2004. Compost – clasificación y requisitos. Norma chilena oficial NCh2880.
 19. Jaeger, A., E. Arendt, E. Zannini and A. Sahin. 2020. Brewer's Spent Yeast (BSY), an underutilized brewing by-product. *Fermentation* 2020, 6, 123.
 20. Jia, X., M. Wang, W. Yuan, X. Ju and B. Yang. 2016. The influence of biochar addition on chicken manure composting and associated methane and carbon dioxide emissions. *BioResources* 11(2), 5255-5264.
 21. Kausel, G. y A. Behn. 2016. Cerveceros artesanales de la Región de Los Ríos, Chile – diagnóstico y perspectivas para apoyar su desarrollo sustentable. *Universidad Austral de Chile. AgroSur* 44(1): 3-12.
 22. Khan, N., I. Clark, M.A. Sánchez-Monedero, S. Shea, S. Meier and N. Bolan. 2014. Maturity indices in co-composting of chicken manure and sawdust with biochar. *Bioresource technology* 168: 245-251.
 23. Khan, N., N. Bolan, S. Josph, M. Thi, S. Meier, R. Kookana, N. Borchard, M.A. Sánchez-Monedero, K. Jindo, Z. Solaiman, A. Alrajhi, B. Sarkar, B. Basak, H. Wang, J. Wong, M.K. Manu, M. Abdul, Q. Wang, R. Li, Y. Sik, P. Amasha and R. Qiu. 2023. Complementing compost with biochar for agriculture, soil remediation and climate mitigation. *Advances in agronomy*.
 24. Kujur, M. and A. Kumar. 2014. Kinetics of soil enzyme activities under different ecosystems: An index of soil quality. *Chilean journal of agricultural research* 74 (1).
 25. Kurtzman, C., J. Fell and T. Boekhout. 2010. *The yeasts, a taxonomic study*, fifth

- edition. Elsevier B.V.
26. Lehmann, J. and S. Joseph. 2009. Biochar for environmental management. Science and technology. P. 88 – 94.
 27. Loarte, L., V. Apolo y P. Alvarez. 2018. Efecto del tiempo de maduración y de microorganismos eficientes en el contenido nutricional del bocashi. CEDAMAZ 08 p. 30–36.
 28. Martínez, J., P. Lobos y P. Jil. 2016. Aspectos claves para hacer compost a partir de los desechos orgánicos en un predio agrícola. Informativo Instituto de Investigaciones Agropecuarias. INIA Remehué, Chile.
 29. Mathias, T.R., V. Fontes, M. Cammarota, P. Moretzsohn de Mello and E. Camporese. 2015. Characterization and determination of brewer's solid wastes composition. Journal Institute of Brewing & Distilling. 121: 400-404.
 30. Ministerio de Agricultura (MINAGRI). 2022. Cuenta pública 2022: Lineamientos estratégicos del programa de gobierno del Ministerio de Agricultura 2022-2023. Chile. Disponible en: https://s3.amazonaws.com/gobcl-prod/public_files/Campa%C3%B1as/Cuenta-P%C3%ABlica-2022/CP-sectoriales/15.Agricultura.pdf
 31. Montiel, K. 2020. Efectos de la incorporación de enmiendas orgánicas en las propiedades del suelo y en el rendimiento de tomate tipo Cherry (*Solanum lycopersicum* L. var. Cerasiforme). Universidad de Chile. Santiago, Chile.
 32. Morales, J. 2019. Estudio de factibilidad para elaboración y comercialización de producto en la industria cervecera artesanal en la región del Bio-bio. Universidad técnica Federico Santa María. Santiago de Chile, Chile.
 33. Moreno, J. y R. Moral. 2008. Compostaje. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
 34. Mussatto, S., G. Dragone and I. Roberto. 2006. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. J. Cereal Sci., 43 (1): 1-14.
 35. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2015. Agroecology to reverse soil degradation and achieve food security.
 36. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

- (FAO). 2022. El mercado mundial de fertilizantes: balance de la situación de un mercado en dificultades. Roma, Italia.
37. Ortiz, J. 2022. Índices de calidad del suelo y almacenamiento de carbono bajo manejo silvopastoril: Recuperación de bosques nativos degradados en la zona precordillerana del centro-sur de Chile. Universidad de Concepción, Chile.
 38. Paul, E. 2007. Soil microbiology, ecology and biochemistry.
 39. Renella, G., L. Landi, J. Ascher, M.T. Ceccherini, G. Pietramellara and P. Nannipieri. 2006. Phosphomonoesterase production and persistence and composition of bacterial communities during plant material decomposition in soils with different pH values. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 795-802.
 40. Rosas, D., H. Ortiz, J. Herrera y O. Leyva. 2016. Revalorización de algunos residuos agroindustriales y su potencial de aplicación a suelos agrícolas. *Agroproductividad*: Vol. 9, p. 18-23.
 41. Saba, S. 2019. Comparative analysis of vermicompost quality produced from brewers' spent grain and cow manure by the red earthworm *Eisenia foetida*. *Bioresource technology* 293.
 42. Sadzawka, A., M. Carrasco, R. Grez y M. Mora. 2005. Métodos de análisis de compost. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Centro regional de investigación La Platina. Santiago, Chile.
 43. Sánchez-Monedero, M.A., M. Cayuela, A. Roig, K. Jindo, C. Mondini and N. Bolan. 2018. Role of biochar as an additive in organic waste composting. *Bioresource Technology* 247: 1155-1164.
 44. Sánchez-Monedero, M.A., M. Cayuela, M. Sánchez-García, B. Vandecasteele, T. D'Hose, G. López, C. Martínez-Gaitán, P. Kuikman, T. Sinicco and C. Mondini. 2019. Agronomic evaluation of biochar, compost and biochar-blended compost across different cropping systems: perspective from the European Project FERTIPLUS. *Agronomy*.
 45. Schmidt, H., C. Kammann, N. Hagemann, J. Leifeld, T. Bucheli, M.A. Sánchez-Monedero and M. Cayuela. 2021. Biochar in agriculture – A systematic review of 26 global meta-analyses. *GCB Bioenergy*.

46. Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2013. Agricultura orgánica nacional, bases técnicas y situación actual. Ministerio de Agricultura. Chile.
47. Simiel, M., E. De Zio, A. Montagnoli, M. Terzagui, D. Chiatante, G. Scippa and D. Trupiano. 2022. Biochar and/or compost to enhance nursery-produced seedling performance: A potential tool for forest restoration programs. *Forest*.
49. Soto, D. 2019. Plan de negocio para la comercialización y distribución de cerveza artesanal en la Región Metropolitana. Universidad de Chile. Santiago de Chile.
50. Tiquia, S. and N. Tam. 1998. Elimination of phytotoxicity during co-composting of spent pig-manure sawdust litter and pig sludge. *Bioresource Technology* 65:43–49.
51. Torrente, S. 2019. Aprovechamiento de los subproductos generados en la industria cervecera. Universidad Complutense. Madrid, España.
52. US Composting Council (UCC). 2002. Test Methods for the Examination of Composting and Compost.
53. Vargas, Y. y L. Pérez. 2018. Aprovechamiento de residuos agroindustriales para el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas* vol. 14, p. 59-72.
54. Vollet, G., R. Soares, M. Belleville and M. Dupas. 2020. Spent brewer's yeast as a source of high added value molecules: a systematic review on its characteristics, processing and potential applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*.
55. Zhengyu, J., Z. Liyun, L. Yuanwang, L. Xiaqing and L. Zhaojun. 2023. Evaluation of composting parameters, technologies and maturity indexes for aerobic manure composting: A meta analysis. *Science of the Total Environment* 886.