



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

Investigación de Microorganismos del Ciclo del Nitrógeno en el Proceso de la Degradación de los Desechos Sólidos, en la Planta de Tratamiento de la Ciudad de México.

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a n

ANTONIO ROLDAN MENDOZA

BEATRIZ EUGENIA SAUCEDO CHAVEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

LIBRO TESIS 1979
ABO MT
FECHA 306
PROC _____



Jurado asignado originalmente
según el tema.

PRESIDENTE: PROF: CARLOS DEL RIO ESTRADA.

VOCAL: PROF: LILIA VIERNA DE GARCIA.

SECRETARIO: PROF: JORGE SOTO SORIA.

1er. SUPLENTE: PROF. ALFEDRO ECHEGARAY ALEMAN.

2o. SUPLENTE: PROF: BEATRIZ LUNA MILLAN.

Sitio donde se desarrolló el tema:

PLANTA INDUSTRIALIZADORA DE DESECHOS SOLIDOS (Av. 412 ORIENTE, BOSQUE --
SAN JUAN DE ARAGON, MEXICO 14, D.F.).

Sustentantes:

Antonio Roldán M.
ANTONIO ROLDAN MENDOZA.

Beatriz Eugenia Saucedo Chavez
BEATRIZ EUGENIA SAUCEDO CHAVEZ.

Asesor del tema:

Jorge Soto Soria
PROF: JORGE SOTO SORIA.

A MI MADRE

que no encuentro recompensa
ajustada a su valor:

A MI PADRE

como un testimonio cumplido
de gratitud.

A MI ABUELA

en recuerdo de gratitud
y afecto.

A MIS TIAS

por sus bondades.

A MIS AMIGOS

cuyas acciones llenan
de dicha mi vida.

ANTONIO.

Con gratitud y devoción
A MIS PADRES

Con amor y admiración A GABRIEL
por su entrega y nobleza

Con ternura A MI HIJA
por lo que es y repres
enta en mi hogar.

A MIS HERMANOS Y HERMANAS
con cariño.

A MIS AMIGOS de la "raza"
por su amistad y compañía.

A ANTONIO
por su lealtad y compañerismo.

BEATRIZ.

Nuestro agradecimiento a:

El Biólogo L. F. García Lezama
por su colaboración en la
realización de dicha tesis.

Al Prof. Jorge Soto Soria
por la dirección acertada
del presente trabajo.

Al Prof. Alfredo EcheGARAY Alemán
por su valiosa ayuda.

... polvo eres y al polvo volverás".

Génesis, 3:19

La influencia del hombre sobre el equilibrio ecológico data de su aparición sobre la tierra. Al igual que los demás seres vivientes, el hombre ha ejercido siempre su inlujo sobre el medio ambiente. Pero así como éstos sólo pueden utilizar la naturaleza y modificarla por el simple hecho de su presencia en ella, el hombre en cambio, la modifica y la obliga a servirle, la domina.

Sin embargo, ese dominio no es de alguien situado fuera de la naturaleza, sino que, por el contrario, forma parte de ella, conoce parte de sus leyes y está sometido a un equilibrio ecológico. El hombre domina la naturaleza, pero depende de ella y debe alcanzar la unidad con la misma. En ello va su propia supervivencia.

Durante miles de años el hombre sólo ejerció una reducida influencia sobre el medio ambiente. Pero el paso de la comunidad primitiva a los primeros pueblos agricultores y pastores, como consecuencia del surgimiento de la división social del trabajo, trajo consigo una alteración importante del medio natural.

Pero es con la Revolución Industrial cuando se empieza a plantear el llamado problema de la contaminación de la atmósfera, aguas y en general de la destrucción del medio ambiente.

Sin embargo, pocas soluciones concretas y eficaces se han adoptado hasta el presente. Existen hoy día medios técnicos suficientes que permitirían evitar, en gran medida, la contaminación. Un ejemplo lo serían las plantas y equipos depuradores de residuos industriales y las de transformación de basuras, ya que éstas aumentan de volumen en proporción directa al incremento demográfico, favoreciendo la propagación de insectos, roedores y la propagación de enfermedades.

INDICE DEL CONTENIDO

	Págs.
CAPITULO 1	
INTRODUCCION	
1.1. Propósito de este trabajo	1
1.2. Importancia	1
 CAPITULO 2	
GENERALIDADES	
2.1. Definiciones	2
2.2. Cantidad y características de la basura	3
2.3. Almacenamiento de las basuras	3
2.4. Recolección de basuras	4
2.5. Eliminación de basuras	4
 CAPITULO 3	
PRODUCCION DE COMPOSTA EN LA PLANTA INDUSTRIALIZADORA DE LA CIUDAD DE MEXICO	
3.1. Fundamento	6
3.2. Factores importantes del proceso	6
3.3. Definición del término composta	6
3.4. Descripción del proceso	7
3.5. Principios de la producción de compostas	11
3.5.1. Aspectos técnicos	11
3.5.2. Microorganismos	14
 CAPITULO 4	
ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE LA DEGRADACION DE LOS RESIDUOS ORGANICOS	
4.1. Descomposición de la materia orgánica	18
4.2. Ciclo del nitrógeno	20
4.2.1. Amonificación	20
4.2.2. Nitrificación	23
4.2.3. Desnitrificación	24
4.2.4. Fijación del nitrógeno atmosférico	25
4.3. Principales características del género <i>Azotobacter</i>	26
4.4. Mecanismo de la fijación del nitrógeno	27
4.5. Humus	
4.5.1. Definición	27
4.5.2. Formación	27
4.5.3. Características	29
4.5.4. Propiedades	29

CAPITULO 5

Págs.

MATERIALES Y METODOS

5.1. Descripción del bancal	31
5.2. Forma de muestreo	31
5.3. Metodología del análisis microbiológico	
5.3.1. Diluciones	32
5.3.2. Inoculación	32
5.3.3. Incubación	32
5.3.4. Lecturas	32
5.4. Manera en que se hicieron los análisis	
5.4.1. Bacterias amonificantes	33
5.4.2. Bacterias nitrificantes	34
5.4.3. Microorganismos desnitrificantes	36
5.4.4. Bacterias fijadores libres de nitrógeno atmosférico	37
✓ 5.5. Estudio de <u>Azotobacter</u> sp.	38
5.5.1. Aislamiento y cultivo de <u>Azotobacter</u> sp. en medio Lipman	38
5.5.2. Identificación de la especie de <u>Azotobacter</u>	39
5.6. Descripción breve de los análisis físicos y químicos	41

CAPITULO 6

RESULTADOS EXPERIMENTALES	44
6.1. Tablas	44
6.2. Figuras	45

CAPITULO 7

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

7.1. Bacterias amonificantes	56
7.2. Bacterias nitrificantes	57
7.3. Microorganismos desnitrificantes	59
7.4. Bacterias fijadoras libres de nitrógeno atmosférico	59
7.5. pH	61
7.6. Humedad	61
7.7. Temperatura	61
7.8. Nitrógeno total	62
7.9. Capacidad de intercambio catiónico total	62
7.10. Cenizas	62
7.11. Poder calorífico total	63
✓ 7.12. Discusión de los resultados del estudio de <u>Azotobacter</u> sp.	64
7.12.1. Catalasa	64
7.12.2. Crecimiento	64
7.12.3. Movilidad	65
7.12.4. Pigmento	65
7.12.5. Utilización de las fuentes de carbono	65
7.12.6. Morfología	67

7.12.7 Discusión de la cepa "C"	67
CAPITULO 8	
CONCLUSIONES	69
CAPITULO 9	
BIBLIOGRAFIA	71

INTRODUCCION

1.1. PROPOSITO DE ESTE TRABAJO

Obtener un estudio comparativo de las condiciones físicas y químicas de una composta fabricada en la Planta de San Juan de Aragón de la ciudad de México, con la microflora del ciclo del nitrógeno existente en el proceso industrial degradativo, a que se hallan sujetas las diversas sustancias orgánicas que se encuentran presentes en los desechos sólidos (basuras) y ayudar a obtener un mejor conocimiento del papel desempeñado por ese grupo de microorganismos, durante la transformación de esas sustancias a abonos orgánicos o compostas.

1.2. IMPORTANCIA

Contribuir al conocimiento general de estos procesos, para ayudar a tener una mejor idea del valor e importancia agrícola de estos materiales, así como el poder hacer un mejor manejo práctico de dichos materiales.

GENERALIDADES

2.1. DEFINICIONES

El saneamiento en relación a los desperdicios, es el principio más importante en el control de moscas, roedores y microorganismos patógenos. Este concepto tiene importancia, especialmente en las zonas urbanas y se define como "una modificación del medio ambiente, en tal forma, que proporcione al hombre el máximo de salud, comodidad, seguridad y bienestar". Es esencialmente, la tecnología aplicada la que modifica el medio ambiente, y se traduce en condiciones adversas para la continuada existencia de ciertos factores; como plagas y enfermedades.

En el control de insectos y roedores, el saneamiento incluye 3 fases de manipulación de basuras: almacenamiento, recolección y eliminación.

Debido a las diversas definiciones que se dan a las basuras, y a sus componentes, es conveniente definir algunos términos a fin de evitar malas interpretaciones. (17)(26).

BASURA: Todo residuo sólido putrescible y no putrescible (excepto excretas humanas). La basura incluye: desperdicios, desechos, cenizas, productos del barrido de calles, animales muertos, automóviles abandonados y restos sólidos presentes de los mercados e industrias.

DESPERDICIOS: Residuos putrescibles, animales y vegetales, procedentes del manejo, preparación y consumo de alimentos.

DESECHOS: Residuos sólidos no putrescibles (excepto ceniza). Los desechos consisten en materiales como papel, cartón, latas, maderas, ---

broza de patios, vidrios, colchones, loza, metales y objetos similares.

CENIZAS: Residuos de la combustión de madera, carbón u otros materiales sólidos combustibles.

2.2. CANTIDAD Y CARACTERISTICAS DE LA BASURA

En un estudio realizado en 1978, sobre la cantidad de basura recogida, principalmente en el Distrito Federal, se encontró que cada persona produce un promedio diario de 0.47 kg de basura. (9).

En volumen ésto equivale aproximadamente a $1.5 \text{ dm}^3/\text{persona}/\text{día}$; pero numerosos factores, tales como la situación geográfica, la estación del año, el carácter social y económico de la colectividad, las clases de negocio e industrias, el tipo y la frecuencia de la recolección, influyen en la cantidad de basura que se recoge en una colectividad.

De manera casi general se puede decir que en los países de América Central y del Sur los desechos y los desperdicios se combinan y se recojen juntos. En este caso, el promedio anual es de 275 kg por persona. -- (26).

2.3. ALMACENAMIENTO DE BASURAS

En toda colectividad el almacenamiento antihigiénico de los desperdicios constituyen una fuente abundante de alimentos y condiciones óptimas para la reproducción de moscas y roedores (siendo el más abundante de éstos últimos; la rata).

El buen almacenaje y/o procesamiento de la basura, beneficia a la colectividad urbana, al reducirse la población de vectores y plagas, mediante la eliminación de zonas de almacenamiento antihigiénico, obteniéndose condiciones sanitarias adecuadas, lo que ayuda a mejorar la salud de las personas y tener una vida más activa y de mayor provecho para

la colectividad.

2.4. RECOLECCION DE BASURAS

La recolección de basuras es parte esencial de un sistema bien organizado de saneamiento e influye de manera considerable en la producción local de vectores. Si una colectividad no cuenta con un adecuado servicio de recolección se crea un ambiente favorable a la existencia de una alta población de moscas y roedores; ya que los vertederos que se localizan en los suburbios y zonas rurales adyacentes, constituyen un problema de especial importancia en la vecindad de las colectividades que carecen de dicho servicio. (17).

2.5. ELIMINACION DE BASURAS

Existen muchas poblaciones donde el almacenamiento y recolección son bastantes buenos, pero donde la eliminación dista de ser sanitaria.

En los Estados Unidos de América, de las 1 149 colectividades a que se refiere una encuesta del Servicio de Salud Pública, el 69% usaba vertederos abiertos para eliminar la basura. La mayoría de esos vertederos en las afueras de las ciudades presentaban el inconveniente del humo, malos olores, infestación de roedores, criaderos de moscas, y desde esos lugares la emigración de ratas y moscas a la ciudad.

Los métodos que existen para eliminar basuras son revisados en la tabla 2.1. (6)(17)(23).

TABLA 2.1. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS PRINCIPALES METODOS QUE EXISTEN PARA ELIMINAR BASURAS.

METODO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
REDUCCION DE DESPERDICIOS	Recuperación de grasas y residuos animales.	Alto costo inicial y de mantenimiento. Olores desagradables. Falta de mercado fijo para grasas y -- residuos animales.
VACIADO EN: RIOS, LAGOS O MAR	Rápida eliminación, con poco o ningún planeamiento en ciudades costeras.	Amontonamiento de desperdicios y desechos en las costas. Contaminación de las corrientes con -- líquidos filtrados desde el vertedero.
VERTEDERO ABIERTO	Muy barato. Poco o ningún planeamiento.	Humos y olores indeseables. Es lugar de propagación para ratas y -- moscas.
QUEMA EN EL MISMO LUGAR	Aplicable en zonas rurales.	Humos y olores que contribuyen a -- contaminar el aire.
ALIMENTACION DE CERDOS	Alimento económico para la industria porcina.	Transmisión de triquinosis. Brotes de exantema vesicular en cerdos. Malos olores emanados de las fincas de cría.
RELLENO SANITARIO	Eliminación permanente de toda clase de basuras. Se elimina el mal aspecto, los peligros a la salud y las molestias de los vertederos abiertos. Las tierras submarginadas pueden ser recuperadas para uso -- futuro.	Contaminación por filtración de líquidos de los rellenos a las corrientes -- subterráneas de agua, debido a la mala situación del relleno. Generación de gas metano.
INCINERACION	El humo y olores se aminoran. No dá lugar a propagación de -- insectos y roedores. Reduce considerablemente el volumen del material. El calor residual se utiliza -- para producir vapor, electricidad o calefacción.	Alto costo inicial.
COMPOSTEO	Obtención de abono orgánico. Recuperación de subproductos reciclables en la industria.	Producto poco conocido en el mercado.

PRODUCCION DE COMPOSTA EN LA PLANTA INDUSTRIALIZADORA DE LA CIUDAD DE
MEXICO

3.1. FUNDAMENTO

La conversión de desperdicios en abono orgánico es un proceso biológico, en el cual se desmenuza o tritura el material y se trata bajo condiciones anaeróbicas o aeróbicas o ambas. En los métodos del viejo mundo, se hace uso, en su etapa inicial, de los procedimientos anaeróbicos, seguido de períodos aeróbicos. El proceso generalmente reconocido como superior, es aeróbico en su totalidad y genera temperaturas de aproximadamente 71 °C. Este calor acelera la fermentación, reduce el peligro de microorganismos patógenos y hace a la masa, poco atrayente a los roedores e insectos. (11)(13).

3.2. FACTORES IMPORTANTES DEL PROCESO

La velocidad de descomposición de los componentes de la composta depende de la naturaleza química de los residuos, la cantidad de nutrientes inorgánicos especialmente los nitrogenados, la humedad, cantidad de oxígeno, pH y temperatura. Estos factores son importantes para la eficiencia del procedimiento y se relacionan con la naturaleza química del humus producido en la composta. (29)(36).

3.3. DEFINICION DEL TERMINO COMPOSTA

La palabra composta viene del vocablo latino "compositum, componere" el cual da lugar al verbo componer-poner juntos. Por consiguiente composta se relaciona a la palabra composición y significa simplemente -

una mezcla de cosas. El término composta se aplica al producto final --- listo para usarse después de haber sufrido descomposición.

En el sentido moderno se puede definir este método como un procedimiento en el cual, bajo condiciones favorables del medio, los microorganismos aeróbicos facultativos, principalmente termofílicos, descomponen la materia orgánica a un material (humus) bastante estable. (13)(29).

3.4. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO (Ver Fig. 3.1.)

I. AREA DE ACCESO

1. Entrada

El proceso de industrialización de los desechos sólidos, se inicia con la entrada de los camiones recolectores a las instalaciones de la planta.

2. Pesaje

Se utilizan 2 básculas, de 30 y 50 toneladas, situadas a ambos lados de una caseta de pesaje, para llevar un control del tonelaje de -- desechos que llegan a la planta.

II. AREA DE PRODUCCION

1. Fosas de recepción

Una vez pesados los camiones, suben a través de una rampa y -- descargan en 2 fosas de recepción, con capacidad de 250 toneladas cada -- una. Sobre las fosas, se desplaza longitudinalmente sobre rieles metálicos un carro puente, formado por otro, de carga, con movimiento lateral y una grúa de almeja con movimiento vertical, operado a control remoto.

2. Tolvas de alimentación

Constan de un fondo metálico móvil, denominado transportador -- de tablillas, en el cual se depositan, con la grúa de almeja, los dese--

chos sólidos para ser conducidos a las bandas de clasificación.

3. Bandas de clasificación

En ambos lados de las bandas ahuladas de clasificación, se encuentra situado el personal que recupera y separa los subproductos (papel, trapo, vidrio, hueso, plástico, chatarra, etc.) los cuales son depositados en tolvas para ser transportados por medio de bandas, a recipientes apropiados para su concentración, empaque y venta.

4. Molinos

Al final de las bandas de clasificación los desechos que no fueron retirados y que, se constituyen en su mayor parte de materia orgánica, serán descargados por medio de tolvas a 2 molinos de martillos con el objeto de homogenizar su tamaño.

5. Transportador de cadena

Una vez triturados los desechos, 2 transportadores de cadena los llevan al edificio de cribado grueso.

III. EDIFICIO DE CRIBADO GRUESO

1. Vibrador

La materia en el transportador de cadena es llevada al vibrador, cuya función principal es desmenuzarla y extenderla.

2. Electroimán

La materia desmenuzada pasa por un tambor magnético, para separar el material ferroso pequeño.

3. Criba vibradora

La materia orgánica que pasó por el tambor magnético cae a una criba vibratoria con mallas de 100 mm en donde es separado el material considerado como rechazo.

4. Banda de material orgánico

El material que pasó a través de la malla, cae sobre una banda que desemboca en una tolva, que conduce el material por medio de un ---- transportador de cadena, hasta una banda aérea en cuyo extremo se sitúan un puente móvil, que lo distribuye formando pilas o bancales, en el campo de pre-fermentación.

IV. CAMPO DE PRE-FERMENTACION

En este campo se inicia el proceso de fermentación, generándose en las pilas de materia orgánica, temperaturas hasta de 65 °C. Se --- controlan los parámetros de humedad, oxígeno, pH y la relación carbono/-nitrógeno para el resultado óptimo del proceso. El tiempo promedio de -- permanencia en este campo es de 6 días.

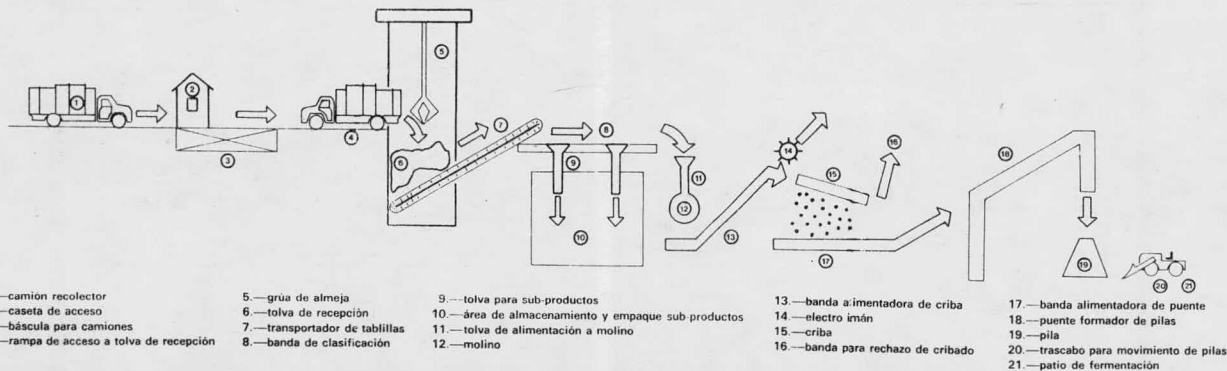
V. CAMPO DE FERMENTACION

Por medio de trascabos, la materia orgánica se traslada del -- campo de pre-fermentación al de fermentación con objeto de oxigenarla, - por medio de volteos. En esta etapa, es de suma importancia el control - de la humedad, temperatura y los volteos periódicos programados. La du-- ración del bancal en este campo es de 20 a 30 días.

VI. CAMPO DE MADURACION

Después de fermentada, la basura se traslada por medio de un - trascabo a los campos de maduración, en donde después de 2 meses, com--- pleta su ciclo de degradación total. Durante este lapso, a cada pila se le practica regularmente el análisis físico, químico y microbiológico, - en los laboratorios de química y microbiología instalados en la planta, para garantizar la calidad del producto final llamado composta.

FIG. 3.1. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO PRINCIPAL, DE LA PLANTA INDUSTRIALIZADORA DE DESECHOS SOLIDOS.



3.5. PRINCIPIOS DE LA PRODUCCION DE COMPOSTAS

Los principios fundamentales comprendidos en la reducción de compuestos orgánicos altamente complejos a otros más asimilables (parcialmente inorgánicos) y que pueden ser inmediatamente disponibles para las plantas en crecimiento o llegarlo a ser cuando entran en contacto con el suelo; se involucran en el proceso biológico debido a la microflora y microfauna implicadas en el composteo.

El proceso de degradación de la materia orgánica; la cual se está produciendo en la naturaleza mediante la fotosíntesis por los vegetales, es eventualmente degradada por acción microbiana y almacenada en el suelo como humus.

Este proceso se efectúa en el suelo en forma lenta, a temperatura ambiente y principalmente en condiciones aeróbicas. Este proceso natural se puede acelerar mediante la recolección del material y agruparlo en pilas o bancales para así promover el composteo el cual se conoce como la descomposición de la materia orgánica heterogénea por una población microbiana mixta en condiciones de humedad y aereación. (11)(13)(14).

3.5.1. ASPECTOS TECNICOS

En el proceso de composteo, el material que se va a utilizar como sustrato para la fermentación, se encuentra en estado sólido, por lo tanto, los fenómenos de transferencia de masa y la cinética de crecimiento tendrán que diferir de aquellas fermentaciones en donde el medio de cultivo se encuentra soluble y en estado líquido. (14)(15).

Desde el punto de vista teórico se puede formular un modelo de lo que sucede a nivel molecular entre el microorganismo y el sustrato para

poder explicar lo que sucede en la práctica. Los pasos lógicos que pueden existir son:

1. Difusión del microorganismo o sus enzimas a la superficie sólida.
2. Adsorción a la superficie sólida.
3. La reacción entre el microorganismo o la enzima con el sustrato.
4. Elución de la superficie sólida de los productos.
5. Los productos se difunden al medio.

El material orgánico heterogéneo contiene normalmente una población mixta de microorganismos que proviene tanto de la atmósfera como el agua y del suelo. Una vez que el contenido de humedad del material se lleva a un nivel adecuado (50-60%) y que la pila se aerea, el metabolismo microbiano se acelera.

Los microorganismos para su reproducción y crecimiento necesitan aparte del oxígeno y humedad, una fuente de carbono (desperdicio orgánico), macronutrientes como el nitrógeno, fósforo, potasio y cierta cantidad de micronutrientes. (14)(15).

La energía se obtiene de la oxidación biológica de una parte del carbono del desperdicio. Parte de esa energía se utiliza en el metabolismo microbiano y la sobrante se libera en forma de calor.

En los desperdicios ya sean de origen agrícola, industrial o municipal, la materia orgánica es muy variable y comprende por lo general azúcares, proteínas, grasas, hemicelulosa, celulosa y lignina en un amplio rango de concentraciones.

Por ejemplo la composición del estiércol depende del tipo de animal, de su alimentación y de su edad. En los vegetales su composición depende del tipo de vegetal, su medio ambiente y su edad. El material fresco ---

verde como el pasto, contiene gran cantidad de sustancias solubles en agua, minerales y proteínas las cuales contienen la mayor parte de nitrógeno y azufre de la planta. Cuando la planta envejece, los minerales tienden a regresar al suelo y los compuestos de bajo peso molecular son convertidos a polímeros como: la hemicelulosa, celulosa y lignina.

Los residuos de origen animal o vegetal se descomponen en el suelo por microorganismos mesofílicos que utilizan las proteínas y carbohidratos más fácilmente degradables. Cuando el material orgánico se amontona en bancales, el efecto aislante del material, propicia una conservación del calor y por lo tanto, un aumento de la temperatura que depende de los factores del proceso como la composición del material orgánico, la disponibilidad de los nutrientes, el contenido de humedad, el tamaño de las partículas y del bancal, el grado de aireación y en ocasiones de la agitación. (11)(14)(15).

La experiencia indica que en el principio del proceso la pila se encuentra a temperatura ambiente y su pH es ligeramente ácido. Cuando los microorganismos nativos se multiplican, la temperatura se eleva rápidamente. Los productos de esta fase inicial son ácidos orgánicos simples, que originan una disminución del pH. (14)(15).

Cuando la temperatura se eleva a más de 40 °C, la actividad de los microorganismos mesofílicos desciende y la degradación la continúan los termofílicos; el pH se torna un poco alcalino y el amoníaco es liberado si existe un exceso de nitrógeno disponible. A 60 °C los hongos termofílicos y las bacterias patógenas se mueren y la degradación la mantienen bacterias esporuladas y actinomicetos. (14)(15)(37).

Una vez que la materia orgánica fácilmente degradable se agota, la velocidad de reacción disminuye y una vez que la temperatura baja de los 60 °C los hongos termofílicos y bacterias del suelo provenientes de las partes frías externas de la pila o del medio ambiente, pueden reinvadir el centro de la pila y comenzar su mayor ataque a la celulosa.

La hidrólisis y subsecuente asimilación del material polimérico es un proceso relativamente lento, aquí la velocidad de generación de calor disminuye aún más y la temperatura tiende a igualarse a la ambiental. Al llegar a los 40 °C los microorganismos mesofílicos recomienzan su actividad ya sea por esporas termorresistentes o por microorganismos del exterior. El pH disminuye ligeramente, pero en general permanece cerca de la neutralidad o ligeramente alcalino.

3.5.2. MICROORGANISMOS IMPLICADOS EN EL COMPOSTEO

El composteo por microorganismos termofílicos aerobios es un proceso dinámico, el cual se realiza por la actividad combinada de una sucesión rápida de poblaciones microbianas mixtas, cada una adecuada a un medio ambiente de duración relativamente limitada y cada una responsable en la descomposición de un tipo particular o grupo de materiales orgánicos. (15)(29)(34).

Aún cuando las bacterias están presentes en un número muy grande, éstas debido a su tamaño representan menos de la mitad de la masa microbiana. Los niveles de temperatura y nutrientes disponibles en cualquier momento parece ser que ejerce la mayor influencia para determinar las especies de organismos que comprenden la población en ese momento.

El tipo y número de microorganismos implicados en el proceso de composteo se dan en la tabla 3.2.

TABLA 3.2. ORGANISMOS IMPLICADOS EN EL COMPOSTEO (14).

		NUMEROS POR GRAMO DE COMPOSTA
MICROFLORA	BACTERIAS	$10^8 - 10^9$
	ACTINOMICETOS	$10^5 - 10^8$
	HONGOS	$10^4 - 10^6$
	ALGAS	$- 10^4$
	PROTOZOARIOS	$10^4 - 10^5$
MACROFLORA	HONGOS, E. G. COPRINUS spp.	
MACROFAUNA	NEMATODOS	
	HORMIGAS	
	MILIPEDOS	
	GUSANOS	

El tamaño del material a compostear es de gran importancia, debido a que su reducción, suministra mayor superficie de contacto para el ataque microbiano, aumenta la transferencia de oxígeno y ayuda a la homogenización de la masa heterogénea inicial.

El proceso se divide generalmente en 4 fases: mesofílica, termofílica, enfriamiento y maduración. Las 3 primeras fases se efectúan relativamente en forma rápida, siendo terminadas en cuestión de semanas; esto se realiza a temperatura ambiente con microorganismos mesofílicos --- predominantemente y apareciendo una macrofauna. Durante la última fase, reacciones secundarias complejas de condensación y polimerización se --- llevan a cabo lo cual dá lugar al producto final: humus, especialmente a los estables y complejos ácidos húmicos. (14)(15)(18).

La composición química de la composta varía ampliamente, dependiendo de los desperdicios tratados, y en grado menor de los métodos de tratamiento.

La tabla 3.3. dá una idea de las concentraciones de los principales constituyentes de la composta municipal, de la de granja y de la que se produce en la ciudad de México.

TABLA 3.3. RANGOS DE COMPOSICION QUIMICA DE COMPOSTA MADURA (15).

SUBSTANCIA			
% PESO EN BASE SECA			
	Municipal	De granja	De la ciudad de México
Materia orgánica	25.0	50.0	26.0
Carbón	8.0	50.0	17.0
Nitrógeno (como N)	0.4	3.5	1.3
Fósforo (como P_2O_5)	0.3	3.5	0.3
Potasio (como K_2O)	0.5	1.8	0.7
Cenizas	65.0	20.0	64.0
Calcio (como CaO)	1.5	7.0	—

ASPECTOS MICROBIOLOGICOS DE LA DEGRADACION DE LOS RESIDUOS ORGANICOS

4.1. DESCOMPOSICION DE LA MATERIA ORGANICA (1)(10)(22)(29)(34).

Como lo indicó Pasteur, es difícil valorar la importancia de las actividades de los microorganismos saprófitos al realizar la descomposición de los tejidos muertos de los animales, plantas y material orgánico de toda clase, no vivo. El resultado final de la actividad de los microorganismos "corruptores" es la conversión del material orgánico complejo en sustancias inorgánicas simples.

Para realizar el estudio de microorganismos que pueden utilizar toda la materia orgánica presente en los desperdicios, conviene dividirlos en 2 categorías:

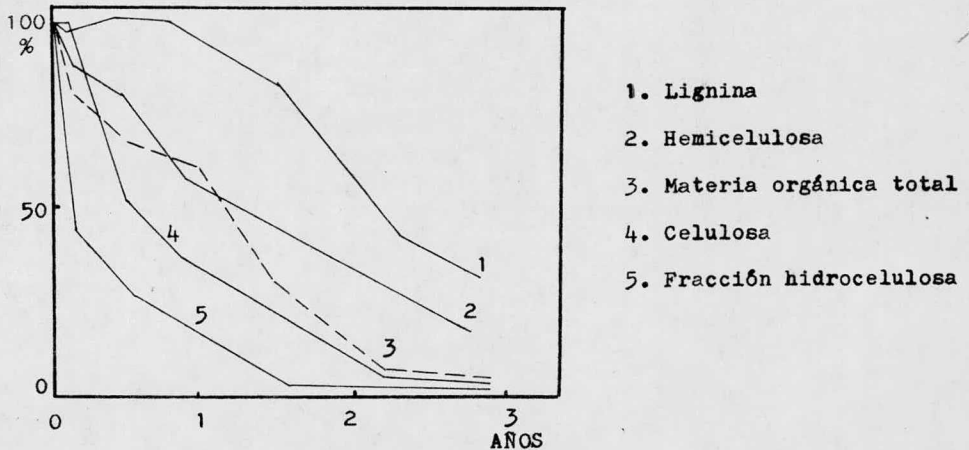
La microflora zimógena, que abarca a todos los microorganismos saprófitos y parásitos; cuyo número en calidad y cantidad de especies fluctúa enormemente cuando las condiciones del medio son favorables.

La microflora autóctona, que abarca a todos los microorganismos heterótrofos y autótrofos, cuyo papel es fundamental para que queden completados los 2 grandes ciclos biológicos del carbono y nitrógeno.

Estos microorganismos utilizan la materia orgánica presente de origen animal, vegetal o microbiológica como fuente de energía y la degradan a veces rápidamente, como ocurre con los carbohidratos o las proteínas, o bien ser degradadas lentamente como pasa con ligninas, fenoles, parafinas, etc. (Fig. 4.1.).

Las bacterias heterotróficas que utilizan el nitrógeno combinado se conocen imperfectamente; pueden sin embargo, dividirse en bacterias aerobias esporuladas o no esporuladas y en bacterias anaerobias.

FIG. 4.1. VELOCIDAD DE DESCOMPOSICION DE LA MATERIA ORGANICA (29),



Entre las aerobias esporuladas se citan Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus, B. mycoides, etc., y entre las no esporuladas: a Pseudomonas fluorescens, Proteus vulgaris, E. coli, Aerobacter aerogenes, ----- Gaffkya tetragena y especies de Sarcina, Mycobacterium y Diplococcus.

Entre las anaerobias están fundamentalmente algunas especies del género Clostridium como C. pasteurianum y C. butyricum.

Todos estos microorganismos, en conjunto realizan el ataque a las substancias orgánicas disponibles, hasta convertirlas en una masa pardusca o negruzca, suave, untosa y liviana que se llama humus.

En estas transformaciones no solamente toman parte las bacterias señaladas, sino también hongos, actinomicetos, protozoarios, levaduras, gusanos, larvas de insectos y otros organismos superiores.

4.2. CICLO DEL NITROGENO

La descomposición del material orgánico por acción microbiana, no sólo limpia la Tierra de desechos inútiles, sino que cumple con otra función aún más importante: a partir de la materia orgánica libera los materiales indispensables para el crecimiento de las plantas y devuelve al suelo estos elementos esenciales. (1)(5)(24).

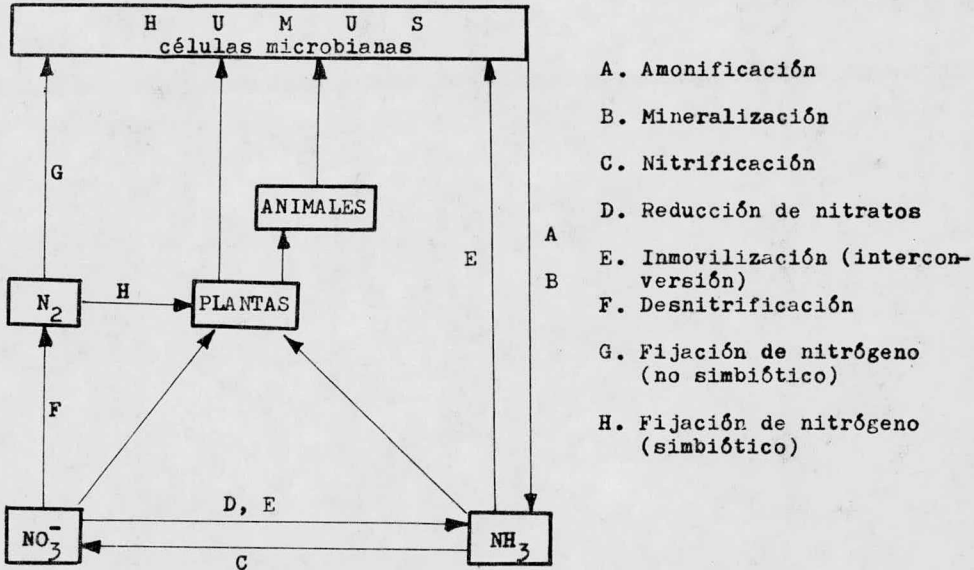
Así, el elemento más importante, el nitrógeno, encerrado en forma de compuestos orgánicos en las plantas, animales y productos de desecho, se liberan de sus complejas combinaciones por la acción de microorganismos de la descomposición, y pasa al suelo en forma de nitratos que las plantas y microflora utilizan como una fuente de nitrógeno en la síntesis de su material citoplásmico. Así el nitrógeno, que es uno de los elementos fundamentales de la sustancia viva, pasa a través de un ciclo perfecto del suelo a la planta en crecimiento, luego al cuerpo animal por medio de la alimentación de vegetales y de nuevo vuelve al suelo, a través de la actividad microbiana, cuando el animal o vegetal mueren. (Fig. 4.2.).

4.2.1. AMONIFICACION (29)(30)(31).

En la desintegración de los prótidos resultan sustancias menos complejas como las proteosas, peptonas, polipéptidos y aminoácidos. De esta manera los prótidos insolubles, se vuelven solubles y por ello directa y fácilmente asimilables por las plantas superiores, en particular cuando se hallan en la forma más sencilla de aminoácidos. Además la desintegración avanzada de las proteínas libera amoníaco que desempeña papel importante en la mineralización de las sustancias orgánicas.

El proceso de amonificación, o sea la transformación del nitrógeno protéico en amoníaco, acontece de manera constante:

FIG. 4.2. CICLO DEL NITROGENO (1).



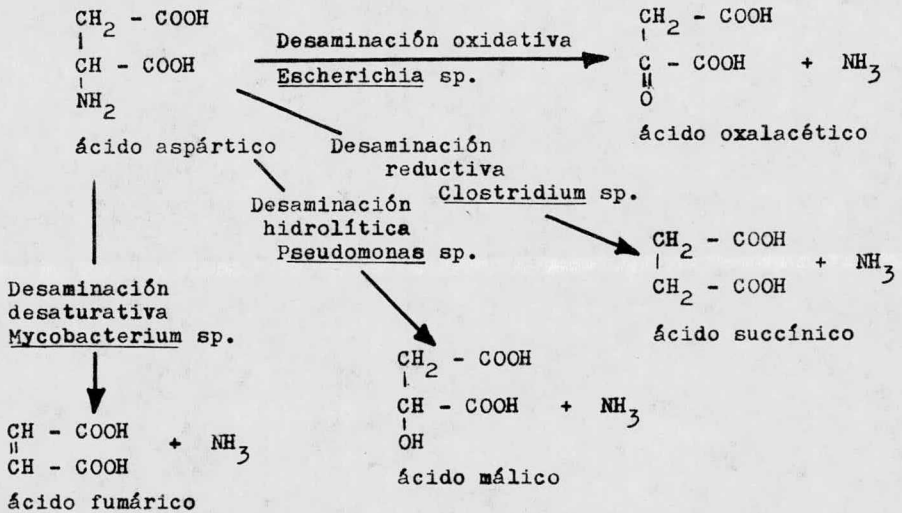
1. Por oxidación completa, realizada por bacterias aerobias proteolíticas y hongos, como *B. mycoides*, *B. subtilis*, *B. mesentericus*, *B. cereus*, *B. megatherium*, *Aspergillus niger*, *Mucor sp.* y *Penicillium spp.* que no producen olores desagradables; pero sí CO_2 , NH_3 y H_2O .

2. Por oxidación incompleta, realizada principalmente por bacterias aerobias facultativas proteolíticas, como *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens liquefaciens*, *Serratia marcescens*, el género *Escherichia* y hongos del género *Penicillium*. Se producen diversos aminoácidos, aminas y amoníaco.

La putrefacción típica es determinada fundamentalmente por microorganismos anaerobios, en tanto que la desintegración común es efectuada por los aerobios, tanto mesofílicos, como termofílicos. En la descompo-

sición pútrida, realizada principalmente por el género Clostridium, se producen compuestos mal olientes como H_2S , mercaptanos, indol y escatol; en condiciones de anaerobiosis. Además hay producción de ácido butírico, NH_3 , H_2 y CO_2 .

El primer paso de la degradación de las proteínas es su hidrólisis con la liberación de sus aminoácidos; algunos de estos aminoácidos como el ácido aspártico por ejemplo, están expuestos a seguir las siguientes vías enzimáticas:

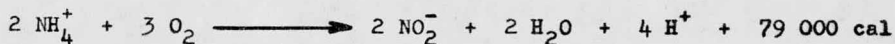


Además de las anteriores desaminaciones, Stickland encontró que --- ciertos microorganismos no pueden desaminar a ciertos aminoácidos; no -- desaminan a un aminoácido "a" (alanina), ni a un aminoácido "b" (glicina), pero si "a" y "b" están juntos, sí los desamina produciéndose NH_3 , CH_3COOH y CO_2 .

4.2.2. NITRIFICACION

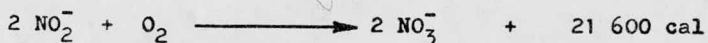
Es el proceso por el cual el amoníaco es oxidado a nitratos mediante dos fases sucesivas, por dos grupos bacterianos autotróficos llamados nitrificantes que utilizan como fuente de energía al nitrógeno. (34)(35).

Nitrosación, formación de nitritos:



Llevada a cabo por los géneros Nitrosomonas, Nitrospira, Nitrosococcus y Nitrosolobus.

Nitratación, formación de nitratos:



Realizada por los géneros: Nitrobacter, Nitrospina y Nitrococcus.

ASPECTOS IMPORTANTES DE LA NITRIFICACION (8)(24)(31).

Todas las bacterias que realizan este proceso son autotróficas, ya que las oxidaciones las llevan a cabo sobre materia orgánica muy sencilla y el carbono que necesitan, lo toman del CO_2 de la atmósfera del suelo.

En la nitrificación heterotrófica, a diferencia de la autotrófica, los microorganismos usan el nitrógeno inorgánico como fuente de energía pero también pueden usar nitrógeno orgánico de peptonas, oximas o aminoácidos. La fuente de carbono de estos microorganismos es a partir de azúcares, proteínas o grasas.

Los microorganismos que llevan a cabo este tipo de nitrificación son bacterias, hongos y actinomicetos.

En la autotrófica el pH límite para esta reacción es de 6, si se a-

cidifica, disminuye esta microflora nitrificante.

La nitrificación heterotrófica se lleva a cabo en suelos ácidos, de pH 4.5 a 5.0.

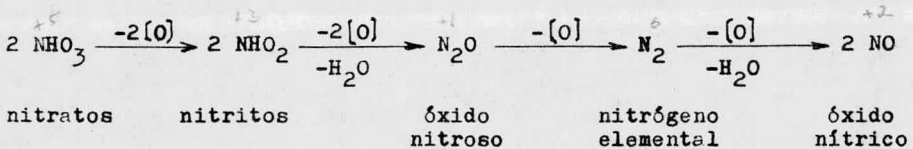
En la autotrófica la cantidad de nitratos formados es de 100 a 200 partes por millón diarios, si las condiciones de humedad, temperatura, - pH y aereación son adecuadas.

La heterotrófica forma de 2 a 16 ppm de nitratos.

4.2.3. DESNITRIFICACION (1)(31)(32).

Es la reducción microbiana de los nitratos, con formación de óxidos de nitrógeno o nitrógeno gaseoso, cuando hay ausencia de oxígeno libre.

Algunos microorganismos llevan a cabo la desnitrificación completa y otros como E. coli y B. subtilis reducen los nitratos a nitritos solamente.



Este proceso lo realizan: B. nitroxus, Ps. aeruginosa, B. stutzeri y Thiobacillus denitrificans.

La desaparición de nitratos como resultado de actividad microbiana puede deberse a 3 grupos de fenómenos:

1. La utilización directa de los nitratos por microorganismos como fuente de nitrógeno, en presencia de suficiente material energético.
2. Reducción de nitratos a nitritos y amonio en el proceso de asimilación de nitratos y
3. La utilización de nitratos como fuente de oxígeno (los nitratos

son aceptores de hidrógeno).

Pero en general, la liberación de nitrógeno atmosférico por reducción de nitratos depende de cambios en el potencial de óxido-reducción del medio, pH, presencia de nitritos y las fuentes de carbono naturales disponibles.

4.2.4. FIJACION DEL NITROGENO ATMOSFERICO (1)(2)(8)(30).

La mayor parte de nitrógeno elemental que se encuentra en el suelo y que es utilizado para síntesis en plantas y vida animal es proporcionado por su fijación, efectuada por ciertos grupos microbianos.

Este proceso lo realizan los grupos bacterianos designados como --- simbióticos y no simbióticos, hongos y algas azul-verde.

La capacidad de las bacterias no simbióticas para fijar nitrógeno y de la cantidad de nitrógeno fijado dependen de la naturaleza y concentración de energía disponibles.

Por otro lado, la fijación de nitrógeno a través de acción simbiótica de leguminosas y bacterias que crecen en las raíces de las plantas produciendo nódulos, es de gran importancia económica en agricultura, ya que enriquecen indirectamente el suelo por la fijación del nitrógeno atmosférico en las raíces de dichas plantas.

En 1891 Winogradsky encontró al primer microorganismo capaz de fijar nitrógeno atmosférico: Clostridium pasteurianum, seguidamente Beijerinck demostró en 1901 que la fijación de nitrógeno no simbiótica puede ser llevada a cabo por bacterias aerobias del género Azotobacter, y en base a eso, numerosas otras bacterias fueron encontradas después.

Esta propiedad la tienen los siguientes grupos microbianos:

1. Bacterias no simbióticas, anaerobias:

a) Bacterias no fermentadoras del almidón, tipo Clostridium: Clos---

tridium pasteurianum.

b) Bacterias sacarobutíricas, como Bacillus saccharobutyricus.

2. Bacterias no simbióticas, aerobias:

a) Bacterias de crecimiento rápido, catalasa positiva, que comprenden los géneros Azotobacter y Azomonas.

b) Bacterias de crecimiento lento, catalasa positiva o negativa, -- que comprenden los géneros Beijerinckia y Derxia.

3. Bacterias simbióticas aerobias:

a) Rhizobium sp.

b) Agrobacterium sp.

4.3. PRINCIPALES CARACTERISTICAS DEL GENERO AZOTOBACTER

De las bacterias aerobias no simbióticas, Azotobacter representa el género de mayor interés. Son células ovoides grandes, de $2\mu\text{m}$ o más en diámetro, variando su morfología hacia la forma cocoide. Se encuentran aisladas, en pares o masas irregulares y raramente en cadenas de cuatro. Tienen marcado pleomorfismo. No producen endosporas, pero forman gruesos quistes. Pueden producir grandes cantidades de mucosidades capsulares. - Móviles con flagelo peritrico o no móviles. Su reacción al Gram es negativa con variabilidad marcada.

Algunas especies elaboran un pigmento fluorescente soluble en agua, que aparece verde o blanco bajo luz ultravioleta.

Generalmente fijan un mínimo de 10 mg de nitrógeno atmosférico por 1 gramo de carbohidrato consumido. Crecen en medios que contienen carbohidratos como glucosa, manitol y sacarosa; alcoholes y ácidos orgánicos.

Requiere de molibdeno, pues actúa como catalizador específico de la fijación de nitrógeno y se puede reemplazar por vanadio. Pueden utilizar nitratos, amoníaco y aminoácidos como fuente de nitrógeno.

Son catalasa positiva, pueden crecer bajo tensión de oxígeno reducida. Su temperatura óptima de crecimiento es entre 20 y 30 °C. El rango de pH es de 5.5 a 8.5, siendo el óptimo de 7.0 a 7.5. Habitan en los suelos, agua y follaje. (3)(10)(20).

4.4. MECANISMO DE LA FIJACION DEL NITROGENO (2)(5)(31)(34)(38).

La fijación de nitrógeno por Azotobacter es llevada a cabo por un sistema de enzimas indicado como azotasa; nitrogenasa, uno de los componentes de este sistema, es capaz de combinarse directamente con el nitrógeno elemental para luego seguir una serie de reacciones según el punto de vista de diversos investigadores para explicar el mecanismo de fijación del nitrógeno atmosférico, como se representa en la fig. 4.3.

Las condiciones óptimas para una buena fijación son la humedad, con un 40% como mínimo; materia orgánica, ya que es fuente de energía; pH de 7 a 8 para la actividad de la nitrogenasa; temperatura de 30 a 35 °C y la existencia de fosfatos para el buen crecimiento celular.

4.5. HUMUS (1)(18)(22)(24)(34)(35).

4.5.1. DEFINICION

A la masa uniforme amorfa y oscura originada por la descomposición de residuos animales y vegetales por medio de microorganismos incluyendo bacterias, hongos, actinomicetos, protozoarios y además nemátodos y otros organismos, se conoce con el nombre de humus.

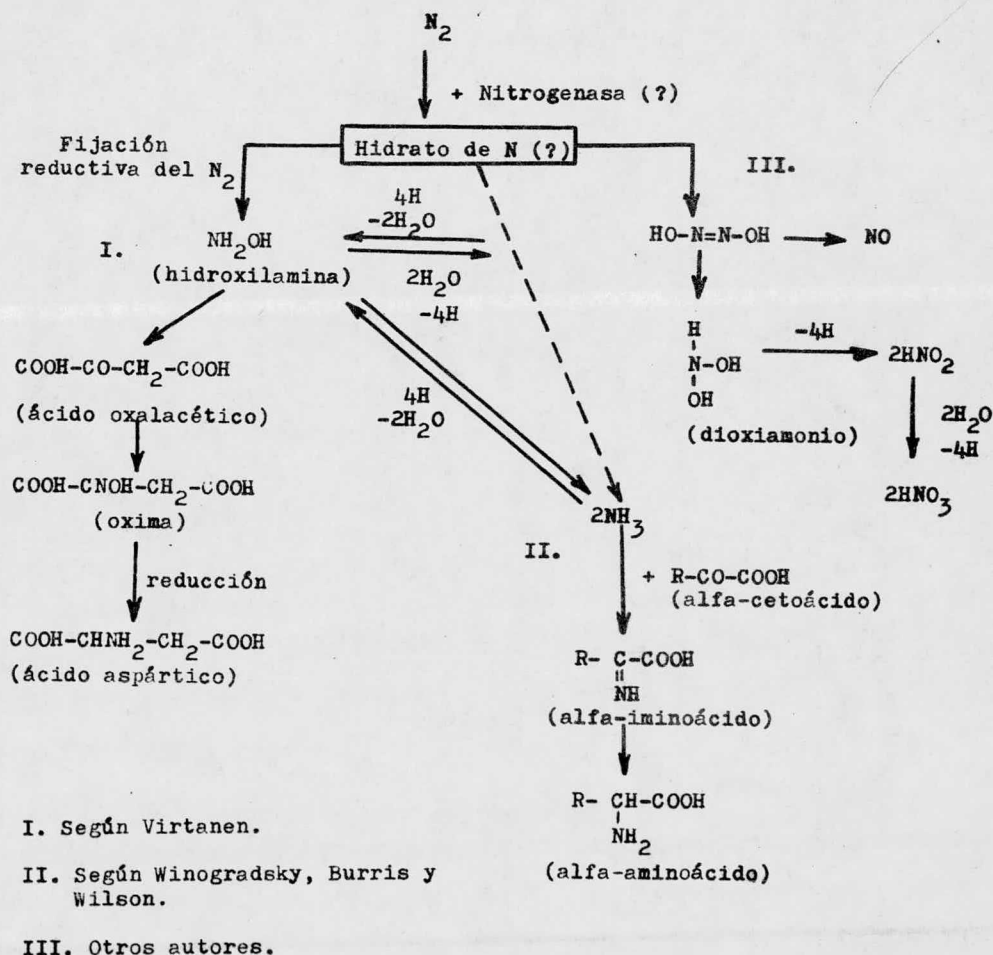
4.5.2. FORMACION

La velocidad de formación del humus y la cantidad producida dependen de la naturaleza física y química de los residuos orgánicos (como ya

se indicó antes), de la naturaleza de los microorganismos y de las condiciones en que se lleve a cabo la descomposición, siendo muy importantes la temperatura, humedad, cantidad de aire y pH.

Uno de los productos que contribuyen a su formación son las ligninas, ya que al ser descompuestas por acción microbiana se liberan com---

FIG. 4.3. MECANISMO DE LA FIJACION DEL NITROGENO ATMOSFERICO, SEGUN DIVERSOS AUTORES (30).



puestos del tipo polifenoles (Fig. 4.5).

4.5.2. CARACTERISTICAS

En el humus no se puede distinguir la naturaleza vegetal o animal de la que proviene.

Es considerado el producto más o menos final y estable de la transformación de los residuos de plantas y animales; es en su mayor parte de naturaleza coloidal, de peso molecular elevado, que se descompone lentamente, y se le puede considerar como un sistema orgánico en equilibrio dinámico. Según la naturaleza de los residuos y los factores que intervienen en la descomposición, puede tener una marcada diferencia en la composición química, y en sus propiedades físicas y biológicas.

Está formado por 2 tipos de ácidos: los fúlvicos y los húmicos, compuestos principalmente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Puede efectuar un intercambio catiónico de elementos nutritivos a las plantas realizándolo en forma semejante a la fracción arcilla del suelo, por medio de los grupos carboxilo o fenólicos de su estructura.

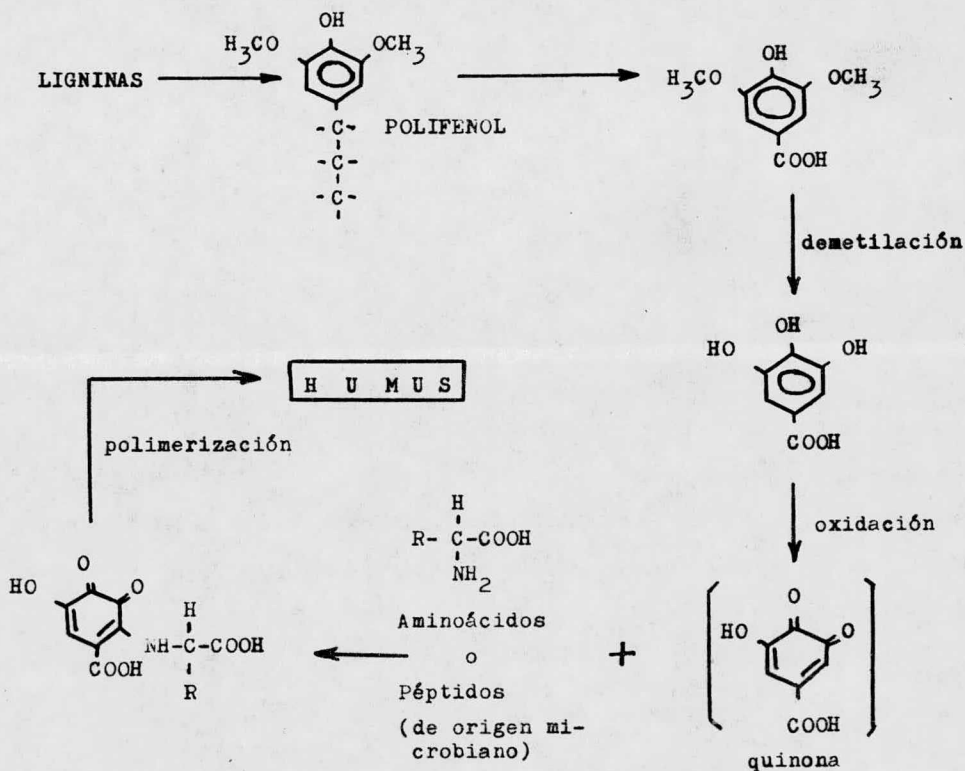
4.5.4 PROPIEDADES DEL HUMUS

Desempeña un papel de gran importancia en la fertilidad de los suelos al poner a disposición de las plantas los nutrimentos. Proporciona a los terrenos, soltura y los torna más esponjosos y permeables, los hace más sensibles a la acción del calor solar y aumenta en gran manera, su poder de retención del agua ya que puede hidratarse, además de mejorar la aereación de los mismos.

Provoca fenómenos de agregación, evitando que las partículas del suelo sean arrastradas por el agua o el aire. Regula el pH del suelo y también permite la existencia y facilita la acción de gran número de pe-

queños animales que, como las lombrices, viven en galerías que ellas abren bajo la tierra y la remueven, así como la de bacterias y hongos que, de un modo u otro ayudan a mantener la fertilidad del suelo.

FIG. 4.5. ESQUEMA BASICO DE LA FORMACION DEL HUMUS (22).



MATERIALES Y METODOS

5.1. DESCRIPCION DEL BANCAL

Una vez formada la pila o bancal experimental, de acuerdo al proceso antes descrito (inciso 3.4), se procedió a obtener cada 15 días aproximadamente, una muestra representativa durante los 110 días que duró el proceso de composteo.

El bancal de forma piramidal, tuvo las siguientes dimensiones:

altura 2.5 m
base 8.0 m
longitud 18.0 m

La primera muestra obtenida corresponde a la de basura cruda, los riegos se hicieron de agua potable con ayuda de mangueras, los volteos programados se realizaron después de obtenidas las muestras representativas (por cuestiones administrativas, no se realizaron todos los volteos y el riego requerido del bancal).

5.2. FORMA DE MUESTREO

Para obtener la muestra representativa se hizo un cuarteo de 6 ---- muestras de 1 kg aproximadamente, que se tomaron del bancal experimental (2 de cada extremo y 2 de cada lateral).

Las muestras se tomaron a una profundidad de 30 a 40 cm con el registro inmediato de temperatura, pH y humedad.

De la muestra representativa, una parte se destinó al análisis microbiológico practicado al día siguiente y la otra parte se secó a temperatura ambiente para los análisis físicos y químicos requeridos (previa su homogenización en un molino de cuchillas).

5.3. METODOLOGIA DEL ANALISIS MICROBIOLOGICO (3)(4)(10)(28)(29).

5.3.1. DILUCIONES

Se pesaron 10 g de la muestra representativa y se transfirieron a un frasco que contenía 95 ml de solución salina estéril al 0.75% para -- obtener una dilución 1:10.

Se agitó, se dejó sedimentar y se transfirió 1 ml de esta dilución a otro frasco que contenía 99 ml de la misma solución (para obtener una dilución de 1:100), se agitó y prosiguió diluyendo de esta forma hasta la dilución 10^{-10} .

5.3.2. INOCULACION

Se transfirió 1 ml de cada una de las diluciones a los tubos de ensaye que contenían 10 ml del medio de cultivo estéril; para la cuantificación de bacterias amonificantes (medio 1); nitrificantes: Nitrosomonas sp. y Nitrobacter sp. (medios 2 y 3); desnitrificantes (medio 4) y fijadores libres de nitrógeno atmosférico (medio 5).

Se corrieron 5 testigos y 5 tubos por cada dilución.

5.3.3. INCUBACION

Todos los medios de cultivo se incubaron a 28 °C, por los siguientes periodos de tiempo:

amonificantes	15 días
nitrificantes	28 días
desnitrificantes	7 días
fijadores libres	7 días

Con revisiones periódicas a partir de los 3 días de incubación.

5.3.4. LECTURAS

Al término de la incubación se determinó la cantidad de bacterias -

de acuerdo al método del número más probable (tabla de Mc Crady) para -- después calcular el número de gérmenes por gramo de muestra seca (ya que se registró la humedad de cada muestra).

5.4. MANERA EN QUE SE HICIERON LOS ANALISIS

5.4.1. (1) BACTERIAS AMONIFICANTES

Medio de cultivo:

K_2HPO_4	3.0 g
KCl	0.2 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2 g
NaCl	0.2 g
$CaSO_4$	0.01 g
Gelatina	10.0 g
Agua destilada	1 000.0 ml

Disolver la gelatina y hervirla por 5 minutos, agregarle aún ca---
liente las sales disueltas en agua destilada y filtrar la solución hasta
su completa transparencia. Ajustar el pH a 7.0.

Distribuir en los tubos de 16 x 150 mm y esterilizar en autoclave -
por 15 minutos a 120 °C.

MANERA DE HACER LA LECTURA:

Al término de la incubación se determinó la presencia de amoníaco,
mediante el reactivo de Nessler, colocando en una placa excavada 3 gotas
del cultivo y agregándole 2 gotas del reactivo. Una coloración amarillo-
naranja se tomó como positiva (la intensidad del color varió de acuerdo
a la concentración de amonio).

Reactivo de Nessler:

KI	35.0 g
HgI_2	45.5 g
KOH	112.0 g
Agua destilada	1000.0 ml

Disolver el HgI_2 y el KI en un mínimo de agua destilada, pasar la solución a un matraz aforado de 1 000 ml y agregarle el KOH , llevar a un volumen de 800 ml, mezclar, dejar enfriar y aforar.

5.4.2. BACTERIAS NITRIFICANTES

(2) MEDIO DE CULTIVO PARA NITROSOMONAS SP. (MEIKLEJOHN):

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.66 g
NaCl	0.3 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.14 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.03 g
KH_2PO_4	0.1 g
CaCO_3	10.0 g
Solución de micronutrientes	1.0 g
Agua destilada	1 000.0 ml

Ajustar el pH a 7.0, distribuir en los tubos y esterilizar.

Solución de micronutrientes:

Trazas de las siguientes sales disueltas en 1 000 ml de agua destilada.

H_3BO_3 ; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{AlK}(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{KH}_2$; MnCl_2 ; ZnSO_4 ; SnCl_2 ; -----
 CuSO_4 ; KI y KBr .

MANERA DE HACER LA LECTURA:

Al término de la incubación se determinó la presencia de nitritos, con el reactivo de Griess-Ilosvay, colocando en un tubo de 12 x 75 mm -- 10 gotas del cultivo y agregándole 5 gotas de la solución "A" del reactivo y 5 gotas de la solución "B". Una coloración rojo-purpúreo indicó la presencia de nitritos.

Reactivo de Griess-Ilosvay:

Solución "A"		Solución "B"	
Acido sulfanílico ...	0.5 g	Alfa-naftilamina	0.1 g
Acido acético	150.0 ml	Acido acético al 33% ...	20.0 ml
		Agua destilada	150.0 ml

Disolver la alfa-naftilamina en el agua destilada, luego añadir el ácido acético. Por otro lado el ácido sulfanílico se disuelve en el ácido acético. Guardar las soluciones por separado en frascos de color ámbar.

(3) MEDIO DE CULTIVO PARA NITROBACTER SP. (MODIFICACION DE WINO----GRADSKY):

NaNO ₂	0.5 g
NaCl	0.3 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.14 g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.03 g
KH ₂ PO ₄	0.1 g
CaCO ₃	10.0 g
Solución de micronutrientes	1.0 ml
Agua destilada	1 000.00 ml

Ajustar el pH a 7.0, distribuir en los tubos y esterilizar.

MANERA DE HACER LA LECTURA:

Al término de la incubación se determinó la presencia de nitratos, con una solución de difenilamina, previa la descomposición de nitritos - que no fueron oxidados en el medio para evitar su interferencia en la -- lectura de las trazas de nitratos que se formaron.

DESCOMPOSICION DE NITRITOS CON UREA

Se etiquetaron 2 tubos perfectamente limpios como "A" y "B", se agregó al "A" 2 ml de H₂SO₄ diluido (3:1) y al "B" 1 g de urea, 7 ml de -

agua destilada y 1 ml del cultivo bacteriano; se mezcló bien hasta la -- disolución de la urea. El tubo "A" se colocó en agua de hielo y se le -- añadió el contenido del "B" en porciones pequeñas.

Una vez descompuestos los nitritos (15 a 20 minutos), se tomó 1 ml de la solución tratada y se colocó en otro tubo al que se le añadió 1 -- gota de NaCl al 20% y 2 ml de una solución de difenilamina en H_2SO_4 al -- 0.017% depositándose con cuidado por las paredes del tubo.

Los nitratos presentes aparecieron en forma de un anillo de color -- azul en la interfase, cuya intensidad dependió del contenido de nitratos.

5.4.3. (4) MICROORGANISMOS DESNITRIFICANTES

Medio de cultivo:

SOLUCION A:

KNO_3 1.0 g
Asparagina 1.0 g
Sol. alcohólica de
azul de bromotimol
al 0.5% 5.0 ml
Agua destilada 500.0 ml

SOLUCION "B"

KH_2PO_4 1.0 g
 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.0 g
 $CaCl_2$ 0.2 g
 Fe_2Cl_3 0.05 g
Agua destilada ... 500.0 ml

Mezclar ambas soluciones, ajustar el pH a 7.0, distribuir en los -- tubos, introducir una campana de Durham en cada tubo y esterilizar.

MANERA DE HACER LA LECTURA:

Al término de la incubación se tomaron como positivos aquellos tu-- bos donde viró el indicador del medio (de verde olivo a azul) y en la -- campana de Durham se observó la producción de gas.

5.4.4. (5) BACTERIAS FIJADORAS LIBRES DE NITROGENO ATMOSFERICO

Medio de cultivo:

Solución de sales minerales	100 ml
Sacarosa	10 g
CaCO ₃	3 g
Agua destilada	900 ml

Ajustar el pH a 7.0, distribuir en los tubos y esterilizar.

Solución de sales minerales:

K ₂ HPO ₄	5.0 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.0 g
CaSO ₄	1.0 g
FeSO ₄	0.1 g
MnSO ₄	0.2 g
MoO ₃ ·H ₂ O	0.1 g
KI	0.1 g
Agua destilada	1 000.0 ml

MANERA DE HACER LA LECTURA:

Al término de la incubación, se observó el crecimiento de las bacterias como una corteza o película sobre la superficie del medio. A los tubos dudosos se les hizo un frotis que se tiñieron al Gram y se observaron al microscopio para ver la forma de las bacterias.

OBSERVACIONES:

Todos los medios de cultivo fueron ajustados su pH con soluciones de NaOH y HCl 1.0 M, en el potenciómetro Corning Modelo 7 de Scientific Instruments.

5.5. ESTUDIO DE AZOTOBACTER

De los tubos positivos para fijadores libres de nitrógeno atmosférico, procedentes de la cuantificación, se seleccionaron aquellos que presentaron el crecimiento característico de velo o corteza para de ahí hacer un exámen al microscopio (se seleccionaron aquellos tubos que tenían un crecimiento muy homogéneo) y luego aislar Azotobacter sp. (2 tubos por muestra).

5.5.1. AISLAMIENTO Y CULTIVO DE Azotobacter sp. EN MEDIO LIPMAN

De los tubos anteriores se procedió a hacer diluciones en solución salina estéril como en la cuantificación.

Se colocó 1 ml de cada dilución en cajas de Petri estériles y se vació el medio de cultivo licuado y enfriado a una temperatura de 40 °C aproximadamente. Inmediatamente después de agregar el medio de cultivo, se agitó la caja con movimientos rotatorios con objeto de mezclar bien el inóculo. Se dejó enfriar y solidificar, y se incubaron las cajas a 28 °C por 7 días.

Transcurrido el período de incubación se reconocieron las colonias de Azotobacter sp. por su aspecto mucoso o viscoso, su tamaño y el exámen al microscopio.

MEDIO DE LIPMAN L-G

K_2HPO_4	0.1	g
KH_2PO_4	0.4	g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2	g
$CaCl_2$	0.02	g
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.002	g
$FeSO_4$	0.01	g
Sacarosa	10.0	g
$CaCO_3$	1.0	g

Sol. alcohólica de
azul de bromotimol
al 0.5% 5 ml
Agua destilada 1000 ml
pH : 7.0

agar 20g

Con las colonias seleccionadas, se volvieron a repetir las diluciones para purificar y lograr el aislamiento de esta bacteria.

Aisladas las colonias por dilución y su examen al microscopio, se sembraron por estría en placas con el mismo medio; para luego proceder a tipificar la especie de Azotobacter.

5.5.2. IDENTIFICACION DE LA ESPECIE DE AZOTOBACTER

La identificación de especie se hizo por asimilación de diversas -- fuentes de carbono; movilidad; producción de pigmentos y la presencia de la enzima catalasa.

ASIMILACION DE LA FUENTE DE CARBONO

No

Medio de Cultivo Base:

K₂HPO₄	0.1	g
KH₂PO₄	0.4	g
MgSO₄·7H₂O	0.2	g
CaCl₂	0.02	g
Na₂MoO₄·2H₂O	0.002	g
FeSO₄	0.01	g
FUENTE DE CARBONO	1.0	%
Sol. de micronutrientes	1.0	ml
Agar	20.0	ml
Agua destilada	1 000.00	ml
pH : 7.0		

Solución de micronutrientes:

H₃BO₃	5.0	g
KI	0.5	g
KBr	0.5	g
ZnSO₄	0.2	g
AlK(SO₄)₃·KH₂	0.3	g
Agua destilada	1 000.0	ml

La fuente de carbono estuvo dada por: ALMIDON, MANITOL, RAMNOSA, -- LACTOSA, ETANOL y BENZOATO DE SODIO (esta última en concentración de --- 0.3 %).

Todas estas fuentes de carbono fueron esterilizadas por separado en filtro Seitz (Gelman, poro 0.45 UM, 47 mm de diámetro).

MOVILIDAD

Esta prueba se hizo utilizando 2 fuentes de nitrógeno y 1 de carbono. una movilidad se realizó con KNO_3 al 1% y la otra con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ al 1%.

La fuente de carbono fue GLUCOSA al 1% que también se esterilizó -- por Seitz; el medio base anterior pero con 7.0 g de agar.

PRODUCCION DE PIGMENTO

Para esta prueba se utilizó el medio base con SACAROSA como fuente de carbono. La observación del pigmento en células fue directa, la del fluorescente se hizo bajo luz ultravioleta.

PRESENCIA DE LA ENZIMA CATALASA

Esta prueba se hizo colocando una suspensión de la colonia en un -- portaobjetos excavado y añadiéndole una gota de solución diluida de peróxido de hidrógeno al 0.5%. Al minuto se leyó, tomando como positiva -- las colonias que desprendieron burbujas (oxígeno). Se usó como testigo -- positivo un homogenizado de hígado fresco.

OBSERVACION

Todos los medios de cultivo se ajustaron a un pH de 7.0 con NaOH y HCl 1.0 M en el potenciómetro Corning Modelo 7 y se incubaron a 28 °C.

5.6. DESCRIPCION BREVE DE LOS ANALISIS FISICOS Y QUIMICOS (7)(16)(19)(25).

DETERMINACION DEL pH

Se pesaron 50 g de muestra húmeda y se diluyeron con 125 ml de agua destilada, con lo que se obtuvo una relación 1:2.5 muestra/agua. Se agitó durante 5 minutos, se dejó sedimentar y se leyó el pH en el potenciómetro Corning Modelo 7.

DETERMINACION DE LA HUMEDAD

Se pesaron 10 g de muestra húmeda y se colocaron en la balanza para la determinación de humedad a 5 watts por 30 minutos.

DETERMINACION DE LA TEMPERATURA

Esta variable se determinó en el instante mismo de tomar las muestras, introduciendo el termómetro Taylor $-20 +150^{\circ}\text{C}$, en cada sitio del muestreo y haciendo el promedio de las 6 lecturas correspondientes a la muestra representativa.

Los siguientes análisis se determinaron en las muestras secas (a temperatura ambiente) y disgregadas en un molino de cuchillas (Standard Model 3); previa la eliminación en las muestras del papel, trapo, vidrio, hule y materiales similares que lograron pasar al bancal experimental.

DETERMINACION DE LA MATERIA ORGANICA POR EL METODO DE WALKLEY Y BLACK

Este método se basó en la oxidación del material orgánico fácilmente oxidable utilizando el calor liberado en la solución del ácido sulfúrico. La muestra se trató con un exceso de un agente oxidante (ácido ---

crómico) y el exceso de oxidante se determinó por titulación con una solución valorada de sulfato ferroso.

DETERMINACION DEL HUMUS

Se hizo por hidrólisis con ácido nítrico concentrado y su extracción con hidróxido de amonio concentrado.

DETERMINACION DE NITROGENO TOTAL POR EL METODO DE KJELDAHL (modificación con ácido salicílico)

Este método se basó en una oxidación de la materia orgánica causada por el ácido sulfúrico, el cual se redujo a dióxido de azufre, seguida de una reducción del nitrógeno a ión amonio, provocada por el mismo dióxido de azufre. Después de alcalinizar la mezcla digerida, el amoníaco se destiló para determinarlo cuantitativamente por titulación.

RELACION C/N

Esta relación se calculó con la siguiente fórmula:

$$C/N = \frac{\% \text{ M.O.} \times 0.58}{\% \text{ N}_2 \text{ total}} ; \text{ donde } 0.58 \text{ es el factor de Van Bemmelen, según M.L. Jackson en Anl. Quím. de Suelos. 2a. Ed. p. 283.}$$

DETERMINACION DE LA CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO TOTAL

Se hizo por extracción con acetato de amonio 1N y su destilación en un medio ácido con cloruro de sodio al 10%.

DETERMINACION COLORIMETRICA DEL ION AMONIO POR EL METODO DE NESSLER

Este método se basó en la extracción del ión amonio con una solución de cloruro de sodio al 10% y el posterior desarrollo de color con el reactivo de Nessler, que en presencia del amoníaco liberado por la ac---

ción de un álcali, este reactivo originó una coloración amarilla-naranja que se leyó a 420 mu.

DETERMINACION COLORIMETRICA DE NITRITOS POR EL METODO DE TILLMANS

Este método se basó en la extracción de los nitritos con una solución de cloruro de sodio al 2% y el posterior desarrollo de color con una solución de difenilamina en ácido sulfúrico, originándose una coloración azul que se leyó a 420 mu.

DETERMINACION COLORIMETRICA DE NITRATOS POR EL METODO DEL ACIDO FENOL-DISULFONICO

Este método se basó en la extracción de los nitratos con una solución extractora de sulfato de plata y sulfato de cobre, para luego desarrollar color con el ácido fenol-disulfónico en medio alcalino. Se originó un color amarillo que se leyó a 420 mu.

DETERMINACION DE CENIZAS

Este análisis se hizo en la mufla Thermolyne a 800 °C durante 2 horas.

DETERMINACION DEL PODER CALORIFICO

Este método se basó en quemar una muestra de peso conocido en presencia de oxígeno en el interior de un calorímetro con bomba adiabática (Parr/Adiabatic Calorimeter) en condiciones controladas. El poder calorífico se determinó mediante observaciones de temperatura efectuadas antes y después de la combustión.

OBSERVACION: Las lecturas de las determinaciones colorimétricas se hicieron en el colorímetro Spectronic 20 de Bausch & Lomb.

RESULTADOS

Los resultados de la población microbiana que a continuación se reportan, fueron obtenidos por métodos similares a los utilizados para el estudio de los microorganismos del suelo.

Las curvas de actividad microbiana tienen la finalidad de dar una idea de los cambios que se llevan a cabo en el proceso estudiado.

Los análisis físicos y químicos practicados a las muestras, fueron determinados de acuerdo a la metodología incluida en el manual de operación del laboratorio de la planta industrializadora de desechos sólidos.

Así mismo, las curvas trazadas con los datos de estos análisis darán una idea de la influencia de estos factores sobre el proceso estudiado.

TAIBLA 6.1. NUMERO DE MICROORGANISMOS DEL CICLO DEL NITROGENO,
QUE SE OBTUVIERON POR GRAMO DE MUESTRA SECA.

M U E S T R A										M I C R O O R G A N I S M O									
No.	Fecha de muestreo: 1978	Período de descomposición.	AMONIFICANTES		NITRIFICANTES		DESNITRIFICANTES		FIJADORES LIBRES DE N ₂										
					<u>Nitrosomonas</u> sp.	<u>Nitrobacter</u> sp.													
1	30 enero	24 horas	223	200	6	9	42	850	3	036									
2	8 feb.	10 días	49	110	262	777		370	8	839									
3	22 "	24 "	17	570	232	447		232	3	704									
4	8 marzo	38 "	6	404	46	338	1	074	1	757									
5	22 "	52 "	7	984	80	429		395	3	871									
6	5 abril	66 "	3	809	144	62		38		381									
7	21 "	82 "	3	740	198	84		121		374									
8	4 mayo	95 "		519	363	363		112		363									
9	19 "	110 "	1	348	363	363		36		363									

La metodología empleada se indica en el capítulo 5, incisos 5.3. y 5.4.

TAIOLA 6.2. RESULTADO DE LOS ANALISIS FISICOS Y QUIMICOS, QUE SE OIBTUVIERON EN IASE SECA EN EL PROCESO DE COMPOSTEO.

MUESTRA	Período de descomposición.	pH	% HUMEDAD	TEMPERATURA °C	% MATERIA ORGANICA TOTAL	% M.O. OXIDABLE	% HUMUS	% NITROGENO TOTAL	C/N	C.I.C.T. meq/100g	AMONIO ppm	NITRITOS ppm	NITRATOS ppm	% CENIZAS	P.C.S. cal/g
1	24 horas	6.5	44	38	67.34	65.89	8.48	1.26	17.60	37.75	93.5	1.2 x 10 ⁻³	0.85	32.66	2 707.07
2	10 días	6.2	44	50.4	65.10	64.33	8.94	1.32	16.30	32.75	97.7	2.0 "	2.25	31.90	2 749.15
3	24 "	6.5	35.2	62.6	62.12	52.14	7.51	1.11	19.26	32.25	115.87	6.3 "	2.20	37.88	2 507.01
4	38 "	6.4	26	62.5	65.06	57.95	6.70	1.17	16.06	31.25	185.67	4.1 "	3.40	34.94	2 686.79
5	52 "	6.8	38	66.8	65.46	59.33	9.58	1.15	17.49	23.50	385.3	3.9 "	2.40	34.54	2 435.37
6	66 "	7.1	37	64	64.73	58.13	8.78	1.26	22.01	36.50	335.04	5.1 "	3.00	35.27	2 981.05
7	82 "	7.2	34.5	63.8	63.21	57.01	9.65	1.26	18.05	31.50	269.43	3.3 "	2.30	36.80	2 633.07
8	95 "	7.2	32.5	63	65.13	59.72	8.15	1.24	19.98	31.25	233.13	3.3 "	3.40	34.87	3 057.15
9	110 "	7.1	32.5	64.5	62.99	54.07	8.68	1.24	22.91	32.25	216.4	3.6 "	2.95	37.01	2 649.18

La metodología seguida en estos análisis esta incluida en el manual de operación del laboratorio de la planta industrializadora. Pero el fundamento de cada determinación se indica en el capítulo 5, inciso 5.6.

C.I.C.T: capacidad de intercambio catiónico total.

P.C.S: poder calorífico total.

TAIBLA 6.2. RESULTADO DE LOS ANALISIS FISICOS Y QUIMICOS, QUE SE OIBTUVIERON EN IBASE SECA EN EL PROCESO DE COMPOSTEO.

MUESTRA	Período de descomposición.	pH	% HUMEDAD	TEMPERATURA °C	% MATERIA ORGANICA TOTAL	% M.O. OXIDAIBLE	% HUMUS	% NITROGENO TOTAL	C/N	C.I.C.T. meq/100g	AMONIO ppm	NITRITOS ppm	NITRATOS ppm	% CENIZAS	P.C.S. cal/g
1	24 horas	6.5	44	38	67.34	65.89	8.48	1.26	17.60	37.75	935	1.2 x 10 ⁻³	0.85	32.66	2 707.07
2	10 días	6.2	44	50.4	65.10	64.33	8.94	1.32	16.30	32.75	97.7	2.0 "	2.25	31.90	2 749.15
3	24 "	6.5	35.2	62.6	62.12	52.14	7.51	1.11	19.26	32.25	115.87	6.3 "	2.20	37.88	2 507.01
4	38 "	6.4	26	62.5	65.06	57.95	6.70	1.17	16.06	31.25	185.67	4.1 "	3.40	34.94	2 686.79
5	52 "	6.8	38	66.8	65.46	59.33	9.58	1.15	17.49	23.50	385.3	3.9 "	2.40	34.54	2 435.37
6	66 "	7.1	37	64	64.73	58.13	8.78	1.26	22.01	36.50	335.04	5.1 "	3.00	35.27	2 981.05
7	82 "	7.2	34.5	63.8	63.21	57.01	9.65	1.26	18.05	31.50	269.43	3.3 "	2.30	36.80	2 633.07
8	95 "	7.2	32.5	63	65.13	59.72	8.15	1.24	19.98	31.25	233.13	3.3 "	3.40	34.87	3 057.15
9	110 "	7.1	32.5	64.5	62.99	54.07	8.68	1.24	22.91	32.25	216.4	3.6 "	2.95	37.01	2 649.18

La metodología seguida en estos análisis esta incluida en el manual de operación del laboratorio de la planta industrializadora. Pero el fundamento de cada determinación se indica en el capítulo 5, inciso 5.6.

C.I.C.T: capacidad de intercambio catiónico total.

P.C.S: poder calorífico total.

T A B L A 6.3. R E S U L T A D O D E L E S T U D I O D E A Z O T O B A C T E R .

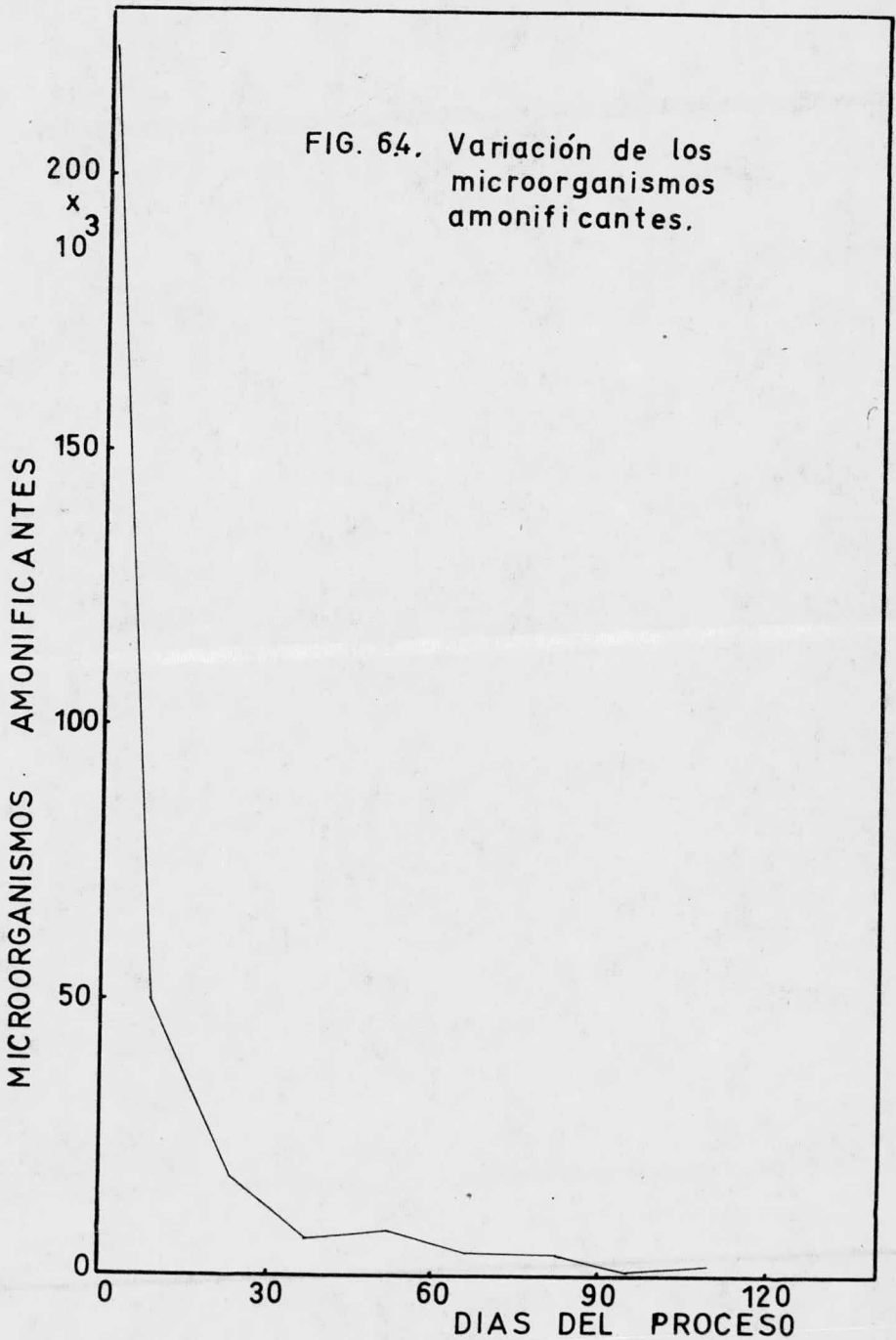
CEPA AISLADA	TIEMPO DE CRECIMIENTO EN MEDIO LIPMAN	PRUEBA DE LA CATALASA	MOVILIDAD	PIGMENTO (a los 56 días)		UTILIZACION DE LA FUENTE DE CARBONO										MORFOLOGIA (7 días de cultivo)	TINCION DE GRAM	ESPECIE PROBAIBLE		
				fluorescente soluble	insoluble	ALMIDON		MANITOL		RAMNOSA		LACTOSA		IBENZOATO					ETANOL	
						1	2	1	2	1	2	1	2	1	2				1	2
"A"	48 horas	+	+	no hay	amarillento	+	+	+	+	escaso	+	+	+	-	+	escaso	+	Células cocoides, alargadas, en pares y aisladas.	-	<i>Azotobacter chroococcum</i> .
"B"	24 horas	+++	+	verde tenue	ligeramente amarillo	-	escaso	+	+	muy escaso	+	+	+	positivo hasta los 30 días	-	escaso	Bacilos ovalados, pequeños, en pares principalmente.	-	<i>Azotobacter vinelandii</i> .	
"C"	48 horas	-	+	no hay	* castaño claro	-	escaso	-	+	escaso	+	-	escaso	negativo hasta los 7 días	escaso	+	Bacilos alargados, pequeños, en pares y aislados.	-	<i>Derxia gummosa</i> .	

La metodología empleada se indica en el capítulo 5, inciso 5.5.

1: 24 horas

2: 48 horas

*: Producido en el medio de movilidad a base de sulfato de amonio.



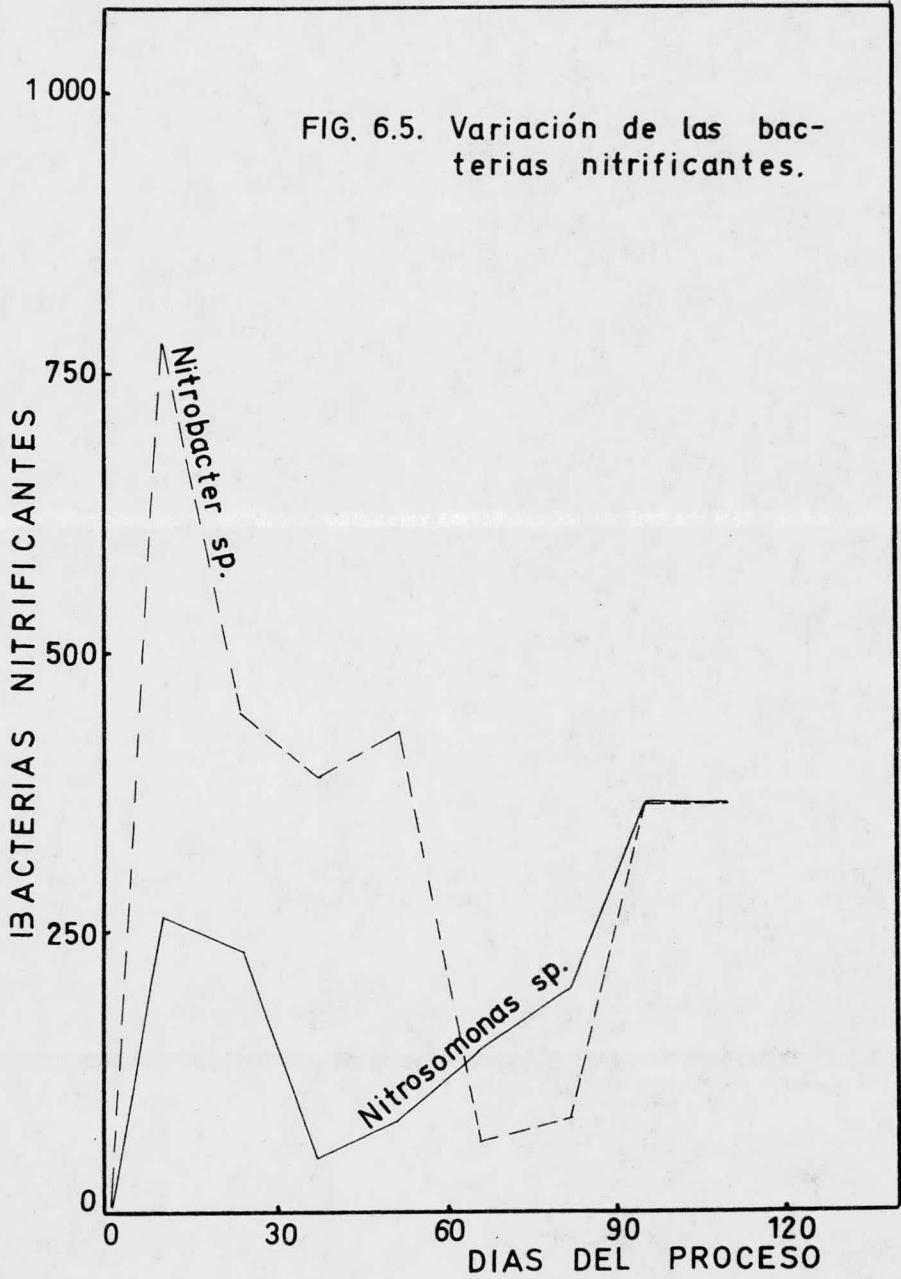
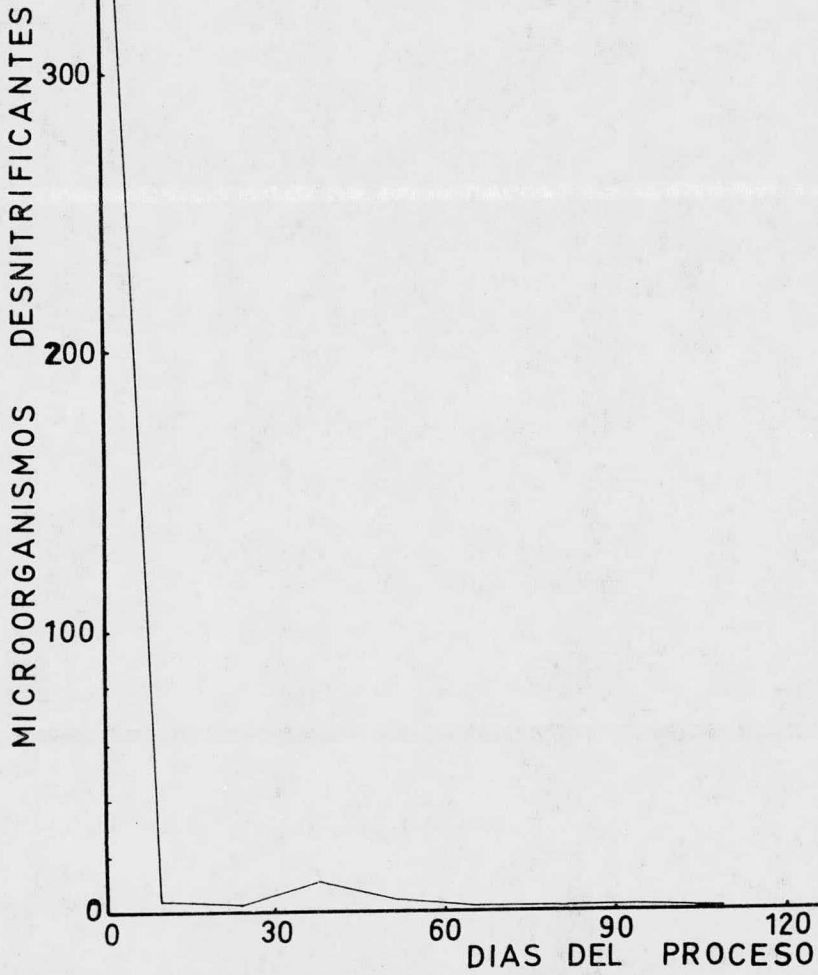
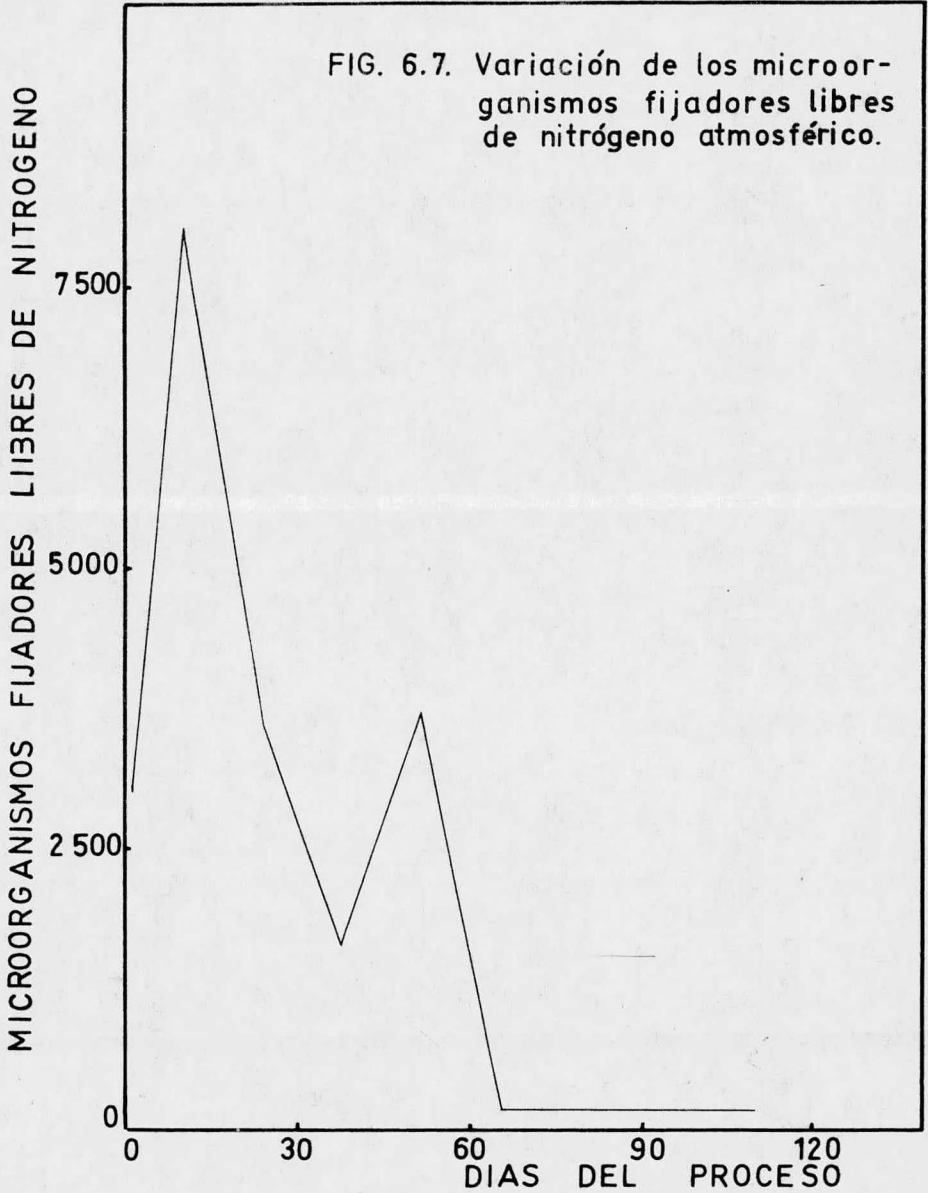


FIG. 6.6. Variación de los microorganismos desnitrificantes.





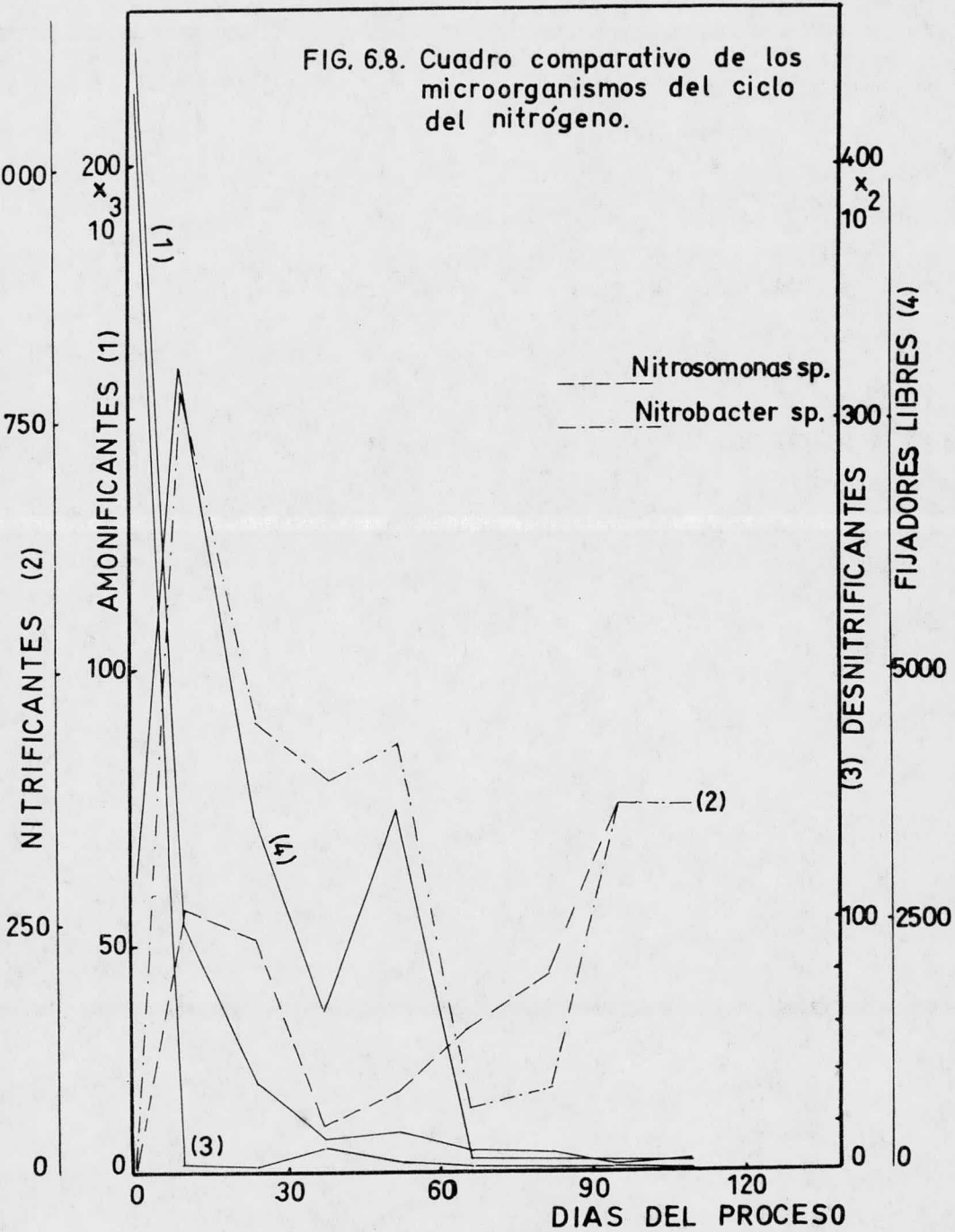


FIG. 6.9. Variación del pH, temperatura y la humedad indicando las fases de actividad microbiana durante el tiempo de descomposición.

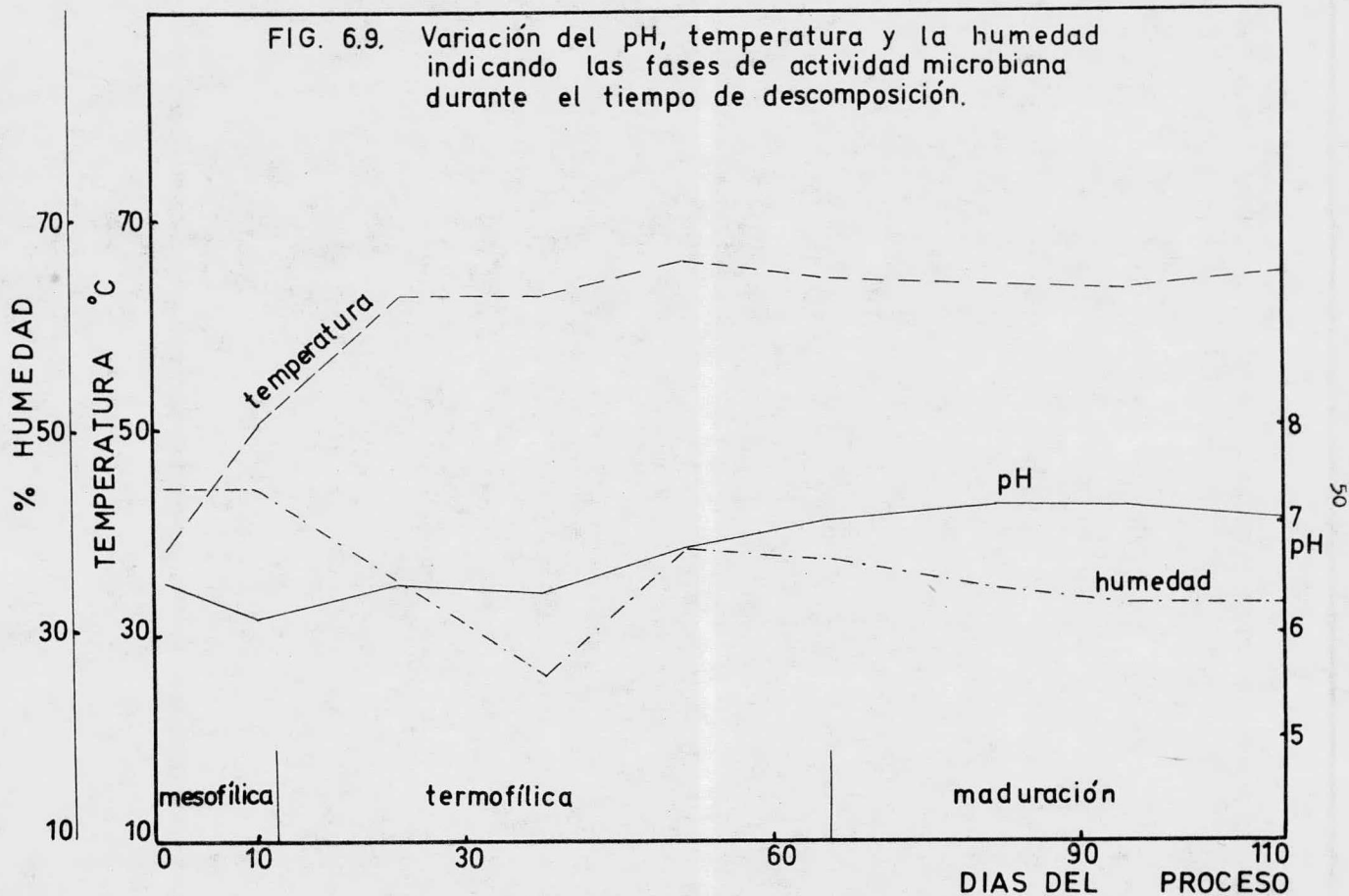


FIG. 6.10. Variación de la materia orgánica total y oxidable.

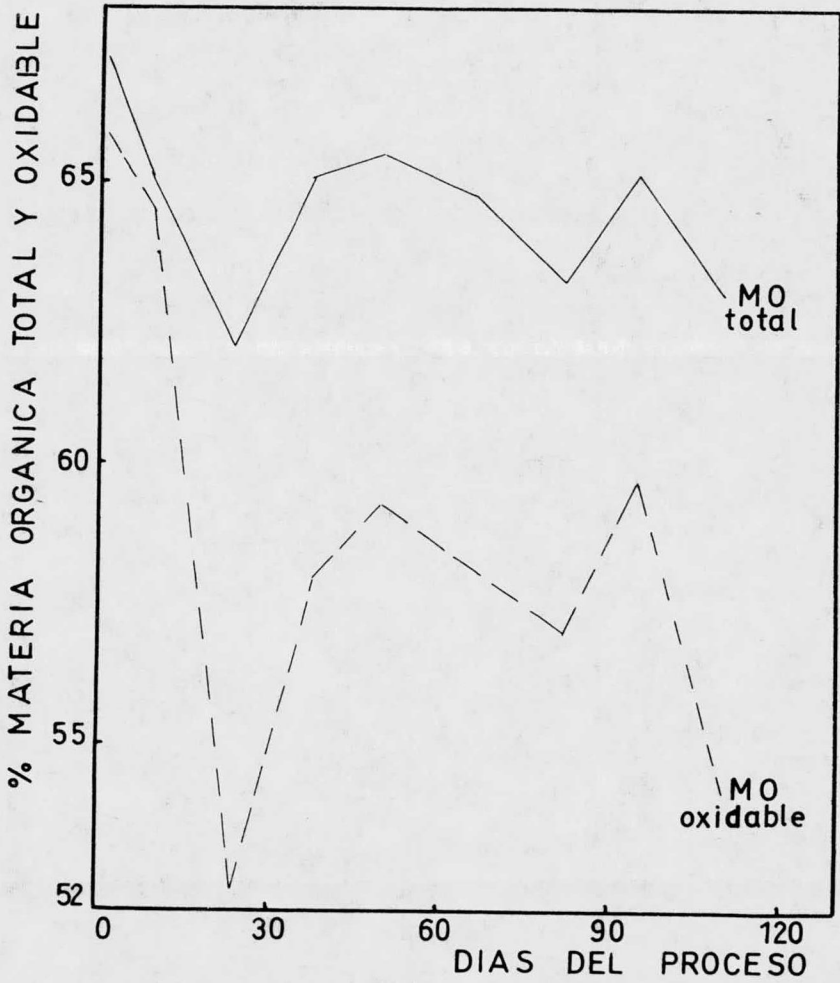


FIG. 6.11. Variación del humus y la relación C/N.

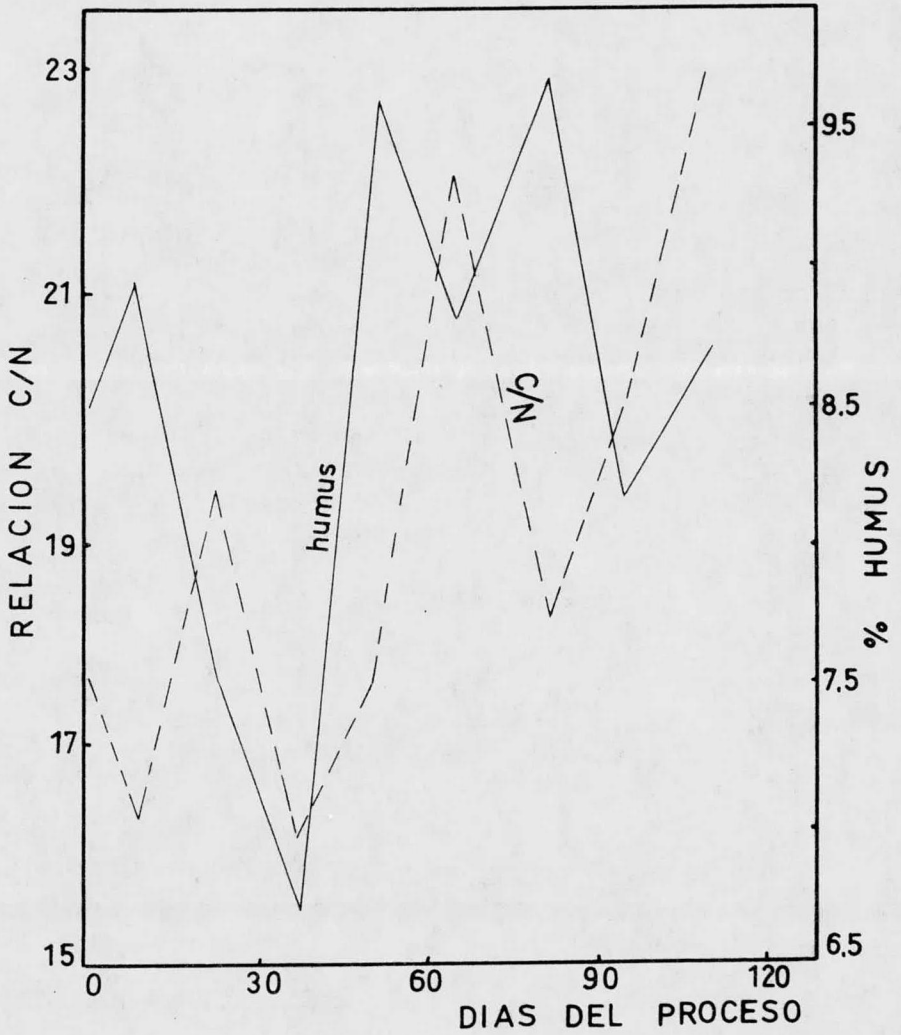


FIG. 6.12. Variación del Nitrógeno total.

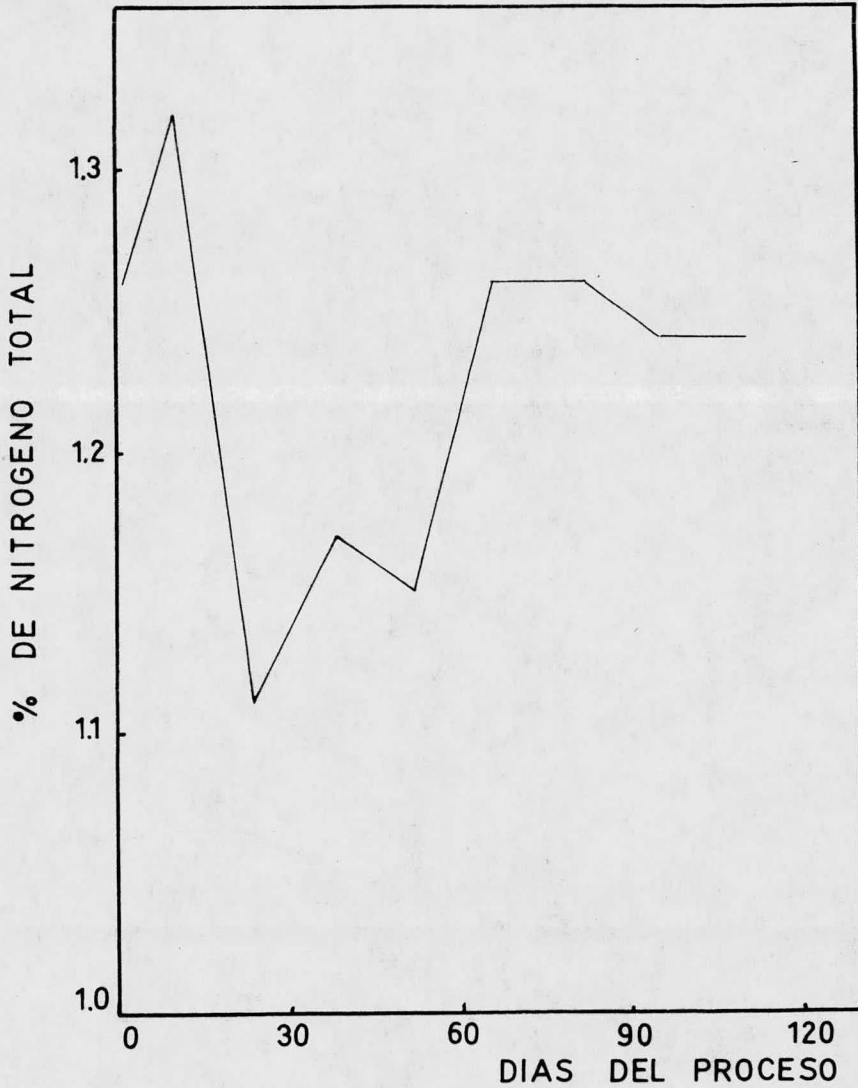


FIG. 6.13. Variación del ión amonio, nitritos y nitratos.

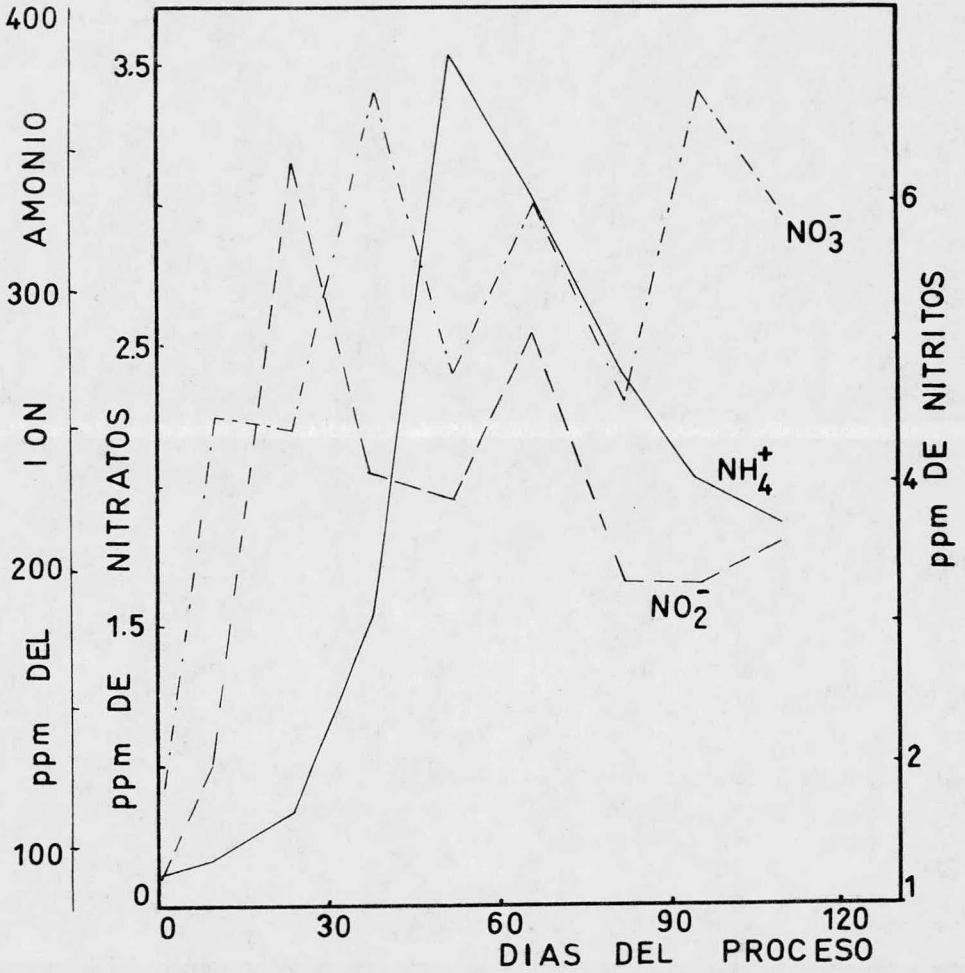
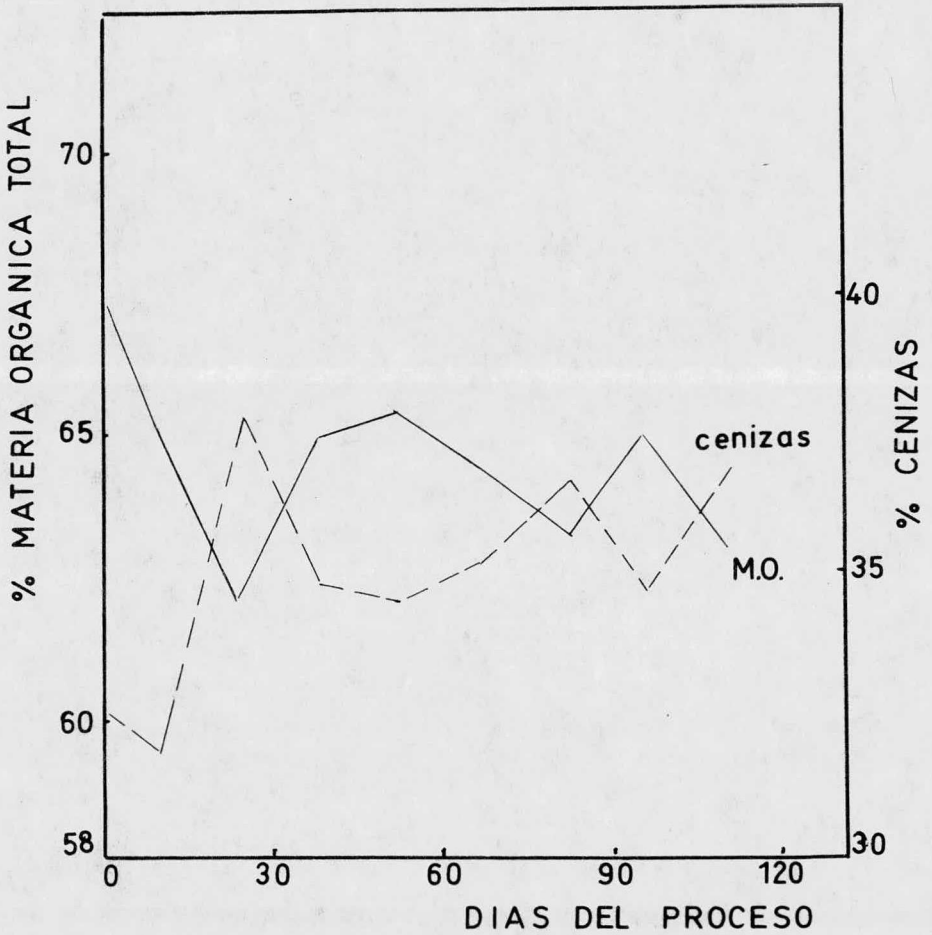


FIG. 6.14. Variación de cenizas y la materia orgánica total.



DISCUSION

En este capítulo, se discuten las poblaciones microbianas relacionadas con el ciclo del nitrógeno y su correlación con los datos físicos y químicos más importantes.

7.1. BACTERIAS AMONIFICANTES

La cantidad sorprendentemente grande de estas bacterias en el inicio del proceso nos hace pensar que tal vez forman parte de la microflora nativa de la basura, lo que sería interesante comprobar.

Al cabo de los 40 días del proceso se observó una marcada disminución (fig. 6.4) debido a que posiblemente la mayoría de estos microorganismos mesofílicos y murieron por el marcado ascenso de la temperatura (fig. 6.9); es decir que sólo quedaron en actividad los microorganismos que eran termofílicos.

A partir de los 52 días, observamos ya una constancia en el nivel poblacional de estos microorganismos.

Con respecto a la materia orgánica, observamos que ésta disminuyó (fig. 6.10) en un período de 28 días, lo que concuerda con una acentuada disminución de estos microorganismos debido probablemente a que se agotaron los residuos de más fácil degradación. La curva de materia orgánica indica puntos ascendentes y descendentes que aparentemente no concuerdan en relación a la degradación, esto puede deberse a lo heterogéneo del material en relación a la parte inorgánica y orgánica, pero aún así se observó que la tendencia de la curva es hacia la disminución de la materia orgánica conforme avanzó el proceso.

De la cantidad de humus presente en la primera fase del proceso observamos que tuvo un ligero aumento (fig. 6.11), posteriormente disminuyó notablemente debido probablemente a su inestabilidad y a un cierto ataque microbiano a que pudo exponerse.

En la tercera fase observamos un aumento del humus debido tal vez - al aumento de actividad microbiana que aporta componentes para la formación de moléculas húmicas (ácidos húmicos principalmente).

Alternativamente hay que observar que parte de la materia orgánica puede ser degradada totalmente y no participar en el proceso de humificación. Así mismo hacemos hincapié en que inicialmente había ya una ---- cierta cantidad de humus, que pudo haberse formado en el tiempo de almacenamiento de la basura o que provino de la tierra que se recogió al efectuarse la limpieza de patios y jardines principalmente.

Con respecto a la cantidad del ión amonio (fig.6.13), ésta aumentó durante los primeros 52 días del proceso debido probablemente a la de--- gradación de la materia orgánica por la flora amonificante y observándose posteriormente una disminución que concuerda con el equilibrio alcanzado por la población amonificante.

7.2. BACTERIAS NITRIFICANTES

Inicialmente observamos una pequeña cantidad de estas bacterias debido a que posiblemente esta flora apenas se estaba implantando (fig. - 6.5). Luego tendieron a un crecimiento máximo en aproximadamente 10 días del proceso; este crecimiento declinó a aproximadamente el 50% del punto máximo en los 58 días siguientes, para después permanecer a un nivel más o menos estable a partir de los 90 días del proceso.

En relación a la cantidad de nitritos y nitratos presentes, pudimos observar que hubo variaciones (fig. 6.13) en acuerdo a la microflora ni-

trificante hasta que se alcanzó un equilibrio dinámico entre esta población, los nitritos y los nitratos.

Las variaciones anteriores pueden estar influenciadas por la cantidad de materia orgánica que había, ya que ésta funciona como inhibidor específico de esta flora y quizá también debido a la mineralización de la mayor parte del nitrógeno procedente de la amonificación (fig. 6.14).

En cuanto a los datos de la relación C/N observamos que en los primeros 30 días del proceso hubo una tendencia a disminuir lo que probablemente implica una pérdida considerable de carbono en forma de CO_2 (fig. 6.11).

Posteriormente esta relación tuvo variaciones debido quizá por una parte a la pérdida de nitrógeno durante el proceso, ya sea como amoníaco, óxidos de nitrógeno y por otra parte por la fijación debida a la acción microbiana.

La relación C/N para propósitos de composteo se señala en un rango de 26 a 38 (12), siendo el óptimo de 30 para lograr resultados exitosos.

La relación que se observó en el proceso fue de manera general inferior al valor señalado como óptimo, lo que nos sugirió que hubo un exceso de nitrógeno o a que en ocasiones la materia orgánica se degradó más rápidamente lo que implica un consumo de energía que proviene del carbono que había en el residuo sólido.

La existencia de esta población microbiana nos puede indicar que las condiciones que existían en este material durante el proceso fueron propicias para su implantación y proliferación, lo que permitió la utilización del nitrógeno que se manifestó en forma de nitritos y nitratos como producto de la nitrificación. (fig. 6.13).

7.3. DESNITRIFICANTES

Esta población microbiana fue en un principio elevada (fig. 6.6) y posiblemente se debió a que en el período de almacenamiento hubo condiciones de anaerobiosis que favorecieron la proliferación de estos microorganismos.

Iniciado el proceso observamos un marcado descenso en individuos de esta población debido aparentemente al rompimiento de las condiciones de anaerobiosis y sólo permanecieron una mínima cantidad de ellos hasta el final del proceso, en un nivel más o menos constante; para la complementación en cierta forma del ciclo del nitrógeno.

En la figura correspondiente de esta población pudimos apreciar un ligero aumento de ésta a los 38 días del proceso debido aparentemente al retraso que hubo por cuestiones de administración, del volteo programado. Lo anterior se puede en cierta forma confirmar al observar un aumento de estos microorganismos en una muestra extra que se tomó después de haber terminado el proceso, y permaneciendo el material en forma de bancal sin ser volteado, obteniéndose 3 939 desnitrificantes por gramo de muestra seca. Es por eso la importancia de los volteos periódicos para obtener la aereación adecuada e el favorecimiento de los microorganismos aerobios termofílicos responsables de la degradación y así evitar pérdidas considerables de nitrógeno (nitratos) en el material.

7.4. FIJADORES LIBRES DE NITROGENO ATMOSFERICO

De estos microorganismos observamos que su tendencia general fue la de disminuir (fig. 6.7).

En la primera fase observamos un aumento de la población debido tal vez a la disponibilidad de una fuente de carbono (azúcares), y que, al consumirse provocó una disminución de esta población, acentuada por la

competencia probable de otros microorganismos por los nutrimentos.

A los 38 días del proceso apreciamos un aumento de esta población - debido posiblemente a la presencia de nuevas fuentes de carbono y/o e---nergía (ácidos grasos simples) provenientes de materiales más complejos en el proceso de descomposición por otros microorganismos.

Una nueva reducción en la cantidad de estas bacterias es debido po- siblemente al consumo de la fuente de carbono y/o energía, hasta llegar a un nivel más o menos estable debido a que las condiciones del material se van semejando a las del suelo.

Además, podemos apreciar que esta población tuvo variaciones en --- forma semejante a las otras poblaciones microbianas que se estudiaron, - lo que aparentemente era lógico de esperarse ya que todas forman parte - de un ciclo biológico, en donde una variación del medio ambiente del --- proceso afectará a todo el ciclo en estudio.

En relación a la cantidad del ión amonio, observamos que a los 58 - días del proceso (fig. 6.13) hubo un aumento que se correlacionó aparen- temente al aumento de la población microbiana en ese mismo tiempo, lo -- que posiblemente indica que el ión amonio fijado e incorporado a la masa en proceso (ver las variaciones de la relación C/N en la fig. 6.11).

Con respecto a los nitritos y nitratos, apreciamos, que en los 38 - días aproximadamente del proceso hubo un aumento aparentemente como re-- sultado del paso del amoniaco por la fase nitrificante del ciclo del ni- trógeno que se implantó como anteriormente nos referimos al discutir la población nitrificante; sin embargo estos metabolitos disminuyeron a --- partir de los 66 días debido probablemente a su utilización como fuente de nitrógeno por parte de otros microorganismos.

DISCUSION DE LOS DATOS FISICOS Y QUIMICOS

7.5. pH

Con respecto al pH observado, podemos decir que fue ligeramente ácido (fig. 6.9) hasta los 52 días del proceso, debido a que probablemente se formaron ácidos orgánicos simples como producto inicial de la degradación de la materia orgánica simple o más fácil de oxidar.

Después este valor se tornó ligeramente alcalino debido tal vez a la formación de otros compuestos entre ellos el ión amonio (paso final de la degradación de proteínas) como un efecto de la descomposición.

Pero las variaciones observadas se conservaron dentro de los límites más adecuados al crecimiento de la mayoría de los microorganismos.

7.6. HUMEDAD

Este factor tuvo variaciones notorias, siendo que de acuerdo al proceso que se usa en esta planta industrializadora debió de permanecer entre 40 y 50 % o sea lo que se conoce como capacidad de campo; las variaciones se debieron a irregularidades en el riego del bancal.

En relación a las poblaciones microbianas observamos su marcado descenso en los 38 días (fig. 6.8), en donde se registró la mínima cantidad de humedad (fig. 6.9); por lo que manifestamos la importancia de sostener la humedad a los niveles indicados para que se lleven a cabo la mayor parte de las reacciones metabólicas características de la degradación de la materia orgánica, combinada con el control de la temperatura.

7.7. TEMPERATURA

Este parámetro de la fermentación es importante porque se trata de un proceso termofílico el cual está dado por la actividad microbiana, --

influyendo a su vez en la velocidad de degradación de la basura.

Se observó una elevación de la temperatura (fig. 6.9) de 38 °C a -- 62.6 °C en los 24 días, manteniéndose ésta última más o menos constante durante todo el proceso; hay una concordancia de ésta con la disminución del número de microorganismos del ciclo del nitrógeno (fig. 6.8) los --- cuales son mesofílicos.

7.8. % DE NITROGENO TOTAL

En un proceso ideal el porcentaje de nitrógeno deberá de permanecer constante a lo largo del mismo, ya que no hay pérdidas ni ganancias. Las variaciones en los datos obtenidos (fig. 6.12) pudieron deberse posiblemente a varias causas: a una pérdida del nitrógeno en forma de ión amonio (volatilización) en el instante del volteo, por lixiviación al momento de regarse o por desnitrificación del mismo; a una ganancia del nitrógeno por la fijación microbiana del nitrógeno atmosférico y a la heterogeneidad del material en descomposición.

7.9. CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO TOTAL

Los niveles obtenidos a lo largo del proceso se mantuvieron casi al mismo nivel y nos indican que hubo una disponibilidad regular de nutrientes, estando estos valores relacionados con los de la fracción coloidal del humus, en cierta forma (tabla 6.2).

7.10. % CENIZAS

Este dato se puede considerar como un patrón primario práctico en el proceso de composteo; se observó un aumento de las cenizas en correlación a la disminución de la materia orgánica y la aparente mineralización de ésta (fig. 6.14).

7.11. PODER CALORIFICO TOTAL

Estos datos (tabla 6.2) se determinaron como investigación, para -- ver si se podría utilizar la basura cruda como fuente de energía calorífica dependiendo del aspecto económico, es decir, si sería más reditua-- ble el industrializar los desechos por la ganancia que represente la --- venta de la composta y subproductos en comparación con el empleo de un - combustible económico (diesel).

Los valores de poder calorífico obtenidos fueron bajos y por lo --- tanto se descartaría la posibilidad de utilizar la masa como combustible.

7.12. DISCUSION DE LOS RESULTADOS DEL ESTUDIO DE AZOTOBACTER

Las especies de fijadores libres de nitrógeno que reportamos en este estudio (tabla 6.3.) fueron objeto de una discusión especial; debido a algunas diferencias encontradas en cuanto a la bibliografía que describe este género (3)(20).

Las variaciones se debieron a lo complejo del género y posiblemente a la frecuencia de resiembras a que se sometieron en el intento de aislarlas en cultivo puro.

Después del aislamiento de 11 cepas en cultivo puro se procedió a realizar las pruebas para identificar la especie a que pertenecen (inciso 5.5.2.) en un intento de 5 veces, obteniéndose 3 especies que probablemente sean:

CEPA "A" : (Azotobacter chroococcum.)

CEPA "B" : (Azotobacter vinelandii.)

CEPA "C" : (Derxia gummosa.)

La cepa "A" perteneció a la muestra representativa No. 2, la cepa "B" a la muestra representativa No. 1 y la cepa "C" a la muestra No. 3.

7.12.1. CATALASA

Tomando como primera referencia la presencia de esta enzima, el Manual Bergey 8a. edición reporta al género *Azotobacter* como catalasa positiva y al género *Derxia* como catalasa negativa. Nuestras cepas A y B fueron catalasa positiva; la C fue catalasa negativa por lo que supusimos que ésta pertenece al género *Derxia* y las otras dos al género *Azotobacter*.

7.12.2. CRECIMIENTO

La velocidad en crecimiento de las cepas aisladas nos hizo descartar

la presencia del género *Beijerinckia*, debido a que éste es de crecimiento lento. La revisión de Thiman, Kenneth (31), reporta que entre el género *Azotobacter*; *A. vinelandii* es la especie de mayor velocidad en crecimiento.

De las cepas estudiadas, la A creció a las 48 hrs. y la B a las 24.

7.12.3. MOVILIDAD

Del género *Azotobacter*, la única especie no móvil que reporta el manual Bergey es *A. beijerinckia*; nuestras cepas A y B fueron móviles y -- por lo tanto descartamos la presencia de ésta especie.

7.12.4. PIGMENTO

a) fluorescente.- La cepa A no presentó ningún pigmento; la B presentó un color verde muy tenue, lo que nos sugirió que posiblemente era *A. vinelandii* según el manual.

b) Insoluble.- La cepa A presentó una pigmentación que de acuerdo a la revisión de H.L. Jensen (20) sobre el género *Azotobacter*, puede ser *A. chroococcum*.

La cepa B que pensamos es *A. vinelandii* presentó un color ligeramente amarillo (mucho más tenue que la anterior) que no se ajusta a lo descrito por el manual, que reporta la ausencia de pigmentación. Este pigmento pudo posiblemente deberse a que la colonia tenía un período largo de incubación.

7.12.5. UTILIZACION DE LAS FUENTES DE CARBONO

a) Almidón.- H.L. Jensen y el manual Bergey concuerdan en que la utilización de este carbohidrato es positiva en *A. chroococcum* y negativa en *A. vinelandii*.

La cepa A creció en almidón a las 24 hrs., la B no creció en este período, sino que hasta las 48 hrs. creció escasamente por lo que nos -- hizo dudar que fuera A. vinelandii.

b) Manitol.- El manual Bergey reporta su utilización por A. chroococccum y Jensen reporta que algunas formas de A. chroococccum son manitol negativas. En cuanto a la especie A. vinelandii ambos autores concuerdan en la utilización de este carbohidrato.

La cepa A lo utilizó a las 24 hrs. por lo que de acuerdo al manual es A. chroococccum pero no en cierta forma a lo que afirma Jensen. La cepa B creció a las 24 hrs. ajustándose a la especie de A. vinelandii.

c) Ramnosa.- Bergey reporta la no utilización de esta fuente de --- carbono por A. chroococccum; Jensen y Bergey reportan la utilización por A. vinelandii.

La cepa A creció escasamente a las 24 hrs. siendo franco su crecimiento a las 48 hrs. por lo que no se ajustó a la especie A. chroococccum según el manual. La cepa B creció a las 24 hrs más escasamente que la A, por lo que se ajustó a lo reportado como A. vinelandii.

d) Lactosa.- El manual reporta la no utilización de esta fuente de carbono por A. chroococccum y Jensen afirma su utilización.

Con respecto a A. vinelandii no se encontraron estudios de la utilización de este carbonhidrato.

La cepa A creció a las 24 hrs. por lo que de acuerdo a Jensen es -- A. chroococccum; pero la cepa B también lo utilizó.

e) Benzoato de sodio.- En el manual se reporta la utilización por -- A. chroococccum; con respecto a A. vinelandii no hay referencia de que si utiliza o no esta fuente de carbono.

La cepa A lo utilizó a las 48 hrs. ajustándose a la especie A. chroococccum; en cuanto a la cepa B también lo utilizó pero hasta los 30 días

de incubación.

f) Etanol.- Esta fuente de carbono se reporta que es utilizada por el género *Azotobacter* en el manual Bergey.

La cepa A lo utilizó francamente hasta las 48 hrs. La cepa B lo utilizó escasamente hasta las 48 horas

7.12.6. MORFOLOGIA

La morfología de ambas cepas se asemejó bastante a lo reportado por el manual Bergey y H.L. Jensen.

7.12.7. REACCION AL GRAM

Ambas cepas fueron gram negativas.

7.13. DISCUSION DE LA CEPA "C" *falta.*

Tomando como principal referencia la ausencia de la enzima catalasa pudimos incluirla de inmediato en el único género de fijadores libres -- que son catalasa negativa.

Este género es *Derxia*.

Y en cuanto a que el manual Bergey reporta este género y sólo una -- única especie (*Derxia gummosa*), la incluimos en ella debido a que su -- crecimiento escaso en almidón se ajustó a la especie. Además la utilización del manitol también se ajustó al manual.

No se reporta si utiliza o no ramosa, pero esta cepa si la utilizó.

La lactosa fue utilizada escasamente de acuerdo a lo reportado. El benzoato no lo utilizó, aún cuando se observó después de 7 días de incu-

bación; por lo tanto se ajustó al manual.

La utilización del etanol y su movilidad positiva también concordaron con lo reportado.

La ausencia de pigmento fluorescente concordó con la especie. Pero con respecto al pigmento soluble no, porque se reporta un pigmento café y la cepa presentó un color ligeramente amarillento en el medio Lipman - pero si presentó un color castaño claro en el medio utilizado para la -- movilidad en el que hay sulfato de amonio como fuente de nitrógeno.

Su morfología y reacción al gram también estuvieron de acuerdo con la bibliografía.

CONCLUSIONES

1. El estudio realizado nos dió un panorama general de los cambios de la microflora del ciclo del nitrógeno, cuya importancia radica en ser uno de los factores de la fertilidad del suelo; durante el proceso de -- degradación de los desechos sólidos (basuras) en un bancal de la planta industrializadora de desechos sólidos.

2. La serie de análisis físicos y químicos realizados durante el -- proceso nos proporcionó un criterio para tratar de interrelacionar los -- cambios producidos en el material orgánico (en su composición), durante el trayecto del procedimiento con las variaciones encontradas en este -- grupo de microorganismos.

3. Este tipo de enfoque tuvo como fin llegar a conocer mejor el valor desde el punto de vista agrícola, de esta clase de materiales ya que contienen los elementos necesarios como: carbono, nitrógeno, hidrógeno, humus, materia orgánica y cenizas, para la nutrición de las plantas y -- los microorganismos propios del suelo (particularmente en este caso los del ciclo del nitrógeno). Y el vizualizar que en un futuro se puedan u-- tilizar como soportes o medios de fijación de una microbiología más adecuada y de mayor valor biológico para el complejo suelo-planta como lo -- serían los microorganismos del género *Rhizobium*.

4. Logramos obtener una cierta información de las condiciones fisi-

cas y químicas necesarias para que estos microorganismos puedan desarrollarse satisfactoriamente ya sea en forma natural o artificial.

5. Este estudio no es todo, sino más bien es el principio de investigación en este campo, en donde quedan muchos puntos por aclarar y otros tantos por estudiar; como lo es el aspecto de la temperatura, ya que sería conveniente seguir su trayecto hasta que ésta disminuyera a la del medio ambiente y ver si las poblaciones del ciclo del nitrógeno aumentan. Por ahora no se hizo por seguir el proceso de esta planta, pero esto sería un aspecto que indicaría hacer estudios para mejorar este proceso.

6. Es importante hacer notar que debido a la heterogenicidad y tipo de basuras, pueden surgir o existir otras diferencias a lo reportado en este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. Alexander, M. Introduction to Soil Microbiology. John Wiley & Sons. New York, 1977.
2. Benemann, J.R., Valentine, R.C. The Pathways of Nitrogen Fixation. Advances in Microbial Physiology, 8:59-98, 1972.
3. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th. Ed. Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. Ed. Board. The Williams & Wilkins - Co. Baltimore, 1975.
4. Black, C.A. Methods of Soil Analysis, Part. 2, Agronomy No. 9 -- Am. Soc. Agr. Inc. Pub., 1965.
5. Clifton, C.E. Ph.D. Introduction to Bacterial Physiology. McGraw-Hill Book Company inc., 1957.
6. Eckenfelder, W.W. Jr., O' Connor, D.J. Biological Waste Treatment. Pergamon Press. New York, 1961.
7. Flaschka, H.A., Barnard, A.J. Jr., Sturrock, P.E. Química Analítica Cuantitativa Vol. I y II. Comp. Ed. Continental. México, 1973.
8. Fry, B.A. The Nitrogen Metabolism of Microorganisms. Methiew and Co. Ltd. Londres, 1955.
9. García Lezama, L.F. Comunicación verbal. Jefe del Laboratorio de la Planta Industrializadora de Desechos Sólidos.
10. Girard, H., Rougieux, R. Técnicas de Microbiología Agrícola. Ed.

Acriba. Zaragoza (España), 1967.

11. Golueke, C.G. Composting, A Study of the Process and its Principles. Rodale Press. Inc. Emmaus. Pa., 1973.
12. González Amaya, F. Evaluación de un Proceso de Composteo a Partir de Desechos Sólidos Urbanos. Tesis Profesional. UNAM, 1978.
13. Gottas, H.B. Composting. Wor Health Org. Geneva, 1971.
14. Gray, K.R., Sherman, K., Biddleston, A.J. A Review of Composting I and II. Process Biochemistry. June and October, -- 1971.
15. Gray, K.R., and Col. A Review of Composting III. Process Biochemistry. October, 1973.
16. Gredroits, K.K. Chemical Analysis of Soils. Israel Program for Scientific Translations. Jerusalem, 1963.
17. Hopkings, E.S., Schulze, W.H. The Practice of Sanitation. The -- Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md., 1954.
18. Hopkins, D.P. Chemical, Humus and the Soils. Chemical Publishing Co. New York, 1957.
19. Jackson, M.L. Análisis Químico de Suelos. Ed. Omega S.A. Barcelona (España), 1970.
20. Jensen, H.L. Azotobacteriaceae. Bacteriological Reviews, 8:195-209, 1954.
21. Knut, David T. Nitrogen Cycle Ecology of Solid Waste Composting. (Environ. Eng., Inc., Gainesville, Fla.). Compost. Science, 11(4), 8-12, 1970.
22. Kokonova, M.M. Soil Organic Matter. Pergamon Press. New York, -- 1961.

23. Nandor, Porges. *Newer Aspects of Waste Treatment. Advances in -- Applied Microbiology*, 2: 1-28, 1960.
24. Nyle, C. Brady. *The Nature and Properties of Soils. MacMillan -- Publishing Co., Inc. New York, 1974.*
25. *Manual de Operación del Laboratorio de la Planta Industrializadora de Desechos Sólidos.*
26. *Organización Panamericana de la Salud. La eliminación de Basuras y el Control de Insectos Y Roedores. Pub. Científicas No. 75. -- Washington, 1962.*
27. Rafelson, Max E. Jr., Blinkley, S.B. *Bioquímica Básica. Ed. Barcelona (España), 1967.*
28. Rodina, A.G. *Methods in Aquatic Microbiology. University Park -- Press Baltimore Butterworths. London, 1972*
29. Sánchez Marroquín, A. *Microbiología Agrícola. Esc. Nac. de Agricultura. Chapingo (México), 1964.*
30. Sánchez Marroquín, A. *Principios de Microbiología Industrial. -- Ed. Química. México, 1961.*
31. Thiman, Kenneth V. *The Life of Bacteria. The Macmillan and Company. New York, 1955.*
32. Thornton, H.G., Meijlejohn, J. *Soil Microbiology. Annual Reviews of Microbiology*, 11:123-148, 1957.
33. Turk Arnos Dr. *Ecología-Contaminación-Medio Ambiente. Nva. Ed. - Interamericana. México, 1973.*
34. Wasksman, S.A. *Soil microbiology. John Wiley and Sons. New York, 1952.*

35. Walker, N., Ph. D., F.R.I.C. Soil Microbiology. John Wiley and -
Sons. New iork, 1975.
36. Wiley, J. Industrial Waste. Proc. 11 Conf. Purdue University, --
series 91, 1956.
37. Wiley, J. Industrial Waste. Proc. 12 Conf. Purdue University, ---
series 94, 1956.
38. Wilson, P.W., Burris, R.H. The Mechanism of Biological Nitrogen
Fixation. Bacteriological Reviews, 11:41-68, 1947.



Impresiones Lupita

MEDICINA No. 25

FRACC. COPILCO UNIVERSIDAD

CIUDAD UNIVERSITARIA, D. F.

TEL. 548-49-79