

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL PROCESO DE COMPOSTAJE A PARTIR DE RESIDUOS AZUCAREROS

MICROBIAL CHARACTERIZATION OF THE COMPOSTING PROCESS FROM SUGAR WASTE

Tibayde M. Sánchez Gómez*

* Profesora Asistente. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Instituto de Agronomía (UCV-FAGRO).
E-mail: sanchezm@agr.ucv.ve

RESUMEN

La finalidad del trabajo fue caracterizar microbiológicamente el proceso de compostaje a partir de residuos azucareros y evaluar su efecto sobre el grado de maduración del compost. Durante el proceso de compostaje se tomaron muestras compuestas, realizándose análisis microbiológicos: cuantificación de bacterias heterótrofas aerobias mesófilas y termófilas, bacterias celulolíticas y hongos, como la caracterización genérica de la microbiota fúngica. Se cuantificaron las bacterias heterótrofas aerobias mesófilas y termófilas, y los hongos por el método de recuento en placas y las bacterias celulolíticas por el método del número más probable, luego se evaluó la calidad del compost mediante pruebas de germinación. El pH cercano a la neutralidad permitió que las bacterias mesófilas lideraran la fase inicial, en la fase termofílica las bacterias termófilas están en mayor proporción que las bacterias mesófilas y en la fase de estabilización vuelven las bacterias mesófilas a liderar el proceso de compostaje. Las bacterias celulolíticas descienden a medida que avanza el compostaje, al contrario los hongos incrementan su actividad al final del proceso. Entre los hongos se observó la presencia dominante de *Aspergillus flavus* en la fase inicial, *A. fumigatus* en la fase termofílica y en la de estabilización ocasionalmente se observó la presencia de *A. terreus*, *A. flavus*, *A. niger* y otras especies de *Aspergillus*. El porcentaje de germinación de hortalizas en el material compostado se encuentra por debajo del 80%, lo que indica que el material presenta limitaciones para usarse directamente como sustrato para la germinación.

Palabras Clave: microorganismos; hongos; bacterias; compost; residuos azucareros.

SUMMARY

This work is to characterize the microbiological process of composting from sugar waste and to evaluate their effect on the maturation of the compost. During the composting process, it was taken composed samples and conducted microbiological analysis: quantification of aerobic mesophilic and thermophilic heterotrophic bacteria and cellulolytic bacteria and fungi as generic characterization of the fungal microbiota. Heterotrophic bacteria mesophiles and thermophilic aerobic were quantified and fungi by the method of plaque recount and the bacteria cellulolytic by the most probable number method. We evaluated the quality of the compost by germination tests. The pH close to neutrality allowed that mesophilic bacteria lead the initial phase, in the thermophilic phase the thermophilic bacteria are more than mesophilic bacteria and in the stabilization phase mesophilic bacteria again lead the composting process. Cellulolytic bacteria decrease their activity as it moves down the compost, unlike fungi increase their activity at the end of the process. Among the fungi observed in the experiment the *Aspergillus flavus* dominated in the initial phase, *A. fumigatus* in the thermophilic phase and the occasionally stabilization it was observed the presence of *A. terreus*, *A. flavus*, *A. niger* and other *Aspergillus* species. The germination percentage of vegetables in the compost material is below 80% indicating that the material is limited for use directly as a substrate for germination.

Key Words: microorganisms; fungi; bacteria; compost; waste sugar.

RECIBIDO: noviembre 27, 2008

ACEPTADO: febrero 02, 2009

INTRODUCCIÓN

La crisis energética y económica mundial ha llevado en los últimos años, al desarrollo de aplicaciones biotecnológicas para el tratamiento de desechos agroindustriales y domésticos para evitar que su presencia se convierta en un factor degradante del medio ambiente.

Los centrales azucareros son grandes contaminadores por la gran cantidad de desechos generados en el proceso agroindustrial, estos residuos pueden revalorizarse transformándose en materiales orgánicos con la ayuda del desarrollo de tecnologías y el aporte de microorganismos para que estos procesos degradativos sean aprovechados por las diversas actividades del ser humano (Calero, 1999).

Por cada tonelada de tallos molidos en el proceso de transformación agroindustrial, se extraen 250 kg de bagazo, 6 kg de cenizas, 45 kg de melaza, 30 kg de cachaza y 14 l de vinaza por cada litro de alcohol producido a partir de la melaza.

Generalmente, estos subproductos, son usados en el proceso de compostaje ya que constituyen un problema de contaminación ambiental, por la gran cantidad de residuos que se generan anualmente y que en forma permanente alterarían irreversiblemente los ecosistemas cercanos a los centrales; por lo que se les debe dar una salida, gestionándolos de la manera más económica, social y ambientalmente posible (Miranda, 2001).

El compostaje es una alternativa a la problemática de contaminación de los desechos orgánicos que se generan en la industria del azúcar, pero, se manejan desconociendo la dinámica microbiana presente en el proceso.

En su manejo, se desconocen los microorganismos responsables de la degradación de los desechos orgánicos y por ello los factores físicos-químicos que favorecen su actividad (Godoy, 2002).

El éxito de un proceso de compostaje, dependerá entonces de aplicar los conocimientos de microbiología, manejando la pila de compost como un medio de cultivo.

Existen muchas especies diferentes de microorganismos a lo largo del proceso de compostaje, la finalidad de este trabajo fue conocerlos, cuantificarlos y valorar el efecto de los procesos microbianos sobre el grado de maduración del compost.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del ensayo: el ensayo se desarrolló en uno de los patios del Centro de Acopio de Central El Palmar, S.A. (CEPSA), se conformaron 3 pilas de forma cónica y base circular de 10 t cada una, compuestas de 70% de cachaza, 15% de bagazo, 10% de tierra de molino y 5% de cenizas, tal como son preparadas las mezclas para la obtención del material compostado (Ferbiplant) que comercializa el Central. Una vez conformadas las pilas fueron dispuestas en un sistema abierto, en apilamiento con volteo cada 8 d durante los primeros 30 d del proceso y sin riego.

De cada pila se obtuvieron 10 muestras simples aleatorias del estrato medio, se mezclaron para obtener una muestra compuesta representativa de las 3 pilas y se colocaron en bolsas de 2 kilogramos de capacidad y se realizaron 3 muestreos: a los 30, 60 y 90 d del proceso de compostaje. Cabe destacar que se evaluaron en una primera etapa las condiciones físico-químicas del proceso, pero, aquí sólo se analizarán las evaluaciones microbiológicas y biológicas del mismo.

Evaluaciones microbiológicas: las evaluaciones microbiológicas se realizaron para conocer la dinámica poblacional de los diferentes microorganismos:

Cuantificación de bacterias heterótrofas aerobias mesófilas, heterótrofas aerobias termófilas y hongos. Los análisis de la población microbiana consistieron en la cuantificación de bacterias y hongos por el método de recuento en placas. Lo cual permitió contar el número de microorganismos en el compost que formaron en ellas suspensiones finas, esto se realizó suspendiendo un peso conocido de la muestra en un disolvente estéril.

Cuantificación de bacterias celulolíticas. Se cuantificaron las bacterias celulolíticas por el método de número más probable (NMP), como lo indica Collins y Lyne (sne) y se expresaron como número más probable de bacterias celulolíticas por gramos de compost húmedo.

Caracterización microbiológica. Una vez cuantificados los microorganismos en el proceso de compostaje, se procedió al aislamiento y al reaislamiento de la microflora fúngica para ser identificadas con la ayuda de especialistas del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía en Maracay.

Evaluaciones biológicas: para la evaluación de la calidad del compost se realizó una prueba de germinación a los 90 d, la cual, consistió en hacer germinar semillas de hortalizas para conocer la respuesta biológica de acuerdo al grado de maduración de la materia orgánica, según la metodología propuesta por Zucconi *et al.* (1981) que relaciona el porcentaje de germinación con la longitud de las raíces desarrolladas en un sustrato testigo y compost mediante la siguiente expresión:

$$IG = \%G \times (Lm/Lc)$$

Donde: IG = índice de germinación
 %G = porcentaje de germinación
 Lm = longitud de raíces en compost
 Lc = longitud de raíces en testigo, sin compost

Para este análisis las semillas de hortalizas utilizadas fueron de tomate, *Lycopersicum esculentum*; pimentón, *Capsicum annum*; berenjena, *Solanum melongena*; lechuga, *Lactuca sativa*; brócoli, *Brasica oleraceae* var. Italica y pepino, *Cucumis sativus*.

Estas semillas se colocaron en una bandeja de 162 celdas con material compostado y con sustrato de turba estéril. Las bandejas fueron colocadas en condiciones controladas de humedad (70%HR) y temperatura (38 °C) bajo invernadero.

Se realizaron los contajes de germinación de acuerdo a las normas ISTA de 1985, según Bekendam y Grob (1985), las cuales, según la especie hortícola utilizada establece a cuantos días debe ser evaluado el mismo y se registró la longitud radical. Para conocer las diferencias entre la longitud de las raíces desarrolladas se registró la longitud de 20 raíces en compost y 20 en turba estéril, para cada especie hortícola bajo un diseño completamente aleatorizado, ya que se consideró que las condiciones experimentales fueron homogéneas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluaciones microbiológicas

1. Cuantificación de bacterias heterótrofas aerobias mesófilas, heterótrofas aerobias termófilas y celulolíticas en el compostaje

Se observa que la población de bacterias heterótrofas aerobias mesófilas a lo largo del proceso de compostaje disminuyó de $1,40 \times 10^6$ a $5,30 \times 10^5$ ufc/g compost en

la fase termofílica. Luego existe un ligero aumento a $9,40 \times 10^5$ ufc/g compost en la fase de estabilización (pero nunca se supera a la población inicial). Durante el compostaje la población de bacterias heterótrofas aerobias termófilas aumentó drásticamente de $1,90 \times 10^5$ a $1,20 \times 10^7$ ufc/g compost, se observó una disminución cercana a la población inicial cuando el material tiende a la estabilización (Figura 1 y Cuadro 1).

La población de bacterias celulolíticas va disminuyendo en la medida que el compostaje va avanzando, de valores en la fase inicial de $2,40 \times 10^5$ ufc/g compost a valores en la fase de estabilización de $4,00 \times 10^4$ ufc/g compost.

Las condiciones cercanas a la neutralidad del pH, favorecieron a las bacterias, el contenido de humedad en la fase inicial de 50-60% fue el nivel óptimo para la actividad de las bacterias aerobias reseñado por Polanco (2004). En cuanto a la temperatura, las bacterias mesófilas son favorecidas en la fase inicial, debido a que su actividad metabólica genera altas temperaturas para favorecer a las bacterias termófilas en la fase termofílica, en la fase de estabilización las bacterias mesófilas se encuentran en mayor proporción que las termófilas y celulolíticas.

Los resultados de las poblaciones de bacterias heterótrofas aerobias mesófilas, termófilas y celulolíticas en total en el compost evaluado son superiores a 10^8 - 10^9 ufc/g compost húmedo referidos por Dalzeell *et al.* (1991) en compost en condiciones tropicales y a $2,5 \times 10^8$ ufc/g compost a los presentados por Santamaría *et al.* (2001), superiores a $3,4 \times 10^4$ ufc/g compost al inicio y de $6,9 \times 10^5$ ufc/g compost al final del compostaje encontrados por Gregory (1993) en un vermicompost.

Queda demostrado que la dinámica poblacional bacteriana depende de la interacción compleja de factores físico-químicos y de manejo involucrados en el proceso de degradación de los residuos orgánicos, tanto así que problemas en el programa de volteos están asociados a efectos biológicos determinantes.

2. Cuantificación de hongos en el compostaje

En el Cuadro 1, se observan los diferentes tipos de hongos que actúan en las fases del proceso de compostaje, en la fase inicial predomina *Aspergillus flavus* sobre *A. niger*, *A. terreus*. En la fase termofílica predomina *A. fumigatus* sobre *A. niger*, en la fase de estabilización ninguna colonia predominó, se encontraron *A. terreus*, *A. flavus*, *A. niger* y otras especies de *Aspergillus*.

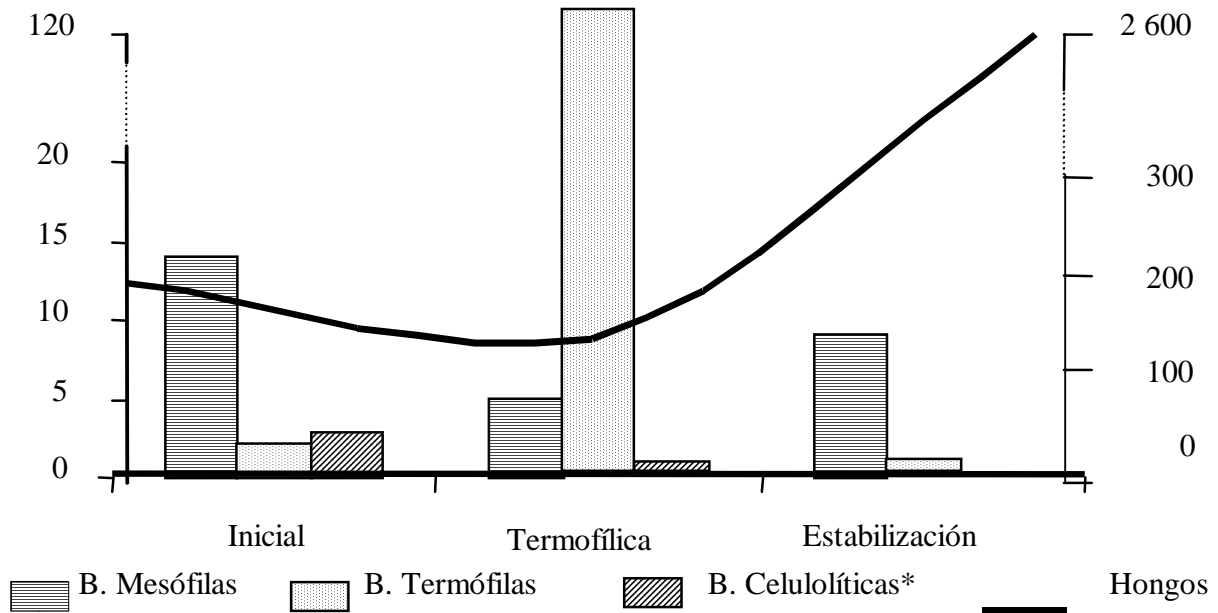


FIGURA 1. Dinámica poblacional de los microorganismos (Bacterias heterótrofas aerobias: mesófilas, termófilas y celulolíticas; y hongos) durante el proceso de compostaje.

CUADRO 1. Cuantificación de bacterias (mesófilas, termófilas y celulolíticas) y hongos (especies) encontrados en el compostaje del CEPISA (Zafra: 2003-2004).

Fase	Mesófilas (ufc/g compost)	Termófilas (ufc/g compost)	Celulolíticas (NMP/g compost)	Hongos (ufc/g compost)	Especies Aspergillus
Inicial	1,40 x 10 ⁶	1,90 x 10 ⁵	2,40 x 10 ⁵	2,00 x 10 ²	<i>A. flavus</i> * <i>A. niger</i> <i>A. terreus</i> <i>A. sp.</i>
Termofílica	5,30 x 10 ⁵	1,20 x 10 ⁷	7,50 x 10 ³	1,45 x 10 ²	<i>A. fumigatus</i> * <i>A. niger</i>
Estabilización	9,40 x 10 ⁵	1,60 x 10 ⁵	4,00 x 10	2,60 x 10 ³	<i>A. terreus</i> <i>A. flavus</i> <i>A. niger</i> <i>A. sp.</i>

*predomina

Las poblaciones disminuyeron en la fase inicial como se observa en el Cuadro 1, de $2,00 \times 10^2$ a $1,45 \times 10^2$ ufc/g compost. Las poblaciones de hongos encontradas en el compost evaluado son inferiores a 10^4 - 10^6 ufc/g compost estudiadas por Dalzeell *et al.* (1991) en compost en condiciones tropicales y a $2,5 \times 10^4$ - $2,1 \times 10^4$ ufc/g compost encontrados por Gregory (1993) en un vermicompost.

Es importante determinar que los hongos tienen una gran habilidad de descomponer residuos orgánicos como la lignina, la hemicelulosa y la celulosa, siendo activos en la última fase del proceso de compostaje. Al contrario, las bacterias también mantienen una habilidad celulolítica, pero, en menor cuantía en comparación con los hongos.

3. Caracterización genérica de la microbiota fúngica

Para facilitar la caracterización de los microorganismos en el compostaje, se procedió al aislamiento y al reaislamiento de la microflora fúngica de las cápsulas que contenían muchas colonias diferentes (Figura 2) y se identificaron posteriormente en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía en Maracay, según metodología de Singh *et al.* (1991).

Se prepararon montajes microscópicos de estructuras fungosas con el uso de la técnica del cello-tape, se observaron el micelio, esporas, estructuras productoras de esporas que diferenciaron las diferentes colonias encontradas en el compostaje.

Fue determinada la presencia de *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger* y *A. terreus*; de donde la primera especie predomina en la fase inicial, la segunda en la fase termofílica y en la etapa final de estabilización están presentes todas menos *A. fumigatus*.

Evaluaciones biológicas

En la evaluación de la calidad del compost, las pruebas de germinación dieron a conocer la respuesta biológica de diferentes cultivos hortícolas de acuerdo al grado de maduración de la materia orgánica del compost en función de la relación del porcentaje de germinación con la longitud de las raíces desarrolladas.

La necesidad de comparación de estas respuestas biológicas obliga a evaluar la calidad de los compost en las diferentes etapas del proceso en función de su maduración.

Los índices de germinación no sólo proponen calcular la germinación, sino también la longitud de las raíces en medios con compost y en medios testigos, permitiendo definir escalas de vigor para cada cultivo, tal como se visualiza en la Figura 3. Estas escalas visuales permiten cualitativa y cuantitativamente valorar las plántulas en 3 niveles: superior, medio e inferior para cada cultivo.

Cabe destacar, que el compost como sustrato demostró una diferenciación radical en los diferentes cultivos no como una expresión genética, sino, a las limitaciones que éste le ofrece al crecimiento y desarrollo vegetativo de los cultivos evaluados.

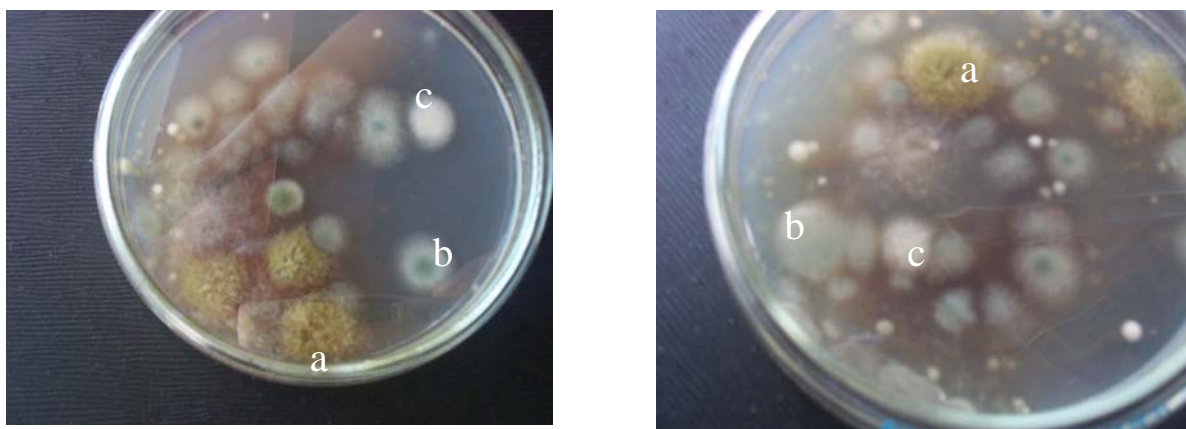


FIGURA 2. Vista de las diferentes colonias fúngicas encontradas durante el compostaje del CEPSA (Zafra: 2003-2004). a. *A. flavus*, b. *A. fumigatus* y c. *A. terreus*.



FIGURA 3. Visualización de la escala de vigor de los cultivos hortícola evaluados. **a.** Pimentón; **b.** Berenjena; **c.** Lechuga; **d.** Brócoli; **e.** Pepino.

En el Cuadro 2 se presentan los índices de germinación en algunas hortalizas con el compost evaluado a los 90 días de iniciado el proceso.

Algunos autores como Rivero (1999) y Negro *et al.* (2000), proponen que el índice de germinación debe ser superior al 80% para ser considerado como satisfactorio. Los índices menores de 50% indican que el compost no ha alcanzado la fase de estabilización, aseguran Madrid y Castellanos (1998).

CUADRO 2. Índices de germinación de algunas hortalizas en compost a los 90 días.

Hortalizas	Índice de Germinación (%)
Tomate	65
Pimentón	85
Berenjena	69
Lechuga	63
Brócoli	80
Pepino	62

El compost alcanzó su fase de estabilización, ya que se obtuvieron índices de germinación mayores a 50%; según las referencias anteriores. Pero comercialmente, en la producción de plántulas, sólo valores superiores al 90% son satisfactorios; únicamente en el pimentón fue de 85% y en el brócoli de 80%, las demás hortalizas evaluadas como tomate, berenjena, lechuga, pepino, son menores de 70%.

En los análisis de varianza para la longitud de las raíces desarrolladas en compost y en turba estéril (Cuadro 3), se obtuvieron diferencias significativas ($\alpha \leq 0,05$) entre las raíces de tomate, berenjena, brócoli y pepino. Entre la longitud de las raíces de pimentón y lechuga no se encontraron diferencias significativas estadísticamente apreciables.

Los resultados demostraron que en la mayoría de las hortalizas evaluadas existen diferencias entre las raíces desarrolladas en compost y en turba estéril, es decir, que el compost presenta algunas limitaciones para ser empleado como sustrato, por sí sólo, para la germinación de hortalizas.

CUADRO 3. Análisis de varianza para la longitud de las raíces de algunas hortalizas sembradas en compost y en sustrato de turba estéril.

F. V.	Tratamientos	E. E.	Fc	C.V.(%)
Grados de libertad	1	38	-	-
Tomate	68,381	1,915	35,708*	18,74
Pimentón	0,1	2,168	0,046 ^{N.S.}	30,84
Berenjena	39,204	2,070	18,939*	27,62
Lechuga	12,321	30,873	0,399 ^{N.S.}	104,84
Brócoli	15,625	3,293	4,744*	21,16
Pepino	207,025	8,538	24,247*	25,50

F. V.: Fuente de Variación, E.E.: Error Experimental, C.V.: Coeficiente de Variación,

*: significativo, N. S.: no significativo. Ftab: 4,08.

CONCLUSIONES

- Las bacterias mesófilas lideran la fase inicial, luego en la fase termofílica las bacterias termofílicas se encuentran en mayor proporción que las bacterias mesófilas y por último en la fase de estabilización vuelven las bacterias mesófilas a liderizar al final del proceso de compostaje.
- Las bacterias celulolíticas van descendiendo a medida que avanza el compostaje.
- Entre los hongos se observó la presencia dominante de *A. flavus* en la fase inicial, *A. fumigatus* en la termofílica y en la de estabilización ocasionalmente se observó la presencia de *A. terreus*, *A. flavus*, *A. niger* y otras especies de *Aspergillus*.
- El proceso de compostaje alcanzó su fase de estabilización, ya que se obtuvieron índices de germinación mayores a 50%, pero comercialmente estos índices no son considerados satisfactorios para la germinación en hortalizas.
- Los resultados demostraron que en la mayoría de las hortalizas evaluadas existen diferencias en las raíces desarrolladas en compost y en turba estéril, es decir, que el compost presenta algunas limitaciones para ser empleado como sustrato para la germinación.

BIBLIOGRAFÍA

- Bekendam, J., R. Grob. 1985. Handbook on seedling evaluation. 2^a Edition. The Internacional Seed Testing Association (ISTA). Zurich.130 p.
- Calero, L. 1999. Manejo Integral de residuos sólidos. Rev. Carta Trimestral. Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia. Cali-Colombia. 21 (2):34-36.
- Collins, C. y P. Lyne, sne. Métodos microbiológicos. Ed. Acribia. España. 524 p.
- Dalzeell, H., A. Biddlestone, K. Gray y K. Thurairajan. 1991. Manejo del suelo: Producción y use del composte en ambientes tropicales y subtropicales. Boletín de suelos FAO. Roma-Italia. N° 56. 312 p.
- Godoy, N. 2002. Aprovechamiento de residuos orgánicos para la producción de compost en la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. Tesis Ing. Agr. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Maracay-Venezuela. 75 p.
- Gregory, M. 1993. Elaboración y elaboración química y microbiológica de un vermicompost. Tesis Ing. Agr. Maracay-Venezuela. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. 93 p.
- Madrid C. y Y. Castellanos. 1998. Efecto de los activadores sobre la calidad de compost elaborados con cachaza y bagazo de la caña de azúcar. Venesuelos. 6 (1 y 2):22-28.
- Miranda, G. 2001. Evaluación del proceso de compostaje a partir de residuos de la industria azucarera. Tesis Ing. Agr. Maracay-Venezuela. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. 97 p.
- Negro, M., F. Villa, R. Alarcón, P. Ciria, M. Cristóbal, A. de Benito, A. García, C. Labrador, C. Lacasta, J. Lezaún, R. Meco, G. Pardo, M. Solano, C. Torres y C. Zaragoza. 2000. Gestión y producción del compost. Dirección General de Tecnología. Centro de Técnicas Agrarias. Gobierno de Aragón. Departamento de Agricultura. Informaciones Técnicas N° 88. Zaragoza-Aragón. 32 p.

- Polanco, G. 2004. Caracterización microbiológica del proceso de compostaje a partir de residuos azucareros. Tesis Ing. Agr. Maracay-Venezuela. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. 72 p.
- Rivero, C. 1999. Materia orgánica del suelo. Rev. Facultad de Agronomía. Alcance 57:127-146. Universidad Central de Venezuela. Maracay-Venezuela. 211 p.
- Santamaría, S., R. Ferrera, J. Almaraz, A. Galvis y I. Barois. 2001. Dinámica y relaciones de microorganismos, C-orgánico y N-total durante el composteo y vemicomposteo. *Agrociencia* 35:377-384.
- Sing, K., J. Frisvad, U. Thrane and Mathur. 1991. An Illustrated manual on Identification some seed-borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia and their mycotoxins. 1ra. Edición. Aoi Tryk as Odense. Institute of seed Pathology for Developing Countries Ryvangs Allé. Helleup, Denmark. 133 p.
- Zucconi, F., M. Forte, A. Monaco and M. Bertoldi. 1981. Biological evaluation of compost maturity. *Biocycle* 22:27-29.