



Alternative for increasing enzymatic activity and sugar release in organic solid waste during aerobic degradation process

Alternativa para el incremento de la actividad enzimática y liberación de azúcares en residuos sólidos orgánicos durante un proceso de degradación aerobia

Castillo-Minjarez J.M.¹, Vargas-León E.A.², Quezada M.², Martínez-Valdez F. J.^{2*}

¹Universidad Tecnológica de Tecámac, División de Electromecánica Industrial. Carretera Federal México-Pachuca Km. 37.5 Predio Sierra Hermosa, Tecámac, Estado de México. C.P. 55740. Mexico.

²Universidad Tecnológica de Tecámac, División Química Biológicas. Carretera Federal México-Pachuca Km. 37.5 Predio Sierra Hermosa, Tecámac, Estado de México. C.P. 55740. Mexico.

*Corresponding author

E-mail address: fmartinezv@uttecamac.edu.mx (F. J. Martínez-Valdez).

Article history:

Received: 11 October 2023 / Received in revised form: 12 December 2023 / Accepted: 15 December 2023 / Published online: 5 January 2024.

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2024.9.1.1>

ABSTRACT

The impact of inoculum (mature compost) was assessed in an aerobic system for the rapid degradation of organic solid waste, with a focus on the release of reducing sugars. Isothermal (35 and 55 °C) and non-isothermal (35-55 °C) treatments were conducted. Key indicators, including the rate of oxygen consumption (O₂) and carbon dioxide production (CO₂), were measured to assess microbial activity. Additionally, the concentration of reducing sugars, pH, enzymatic activity, and the presence of pathogens were evaluated. Treatments with inoculum at 35 °C and without inoculum at 55 °C exhibited an increase in oxygen consumption and CO₂ production, indicating heightened microbial activity and, consequently, greater mineralization of organic matter. The treatment without inoculum at 35-55 °C presented the highest concentration of reducing sugars (160 mg/g dry weight), suggesting its potential as a pretreatment for bioconversion processes aimed at generating

value-added products. At a temperature of 55 °C, there was a reduction of 84.4, 87.28, and 67.33 % in the concentrations of fecal coliforms, *Escherichia coli*, and parasites, respectively. This result suggests that elevated temperature contributes to the effectiveness of pathogen elimination.

Keywords: enzymes, aerobic degradation, organic solid waste.

RESUMEN

Se evaluó el impacto de inóculo (composta estable) en un sistema aerobio de degradación de residuos sólidos orgánicos, centrándose en la liberación de azúcares reductores. Se llevaron a cabo tratamientos isotérmicos (35 y 55 °C) y no isotérmicos (35-55 °C). Para ello, se midieron indicadores como la tasa de consumo de oxígeno (O₂) y la producción de dióxido de carbono (CO₂) como indicador de la actividad microbiana, así como la concentración de azúcares reductores, el pH, la actividad enzimática y la presencia de patógenos. Los tratamientos con inóculo a 35 °C y sin inóculo a 55 °C mostraron un aumento en el consumo de O₂ y la producción de CO₂, mostrando una mayor actividad microbiana y, por ende, una mayor mineralización de la materia orgánica. El tratamiento sin inóculo a 35-55 °C presentó la concentración más elevada de azúcares reductores (160 mg/g materia seca), lo cual podría considerarse como un pretratamiento para procesos de bioconversión destinados a la generación de productos de valor agregado. A la temperatura de 55 °C, se observó una reducción de 84.4, 87.28 y 67.33 % en las concentraciones de coliformes fecales, *Escherichia coli* y parásitos, respectivamente. Este resultado sugiere que la temperatura elevada contribuye a la eficacia en la eliminación de patógenos.

Palabras clave: enzimas, degradación aerobia, residuos sólidos orgánicos.

1. INTRODUCCIÓN

En México, la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), estima que se generan diariamente 120,128 toneladas de residuos sólidos urbanos, de los cuales, la fracción orgánica corresponde a alrededor de 56,427 toneladas. El cual, tiene potencial para ser tratado mediante procesos de degradación aerobia o digestión anaerobia (SEMARNAT, PNPGR, 2022). La degradación de la materia orgánica es un proceso complejo en el cual, juegan papeles fundamentales los parámetros fisicoquímicos y las comunidades microbianas involucradas, la actividad microbiana genera diversos metabolitos que, modifican la composición del material en degradación (Wu *et al.*, 2017). Por ejemplo, en procesos de degradación aeróbica como el compostaje, la biotransformación de la materia orgánica involucra su hidrólisis por la actividad de enzimas pectinasas, celulasas y xilanasas, lo que permite, la liberación de azúcares que son utilizados por los microorganismos para su metabolismo, generando CO₂ y otros compuestos, como el humus. Incluso, se ha reportado que añadir inóculos microbianos puede mejorar el proceso de composteo (Manu *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2017). La liberación de azúcares es un proceso muy importante porque estos compuestos coadyuvan en la formación de humus, en procesos fermentativos, y en la digestión anaerobia, también

pueden usarse para la generación de biocombustibles como el bioetanol y el biogás (Estrada-Martínez *et al.*, 2019; Kasinath *et al.*, 2021). Por lo cual, se plantea una estrategia para liberar azúcares disponibles para su biotransformación, mediante el incremento de la actividad enzimática.

Por otra parte, en el compostaje, la temperatura de incubación para la degradación aeróbica de los residuos sólidos orgánicos (RSO) es un factor de alta relevancia, debido a que puede homogenizar la temperatura del sistema minimizando los gradientes de temperatura, ya que existen gradientes de calor y masa por la típica heterogeneidad de la materia sólida (Petiot & De Guardia, 2004). Se ha reportado que el incremento de temperatura está relacionado con el aumento de la actividad microbiana (Li *et al.*, 2013; Awasthi *et al.*, 2018), no obstante, los gradientes de temperatura se deben controlar para lograr un proceso satisfactorio (Martins *et al.*, 2011), pues este factor, influye en la dinámica de la población microbiana y en su metabolismo, afectando la eficiencia de la degradación aerobia, por lo cual, puede funcionar como un indicador de la eficiencia de la degradación y de la descomposición de los biopolímeros disponibles (Raut *et al.*, 2008). Además, se ha reportado que una temperatura cercana a los 35 °C (rango mesófilo), puede favorecer la actividad microbiana (Sundberg *et al.*, 2004). En particular, el intervalo de temperaturas de 35 a 40 °C favorece el desarrollo de la diversidad microbiana; en adición, las temperaturas entre 45 y 55 °C, pueden favorecer las actividades enzimáticas y las tasas de biodegradación (Jurado *et al.*, 2014; Wei *et al.*, 2019). A su vez, en las temperaturas aproximadas a los 55 °C (rango termófilo), se puede maximizar la eliminación de patógenos como virus, bacterias y hongos a niveles que no constituyan un riesgo para la salud de plantas, animales y humanos (Insam & Bertoldi, 2007). Los patógenos que se encuentran típicamente en la degradación aerobia de RSO son bacterias como *E. coli*, *Salmonella* spp., *Bacillus* spp., entre otras, y parásitos como los huevos de helminto (Costa & Akdeniz, 2019; Lepesteur, 2022).

Al igual que la temperatura, el pH es un parámetro de gran influencia sobre el desarrollo del proceso de degradación aerobio (Chen *et al.*, 2014; Solís-Oba *et al.* 2020), durante este se liberan ácidos orgánicos que provocan cambios de pH (Manu *et al.*, 2017) ocasionando cambios en los complejos ecosistemas microbianos, ya que los microorganismos involucrados están activos dentro de rangos específicos de pH (Wu *et al.*, 2017).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la adición de inóculo (composta estable o madura) sobre la liberación de azúcares reductores en un sistema rápido de degradación aerobia (Martínez-Valdez *et al.*, 2015), durante los dos tratamientos isotérmicos (35 y 55 °C) y el no isotérmico (35-55 °C), midiendo la actividad enzimática, el pH, la tasa de consumo de O₂ y la tasa de producción de CO₂ durante el proceso de mineralización de RSO, así como la presencia de patógenos en el producto de la degradación obtenido.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material biológico

Los RSO se obtuvieron de juguerías en Iztapalapa, Ciudad de México, México, de acuerdo con lo reportado por Estrada-Martínez *et al.* (2019). Como inóculo para los reactores se utilizó composta estable proveniente de la planta de compostaje de residuos sólidos municipales del Bordo Poniente (PCBP), de la Ciudad de México.

2.2. Preparación de muestras de composta

La toma de muestra se realizó mediante la técnica de cuarteo de diez pilas de composta conforme a la norma ASTM D-34 (2016). A partir de la mezcla homogenizada, se generaron muestras de composta de 5 Kg.

2.3. Condiciones de los tratamientos

Se empacaron 18 biorreactores tubulares de 290 mL (5 cm de diámetro y 15 cm de altura) con 100 ± 1.7 g de material a degradar con la composición reportada por Martínez-Valdez *et al.* (2015); conservando una relación carbono/nitrógeno de 30. Del total de biorreactores, únicamente nueve fueron inoculados con la composta estable, los restantes se mantuvieron sin inóculo.

Una vez empacados todos los biorreactores, se aplicaron tres tratamientos siendo: 1) tres biorreactores inoculados y tres sin inocular incubándose en condición isotérmica a 35 °C; 2) tres biorreactores inoculados y tres sin inocular los cuales se incubaron en condición isotérmica a 55 °C; y 3) tres biorreactores inoculados y tres sin inocular los cuales se incubaron de forma no isotérmica, 35 a 55 °C, cambiando la temperatura en el momento de mayor actividad microbiana analizada como tasa respirométrica (18 h de cultivo). Se analizó la tasa de consumo de oxígeno, durante 45 h con un flujo de aire de 0.5 mL/min g de materia húmeda, el contenido de humedad inicial fue de 70 ± 2 % como lo reporta Liang *et al.* (2003).

2.4. Métodos analíticos

2.4.1. Tasa de producción de dióxido de carbono y consumo de oxígeno

La concentración de O₂ y CO₂ en la corriente gaseosa a la salida de los biorreactores, se determinó en tres replicas experimentales, según lo reportado por Martínez-Valdez *et al.* (2015). Se utilizó un sistema de respirometría que permite el análisis en línea de la composición gaseosa a la salida del biorreactor sin perturbar el proceso (Saucedo-Castañeda *et al.*, 2013). Los parámetros asociados con el consumo de O₂ y producción de CO₂, consumo global de oxígeno (O_{2max}), producción global de dióxido de carbono (CO_{2max}), constante de mineralización (k_{CO2}) y constante de oxígeno consumido (k_{O2}), fueron estimados a partir de los datos experimentales ajustados al modelo Logístico

(Okazaki *et al.*, 1980) (Ec. 1). Las tasas de producción de CO₂ y consumo de O₂ se expresaron en miligramos de oxígeno o dióxido de carbono por gramo de materia seca inicial por hora (mg/g msi h). Martínez-Valdez *et al.* (2015), mencionan que la producción de CO₂ está relacionada con la degradación de la materia orgánica donde el carbono orgánico es transformado a CO₂ (mineralización), por otra parte, la actividad microbiana estaría relacionada con la producción de O₂.

$$X = \frac{X_{max}}{1 + \left(\frac{X_{max} - X_{(0)}}{X_{(0)}}\right) \exp^{k_X t}} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

X_{max} : Producción global de CO_{2max} o de O_{2max}, conforme el ajuste de los datos del gas a analizar.

$X_{(0)}$: Concentración de CO₂₍₀₎ o de O₂₍₀₎ a $t = 0$, de acuerdo con el ajuste de los datos del gas a analizar.

k_X : Constante de mineralización (k_{CO_2}) o constante de oxígeno consumido (k_{O_2}).

t = tiempo de proceso.

2.4.2. Cuantificación de azúcares reductores

En la preparación de las muestras para cuantificar azúcares reductores y actividad enzimática, se midió el pH, tomando 10 g de materia húmeda degradada, mezclados en un matraz Erlenmeyer de 250 mL con 90 mL de agua fría. La mezcla se agitó a 300 rpm durante 10 min y se dejó reposar durante 30 min. Transcurrido este tiempo, se determinó el pH del sobrenadante con un potenciómetro previamente calibrado (Conductronic, modelo pH 120). La determinación de azúcares reductores en muestras de RSO, se realizó al inicio del proceso de degradación (tratamiento inicial) y trascurridas 45 h del proceso (tratamiento final), en los diferentes tratamientos de temperatura. Se colocaron 10 g de materia húmeda degradada en 50 mL de agua destilada, la mezcla se agitó a 120 rpm en baño de hielo por 30 min. Posteriormente, se tomaron 500 µL de la mezcla y se hicieron reaccionar con 500 µL de DNS a 90 °C por 10 min, finalmente se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 640 nm para obtener la concentración a partir de una solución estándar de glucosa (1 g/L), de acuerdo con lo propuesto por Miller (1960). La concentración de azúcares reductores se reporta como mg azúcar reductor por g de materia seca (mg/g ms).

2.4.3. Actividad enzimática

Se cuantificó la actividad de las enzimas lignocelulósicas mediante la liberación de azúcares reductores por acción enzimática, en muestras de RSO al inicio del proceso de degradación (tratamiento inicial) y trascurridas 45 h del proceso en los diferentes tratamientos de temperatura. Para la determinación de pectinasas, celulasas y xilanasas se tomaron 750 µL de sustrato (amortiguador de citratos pH 5, 50 mM y el polisacárido correspondiente) y se mezclaron con 250 µL del extracto enzimático en tubos de ensayo, la mezcla se colocó en agitación orbital de 250 rpm a la temperatura y tiempo de incubación correspondientes. Los sustratos y condiciones específicas fueron, pectina

(Sigma-Aldrich) al 1 % a 37 °C por 30 min para medir pectinasas (Zhang *et al.*, 2000), carboximetilcelulosa (Sigma-Aldrich) al 2 % a 50 °C por 30 min para medir celulasas (Ramamoorthy *et al.*, 2019) y xilano (Sigma-Aldrich) al 1 % a 50 °C por 15 min para medir xilanasas (Loera & Córdova, 2003). La concentración de azúcares reductores liberados por la acción enzimática se determinó por la diferencia entre las absorbancias de las muestras sin extracto (blanco) y las adicionadas con este. La actividad enzimática esta expresada en unidades por gramo de materia seca (U/g ms), definida una unidad como μmol de producto obtenido por minuto ($\mu\text{mol}/\text{min}$).

En el caso de medición de proteasas, el sustrato fue caseína sódica (Sigma-Aldrich) al 2 % en un amortiguador de Tris (50 mM, pH 8) incubado a 50 °C por 2 h, la reacción se llevó a cabo colocando 5 mL de sustrato y 1 mL del extracto enzimático en tubos de ensayo, a 100 rpm, realizando la lectura de absorbancia a 700 nm de longitud de onda (Alef & Nannipieri 1995). La actividad enzimática esta expresada en unidades por gramo de materia seca (U/g ms), definida una unidad como μmol de producto obtenido por minuto ($\mu\text{mol}/\text{min}$).

2.4.4. Patógenos presentes en la composta

Para determinar la presencia de patógenos y parasitos en la composta, se emplearon triplicados de muestras con inóculo y sin inóculo provenientes de los reactores operados a 35 y 55 °C. Se determinó el contenido de coliformes fecales y *E. coli* mediante la técnica de Número Más Probable (NMP) con cinco diluciones, de acuerdo con la American Public Health Association (APHA, 1998); la cantidad de *Salmonella* spp., con la técnica de dilución en medio enriquecido y para huevos de helminto con el método de flotación de sulfato de zinc, de acuerdo con la NOM 004-SEMARNAT 2002 (SEMARNAT, 2003) y para su identificación se observaron características morfológicas de acuerdo con Sakanari & MacKerrow *et al.* (2010).

2.5. Análisis estadístico

Todas las mediciones y pruebas se realizaron por triplicado, y los resultados se expresaron como la media \pm la desviación estándar. Se utilizó la prueba por pares HSD de Tukey para comparar las medias y revelar diferencias significativas entre las muestras ($\alpha = 0.05$). El análisis estadístico se realizó con el paquete Sigma Plot (Systat Software Inc., San José, California).

3. RESULTADOS

3.1. Análisis respirométricos

Los análisis de la tasa de consumo de O_2 (TO_2) y la tasa de producción de CO_2 (TPCO_2) son un indicio de la actividad microbiana que se tuvo bajo cada tratamiento de estudio (Fig. 1). En los tratamientos con adición de inóculo, la TO_2 a 35 °C fue de 12 mg/g msi h en 20 h de cultivo, aproximadamente, siete veces mayor a la mostrada a 55 °C (1.7 mg/g msi h). Por su parte, en los tratamientos sin adición de inóculo, la TO_2 fue de 5 mg/g msi

h a 35 °C y en el tratamiento a 55 °C, se alcanzaron los mismos valores hasta las 30 h. En el caso de la TPCO₂, en los tratamientos sin inóculo, se obtuvo un valor de 15 mg/g msi h en 20 h de cultivo a 55 °C, mientras que a 35 °C fue de 10 mg/g msi h. De forma diferente, en los tratamientos con inóculo se obtuvo una TPCO₂ de 20 mg/g msi h en 20 h de cultivo a 35 y 55 °C, los valores de TPCO₂ fueron menores a 5 mg/g msi h. En el caso de los tratamientos no isotérmicos con y sin inóculo, tanto la TO₂ como la TPCO₂, presentaron incrementos mientras la temperatura se mantuvo a 35 °C. No obstante, en el choque térmico de 55 °C, se observó una caída abrupta de sus valores.

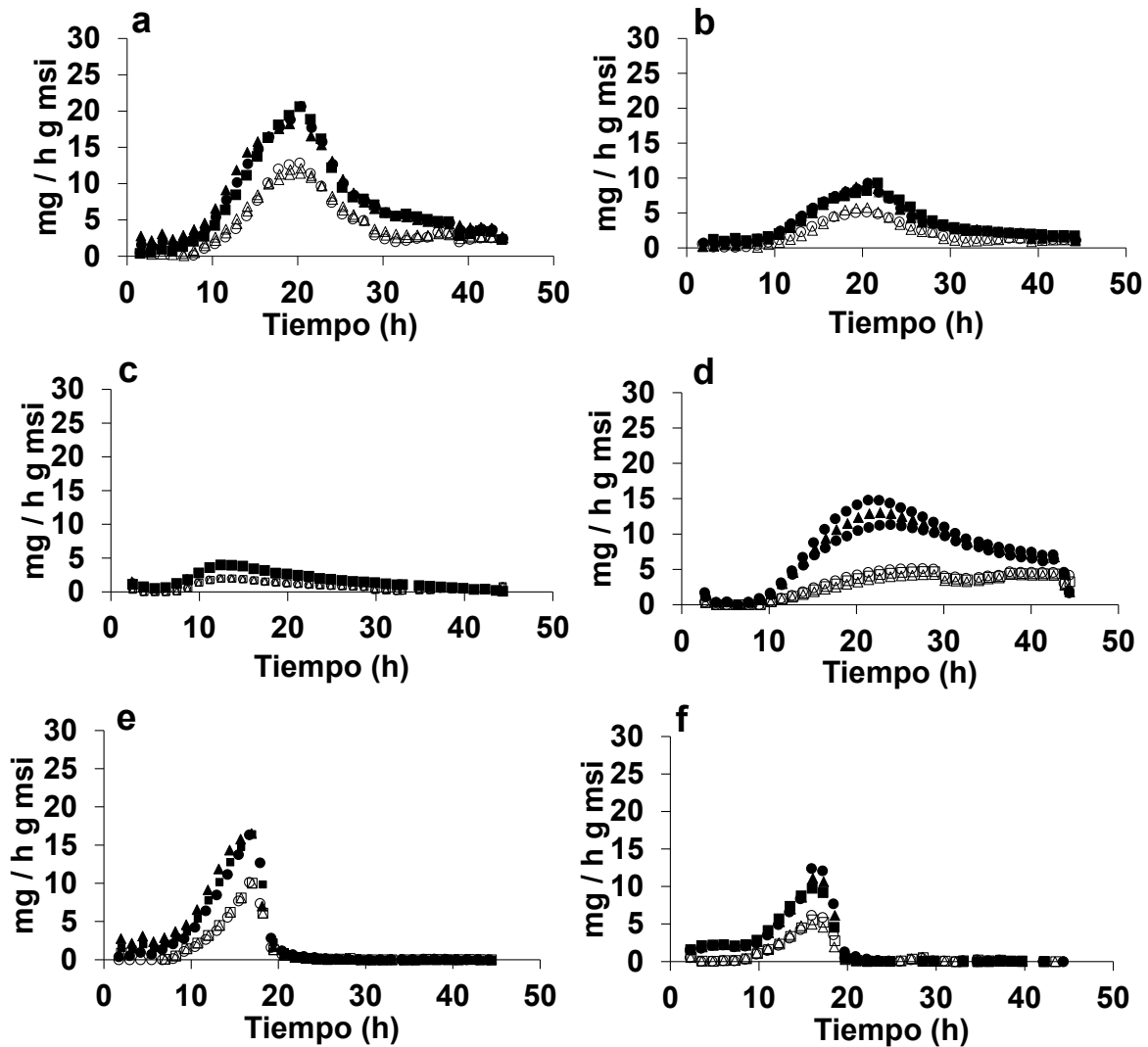


Fig. 1. Tasa de consumo de O₂ y producción de CO₂ durante la degradación del RSO con y sin inóculo.

Marcadores sin relleno = Consumo de O₂, Marcadores con relleno = Producción de CO₂. Con inóculo: a = 35 °C, c = 55 °C, e = 35-55 °C. Sin inóculo: b = 35 °C, d = 55 °C y f = 35-55 °C.

Fig. 1. O₂ consumption rate and CO₂ production during OSW degradation with and without inoculum.

Unfilled markers = O₂ consumption, Filled markers = CO₂ production. With inoculum: a = 35 °C, c = 55 °C, e = 35-55 °C. Without inoculum: b = 35 °C, d = 55 °C and f = 35-55 °C.

En la Tabla 1, se muestra el ajuste de los datos de respirometría al modelo Logístico. Se puede ver que el consumo global de oxígeno (O_{2max}) y la producción total de dióxido de carbono (CO_{2max}) fueron mayores en los tratamientos con inóculo a 35 °C (173.4 ± 3.2 mg O₂/g msi y 314.8 ± 15.1 mg CO₂/g msi, respectivamente) seguido de los tratamientos sin adición de inóculo a 55 °C (149.5 ± 3.1 mg O₂/g msi y 290.1 ± 17.1 mg CO₂/g msi), lo cual indicó una mayor mineralización de la materia orgánica en los tratamientos a 35 °C con inóculo. Las constantes de mineralización fueron mayores en los tratamientos no isotérmicos, siendo mayor con inóculo (0.58 h⁻¹) comparada con la que no fue inoculada (0.33 h⁻¹). En los tratamientos isotérmicos no existió diferencia significativa a 35 y 55 °C con inóculo y sin inóculo a 35 °C, presentando la menor constante de mineralización los tratamientos a 55 °C sin adición de inóculo.

Tabla 1. Parámetros obtenidos al realizar el ajuste de los datos experimentales de los diferentes tratamientos al modelo Logístico.

Table 1. Parameters obtained by fitting the experimental data of the different test conditions to the Logistic model.

Tratamiento	Temperatura (°C)	O _{2max} (mg/g msi)	k _{O₂} (h ⁻¹)	CO _{2max} (mg/g msi)	k _{CO₂} (h ⁻¹)
Con inóculo	35	173.4 ± 3.2 ^f	0.26 ± 0.04 ^b	314.8 ± 15.1 ^e	0.22 ± 0.02 ^b
	55	29.3 ± 0.4 ^a	0.24 ± 0.01 ^b	65.8 ± 0.4 ^a	0.22 ± 0.01 ^b
	35 – 55	58.2 ± 3.28 ^c	0.58 ± 0.05 ^d	198.5 ± 12.7 ^c	0.45 ± 0.05 ^d
Sin Inóculo	35	46.08 ± 0.56 ^d	0.23 ± 0.01 ^b	81.75 ± 0.53 ^d	0.22 ± 0.02 ^b
	55	149.5 ± 3.1 ^e	0.14 ± 0.01 ^a	290.1 ± 17.1 ^e	0.14 ± 0.01 ^a
	35 – 55	36.9 ± 2.9 ^a	0.33 ± 0.01 ^c	86.5 ± 6.3 ^b	0.28 ± 0.01 ^c

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas en las medias a α<0.05. Los resultados se expresan como media ± desviación estándar.

3.2. Determinación de pH, azúcares reductores y actividad enzimática

En los resultados de pH y las concentraciones de azúcares de los diferentes tratamientos realizados (Tabla 2), se puede ver que, en los tratamientos iniciales hay un pH mayor en el sistema con inóculo, el cual llega a su máximo valor (7.42 ± 0.2) con 35 °C, coincidiendo con la mayor actividad respiratoria, en el caso de los tratamientos que involucraron 55 °C, los valores de pH bajaron, coincidiendo con la menor actividad microbiana descrita en los resultados anteriores. En los tratamientos no isotérmicos hubo un incremento del pH. Por otra parte, en los tratamientos sin inóculo se observó que el mayor pH se obtuvo a los 55 °C (6.7 ± 0.1), cuando hubo mayor actividad microbiana, y en los tratamientos restantes de temperatura el pH bajó. En cuanto a los azúcares reductores, la mayor concentración (160 ± 5 mg de azúcares/g ms) se presentó en el tratamiento no isotérmico sin la adición

de inóculo. Los tratamientos realizados con adición de inóculo, la mayor concentración (118 ± 8 mg de azúcares/g ms) se presentó en el tratamiento a $55\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tabla 2 Contenido de azúcares reductores y pH al inicio y final del proceso de degradación aerobio con y sin inóculo.

Table 2. Reducing sugars content and pH at the beginning and end of the aerobic degradation process with and without inoculum.

Tratamiento		pH	Azúcares reductores (mg/g ms)
Con Inóculo	Inicial	6.06 ± 0.06^c	91 ± 0.5^d
	$35\text{ }^{\circ}\text{C}$	7.42 ± 0.13^d	12.2 ± 3.5^a
	$55\text{ }^{\circ}\text{C}$	4.68 ± 0.04^a	118.4 ± 7.9^e
	$35 - 55\text{ }^{\circ}\text{C}$	4.62 ± 0.02^a	47.6 ± 10.5^b
Sin Inóculo	Inicial	5.23 ± 0.29^b	108.8 ± 0.72^e
	$35\text{ }^{\circ}\text{C}$	4.38 ± 0.71^a	126.4 ± 6.1^e
	$55\text{ }^{\circ}\text{C}$	6.70 ± 0.11^c	73.1 ± 7.9^c
	$35 - 55\text{ }^{\circ}\text{C}$	4.01 ± 0.07^a	160.7 ± 4.8^f

Datos reportados como la media \pm desviación estándar ($n=3$, $\alpha=0.05$).

Inicial = medición previa a los tratamientos térmicos.

En lo que respecta a los resultados de actividad enzimática (Fig. 2), en general, al comparar entre la adición de inóculo y sin este, hubo mayor actividad enzimática en el tratamiento con inóculo, en particular a $55\text{ }^{\circ}\text{C}$, con excepción de las proteasas, cuya mayor actividad se determinó a 35 y $55\text{ }^{\circ}\text{C}$, sin diferencia estadística. En el caso del tratamiento sin la adición de inóculo, la mayor actividad se encontró en el tratamiento no isotérmico ($35\text{-}55\text{ }^{\circ}\text{C}$).

3.3. Microorganismos patógenos y parásitos en la degradación aerobia

La cantidad de coliformes fecales, *E. coli*, *Salmonella* spp. y huevos de helminto que se determinó al inicio y al final del compostaje, se muestra en la Tabla 3. Se observó la menor concentración de patógenos (coliformes fecales, *E. coli* y *Salmonella* spp.) en los tratamientos a $55\text{ }^{\circ}\text{C}$, temperatura que resultó ser el mejor tratamiento para la inactivación de los patógenos estudiados. Las especies de huevos de helminto (parásitos) encontradas al inicio fueron *Ascaris lumbricoides*, *Taenia solium* (Fig. 3) y *Trichiuris trichuria*, mientras que las especies encontradas al final del proceso de degradación fueron solo de *A. lumbricoides*.

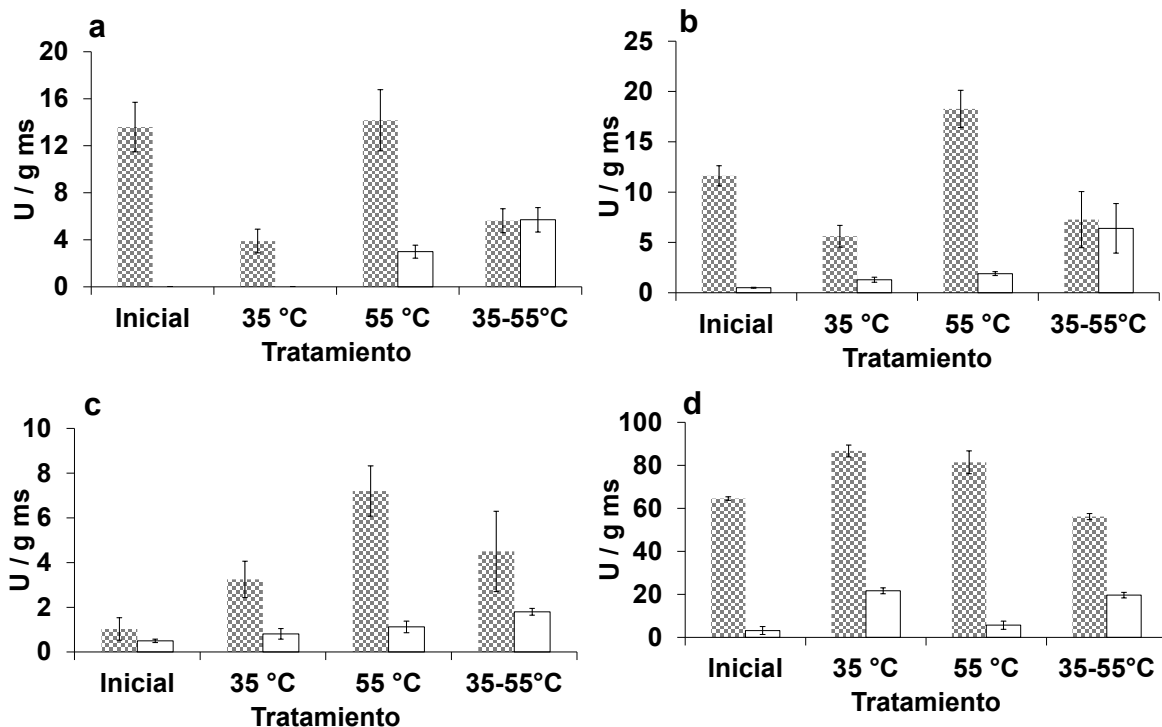


Fig. 2. Actividad enzimática de la degradación aerobia de RSO en los diferentes tratamientos.

Con inóculo (⊗) y sin inóculo (□). Inicial = actividad enzimática previa a los tratamientos térmicos. a = xilanasas, b = pectinasas, c = celulasas y d = proteasas.

Fig. 2. Enzymatic activity of aerobic degradation of RSO in the different treatments. With inoculum (⊗) and without inoculum (□). Initial = enzyme activity before to temperature treatments. a = xylanases, b = pectinases, c = cellulases and d = proteases.

Tabla 3. Microorganismos patógenos en la composta con y sin inóculo.

Table 3. Pathogenic microorganisms in compost with and without inoculum.

Microorganismos (NMP/2g)	Inicio de la degradación aerobia	Final de la degradación aerobia			
		Composta a 35 °C		Composta a 55 °C	
		Sin inóculo	Con inóculo	Sin inóculo	Con inóculo
<i>Coliformes fecales</i>	1018 ± 16.5	1096 ± 6.4	1x 10 ³ ± 6	298 ± 1	158 ± 8
<i>E. coli</i>	354 ± 3.5	323 ± 5.8	682 ± 2	214 ± 8	45 ± 3
<i>Salmonella</i> spp.	< 3 ± 0.0	1 x 10 ³ ± 0.1	1.04 x 10 ⁵ ± 6	< 3 ± 0.0	< 3 ± 0.0
Huevos de <i>helminto</i> (HH/2g)	251 ± 3.1	240 ± 3	373 ± 6.1	236 ± 12	82 ± 6

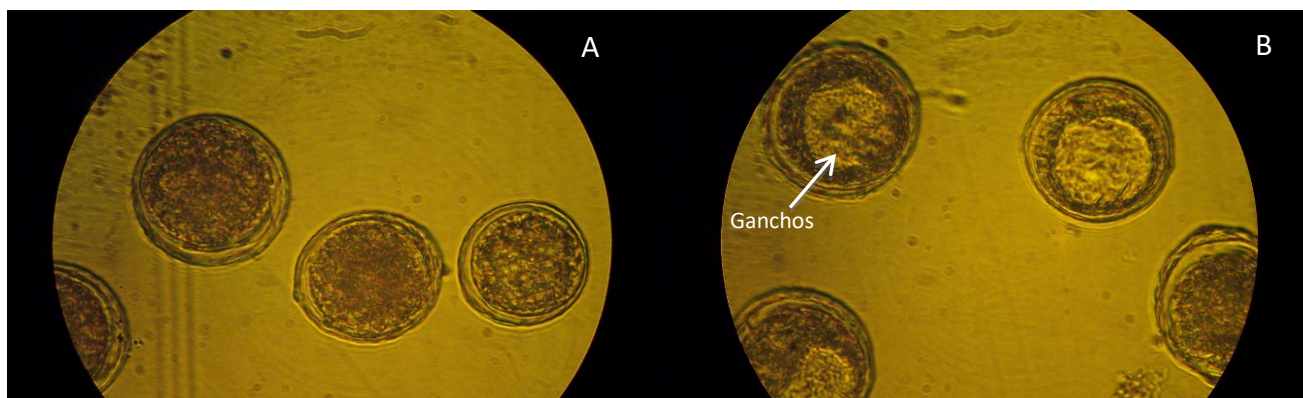


Fig. 3. Huevos de helminto en microscopía óptica a 40X, A) *A. lumbricoides*, B) *Taenia solium*.

Fig. 3. Helminth eggs in light microscopy at 40X, A) *A. lumbricoides*, B) *Taenia solium*.

4. DISCUSIÓN

Investigaciones han reportado la relación que puede existir entre las actividades enzimáticas y las diversas comunidades bacterianas en los procesos de composteo, por ejemplo, Ma *et al.* (2019), determinaron que la adición de composta madurada como inóculo, cambia las bacterias funcionales que contribuyen al compostaje y afecta la actividad metabólica microbiana durante el proceso. En los diferentes estudios respirométricos realizados en este trabajo, se determinó que la mayor actividad de los consorcios microbianos se produjo bajo los tratamientos isotérmicos de 35 °C con la adición del inóculo (Fig. 1), el consumo de oxígeno fue cuatro veces mayor en comparación con los tratamientos bajo la misma temperatura y sin adición de inóculo. Por el contrario, en los tratamientos isotérmicos de 55 °C, se observó que el consorcio microbiano carente del inóculo presentó una mayor tasa de consumo de oxígeno, revelando que los microorganismos del inóculo son afectados por el cambio de temperatura, sugiriendo que son primordialmente mesofílicos de acuerdo con Miller (2020), el rango de temperatura mesofílico, generalmente, son temperaturas que no exceden los 40 °C, este comportamiento también se observó en los tratamientos no isotérmicos, ya que con el choque térmico impuesto (de 35 a 55 °C), alrededor de las 20 h de cultivo, hubo una afectación en el desarrollo de los consorcios con y sin inóculo. Estos resultados son congruentes con lo reportado por Saludes *et al.* (2007), quienes obtuvieron la máxima diversidad microbiana a temperaturas entre 35 y 40 °C, y con lo reportado por Horisawa *et al.* (2001) y Tremier *et al.* (2005), quienes determinaron que las temperaturas óptimas para la biodegradación de los RSO van de los 30 a 40 °C. Se sabe que las temperaturas termofílicas de 45 a 55 °C (Miller, 2020), son necesarias para la máxima biodegradación del material orgánico (Saludes *et al.*, 2007), no obstante, el incremento de la temperatura puede reducir la actividad microbiana (Liang *et al.*, 2003).

En el caso de los resultados obtenidos de azúcares reductores y pH (Tabla 2), se determinó que el mayor consumo de azúcares, también se presentó en los tratamientos de 35 °C con adición de inóculo, donde hubo mayor actividad de los microorganismos.

Este resultado también se observó con los datos obtenidos de pH, cuyos incrementos indican que los ácidos orgánicos que se produjeron fueron degradados por los microorganismos, incrementando la producción de CO₂ y posiblemente de amoníaco (Martínez-Valdez *et al.*, 2015).

Por su parte, el análisis de la actividad enzimática indicó un comportamiento diferente en los tratamientos con y sin adición de inóculo. En el primer tratamiento a 55 °C, el incremento de la actividad de celulasas, pectinasas y xilanasas fue más del doble (2.2, 2.6 y 3.6 veces, respectivamente) en comparación con el tratamiento mesofílico (35 °C). Esto se asocia con la disminución de la actividad del consorcio microbiano en el tratamiento termofílico, considerando que las enzimas pueden funcionar a altas temperaturas, por ejemplo, existen reportes que indican que la temperatura óptima de actividad de ciertas xilanasas se encuentra entre 40 y 75 °C, dependiendo del microorganismo del que provengan (Collins *et al.*, 2005; Farinas *et al.*, 2010; Xiong *et al.*, 2004). La actividad de las pectinasas se ha reportado a temperaturas desde 26 hasta 65 °C (Biz *et al.*, 2014), y la actividad óptima de la celulasa está entre 30 y 60 °C (Kasana & Gulati, 2011). A su vez, las proteasas fúngicas han mostrado actividad en un amplio rango de temperaturas (30–65 °C) con valores óptimos a 55 °C (Souza *et al.*, 2015). En el caso de los tratamientos sin inóculo, el aumento de temperatura favoreció el incremento de la actividad enzimática relacionada con la actividad microbiana nativa, cuyo metabolismo implica consumo de O₂ y producción de CO₂, concordando con lo reportado por Sundberg *et al.* (2004). Asimismo, hubo una mayor liberación de azúcares reductores en el tratamiento no isotérmico y a pesar de que el tratamiento de 35-55 °C, cuyo choque térmico disminuyó la actividad microbiana, no afectó la actividad enzimática.

El uso de tratamientos térmicos se considera viable para el pretratamiento de diversos sustratos, por ejemplo, Zhou *et al.* (2023) reportaron el efecto de diversos métodos físicos de pretratamiento sobre la hidrólisis enzimática de los sólidos de residuos de alimentos, así como sus mecanismos, observando que los métodos de pretratamiento térmico fueron eficaces para la hidrólisis enzimática, generando un 165 % de incremento en la concentración de glucosa asociado a la actividad enzimática. Este comportamiento concuerda con lo obtenido en el presente estudio, donde el tratamiento térmico favorece la actividad enzimática que promueve una mayor hidrólisis del sustrato. En esta investigación, se observó que los tratamientos con inóculo a 35 °C y sin inóculo a 55 °C presentaron mayor producción de CO₂ y consumo de O₂. Esto sugiere que hubo mayor actividad microbiana en estos tratamientos, lo que permitió una mayor mineralización de la materia orgánica. Por otro lado, la mayor concentración de azúcares reductores y la mayor actividad enzimática en los tratamientos sin inóculo se produjo en la condición no isotérmica 35-55 °C. Esto indica que el tratamiento térmico favoreció la liberación de azúcares. Los resultados indican que los microorganismos nativos presentes en los RSO bajo condiciones no isotérmicas (35-55 °C), favorecen la liberación de azúcares reductores (160.7 ± 4.8 mg/g ms), siendo estas condiciones viables como pretratamiento de los RSO para su posterior transformación en etanol, por ejemplo Verhe *et al.* (2022) reportaron la producción de etanol a partir de RSO con un pretratamiento enzimático, no obstante, utilizando condiciones ácidas para liberar las fibras celulósicas y facilitar la accesibilidad de la enzima Cellic®. Además, Zamri (2021) indica que la etapa limitante de la digestión anaerobia de residuos sólidos es la hidrólisis. Por lo tanto, el tratamiento

implementado en este estudio se considera viable como pretratamiento de los RSO para su posterior bioconversión en productos valorizables. Finalmente, la temperatura de 55 °C permitió la disminución de la concentración de los microorganismos patógenos y parásitos analizados, en el caso de coliformes fecales hubo una disminución del 84.4 %; en *E. coli*, la disminución fue de 87.28 % y hubo un 67.33 % de disminución de huevos de *A. lumbricoides*, *T. solium* y *T. trichiura*. Este resultado coincide con lo reportado por diferentes autores que han indicado que temperaturas superiores a 50 °C son necesarias para reducir microorganismos patógenos y parásitos a un nivel seguro en el compostaje (Biswas *et al.*, 2019; Choińska-Pulit *et al.*, 2019; Esquivel-Barajas *et al.*, 2019; El Hayany *et al.*, 2020). Se ha calculado que a nivel mundial 1,200 millones de personas están infectadas por *A. lumbricoides* y cerca de 800 millones están infectadas por *Tricuros* (*Trichuris trichiura*). Estos vermes (gusanos) y otros del grupo de los trematodos y cestodos se adquieren por la ingestión de hospedadores intermedios mal cocidos, que incluyen las hortalizas, peces, carnes de res y de cerdo (Carroll *et al.*, 2016). La presencia de parásitos en las compostas representa un riesgo para la salud, ya que en el caso de *A. lumbricoides*, los vermes adultos, si se concentran en gran cantidad pueden ocasionar obstrucción mecánica del intestino y de los conductos biliares y pancreáticos. Las larvas pueden causar una respuesta inflamatoria (neumonitis), y después de la segunda infección puede producir espasmo bronquial, producción de moco y síndrome de Löeffler (tos, eosinofilia e infiltrados en pulmones). *Trichuris trichiura* se aloja en la mucosa intestinal y causa hemorragias pequeñas con destrucción de células e infiltración de eosinófilos, linfocitos y plasmocitos; la infección intensa puede ocasionar diarrea sanguinolenta profusa, cólicos, tenesmo y prolapso rectal; también, pueden migrar los vermes al apéndice y causar apendicitis. En el caso de *Taenia solium*, si los seres humanos ingieren los huevos, los cisticercos se enquistan en tejidos de piel, músculo, riñones, corazón, hígado y cerebro, se produce la cisticercosis, que dependiendo del tejido afectado disminuye la agudeza visual o produce cefalea, náusea, vómito, alteraciones psíquicas y convulsiones por los cisticercos enquistados en el cerebro (Levinson *et al.*, 2016). En el caso del presente estudio, la estrategia del aumento en la temperatura fue eficiente en la eliminación de patógenos como *Trichuris trichiura* y *Taenia solium* y en la disminución de la cantidad de *A. lumbricoides*.

Como conclusión, se tiene que la actividad microbiana en el proceso de degradación aerobia se incrementó debido a la adición de la composta madura usada como inóculo, permitiendo una mejor degradación de los RSO. Los tratamientos termofílicos aumentaron la actividad enzimática, esto se establece al observar que se produjo una mayor concentración de los azúcares reductores. Asimismo, la respirometría permitió hacer el seguimiento de la actividad microbiana en los distintos tratamientos, corroborando que la temperatura y el pH son fundamentales para el control del proceso.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Planta Piloto No. 4 de la Universidad Autónoma Metropolitana y al Centro de Cooperación Academia Industria de la Universidad Tecnológica de Tecámac.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

REFERENCIAS

Alef, K., & Nannipieri, P. 1995. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press. London, GB. pp 576

American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th Edition. American Public Health Association. Washington D.C, US.

ASTM Committee D-34 on Waste Management. 2016. Standard Test Method for Determination of the Composition of Unprocessed Municipal Solid Waste. ASTM International. <https://www.astm.org/d5231-92r16.html>

Awasthi, S. K., Wong, J. W., Li, J., Wang, Q., Zhang, Z., Kumar, S., & Awasthi, M. K. (2018). Evaluation of microbial dynamics during post-consumption food waste composting. *Bioresource technology*, 251, 181-188. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.040>

Biswas, S., Nazmi, A., Pitesky, M., Gallardo, R., & Pandey, P. 2019. Thermal inactivation of *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium* in poultry carcass and litter at thermophilic temperatures. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(2), 307-317. <https://doi.org/10.3382/japr/pfy072>.

Biz, A., Farias, F. C., Motter, F. A., Paula, D. H. de, Richard, P., Krieger, N., & Mitchell, D. A. 2014. Pectinase Activity Determination: An Early Deceleration in the Release of Reducing Sugars Throws a Spanner in the Works!. *PLoS ONE*, 9(10), e109529. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109529>

Carroll K., Morse S., Mietzner T. and Miller S. (2016). *Microbiología médica*. 27a edición. McGraw-Hill/Interamericana editores S. A. de C. V. México, D. F. pp. 723-731.

Chen, Y., Zhou, W., Li, Y., Zhang, J., Zeng, G., Huang, A., & Huang, J. (2014). Nitrite reductase genes as functional markers to investigate diversity of denitrifying bacteria during agricultural waste composting. *Applied microbiology and biotechnology*, 98, 4233-4243. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5514-0>

Choińska-Pulit, A., Łaba, W., & Rodziewicz, A. 2019. Enhancement of pig bristles waste bioconversion by inoculum of keratinolytic bacteria during composting. *Waste Management*, 84, 269-276. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.11.052>

Collins, T., Gerday, C., & Feller, G. (2005). Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. *FEMS microbiology reviews*, 29(1), 3-23. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.06.005>

Costa, T., & Akdeniz, N. 2019. A review of the animal disease outbreaks and biosecure animal mortality composting systems. *Waste Management*, 90, 121-131. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.04.047>

EL Hayany, B.; El Fels, L.; Ouhdouch, Y.; Hafidi, M. 2021. Fate of pathogenic microorganisms during lagooning sludge composting and exploration of bacteriophages as indicator of hygienization. *Environmental Technology & Innovation*, Vol. 21. 1-29. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101268>.

Estrada-Martínez, R., Favela-Torres, E., Soto-Cruz, N. O., Escalona-Buendía, H. B., & Saucedo-Castañeda, G. 2019. A Mild Thermal Pre-treatment of the Organic Fraction of Municipal Wastes Allows High Ethanol Production by Direct Solid-state Fermentation. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 24(2), 401-412. <https://doi.org/10.1007/s12257-019-0032-7>

Esquivel-Barajas, G. G., Bretado-Aragón, L. A., Álvarez-Bernal, D., Nuñez-Sanchez, M., & Flores-Magallón, R. 2019. Evaluation of antibacterial potential TiO₂/AgNO₃ composite against *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Salmonella typhimurium* (ATCC 2275). *Mexican Journal of Biotechnology*, Vol. 2. 1-9. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2019.4.2.1>

Farinas, C. S., Loyo, M. M., Junior, A. B., Tardioli, P. W., Neto, V. B., & Couri, S. (2010). Finding stable cellulase and xylanase: evaluation of the synergistic effect of pH and temperature. *New Biotechnology*, 27(6), 810-815. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2010.10.001>

Horisawa, S., Sakuma, Y., Tamai, Y., Doi, S., & Terazawa, M. 2001. Effect of environmental temperature on a small-scale biodegradation system for organic solid waste. *Journal of Wood Science*, 47(2), 154-158. <https://doi.org/10.1007/BF00780566>

Insam, H., & De Bertoldi, M. 2007. Microbiology of the composting process. In: *Waste management series* (Vol. 8, pp. 25-48). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1478-7482\(07\)80006-6](https://doi.org/10.1016/S1478-7482(07)80006-6)

Jurado, M. M., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M. C., López, M. J., López-González, J. A., & Moreno, J. 2014. Evolution of enzymatic activities and carbon fractions throughout composting of plant waste. *Journal of environmental management*, 133, 355-364. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.12.020>

Kasana, R. C., & Gulati, A. (2011). Cellulases from psychrophilic microorganisms: a review. *Journal of basic microbiology*, 51(6), 572-579. <https://doi.org/10.1002/jobm.201000385>

Kasinath, A., Fudala-Ksiazek, S., Szopinska, M., Bylinski, H., Artichowicz, W., Remiszewska-Skwarek, A., & Luczkiewicz, A. (2021). Biomass in biogas production:

Pretreatment and codigestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 150, 111509. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111509>

Lepesteur, M. 2022. Human and livestock pathogens and their control during composting. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(10), 1639-1683. <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1862550>

Levinson, W. 2016. *Microbiologia médica e imunologia*. Ed. McGraw Hill Brasil pp. 441-448

Li, Z., Lu, H., Ren, L., & He, L. 2013. Experimental and modeling approaches for food waste composting: A review. *Chemosphere*, 93(7), 1247-1257. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.064>

Liang, C., Das, K. C., & McClendon, R. W. 2003. The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend. *Bioresource technology*, 86(2), 131-137. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00153-0](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00153-0)

Loera, O., & Córdova, J. 2003. Improvement of xylanase production by a parasexual cross between *Aspergillus niger* strains. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46(2), 177-181. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132003000200006>

Ma, C., Hu, B., Wei, M. B., Zhao, J. H., & Zhang, H. Z. (2019). Influence of matured compost inoculation on sewage sludge composting: Enzyme activity, bacterial and fungal community succession. *Bioresource technology*, 294, 122165. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122165>

Manu, M. K., Kumar, R., & Garg, A. (2017). Performance assessment of improved composting system for food waste with varying aeration and use of microbial inoculum. *Bioresource Technology*, 234, 167-177. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.023>

Martínez-Valdez, F. J., Martínez-Ramírez, C., Martínez-Montiel, L., Favela-Torres, E., Soto-Cruz, N. O., Ramírez-Vives, F., & Saucedo-Castañeda, G. 2015. Rapid mineralisation of the organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource technology*, 180, 112-118. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.083>

Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. 2011. Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology advances*, 29(3), 365-373. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.008>

Miller, F. C. 2020. Composting of municipal solid waste and its components. In *Microbiology of solid waste*, CRC Press. pp. 115-154. <https://doi.org/10.1201/9780138747268>

Okazaki, Naoto, Sugama, S., & Tanaka, T. 1980. Mathematical model for surface culture of koji mold: Growth of koji mold on the surface of steamed rice grains (IX). *Journal of fermentation technology*, 58(5), 471-476. <http://dl.ndl.go.jp/info:ndljp/pid/11076987>

Petiot, C., & De Guardia, A. 2004. Composting in a laboratory reactor: a review. *Compost Science & Utilization*, 12(1), 69-79. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2004.10702160>

Ramamoorthy, N. K., Sambavi, T. R., & Renganathan, S. 2019. A study on cellulase production from a mixture of lignocellulosic wastes. *Process Biochemistry*, 83, 148-158. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.006>

Raut, M. P., William, S. P., Bhattacharyya, J. K., Chakrabarti, T., & Devotta, S. 2008. Microbial dynamics and enzyme activities during rapid composting of municipal solid waste—a compost maturity analysis perspective. *Bioresource Technology*, 99(14), 6512-6519. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.030>

Sakanari J. A. & MacKerrow J. H. 2010. *Parasitología médica En: Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica. 25ª. Edición. McGraw-Hill. Argentina. pp. 665-701.*

Saludes, R. B., Iwabuchi, K., Kayanuma, A., & Shiga, T. 2007. Composting of dairy cattle manure using a thermophilic–mesophilic sequence. *Biosystems engineering*, 98(2), 198-205. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2007.07.003>

Saucedo-Castañeda, G., Favela-Torres, E., Viniegra González, G., Torres Mancera, M. T., Figueroa-Montero, A., & Rosales Zamora, G. 2013. Respiriometry system with remote management for the inline monitoring of the concentration of CO₂ and O₂ and flow of the exhausting gases in biological processes. *MX Patent 336733.*

SEMARNAT. 2003. NOM 004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles para su aprovechamiento y disposición final. México. 1-44. <http://www.cespm.gob.mx/pdf/NOM-004-SEMARNAT-2002.pdf>, (consultado enero 03, 2023)

SEMARNAT. 2022. Programa Nacional para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos 2022-2024. En: *Diario Oficial de la Federación 2022.* https://dsiappsdev.semarnat.gob.mx/datos/portal/publicaciones/2022/PNPGIR_2022.pdf

Solís-Oba, A., Hernández-Rivadeneira, J. I., Castro-Rivera, R., Manjarrez, N., & Solís-Oba, M. 2020. Efecto de compostas elaboradas con residuos vegetales y/o estiércol en el cultivo de lechuga y su contenido de antioxidantes. *Mexican Journal of Biotechnology*, 5(2), 86-105. <https://doi.org/10.29267/MXJB.2020.5.2.86>

Souza, P. M., Aliakbarian, B., Ferreira Filho, E. X., Magalhães, P. O., Junior, A. P., Converti, A., & Perego, P. 2015. Kinetic and thermodynamic studies of a novel acid protease from *Aspergillus foetidus*. *International journal of biological macromolecules*, 81, 17-21. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.07.043>

Sundberg, C., Smårs, S., & Jönsson, H. 2004. Low pH as an inhibiting factor in the transition from mesophilic to thermophilic phase in composting. *Bioresource technology*, 95(2), 145-150. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.01.016>

Tremier, A., De Guardia, A., Massiani, C., Paul, E., & Martel, J. L. 2005. A respirometric method for characterising the organic composition and biodegradation kinetics and the temperature influence on the biodegradation kinetics, for a mixture of sludge and bulking agent to be co-composted. *Bioresource technology*, 96(2), 169-180. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.05.005>

Verhe, R., Varghese, S., Thevelein, J. M., Nikroo, J. H., Lambrecht, M., Redant, E., & De Clercq, G. 2022. Production of Bio-Ethanol from the Organic Fraction of Municipal Solid Waste and Refuse-Derived Fuel. *Biomass*, 2(4), 224-236. <https://doi.org/10.3390/biomass2040015>

Wu, J., Zhao, Y., Qi, H., Zhao, X., Yang, T., Du, Y., ... & Wei, Z. 2017. Identifying the key factors that affect the formation of humic substance during different materials composting. *Bioresource technology*, 244, 1193-1196. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.100>

Wei, Y., Wu, D., Wei, D., Zhao, Y., Wu, J., Xie, X., ... & Wei, Z. 2019. Improved lignocellulose-degrading performance during straw composting from diverse sources with actinomycetes inoculation by regulating the key enzyme activities. *Bioresource technology*, 271, 66-74. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.081>

Xiong, H., Nyyssölä, A., Jänis, J., Pastinen, O., von Weymarn, N., Leisola, M., & Turunen, O. 2004. Characterization of the xylanase produced by submerged cultivation of *Thermomyces lanuginosus* DSM 10635. *Enzyme and Microbial Technology*, 35(1), 93-99. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.04.003>

Zamri, M. F. M. A., Hasmady, S., Akhlar, A., Ideris, F., Shamsuddin, A. H., Mofijur, M., ... & Mahlia, T. M. I. 2021. A comprehensive review on anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 137, 110637. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110637>

Zhang, J., Henriksson, G., & Johansson, G. 2000. Polygalacturonase is the key component in enzymatic retting of flax. *Journal of Biotechnology*, 81(1), 85-89. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00286-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00286-8).

Zhou, H., Zhao, Q., Jiang, J., Wang, Z., Li, L., Gao, Q., & Wang, K. 2023. Enhancing of pretreatment on high solids enzymatic hydrolysis of food waste: Sugar yield, trimming of substrate structure. *Bioresource Technology*, 379, 128989. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128989>