

Caracterización de un extracto de composta a partir de residuos del cultivo de champiñón

Dr. Marco Antonio Gutiérrez Coronado

Ing. Rene Arturo Fimbres Díaz



champosta®



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA
Educar para Trascender

Caracterización de un extracto de composta a partir de residuos del cultivo de champiñón

Autores:

Dr. Marco Antonio Gutierrez Coronado
Ing. Rene Arturo Fimbres Díaz

Gestión editorial:

Oficina de Producción de Obras Literarias y Científicas
Mtra. Cecilia Ivonne Bójorquez Díaz
Lic. Dulce Zyanya Islas Lee

Portada:

Ana Patricia Lugo Serrano
Jesús Gerardo Montaña Ruíz



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA
Educar para Trascender

2012. Instituto Tecnológico de Sonora ITSON.

5 de Febrero 818 sur, Colonia Centro

Código Postal 85000

Ciudad Obregón, Sonora

<http://www.itson.mx>

rectoria@itson.mx

+52 (644) 410.0900

Reservados todos los derechos. Ni la totalidad ni parte de esta publicación pueden reproducirse, registrarse o transmitirse por un sistema de recuperación de información en ninguna forma ni por ningún medio, sea electrónico, mecánico, fotoquímico, magnético o electroóptico, por fotocopia, grabación o cualquier otro, sin permiso previo por escrito del Instituto Tecnológico de Sonora.

ISBN: 978-607-609-019-0

**Primera edición
Septiembre de 2012
Hecho en México**

Índice

I. Introducción.....	4
Objetivo.....	4
II. Marco teórico.....	5
2.1 Compost.....	5
2.1.1 Propiedades Químicas.....	6
2.1.2 Propiedades físicas.....	8
2.1.3 Microbiología.....	9
2.2 Cultivo de Champiñón.....	11
III. Materiales y Metodos.....	13
3.1 Material biológico utilizado.....	13
3.2 Material y equipo utilizado.....	13
3.3 Establecimiento del experimento.....	13
3.4 Digestión de la muestra.....	14
3.4.1 Determinación de Nitrógeno Total Kjeldahl método Nessier.....	14
3.4.2 Determinación de Potasio (K). (Método del Tetraborato).....	16
3.4.3 Determinación de Fósforo (P) (Método del ortofosfato).....	17
3.4.4 Determinación de Calcio (Ca) y Magnesio (Mg). (Método de dureza).....	17
3.5 Determinación de Sólidos Totales.....	18
3.5.1 Determinación de Cenizas.....	18
3.6 Medición del pH.....	18
3.7 Análisis microbiológico.....	19
IV. Resultados y Discusión.....	21
4.1 Determinación de Notrógeno Total Kjeldahl (Método Nessier).....	21
4.2 Macronutrientes.....	24
4.2.1 Determinación de Fósforo (P). (Método del Ortofosfato).....	24
4.2.2 Determinación de Potasio (K). (Método del Tetraborato).....	25
4.2.3 Determinación de Calcio (Ca) y Magnesio (Mg). (Método de dureza).....	26
4.3 Sólidos Totales.....	27
4.3.1 Cenizas.....	27
4.4 pH.....	27
4.5 Análisis Microbiológico.....	28
V. Conclusiones.....	29
VI. Bibliografía.....	30

I. Introducción

Desde hace mucho tiempo la agricultura es muy importante para la humanidad y para diversas especies animales ya que a ella le pertenece la producción del alimento para el hombre y los animales. Ésta ha sido reconocida como la madre de todas las industrias y de ella depende la prosperidad de toda la especie humana, las riquezas de los estados y el acrecentamiento del comercio (López *et al.*, 2001).

Los abonos orgánicos se vienen utilizando desde hace mucho tiempo, ya que se ha demostrado la gran influencia que éstos tienen en la agricultura. Históricamente es muy difícil atribuir a una persona o a una sociedad y época concreta los inicios del compostaje, aunque sí se puede demostrar que surgieron junto con la agricultura, cuando la humanidad pasó de ser nómada a sedentaria.

La composta de sustrato gastado de champiñón es el material residual del composteo del sustrato usado en la producción de champiñón, también se le llama composta de champiñón o de hongos. Esta composta tiene muchos usos benéficos entre los que destacan agente de biocontrol orgánico, el cual suprime el desarrollo de hongos indeseables en el acolchado de césped, además de ser una buena fuente de materia orgánica y de ciertos nutrientes (Davies y Kuhns, 2005; Chong y Hamersma, 1996).

1.1 Objetivo

Caracterizar un extracto líquido de composta producida a base de residuos del cultivo de champiñón mediante análisis físicos, químicos y microbiológicos para determinar si éste es adecuado para su uso en la agricultura.

Objetivos específicos

*Encontrar la dilución idónea del extracto mediante la determinación de Nitrógeno total para obtener la concentración más alta del nutrimento.

*Determinar parámetros físicos y químicos del extracto para caracterizarlo

*Realizar análisis microbiológico al extracto de composta para determinar el número de colonias de microorganismos benéficos.

II. Marco teórico

2.1 Compost

El compost es considerado un producto orgánico ya estabilizado el cual cuenta con propiedades únicas para la biorremediación de suelos infértiles, o bien, como fertilizante vegetal en menor grado. Éste abono orgánico se obtiene a través del compostaje el cual es un proceso de que consiste en la degradación de residuos orgánicos mediante una fermentación natural. En el compostaje es importante destacar que la descomposición de la materia orgánica se da por acción de diversos microorganismos entre los cuales las bacterias juegan un papel muy importante (Guzmán, 2007).

La conversión de dichos residuos a “humus” se puede dar de dos formas distintas, por medio de descomposición aeróbica o anaeróbica. En la aeróbica, como su nombre lo indica, los residuos orgánicos se degradan en presencia de oxígeno por acción de los microorganismos en donde la temperatura de la pila suele estar por encima de los 90°F. En cambio en la descomposición anaeróbica los residuos se degradan en ausencia de oxígeno, la composta puede ser realizada por debajo de la tierra o en algún lugar cerrado. Las temperaturas que se obtienen son muy parecidas a las de la descomposición aeróbica y en la mayoría de los casos se le añaden ciertos activadores bacterianos para reducir el proceso de descomposición hasta seis semanas (Guzmán, 2007).

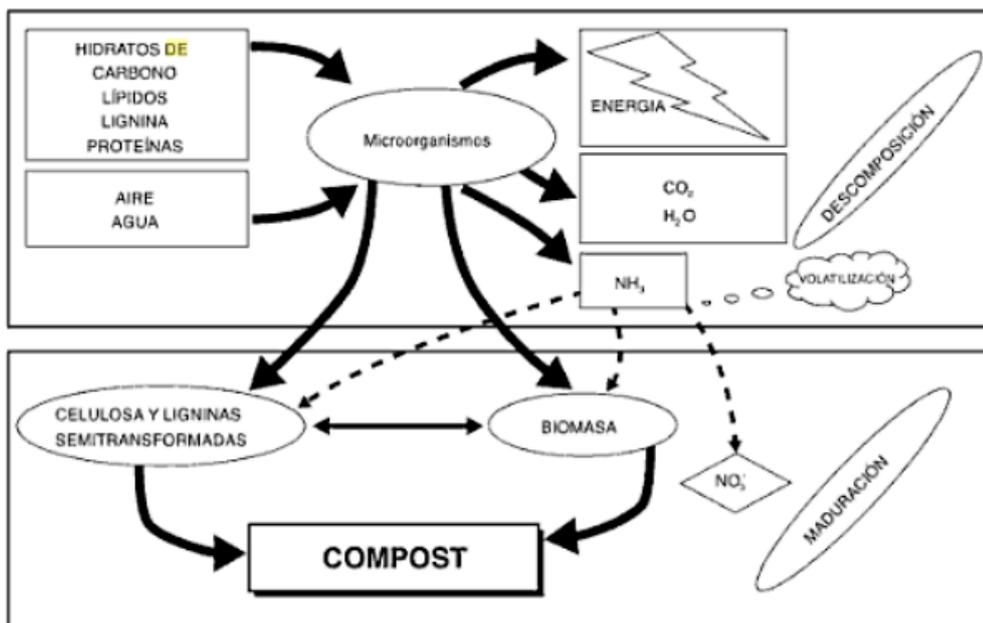


Figura 1. Esquema del proceso de compostaje por descomposición aeróbica

Como se puede ver en la figura 1, éste es un proceso dinámico, biológico aerobio y en consecuencia termófilo, que para llevarse a cabo necesita: materia orgánica, población microbiana inicial y las condiciones óptimas para que ésta se desarrolle con multiplicidad de funciones y actividades sinérgicas, para ello y para que la población microbiana sea lo más variada posible se debe mantener una serie de equilibrios: aire/agua, biopolímeros y nutrientes y un control muy estricto para conseguir:

- Eficiencia en el proceso.
- Reducción al mínimo de las emisiones y de las pérdidas de nutrientes.
- Un producto final de características conocidas y adecuadas para su destino.

En cuanto a las condiciones ambientales (físicas y químicas) en las que se empieza a desarrollar la actividad microbiana están en constante cambio debido a la acumulación de los subproductos de su misma actividad incluyendo la energía calorífica (Nieves, 2005).

2.1.1 Propiedades Químicas

La composición química del compost es muy variada ya que ésta depende en gran medida de la edad, según su procedencia, manejo y contenido de humedad. En cuanto al valor de materia orgánica que contiene, se pueden determinar grandes ventajas que difícilmente pueden lograrse con los fertilizantes inorgánicos (López *et al.*, 2001).

El compost contiene nutrientes que las plantas necesitan para su crecimiento, así como para producir las partes vegetales que justifican su cultivo tales como flores, frutos, hojas, etc. El compost es más que un simple concentrado artificial de sustancias químicas de las que se alimentan las plantas, éste tiene una estructura más compleja en donde los nutrientes forman parte de un entramado en el cual están unidas las moléculas que modulan y hacen más fácil la liberación y absorción de los nutrientes por parte de las plantas. Los macronutrientes y micronutrientes son los elementos químicos que sirven a los vegetales como fuente importante de alimento; macronutrientes son los que las plantas necesitan en mayor proporción, por otro lado, los micronutrientes también son necesarios pero en muy pequeñas cantidades y, por tal motivo su presencia en las plantas es mucho más reducida que en el caso de los macronutrientes (Guzmán, 2007).

La tabla 1, presenta los trece elementos químicos y la cantidad que las plantas necesitan tomar del suelo para poder vivir. Como puede observarse, los macronutrientes son los que tienen que abundar en el suelo ya que las plantas los necesitan en una mayor proporción, aunque los micronutrientes también tienen que estar presentes pero de manera más escasa.

Tabla 1. Requerimientos nutricionales de las plantas.

MACRONUTRIENTES				MICRONUTRIENTES
PRIMARIOS		SECUNDARIOS		Fe, Zn, Cu, Mn, Mo, B, Cl
N	2,0 %	Ca	1,3 %	La suma de todos ellos supone el 1 % de la composición química de las plantas
P	0,4 %	Mg	0,4 %	
K	2,5 %	S	0,4 %	

La aplicación de compost bien maduro garantiza la agregación de todos los elementos esenciales para la planta, además de proporcionar riqueza y equilibrio de nutrientes al suelo donde se aplica. Por lo tanto, los vegetales que sean nutridos con un compost maduro podrán tener buena salud que muy probablemente no le podrán garantizar los fertilizantes de síntesis (Tabla 2) (Stoffella y Khan, 2004).

Tabla 2. Macronutrientes, su función en la planta y su proporción en el compost de residuos domésticos.

Nutriente	Función en la planta	Cantidad
Nitrógeno (N)	Resistencia a plagas, crecimiento aéreo de plantas	1-2%
Fósforo (P)	Desarrollo de raíces, maduración de flores, semillas y frutos	0.8-2.5%
Potasio (K)	Fortaleza a raíces y tallos, grandeza en semillas, frutos y hojas	1-1.5%
Calcio (Ca)	Formación de paredes celulares de las plantas	2-8%
Magnesio (Mg)	Forma parte de la clorofila y actúa en el metabolismo del P	>1%
Azufre (S)	Constituyentes de proteínas, interviene en la fotosíntesis	>1%

Fuente: CORPOICA, 2002

En cuanto a las características del compost, el pH es un parámetro que se utiliza como indicador en el proceso de compostaje ya que durante el proceso el pH desciende inicialmente debido a la formación de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y a medida que el proceso avanza, el valor de pH va aumentando hasta valores aproximados de entre 6.5 a 8.5. Las plantas sobreviven en un amplio intervalo de pH, pero se puede decir que el crecimiento y desarrollo de los cultivos pueden verse afectados en condiciones de acidez y basicidad extremas. En general, los compost que se encuentran en estado maduro tienden a tener valores de pH

neutros o ligeramente básicos. En los suelos ácidos el compost eleva el pH haciendo que éstos mejoren sus condiciones microbiológicas, así como las condiciones de disponibilidad de nutrientes por lo que en la mayoría de los casos el compost es utilizado como enmienda o mejorador (López *et al.*, 2001).

La conductividad eléctrica no proporciona información específica sobre las clases de sales presentes, pero es un excelente indicador de la presencia de sales solubles que existen en el compost. Los altos contenidos de sales pueden repercutir directamente en la germinación de las semillas y en el desarrollo general del cultivo, todo dependiendo de la tolerancia de los cultivos a la salinidad, del tipo de suelo y de las pautas de riego.

El rango de CE del compost al final de la fase II, debe oscilar entre 1.940-3.700 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (López *et al.*; 2001).

2.1.2 Propiedades físicas

Las propiedades físicas del compost son muy importantes, sobre todo si analizamos en lo que puede repercutir su aplicación en suelos. El compost ayuda a mejorar la composición y la estructura del suelo, mejora el drenaje y la aireación del suelo y ayuda al mismo a retener humedad (CORPOICA, 2002).

La valoración del color y del olor de un compost son métodos razonables de chequeos para el rechazo de compost que presentan problemas evidentes. Un compost con un nauseabundo olor anaerobio es poco probable que sea considerado como maduro por cualquier otro ensayo. Se dispone de patrones estándar para la evaluación del color y el olor. El oscurecimiento del color de un compost durante el compostaje, viene afectado fuertemente por la materia prima. Los compost de residuos domésticos tienen generalmente un color oscuro, mientras que un compost de estiércol alcanza un color más pardo cuando está maduro (Stoffella y Khan, 2004).

Los sólidos volátiles, una aproximación del contenido de materia orgánica, disminuyen durante el compostaje. Típicamente, alrededor de la mitad de la materia orgánica inicial se pierde durante el compostaje. Se ha propuesto como objetivo para los compost maduros un valor mínimo de $60\text{meq}\cdot 100\text{g}^{-1}$ (Stoffella y Khan, 2004).

Varios estudios indican diferentes valores de análisis físicos pero sin alguna varianza significativa. El compost maduro es un material que se disgrega de una manera muy fácil, se debe encontrar normalmente de color oscuro y desprende un olor a tierra, no se distinguen los materiales inicialmente utilizados, su textura es suave y con una humedad aproximada de 40% (CORPOICA, 2002).

2.1.3 Microbiología

Durante el compostaje, los microorganismos benéficos ayudan a alcanzar altas temperaturas (hasta 70°C) las cuales son favorables para la destrucción de microorganismos patógenos. Las bacterias juegan un papel muy importante en el proceso de compostaje ya que mejoran la rapidez de la descomposición de los residuos orgánicos y mejoran la calidad microbiológica del abono. Entre los géneros de bacterias más importantes en la agricultura por su capacidad de degradación de compuestos orgánicos e inorgánicos y que por lo tanto favorecen la nutrición de las plantas están: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Axospirillum*, *Beijerinckia*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Thiobacillus* y *Lactobacillus* (CORPOICA, 2002).

Bacillus:

Género bacteriano de la familia *Baciláceas* que incluye 48 especies, algunas son patógenas para el hombre y animales. El género *Bacillus* consta de bacilos grandes, gram positivos, esporógenos con endospora generalmente central de forma cilíndrica o helicoidal; aerobios estrictos o facultativos, catalasa positiva. Están ampliamente distribuidos en la naturaleza: suelo, vegetación, agua y aire; son frecuentemente contaminantes de cultivos de muestras clínicas en el laboratorio. Únicamente nueve especies se han relacionado a procesos infecciosos en el humano (Barbado, 2003).

Pseudomonas:

El género *Pseudomonas* cubre uno de los más diversos y ecológicamente significativos grupos de bacterias. Los miembros del género son encontrados en números grandes en una amplia gama de lugares ambientales, como entornos terrestres y marítimos, así como en asociación con plantas y animales (Satyanarayana *et al*; 2012).

Azotobacter:

Género de bacterias gram negativas aerobias de la familia de las *azotobacteriáceas*, que se hallan en el suelo y son capaces de fijar nitrógeno atmosférico (Barbado,

2003).

Azotobacter es uno de los microorganismos utilizados como biofertilizantes que más se aplica e investiga en Cuba. Sus propiedades beneficiosas se ponen de manifiesto en una gran variedad de hortalizas, granos y viandas (Satyanarayana *et al*; 2012).

En determinadas condiciones su efecto beneficioso no se debe solamente a la cantidad de nitrógeno atmosférico fijado, sino a la capacidad de producir vitaminas y sustancias estimuladoras del crecimiento (ácido indolacético, ácido giberélico, citoquininas y vitaminas) que influyen directamente en el desarrollo vegetal (Barbado, 2003).

Nitrosomonas o Nitrobacter:

Nitrosomonas han sido clasificadas según el orden *Nitrosomonadales* y pertenecen a la familia *Nitrosomonadaceae* que a su vez pertenece a la clase *Betaproteobacteria*. *Nitrosomonas* son gram negativo y su morfología suele ser esférica, elipsoidal o en forma de barra. Se conoce que algunas especies de *Nitrosomonas* son *halofílicas* o *halotolerantes* en la naturaleza. Hábitats comunes para esta especie son el entorno salobre de agua, lagos de soda y el entorno marítimo (Satyanarayana *et al*; 2012).

Actinomycetos:

También están presentes en el compost y éstos ayudan a la producción de antibióticos y actúan sobre poblaciones microbianas que son patógenas para las plantas. Además contribuyen a la producción de sustancias húmicas. Entre los géneros de *actinomicetos* más importantes podemos encontrar: *Streptomyces*, *Frankia*, *Nocardia* y *Actinomyces* (CORPOICA, 2002).

Hongos:

Los hongos son organismos heterótrofos que se alimentan por absorción, producen esporas mediante ciclos vitales sexuales y asexuales. Éstos descienden de un protista unicelular flagelado y acuático. Son muy diversos y están muy dispersos, son esenciales para el buen funcionamiento de la mayoría de los ecosistemas terrestres. Descompone las sustancias orgánicas y reciclan nutrientes, lo que permite que otros organismos puedan asimilar los elementos químicos esenciales (Barbado, 2003).

Casi todas las plantas dependen de una relación simbiótica con los hongos, que ayuda a que sus raíces puedan absorber minerales del suelo. También los seres humanos obtenemos beneficios de la acción de los hongos en la agricultura y en la forestación, y éstos son esenciales para la fabricación de diversos productos, desde el pan hasta los antibióticos. Pero una pequeña parte de los hongos producen enfermedades en plantas y animales.

En cuanto a los hongos presentes en el compost, éstos son microorganismos que junto con las bacterias y los actinomicetos contribuyen a que se realice la descomposición de los residuos orgánicos. Entre los principales hongos podemos encontrar: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Trichoderma*, entre otros (CORPOICA, 2002).

Los microorganismos eficaces que se encuentran en el compost son aquellos que son benéficos, tanto aeróbicos como anaeróbicos, los cuales tienen diferentes funciones. Los diferentes tipos de microorganismos toman sustancias generadas por otros organismos basando en ello su funcionamiento y desarrollo. Cuando los microorganismos benéficos incrementan su población, se incrementa la actividad de los microorganismos naturales, enriqueciendo la microflora, balanceando los ecosistemas microbiales, suprimiendo microorganismos patógenos presentes en el compost. La mayoría de estos microorganismos benéficos son conformados por bacterias ácido-lácticas, bacterias fototrópicas y levaduras (Nieves, 2005).

2.2 Cultivo de Champiñón

Históricamente, los primeros horticultores productores de champiñones fueron los franceses. Los cultivos de champiñones, más probablemente *Agaricus campestris* *Fries*, se realizaba en las llamadas camas calientes, donde el calor natural de los montones de estiércol se utilizaba como medio de protección de los cultivos sensibles al frío, como el pepino y el melón. Las condiciones bajo las cuales los champiñones eran cultivados fueron mejoradas por la transferencia de la fuente de champiñones a una nueva pila. Ésta práctica empezó a finales del siglo XVII y fue desarrollada hasta la producción industrial del champiñón a principios del siglo XIV (Stoffella y Khan, 2004).

El cultivo de champiñón es complejo y se debe manejar de una manera muy cuidadosa. También para su buen desarrollo en los cuartos donde se cultivan en la oscuridad, es muy importante cuidar las condiciones ambientales de humedad,

temperatura, etc., ya que un pequeño descuido puede generar pérdidas en la cosecha (Barbado, 2003).

El cultivo de champiñón tiene varias etapas. Primero hay que realizar una mezcla a base de paja seca, luego se pasteuriza antes de proceder a la siembra de los micelios, los cuales son hongos pero en primera fase de desarrollo. Enseguida se cubren con polietileno, y después de dos o 3 semanas se cubren nuevamente con una capa de 3 a 4cm de turba, la cual será perforada mientras los hongos empiezan a crecer en dos “floraciones” separadas de 7 a 11días. Por último después de su maduración, se realiza la cosecha de los hongos que serán de inmediato empacados para enviarlos a los mercados (Barbado, 2003).

III. Materiales y Métodos

3.1 Material biológico utilizado

Se trabajó con composta de sustrato gastado de champiñón; enviado por la empresa FENIFOS, localizada en La Barca, Jalisco.

3.2 Material y equipo utilizado

10 Matraces de 1L

10 Agitadores magnéticos

5 Parillas magnéticas para agitación

10 Vasos precipitado de 150 ml

Papel filtro y tela de gasa

3.3 Establecimiento del experimento

Se pesó 50, 100, 150, 200 y 250 gramos de compost (tal como se comercializa, con 30% de humedad) respectivamente y se diluyó en 500 ml de agua destilada. Quedando las diluciones como se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Diluciones compost/agua destilada.

Compost (g)	Volumen final (mL)	Dilución Compost/agua	Tiempo de agitación
50	500	1/10	Hasta 5 días
100	500	2/10	Hasta 5 días
150	500	3/10	Hasta 5 días
200	500	4/10	Hasta 5 días
250	500	5/10	Hasta 5 días

Cada dilución se colocó en un matraz Erlenmeyer de 1 litro y se realizó un duplicado de cada unidad experimental, para someterlos a agitación (intermitente) hasta que las diluciones alcanzaran la homogenización completa. Se midió en cada dilución diariamente el contenido de nitrógeno en el extracto, para encontrar la mejor dilución.

Seguidamente se montó el experimento de manera similar que el anterior pero usando agua potable y agua destilada, con la proporción 3/10 durante 5 días para comparar en cual de los dos tipos de agua se extraía más nitrógeno. Se midió nitrógeno total cada día.

Tabla 4. Dilución 3/10 en dos tipos de agua.

Agua	Volumen final (mL)	Dilución Compost/agua	Tiempo de agitación
Potable	500	3/10	Hasta 5 días
Destilada	500	3/10	Hasta 5 días

Una vez homogenizadas todas las unidades experimentales; se dejaron reposar por un par de horas y se filtraron; usando toallas de cocina de la marca Magitel, para eliminar toda la materia seca posible. Se recolectó el filtrado en vasos de hielo seco y se procedió con la digestión; usando 4 ml de alícuota y un microdigestor Khieldhal de la marca HACH.

3.4 Digestión de la muestra

Se realizó la digestión de manera individual a cada una de las unidades experimentales. Usando un matraz volumétrico de 100 ml de la marca Pirex, se tomó 4 ml de alícuota a la cual se les añadió 4 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Se colocó la muestra en el aparato digestor previamente precalentado a 400°C dentro de una campana de extracción; a partir del inicio de emisión de vapores nitrosos se contó el tiempo por 4 minutos.

Posteriormente se añadieron 10 ml de peróxido de hidrógeno para oxidar completamente las muestras y se dio continuidad al calentamiento 1 minuto más para asegurar la eliminación de exceso de peróxido de hidrógeno.

Se retiró el matraz del digestor para dejarlo enfriar y seguir con el aforo de éstas a 100 ml con agua destilada.

Este procedimiento se realizó con cada una de las diluciones sustrato/agua y su duplicado.

3.4.1 Determinación de Nitrógeno Total Kjeldahl método Nessler

En la tabla 5 se enlista el material, equipo y reactivos necesarios para la determinación de nitrógeno total Kjeldahl, por el método de Nessler.

Tabla 5. Material y equipo utilizado en la determinación de nitrógeno total Kjeldahl, por el método de Nessler.

Material	cantidad
Matraz volumétrico de 100mL	10 pza*
Matraz volumétrico de 25 mL	10 pza
Celdas para espectrofotómetro	5 pza
Pipetas de 10 mL	5 pza
Pipetas de 5 mL	5 pza
Equipo	
Espectrofotómetro HACH, modelo DR 2100	1 pza
Reactivos	
Indicador TKN	1 gota
Hidróxido de potasio 8 N	varias gotas
Hidróxido de potasio 1N	varias gotas
Estabilizante mineral	3 gotas
Agente de dispersión- alcohol polivinílico	3 gotas
Reactivo de Nessler	1 mL

Usando las soluciones acuosas procedentes de la digestión húmeda, se realizó el procedimiento siguiente:

- 1.- Encender el espectrofotómetro HACH
- 2.- Presionar el botón para seleccionar programas (HACH PROGRAM). Seleccionar el programa 399 Nitrógeno total Kjeldahl.
- 3.- La pantalla mostrará: HACH PROGRAM: 399 Nitrogen, TKN.
- 4.- La longitud de onda (λ), 460 nm, es seleccionada automáticamente.
- 5.- Se tomó 1ml de alícuota para el análisis, usando un blanco reactivo con agua destilada, se colocaron por separado en cilindros de mezcla graduados.
- 6.- Se añadió una gota de indicador TKN a cada cilindro.
- 7.- Se utilizó KOH 8.0 N, adicionado gota a gota a cada cilindro hasta la aparición del primer destello de color azul. Se invirtió el cilindro en cada adición, para homogenizar la solución.
- 8.- Se añadió 1.0N KOH a cada cilindro, de gota en gota, mezclando después de cada adición y continuo hasta que aparezca un color ligeramente azul y quede permanente.
- 9.- Se aforó ambos cilindros con agua destilada hasta marcar 20 ml.
- 10.- Se agregó 3 gotas del estabilizador mineral de marca Hach y se invirtió varias veces el cilindro para mezclar.

11.- Se adicionó 3 gotas de alcohol polivinílico a cada recipiente y se invirtió varias veces para mezclar.

12.- Se aforó cada cilindro a 25 ml con agua destilada y se homogenizo.

13.- Se procedió agregando 1ml del reactivo Nessler a cada uno de los cilindros. Invertir repetidamente. La solución no debe estar brumosa, ya que causaría resultados incorrectos para mezclar.

14.- Se dejó un tiempo de reacción de 2 minutos, contabilizándolo con el "timer" del espectrofotómetro.

15.- Cuando el tiempo de reacción terminó, se colocó el contenido de cada cilindro en celdas separadas de 10 ml.

16.- Primero el blanco se leyó en el espectrofotómetro. La pantalla mostrará 0.0 mg/L TKN

17.- Finalmente, se colocó la muestra preparada dentro del sostenedor de celdas. Los resultados se mostrarán en mg/L nitrógeno total Kjeldahl.

Cálculos:

Se calcula el contenido de proteína como Nitrógeno Total Kjeldalh (TKN) de la siguiente manera:

$$TKN = 75 * A / B * C$$

Donde:

A= mg/L lectura de la muestra

B= peso en gramos de la muestra que se tomaron para la digestión

C= volumen de la alícuota (ml) que se usó para el análisis.

Después de realizar la determinación de nitrógeno total a cada una de las diluciones y sus repeticiones; se eligió la concentración más alta del nutrimento, para realizar los análisis complementarios a la muestra idónea.

3.4.2 Determinación de Potasio (K). (Método del Tetraborato)

Utilizando la muestra digerida seleccionada y usando el espectrofotómetro HACH DR-2100, se siguió el procedimiento siguiente:

1.- Se seleccionó el número del programa (numero) almacenado para el potasio.

2.- Se llenó un cilindro graduado mezclando 1 ml de alícuota y agua destilada hasta la marca de 25ml.

3.- Se añadió un sobre de reactivo de potasio 1, se homogenizó la mezcla y se adicionó un sobre de reactivo de potasio 2; se invirtió varias veces para mezclar.

4.- Se añadió el sobre de reactivo de potasio 3; y se mezcló, para después dejar 3 minutos como tiempo de reacción. La turbidez indicó la presencia de potasio.

5.- Se colocó el blanco en el sostenedor de celdas y se presionó ZERO. La pantalla mostró 0.0 mg/L K

6.- Finalmente se colocó las celdas con la muestra y se cerró la tapa, los resultados aparecieron en mg/L de K.

3.4.3 Determinación de Fósforo (P) (Método del ortofosfato)

Utilizando la muestra digerida seleccionada y usando el espectrofotómetro HACH DR-2100, se siguió el procedimiento siguiente:

- 1.- Se seleccionó el número del programa (490) almacenado para fósforo.
- 2.- Se llenaron dos celdas con 10ml de muestra, a una se le agregó el contenido de un sobre de PhosVer3 fosfato e inmediatamente se tapó y agitó para mezclar, mientras la otra se tomó como blanco.
- 3.- Después de dos minutos, se tomó el blanco, se colocó en el sostenedor de celdas del espectrofotómetro, se cerró la tapa y a su vez se presionó ZERO, La pantalla mostró: 0.00mg/L PO₄-3.
- 4.- Se sacó el blanco para proseguir con la muestra la cual, de igual manera, se colocó en el sostenedor de celdas del espectrofotómetro, se cerró la tapa y el resultado apareció en mg/L PO₄-3.

3.4.4 Determinación de Calcio (Ca) y Magnesio (Mg). (Método de dureza)

Utilizando la muestra digerida seleccionada y usando el espectrofotómetro HACH DR-2100, se siguió el procedimiento siguiente:

- 1.- Se seleccionó el número del programa 225 Hardness, Mg.
- 2.- Se añadieron 100 ml de muestra y 1 ml del indicador calcio y magnesio a un matraz volumétrico de 100 ml, se tapó y agitó varias veces para mezclar.
- 3.- Se agregó 1ml de solución álcali usando un gotero de 1ml, se tapó y agitó para mezclar.
- 4.- Se añadieron 25 ml de la solución preparada en 3 celdas. A la primera se le agregó una gota de solución EDTA (blanco) y a la segunda se le agregó una gota de la solución EGTA. Se taparon y mezclaron.
- 5.- Posteriormente se tomó el blanco, se colocó en el sostenedor de celdas del espectrofotómetro, se cerró la tapa y a su vez se presionó ZERO, La pantalla mostró: 0.00mg/L Mg CaCO₃.
- 6.- Se sacó el blanco y de igual manera se colocó la segunda celda, se cerró la tapa y los resultados aparecieron en mg/L magnesio como carbonato de calcio.
- 7.- Una vez capturados los resultados se presionó "Exit", se seleccionó el número del programa 220 Hardness, Ca.

8.- Se presionó Zero e inmediatamente la pantalla mostró 0.00ppm Ca CaCO₃.

9.- Por último, se colocó la tercera celda dentro del contenedor de celdas del espectrofotómetro, se cerró la tapa y se capturaron los resultados. Éstos aparecieron en mg/L de calcio como carbonato de calcio.

3.5 Determinación de Sólidos Totales

En la tabla 6 se indican los materiales y equipos para la determinación de sólidos totales.

Tabla 6. Materiales y equipos para la determinación de sólidos totales.

1 Desecador	Guantes de asbesto	Mufla
5 Crisoles	1 Balanza analítica	Agua destilada
1 Pinzas	Horno	Papel filtro

Se colocaron los crisoles en peso constante en una mufla a 550°C durante 2 horas. Después de transcurrido el tiempo se llevaron los crisoles a un desecador durante media hora a temperatura ambiente para enfriar. Finalmente se pesaron cada uno.

Se añadió 5 ml de la dilución 3/10 ya filtrada (4 repeticiones) y se pesaron los crisoles con muestra. Se llevaron al horno a 70°C aproximadamente hasta peso constante.

3.5.1 Determinación de Cenizas

Después de pesar crisoles con materia sólida, se sometieron a temperatura de 550°C en una mufla hasta que se blanquee la muestra lo que nos indicará la presencia de cenizas.

Se sacaron los crisoles de la mufla para posteriormente dejarlos enfriar en un desecador durante 3 horas. Finalmente se pesaron los crisoles.

3.6 Medición del pH

1 Vaso de precipitado de 250ml

Potenciómetro

Soluciones buffer

Se tomó la lectura de pH de la muestra previamente agitada y filtrada y se sumergió el electrodo y el termómetro, obteniendo el valor de pH directamente de la pantalla del potenciómetro, previamente calibrado.

3.7 Análisis microbiológico

5 Pipetas de 5 ml	Algodón, gasas y papel aluminio
5 Tubos de ensaye	Alcohol etílico al 70%
20 cajas de Petri	Guantes de asbesto
1 Mechero Fisher	Autoclave
Varilla de vidrio acodada	Campana de flujo laminar
4 Matraces erlenmeyer de 250ml	Agar:
1 Probeta de 100ml	Rosa de bengala
1 Piceta	Actinomicetos
1 Espátula	Pseudomonas
1 Gradilla	Nutritivo

Toda la metodología de vaciado en placa y siembra se realizó en campana de flujo laminar previamente desinfectada con luz ultravioleta y alcohol al 70%.

Heterótrofos aerobios y anerobios

Se utilizó agar nutritivo preparándose de acuerdo a las especificaciones del fabricante, se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 1.2 kg/cm² de presión y una temperatura aproximada de 121° C.

Se distribuyó agar líquido a temperatura soportable en cajas que contenían 0.1 mL de la muestra sin diluir y en diluciones desde 10⁻², 10⁻⁴ y 10⁻⁶. Las muestras con sus respectivos duplicados se le realizaron movimientos circulares para homogenizar la distribución de la muestra en la caja antes de que se solidificara el agar.

Una vez solidificado el agar, las cajas se invirtieron y se llevaron a incubación a 37°C por 24-48 h y las destinadas para la prueba de heterótrofos anaerobios se colocaron en una cámara de anaerobiosis con un sobre del reactivo GasPak® el cual reacciona con el oxígeno en la cámara, recreando las condiciones de anaerobiosis, las condiciones de incubación fueron las mismas que para heterótrofos aerobios.

Pseudomonas

Se preparó una suspensión de Agar Pseudomona F de DIFCO según especificaciones del fabricante agregando glicerol como complemento. La solución se esterilizó en autoclave por 15 minutos a 1.2 kg/cm² de presión y 121° C de temperatura. Se distribuyó el agar en placas Petri y una vez solidificado se inoculó en la superficie 0.1 mL del extracto de champosta® sin diluir y sus diluciones y se

distribuyó por toda la superficie con una varilla acodada previamente flameada y enfriada. Se incubaron las cajas a 35° C por 24-48 h.

Actinomicetos

Se preparó la suspensión del agar Actinomycete Isolation Agar Glycerol de DIFCO según las especificaciones del fabricante agregando glicerol como complemento. Se esterilizó en autoclave por 15 minutos a 1.2 kg/cm² de presión y 121° C de temperatura. Se distribuyó el agar en placas Petri y al solidificarse el agar se inoculó con 0.1 mL del extracto sin diluir y sus diluciones. Se distribuyó uniformemente sobre la superficie con varilla acodada de vidrio previamente flameada y enfriada. Las placas se incubaron a 30°C por un máximo de 72 horas.

Hongos

Se preparó una suspensión del agar base Rosa de Bengala de DIFCO según las especificaciones del fabricante. Se esterilizó por 15 minutos a 1.2 kg/cm² de presión y 121° C de temperatura. Se enfrió a 45°C y se agregó el complemento de cloramfenicol y se homogenizó. El agar se distribuyó en placas Petri y al solidificarse se inoculó 0.1 mL de extracto sin diluir y diluciones del mismo, se distribuyó uniformemente sobre la superficie con varilla acodada de vidrio previamente flameada y enfriada. Las cajas se incubaron 30° C, protegidas de la luz con papel aluminio durante un máximo de 7 días.

IV. Resultados y Discusión

En este capítulo se mostraran los resultados de cada uno de los parámetros evaluados, así como la comparación de los datos obtenidos con los ya reportados por otro autor.

4.1 Determinación de Nitrógeno Total Kjeldahl (Método Nessler)

Como se muestra en la tabla 7 a todos los tratamientos se les determinó nitrógeno en diferentes momentos de agitación, siendo la dilución 3/10 (sustrato/agua) la que mostró mayor cantidad de nitrógeno, por lo que se selecciono ésta para realizar el resto de los análisis.

Tabla 7. Determinación de nitrógeno por el método micro Kjeldahl, en todas las diluciones Sustrato/agua.

Dilución Sustrato/Agua	Nitrógeno (ppm) Día 1	Nitrógeno (ppm) Día 2
1/10	56	159.37
2/10	75	253.12
3/10	140.62	675
4/10	131.25	365.62
5/10	46.87	196.87

En la figura 2 se muestra de manera gráfica la cantidad de Nitrógeno presente en cada dilución, siendo la dilución 3/10 la que presenta mayor cantidad.

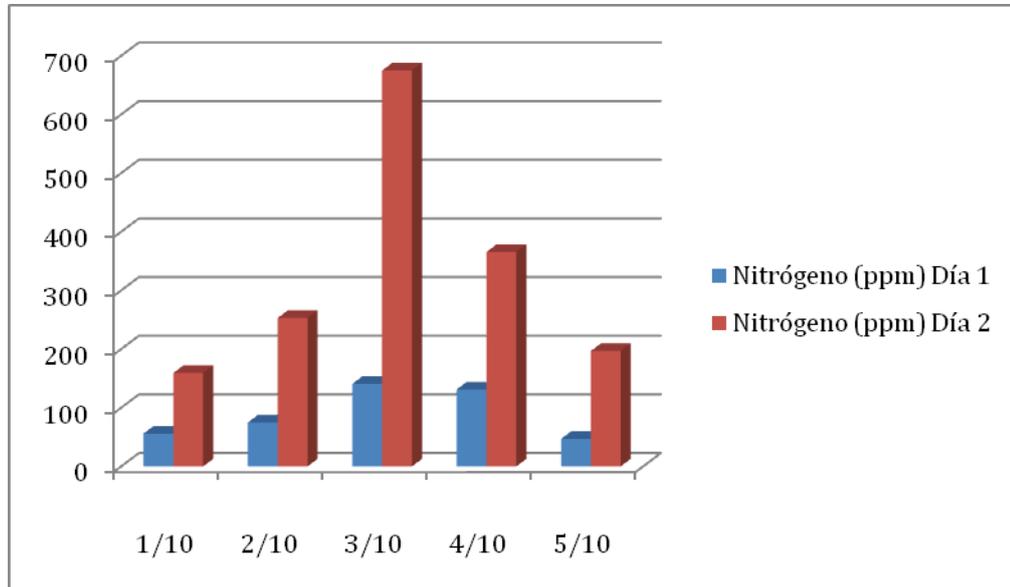


Figura 2. Determinación de Nitrógeno en 5 diluciones de un extracto líquido de composta a partir de residuos del cultivo de champiñón.

Debido a que el nitrógeno es un elemento altamente soluble en agua, el tiempo de contacto del sustrato con el agua, ayudó a solubilizar en mayor cantidad este elemento.

La cantidad de nitrógeno en el compost y la forma en la que éste existe es de particular importancia. Solamente el compost con niveles bajos de nitrógeno amónico debe utilizarse a menos que el suelo donde se aplicará la enmienda esté maduro antes de plantar o se utilicen cantidades muy bajas de compost. Los niveles altos de nitrógeno amónico pueden inhibir la germinación de la semilla y provocar la muerte de las plántulas jóvenes en la mayoría de los cultivos (Stoffella y Khan, 2004).

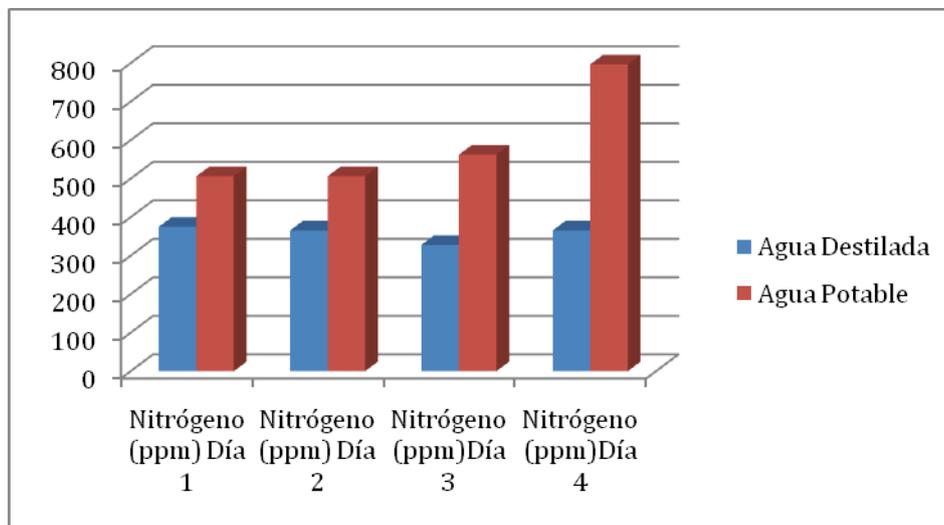
Una vez seleccionada la dilución con mayor cantidad de Nitrógeno se procedió a realizar el mismo análisis en dos tratamientos diferentes (con agua destilada y con agua potable) para determinar cuál de éstos tratamientos es el idóneo para su aplicación posterior.

La tabla 8 muestra la cantidad de Nitrógeno presente en el extracto líquido seleccionado en sus dos diferentes tratamientos durante días. Siendo el tratamiento con agua potable el que presenta mayor cantidad de nitrógeno en el cuarto día con 796.87ppm, estando 54.11% por encima de la dilución con agua destilada.

Tabla 8. Cantidad de nitrógeno presente en el extracto líquido en dos tratamientos.

Dilución 3/10				
Tratamientos	Nitrógeno(ppm) Día 1	Nitrógeno (ppm) Día 2	Nitrógeno(ppm) Día 3	Nitrógeno(ppm) Día 4
Agua Destilada	375	365.62	328.12	365.62
Agua Potable	506.25	506.25	562.5	796.87

En la figura 3 se muestra la cantidad de Nitrógeno presente en los 2 diferentes tratamientos. Como muestra la gráfica, el tratamiento con agua potable lleva consigo una mayor cantidad de nitrógeno al cuarto día.



Tratamientos: AD: Agua destilada; AP: agua potable

Figura 3. Determinación de Nitrógeno en un extracto líquido de composta a partir de residuos del cultivo de champiñón.

La NMX-FF-109-SCFI-2007 establece que los valores de nitrógeno en abonos orgánicos deben de estar entre un rango de 1-4% por lo cual se determina que el extracto líquido presenta valores considerablemente bajos, lo cual, puede deberse a la disminución de la concentración de nitrógeno al momento de mezclar el sustrato con el agua.

Sin embargo, en productos similares como el “vermiwash”, el cual es el extracto acuoso de vermicomposta, los valores de nitrógeno máximo fueron de 30 ppm (Meenatchi, 2008), por lo que no es recomendable hacer comparaciones con las compostas sólidas; además gran parte del interés en los extractos de compostas se centran en su capacidad de supresión de patógenos sobre todo al aplicarse en la filósfera (área foliar) ya que forman un recubrimiento microbiano que ayuda al biocontrol de plagas (Brinton *et al.*, 2004)

4.2 Macronutrientes

Un compost bien elaborado y maduro contiene bajos niveles de macronutrientes pero aún así mientras éste se descompone en el suelo, es un proveedor continuo de nutrientes que libera lentamente (Gildemeister, 2002).

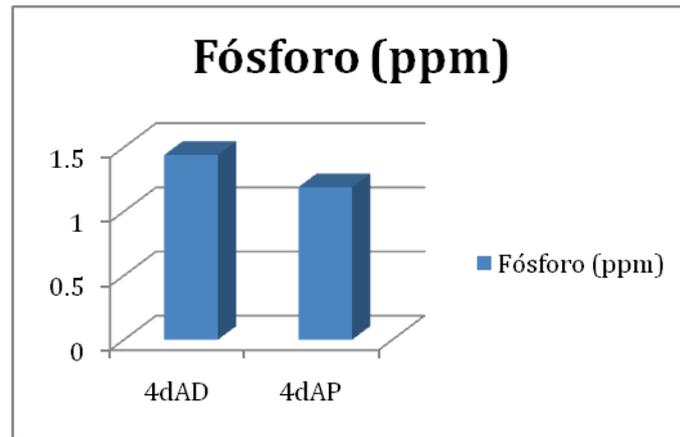
En la tabla 9 se muestra la cantidad de cada macronutriente presente en el extracto líquido de composta, en dos tratamientos.

Tabla 9. Determinación de Macronutrientes en un extracto líquido de composta a partir de residuos del cultivo de champiñón.

Tratamientos	Fósforo (ppm)	Potasio (ppm)	Calcio (ppm)	Magnesio (ppm)
Día 4 Agua destilada	1.44	7	0.42	0.08
Día 4 Agua potable	1.19	7.3	0.05	0.14

4.2.1 Determinación de Fósforo (P). (Método del Ortofosfato)

En cuanto a los resultados obtenidos de fósforo, la dilución con agua potable indica una varianza significativa, mientras que la dilución con agua destilada muestra más estabilidad presentando 1.44 ppm, estando 17.36 % arriba de la dilución con agua destilada (Figura 4).

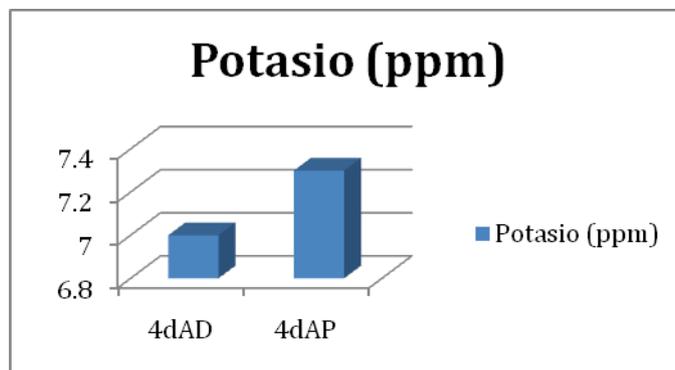


Tratamientos: 4dAD: Cuarto día dilución 3/10 con agua destilada; 4dAP: Cuarto día dilución 3/10 con agua potable.

Figura 4. Determinación de Fósforo en un extracto líquido de composta a partir de residuos del cultivo de champiñón.

4.2.2 Determinación de Potasio (K). (Método del Tetraborato)

En cuanto este nutriente, la dilución con agua potable marcó un nivel más elevado que los demás tratamientos, presentando 7.3 ppm, estando 4.1 % arriba de la dilución con agua destilada (Figura 5).

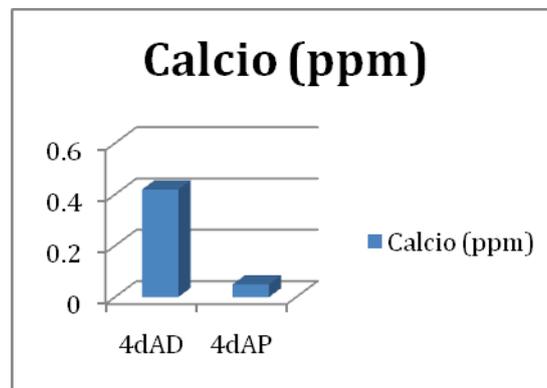


Tratamientos: 4dAD: Cuarto día dilución 3/10 con agua destilada; 4dAP: Cuarto día dilución 3/10 con agua potable.

Figura 5. Determinación de potasio en un extracto líquido de composta a partir de residuos del cultivo de champiñón.

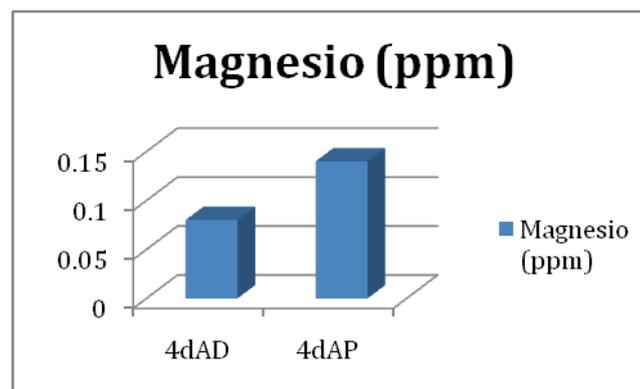
4.2.3 Determinación de Calcio (Ca) y Magnesio (Mg). (Método de dureza)

El calcio y el magnesio están presentes en el extracto en muy bajas cantidades mostrando una variabilidad considerable en cuanto a los tratamientos (véase en las figuras 6 y 7 respectivamente). En cuanto al calcio, la dilución con agua destilada muestra valores más elevados que la dilución con agua potable presentando 0.42 ppm, estando 88.09% por encima de la dilución con agua potable al contrario del magnesio, el cual presentó valores un poco más elevados en la dilución con agua potable presentando 0.14 ppm, estando 57.14% arriba de la dilución con agua destilada.



Tratamientos: 4dAD: Cuarto día dilución 3/10 con agua destilada; 4dAP: Cuarto día dilución 3/10 con agua potable.

Figura 6. Determinación de Calcio en un extracto líquido de composta a partir de residuos del cultivo de champiñón.



Tratamientos: 4dAD: Cuarto día dilución 3/10 con agua destilada; 4dAP: Cuarto día dilución 3/10 con agua potable.

Figura 7. Determinación de Magnesio en un extracto líquido de composta a partir de residuos del cultivo de champiñón.

4.3 Sólidos Totales

La norma NMX-ff-109-SCFI-2007 establece que la cantidad de sólidos totales en los abonos orgánicos deben de estar entre 20-40% cuando se habla de un abono sólido, en este caso se presenta un extracto líquido y el valor reportado es el promedio de las repeticiones para la solución 3/10 con agua potable que fue de 3.57%.

Aunque no se tienen referencias estandarizadas de la cantidad de sólidos totales, no se recomienda que su contenido sea elevado, ya que comúnmente la forma de aplicación del extracto líquido es por aspersión y elevados porcentajes de sólidos totales elevan el riesgo de taponamiento de los sistemas de aspersión (Brinton *et al.* 2004.).

4.3.1 Cenizas

La cantidad de cenizas presentes en el extracto fue de 2.18%. La NMX-ff-109-SCFI-2007 no reporta valores ya que es un parámetro muy variable en todos los abonos orgánicos.

4.4 pH

Como se muestra en la tabla 10 se determinó el pH a los dos tratamientos (agua destilada y agua potable) con dos repeticiones. Se puede observar que no hay tanta variación en los resultados ya que todos indican que el pH del extracto está muy cerca de la neutralidad.

Tabla 10. Determinación de pH en tratamientos con agua destilada y agua potable al cuarto día.

Tratamientos	Repeticiones	pH
T1 Agua destilada	Día 2	7.54
	Día 4	7.55
T2 Agua potable	Día 2	7.56
	Día 4	7.69

La norma NMX-ff-109-SCFI-2007 establece que el pH de abonos orgánicos debe de ser cercano a la neutralidad, lo que permite aceptar los valores de pH del extracto

líquido de composta a partir de residuos de champiñón. En la figura 8 se puede ver de manera gráfica como el pH en ambos tratamientos es cercano a la neutralidad.

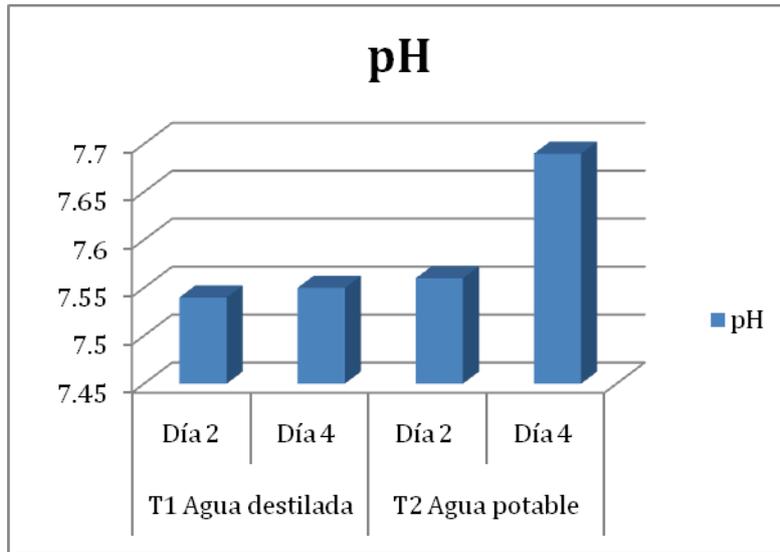


Figura 8. pH en un extracto líquido de composta a partir de residuos de champiñón.

4.5 Análisis Microbiológico

La tabla 11 muestra la cantidad de cada microorganismo analizado en unidades formadoras de colonias por cada mililitro, con el fin de determinar la influencia de éstos microorganismos benéficos cuando el extracto se aplique a la agricultura.

Tabla 11. Microorganismos analizados en los extractos.

Medio	Microorganismo	Cantidad (UFC/ml)
Agar Rosa de Bengala	Hongos	2,900,000
Agar Actinomicetos	Actinomicetos	440,000
Agar Pseudomonas	Pseudomonas	35,000
Agar Nutritivo	Heterótrofos aerobios (bacterias)	4,320,000
Agar Nutritivo	Heterótrofos anaerobios (bacterias)	780,000

V. Conclusiones

- Se cumplió al 100% el objetivo planteado de caracterizar física, química y microbiológicamente el extracto líquido de composta.
- Se determinó la dilución que extrajo mayor concentración de nitrógeno total, siendo ésta la dilución 3/10.
- Se determinó que con agua potable se extrae la mayor cantidad de nitrógeno en un lapso de 4 días con agitación intermitente.
- Se determinaron exitosamente los parámetros como pH, conductividad eléctrica, sólidos totales, contenido nutrimental, etc.
- Se determinaron y cuantificaron exitosamente el tipo de poblaciones microbianas benéficas contenidas en el extracto líquido.
- Se recomienda para el escalamiento manejar agitación por periodos de hasta una hora hasta 5 veces al día durante 4 días. Además de un reposo de varias horas (hasta 8) para facilitar el filtrado. El filtro debe ser lo suficientemente poroso para dejar pasar a los microorganismos pero retener la mayor cantidad de materia seca.

RECOMENDACIÓN

Existen en el mercado algunas máquinas especializadas para hacer té de compost (incluye aireación y uso de bioestimulantes) como el Bioactivador TC 2000, el cual puede adquirirse con diferentes capacidades de producción. Cabe mencionar que para el extracto líquido no es necesario la aireación pero sí la agitación, además de que requiere de un mayor tiempo de extracción que el té de compost.

VI. Bibliografía

- Barbado, J.L. (2003). Hongos comestibles. Editorial Albatros. Buenos Aires, Argentina. 192 p.
- Brinton, W., Storm, P., Evans, P., & Woods J.H. (2004). Compost teas: microbial hygiene and quality in relation to method of preparation, *Science and Ecology* 1-10.
- DR/2500 Spectrophotometer procedure manual. (2003). HACH Company, USA.
- CORPOICA. (2002). Producción de abonos orgánicos de buena calidad. Boletín Técnico. Promomedios Impresiones. Bogota, Colombia. 29 p.
- Chong, C., & Hamersma, B. (1996). Container growing with spent mushroom compost. Spent Mushroom Substrate Scientific Research & practical applications, 20-21.
- Davies, D.D., & Kuhns, L. J. (2005). Spent Mushroom compost supresses artillery fungi in landscape Munch. Spent Mushroom Substrate Scientific Research & practical applications, 10-16.
- Gildemeister, H. (2002). Mediterranean gardening. A waterwise approach. Editorial University of California Press. California, U.S.A. 208 p.
- Guzmán, R.N.I. (2007). The compost vegetal as an alternative to reduce yard wastes in the Sanitary Landfill System of Guayama. ProQuest Editores. Puerto Rico. 139 p.
- López, M.J.D., Díaz, E.A., Martínez, R.E., & Valdéz, C.R. (2001). Abonos orgánicos y su efecto en propiedades físicas y químicas del suelo y rendimiento en maíz. *Terra* 19 (4), 293-299.
- Nieves, N.L. (2005). Cuantificación de la composición microbiológica de cuatro abonos orgánicos usando EM (microorganismos eficaces) como índice comparativo. Tesis de Licenciatura de Ing. Agr. Universidad Earth. 25 p.
- Meenatchi, R. (2008). Molecular characterization of earthworms, nutrient assessment and use of vermitechnologies in pest management. Tesis doctoral, University of Agricultural Sciences, Dharwad, India, 104 p.
- NMX-FF-109-SCFI-2007. Humus de lombriz (lombricomposta)-Especificaciones y métodos de prueba. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 20 de marzo de 2007.
- Satyanarayana, T., Johri, B.N., Prakash, A. (2012) .Microorganisms in Environmental Management. *Microbes and Environment*. Editorial Springer. Bhopal, India. 819 pp.
- Stoffella, P.J., & Khan, B.A. (2004). Utilización de compost en los sistemas de cultivo hortícola. Grupo Mundi Prensa. Madrid, España, 360 pp.
- Vedder, P.J.C. (1996). Cultivo moderno del champiñón. Grupo Mundi-Prensa. Madrid, España. 372 pp.



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA
Educar para Trascender

“Caracterización de un extracto de composta a partir de residuos del cultivo de champiñón” se terminó de editar en septiembre de 2012 en el Instituto Tecnológico de Sonora de Sonora en Ciudad Obregón, Sonora, México.

El tiraje fue de 100 Cd’s más sobrantes para reposición.



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA
Educar para Trascender