



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE QUÍMICA

“EVALUACIÓN QUÍMICA DEL PROCESO  
DE NITRIFICACIÓN EN UN SUELO  
SALINO SÓDICO DESPUÉS DE  
LA DISPOSICIÓN DE UN  
BIOSÓLIDO”

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**INGENIERA QUÍMICA**  
P R E S E N T A :  
LAURA ELVIRA GARZA AVENDAÑO



MÉXICO, D.F.



2004

EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

Jurado Asignado:

Presidente            Profr. Rodolfo Torres Barrera  
Vocal                Profr. Victor Manuel Luna Pabello  
Secretario          Profr. Nathalie Cabirol Gilles  
1er. Suplente       Profr. Landy Irene Ramírez Burgos  
2do. Suplente      Profr. Alfonso Duran Moreno

Sitio donde se desarrollo el Tema:

Laboratorio del Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería. UNAM.

Asesor del Tema:



---

Dra. Nathalie Cabirol

Supervisor Técnico:



---

Biol. Marcelo Rojas Oropeza

Sustentante:



---

Laura Elvira Garza Avendaño

## DEDICATORIAS

En ésta tesis, está todo la fe, el apoyo y el amor que me diste Papá, te agradezco tu compañía y comprensión en los buenos, malos y peores momentos. Te quiero.

Para Elizabeth y Raül, siempre conmigo cuando las cosas salen mal y cuando estamos riendonos de todo. Gracias por su confianza.

A ti Omar, por impulsarme a terminar lo que empiezo, aún cuando no tengo la fuerza tú siempre me das tu apoyo y amor. Te amo.

A mi familia: mis tres tías y mi abuelita, sin las cuales no hubiera llegado hasta aquí. Las quiero de todo corazón.

A mis cuates, que aunque casi no los veo y soy muy mala amiga, están siempre presente en mi mente y en mi corazón. A ti Vero, Leticia, Joel (Yoyelo), Rosa, Andres, Ale V., Alejandro Hdz., Miguel, Erick, Marcelo y Daniel, que hubiera hecho sin ustedes.

A ti Nathalie, que me tuviste paciencia y me animaste cuando más lo necesite, te agradezco de verdad.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Laura Elvira Garza

Avendaño

FECHA: 10 de Febrero del 2004

FIRMA: Laura Elvira Garza Avendaño

## **AGRADECIMIENTOS**

Este presente trabajo fue financiado por el proyecto de CONACYT (J32708-B) y de DGAPA-PAPIIT (IN211700).

Al Dr. Adolfo Andrade Cetto, de la Unidad de Ambientes Controlados de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitir el uso de sus instalaciones para mantener almacenadas y en las condiciones requeridas las unidades experimentales presentada en este trabajo.

A la Dra. Cristina Siebe del Instituto de Geología de la Universidad Nacional Autónoma de México, así como a la Dra. Norma Fernández Buces y a la Dra. Pilar Ortega Larrocea, del laboratorio de Edafología, por su apoyo brindado los medios y la asesoría para llevar a cabo este trabajo.

Al Dr. Luc Dendooven y a la Mtra. Carolina Vega, del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, del CINVESTAV- Instituto Politécnico Nacional- por las sugerencias y colaboración dada para mejorar el contenido y la realización de este documento.

Al Prof. Ángel Durán, por su valiosa ayuda y asesoría en aspectos importantes durante la realización de esta tesis.

A la Dra. Nathalie Cabirol por su gran apoyo, su paciencia y ayuda durante la realización de este trabajo, sobre todo por la confianza que me brindó al haberme permitido formar parte de este proyecto, el cual me dejó grandes enseñanzas.

Al Biol. Marcelo Rojas por sus enseñanzas, consejos y apoyo, tanto en lo técnico como en lo personal.

## ÍNDICE

ÍNDICE.....	I
LISTA DE TABLAS.....	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
ABREVIATURAS .....	V
RESUMEN .....	1
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>2</b>
1.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
1.2. OBJETIVOS PARTICULARES .....	3
1.3. ALCANCES.....	3
1.4. JUSTIFICACIÓN.....	4
<b>2. DEFINICIONES Y CONCEPTOS GENERALES.....</b>	<b>5</b>
2.1. ASPECTOS GENERALES DEL SUELO .....	5
2.1.1. <i>Características físicas del suelo</i> .....	6
2.1.1.1. Textura.....	6
2.1.1.2. Estructura del suelo.....	7
2.1.1.3. Densidad y porosidad del suelo .....	7
2.1.1.4. Humedad del suelo.....	7
2.1.1.5. Temperatura del suelo.....	8
2.1.2. <i>Características químicas del suelo</i> .....	8
2.1.2.1. pH del suelo .....	8
2.1.2.2. Capacidad de Intercambio Catiónico y Porcentaje de Saturación de Bases .....	8
2.1.3. <i>Suelos con características salino sódicas</i> .....	9
2.1.3.1. Salinización.....	9
2.1.3.2. Sodicación.....	9
2.1.3.3. Medida de la salinidad: conductividad eléctrica (CE).....	10
2.1.3.4. Suelos salino sódicos .....	10
2.1.3.5. Efectos de la salinidad y/o sodicación.....	11
2.1.3.6. Manejo y mejoramiento de los suelos salino-sódicos .....	13
2.2. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO .....	14
2.2.1. <i>Antecedentes</i> .....	14
2.2.2. <i>Características del suelo de estudio</i> .....	14
2.2.2.1. Vegetación .....	15
2.2.2.2. Clima .....	15
2.2.2.3. Fauna .....	15
2.3. ASPECTOS GENERALES DE LOS BIOSÓLIDOS .....	16
2.3.1. <i>Producción y características de los biosólidos</i> .....	16
2.3.2. <i>Normatividad del manejo de los biosólidos</i> .....	16
2.3.3. <i>Manejo de los biosólidos a nivel mundial</i> .....	17
2.4. USO BENÉFICO DE LOS BIOSÓLIDOS.....	18
2.4.1. <i>Ciclo del nitrógeno</i> .....	19
2.4.1.1. Amonificación .....	20
2.4.1.2. Nitrificación .....	22
2.4.1.3. Inmovilización .....	24
2.4.1.4. Pérdidas de nitrógeno.....	24
2.4.1.5. Desnitrificación.....	25
2.4.2. <i>Tasa agronómica para la aplicación de biosólidos</i> .....	26
2.4.3. <i>Relación Carbono – Nitrógeno</i> .....	27

<b>3.</b>	<b>METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....</b>	<b>28</b>
3.1.	LOCALIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO .....	28
3.2.	RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA .....	29
3.3.	CARACTERIZACIÓN DEL BIOSÓLIDO .....	30
3.4.	PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	31
3.4.1.	<i>Experimento 1: Seguimiento de la nitrificación después de la disposición de diferentes concentraciones de biosólido en el suelo. ....</i>	<i>31</i>
3.4.2.	<i>Experimento 2: Seguimiento de la nitrificación después de la disposición de un biosólido a una concentración dada en un suelo con diferentes concentraciones de sales. ....</i>	<i>33</i>
3.5.	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DEL SUELO .....	34
3.5.1.	<i>Textura .....</i>	<i>34</i>
3.5.2.	<i>Porcentaje de humedad.....</i>	<i>34</i>
3.5.3.	<i>Concentración de sales .....</i>	<i>34</i>
3.5.4.	<i>pH.....</i>	<i>34</i>
3.5.5.	<i>Respiración del suelo .....</i>	<i>35</i>
3.5.6.	<i>Carbono total.....</i>	<i>35</i>
3.5.7.	<i>Análisis de las diferentes formas de nitrógeno .....</i>	<i>35</i>
	▪ Nitrate: El nitrato fue medido, mediante una técnica espectrofotométrica con el reactivo fenil disulfónico (APHA/AWWA/WPCF, 1995) (Anexo 1).....	36
3.6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	36
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>37</b>
4.1.	EXPERIMENTO 1: SEGUIMIENTO DE LA NITRIFICACIÓN DESPUÉS DE LA DISPOSICIÓN DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE BIOSÓLIDO EN EL SUELO. ....	37
4.1.1.	<i>Caracterización del biosólido .....</i>	<i>37</i>
4.1.2.	<i>Caracterización del suelo .....</i>	<i>37</i>
4.1.3.	<i>Efecto de la concentración del biosólido sobre la nitrificación en el suelo salino-sódico estudiado. ....</i>	<i>38</i>
4.1.3.1.	Producción de CO <sub>2</sub> .....	39
4.1.3.2.	Seguimiento del nitrógeno .....	40
4.1.4.	<i>Determinación del Nitrógeno disponible en el biosólido.....</i>	<i>44</i>
4.2.	EXPERIMENTO 2: SEGUIMIENTO DE LA NITRIFICACIÓN DESPUÉS DE LA DISPOSICIÓN DE UN BIOSÓLIDO A UNA CONCENTRACIÓN DADA EN UN SUELO CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SALES. ....	44
4.2.1.	<i>Caracterización del biosólido .....</i>	<i>44</i>
4.2.2.	<i>Caracterización de los suelos estudiados .....</i>	<i>45</i>
4.2.3.	<i>Efecto de la salinidad sobre la nitrificación después de la disposición del biosólido. ....</i>	<i>46</i>
4.2.3.1.	Producción de CO <sub>2</sub> .....	46
4.2.3.2.	Seguimiento del nitrógeno .....	47
4.2.4.	<i>Determinación del Nitrógeno disponible para cada sistema .....</i>	<i>51</i>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>52</b>
<b>6.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>53</b>
<b>7.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>54</b>
<b>8.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>58</b>
8.1.	ANEXO 1.....	58
8.2.	ANEXO 2.....	63
8.3.	ANEXO 3.....	64
8.4.	ANEXO 4.....	65
8.5.	ANEXO 5.....	69

## LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1 Clasificación de las partículas del suelo según criterios establecidos por la Sociedad Internacional de Ciencias del Suelo y al Departamento de los Estados Unidos. (Tan, 2000).	6
Tabla 2.2 Valores de conductividad eléctrica en distintos tipos de suelos.	10
Tabla 2.3 Límites máximos permisibles para biosólidos según EPA de E.U.A.	17
Tabla 2.4 Límites máximos permisibles para biosólidos según Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 para México.	17
Tabla 2.5 Uso benéfico de biosólidos en diferentes países.	18
Tabla 2.6 Ejemplos de requerimientos de nitrógeno por tipo de cultivo.	26
Tabla 3.1 Aspecto morfológico del pasto salado en las tres zonas de salinidad diferentes.	29
Tabla 3.2 Condiciones de los tratamientos que constituyen cada unidad.	32
Tabla 3.3 Condiciones de los tratamientos que constituyen cada unidad.	33
Tabla 4.1 Características del biosólido.	37
Tabla 4.2 Características del suelo.	38
Tabla 4.3 Producción de CO <sub>2</sub> en mg/kg suelo seco a t=14 días.	39
Tabla 4.4 Análisis factorial de variancia: las medias con la misma letra son estadísticamente iguales.	40
Tabla 4.5 Volatilización de NH <sub>3</sub> a t= 14 días.	40
Tabla 4.6 Porcentaje y velocidades de mineralización observada de 0 a 14 días.	41
Tabla 4.7 Nitrógeno disponible en el biosólido.	44
Tabla 4.8 Características del biosólido.	45
Tabla 4.9 Características de los suelos estudiados.	45
Tabla 4.10 Volatilización de NH <sub>3</sub> a t=30 días.	47
Tabla 4.11 Porcentaje y velocidades de mineralización observada de 0 a 15 días.	48
Tabla 4.12 Nitrógeno disponible en el biosólido.	51

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Categorías de suelos, basados en pH, porcentaje de sodio intercambiable y conductividad eléctrica (Bresler, 1982).....	11
Figura 2.2 Ciclo del Nitrógeno.....	20
Figura 3.1 Localización de la zona 36 en el ex-lago de Texcoco.....	28
Figura 3.2 Vista general del área de estudio en el ex-lago de Texcoco.....	29
Figura 3.3 Fotografía del aspecto morfológico de <i>Distichlis spicata</i> en cada sitio.....	30
Figura 3.4 Unidad experimental constituida por la muestra y las dos trampas, en condiciones de aerobiosis.....	31
Figura 4.1 Producción puntual por día de CO <sub>2</sub> .....	39
Figura 4.2 Volatilización puntual por día del NH <sub>3</sub> .....	40
Figura 4.3 Dinámica del nitrógeno antes y después la disposición de diferentes concentraciones de biosólido. Incubación aeróbicamente a 25°C y a humedad constante.....	42
Figura 4.4 Balance del nitrógeno antes y después la disposición de diferentes concentraciones de biosólido. Incubación aeróbicamente a 25°C y a humedad constante.....	43
Figura 4.5 Producción puntual por día de CO <sub>2</sub> .....	46
Figura 4.6 Volatilización puntual por día del NH <sub>3</sub> .....	47
Figura 4.7 Dinámica del nitrógeno antes y después de la disposición de biosólido a suelo con diferentes salinidades.....	49
Figura 4.8 Balance del nitrógeno antes y después la disposición de biosólido a suelo con diferentes salinidades. Incubación aeróbicamente a 25°C y a humedad constante.....	50

## ABREVIATURAS

CIC	Capacidad de Intercambio Catiónico
PSB	Porcentaje de Saturación de Bases
CE	Conductividad Eléctrica
CRA	Capacidad de Retención de Agua
ESP	Porcentaje de Sodio Intercambiable Estimado
NMP	Número Más Probable
ST	Sólidos Totales
E	Energía
C/N	Relación Carbono-Nitrógeno
Tons	toneladas
lb	libras
ha	hectárea
S	Suelo
B	Biosólido
C1	Concentración 1
C2	Concentración 2
C3	Concentración 3
S1	Salinidad 1
S2	Salinidad 2
S3	Salinidad 3
BOA	Bacterias Oxidantes del Amonio
BON	Bacterias Oxidantes del Nitrito
ND	No Determinado

## RESUMEN

En este trabajo se estudio el posible uso de biosólidos como mejoradores de suelo, en especial los producidos por digestión anaerobia termofílica, sobre el suelo salino sódico del ex-Lago de Texcoco, a tres diferentes concentraciones de biosólido aplicado y posteriormente a diferentes salinidades del suelo. El nitrógeno (N) es un elemento importante, encontrado en abonos orgánicos e indispensable en el crecimiento de las plantas, razón por lo cual le confiere gran valor económico a los biosólido. El biosólido estudiado presenta una composición de 11.5 g de N /kg de biosólido seco y 158.2 g de carbono /kg de biosólido seco. En el experimento 1, las concentraciones de biosólido fueron de 50, 100 y 200 mg N /kg biosólido seco. En tanto que el biosólido aplicado a los suelos con diferente salinidad en el experimento 2, fue de 70 mg N. Se realizó el seguimiento de las especies presentes en la nitrificación, antes y después de la disposición del biosólido. En particular se analizó el  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NH}_3$  (volatilización),  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  y N proteico; así como carbono total y  $\text{CO}_2$  desprendido (respiración del suelo), pH y conductividad eléctrica.

Durante el experimento 1, encontramos que la disposición del biosólido revela una actividad microbiana notable relacionada a la respiración del suelo y la mineralización del nitrógeno, haciendo patente la presencia de bacterias responsables de tales comportamientos. Por el otro lado, las condiciones de alta salinidad del suelo afecta a la nitrificación, mientras mayor es su conductividad eléctrica. Cabe mencionar que en ambas partes del experimento, se observó una pérdida significativa de nitrógeno por volatilización, favorecida a su vez por el aumento de salinidad. Aún así, el uso de biosólidos anaerobios, presentan características importantes que pueden ser aprovechadas en suelos del tipo salino, además de que su alto contenido de amonio puede representar una ventaja sobre la utilización de otros biosólidos.

## 1. INTRODUCCIÓN

La sobreexplotación y consecuente degradación y agotamiento de los recursos naturales en el mundo, han propiciado la necesidad de protegerlos, recuperarlos y tratarlos cuando sea posible. Derivado de este inadecuado manejo, la desertificación es uno de los mayores problemas que enfrentamos a escala mundial, particularmente la erosión hídrica, por su alto impacto negativo en contaminación ambiental, degradación ecológica, pérdida de suelos y consecuentes alteraciones económicas, políticas y sociales (Cruickshank, 1999).

La pérdida de suelos procede de la eliminación de la cobertura vegetal. Más del 80% del territorio nacional tiene algún nivel de deterioro y el 30% se estima con erosión fuerte. Las prácticas de sobrepastoreo y con ello la compactación de los suelos por el ganado, la deforestación, las prácticas agronómicas inadecuadas, el abuso de los agroquímicos y las malas formas de uso del agua, son un conjunto de actividades que llevan a los suelos a perder su capacidad productiva; así es como se han producido problemas de erosión, de salinización, de pérdida de hábitat en nuestros ecosistemas y con ello, la pérdida de la flora y la fauna, del potencial productivo y la ruptura de los ciclos hidrológicos. A esto se le llama desertificación (Carabias, 1998).

Por otra parte, un reporte de la *Food and Agriculture Organisation* (FAO) establece que en 1980 no menos del 50% de las tierras irrigadas en el mundo tienen problemas de acumulación de sales en diferentes grados (Kovda, 1980). En México, destaca por problemas de salinidad, la zona del Ex-Lago de Texcoco, suelo desertificado y deshidratado, mediante la acción simultánea de una evaporación del agua superior a las perturbaciones y de las grandes obras de desagüe necesarias como protección contra las inundaciones del valle de la Ciudad de México. La desecación paulatina del lago, a su vez ha propiciado problemas de contaminación ambiental y de salud pública en los habitantes del área conurbada, debido en gran medida a las “tolvaneras” presentes (tormentas de polvo y detritus), que anualmente azotaban el área metropolitana en los primeros meses del año. Dentro del Plan Texcoco, formulado en 1971 por la Presidencia de la República, se estableció como uno de los objetivos, recuperar el suelo salino sódico del Ex-Lago, para su aprovechamiento con fines agropecuarios (Cruickshank, 1999). Durante la última década, este suelo fue propuesto como sitio para la disposición de biosólidos, en el proyecto de Saneamiento del Valle de México por la Comisión Nacional del Agua (CNA, 1995a y b).

Los lodos de desecho una vez estabilizados, reciben el nombre de biosólidos y son objeto de interés para la rehabilitación agronómica o forestal, por sus características sanitarias y alto contenido de nutrientes (Schwartzbrod, 1996, Fernández, 1997; Payet, 1999; Rojas *et al.*, 2001). Para este efecto los biosólidos deberán cumplir con restricciones de la Norma Mexicana (NOM-004-SEMARNAT-2002). Los efectos de mejoramiento obtenidos por este método son duraderos, ya que la aportación de materia orgánica aumenta la resistencia de los suelos a la erosión e incrementa la actividad microbiana (Andreoli *et al.*, 2001).

En este trabajo se considero el uso benéfico de los biosólidos debido a la cantidad significativa de nutrientes contenidos, que le otorgan propiedades fertilizantes. Uno de los

más abundantes es el nitrógeno. Este elemento importante es encontrado en abonos orgánicos e indispensable en el crecimiento de las plantas, confiriéndole un importante valor económico (Andreoli *et al*; 2001). El hecho de que el nitrógeno sea pieza importante del valor productivo de un suelo, nos lleva a darle un seguimiento a las especies presentes en la nitrificación antes y después de la disposición de biosólidos, tomándolo como medida del comportamiento microbiano del suelo. Para esto se evaluó: si en el suelo se está aprovechando el nitrógeno disponible que se le adiciona con el biosólido; como se lleva a cabo el proceso de nitrificación en el suelo durante cierto periodo; así como las pérdidas por volatilización que pudieran darse durante este proceso, debido a las características del suelo.

En este trabajo, tomando el suelo del Ex-Lago de Texcoco como modelo de un suelo salino degradado, tratamos de dar respuesta a tres aspectos: ¿Influye la concentración de un biosólido, para su aplicación benéfica sobre suelos en condiciones de alta salinidad?, ¿El gradiente de salinidad del suelo, influye en el aprovechamiento del nitrógeno disponible en el biosólido agregado al suelo? Y finalmente ¿Cuál es el comportamiento de las especies de nitrógeno durante el proceso de nitrificación, en la interacción biosólido-suelo salino?.

### **1.1.OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la disposición de un biosólido producido por digestión anaerobia termofílica sobre la nitrificación en un suelo extremo salino-sódico: caso particular del suelo del Ex-Lago de Texcoco.

### **1.2.OBJETIVOS PARTICULARES**

- Evaluar experimentalmente el efecto de la disposición de diferentes concentraciones del biosólido sobre la nitrificación de dicho suelo salino-sódico.
- Determinar la cantidad de nitrógeno disponible en el biosólido estudiado.
- Evaluar experimentalmente el efecto de la disposición del biosólido sobre la nitrificación en un suelo con diferente concentración de sales.
- Estimar el mejoramiento del suelo en virtud de la nitrificación, después de la disposición del biosólido.

### **1.3.ALCANCES**

- Desarrollar antecedentes para el uso y disposición de biosólidos como mejoradores de suelo degradado, en el caso particular de suelos salino-sódicos.

- Contribuir con conocimientos técnicos que permitan comprender el efecto de la disposición de biosólidos para un posible mejoramiento del suelo salino-sódico del Ex-Lago de Texcoco.
- Este trabajo es el primero de un proyecto enfocado a la evaluación de los biosólidos producidos por digestión anaerobia termofílica como mejoradores de suelo. Por lo tanto, los alcances de este estudio no incluyen la evaluación de otras especies contenidas en el biosólido, tanto químicas como biológicas, que deben ser estudiadas, así como un estudio de viabilidad económica, lo cual será objeto de trabajos posteriores.

#### **1.4.JUSTIFICACIÓN**

La EPA (*Environmental Protection Agency*, 1996b) propone que los biosólidos pueden ser aprovechables, tanto como fertilizante en reforestación como en agricultura, composta, uso paisajista o recuperador de áreas degradadas; en este mismo contexto en otras partes del mundo propone o ya utilizan los biosólidos en zonas que presentan algunas carencias de nutrientes (Wong *et al.*, 1998; Beltrán-Hernández *et al.*, 1999; Andreoli *et al.*, 2001). De aquí se presenta la alternativa de disponer los biosólidos producidos por digestión anaerobia termofílica como agente mejorador de suelos con características extremas.

Tratando de acotar el campo de trabajo de nuestro experimento, se definió el parámetro que nos permitiría evaluar el comportamiento de nuestro sistema. La decisión fue la de observar el comportamiento que tiene el nitrógeno en el sistema por ser el elemento nutritivo importante en el suelo, en el desarrollo de las plantas y que está contenido en el biosólido, lo cual determina su valor económico. El comportamiento del nitrógeno, debe ser entendido, como la adición del biosólido en aportación de nitrógeno orgánico y amonio al suelo, susceptible de ser aprovechado por plantas y microorganismos y pudiendo ser participante en el proceso de nitrificación.

## **2. DEFINICIONES Y CONCEPTOS GENERALES**

En este capítulo se presenta información de soporte para describir el sistema tanto de suelo como de biosólido, así como también el proceso de nitrificación, información necesaria en la comprensión del presente trabajo.

### **2.1. ASPECTOS GENERALES DEL SUELO**

El suelo tiene cinco roles principales: es soporte en el desarrollo y crecimiento de las plantas; permite el reciclado de nutrientes y desechos orgánicos; es un hábitat para organismos; es un sistema de suministro y purificación de agua y también un medio de ingeniería, es decir un soporte para la construcción de cualquier tipo de estructura (Brady y Weil, 1996).

El término “suelo” se refiere al material exterior, poco compacto, de la superficie terrestre y es un extracto característicamente diferente del lecho rocoso subyacente. Es la región en la que se sustenta la vida vegetal y de la cual las plantas obtienen soporte mecánico y muchos de sus nutrientes. En el aspecto químico, el suelo contiene una gran cantidad de sustancias orgánicas que no se encuentran en los estratos más profundos. En el aspecto microbiológico, se encuentran gran cantidad de bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoarios; es uno de los sitios más dinámicos en interacciones biológicas de la naturaleza, en la cual se realizan la mayor parte de las reacciones bioquímicas involucradas en la descomposición de materia orgánica, la intemperización de las rocas y nutrición de cultivos agrícolas (Porta, 1994).

El suelo está formado principalmente por cinco componentes: materia mineral, agua, aire, materia orgánica y organismos vivos. La cantidad de estos es variable en cada suelo, dependiendo de las características de la zona estudiada, definida por la altitud y latitud del sitio. La materia orgánica y mineral, que forman parte de la porción inanimada, es relativamente fija en un determinado sitio; sin embargo, la proporción de agua y aire varía. El agua y el aire juntos representan aproximadamente la mitad del volumen del suelo, dicho volumen se le denomina espacio poroso. La fracción mineral, que generalmente contribuye con poco menos de la mitad del volumen, se origina de la desintegración de las rocas, modificándose con el transcurso del tiempo. En el caso de los seres vivos del suelo (incluyendo macro y microorganismos) constituyen menos del 1% del volumen total; aun así esta porción es indudablemente esencial para toda actividad biológica como producción de cultivos y fertilidad del suelo; la mayoría de las bacterias son responsables de casi todos los cambios químicos y biológicos por su capacidad de reproducción rápida y de descomponer una gran variedad de sustratos (Porta, 1994).

## 2.1.1. Características físicas del suelo

### 2.1.1.1. Textura

Como los suelos están compuestos de partículas que varían tanto en tamaño como en forma, se necesita especificar la textura, índice de sus propiedades físicas. La textura ayuda a determinar no sólo la factibilidad de abastecimiento de nutrientes, sino también el suministro de agua y aire tan importante para la vida de las plantas (Porta, 1994).

Para poder hacer una identificación informativa de las características del suelo en cuanto a la proporción de partículas de acuerdo a su tamaño, se requiere del análisis mecánico o granulométrico. De acuerdo al criterio establecido por la Sociedad Internacional de Ciencias del Suelo y al Departamento de los Estados Unidos, la clasificación es la siguiente (Tabla 2.1):

**Tabla 2.1** Clasificación de las partículas del suelo según criterios establecidos por la Sociedad Internacional de Ciencias del Suelo y al Departamento de los Estados Unidos. (Tan, 2000).

Estados Unidos		Internacional	
Fracción de suelo	Diámetros (mm)		Diámetros (mm)
Arena muy gruesa	2.00-1.00	Arena gruesa	2.00-0.20
Arena gruesa	1.00-0.50	Arena	0.20-0.02
Arena media	0.50-0.25	Limos	0.02-0.002
Arena fina	0.25-0.10	Arcilla	Menor de 0.002
Arena muy fina	0.10-0.05		
Limos	0.05-0.002		
Arcilla	Menor de 0.002		

De ello, se generan tres grupos principales, fundamentales y generales del suelo: arenas, suelos francos y arcillas; estos a su vez, se dividen en subgrupos.

- **Arenas.** Este grupo incluye a los suelos que contienen arena en un 70% o más de su material en peso. Sus propiedades son desde luego características arenosas, tales como el tamaño pequeño de partícula, que los hace más ligeros, y su baja capacidad de retención de agua en contraste con la naturaleza más tenaz y arcillosa de los grupos de suelos más pesados. Se reconocen dos clases: arena y arena margosa.
- **Suelo franco.** Es el grupo de suelos de consistencia media que contienen muchas subdivisiones. Generalmente, un suelo de este tipo posee cualidades deseables tanto de arena como de arcilla, sin las cualidades indeseables como la baja capacidad de retención de agua y falta de trabazón de la primera, y sin la tenacidad, compacidad y lento movimiento del aire y del agua de la arcilla.
- **Arcillas.** Para que a este suelo se le denomine arcilla, se debe llevar, como mínimo, un 35% de fracción arcillosa, y en el mayor de los casos no menos del 40%. A medida que tiene una concentración mayor de arcillas, se les denomina como arcilla arenosa, cuándo la mayor parte contenida es de arena y arcilla limosa o simplemente arcilla, cuándo el contenido de limo es mayor (Brady, 1991).

Muchos suelos agrícolas son francos, poseen una estructura ideal. Sin embargo, poseen cantidades variables de arena, limo o arcilla, que hacen que se le asigne un nombre diferente. Por lo mismo, existen suelos donde domine la arena, llamados franco arenoso al igual que un suelo franco calcáreo o limoso, franco arcillosos-limoso y franco arcillosos (Brady, 1991).

#### **2.1.1.2. Estructura del suelo**

La estructura del suelo es el resultado del proceso de formación de agregados o unidades estructurales, de las partículas del suelo. Esta conformación espacial tiene tamaño y forma muy característicos; por ejemplo en los campos de cultivo, son conocidos comúnmente como “terrones”. Esta es una formación natural que en los suelos con buena agregación se reporta de un 70 a 80%, mientras que en suelos agotados es menor o igual al 20% en suelos con textura arenosa (Tan, 2000). Los suelos arcillosos presentan una estructura coherente y masiva, forman pocos agregados. Los suelos con buenos agregados presentan una fase continua de poros, mientras que en los suelos muy arcillosos, la fase que presentan es del mismo mineral. El grado o tipo de agregación determina el tipo de aeración, permeabilidad, infiltración y movimiento del agua. La composición y proporciones de los materiales minerales, la presencia de materia orgánica, las condiciones climáticas y la actividad biológica en conjunto, determinan el tipo de estructura del suelo (Fitzpatrick, 1987).

#### **2.1.1.3. Densidad y porosidad del suelo**

La densidad real del suelo es la densidad de los componentes individuales que lo conforman, para la cual la estructura del suelo estudiado debe ser destruida para ser analizada. La densidad aparente del suelo completo, no destruido es el resultado de la densidad misma de los materiales del suelo con su disposición o estructura. Por lo tanto, el suelo poroso puede tener una densidad aparente menor que un suelo compacto, aun cuando la densidad de sus constituyentes individuales de los suelos pudiera ser la misma (FitzPatrick, 1987).

#### **2.1.1.4. Humedad del suelo**

Cuando se habla de humedad del suelo, también se habla de la capacidad de drenaje del mismo, que implica el movimiento del agua dentro del suelo. La humedad está sujeta a cambios de variación ambiental del sitio (FitzPatrick, 1987).

### **2.1.1.5. Temperatura del suelo**

La temperatura del suelo es una propiedad que tiene gran influencia en los procesos bioquímicos y biológicos del suelo. La temperatura determina la tasa de respiración, transpiración, evaporación y procesos de descomposición, así también afecta los procesos de germinación, desarrollo y crecimiento de raíces. La temperatura elevada proviene de la energía solar por medio de radiación. El calor se mueve en el interior del suelo hasta llegar a los 30-50 cm de profundidad y se registra después de 12 horas. La temperatura siempre presenta fluctuaciones horarias, estacionales y diurnas, además de la influencia de otros factores atmosféricos, geográficos y biológicos (FitzPatrick, 1987).

## **2.1.2. Características químicas del suelo**

### **2.1.2.1. pH del suelo**

El pH es un parámetro vinculado con otras propiedades químicas del suelo; sus valores se encuentran entre los 3 y 9, para suelos en condiciones normales. Existen los suelos ácidos, como los pantanos drenados y aquellos que contienen pirita o azufre elemental; en el otro caso, esta los suelos con pH alcalino con alta concentración de sales. Los suelos ácidos se deben a la presencia de iones hidrógeno ( $H^+$ ) y aluminio ( $Al^{3+}$ ), siendo este último liberado por hidrólisis de los minerales primarios o por estar en contacto con sitios con soluciones con intercambio iónico, uniéndose después con iones hidróxido ( $OH^-$ ) precipitando posteriormente y liberando iones de  $H^+$  que se ve reflejado en la disminución del pH (FitzPatrick, 1987). En suelos con valores de pH mayores de 9, se tiene una incorporación de sales, aparte de la concentración salina ya existente, incrementando el porcentaje de iones sodio ( $Na^+$ ) intercambiable, alterando con ello el complejo de intercambio debido a la alta capacidad de solubilización del ión en el medio (FitzPatrick, 1987).

### **2.1.2.2. Capacidad de Intercambio Catiónico y Porcentaje de Saturación de Bases**

La Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) del suelo, es la capacidad de las arcillas de intercambiar y absorber cationes. Las cargas negativas de las arcillas usualmente atraen y aglomeran cationes (iones de carga positiva), y se expresan en mg equivalente en 100g (=cmol(+)/Kg) de suelo. Su intervalo de valores va de 4 a más de 150. Las cargas de los iones negativos pueden ser dependientes o no del pH, y se comporta directamente proporcional con el descenso o incremento en los valores del pH.

El porcentaje de saturación de bases (PSB) se refiere al grado donde el complejo de intercambio está saturado con cationes básicos. Esto ocurre cuando el calcio ( $Ca^{2+}$ ) es dominante y disminuye la precipitación; entonces se incrementa la concentración de bases intercambiables, y mientras esta acumulación continua, se favorece la predominancia de  $Na^+$ , aunque esto depende de la naturaleza del material madre (FitzPatrick, 1987).

### **2.1.3. Suelos con características salino sódicas**

#### **2.1.3.1. Salinización**

La salinización del perfil de un suelo puede ser definida como el incremento en la concentración y la eventual precipitación de sales en solución del suelo. Pueden además distinguirse de la salinización "zonal" asociada con sitios áridos, otras salinizaciones locales como la costera, proveniente de las aguas del mar, ya sea por inundación directa o por la brisa acarreada tierra adentro por el viento (Bresler, 1982).

La presencia de sales solubles en el suelo se dispone de distintas proporciones de los cationes de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , y magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), y los aniones de cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) y sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ); el catión potasio ( $\text{K}^+$ ) y los aniones bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) y nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), se encuentran generalmente en proporciones menores (Richards, 1980). La acumulación de estas sales se produce en condiciones donde la evaporación y transpiración es mayor a la precipitación, aunque también por las sales derivadas de las rocas y sedimentos, o las aportadas en poca concentración pero durante largos periodos de tiempo. El grado de salinización del suelo exhibe con frecuencia, fuertes variaciones espaciales y temporales; el contenido de sales no es una propiedad estable y permanente del suelo. Las variaciones temporales están relacionadas con las precipitaciones pluviales y con la solubilidad de sales debido a la temperatura. Las variaciones espaciales se deben principalmente a efectos topográficos, hidrológicos y edafológicos, como son las distintas propiedades del nivel freático, ascensos capilares, escurrimientos y corrientes de agua (CNA, 1996).

#### **2.1.3.2. Sodicación**

Es un proceso que conduce al incremento del ión  $\text{Na}^+$  sobre los iones divalentes o trivalentes, con el riesgo de una reducción en la estabilidad estructural y de dispersión del material arcilloso. Es el incremento gradual de la saturación de  $\text{Na}^+$  en el complejo de intercambio. Este fenómeno conduce a la expansión y dispersión de las arcillas, debido a la concentración progresiva de las sales del ión  $\text{Na}^+$  en competencia con el  $\text{Ca}^{2+}$  y el  $\text{Mg}^{2+}$  por los sitios de intercambio. Existen dos procesos por los cuales se llega a presentar este fenómeno: el primero ocurre en un suelo no salino, que es salinizado por el  $\text{Na}^+$  y a medida que este se va acumulando, se incrementa su concentración así como la de cationes  $\text{Na}^+$  intercambiable; debido a este incremento, ocurre un reemplazamiento de los cationes divalentes intercambiables generando así el suelo sódico.

En un segundo proceso hay un aporte relativamente bajo de sodio, pero en el suelo se presenta una alta tasa de evaporación de la solución del suelo que contiene una baja concentración de cationes divalentes. En la práctica, la alcalinidad, y los cationes divalentes están presentes como iones  $\text{HCO}_3^-$  y por el  $\text{Ca}^{2+}$ , respectivamente, por lo que después de una evaporación de una solución con una alcalinidad residual, el  $\text{CaCO}_3$  precipita hasta que la mayor parte del  $\text{Ca}^{2+}$  disuelto desaparece, mientras que el  $\text{NaHCO}_3$  y el  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  son acumulados en solución. El aumento de las concentraciones de bicarbonatos y carbonatos disueltos incrementan aun más la precipitación del  $\text{CaCO}_3$ , provocando el reemplazo del  $\text{Ca}^{2+}$  intercambiable por el  $\text{Na}^+$  generando así la sodicación del suelo (Aguirre, 1993).

### 2.1.3.3. Medida de la salinidad: conductividad eléctrica (CE)

La conductividad ha sido el parámetro más extendido y más utilizado para la estimación de la salinidad; este método se basa en la velocidad con que la corriente eléctrica atraviesa una solución salina, la cual es proporcional a la concentración de las sales en solución, que afecta directamente el valor de la conductividad eléctrica. Hasta hace unos años se expresaba en mOhms/cm, actualmente la medición se hace en dS/m (dS=deciSiemens), siendo ambas equivalentes (1mOhms/cm = 1 dS/m). Por lo tanto, la CE refleja la cantidad de sales en solución; la relación entre la CE y la concentración iónica se expresa aproximadamente de la manera siguiente: 2  $\mu$ S/cm = 1 mg/L de sólidos disueltos. Para distinguir el tipo de suelo por salinidad, tenemos la siguiente tabla:

Tabla 2.2 Valores de conductividad eléctrica en distintos tipos de suelos.

Conductividad Eléctrica (CE) (dS/m)	Grado de salinidad	Concentración del extracto saturado (N)	Porcentaje de Na <sup>+</sup> intercambiable (%)
0-2	Suelo normal	0-0.02	
2-4	Suelo ligeramente salino	0.02-0.04	Menos del 20
4-8	Suelo salino	0.4-0.08	20-50
8-15	Suelo fuertemente salino	0.08-0.15	Más del 50
> 15	Suelo extremadamente salino	> 0.15	

(FitzPatrick, 1987)

La CE de un suelo cambia con el contenido de humedad, disminuye en capacidad máxima y aumenta en el punto de marchitamiento del suelo. Se ha adoptado que la medida de la CE se hace del extracto de saturación a 25°C (Bresler, 1982).

Se acepta que las plantas comienzan a ser afectadas de manera adversa cuando el contenido de sales excede del 1%. En este tipo de suelos que exceden los límites, las plantas son halófilas en diversos grados (FitzPatrick, 1987).

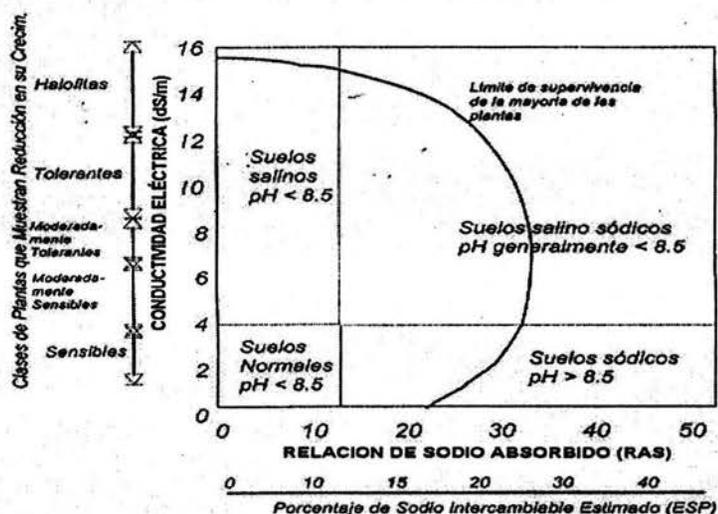
### 2.1.3.4. Suelos salino sódicos

Los suelos afectados por sales se presentan bajo diferentes condiciones ambientales y tienen distintas propiedades morfológicas, físicas, químicas y biológicas, lo que dificulta su clasificación. Sin embargo, tienen en común una elevada concentración de electrolitos, que provoca baja fertilidad y un valor agrícola reducido.

En general como se ha mencionado anteriormente, la acumulación y concentración de las sales transportadas en solución es causada por la pérdida selectiva de agua a través de los procesos de evaporación y transpiración. Las sales se presentan en suelos con problemas de drenaje, una condición que promueve la pérdida de agua por evaporación. Este tipo de suelos pueden hallarse en depresiones o tierras bajas que colectan el agua a través de filtraciones o de flujos superficiales (CNA, 1996).

La diversidad de factores que afectan la acumulación de sales resulta de la distribución heterogénea de las mismas. Estas áreas de suelo con distintos niveles de salinidad provocan un crecimiento vegetal en "parches" que puede ser distinguido en el campo. La diferencias entre las concentraciones de sales de estos sitios se encuentran normalmente asociadas, ya

sea con la topografía dispareja del terreno que causa diferencia de absorción y distribución de agua en los suelos, o con los cambios textuales continuos que afectan los patrones de flujo de agua y de distribución de agua y sales en los suelos (Bresler, 1982).



\*Crecim.= crecimiento

**Figura 2.1** Categorías de suelos, basados en pH, porcentaje de sodio intercambiable y conductividad eléctrica (Bresler, 1982).

Son suelos salino-sódicos aquellos cuya conductividad de saturación es mayor a 4 dS/m a 25°C y el porcentaje de sodio intercambiable es mayor de 15 (Figura 2.1). Este tipo de suelos se forma como resultado de los procesos de salinización y acumulación de sodio, siempre que contenga un exceso de sales, su apariencia y propiedades son similares a la de suelos salinos; se les puede reconocer por la presencia de costras blancas de sal en su superficie. Cuando hay exceso de sales, el pH raramente es mayor de 8.5 y las partículas permanecen floculadas. Si el exceso de sales solubles es lavado, las propiedades del suelo pueden cambiar notablemente. A medida que la concentración de sales disminuye en la solución, parte del sodio intercambiable se hidroliza para formar hidróxido de sodio que, a su vez, puede cambiar a carbonato de sodio (Bresler, 1982; CNA, 1996).

El manejo de suelos salino-sódicos sigue siendo un problema hasta que se elimine el exceso de sales y sodio intercambiable en la zona, restableciendo las condiciones físicas y químicas del suelo.

### 2.1.3.5. Efectos de la salinidad y/o sodicación

En general, la presencia de sales solubles puede afectar a los seres vivos que interactúan en estos ambientes, principalmente a las plantas, de dos maneras diferentes. En primer lugar, las altas concentraciones de iones específicos pueden ser tóxicas y uno de ellos es el  $\text{Na}^+$ , que provocan desordenes fisiológicos. En segundo lugar, las sales solubles disminuyen el potencial osmótico del agua del medio nutritivo, por ejemplo, restringiendo la asimilación de agua por las raíces de las plantas. Las plantas que sufren por la salinidad, detienen su crecimiento en forma típica presentando hojas pequeñas y gruesas de color verde azulado; también presentan mayor turgencia al realizar el ajuste osmótico provocado por la

absorción de iones. La salinidad puede afectar diferentes procesos metabólicos, tales como la asimilación de CO<sub>2</sub>, la síntesis de proteínas, respiración, metabolismos fitohormonales, etc. Sin embargo, es difícil acertar si estas sales causan dichos efectos directamente. La toxicidad comienza con un desbalance de iones en los tejidos de las plantas frecuentemente asociado con el exceso de Na<sup>+</sup>, regulando su asimilación o excretándolo; este proceso requiere de una cantidad de energía extra y por esta razón las plantas sujetas a condiciones de salinidad presentan mayores valores de respiración y reducen el almacenamiento de azúcares en comparación con las plantas de suelos normales (Richards *et al.*, 1984)

La mayoría de las especies que se encuentran en este tipo de suelo marcan sus límites de tolerancia biológica a presiones fisicoquímicas. En los ambientes extremos, la biodiversidad está disminuida, y como resultado lo es la interacción interespecies. Los ambientes termófilos son más restrictivos en la naturaleza, pero no ocurre lo mismo en ambientes halófitos en donde es posible encontrar procariotas del dominio *Bacteria*, de la cual la mayoría son bacterias halótolerantes y del dominio *Archaea*, donde son todas halófilas estrictas (Atlas y Bartha, 2002).

En zonas que presentan concentraciones elevadas de sal, es donde se desarrollan exitosamente las *Archaeas* halófilas extremas y alcalófilas, las cuales requieren concentraciones muy altas de sal, cercanas al punto de saturación para llevar a cabo su metabolismo (Atlas y Bartha, 2002). El valor límite mínimo requerido de concentración salina es 1.5M (alrededor del 9%) para que un organismo de este tipo pueda crecer, aunque la mayoría de estas especies requiere de 2-4M de NaCl (12-23%) para su crecimiento óptimo. En la naturaleza, las arqueas halófilas extremas requieren de 5.5M de NaCl (32%, límite de saturación), aún cuando a estos niveles dichos microorganismos tienen un crecimiento lento (Madigan *et al.*, 1999). Cabe mencionar que en estos ambientes extremos, se encuentran aún bacterias halotolerantes, las cuales toleran las concentraciones elevadas de sal: estas bacterias crecen de manera óptima en ambientes con 3 a 15% de NaCl (Garabito *et al.*, 1997; Atlas y Bartha, 2002).

Las plantas que pueden desarrollarse en estos medios cuentan con mecanismos que les permite enfrentar condiciones de estrés debidas a una variación en la salinidad y/o sodicidad del suelo. La mayoría de los ambientes de las halófitas están en zonas áridas; que generalmente carecen de cobertura vegetal. Las plantas halófilas son capaces de sobrevivir a altas concentraciones de sales, Na<sup>+</sup> principalmente, en su medio y resisten a la salinidad al realizar adaptaciones morfológicas y fisiológicas. Una gran parte de las plantas evaden los sitios con alta salinidad, debido a que limitan su reproducción, crecimiento y germinación en temporadas específicas del año (Aguirre, 1993).

Existe una clasificación de plantas halófilas en función de su adaptabilidad en suelos salinos:

- Verdaderas halófilas.- Plantas que presentan un óptimo desarrollo en suelos con más de 0.5% de NaCl.
- Halófilas facultativas.- Plantas que pueden crecer y alcanzar su óptimo desarrollo en suelos con más del 0.5% de NaCl así como en suelos no salinos.

### **2.1.3.6. Manejo y mejoramiento de los suelos salino-sódicos**

Existen diferentes métodos para recuperar suelos con problemas de salinidad, pudiendo dividirlos en físicos, químicos, hidrotécnicos y biológicos. Todos estos tienen como objetivo mejorar la permeabilidad del suelo y propiciar el intercambio de calcio por sodio en el complejo de intercambio. En general, es posible utilizar más de un método y combinarlo en el tratamiento del suelo.

- **Métodos físicos.-** Consisten en dar un tratamiento mecánico al suelo, siendo posible un subsuelo, en arado profundo, la aplicación de arena o inversión de perfil con el propósito de invertir las capas endurecidas, como pisos de arado, capas de carbonatos sulfatos precipitados que impiden el paso del agua a través del perfil del suelo.
- **Métodos químicos.-** Consiste en agregar sustancias al suelo con la finalidad de solubilizar el calcio existente o en caso de que este no exista agregarlo directamente en forma soluble, para propiciar el intercambio catiónico y la sustitución del sodio en el complejo de intercambio.
- **Métodos hidrotécnicos.-** Consiste en aplicar camas de agua con el fin de que se disuelvan las sales solubles del suelo. La recuperación de suelo por esta técnica es complicada, porque hay que tomar medidas especiales durante el lavado, ya que se pueden degenerar los suelos sódicos, al lixiviarse o precipitarse las sales de calcio.
- **Métodos biológicos.-** Consiste en hacer uso de la materia orgánica (estiércol, abonos verdes, rastrojo, lodos residuales, biosólidos y plantas tolerantes a las sales) para propiciar una mejora en la permeabilidad del suelo (Richards *et al.*, 1984).

El efecto benéfico de la vegetación se debe a la acción mecánica de sus raíces, la cual incrementa la permeabilidad y la conductividad hidráulica del suelo. La materia orgánica adicionada contribuye a mejorar las características físicas del suelo, favoreciendo la textura en la formación de agregados, mejorando a su vez la aeración y la permeabilidad del suelo, al igual de aumentar la retención de agua (CRA). En cuanto a las características químicas aporta nutrientes, aumenta la capacidad de intercambio catiónico (CIC) haciendo más asimilable los abonos minerales, mantienen el fósforo en estado disponible debido a la formación de complejos fosfo-húmicos y por último es soporte de los microorganismos que viven a sus expensas y la degradan beneficiándose también de las características biológicas del suelo (Richards *et al.*, 1984).

La aplicación de lodos residuales, ya sea estabilizados (llamados biosólidos) o no, es una práctica que actualmente ha tomado importancia debido a las ventajas que presenta sobre otras opciones. Dependiendo del contenido de patógenos y de metales, los lodos se pueden disponer en diferentes tipos de terreno como son los agrícolas, forestales, áreas verdes, y suelos contaminados y/o degradados. La disposición de lodos o biosólidos al suelo puede ser superficial o bien mezclándolos con el suelo, lo que se conoce como una incorporación o por debajo de la superficie del suelo. La adición de biosólidos o lodos provoca cambios en las características físicas, químicas y biológicas del suelo continuando los cambios tanto en microorganismos como en plantas (Andreoli *et al.*, 2001).

## **2.2. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO**

Las características que definen el Ex-lago de Texcoco, así como su cercanía con el D.F. han obligado al gobierno federal a prestar atención a los problemas que se desarrollan en esta área. El fenómeno que más afecta a los pobladores de zonas aledañas son las tolvaneras durante época de secas; este problema tiene su origen en el desecamiento del lago, dejando al descubierto extensiones considerables de sedimentos aluviales, las cuales al secarse y por la acción del viento ocasionan tolvaneras que afectan el ambiente y son fuente de infección y enfermedades en la población (Cifuentes, 1992 y 1995; CNA, 1996).

La presencia de suelos desnudos obedece al limitado establecimiento de especies vegetales sobre áreas desecadas, cuyo suelo se ve afectado por la presencia de altas concentraciones de sales y sodio; aunado a esto, las características climáticas extremas presentes en la zona como son: temporadas de intensa sequía y elevadas temperaturas, en contraste con los veranos con abundantes lluvias, que llegan a inundar los terrenos, y los inviernos con temperaturas de bajo cero, tasas de evaporación muy altas, que superan tres veces la precipitación total anual. Todo esto complica el manejo y dificulta el establecimiento y desarrollo de prácticas de conservación de la zona como de las especies vegetales con posibilidad de uso agrícola, pecuario o forestal (CNA, 1996).

### ***2.2.1. Antecedentes***

Por su origen y características físicas, el Ex-lago de Texcoco siempre ha presentado serios problemas para los pobladores de sus alrededores. En la época prehispánica, la gran Tenochtitlán prosperó rodeada de extensiones cubiertas de agua. Por el lado norte de Texcoco el agua era salada, y debido a las inundaciones frecuentes se realizó la construcción de un dique para resolver el problema. Para el periodo del Virreinato, la extensión de los lagos se ha reducido; sin embargo, en la ciudad persiste el problema de inundación, por lo cual se llevó a cabo la construcción de otros diques que frenaran este problema. Posteriormente se realizó la construcción de un canal que iniciaba al noreste de Texcoco y llegaba a Huehuetoca. Años después, se inició la construcción del Túnel de Tequisquiác y del Gran Canal de Desagüe. Las obras anteriores provocaron una reducción notable en la cantidad de agua en el lago, hasta casi desaparecerlo.

### ***2.2.2. Características del suelo de estudio***

El suelo del Ex-lago de Texcoco tiene su origen en la precipitación mineral de los volcanes que rodean el valle de México. Son suelos grises-negros con contenidos aproximados de 5% de materia orgánica. Sus texturas son variadas desde francos, migajones limosos, arenosos arcillosos y arcillas, con estratos grises y olivo saturados de agua. Tiene problemas de exceso de sales solubles, fundamentalmente de sodio. Durante época de secas, las sales ascienden por capilaridad formando manchones, que resultan de una alta heterogeneidad espacial. La mayoría son suelos salino-sódicos, con predominio de los iones cloruro, carbonato y bicarbonato de sodio, así mismo como contenido de sodio intercambiable (CNA, 1996).

### 2.2.2.1. Vegetación

Son suelos poco fértiles por su baja permeabilidad, alta presión osmótica y un rango de pH que varía entre 9.9 y 10. La vegetación nativa está representada principalmente por *Suaeda nigra*, conocida como “romerillo”. Sin embargo, fueron introducidas plantas halófitas: se caracterizan por su resistencia a las concentraciones de sales existentes, donde se registran valores de pH mayores de 8; las especies principales son *Distichlis spicata*, pasto salado; *Eragrostis obtusiflora*, *Tamaris sp.*; de las tres especies mencionadas, la primera ofrece mayor resistencia a condiciones extremas de salinidad, inundación y sequía. Según la salinidad, sufren modificaciones de carácter morfológico, como la reducción de su tamaño y el número de estomas, así como modificaciones fisiológicas, como el cambiar la concentración del “jugo” celular y en consecuencia la presión osmótica, lo que les permite sobrevivir en estas condiciones (SRH, 1971; Luna, 1980; Garzón, 1986).

### 2.2.2.2. Clima

El clima en la zona del Ex-lago de Texcoco es semidesértico, con verano fresco (temperatura del mes más caliente menor de 18°C) y lluvioso; el invierno con una precipitación total menor al 5 % anual.

La precipitación se presenta de manera irregular y de tipo torrencial, definiéndose un periodo lluvioso de seis meses que comprende de mayo a octubre. Las variables climatológicas más significativas son registradas en las estaciones Centro del Lago y Lago Nabor Carrillo.

La evaporación es muy superior a las precipitaciones, alcanzando valores por encima de los 2000 mm anuales, factor que debe tomarse en cuenta debido a las pérdidas que se producen.

Los vientos se presentan en todo el año, los más intensos son los registrados de marzo a mayo con velocidades que van de los 9 a los 11 m/s. Los vientos predominantes son los del norte que provienen de las montañas y son vientos fríos que soplan de norte a sur durante las noches. Los vientos del noreste son polares que entran al Ex-lago de Texcoco y salen por Ameca, algunas veces van rumbo al Valle de Toluca (SARH, 1970).

### 2.2.2.3. Fauna

La fauna que constituye el ecosistema del Ex-lago de Texcoco se considera como pobre, ya que por ser escasa en vegetación, la disponibilidad de alimento y refugio también disminuye, excepto en sitios muy recuperados por la presencia de agua y pasto, donde se observan pequeños roedores de campo y liebres. Sin embargo, la gran parte de la zona, por sus condiciones físicas y químicas, se conforma por insectos, en su mayoría diversos tipos de moscos y algunas especies de aves básicamente migratorias procedentes de Alaska, Canadá y Estados Unidos que año con año llegan al Valle de México durante el otoño e invierno (agosto-enero) (Garzón, 1986).

## **2.3. ASPECTOS GENERALES DE LOS BIOSÓLIDOS**

### ***2.3.1. Producción y características de los biosólidos***

Los lodos producidos de la depuración de las aguas residuales constituyen una suspensión concentrada de contaminantes presentes en el agua residual cruda y en consecuencia, contienen microorganismos patógenos y parásitos, así como una gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos, algunos de ellos tóxicos en diferente grado (Rojas Oropeza *et al.*, 2001).

Generalmente los lodos provenientes de aguas de desecho municipales no presentan problemas por contaminación con metales, aunque se dé el caso; sin embargo, se caracterizan por generar malos olores y atracción de vectores debido a la presencia de componentes orgánicos, nutrientes orgánicos tales como carbón, nitrógeno y fósforo, elementos trazas y componentes tóxicos inorgánicos y orgánicos. Entre los problemas más graves que presentan, es su contenido de microorganismos patógenos y parásitos (Lue-Hing *et al.*, 1998).

Con el fin de eliminar dichos problemas y responder a las normatividades de cada país, el tratamiento de lodos es indispensable con el objetivo de reducir el volumen de vertido, modificar la naturaleza del lodo eliminando materia indeseable convirtiéndolo en inofensivo y buscar alternativas para disponerlo. Esto implica separar las fases de agua sólido para hacer su transporte más económico, estabilizar la materia orgánica para eliminar el riesgo de putrefacción, destruir los microorganismos patógenos, controlar el problema de olores y de atracción de vectores de enfermedades, así como remover tóxicos, si los hubiese (EPA, 1996a). En este contexto todos los lodos tratados son llamados biosólidos.

Son varios los tratamientos disponibles para realizar la estabilización de lodos de desecho de distinto origen. Pueden ser físicos como la incineración, secado por calor, tratamiento por calor, irradiación con rayos beta y irradiación por rayos gamma; químicos como la estabilización alcalina (con cal) y la ácida y biológicos como el composteo, digestión anaerobia termofílica o mesofílica y digestión aerobia. La EPA reconoce dos clases de biosólidos, siendo la clase "A" los producidos por la digestión aerobia y anaerobia, secado por aire y composteo sin un estricto control de temperatura y de clase "B" los estabilizados con cal (EPA, 1996a).

### ***2.3.2. Normatividad del manejo de los biosólidos***

Una vez que los lodos han sido tratados, pueden ser aprovechados; la EPA (*Environmental Protection Agency*, 1996b) en su apartado 503 establece que los biosólidos pueden ser utilizados cuando son empleados como fertilizantes en cultivos agrícolas o en otro tipo de vegetación, o bien ser descargados en un sitio de disposición final (por ejemplo, en rellenos sanitarios). El uso de biosólidos como fertilizante es el que representa una opción con mayores ventajas en cuanto a la remediación de suelos.

El uso de los biosólidos se puede aprovechar en beneficio del suelo en agricultura, reforestación, uso paisajista, como composta (en jardines y macetas) y en la recuperación

de áreas degradadas. Esta última se determina dentro de la técnica de mejoramiento de suelo, ya que en las otras técnicas su uso es en suelos no degradados, sólo como abono orgánico (Andreoli *et al.*, 2001).

Dentro de la EPA (1996a), se establece que los biosólidos deben cumplir con la normatividad para microorganismos patógenos y parásitos (Tablas 2.3 y 2.4): un biosólido clase "A" puede ser dispuestos en cualquier sitio, habiendo mayores restricciones para un biosólido clase "B", pues su aplicación es definida por el tipo de cultivo o exposición pública.

**Tabla 2.3** Límites máximos permisibles para biosólidos según EPA de E.U.A.

CLASE	PATÓGENOS		PARÁSITOS
	<i>Coliformes fecales</i> NMP/gST	<i>Salmonella sp.</i> NMP/gST	<i>Huevos de Helminto</i> Viabiles NMP/4g ST
A	Menos de 1,000	Menos de 3	Menos de 1
B	Menos de 2,000,000	ND	ND

Fuente: EPA Apartado 503 Norma para el uso y disposición de los lodos de desecho, 1996, b.

**Tabla 2.4** Límites máximos permisibles para biosólidos según Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 para México.

CLASE	PATÓGENOS		PARÁSITOS
	<i>Coliformes fecales</i> NMP/gST	<i>Salmonella sp.</i> NMP/gST	<i>Huevos de Helminto/gST</i>
A	Menos de 1,000	Menos de 3	Menos de 1*
B	Menos de 1,000	Menor de 3	Menor de 10
C	Menos de 2,000.000	Menor de 300	Menor de 35

\* Huevos de Helminto Viabiles.

Los biosólidos son materiales que pueden ser reciclados para obtener un beneficio de ellos, generalmente es en la aplicación de suelos para tomar ventaja de su contenido de nutrientes. Una de las maneras de evaluar cual es el alcance del mejoramiento de suelos por la aplicación de un biosólido, es por medio de la presencia del nitrógeno incorporado por los microorganismos, principalmente las bacterias (Andreoli *et al.*, 2001; Lue-Hing *et al.*, 1992).

Para que los biosólidos puedan ser aplicados, deberán cumplir con los factores inherentes al propio biosólido como son los criterios sanitarios, el contenido de metales pesados, su valor agronómico, así como con la estabilización del mismo. Por otra parte se deben de conocer en que áreas pueden aplicarse, determinando las restricciones del ambiente como son la proximidad con zonas residenciales, recursos hídricos y cultivos y con las restricciones del mismo suelo como son limitantes edafológicas y podológicas (Lue-Hing *et al.*, 1998).

### 2.3.3. Manejo de los biosólidos a nivel mundial

Los lodos producidos en la depuración de las aguas residuales constituyen una suspensión concentrada de los contaminantes presentes en el agua residual cruda y en consecuencia

contienen microorganismos patógenos y parásitos, así como una gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos, algunos de ellos tóxicos en mayor o en menor grado (Rojas Oropeza *et al.*, 2001). Con el fin de eliminar dichos problemas y responder a la normatividad de cada país, el tratamiento de lodos es indispensable, lo cual presenta como objetivos: reducir su volumen de vertido y modificar la naturaleza del lodo con el fin de volverlo inofensivo para el ambiente (EPA, 1996a). En este contexto, los lodos de desecho que han sido tratados reciben el nombre de biosólidos.

Una vez estabilizados estos biosólidos pueden ser utilizados, si cumple con los requerimientos, que dicte la normatividad de cada país; en el caso de los Estados Unidos de América, la EPA (1996a) establece en su apartado 503, lo siguiente: 1) pueden ser aplicados como fertilizantes en cultivos agrícolas, 2) descargados en un sitio de disposición final y 3) incinerados. Esta experiencia ha sido realizada por diferentes países en el mundo, en mayor o menor proporción, según la problemática (Tabla 2.5).

Tabla 2.5 Uso benéfico de biosólidos en diferentes países.

Uso (%)	EUA	UE	África del Sur
Aplicación en suelos	41	37	61
Otros	8	6	13
Total, <i>Uso benéfico</i>	50	43	74
Descarga	17	46	23
Incineración	22	11	-
No especificados	11	-	3

EUA, Estados Unidos de América; UE, Unión Europea; (Matthews, 1997).

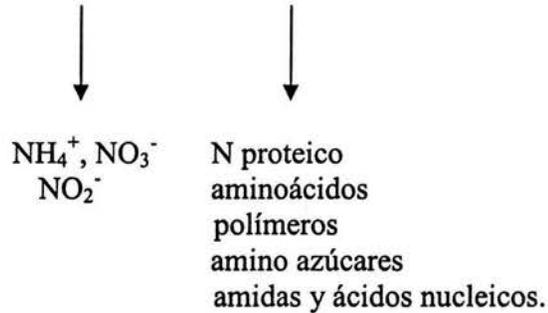
## 2.4. USO BENÉFICO DE LOS BIOSÓLIDOS

El interés agrícola para el biosólido, está asociado con la cantidad de nutrientes (N, P y micronutrientes) y su contenido de materia orgánica. Los efectos de la materia orgánica no sólo se analizan a largo plazo, mejorando no sólo la erosión, sino también activando la vida microbiana y aumentando la resistencia de las plantas a las plagas y sequías. También se refiere al potencial del lodo como correctivo de la acidez de los suelos, que por otro lado es un factor limitante para la aplicación de biosólidos, siendo que el abuso de la disposición causaría un desequilibrio nutricional, salinización y aumento de los niveles de pH, que perjudicaría el desenvolvimiento de los microorganismos nativos (Thompson, 1980; Andreoli *et al.*, 2001).

De los tres elementos aplicados en fertilizantes comerciales, el nitrógeno es el de mayores y de más rápido efectos. Tiende en principio a favorecer el crecimiento vegetativo superficial del suelo e impartir un favorable color verde a las hojas, además de ser un regulador en el uso del potasio, fósforo y otros constituyentes. Las plantas que reciben una cantidad insuficiente de nitrógeno quedan aturdidas en su crecimiento y poseen un sistema radicular restringido. Por otro lado, la aportación excesiva de nitrógeno puede provocar un retardo de la maduración en la planta o cultivo al favorecer el crecimiento vegetativo, que continúa verde más allá del tiempo normal de maduración; también puede bajar la calidad del cultivo, sobre todo en ciertos granos y frutos y en ocasiones puede disminuir la resistencia a las enfermedades.

El nitrógeno es el elemento de mayor valor económico en el biosólido, siendo el elemento dando mayor respuesta. De forma general el nitrógeno total presente en los biosólidos se encuentra conformado como sigue:

$$\text{N total} = \text{N inorgánico} + \text{N orgánico}$$



La fracción orgánica de origen principalmente microbiana se encuentra en mayor proporción del nitrógeno total en el biosólido, variando entre un 70 a 90%, dependiendo de su origen. Las formas minerales (nitrítica y amoniacal), representan una pequeña fracción del nitrógeno total, siendo así rápidamente disponibles para las plantas, mientras que el nitrógeno orgánico se debe mineralizar para que pueda ser absorbido por las plantas (Andreoli *et al.*, 2001).

#### 2.4.1. Ciclo del nitrógeno

El ciclo del nitrógeno (Figura 2.2) incluye cuatro reacciones principales: fijación del nitrógeno, amonificación, nitrificación y desnitrificación. También cabe mencionar la pérdida de nitrógeno por adsorción, lixiviación o volatilización.

Inicialmente el nitrógeno en su estado gaseoso,  $\text{N}_2$ , es la forma más estable en la naturaleza y en este estado predomina en la atmósfera terrestre, lo cual implica que es el reservorio más importante disponible en la tierra. Este es fijado por un pequeño grupo de microorganismos que son capaces de reducirlo. El nitrógeno en su forma atmosférica es convertido a amonio, mediante la intervención de dichos microorganismos que pudieran ser aeróbicos o anaeróbicos, heterótrofos o autótrofos, que viven libremente o en simbiosis con plantas y legumbres (fijación simbiótica del nitrógeno). Se requiere de una gran energía para poder romper el enlace  $\text{N}=\text{N}$  del nitrógeno molecular (Madigan *et al.*, 1999; McLaren y Peterson, 1967).





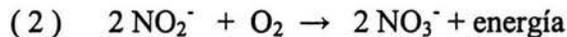
compuestos bioquímicos nitrogenados. El amoníaco y el nitrito son usados comúnmente como donadores de electrones, porque se oxidan aeróbicamente por las bacterias nitrificantes.

El proceso inverso a la mineralización se denomina inmovilización. A largo plazo estos procesos se hallan equilibrados, pero a corto plazo uno u otro puede predominar durante un tiempo. La mejor manera de apreciar este balance consiste en medir la cantidad de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  en el sistema. La velocidad de mineralización del nitrógeno está directamente en función de la actividad microbiana del suelo, la cual depende de la temperatura, la salinidad, la humedad, el pH del suelo, etc. La acción microbiana mineraliza o inmoviliza el nitrógeno; el principal factor que determina estos dos procesos es la relación C/N, ya que los microorganismos utilizan el nitrógeno para construir sus propios materiales y como fuente energética.; la relación 32:1 muestra un punto de equilibrio para la descomposición en unas semanas. Si la relación es mayor a 32:1, el nitrógeno del suelo debe ser inmovilizado; si es menor, ocurre una cierta mineralización al tiempo que se descompone la materia orgánica. Aunque el material orgánico añadido al suelo posea una relación amplia de nitrógeno, eventualmente llega a mineralizarse, pero necesita un periodo de espera o latencia (Buckman y Brady, 1985).

Tanto las plantas superiores como los microorganismos asimilan (absorben) o inmovilizan a los iones  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ . La inmovilización por los microorganismos ocurre porque estos absorben el nitrógeno para sintetizar sus propias proteínas.

#### 2.4.1.2. Nitrificación

La nitrificación es el proceso de oxidación enzimática provocado por un número limitado de bacterias, teniendo dos etapas coordinadas donde aparecen dos grupos diferentes de bacterias. Durante la nitrificación, el amoníaco y los iones amonio se oxidan a iones nitrito (1) y estos son transformados a su vez a iones nitrato (2), como se muestra en las siguientes reacciones:



Casi todos los microorganismos pueden llevar a cabo la amonificación, pero sólo algunos son capaces de realizar la nitrificación. Las bacterias clásicas que generalmente llevan a cabo la nitrificación son *Nitrosomonas* sp. entre otras pocas; *Nitrobacter* sp. oxida el nitrito a nitrato. Estas bacterias son aerobias y autótrofas: obtienen la energía de la oxidación de compuestos inorgánicos del nitrógeno en presencia de amoníaco o nitritos, pero pueden oxidar al amoníaco en condiciones anóxicas. La reacción de oxidación anóxica de amoníaco es muy exotérmica, presumiéndose la acción metabólica anaerobia de las bacterias conocidas.

Estas bacterias aparentemente funcionan bien en condiciones de pH casi neutro o poco alcalino (pH 8.5). *Nitrobacter* es normalmente potencialmente más activa que *Nitrosomonas*, por lo que en suelos bien aireados muestran sólo rastros de nitrito, porque

este es oxidado tan rápido como se produce en nitrato. Esto es favorable, ya que este último ión es tóxico en cierta concentración para las plantas superiores. Sin embargo, en suelos muy alcalinos, en cierta concentración, se sabe que la segunda reacción puede ser detenida hasta después que la concentración de iones  $\text{NH}_4^+$  sea reducida a un nivel relativamente bajo. De esto puede resultar una acumulación de nitritos en suficiente cantidad para afectar adversamente el crecimiento de las plantas (Mc Laren *et al.*, 1967; Buckman y Brady, 1985).

También, las bacterias *Nitrobacter* están mayormente afectadas por las bajas temperaturas, que *Nitrosomonas*, por lo cual se puede presentar acumulación de nitrito (McLaren *et al.*, 1967). La temperatura y el pH presentan un efecto notable sobre los procesos anteriores, de la misma manera otras características del mismo suelo, como la humedad, la falta de nutrientes y de materia orgánica.

Bajo condiciones ideales, la nitrificación se produce a gran velocidad. Se han hallado tasas diarias de 3 a 11 kg de nitrógeno, por 1 millón de kg de suelo, al que se le ha añadido 50 kg de nitrógeno en forma amónica (Buckman y Brady, 1985).

Como se ha mencionado anteriormente, las bacterias nitrificantes son extremadamente sensibles al ambiente, mucho más que los organismos heterótrofos amonificantes. Como resultado, la nitrificación es un eslabón débil en el ciclo del nitrógeno. Por consiguiente, las condiciones del suelo influyen a la nitrificación son las siguientes:

- Aireación.- Ya que la nitrificación es un proceso de oxidación, cualquier procedimiento que aumente la aireación del suelo podrá favorecerlo hasta cierto punto.
- Temperatura.- Las temperaturas óptimas para el proceso es de 27 a 32°C. El rango de temperaturas en el cual se detectó la actividad nitrificante son de 1.5 hasta 51°C. La época de primavera, es la más favorable para el proceso de nitrificación.
- Humedad.- La velocidad con que la nitrificación actúa viene controlada en gran parte por el contenido de agua, siendo un proceso retardado en condiciones de muy alta como de baja humedad. En la práctica se puede decir que la humedad adecuada para las plantas es también la óptima para la nitrificación.
- pH.- El proceso de oxidación requiere una abundancia de bases intercambiables. A esto obedece en parte la baja nitrificación en suelos minerales ácidos y la sensibilidad de los organismos a bajo pH. Sin embargo, la propia acidez, dentro de los límites razonables, parece tener poca influencia sobre la nitrificación cuando están presentes bases adecuadas. A valores de pH por debajo de 5, estos suelos suelen acumular notables cantidades de nitratos.
- Fertilizantes.- Pequeñas cantidades de toda clase de sales estimulan la nitrificación. Altas cantidades de nitrógeno amoniacal aplicado a suelos fuertemente alcalinos hacen bajar la reacción segunda de la nitrificación. Puede ser que el amoniaco sea tóxico a los *Nitrobacter* en estas condiciones, pero no afecta adversamente a los *Nitrosomonas*. Por consiguiente, la acumulación de nitritos puede ocurrir en

cantidades tóxicas cuando los compuestos conteniendo amonio son añadidos a suelos con pH muy alto.

- **Relación carbono-nitrógeno.-** Los carbohidratos, de cualquier procedencia, producen la energía que necesitan, en general, los organismos del suelo, bajo favorables condiciones, y así se inicia este grupo. Como resultado el nitrógeno inorgánico aprovechable del suelo se convierte rápidamente en formas orgánicas de tejidos microbianos. La nitrificación llega así, más o menos, a un punto de estabilidad, ya que también se produce un defecto en nitrógeno consumido por los microorganismos en descomposición.

Después de que la materia carbonada ha sido descompuesta parcialmente, siendo el material energético no muy abundante, la asimilación del nitrógeno se aminora y aparecen en el suelo subproductos amoniacaes. Ahora las condiciones volverán a ser favorables para la nitrificación, y los nitratos podrán de nuevo acumularse. De esta forma, la razón carbono-nitrógeno, a través de su influencia selectiva sobre los microorganismos del suelo y la presencia del nitrógeno, ejerce un control poderoso sobre la nitrificación y la presencia de nitratos en el suelo (Buckman y Brady, 1985).

#### **2.4.1.3. Inmovilización**

La inmovilización constituye la mitad de la parte cerrada del ciclo del nitrógeno. La parte del proceso que comprende la absorción de los iones nitrato y amonio, recibe el nombre de asimilación. La inmovilización incluye a la *asimilación* y la producción de proteínas de manera que los iones orgánicos vengan a formar parte de los bloques que constituyen grandes moléculas orgánicas. La asimilación de los dos iones es indistinta, pero la forma de nitrato se utiliza en mayor proporción por dos razones: la nitrificación actúa con gran rapidez cuando el tiempo es cálido y el crecimiento vegetal, máximo, por lo que la cantidad del ión amonio es pequeña; además los iones amonio se fijan en los sitios de intercambio catiónico, mientras que los nitratos se encuentran en solución en el suelo desde donde son absorbidos por las plantas con gran facilidad (Thompson, 1980).

#### **2.4.1.4. Pérdidas de nitrógeno**

Durante el ciclo del nitrógeno, se pueden presentar algunas pérdidas como son: pérdidas por erosión, perdidas por lavado y por volatilización. Dentro de los lavados, hay un arrastre de nitrato hacia las profundidades del suelo, dependiendo también de la permeabilidad del suelo.

Los nitratos en el suelo, si son agregados en forma de fertilizantes o formados por la nitrificación pueden seguir cuatro direcciones: (1) pueden ser utilizados por los microorganismos; (2) utilizados por las plantas superiores; donde la asimilación de los nitratos por la flora microbiana del suelo o por las plantas superiores se encuentra siempre en competencia. Es probable que una gran proporción sea acaparada por los organismos del suelo, siendo que las plantas superiores no sólo se alimentan de los subproductos nitrogenados, sino también necesitan proveerse por los restos de flora y fauna.

También (3) pueden ser perdidos por lixiviación mediante el drenaje, y (4) escapar del ciclo del nitrógeno en condición volátil. Donde la cantidad de nitratos en la tercera dirección de pérdidas no es muy grande, si el suelo está cultivado; siendo el promedio anual de 6 a 7 kg por hectárea en una región húmeda y de condiciones normales. En suelos desnudos, la pérdida por lixiviación es mucho mayor. Bajo ciertas condiciones de drenaje pobre y escasa aireación, los compuestos nitrogenados pueden ser reducidos escapando el nitrógeno en forma gaseosa por desnitrificación (Buckman y Brady, 1985).

La volatilización del nitrógeno es la reducción bioquímica de los nitratos a compuestos gaseosos, el cual es aumentado por circunstancias de mismas del suelo en humedad y aireación, así como de condiciones de suelo desnudo y altas concentraciones de compuestos nitrogenados móviles (Buckman y Brady, 1985). Por otro lado las pérdidas de nitrógeno por volatilización comprenden al nitrógeno molecular ( $N_2$ ), el amoníaco ( $NH_3$ ) y los óxidos de nitrógeno ( $NO$ ,  $N_2O$ , etc.). En el caso del amoníaco aplicado al suelo, absorbe iones  $H^+$  y forma  $NH_4^+$  que puede ser absorbido por intercambio catiónico; la volatilización de este ión es mínima en condiciones de suficiente humedad y pH bajo. Mills *et al.*, (1974) demostraron que las plantas pueden reducir la volatilización, indicaron que las grandes pérdidas se presentan cuando se aplican cantidades importantes de nitrógeno a suelos alcalino arenosos y carentes de vegetación (Thompson, 1980). El pH influye sobre la naturaleza de los compuestos perdidos, siendo el valor superior a 7 el que más favorece la pérdida de nitrógeno elemental, mientras que los valores por debajo del 6 aumentan la pérdida del óxido nítrico ( $NO$ ) (Buckman y Brady, 1985).

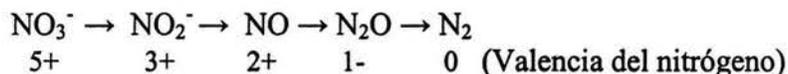
Debido a que el nitrógeno gaseoso no es aprovechable para las plantas superiores, cualquier pérdida extensa, representa un daño en el ciclo del nitrógeno, generalmente un 20% del nitrógeno añadido al suelo, en forma de fertilizante, abono, etc. es perdido principalmente por la volatilización, sobre todo si se aplican grandes cantidades de fertilizante (Buckman y Brady, 1985).

#### **2.4.1.5. Desnitrificación**

Los iones nitrato se pueden incorporar a la materia orgánica por una gran cantidad de microorganismos mediante el proceso de reducción asimilatoria de los nitratos, donde el nitrógeno inorgánico, amonio y nitrato, es incorporado a la materia orgánica (Tan, 2000).

La desnitrificación es el proceso por el cual el  $NO_3^-$  es convertido a  $N_2O$  y  $N_2$  y representa el último paso del ciclo del nitrógeno. Por este proceso el nitrógeno es retornado a la atmósfera en forma de gas, sobre todo en suelos que se encuentran saturados de agua durante gran parte del año. Este paso del ciclo del nitrógeno involucra la acción de bacterias anaerobias. La desnitrificación no se considera un problema en suelo con un buen sistema de drenaje (Thompson, 1980).

En ausencia de oxígeno los iones nitrato pueden actuar como aceptores de electrones, este proceso se conoce como respiración del nitrato, donde se transforma en diferentes productos reducidos, simultáneamente se produce oxidación de materia orgánica. La secuencia de reducción se puede graficar como sigue:



El incremento de los productos de la desnitrificación, depende de factores como el pH, oxígeno, nitrito y nitrato presentes, y de los microorganismos involucrados (Tan, 2000).

#### 2.4.2. Tasa agronómica para la aplicación de biosólidos

Dentro de la normatividad para la disposición de un biosólido, tenemos que determinar la tasa agronómica de aplicación de biosólidos, en la cual se define la cantidad de nitrógeno a aplicar al suelo estudiado en función del tipo de cultivo, y de la cantidad de nitrógeno disponible en el biosólido. Si la cantidad de nitrógeno aplicado excede la tasa agronómica recomendada, la consecuencia podría ser una contaminación por nitrato a los mantos freáticos. Para conocer la cantidad de nitrógeno disponible presente en nuestro biosólido para un suelo definido, debemos tener los siguientes datos de nitrógeno existente en el biosólido:

- Nitrógeno orgánico (C-NH<sub>2</sub>)
- Nitrógeno inorgánico (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)
- Gas (amoníaco NH<sub>3</sub>)

Las plantas sólo pueden asimilar el nitrógeno inorgánico. Una porción del amonio es perdido en la atmósfera por volatilización; así como un porcentaje del nitrógeno orgánico se convierte en disponible por el proceso de mineralización donde las formas orgánicas de nitrógeno son convertidas en amonio. Algo de ese nitrato se pierde por lixiviación a través del suelo. Para cada suelo a estudiar, el objetivo de determinar la tasa de aplicación agronómica es de conocer la cantidad de nitrógeno que puede ser aplicada, sin que este sea perjudicial al suelo (EPA, 1996).

La cantidad de nitrógeno requerido esta dada para cada tipo específico de campo de cultivo y también puede diferir por cada región, y estos datos pueden ser obtenidos de las recomendaciones de fertilizantes y de guías disponibles de las agrupaciones relacionadas con la agricultura y el mismo Departamento de agricultura de los Estados Unidos.

Actualmente en México no se cuenta con alguna legislación que cuente con estos datos por lo que los datos que se muestran en la tabla 2.6 son aplicados en los Estados Unidos, bajo la Legislación de la EPA (1996 a).

Tabla 2.6 Ejemplos de requerimientos de nitrógeno por tipo de cultivo.

Cultivo	Expectativas del campo (plantío/acre/año)	Nitrógeno Requerido (lb N/acre/año)*
Maíz	100	100
Avena	90	60
Pasto	4 tons/acre	200
Sorgo	60	60
Chíncharo	40	30
Trigo	70	105
Germen de soya	40	30

\*Estos datos son muy generales y tienen sólo el propósito de ilustrar; ya que los datos por ejemplo del cultivo de maíz puede variar de acuerdo al tipo de suelo al que se vaya a aplicar, las expectativas del campo y las condiciones climatológicas.

La definición de la tasa agronómica está en función del N disponible presente en el biosólido, por lo que debe ser caracterizado el potencial de mineralización del N-Orgánico, para la realización de ensayos (EPA, 1996a).

Fórmula del cálculo del N disponible (g/kg) para aplicación superficial:

$$N_{\text{disponible}} = f_{\text{org}} (N_{\text{org}}) + f_{\text{vol}} (N_{\text{NH}_4^+}) + N_{\text{NO}_3^-}$$

Donde  $f_{\text{org}}$  = porcentaje de mineralización del biosólido en el suelo estudiado

$f_{\text{vol}} = 1 -$  porcentaje de volatilización del amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) en amoníaco ( $\text{NH}_3$ )

La fracción orgánica  $f_{\text{org}}$  esta en relación directa con la velocidad de mineralización, la cual depende de la temperatura, de la humedad, de tipo de suelo y de su actividad microbiana (Hernández *et al.*, 2002). No hay valor universal, y puede variar de 20 a 70%. La fracción de volatilización  $f_{\text{vol}}$  depende del tipo de suelo (Andreoli *et al.*, 2001). El nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) es directamente asimilable por las plantas, aunque presenta un riesgo de lixiviación, dependiente del suelo.

### ***2.4.3. Relación Carbono – Nitrógeno***

Es la relación que existe entre la materia orgánica y el nitrógeno contenido, ya sea en un biosólido como en el suelo. Generalmente la cantidad de carbono que entra es grande en comparación con la del nitrógeno por lo que se puede decir que la relación pueda ser constante. La importancia de este hecho es el control de nitrógeno asimilable con respecto a la materia orgánica y la medida de desintegración orgánica.

La razón de la importancia de esta relación es que la competencia para el nitrógeno asimilable aparece cuando se tiene una razón C/N alta. En ese caso, se tiene que añadir aditamentos para que se mantenga constante esta relación, así como el mantenimiento del carbono, que depende de manera importante en el nivel del nitrógeno (Brady, 1989; EPA, 1996a).

### 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

#### 3.1. LOCALIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La región de estudio, pertenece al área conocida como el Valle de Anáhuac; constituye una de las cuencas endorreicas que caracterizan esta planicie y se localiza al oriente del Valle de México.

La región estudiada está situada en el centro de la zona federal de lo que se le conoce como el lago de Texcoco. Limita al norte con la compañía Sosa Texcoco (actualmente cerrada); al sur con la autopista Peñon- Texcoco; al este, con el Canal Colector; y al oeste, con el Dren General, que su vez limita con la zona federal del Ex-lago de Texcoco. La zona de muestreo es denominada como el manchón 36 (Fernández-Buces y Siebe, en revisión) ubicado dentro de la misma región antes mencionada, como se muestra en la figura 3.1.

Esta zona fue elegida por su alta variabilidad espacial de concentración de sales dentro de una misma área, factor necesario en el presente experimento; también, fue elegida por considerarse como una de las menos perturbadas por las anteriores obras de rehabilitación. El suelo superficial tiene en general un aspecto de sequedad y quebradizo al contacto, además de la presencia de grietas en algunas zonas sin vegetación. Cabe señalar que en esta zona se encuentra establecida una población de pasto salado, llamado *Distichlis spicata*, variable en relación con la salinidad (Figuras 3.1 y 3.2; Anexo 5).

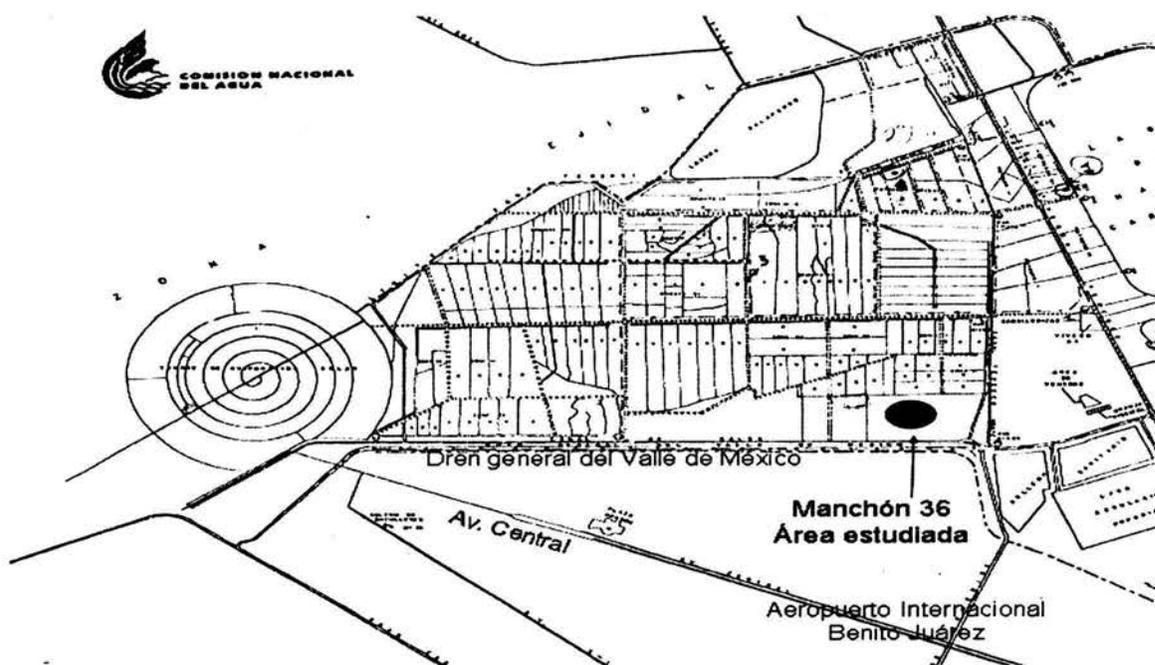


Figura 3.1 Localización de la zona 36 en el ex-lago de Texcoco.



Figura 3.2 Vista general del área de estudio en el ex-lago de Texcoco.

### 3.2. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

El suelo muestreado de la zona de estudio antes mencionada fue recolectado en dos sesiones: la primera en Agosto de 2001 para el experimento 1 y la segunda en Enero del 2002 para el experimento 2. Las muestras fueron colectadas de la parte superficial del suelo con aproximadamente 10 cm de profundidad quitando la costra superficial de sal (1 cm de profundidad), en bolsas de polietileno de aproximadamente 3 kg.

Para el experimento 2, las tres zonas de salinidad fueron elegidas mediante la observación morfológica del pasto salado (Tabla 3.1 y Figura 3.3), así como la toma directa de la conductividad eléctrica (dilución 1:10). Cabe mencionar que para el experimento 1, se recolectó suelo de la zona “Salinidad 3”.

Tabla 3.1 Aspecto morfológico del pasto salado en las tres zonas de salinidad diferentes.

Suelo	<i>Distichlis spicata</i>	
	Altura (cm)	Densidad
Salinidad 1	40	abundante
Salinidad 2	20	abundante a regular
Salinidad 3	15	escasa a nula

Salinidad 1 a 3: de la menor a la mayor salinidad

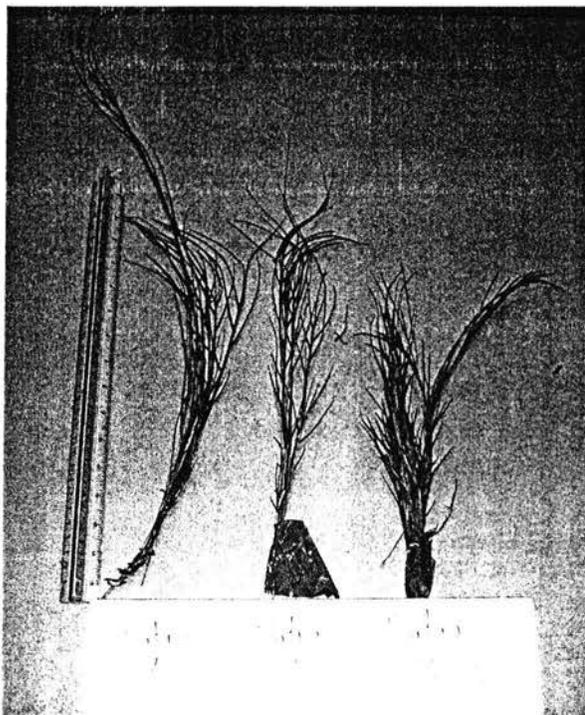


Figura 3.3 Fotografía del aspecto morfológico de *Distichlis spicata* en cada sitio.

Posteriormente, en el laboratorio la muestra se preparó de la manera siguiente: una parte de la muestra fue reservada para el análisis de textura; y la otra parte de la muestra se almacenó en las bolsas abiertas durante una semana en un lugar cerrado y a la sombra permitiendo así la estabilización del suelo. Transcurrido este tiempo, la muestra fue tamizada con un tamiz de número 8 y número 10, marca Mont, a modo de eliminar la mayor cantidad de interferencias, tanto ramas y hojas secas, como partículas de suelo grandes.

Teniendo ya el suelo en estas características, se llevó a cabo una serie de análisis (los cuales serán explicados posteriormente) para conocer sus condiciones iniciales:

- |   |  |
|---|--|
| ✓ pH  | ✓ N-NH <sub>2</sub> (Nitrógeno proteico) |
| ✓ Conductividad Eléctrica del extracto saturado | ✓ NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>           |
| ✓ % de Humedad                                  | ✓ NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>           |
| ✓ Carbono total                                 | ✓ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>           |
|   | ✓ Textura                                |

### 3.3. CARACTERIZACIÓN DEL BIOSÓLIDO

El biosólido utilizado en este trabajo fue proveniente de la estabilización de lodos biológicos por digestión anaerobia termofílica, realizada en el laboratorio 1 del Instituto de Ingeniería de la UNAM. Dicho biosólido es de clase A en relación a los límites de coliformes fecales permitidos, establecidas por la Norma Oficial Mexicana (NOM-004-SEMARNAT-2002) (1000 NMP CF/g ST) (NMP, Número Más Probable) (Rojas Oropeza *et al.*, 2001; Cabirol *et al.*, 2002).

Para conocer las características del biosólido necesarias en el experimento, se requirió el análisis de los siguientes parámetros:

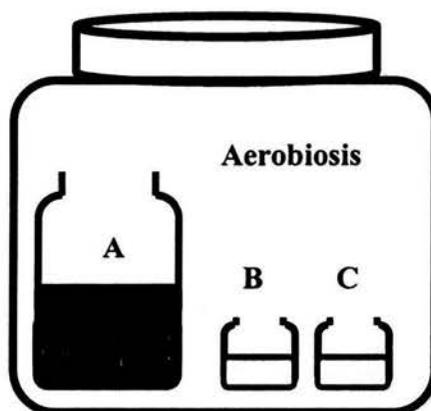
- |                           |  |
|---------------------------|--|
| ✓ pH                      | ✓ N-NH <sub>2</sub> (Nitrógeno proteico) |
| ✓ Conductividad Eléctrica | ✓ NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>           |
| ✓ % de Humedad            | ✓ NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>           |
| ✓ Carbono total           | ✓ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>           |

### 3.4. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

#### 3.4.1. Experimento 1: Seguimiento de la nitrificación después de la disposición de diferentes concentraciones de biosólido en el suelo.

El diseño experimental para estudiar el comportamiento químico del proceso de nitrificación después de la disposición de un biosólido en un suelo salino sódico, consiste en simular a escala laboratorio el sistema suelo-biosólido (microcosmo).

La unidad experimental utilizada fue 50 g de suelo contenido en un frasco de vidrio de 100 mL, al cual le fue adicionado una cantidad determinada de biosólido, denotadas como: C1, C2 y C3 (Concentración 1, Concentración 2 y Concentración 3). Con el objetivo de captar la producción de CO<sub>2</sub> y la volatilización en forma amoniacal (NH<sub>3</sub>) se adecuaron dos trampas, una con hidróxido de sodio y la otra con ácido bórico, respectivamente. Finalmente el sistema compuesto por los tres frascos anteriormente mencionados (sistema de bioensayo) se guardó dentro de un cuarto frasco de 2 L, el cual se mantuvo cerrado la mayor parte del experimento, para evitar pérdidas de los gases medidos; sin embargo, fue abierta regularmente para mantenerlos en condiciones de aerobiosis.



donde

- A, 50 g. de suelo adicionado con [biosólido]
- B, Trampa de hidróxido de sodio para captura de CO<sub>2</sub>
- C, Trampa de ácido bórico para captura de NH<sub>3</sub>

Figura 3.4 Unidad experimental constituida por la muestra y las dos trampas, en condiciones de aerobiosis.

Cada unidad experimental fue hecha por triplicado y está constituido como lo explica la tabla 3.2.

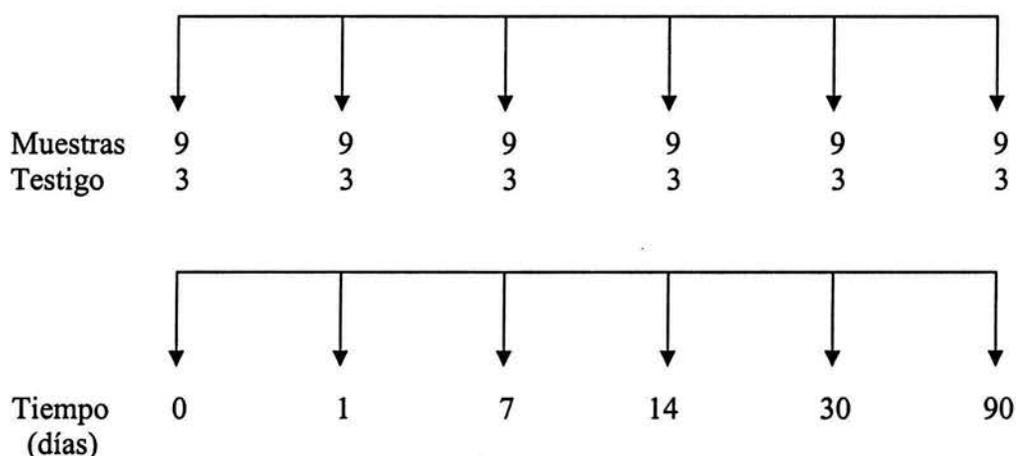
**Tabla 3.2** Condiciones de los tratamientos que constituyen cada unidad.

Tratamiento	Suelo (g)	Suelo estéril (g)	Biosólido (mg N/kg suelo seco)	Biosólido (kg N/ ha)
Testigo*	50	0	0	0
Control estéril 1	0	50	50	115
Control estéril 2	0	50	100	230
Control estéril 3	0	50	200	460
C1	50	0	50	115
C2	50	0	100	230
C3	50	0	200	460

\* El testigo fue ajustado con agua hasta alcanzar el % de humedad de cada unidad adicionada con biosólido.

Para seguir la respiración del suelo, se manejó un testigo denominado Control estéril, para lo cual se preparó la unidad experimental con suelo previamente esterilizado, para cada una de las cantidades de biosólido, como se presenta en la tabla 3.2. Este control estéril nos permitió diferenciar la producción de CO<sub>2</sub> resultante de la respiración microbiana del suelo.

Cada unidad experimental se incubó a temperatura y humedad constantes de 20°C y 20% respectivamente en cuartos controlados del laboratorio de cámaras de temperaturas controladas de la Facultad de Ciencias, UNAM. Los tiempos en que se realizó cada medición fueron los siguientes:



A cada tiempo, tres unidades experimentales de cada tratamiento fueron sacrificadas para realizar la medición de los parámetros siguientes:

- NH<sub>4</sub><sup>+</sup>
- NH<sub>3</sub> (volatilización)
- NO<sub>2</sub><sup>-</sup>
- NO<sub>3</sub><sup>-</sup>
- N-NH<sub>2</sub>.
- pH
- CE<sub>s</sub> (CE del extracto saturado) (salinidad)
- Respiración del suelo

### 3.4.2. Experimento 2: Seguimiento de la nitrificación después de la disposición de un biosólido a una concentración dada en un suelo con diferentes concentraciones de sales.

En este segundo experimento, se utilizó la misma unidad experimental (Figura 3.4). Sin embargo, el factor variable estudiado fue la concentración de sales, manteniéndose constante la cantidad de biosólido dispuesta. Dicha concentración de biosólido fue de 70 mg N/kg de suelo seco, equivalente a 136.5 kg N/ha.

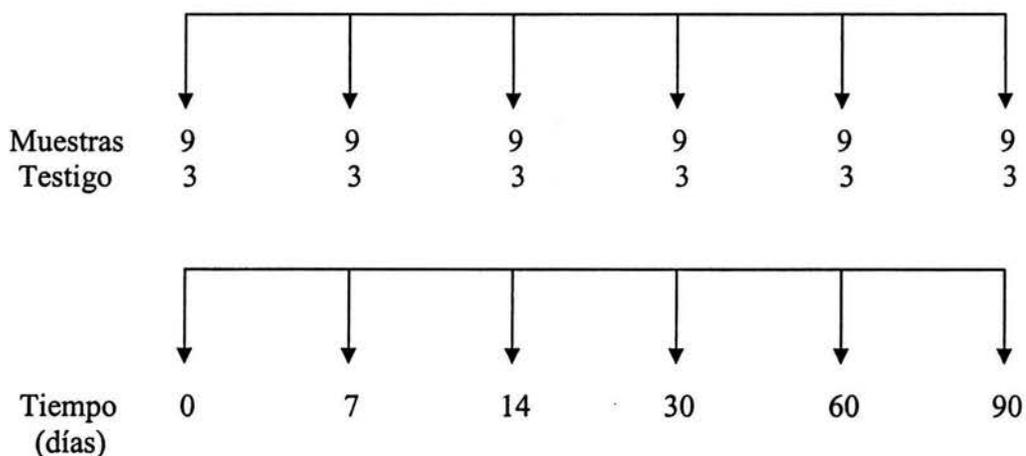
Tabla 3.3 Condiciones de los tratamientos que constituyen cada unidad.

Tratamiento	Suelo (g)	Suelo estéril (g)	CE <sub>e</sub> (dS/m)
Testigo1*	50	0	34.2
Testigo2*	50	0	63.4
Testigo3*	50	0	129.2
Control estéril 1	0	50	34.2
Control estéril 2	0	50	63.4
Control estéril 3	0	50	129.2
Salinidad 1	50	0	34.2
Salinidad 2	50	0	63.4
Salinidad 3	50	0	129.2

\* El testigo fue ajustado con agua hasta alcanzar el % de humedad de cada unidad adicionada con biosólido.

Para seguir específicamente la respiración microbiana del suelo, se manejó un testigo denominado Control estéril para cada salinidad, preparado como se mencionará posteriormente.

Cada unidad experimental se incubó a temperatura y humedad constantes de 20°C y 20% respectivamente en cuartos controlados. Los tiempos en que se realizó cada medición fueron los siguientes:



En este experimento, un tiempo fue cambiado: al lugar de 1 día, se propuso 60 días. Este cambio fue decidido a la luz de los resultados del primer experimento. A cada tiempo, tres

unidades experimentales de cada tratamiento fueron sacrificadas para realizar la medición de los parámetros siguientes:

- NH<sub>4</sub><sup>+</sup>
- NH<sub>3</sub> (volatilización)
- NO<sub>2</sub><sup>-</sup>
- NO<sub>3</sub><sup>-</sup>
- N-NH<sub>2</sub>.
- pH
- CE<sub>s</sub> (salinidad)
- Respiración del suelo

### **3.5. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DEL SUELO**

#### ***3.5.1. Textura***

La determinación de la textura del suelo corresponde a un análisis por gravimetría, el cual nos especifica la clase de partículas que están presentes, mediante el uso de tamices de diferente tamaño de poro. Dichos tamices fueron puestos en columna, haciendo pasar la muestra a través de las mallas y posteriormente pesando cada fracción atrapada en cada tamiz (Thompson, 1980). La clasificación de las partículas del suelo, se basó en los criterios establecidos por el Departamento de Ciencias del Suelo de los Estados Unidos (Tan, 2000). Este análisis se realizó a cada muestra al momento de cada recolección de suelo.

#### ***3.5.2. Porcentaje de humedad***

Para determinar la cantidad de agua contenida tanto en el suelo como en el biosólido, se tomó 10g de suelo o 10 ml de biosólido, los cuales han sido deshidratados en una estufa a 120°C durante 12 horas. Este análisis se realizó a cada muestra al inicio de cada experimento.

#### ***3.5.3. Concentración de sales***

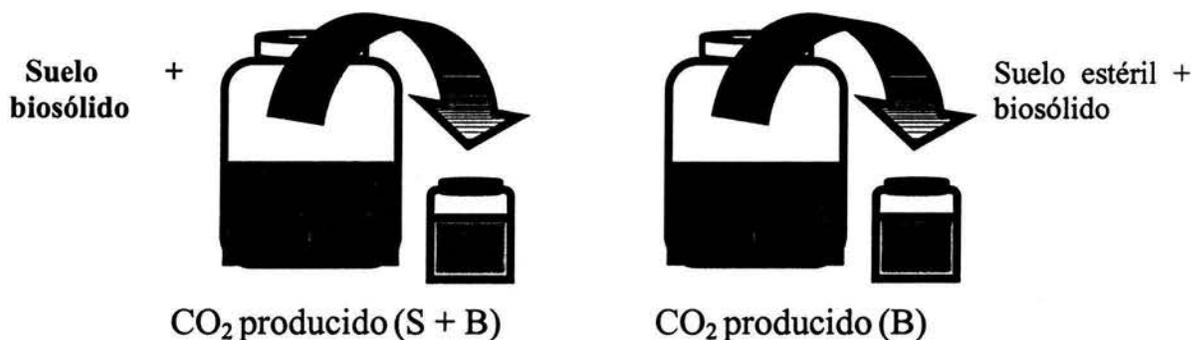
La conductividad eléctrica (CE) de la muestra es indicador de la salinidad del suelo. Se usó un equipo marca Orion, modelo 1230, electrodo Orion 013010. En campo, la CE directa se midió a partir de una dilución del suelo de 1:10. En laboratorio, se realizó un extracto saturado de cada suelo, de los cuales se midió su CE real, que depende en parte de la capacidad de campo, de su densidad y textura. El extracto saturado se preparó de la manera siguiente: se toma 100 gramos de suelo el cual es humectado hasta la saturación adicionando en poca cantidad agua destilada, 1 hora después se filtró por vacío y al filtrado se tomó la CE. Este análisis se realizó a cada muestra al inicio de cada experimento.

#### ***3.5.4. pH***

La medición de este parámetro fue realizada con un equipo Orion modelo 1230, electrodo Orion pH Triode 9107WP. Este análisis se efectuó a cada muestra al inicio y al final de cada experimento.

### 3.5.5. Respiración del suelo

La respiración del suelo se midió mediante un testigo denominado Control estéril, para lo cual se preparó la unidad experimental con suelo previamente esterilizado. Este control estéril nos permitió diferenciar la producción de CO<sub>2</sub> resultante de la respiración microbiana del suelo, como se lo esquematiza en la siguiente figura:



Donde S corresponde a la respiración de la biomasa microbiana del suelo.

B corresponde a la respiración de la biomasa microbiana del biosólido.

Mediante el siguiente calculo, se obtiene la producción de CO<sub>2</sub> específica de la biomasa microbiana autóctona del suelo:

$$(S+B) - (B) = (S) = \text{Producción de CO}_2 \text{ del suelo}$$

Se cuantificó el CO<sub>2</sub> por medio de una trampa de NaOH 0.1N (Page *et al.*, 1982) (Anexo 1).

### 3.5.6. Carbono total

El carbono total fue determinado por la digestión con ácido sulfúrico y fosfórico, posteriormente una titulación con Sulfato Ferroso Amoniaco, teniendo como indicador a la o-fenantrolina (Harris C. D, 1992) (Anexo 1).

### 3.5.7. Análisis de las diferentes formas de nitrógeno

Para poder realizar los siguientes análisis en el suelo, se requirió realizar previamente una extracción del suelo con K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5M en una relación 1:4 para ser posteriormente agitado y filtrado con papel filtro Whatman N°40 (Anexo 1). Cabe señalar que estos parámetros fueron medidos a cada tiempo establecido por los experimentos.

- **Nitrógeno Kjeldahl:** El nitrógeno total fue determinado mediante esta técnica (Jackson, 1980), donde se utiliza una unidad de digestión marca Buchi modelo 435 (APHA/AWWA/WPCF, 1995) (Anexo 1).

- **Nitrógeno proteico:** El nitrógeno orgánico fue medido por el método fotocolorimétrico con reactivo de ninhidrina (Jorgensen y Brookews, 1990). El equipo usado fue un espectrofotómetro marca Beckman modelo DU 650 (Anexo 1).
- **Nitrógeno amoniacal:** El nitrógeno amoniacal fue determinado a partir de una destilación en medio básico, para la cual fue utilizada una unidad de destilación marca Buchi, modelo 323 (Bremner y Keeney, 1966) (Anexo 1).
- **Nitrito:** El método para medir el nitrito fue colorimétrico utilizando un espectrofotómetro marca Beckman modelo DU 650 (con reactivo  $\alpha$ -naftilamina y EDTA) (APHA/AWWA/WPCF, 1995) (Anexo 1).
- **Nitrato:** El nitrato fue medido, mediante una técnica espectrofotométrica con el reactivo fenil disulfónico (APHA/AWWA/WPCF, 1995) (Anexo 1).
- **Amoniaco volatilizado:** Se cuantificó el amoniaco volatilizado por medio de una trampa de ácido bórico al 2% (Beltrán-Hernández *et al.*, 1999) (Anexo 1).

### **3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados experimentales fueron evaluados estadísticamente con un análisis de varianza seguido por una prueba de DUNCAN, mediante un SAS *Statistical Analysis* ANOVA MANOVA V.6.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. EXPERIMENTO 1: SEGUIMIENTO DE LA NITRIFICACIÓN DESPUÉS DE LA DISPOSICIÓN DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE BIOSÓLIDO EN EL SUELO.

#### 4.1.1. Caracterización del biosólido

Para poder definir la cantidad de biosólido a disponer en el suelo, se necesitó caracterizar el biosólido en relación con el nitrógeno, como se presenta en la tabla 4.1.

Tabla 4.1 Características del biosólido.

Parámetros medidos	Resultados
pH	7.2
Contenido de agua	970 g.kg <sup>-1</sup> biosólido
% de humedad	97
Nitrógeno Total	11.5 g.kg <sup>-1</sup> biosólido seco
Nitrógeno amoniacal	4.52 g.kg <sup>-1</sup> biosólido seco
Carbono Total	158.2 g.kg <sup>-1</sup> biosólido seco

El pH es neutro: el biosólido proviene de un tratamiento por digestión anaerobia termofílica, lo cual es un proceso biológico con pH desde 6.8 hasta 7.5 (Madigan *et al.*, 1999). El biosólido es líquido, confirmado por el alto contenido en agua. La ventaja de no deshidratarlo previamente permitirá conservar el alto contenido en amonio, forma directamente disponible por plantas y microorganismos.

En efecto, el nitrógeno amoniacal representa 39.3% del nitrógeno total, proporción superior o equivalente al reportado en la literatura. Específicamente los biosólidos anaerobios líquidos aportan en general el nitrógeno en dos formas principales: aproximadamente 67% de nitrógeno orgánico y 33% de amoníaco listos para ser fácilmente integrados al suelo (Mosey y Foulkes, 1984). Cabe mencionar que la forma nitratos es ausente en este tipo de biosólidos, ya que la nitrificación es un proceso aerobio.

El contenido de amonio es mayor al reportado en biosólidos provenientes de otros tipos de tratamiento. En general, el nitrógeno orgánico representa 70 a 90% del nitrógeno total (Andreoli *et al.*, 2001). Este biosólido tendrá a ser asimilado más rápidamente.

#### 4.1.2. Caracterización del suelo

La muestra de suelo obtenida del área de estudio (zona de "Salinidad 3"), requirió la determinación de algunas características, los resultados de estos análisis se presentan en la tabla 4.2:

Tabla 4.2 Características del suelo.

Parámetros medidos	Resultados
pH	10.4
CE del extracto saturado	134.2 dS.m <sup>-1</sup>
Contenido de agua	246 g.kg <sup>-1</sup>
% de humedad	25
Densidad	1.3 g/cm <sup>3</sup>
Nitrógeno Total	1.12 g.kg <sup>-1</sup> suelo seco
Nitrógeno amoniacal	0.46 g.kg <sup>-1</sup> suelo seco
Carbono Total	28.68 g.kg <sup>-1</sup> suelo seco
Textura	Arenosa

El pH revela la fuerte alcalinidad del suelo considerado y su alta conductividad eléctrica corrobora también una fuerte salinidad.

La relación C/N equivale a 25.6:1, valor muy alto: en efecto en un suelo agrícola dicha relación es de 10:1. El alto contenido de carbono y el bajo contenido de nitrógeno son la causa del desequilibrio en la relación. Sin embargo, esta relación es inferior al punto de equilibrio entre la mineralización y la inmovilización del nitrógeno, la cual equivale a 32:1. Por lo tanto puede estar ocurriendo cierta mineralización al tiempo que se descompone la materia orgánica (Buckman y Brady, 1985).

Se observa una baja concentración del amonio. Sin embargo, representa 41.07% del nitrógeno total. Esta proporción es elevada; se reporta en general porcentajes alrededor de 15% (Orlov, 1992). Se esperaría que debido al pH alcalino, se volatilizaría una mayor cantidad de amonio. Probablemente el amonio medido se encuentra fijado en su mayor parte a las partículas del suelo (sílices, arcillas,...): en general, se considera que 90% de amonio esta fijado y lo demás soluble (Orlov, 1992).

La textura del suelo es arenosa: cabe mencionar que se muestreó nada más los primeros 10 cm superficiales, los cuales corresponden al suelo coluvial. Este resultado corrobora lo observado en el estudio agrológico de diferentes perfiles de suelo del ex-lago de Texcoco (DDF, 1996).

#### ***4.1.3. Efecto de la concentración del biosólido sobre la nitrificación en el suelo salino-sódico estudiado.***

Mediante las caracterizaciones anteriores, se calculó la cantidad necesaria a aplicar en el suelo, obteniendo C1= 7.25 ml, C2= 14.5 ml y C3= 29 ml, que contienen 50, 100 y 200 mg de nitrógeno total /kg de suelo seco respectivamente. Estas concentraciones corresponden a 97, 195 y 391 kgN /ha (Tabla 3.2; Anexo 2). Estas tasas de aplicación se eligieron, por ubicarse dentro de los intervalos más altos para disposición de nitrógeno en agricultura (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), [http://www.fao.org/index\\_es.htm](http://www.fao.org/index_es.htm) - Anexo 3).

La disposición de biosólidos en el suelo no modificó el pH del suelo; para cada concentración de biosólido, se mantuvo en un promedio de 9.5. Sin embargo se incremento

su conductividad eléctrica seguido a la disposición del biosólido, lo que en general sucede (Andreoli *et al.*, 2001). Posteriormente la conductividad eléctrica se mantuvo constante durante todo el experimento.

#### 4.1.3.1. Producción de CO<sub>2</sub>

La producción de CO<sub>2</sub> permitió evaluar la actividad de los microorganismos aerobios del suelo por medio de la respiración. Así, se registró una producción baja pero significativa de CO<sub>2</sub> en relación con las concentraciones del biosólido, la cual se traduce por un incremento de la respiración (Figura 4.1 y Tabla 4.1). Parte del carbono orgánico proveniente del biosólido es mineralizado mediante la respiración, por los microorganismos autóctonos, que reintroducen el CO<sub>2</sub> a la atmósfera (Coyne, 2000; Atlas y Bartha, 2002). La parte restante pudo ser inmovilizado por esos mismos microorganismos (Atlas y Bartha, 2002).

Al tiempo 14 días, la concentración C2 presenta proporcionalmente mayor estímulo en la biomasa que la concentración C1 e incluso C3.

Tabla 4.3 Producción de CO<sub>2</sub> en mg/kg suelo seco a t=14 días.

Muestra	(B) Testigo estéril <sup>b</sup>	(A + B) Suelo + bsl <sup>a</sup>	(A) Producción de CO <sub>2</sub>
C1	56.63	58.91	2.28
C2	58.62	66.41	7.79
C3	60.29	70.87	10.58

<sup>a</sup> Suelo mas biosólido a t= 14 días. <sup>b</sup> El testigo es suelo estéril mas biosólido.

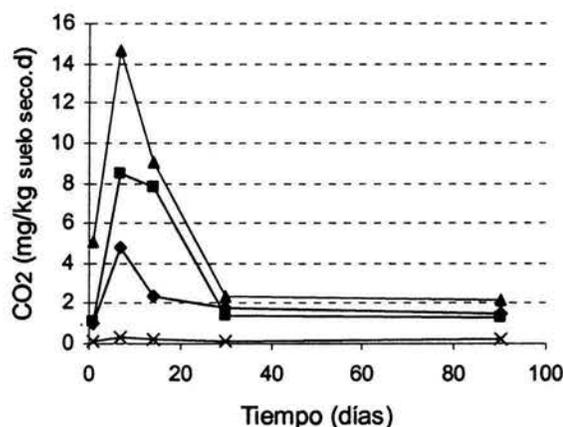


Figura 4.1 Producción puntual por día de CO<sub>2</sub>. (◆) C1, (■) C2, (▲) C3 y (×) Testigo.

La producción diaria de CO<sub>2</sub> incrementa hasta los 7 días para luego disminuir y estabilizarse a partir de los 30 días. Este incremento probablemente se relaciona directamente con el “efecto iniciador”. Este se define como un cambio brusco y rápido en la sustitución de materia orgánica del suelo, causado por un tratamiento comparativamente moderado del mismo, como la adición de sustrato o de biomasa orgánica, la manipulación del suelo o incluso el aumento o disminución de la humedad (Kuzyakov *et al.*, 2000). En el

microcosmo de estudio, se encuentra estas tres causas: la aportación de biosólido; el tamizado previo del suelo y uso de un biosólido líquido.

#### 4.1.3.2. Seguimiento del nitrógeno

En el presente estudio, el seguimiento de la dinámica del nitrógeno permite determinar la actividad nitrificante del suelo. El estudio estadístico de los promedios revela una diferencia significativa entre cada tratamiento para las siguientes formas de nitrógeno:  $\text{NH}_3$ ,  $\text{N-NH}_2$ ,  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  (Tabla 4.4). En el caso del  $\text{NO}_2^-$ , los bioensayos con biosólidos son diferentes del testigo; sin embargo, no hay diferencia entre las 3 concentraciones de biosólidos.

Tabla 4.4 Análisis factorial de variancia: las medias con la misma letra son estadísticamente iguales.

Testigo	C1	C2	C3	F	p-value	
$\text{NH}_4^+$	22.96 <sup>a</sup> ±2.86	52.38 <sup>b</sup> ±2.92	113.58 <sup>c</sup> ±4.41	132.68 <sup>d</sup> ±4.31	578.54	0.00001
$\text{NO}_2^-$	3.42 <sup>a</sup> ±0.051	4.82 <sup>b</sup> ±0.269	4.76 <sup>b</sup> ±0.030	5.34 <sup>b</sup> ±0.400	34.22	0.001
$\text{NO}_3^-$	15.21 <sup>a</sup> ±0.416	17.84 <sup>b</sup> ±0.498	21.14 <sup>c</sup> ±0.312	22.94 <sup>d</sup> ±0.416	205.95	0.0001
$\text{NH}_3$	23.22 <sup>a</sup> ±0.232	78.97 <sup>b</sup> ±0.712	157.47 <sup>c</sup> ±1.97	316.78 <sup>d</sup> ±12.60	1198.03	0.000001

Los resultados de volatilización de  $\text{NH}_3$  se presentan en la tabla 4.5 y figura 4.2. Así, se observó un aumento significativo de este fenómeno en relación con la concentración de biosólido: la cantidad de  $\text{NH}_3$  volatilizado es directamente proporcional con el aumento de la cantidad de biosólido. El pH alcalino del suelo (pH = 10.4) favorece su volatilización (Flowers y Arnold, 1983; Kirchman y Witter, 1989). Esto se relaciona con el valor  $\text{pK}_a$  de la reacción de disociación de  $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ , el cual es de 9.26 (Tan, 2002).

Tabla 4.5 Volatilización de  $\text{NH}_3$  a t= 14 días.

Muestra	$\text{NH}_3$ mg/kg suelo seco	
	Testigo <sup>b</sup>	Suelo + bsl <sup>a</sup>
C1	0.186	13.9
C2	0.247	20.9
C3	0.348	45.6

<sup>a</sup>Suelo mas biosólido a t= 14 días; <sup>b</sup>testigo = suelo.

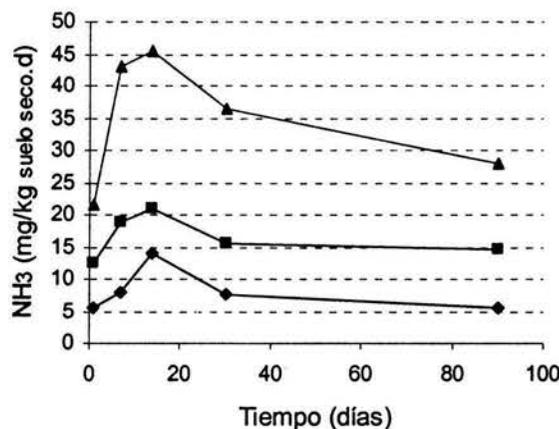


Figura 4.2 Volatilización puntual por día del  $\text{NH}_3$ . (◆) C1, (■) C2 y (▲) C3.

El seguimiento de las diferentes formas químicas del nitrógeno se presenta en la figura 4.3. Después de la disposición del biosólido, se observó una mineralización del nitrógeno, ya que disminuye la cantidad de N-NH<sub>2</sub>. Eso puede ser indicio de la presencia de un consorcio microbiano amonificante en el suelo, así como de una relación C/N favorable a la mineralización y no a la inmovilización del nitrógeno. La mineralización se observa más activa hasta el día 14, intervalo de tiempo en el cual se calculó las velocidades de mineralización (Tabla 4.6). Después de este tiempo, la amonificación para cualquier concentración de biosólido disminuye.

**Tabla 4.6** Porcentaje y velocidades de mineralización observada de 0 a 14 días.

Muestra	Porcentaje de N-NH <sub>2</sub> mineralizado (%)	Velocidad de mineralización (mgN/kg suelo seco . d <sup>-1</sup> )	Coefficiente de correlación (r <sup>2</sup> )
C1	78.6	-5.39	0.746
C2	89.8	-19.11	0.986
C3	71.9	-32.33	0.447

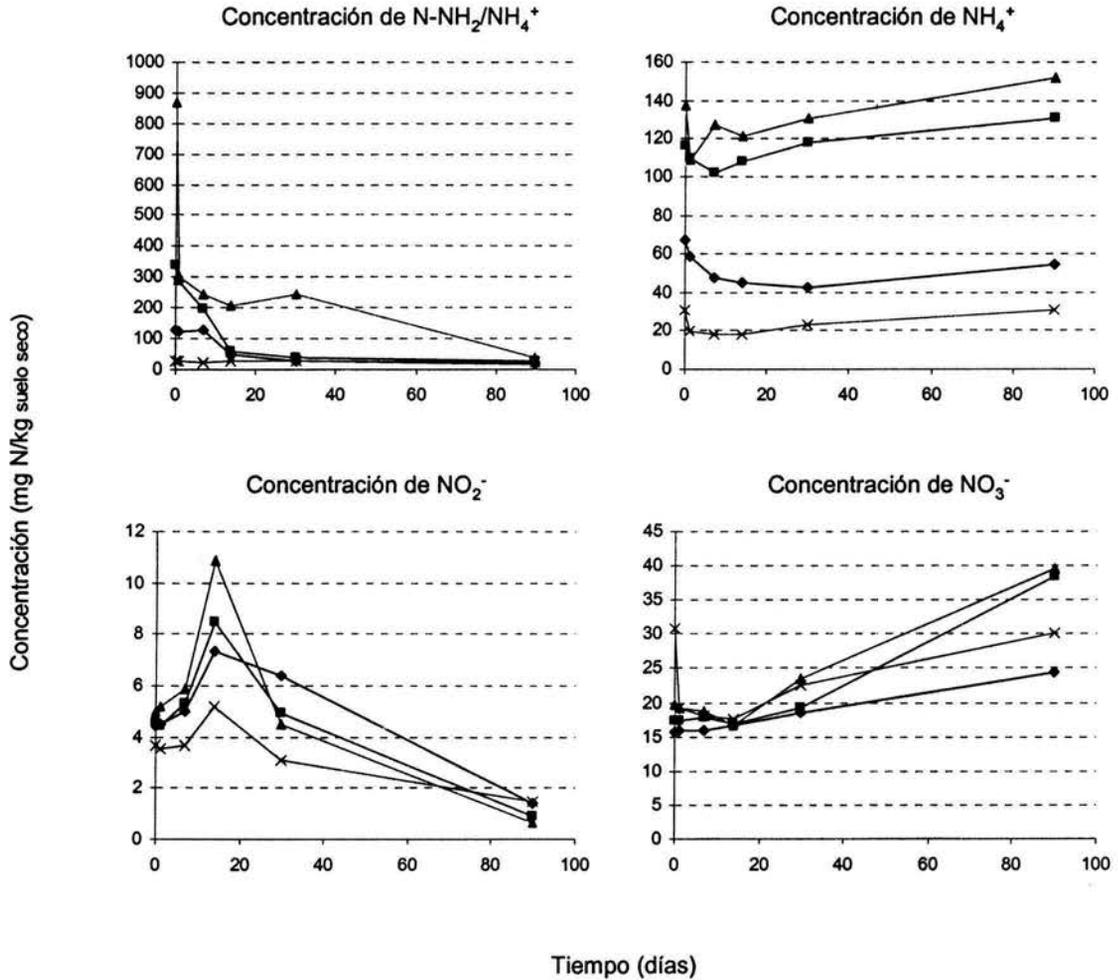
Las velocidades de mineralización no son directamente proporcionales a la concentración de biosólidos, aunque no se puede concluir con confianza acerca de esos valores, los coeficientes de correlación siendo muy lejanos de 1 en el caso de C1 y C3 (Tabla 4.6). Sin embargo, el porcentaje de mineralización de C2 es mayor al de C1 y C3, lo cual indica un mayor rendimiento en la amonificación y una menor inmovilización del nitrógeno a la concentración C2. Esta diferencia entre los diferentes tratamientos se confirma por el estudio estadístico representado por los diagramas de caja (Anexo 4).

También, no se notó una acumulación del NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, ya que su cantidad varió poco. Sin embargo, se presentó una acumulación de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, durante las dos primeras semanas de incubación (Figura 4.3). Eso revela una actividad de las bacterias oxidantes del amonio (BOA), bacterias responsables de la primera etapa de la nitrificación (Madigan *et al.*, 1999; De Boer y Kowalchuk, 2001). La amonificación observada del N-NH<sub>2</sub> no resulta en una variación de la concentración de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Figura 4.3). Esto se explica, porque una parte es oxidada mediante la actividad bacteriana nitrificante y otra parte, volatilizada debido a las condiciones químicas del suelo (Figura 4.2).

Es importante notar que a partir de 30 días, se observa valores de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, superiores a las de N-NH<sub>2</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. En este caso, se tiene que considerar el tipo de análisis fisicoquímicas utilizadas en el experimento para su determinación: fueron de tipo colorimétrico para N-NH<sub>2</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y titulométrico para NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, los cuales no presentan el mismo rigor en la determinación del análisis. Los valores de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> pudieron ser sobrevaluados, ya que la titulometría es una técnica menos precisa que la colorimetría.

La acumulación de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> desaparece después de 14 días, resultado en correlación con el aumento de concentración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> al mismo tiempo (Figura 4.3). Las bacterias oxidantes del nitrito (BON) parecen presentar actividad tras un tiempo de latencia. Este resultado es muy particular, ya que normalmente el NO<sub>2</sub><sup>-</sup> no se acumula, es decir que las BOA actúan simultáneamente con las BON (Buckman y Brady, 1985; Madigan *et al.*, 1999). Beltrán-Hernández *et al.* (1999) observaron el mismo fenómeno de acumulación en suelos salino-

sódicos irrigados durante 5 años. En suelos alcalinos, la presencia inicial del  $\text{NH}_4^+$  inhibe la formación de  $\text{NO}_3^-$  (Buckman y Brady, 1985; Rice y Tiedje, 1989). Por lo tanto, es muy probable que este tiempo de respuesta sea debido al medio extremo de este suelo, ya que una conductividad eléctrica elevada afecta las BON (Jiménez-Morales y Dendooven, 2001).



**Figura 4.3** Dinámica del nitrógeno antes y después la disposición de diferentes concentraciones de biosólido. Incubación aeróbicamente a 25°C y a humedad constante. (◆) C1, (■) C2, (▲) C3 y (×) Testigo.

Como se ha mencionado, el  $\text{NO}_3^-$  se incrementó a partir de 14 días, en respuesta a la disminución del  $\text{NO}_2^-$  (Figura 4.3). Eso revela una actividad nitrificante completa del consorcio autóctono extremo estudiado. Ward *et al.* (2000) y Sorokin *et al.* (1998) por su parte han reportado en lagos salino-sódicos, microorganismos BOA como *Nitrosomonas halophila*, *N. europea* y las BON, *Nitrobacter alkalicus* sp. nov., *N. winogradskyi*, respectivamente.

La eficacia del biosólido se relaciona con su potencial de reserva de nitrógeno en un suelo. En el caso de la concentración C1, no se obtuvo una reserva de nitrógeno para los microorganismos en el tiempo (Figuras 4.3 y 4.4). En efecto, después de 14 días, la cantidad de  $\text{N-NH}_2$  es similar al testigo, mientras que el  $\text{NO}_3^-$  apenas y registró un

incremento. En el caso de C2 y C3, la acumulación constante del  $\text{NH}_4^+$  presentó cantidades mayores al testigo y C1. Por su parte, el  $\text{NO}_3^-$  entre C2 y C3 presentó este mismo comportamiento hasta terminar en un valor similar al tiempo 90 días. Eso corrobora que en este experimento la concentración C2 presenta mayor interés, ya que permite una durabilidad similar en la disponibilidad del nitrógeno, así como una actividad del consorcio microbiano más importante en comparación a C3. También, la concentración C2 permitiría disponer el lodo de manera menos frecuente que la concentración C1.

Lo anteriormente dicho se confirma mediante la elaboración de un balance para cada concentración de biosólido añadido entre los días inicial y final del experimento (Figura 4.4). Efectivamente la concentración C2 presenta un mayor aumento de la nitrificación que C1 y C3: el incremento fue de 78.5% vs. 29.5 y 63.1% respectivamente.

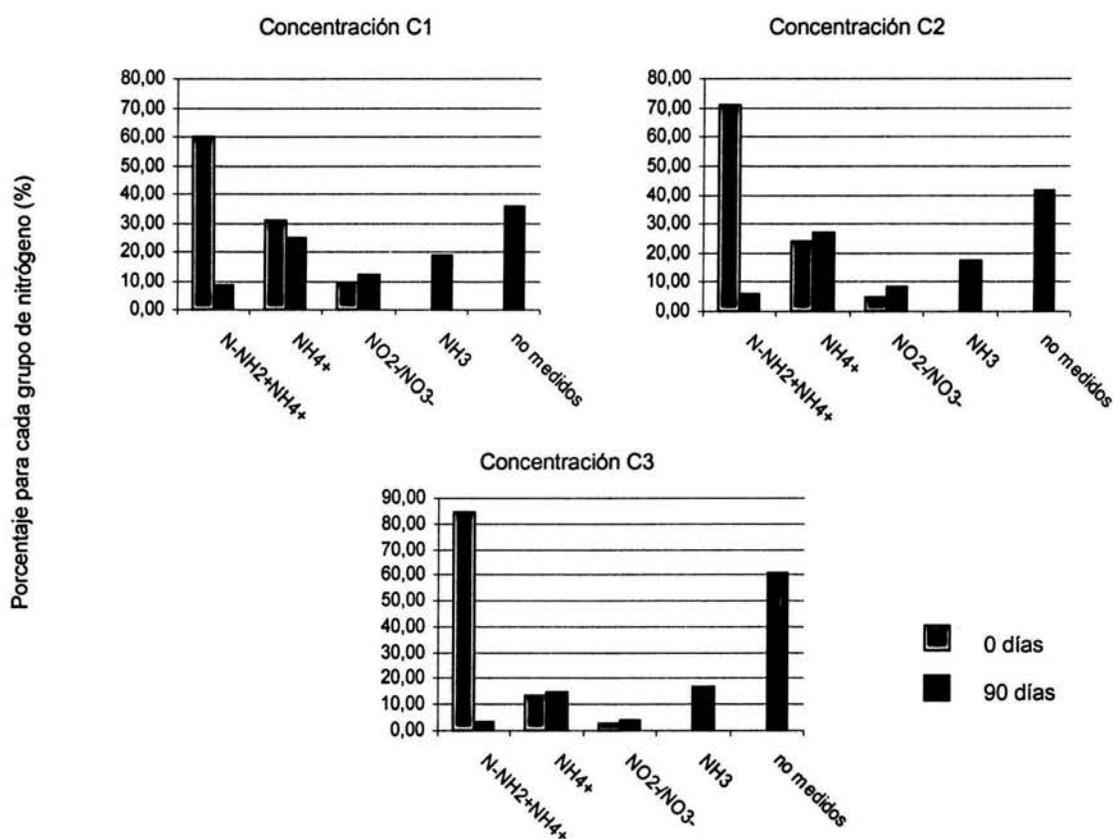


Figura 4.4 Balance del nitrógeno antes y después la disposición de diferentes concentraciones de biosólido. Incubación aeróbicamente a 25°C y a humedad constante.

A cada concentración, se observa un porcentaje elevado de nitrógeno no medido. Esta proporción corresponde a una pérdida de nitrógeno durante el análisis, la cual se puede relacionar por una parte con la desnitrificación (Tan, 2000) y por otra parte con la fijación de  $\text{NH}_4^+$  a las partículas del suelo que pueden ser sílices (Orlov, 1992). Cabe mencionar que el extracto de suelo obtenido tiene capacidad de recuperar el  $\text{NH}_4^+$  soluble e intercambiable, por lo tanto excluyendo el  $\text{NH}_4^+$  fijado.

#### 4.1.4. Determinación del Nitrógeno disponible en el biosólido

Para determinar la tasa agronómica de aplicación de biosólidos con el fin evitar problemas de contaminación ambiental, se define la cantidad de nitrógeno disponible en el biosólido, así como la cantidad de nitrógeno a aplicar al suelo estudiado en función del tipo de cultivo (Andreoli *et al.*, 2001). La cantidad de nitrógeno disponible en el biosólido se calcula mediante un experimento de un mes, cuando la segunda se define mediante tablas elaboradas por la FAO (Anexo 2).

Como se lo ha mencionado, el cálculo es el siguiente (Andreoli *et al.*, 2001):

$$N_{\text{disponible}} = f_{\text{org}} (N_{\text{org}}) + f_{\text{vol}} (N_{\text{NH}_4^+}) + N_{\text{NO}_3^-}$$

Donde  $f_{\text{org}}$  = porcentaje de mineralización del biosólido en el suelo estudiado  
 $f_{\text{vol}} = 1 -$  porcentaje de volatilización del amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) en amoníaco ( $\text{NH}_3$ ).

Tabla 4.7 Nitrógeno disponible en el biosólido.

Muestra	N disponible* (g.kg <sup>-1</sup> biosólido seco)
C1	9.77
C2	10.59
C3	9.39

\* Cálculo basado en Andreoli *et al.*, 2001

La cantidad de nitrógeno disponible en el biosólido es similar para cada concentración, lo cual es lógico (Tabla 4.7). El valor promedio equivale a 9.91 g.kg<sup>-1</sup> biosólido seco, lo que representa 86.4% de la cantidad total de nitrógeno contenido en el biosólido (Tabla 4.1). La disponibilidad del nitrógeno depende del tipo de suelo: en este caso, la actividad de la biomasa microbiana así como el pH alcalino del sitio (Andreoli *et al.*, 2001).

### 4.2. EXPERIMENTO 2: SEGUIMIENTO DE LA NITRIFICACIÓN DESPUÉS DE LA DISPOSICIÓN DE UN BIOSÓLIDO A UNA CONCENTRACIÓN DADA EN UN SUELO CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SALES.

#### 4.2.1. Caracterización del biosólido

Las características del biosólido son descritas en la siguiente tabla 4.8:

Tabla 4.8 Características del biosólido.

Parámetros medidos	Resultados
pH	7.8
Contenido de agua	985 g.kg <sup>-1</sup> biosólido
% de humedad	98.5
Nitrógeno Total	13.6 g.kg <sup>-1</sup> biosólido seco
Nitrógeno amoniacal	6.2 g.kg <sup>-1</sup> biosólido seco
Carbono Total	146.7 g.kg <sup>-1</sup> biosólido seco

Como se ha descrito para el experimento 1, el pH es neutro, el biosólido líquido, así como, el nitrógeno amoniacal representa 45.6% del nitrógeno total una proporción superior o equivalente al reportado en la literatura (Mosey y Foulkes, 1984).

#### 4.2.2. Caracterización de los suelos estudiados

Las muestras de suelos, obtenidas del área de estudio requirieron la determinación de las siguientes características por cada zona de estudio; los resultados de estos análisis se presentan en la tabla 4.9.

Tabla 4.9 Características de los suelos estudiados.

Parámetros medidos	Salinidad 1	Salinidad 2	Salinidad 3
pH	9.6	10.2	10.3
CE del extracto saturado	34.2 dS.m <sup>-1</sup>	63.4 dS.m <sup>-1</sup>	129.2 dS.m <sup>-1</sup>
Contenido de agua	283 g.kg <sup>-1</sup>	187 g.kg <sup>-1</sup>	219 g.kg <sup>-1</sup>
% de humedad	28	19	22
Nitrógeno Total	1.09 g.kg <sup>-1</sup> *	1.16 g.kg <sup>-1</sup> *	0.97 g.kg <sup>-1</sup> *
Nitrógeno amoniacal	0.75 g.kg <sup>-1</sup> *	0.69 g.kg <sup>-1</sup> *	0.58 g.kg <sup>-1</sup> *
Carbono Total	48.7 g.kg <sup>-1</sup> *	37.8 g.kg <sup>-1</sup> *	32.6 g.kg <sup>-1</sup> *
Textura	Arenosa	Arenosa	Arenosa

\* suelo seco

Los tres sitios elegidos para el presente estudio son fuertemente alcalinos. El menor valor de pH se presenta en el sitio 1 (*Salinidad 1*), el cual exhibe diversidad vegetal con una buena cobertura (Tabla 3.1). Por otra parte, en los sitios 2 y 3 se presenta una sola especie, el pasto salado *Distichlis spicata* que presenta características morfológicas y de densidad menores (Tabla 3.1).

Acerca de la conductividad eléctrica en relación directa con la salinidad, existe entre los tres sitios un gradiente de concentración, en donde el sitio 1 corresponde a la menor y el 3, a la mayor salinidad. Este gradiente también se observa directamente en la diversidad y densidad vegetal de cada sitio. Fernández-Buces y Siebe (en revisión) observaron este comportamiento, permitiendo elaborar una cartografía del sitio relacionando la vegetación con la salinidad.

Al igual que el experimento 1, la relación C/N presenta valores muy altos en comparación a un suelo agrícola; del sitio 1 a 3 son respectivamente 44.6:1, 32.6:1 y 33.6:1. También se

observa una baja concentración del amonio, que no obstante representa una proporción elevada del nitrógeno total: 68.8, 59.5 y 60% respectivamente.

Aunque se ha hecho el muestreo a dos estaciones, época de lluvia para el primer experimento y época de estiaje para el segundo, el sitio 3 presentó el mismo porcentaje de humedad. Cabe señalar que durante el primer muestreo, se registró escasa precipitación pluvial.

#### 4.2.3. Efecto de la salinidad sobre la nitrificación después de la disposición del biosólido.

En el experimento 1, la concentración de biosólido en los suelos de 100 mg de nitrógeno/kg de suelo seco (concentración C2) fue determinada como probablemente la más eficiente en términos de reserva de nitrógeno y respuesta microbiana para el suelo del sitio 3. En base a estos resultados en este segundo experimento, se decidió conservar esta misma concentración de biosólido (C2 sobre sitio *Salinidad 3*), aún cuando en otros sitios (*Salinidad 1* y *2*) se debería realizar pruebas posteriores a este trabajo para evaluar la capacidad de asimilación del nitrógeno por dichos suelos. Sin embargo, en el microcosmo experimental la concentración C2 provocaba una alta humedad del suelo que dificultaba el manejo de la muestra, por lo cual se disminuyó ligeramente la concentración del biosólido a 70 mg de nitrógeno total/kg para aplicar en el suelo con diferentes salinidades (sin modificar las características del biosólido por deshidratación), concentración equivalente a 136.5 kgN/ha.

##### 4.2.3.1. Producción de CO<sub>2</sub>

Con respecto a la cantidad de CO<sub>2</sub> producida por respiración del suelo (Figura 4.5), se presenta un incremento hasta los 60 días, debido a la adición de biosólido como se ha observado en el primer experimento. Esto se debe probablemente a la presencia de microorganismos que contribuyen a la respiración registrada en el suelo (Wong y Lai, 1996). La disminución observada tras 60 días con el aumento previo puede relacionarse con la falta de carbono disponible, siendo microcosmos discontinuos.

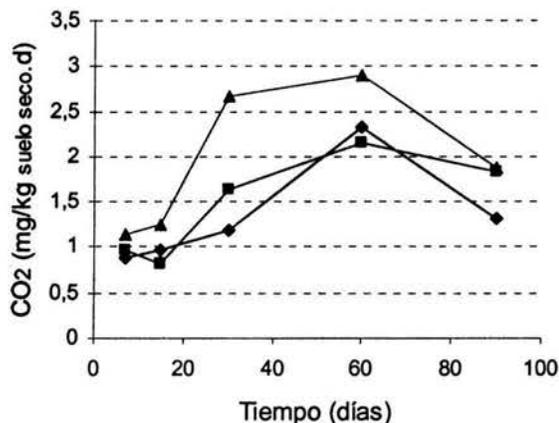


Figura 4.5 Producción puntual por día de CO<sub>2</sub>. (◆) S1, (■) S2 y (▲) S3.

Sin embargo, la respiración del suelo *Salinidad 3* hasta 60 días es superior a los de salinidad menor. Este resultado es muy particular: en efecto, el sitio 3 presenta escasa vegetación, lo cual se relaciona con una baja aportación de materia orgánica al suelo. Las bacterias presentes en este suelo deben presentar características de oligotrofia, es decir microorganismos que crecen a concentraciones muy bajas de nutrientes (Atlas y Bartha, 2002). También la salinidad más alta se le relaciona con la disminución de la diversidad y densidad microbiana de dicho suelo (Grant y Tindall, 1986; Madigan *et al.*, 1999). No obstante, su respiración es mayor, lo cual puede significar una mayor actividad y/o un mayor número de microorganismos autóctonos del sitio 3.

#### 4.2.3.2. Seguimiento del nitrógeno

Los resultados en este segundo experimento coinciden y reafirman los obtenidos en el primero. El estudio estadístico mediante diagramas de caja revela una diferencia significativa entre cada bioensayo con biosólidos (S1, S2 y S3) y su testigo respectivo para todas las formas de nitrógeno medidos, así como entre los tratamientos “biosólidos” con la excepción de uno: en el caso del  $\text{NH}_4^+$ , los bioensayos S2 y S3 (biosólidos+suelo) no presentan diferencias (Anexo 4).

Como ya se observó, hubo una gran cantidad de  $\text{NH}_3$  volatilizado (Tabla 4.10). Dado que el pH es alcalino, se favoreció la volatilización del  $\text{NH}_3$ , como se puede constatar en los sitios 2 y 3.

Tabla 4.10 Volatilización de  $\text{NH}_3$  a  $t=30$  días.

	$\text{NH}_3$ mg/kg suelo seco <sup>a</sup>
S1	36.34
S2	51.58
S3	56.26

a Suelo más biosólido

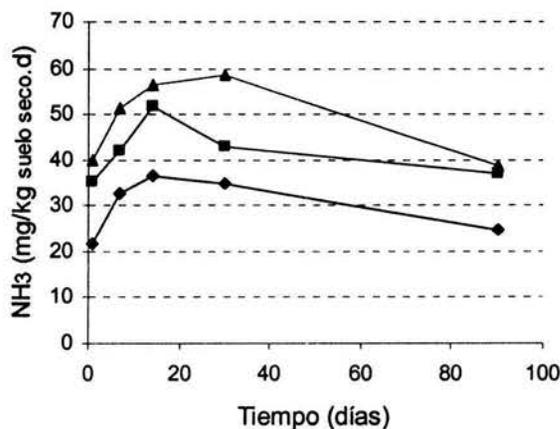


Figura 4.6 Volatilización puntual por día del  $\text{NH}_3$ . (◆) S1, (■) S2 y (▲) S3.

El seguimiento de la dinámica del nitrógeno permite determinar la actividad nitrificante del consorcio microbiano edáfico (Figura 4.7). Después de la disposición del biosólido, se observó una mineralización del N-NH<sub>2</sub> en los tres sitios. Este experimento confirma la presencia de un consorcio microbiano amonificante en estos suelos extremos. La fase de amonificación más rápida se presentó del día inicial hasta los 15 días, intervalo de tiempo durante el cual se calculó las velocidades de mineralización (Tabla 4.11).

**Tabla 4.11** Porcentaje y velocidades de mineralización observada de 0 a 15 días.

Muestra	Porcentaje de N-NH <sub>2</sub> mineralizado (%)	Velocidad de mineralización (mgN/kg suelo seco . d <sup>-1</sup> )	Coefficiente de correlación (r <sup>2</sup> )
S1	70.4	-17.77	0.886
S2	75.0	-15.25	0.767
S3	68.5	-9.63	0.954

Particularmente en S1 y S2, se observó una mayor rapidez de mineralización del nitrógeno, así como un porcentaje de mineralización superior; sin embargo, el suelo S3 (aunque más lento que los otros dos sitios) presenta una amonificación de N-NH<sub>2</sub>. Esta disminución está probablemente relacionado con el aumento de salinidad del sitio 1 a 3, lo cual podría influir sobre la actividad microbiana.

También se notó una constante en los valores de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en el sitio 3, ya que su cantidad varió poco, siendo diferente el comportamiento en S1 y S2 donde hay un evidente consumo de amonio durante los primeros 30 días (Figura 4.7). Sin embargo, es importante reiterar la diferencia de precisión en la determinación del N-NH<sub>2</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: para los microcosmos S2 y S3, las cantidades de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> son superiores a las de N-NH<sub>2</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a partir de 15 días, lo cual indica una sobrevaluación de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Sin embargo, estos resultados nos permiten explicar, que una parte está oxidada simultáneamente en respuesta a esta actividad bacteriana y otra parte volatilizada debido a las condiciones químicas del suelo. La producción observada de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> revela una actividad de las bacterias oxidantes del amonio (BOA), bacterias responsables de la primera etapa de la nitrificación (Figura 4.7) (Madigan *et al.*, 1999; De Boer y Kowalchuk, 2001).

La ligera acumulación de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> desaparece después de 14 días, resultado en correlación con el aumento de concentración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> al mismo tiempo, como fue observado en el experimento 1 (Figura 4.7). Las bacterias oxidantes del nitrito (BON) parecen presentar una actividad después de un tiempo de latencia. La presencia inicial del NH<sub>4</sub><sup>+</sup> inhibe la formación de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a pH alcalino (Rice y Tiedje, 1989). Por lo tanto este tiempo de respuesta se puede deber al medio extremo de este suelo, ya que una conductividad eléctrica elevada afecta las BON (Jiménez-Morales y Dendooven, 2001). Esto puede explicar porque al tiempo 15 días, en el suelo con salinidad S3 la concentración de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> es mucho mayor que en los otros dos suelos, aun en los testigos: S3 presentó un incremento de dicha acumulación de 315% vs. S1 y, de 155% vs. S2.

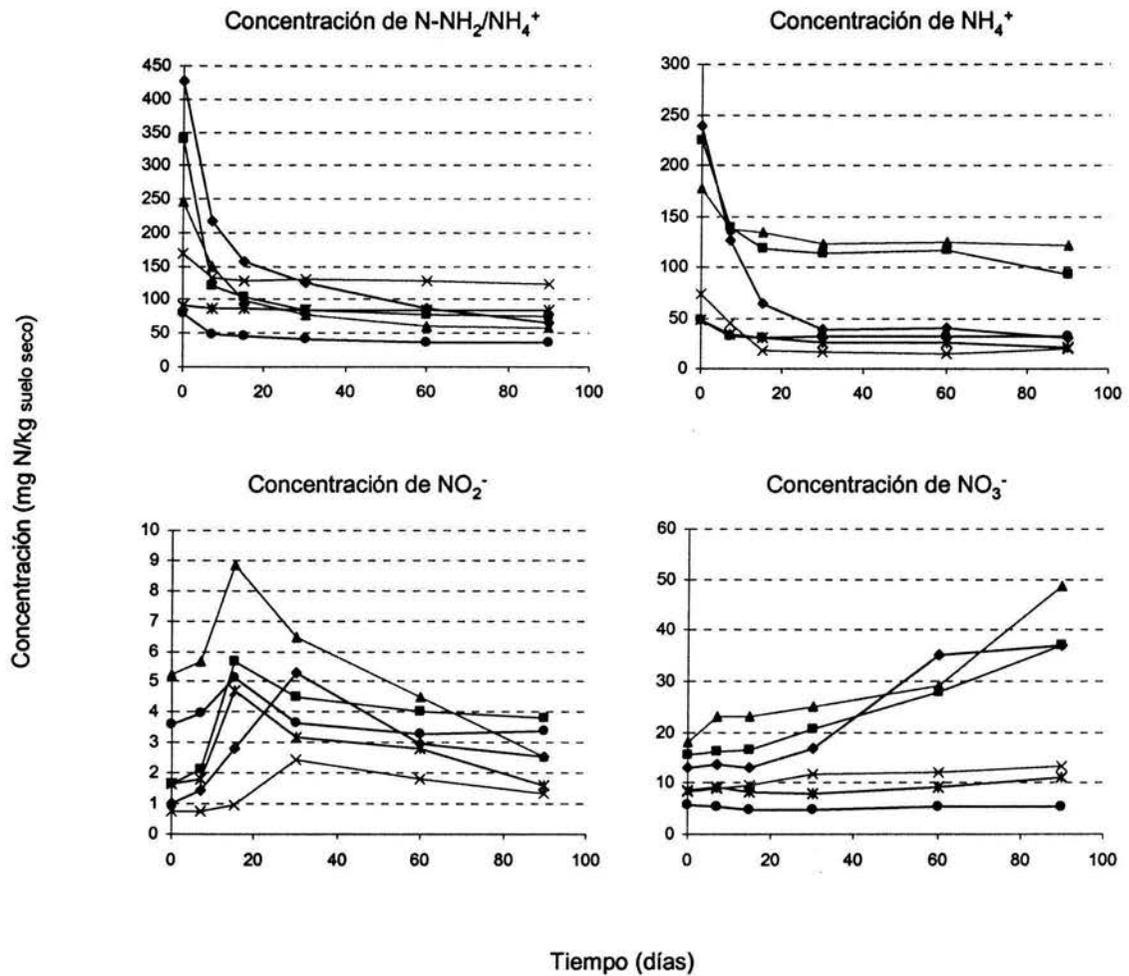
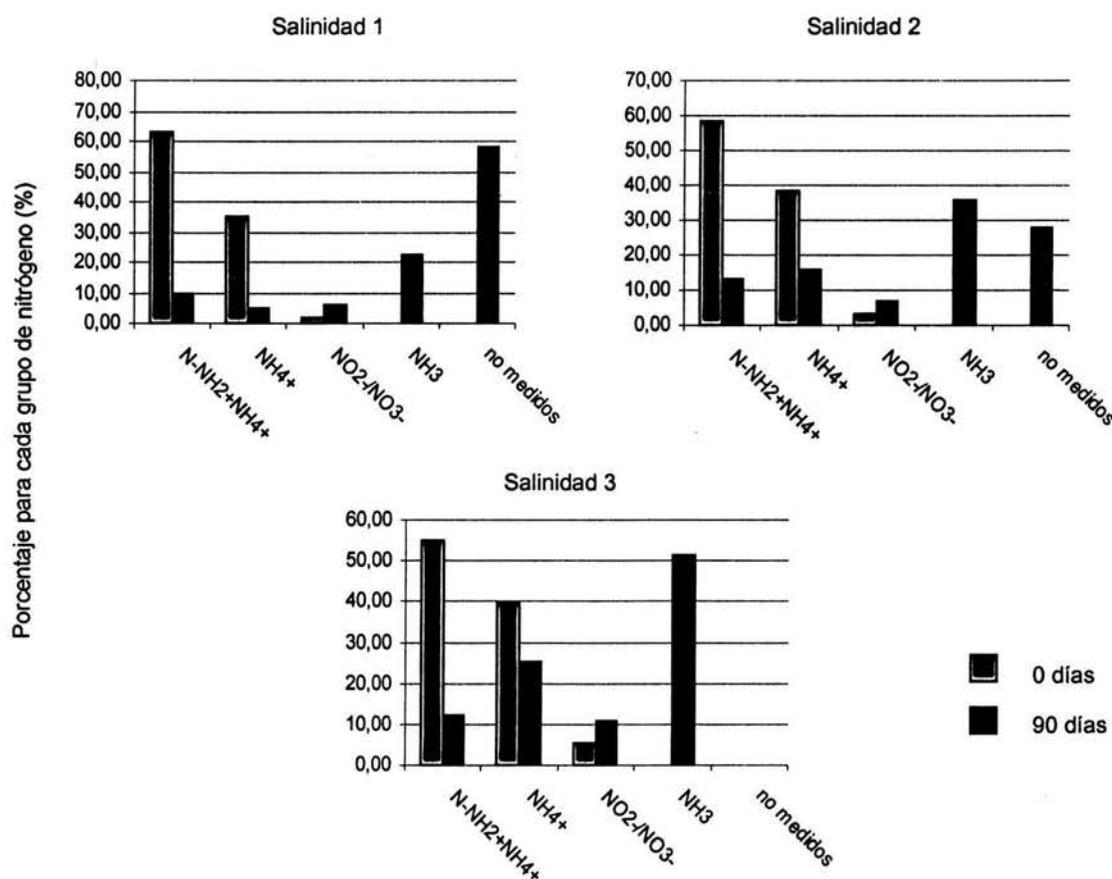


Figura 4.7 Dinámica del nitrógeno antes y después de la disposición de biosólido a suelo con diferentes salinidades. (◆) S1, (■) S2, (▲) S3, (×) Testigo 1, (\*) Testigo 2 y (●) Testigo 3.

En el caso de la concentración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> obtenida, tiende a incrementarse en los últimos 40 días después de la disposición del biosólido. El estudio estadístico permitió demostrar una producción global de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> mayor en el suelo S3, aunque la cantidad inicial de N-NH<sub>2</sub> fue menor (165.07 mg N/kg suelo seco en S3 contra 256.68 y 247.17 mg N/kg suelo seco en S1 y S2 respectivamente) (Figura 4.7; Anexo 4). Probablemente en el suelo S3 se encuentran bacterias halófilas alcalófilas, participantes en la nitrificación. A partir de sedimentos de tres lagos sódicos (Kunkur Steppe, Siberia; lago de un cráter y Lago Nakuru, Kenya), Sorokin *et al.* (1998) lograron aislar 5 cepas de bacterias halotolerantes capaces de oxidar nitrito en nitrato: dichas bacterias fueron identificadas del género *Nitrobacter*.



**Figura 4.8** Balance del nitrógeno antes y después la disposición de biosólido a suelo con diferentes salinidades. Incubación aeróbicamente a 25°C y a humedad constante.

Lo anteriormente dicho se confirma mediante la elaboración de un balance para cada sitio entre los días inicial y final del experimento (Figura 4.8). El aumento de la nitrificación se relaciona con el incremento de la salinidad como se lo mencionó en el caso de la amonificación (Tabla 4.11): los porcentajes de aumento de la nitrificación fueron de 185, 138 y 119% para S1, S2 y S3, respectivamente.

También para los sitios, se observó un porcentaje elevado de nitrógeno no medido. Como ya se lo ha indicado, esta pérdida de nitrógeno se debe relacionar con la desnitrificación y la fijación del  $\text{NH}_4^+$  a las partículas del suelo (Orlov, 1992; Tan, 2000). En el sitio 3, no se observó pérdida como en el experimento 1: la aireación del suelo podría ser mayor en el experimento 2, impidiendo la respiración anaerobia del nitrógeno que es la desnitrificación. Sin embargo, para confirmar esa hipótesis, hubiera sido necesario determinar la cantidad de oxígeno en el suelo.

#### 4.2.4. Determinación del Nitrógeno disponible para cada sistema

La cantidad de nitrógeno disponible en el biosólido es similar para cada sitio, aunque el valor es ligeramente inferior para S3, sitio de mayor salinidad (Tabla 4.12). Este resultado corrobora lo observado anteriormente.

Tabla 4.12 Nitrógeno disponible en el biosólido.

Muestra	N disponible* (g.kg <sup>-1</sup> biosólido seco)
S1	11.03
S2	11.19
S3	10.45

\* Cálculo basado en Andreoli *et al.*, 2001

## **5. CONCLUSIONES**

- El biosólido anaerobio presenta características agronómicas interesantes para su disposición en suelos: su contenido en amonio es mayor al reportado en biosólidos provenientes de otros tipos de tratamiento.
- El suelo en cada sitio estudiado presenta propiedad de fuerte alcalinidad asociado a una fuerte salinidad.
- Al disponer biosólido, el suelo presentó incremento en la actividad microbiana mediante la respiración.
- La fuerte alcalinidad del suelo provocó una importante volatilización del amonio en forma amoniacal.
- Después de la disposición de biosólido, tuvo lugar la mineralización del nitrógeno en cada suelo, revelando actividad de las bacterias responsables.
- Gracias a la actividad de las BOA, se observó una acumulación del  $\text{NO}_2^-$  durante los 14-15 primeros días después de la disposición de cada concentración de biosólido sobre cada tipo de suelo salino, esto debido a la salinidad que afecta en las BON.
- Después de un tiempo de latencia (14-15 días), se observó la producción de  $\text{NO}_3^-$ , indicando la presencia y actividad de las BON.
- A mayor salinidad, mayor acumulación de  $\text{NO}_2^-$  y menor aumento de nitrificación.
- Los suelos extremos estudiados presentaron aumento en la actividad amonificante y nitrificante después de la disposición de biosólido. Dichas actividades microbianas son necesarias para la disponibilidad del nitrógeno útil para el crecimiento de la vegetación, por lo tanto pueden usarse como indicadores de un proceso de rehabilitación del sitio degradado, por aportación de materia orgánica en forma de biosólido con el fin de favorecer la cobertura vegetal.
- Para este trabajo, la concentración C2 presentó mayor interés a nivel del aumento de la actividad microbiana edáfica, y de la durabilidad en la disponibilidad del nitrógeno, directamente relacionado con su potencial de reserva.
- La salinidad afectó la mineralización del nitrógeno, así como la nitrificación, observando disminución de las velocidades de amonificación y reducción del aumento de la nitrificación en relación directa con el incremento de la salinidad.

## **6. RECOMENDACIONES**

- ◆ Realizar la identificación microbiológica de las bacterias responsables de la nitrificación en el suelo, para contar con una base biológica que corrobore su presencia.
- ◆ En próximos trabajos realizar la medición del nitrógeno que se pierde en el proceso desnitrificante, así como por lixiviación.
- ◆ Optimizar la medición de los parámetros para obtener mejores resultados.
- ◆ Hacer un estudio del costo que implica la implementación del uso de biosólidos como un modelo para mejorar suelos degradados.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre, GA. (1993). Química de los suelos salinos y sódicos, Fes- Cuautitlán, UNAM, México. 139.
- Andreoli, CV., Sperling, VM. y Fernández, F. (2001). Lodo de esgotos: Tratamiento e disposição final, Desa. SANEPAR. 6:484.
- APHA/AWWA/WPCF (1995). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19<sup>th</sup> ed. Washington.
- Atlas, RM. y Bartha, R. (2002). Ecología microbiana y microbiología ambiental, Pearson Educación, Madrid, 696.
- Beltrán-Hernández, RI., Coss-Muñoz, E., Luna-Guido, ML., Mercado-García, F., Siebe, C. y Dendooven, L. (1999). Carbon and nitrogen dynamics in alkaline soil of the former Lake Texcoco (México) as affected by application of sewage sludge, *Europ. J. Soil Sci.* 50: 601-608.
- Brady, NC. y Weil, RR. (1996). The nature and properties of soils. 7<sup>a</sup> ed. Prentice Hall; New Jersey, USA. 740.
- Bremner, JM. y Keeney, DR. (1966). Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 3. Exchangeable ammonium nitrate, and nitrite by extraction-distillation methods. *Soil Science Society of America Proceedings*, 30:557-582.
- Bresler, E., Mc Neal, BL. y Carter, DL. (1982). Saline and Sodic Soil. Principles-Dynamics-Modeling. Springer Verlag, Berlin Heilderberg. New York.
- Buckman, HO. y Brady ,NC. (1985). Naturaleza y propiedades del suelo. UTEXA. 322-350.
- Cabirol, N., Rojas Oropeza, M. y Noyola, A. (2002). Removal of helminth eggs and fecal coliforms by anaerobic thermophilic sludge digestion. *Wat. Sci. Technol.* 45:269-274.
- Cifuentes, E., Blumenthal, U., Ruíz-Palacios, G., Benett, S., Quigley, M., Peasey, A. y Romero Alvarez, H. (1993). Problemas de salud asociados al riego agrícola con agua residual en México. *Salud Pública de México.* 35:614-619.
- Comisión Nacional del Agua (CNA, 1996). Estudio de Impacto Ambiental asociado al Proyecto de Saneamiento de las aguas negras que se producen en el Valle de México. México.

- Coyne, M. (2000). Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio. Paraninfo. España. pp. 416.
- Cruickshank, GG. (1999). Recuperación Hidroecológica del ex-Lago de Texcoco; Conservación y Restauración de Suelos. Editores, Christina Siebe, Humberto C. Rodarte, Gabriela Toledo, Jorge Etchevers y Claudia Oleschko. Por el Programa Universitario del Medio Ambiente (PUMA), UNAM. 473-488.
- Departamento del Distrito Federal, (DDF, 1996). Estudio agrológico detallado de 3,000 hectáreas en la zona federal del ex-lago de Texcoco. Proyecto Lago de Texcoco. Contrato SU-6-C03-390. Grupo "EPRO" de centro y CAN. pp. 247.
- De Boer, W. y Kowalchuk, GA. (2001). Nitrification in acid soils: micro-organisms and mechanisms, *Soil Biol. Biochem.* 33:853-866.
- Environmental Protection Agency. (1995). A plain English Guide to the EPA Part 503 Biosolids Rule. USA.
- Environmental Protection Agency. (1995). Process Design Manual. Land Application of sewage sludge and domestic septage. USA.
- Environmental Protection Agency. (1996 a y b). A guide to the solids risk assessments for the EPA Part 503 Rule. USA.
- Fernández, FE., Andreoli, CV., Domaszac, S.C. y De Lara, A.I. (1997). Manual técnico para la utilização agrícola do lodo de esgoto no Paraná, Companhia de Saneamento do Paraná, SANEPAR, Brazil, 96.
- Fernández-Buces, N. y Siebe, C. Characterizing and mapping salt affected soils by land and remote radiometry of bare soils and vegetation at former lake Texcoco, Mexico, *J. Arid Environ.* En revisión.
- Fitzpatrick, EA. (1987). Suelos: Su formación, clasificación y distribución, 3ª ed., Continental. México. 430.
- Flowers, TH. y Arnold, PW. (1983). Immobilization and mineralization of nitrogen of soils incubated with pig slurry or ammonium sulphate. *Soil Biol. Biochem.* 15:329-335.
- Garabito, MJ., Arahál, DR., Mellado, E., Márquez, MC. y Ventosa, A. (1997). *Bacillus salexigens* sp. Nov., a new moderate halophilic *Bacillus* species, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47:735-741.
- Grant, WD. y Tindall, BJ. (1986). The alkaline saline environment, In: Microbes in Extreme Environments. Society for General Microbiology. Ed. Herbert RA and Codd GA, Dundee, UK, 25-54.
- Harris, CD. (1992). Chemical analysis of soils. International Publishers. UTECA. 192-195.

- Hernández, T., Moral, R., Pérez-Espinoza, A., Moreno-Caselles, J., Pérez-Murcia, MD. y García, C. (2002). Nitrogen mineralisation potential in calcareous soils amended with sewage sludge, *Biores. Technol.* 83:213-219.
- Jackson, ML. (1964). *Análisis de Suelos*. Ed. Omega. Barcelona, España.
- Joergensen, RG. y Brookes, PC. (1990). Ninhydrin-reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0.5M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> soil extracts. *Soil Biol. Biochem.* 22:8:1023-1027.
- Kirchman, H. y Witter, E. (1989). Ammonia volatilization during aerobic and anaerobic manure decomposition. *Plant Soil* 115: 35-36.
- Kovda, VA. (1980). Problem of combatting salinization of irrigate soils. *Lecturas selectas. Centre for International Projects. Moscow.* 30-35.
- Kuzyakov, Y., Friedel, JK. y Stahr, K. (2000). Review of mechanism and quantification of priming effect. *Soil Biol. Chem.* 32:1485-1498.
- Lue-Hing, C., Zens, DR., Tata, P., Kuchenrither, R., Malina, JFF. y Sawyer, B. (1998). *Municipal sludge management: a reference text on processing, utilization and disposal.* 2<sup>a</sup> ed., Technomic Publishig Co., Inc. USA. 4:790.
- Madigan, MT., Martinko, JM. y Parker, J. (1999). *Brock, Biología de los microorganismos,* 8<sup>a</sup> ed., Prentice Hall Iberia, Madrid, 1064.
- Mc Laren, AD. y Petterson, HG. (1967). *Soil biochemistry.* Vol.1.LTD publishers. New York, USA.
- Mosey, FE. y Foulkes, M. (1984). Control of the anaerobic digestion process, In: *Sewage Sludge Stabilisation and Disinfection.* A.M. Bruce, Water Research Center, Ellis Horwood Limited, Chichester, 174-195.
- NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.- Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. *Diario Oficial de la Federación.* 15 de agosto de 2003. pp. 18-60.
- Orlov, DS. (1992). *Soil chemistry.* Ed. Balkema AA, Rotterdam, Brookfield, pp.390.
- Payet, C., Mignotte Cardiergues, B., Morel, JJ. y Schwartzbrod, L. (1999). Agronomic properties and levels pathogen microorganisms of stored and planted sewage sludge, In: *Disposal and utilization of Sewage Sludge: Treatment Methods and Application Modalities,* Athens Greece, IAWQ. 385-392.
- Porta, CJ., López-Acevedo, RM. y Roquero, LC. (1994). *Edafología para la agricultura y el medio ambiente.* Madrid, España. Ed. Mundi Prensa.

- Rice, CW. y Tiedje, JM. (1989). Regulation of nitrate assimilation by ammonium in soil and isolated microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* 21:597-602.
- Richards, LA. (1984). Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. Limusa. México.
- Rojas Oropeza, M., Cabirol, N., Ortega, S., Castro Ortiz, LP. y Noyola, A. (2001). Removal of fecal indicator organisms and parasites (fecal coliforms and helminth eggs) from municipal biologic sludge by anaerobic mesophilic and thermophilic digestion. *Wat. Sci. Technol.* 44:97-101.
- Schwartzbrod, J. (1996). Traitement des Eaux Usées de Mexico en Vue d'une Réutilisation á des Fins Agricoles. Reunión de Expertos par el Análisis del Proyecto de saneamiento del Valle de México. Instituto de Ingeniería, UNAM, 86.
- Sorokin, DY., Muyzer, G., Brinkhoff, T., Kuenen, JG. y Jetten, MSM. (1998). Isolation and characterization of a novel facultatively alkaliphilic *Nitrobacter* species, *N. alkalicus* sp.nov., *Arch. Microbiol.* 170:345-352.
- Tan, KH. (2000). Environmental soil science, 2ª ed. Marcel Dekker, Inc., New York. NY. pp. 452.
- Thompson, RH.(1980). Los suelos y su fertilidad. 4ª ed. Ed. Reverté. España.
- Ward, BB., Martino, DP., Diaz, MC. y Joye, SB. (2000). Análisis of ammonia-oxidizing bacteria from hypersaline mono lake, California, on the basis of 16S rRNA sequences, *Appl. Environ. Microbiol.* 66:2873-2881.
- Wong, JWC. y Lia, KM. (1996). Effect of artificial soil mix from coal fly ash and sewage sludge on soil microbial activity. *Biol. Fertil. Soil* 23:420-424.

## 8. ANEXOS

### 8.1. ANEXO 1

#### RESPIRACIÓN DEL SUELO

50 g de muestra de suelo mezclada contenido en un frasco de 100 ml, está contenido a su vez en un frasco de 1500 ml, en donde se encuentra una trampa de CO<sub>2</sub> la cual consiste en un frasco de una solución de NaOH 0.1N. A cada tiempo de medición, se valora mediante titulación el exceso alcalino con HCl 0.1N después de la precipitación con BaCl<sub>2</sub> (Page *et al.*, 1982).

#### CARBONO TOTAL REACTIVOS

- ◆ Mezcla digestora.- Se disuelve 39.22 g de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (secado al horno previamente a 90°C) en aproximadamente 800 ml de agua. Lentamente se adiciona 1000 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Enfriar y adicionar agua hasta completar un volumen de 2000 ml.
- ◆ Sulfato ferroso amoniacal.- Disolver 157 g de Fe (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> \* 6H<sub>2</sub>O en 1000 ml de agua que contenga 100 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y llevar a un volumen de 2000 ml.
- ◆ Ácido fosfórico: 85% de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> concentrado.
- ◆ Solución indicadora.- Disolver 3 g de *o*-fenantrolina monohidratada y 1.40 g de sulfato ferroso heptahidratado (FeSO<sub>4</sub>\*7H<sub>2</sub>O) en agua. Diluir la solución a 200 ml. Comercialmente el indicador se vende como ferroina.

#### PROCEDIMIENTO

- ◆ Pesar de la muestra entre 0.5-1.0 g.
- ◆ Adicionarlo en un tubo de 250 ml con 15 ml de la mezcla digestora y se coloca en un digestor a 150°C durante 45 minutos.
- ◆ Transcurrido este tiempo se enfrían los tubos y se adicionan 50 ml de H<sub>2</sub>O, 5 ml de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 85% y 4 gotas de *o*-fenantrolina como indicador.
- ◆ Se titula con la solución de sulfato de amonio ferroso hasta que vire de color verde a rojo pardo. Se recomienda incluir blancos con calentamiento y sin calentamiento.

#### EXTRACCIÓN DE FORMAS DE NITRÓGENO.

- ◆ Solución de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 N
- ◆ Se adiciona en proporción de 4 ml de solución por 1 g de suelo (4:1).
- ◆ Se pone en agitación durante 50 minutos a 190 rpm.
- ◆ Transcurrido este tiempo, se filtran con papel Whatman N° 40.

## **NITRÓGENO KJELDAHL**

### **MATERIAL Y EQUIPO**

- ◆ Aparato digestor durante el proceso (Büchi)
- ◆ Dispositivo de destilación (Büchi)
- ◆ Tubos de vidrio para los equipos de 250 ml.
- ◆ Matraces de 500 ml.

### **REACTIVOS**

- ◆ (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) Ácido sulfúrico concentrado
- ◆ Solución indicadora mixta.- 0.5 g de verde de bromocresol y 0.1 g de rojo de metilo en 100 ml de etanol al 95%.
- ◆ Solución de ácido bórico con indicador.- disolver 40 g de ácido bórico en 800 ml de agua destilada, adicionar 5 ml de indicador mixto. Ajustar la solución a pH=5 con NaOH; llevar al aforo de 1000 ml. Guardar en frasco ambar. Tiempo de conservación un mes.
- ◆ Catalizadores.- Pesar 62.5 g de sulfato de potasio y 6.25 g de sulfato de cobre, se trituran y se mezclan hasta formar un polvo homogéneo.
- ◆ Solución estándar de ácido sulfúrico 0.01N

### **PROCEDIMIENTO**

- ◆ Pesar la muestra de suelo o medir el volumen de muestra, en el caso de muestra líquida, que se va a colocar en un tubo Büchi.
- ◆ Se adiciona 11.1 g de la mezcla de catalizadores
- ◆ Se agrega 30 ml de ácido sulfúrico concentrado con cuidado y lentamente a través de las paredes del tubo ya que se puede presentar proyecciones de la muestra al contacto con el ácido. Se prepara un blanco con agua en el caso de la muestra líquida.
- ◆ Se colocan los tubos en el raket del digestor a máximo nivel de temperatura hasta que la muestra tome un color verde translúcido.
- ◆ Sucedió lo anterior, dejamos enfriar y procedemos a la destilación de la muestra, adicionando al equipo 20 ml de agua y 140 ml de NaOH 6N, durante 8 minutos.
- ◆ El destilado se recibe en un matraz de 250 ml que contiene 25 ml de ácido bórico con indicador.
- ◆ Titulamos la muestra con la solución de ácido sulfúrico 0.01N, el vire será de verde a palo de rosa.

## **NITRÓGENO PROTEICO**

### **REACTIVOS**

Se mezclan:

- ◆ Ninhidrina 2 g
- ◆ Hidridantina 0.3 g
- ◆ DMSO(Dimetilsulfóxido) 75 ml
- ◆ Buffer de acetato de litio 25 ml, 4.0 M, pH=5.2

- ◆ Dejar reposar en la oscuridad en un flujo de  $N_2$  durante  $\frac{1}{2}$  hora para su mejor conservación. Para evitar este procedimiento preparar el mismo día que se va a usar.
- ◆ Buffer de ácido cítrico  
Se mezclan:
  - Ácido cítrico 42 g
  - NaOH 16 g
  - $H_2O$  900 mlAjustar a pH 5 con NaOH 10M y aforar a 1l
- ◆ Etanol – agua al 50%

#### PROCEDIMIENTO

Adicionar:

- ◆ 0.75 ml de muestra.
- ◆ 1.75 ml de Buffer
- ◆ 1.25 ml del reactivo de ninhidrina.
- ◆ Calentar en baño de agua en ebullición por 25 minutos.
- ◆ Enfriar y adicionar 4.5 ml de etanol-agua.
- ◆ Mezclar perfectamente en el vortex, con insistencia cada tubo.
- ◆ Leer a 570 nm.

#### \* CURVA TIPO

- ◆ De 0 a 10  $\mu g$  de N totales.
- ◆ Con  $(NH_4)_2SO_4$  o con algún aminoácido (no Lis, His ó Arg).
- ◆ Calibrar con  $K_2SO_4$

#### NITRÓGENO AMONIAICAL

- ◆ A 10 ml de extracto se le adicionan de 250 – 300 ml de agua destilada más x de MgO (aproximadamente 0.5 y 1g).
- ◆ Se coloca la muestra en el destilador y se recibe el destilado en un matraz con 20 ml de  $H_3BO_3$  (0.1M) con indicador\*\*.
- ◆ Se destilan aproximadamente entre 150 – 200 ml (aproximadamente en 5-8 minutos en el Büchi).
- ◆ Se titula lo recolectado con  $H_2SO_4$  (0.02N) o HCl (0.006N)

\* Las muestras a titular deben ser de color verdoso y con el ácido virarán a azul, las muestras que desde un inicio son azules no se titulan son cero amonio.

\*\* El indicador es rojo de metilo (rm) + azul de metileno (am), que se prepara con 200 mg de rm en 100 ml de etanol al 70% y 100 mg de am con 50 ml de etanol al 70%. y se adiciona 10 ml a la muestra.

## NITRITOS

### REACTIVOS

- ◆ Solución de EDTA

Disuelva 0.5 g de EDTA disódico en agua exenta de nitritos y afofe a 100 ml.

- ◆ Solución de ácido sulfanílico

Disuelva completamente 0.60 g de ácido sulfanílico en 70 ml de HCl concentrado; afofe a 100 ml con agua destilada y mezcle cuidadosamente.

- ◆ Solución de clorhidrato de  $\alpha$ -naftilamina

Disuelva 0.6 g de clorhidrato de  $\alpha$ -naftilamina y 1 ml de HCl conct. en agua destilada y afofe a 100 ml.

Guardese en el refrigerador para conservar la vida del reactivo.

PRECAUCIÓN: Manejese este reactivo con cuidado, utilice pipeta automática y evite la inhalación y la exposición con la piel.

- ◆ Solución amortiguadora de acetato de sodio

Disuelva 16.4 g de  $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$  ó 27.2 g de  $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  en agua destilada exenta de nitritos, afofe a 100 ml. Filtre la solución si no está clara.

- ◆ Solución estándar de nitritos

Prepare soluciones de 0 – 20  $\mu\text{g}$  de N totales, contenidos en una alícuota no mayor de 50 ml.

### PROCEDIMIENTO

- ◆ Si es necesario elimine la turbidez y el color con la suspensión de  $\text{Al}(\text{OH})_3$  si se ve la presencia de un color rojo, ya que la solución debe presentar un color palo de rosa.

Agregue, en este orden:

- ◆ 1 ml de naftilamina
- ◆ 1 ml de EDTA
- ◆ 1 ml de ácido sulfanílico
- ◆ Mezclarlo en cada adición y después dejar reposar durante 10 minutos.

Posteriormente agregar:

- ◆ 1 ml de naftilamina
- ◆ 1 ml de acetato de sodio
- ◆ Mezclar perfectamente y dejar reposar 30 minutos.
- ◆ Medir absorbancia a 520 nm.

## NITRATOS

Para preparar el fenil disulfónico se mezclan 25 g de fenol puro blanco con 150 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado.

Se pone a calentar a baño maría durante 2 horas.

- ◆ Se toma un extracto de 5 ml y se pone a secar en la estufa a  $90^\circ\text{C}$  o hasta deshidratarlo.

Adicionamos:

- ◆ 2 ml de fenildisulfónico
- ◆ 20 ml de agua destilada de manera cuidadosa, ya que hay una reacción violenta con el fenil disulfónico.

- ◆ 7 ml de KOH (12M) ( para acondicionar el pH)
- ◆ Filtrar y decantar si hay presencia de flóculos
- ◆ Aforamos a 50 ml (lavamos las sales) color amarillo.
- ◆ Leemos a 410 nm.

\*Curva tipo: rango de 0 – 50  $\mu\text{g}$  en 50 ml. de  $\text{KNO}_3$ . Esta solución es amarilla y es estable por un día. La curva tipo sigue la ley de Lambert y Beer. Hasta 2 de absorbancia.

### **AMONIACO VOLATILIZADO**

En un frasco de 50 ml se colocan 20 ml de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  y este a su vez en el sistema en contacto con el suelo, lo cual nos permite calcular el amoniacó que se desprende de la muestra, posteriormente este es titulado con una solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.01N

## **8.2.ANEXO 2**

Cálculo para la correspondencia laboratorio/campo, es decir entre mg N/kg suelo seco y kg N/ha:

1 ha = 10,000 m<sup>2</sup>

Valores de la tabla 4.2:      Humedad del suelo (Salinidad 3) 25%  
   Densidad 1.3 g/cm<sup>3</sup>

En base a una profundidad de 20 cm y una superficie de 1 ha, el volumen de suelo es 2.10<sup>9</sup> cm<sup>3</sup>, lo cual corresponde al peso siguiente: 2600 toneladas.

El pasto tiene una tasa de aplicación entre 97-100 kgN/ha. Por lo tanto, 97 kg de nitrógeno se aplica sobre 2600 t de suelo fresco. Un kg de suelo seco corresponde a 1.33 kg de suelo fresco, lo cual nos permite obtener 50 mgN/kg de suelo seco.

### 8.3.ANEXO 3

#### Tasa de aplicación agronómica

Cultivo	% N/Area (1000ha)	Fertilidad	Kg N / ha
Cebada	400	37	97
Maíz	7853	76	82
Avena	243	65	69
Arroz	149	93	129
Sorgo	1934	62	141
Trigo	913	93	183
Cereales /otros	1848	56	34
Papa	65	96	104
Lenteja	2	100	87
Garbanzo	64	79	73
Aguacate	78	100	115
Plátano	55	93	220
Cítrico	279	54	119
Limón	34	100	51
Uva	50	100	78
Mango	43	78	75
Papaya	13	76	132
Piña	7	100	200
Fresa	4	100	213
Frutas/otras	273	93	63
Coco	12	38	58
Nuez	43	47	51
Safflower	115	76	71
Sesame	75	99	72
Frijol de soya	370	95	30
Café	587	56	55
Caña de azúcar	654	91	134
Tabaco	32	99	90
Algodón	434	76	176
Melon chino	13	99	90
Coliflor	1	100	110
Pepino	12	100	248
Berenjena	1	100	450
Cebolla	11	94	145
Pimiento/chile	84	93	135
Calabaza	11	100	165
Tomate	55	99	271
Sandía	14	95	120
Vegetales/otros	153	97	243
Hierbas/te	380	41	128
Forraje/legumbres	5	99	70
Alfalfa	160	86	28
Forraje	4	100	82
Horticultura	3	93	107
Otros	111	100	329
<b>Total</b>	<b>17556</b>		

\* Consumo estimado (1990).

## 8.4.ANEXO 4

### Diagrama de caja para el experimento 1

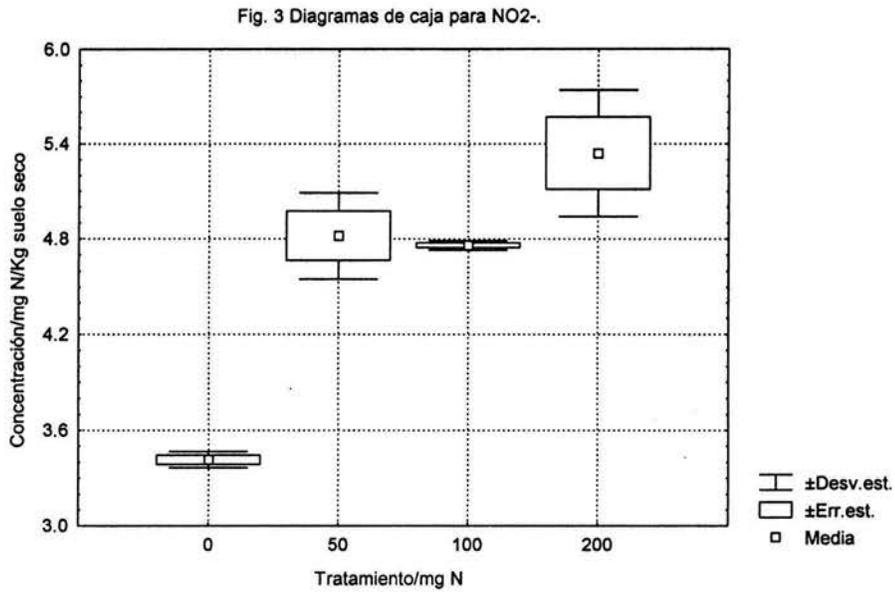
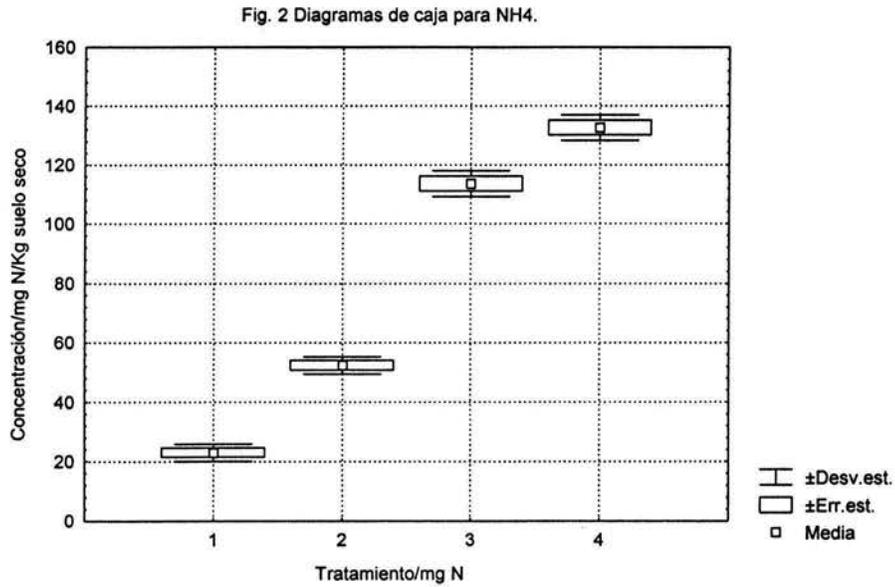


Fig. 4 Diagramas de caja para NO<sub>3</sub>-.

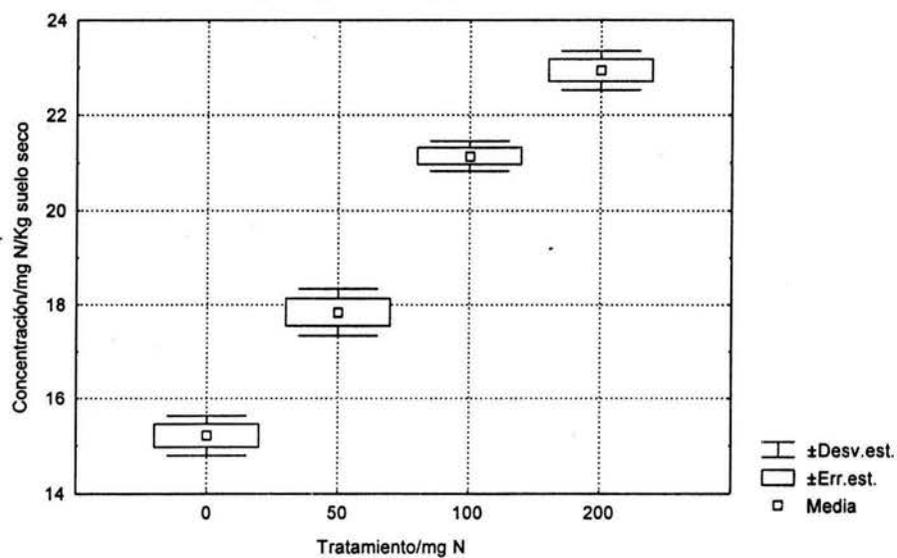
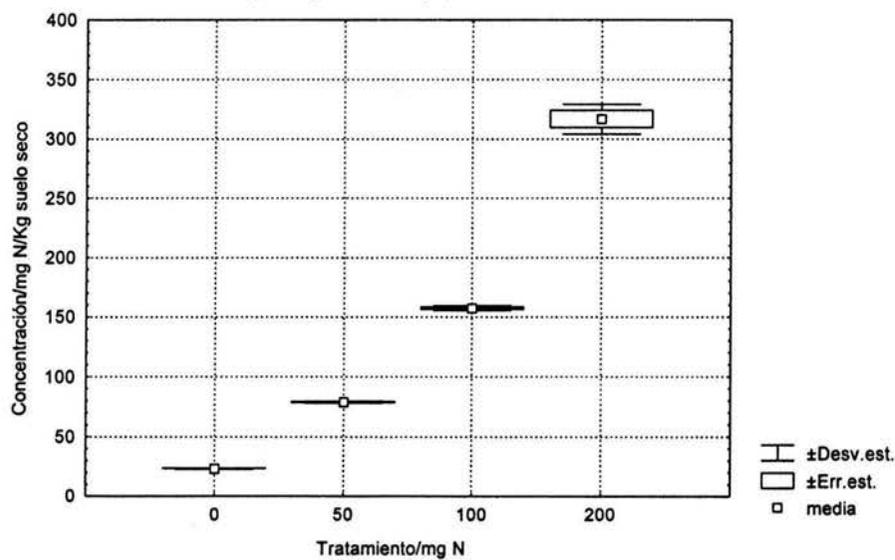


Fig. 5 Diagramas de caja para N-NH<sub>2</sub>.



## Diagramas de caja para el experimento 2

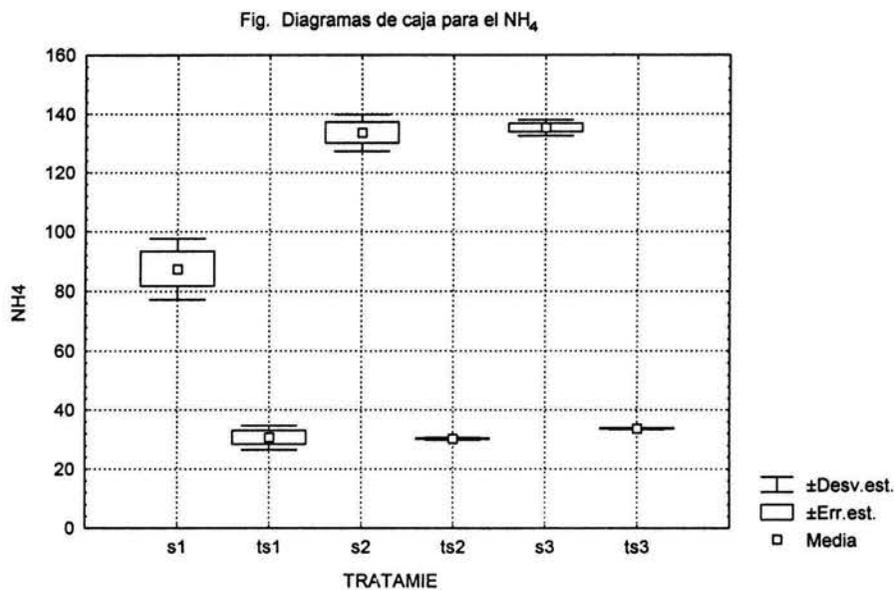
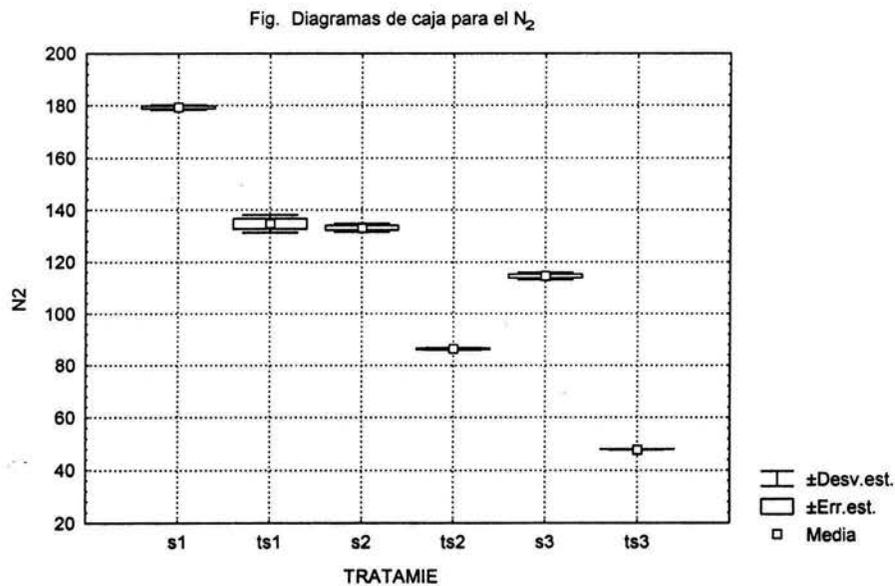


Fig. Diagramas de caja para  $\text{NO}_2$

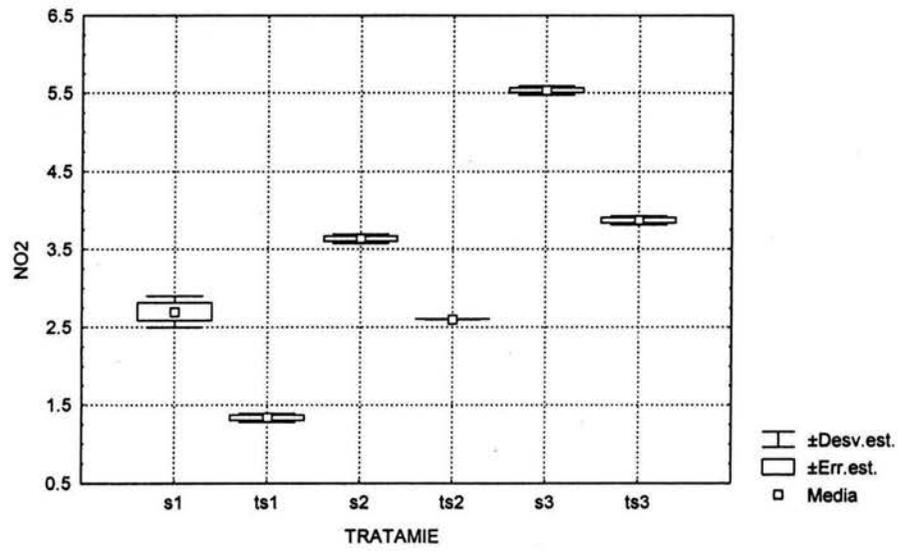
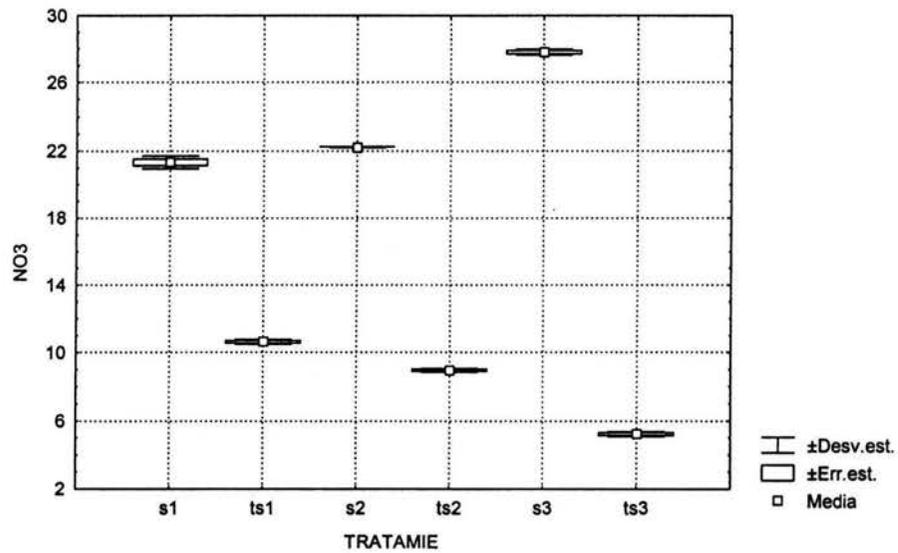


Fig. Diagramas de caja para  $\text{NO}_3$



## 8.5. ANEXO 5

Vista aérea del ex-lago de Texcoco.

