



# Efecto del pH sobre el crecimiento de microorganismos durante la etapa de maduración en pilas estáticas de compost

Olivia Castrillón Quintana<sup>1</sup> / Oswaldo Bedoya Mejía<sup>2</sup> / Diana Victoria Montoya Martínez<sup>3</sup>

*Effect of pH on the growth of microorganisms during the maturation stage in static compost piles*

## RESUMEN

**Introducción.** El incremento en la demanda de productos orgánicos ha generado un aumento en el consumo de materiales compostados, para mejorar la calidad físico-química de los suelos y garantizar mejores cosechas. Además se está implementando, a nivel mundial y nacional, una legislación que regula los parámetros de producción de los abonos orgánicos, su procesamiento y aplicación. Existen varias razones para controlar el proceso en una planta de producción: el olor, la estandarización de propiedades que lleven a la sanitización del producto terminado y la calidad del compost.

**Objetivo.** Evaluar el efecto del pH sobre el crecimiento de microorganismos en sistemas de compostaje con aireación pasiva y sin aireación.

**Materiales y métodos.** El proceso de compostaje se realizó en campo con dos pilas que se llevaron hasta la etapa de maduración. Las muestras se recolectaron y se incubaron en caldo enriquecido BHI y con pH ajustado a 5, 6, 7, 8 y 9. A las 24 horas se sembraron para el recuento de bacterias y mohos y levaduras. También se tomó una muestra a pH de campo y se realizó conteo de microorganismos. En la evaluación estadística se utilizó el programa SAS.

**Resultados.** El efecto del pH es significativo en el crecimiento de bacterias, mohos y levaduras. Para las bacterias el pH de 5 fue el de mayor influencia en ambas pilas y para los mohos y levaduras el pH 8 y 9 en pilas aireadas.

<sup>1</sup> Ingeniera Agrícola. Administradora de Empresas Agropecuarias. Especialista en Levantamiento de Suelos. Profesora de la Corporación Universitaria Lasallista. Coordinadora del semillero de investigación sobre materia orgánica –SISMO- / <sup>2</sup> Industrial Pecuario y profesor de la Corporación Universitaria Lasallista / <sup>3</sup> Bacterióloga y Laboratorista Clínica, Especialista en Microbiología de Alimentos, profesora de la Corporación Universitaria Lasallista y de la Universidad de Antioquia.

Correspondencia: Olivia Castrillón Quintana. e-mail: becastrillon@lasallista.edu.co

Fecha de recibo: 22/05/2006; fecha de aprobación: 28/06/2006

**Conclusión:** Los resultados muestran el efecto significativo que tiene el pH sobre el crecimiento de UFC de bacterias mesófilas y termófilas, mohos y levaduras. Este factor no se puede evaluar independiente de los demás que intervienen en el compostaje, como aireación, temperatura, la humedad y tipo de sustrato utilizado como materia prima.

**Palabras clave:** Compost. Unidades formadoras de colonias. pH. Microorganismos. Pilas.

## ABSTRACT

**Introduction.** The increase in the organic products demand has generated a higher consuming of composted materials, in order to increase the chemical and physical quality of the soils and guarantee better crops. Besides, laws are being created and implemented to rule the parameters for the organic manure production, processing and application in Colombia and worldwide. There are many reasons to control the process in a production plant: The smell, the standardization of properties to sanitize the final product and the compost quality.

**Objective.** To evaluate the effect of the pH on the micro organisms growth in compostation systems under passive ventilation and no ventilation.

**Materials and Methods.** The compostation process was made on the field with two piles which were taken to their maturation stage. The samples were collected and incubated in enriched BHI broth and with a pH adjusted to 5, 6, 7, 8 and 9. 24 hours later they were seeded to count the bacteria, moulds and leavenings. Another sample was collected at a field pH and the microorganisms were counted. In the statistic evaluation, the SAS program was used.

**Results.** The pH effect is significant in the growth of bacteria, moulds and leavenings. For the bacteria, the most influent pH was 5 for both piles. For the moulds and leavenings it was 9 for the ventilated piles.

**Conclusion.** The results show the significant effect of pH on the growth of colony forming units of mesophilic and thermophilic bacteria, moulds and leavenings. This fact cannot be evaluated keeping away the others that intervene in the compostation, such as ventilation, temperature, humidity and kind of substrate used as raw material.

**Key words:** Compost. Colony forming units. pH. Microorganisms. Piles.

## INTRODUCCIÓN

El compostaje es un proceso que cumple varios propósitos en el manejo de residuos sólidos orgánicos: estabilización, reducción de volumen y sanitización por inactivación termal de patógenos. La estabilización debe producir un material que no esté putrefacto, libre de calor interno, que no genere olores y no atraiga plagas. La aplicación de compost al suelo es una práctica de manejo que suple algunos nutrientes para el crecimiento de las plantas, mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas, y proporciona agentes que pueden suprimir patógenos en los cultivos.<sup>1</sup>

A pesar de los beneficios del compost, existen varios efectos sobre el ambiente que es necesario considerar: emisiones a la atmósfera de amonio, óxido de nitrógeno y metano, contribuyendo al aumento del efecto invernadero y la contaminación de aguas, además de formación de sustancias que producen malos olores y pueden causar serios problemas medioambientales.<sup>2</sup>

El compostaje es un proceso microbiológico donde los resultados se dan por el efecto combinado de la actividad individual de una gran cantidad de microorganismos. De ahí la importancia de entender la influencia del medio ambiente sobre los microorganismos, porque permite explicar cómo se distribuyen, se controlan y se aumentan. Los parámetros más importantes son: temperatura, oxígeno, humedad, pH y composición del sustrato.<sup>3,4</sup>

Los cambios en el pH durante el proceso se deben a los cambios constantes en la composición química del sustrato. El pH en el compost está influenciado por tres sistemas ácido-base:<sup>5</sup>

- El sistema carbónico, con el dióxido ( $\text{CO}_2$ ) que se forma durante la descomposición y puede escapar a la atmósfera como gas o disolverse en los líquidos, formando ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) y carbonato ( $\text{CO}_3^-$ ). Este sistema tiene dos constantes de disociación (pKa): 6,35 y 10,33 a  $25^\circ\text{C}$  y la tendencia es a neutralizar el pH, incrementando los pH bajos y reduciendo los pH altos.
- El segundo sistema es el amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) – amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), que se forma cuando se descomponen las proteínas. Durante la fase inicial del compostaje la mayoría del nitrógeno metabolizado es usado para el crecimiento de los microorganismos, pero durante la fase de mayor actividad se libera el ión amonio. El sistema amonio tiene una constante de disociación (pKa) de 9,24 a  $25^\circ\text{C}$  y de esta forma incrementa el pH a valores cercanos a 9,24.
- El tercer sistema está compuesto por varios ácidos orgánicos en los cuales predominan el ácido acético y el ácido láctico. Este sistema puede reducir el pH a 4,14, que es el pKa del ácido láctico a  $25^\circ\text{C}$ .

Estos tres sistemas se combinan para formar la curva típica del pH del compostaje, donde se presenta un descenso en la fase inicial, un aumento en la fase de máxima actividad y luego la tendencia es a la estabilización.<sup>5</sup>

Los residuos orgánicos municipales tienen un pH inicial bajo, de alrededor de 5, debido a los altos contenidos de ácidos grasos de cadena corta. En compost terminado, el pH puede estar entre 8 y 9 debido a las pérdidas de  $\text{CO}_2$  por la respiración de los microorganismos. La presencia de ácidos orgánicos bajo condiciones de acidez y su ausencia cuando el compost se torna alcalino, es un indicador de que ellos son un factor clave para la evolución del pH.<sup>6</sup>

Para Sundberg et al<sup>7</sup>, el pH va de la mano con la temperatura, sobre todo en el cambio de la fase mesofílica a termofílica. Ellos mostraron que la velocidad de descomposición de residuos municipales difiere muy poco en rangos de pH entre 5 y 8 a temperaturas de 36°C. Sin embargo, si la temperatura sube a 46°C disminuye la velocidad de descomposición a pH bajos, y se incrementa si el pH está por encima de 6,5. Esta diferencia se puede explicar por la sensibilidad de las comunidades de microorganismos al efecto combinado de condiciones de acidez y temperatura. Los microorganismos pueden tolerar factores ambientales extremos, por ejemplo altas temperaturas o bajos pH, pero no los dos al mismo tiempo. Otra posibilidad es la existencia de diferentes grupos de microorganismos: unos mesofílicos, que es ácido tolerante y otro termofílico, que no tolera condiciones de acidez.<sup>8</sup>

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del pH sobre el crecimiento de microorganismos en los sistemas de compostaje con aireación pasiva, y en aquellos sin aireación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestras

El procesamiento de las muestras de compost se inició 36 días antes, utilizando como sustrato el producto de la poda de jardines, pasto y una capa de dos centímetros de compost terminado, elaborado con los mismos materiales. Todo este material se recolectó en dos pilas estáticas:

Pila 1: con aireación pasiva proporcionada con tubos perforados (Foto 1).

Pila 2: sin aireación.

**Foto 1. Pila 1 de compostaje con sistema de aireación pasiva**



### Tratamiento en laboratorio

Con el objetivo de reactivar la flora microbiana de las muestras bajo un pH controlado, se incubaron las muestras de compost durante 24 horas en caldo de enriquecimiento BHI, a un pH: 5, 6, 7, 8, 9 y a una temperatura de 26°C, valor aproximado a la temperatura de la pila al momento del muestreo.

La composición del BHI en gr/lit fue: sustrato alimenticio (extracto de cerebro, extracto de corazón y peptona) 27,5; D(+)-glucosa 2,0; cloruro de sodio 5,0; hidrógeno fosfato di-sódico 2,5.

El conteo de microorganismos se realizó para mesófilos, termófilos, mohos y levaduras, y se hizo de la siguiente manera:

- Mesófilos y termófilos: Se realizó la siembra de una dilución seriada 10-9 en agar plate count, servido en plato petri a profundidad. Se llevaron a incubación a 26 °C, 37 °C y 58 °C durante 24 horas para el recuento de UFC (unidades formadoras de colonias) de bacterias.
- Mohos y levaduras: Se realizó la siembra de una dilución seriada 10-9 en agar OGY (oxitetraciclina, gentamicina y extracto de levadura) y se dejaron en incubación a temperatura ambiente en oscuridad durante cinco días, luego de los cuales se procedió al conteo de UFC.

### Análisis estadístico.

Los resultados se evaluaron estadísticamente usando el ANOVA con el programa SAS vr 8, tomando como variable dependiente las UFC. Se realizó la prueba de Tukey para evaluar las diferencias significativas entre las variables.

Se realizaron dos tipos de modelos experimentales: a) bacterias mesófilas y termófilas, y b) mohos y levaduras.

En ambos modelos se trabajó con las variables predictoras, tipo de aireación de la pila y pH (valores: 5,6,7,8 y 9).

Adicionalmente en el modelo para bacterias se tuvo en cuenta la respuesta del crecimiento a la temperatura (valores: 26°C, 37°C y 58°C)

## RESULTADOS

### Bacterias mesófilas y termófilas

En la tabla I se puede observar que el modelo tiene un valor de explicación alto ( $r^2=0.823704$ ). Para el crecimiento de las bacterias el pH y la temperatura tienen un efecto significativo, no así el efecto del tipo de pila, probablemente porque en el crecimiento de microorganismos es necesario considerar otros factores y su interacción.

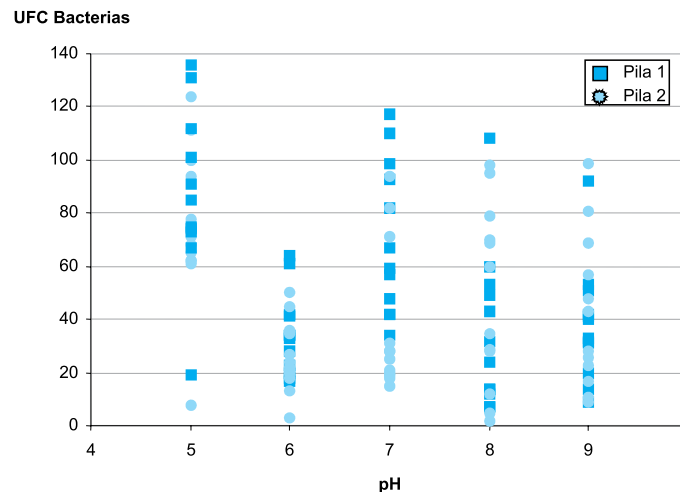
Tabla I. Análisis de varianza para el crecimiento de bacterias

Variabes del modelo	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Valor de p
pH	4	51142,25	12785,56	60,71	<0,0001
Temperatura	2	6165,35	30,82	14,67	<0,0001
Pila	1	10,20	10,20	0,05	0,8262
pH x temp x pila	22	31239,56	1419,98	6,74	<0,0001

(F=14.5, p<0.0001)

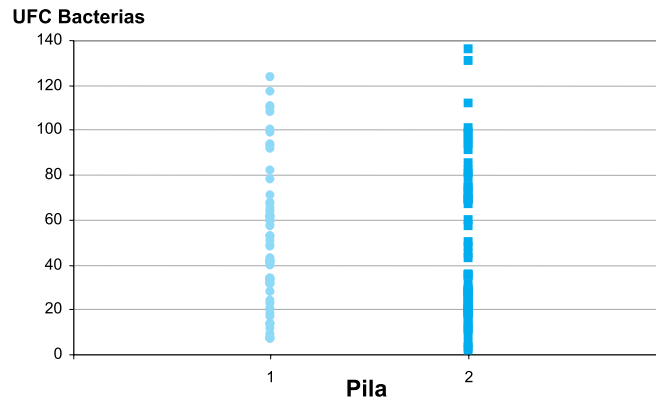
La gráfica 1 muestra como el pH 5 es el de mayor incidencia en el crecimiento de UFC, existiendo diferencias significativas con los demás valores. Igual sucede entre pH 7 y el resto de valores. En cambio entre pH 9, 8 y 6 no es significativa la diferencia para el crecimiento de las bacterias.

Gráfico I. Comparativo de UFC de bacterias a diferentes pH



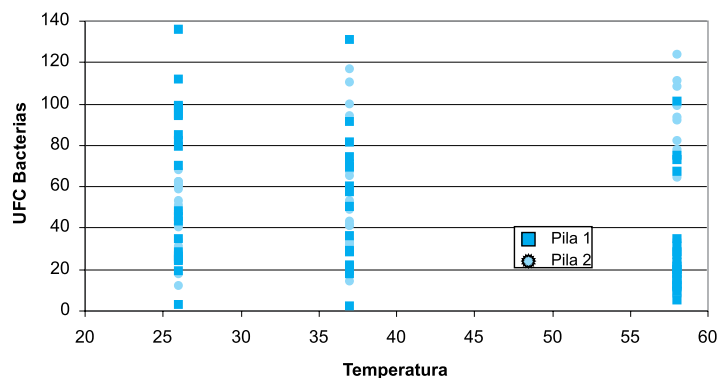
Al evaluar el comportamiento del crecimiento de las bacterias en cada pila con el total de las muestras a todos los valores de pH, se observa en la gráfica 2 que no existe diferencia significativa en las dos pilas. Es ligeramente más bajo el pH en la pila I, que contó con un sistema de aireación pasivo. Probablemente se debe en parte a que ambas pilas tenían ventilación natural, por el sistema de construcción con estibas de madera. Fuera de lo anterior, las bacterias pueden ser facultativas para el oxígeno y también pueden necesitar pequeñas cantidades de oxígeno localizado entre las partículas del sustrato.

**Gráfica 2. Comparativo entre pilas para unidades formadoras de colonias de bacterias**



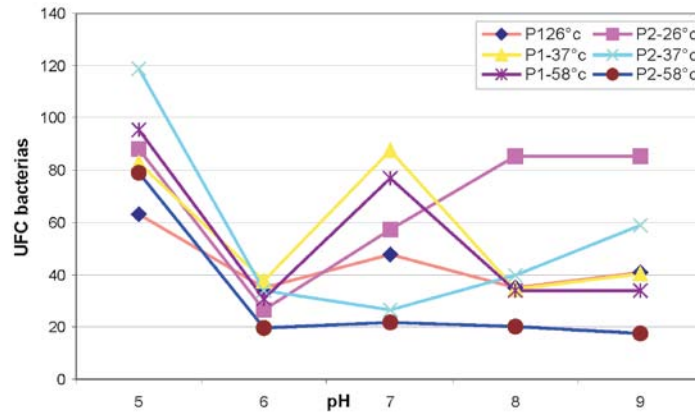
El conteo de microorganismos mesófilos se hizo después de 24 horas de incubación a 26°C a 37°C. Entre estos dos valores se presentan diferencias significativas, pues los valores de UFC de la pila 2 tienden a crecer más que los de la 1. Sin embargo, entre mesófilos y termófilos (58°C) no existe esta diferencia significativa, situación que era esperable, debido a que el incremento de la temperatura produce aumento del metabolismo en las bacterias de ambas pilas. (Gráfica 3)

**Gráfica 3. Unidades formadoras de colonias de bacterias a diferentes temperaturas.**



Al considerar el modelo en que se tienen los tres factores reunidos: pH, temperatura y tipo de aireación de pila, se encuentra que es un modelo significativo ( $F= 6.74, p<0.0001$ ). La gráfica 4 se construyó con los promedios de las UFC a cada pH y temperatura estudiados.

**Gráfica 4. Efecto de pH, temperatura y pila sobre el crecimiento de las bacterias.**



La respuesta más alta para las dos pilas y en las tres temperaturas se tiene a pH 5.

La maduración del compost se presenta en una etapa mesofílica. A 26°C la pila 1 no presenta diferencias significativas entre pH 5 y 7 y la pila 2 entre pH 5 y 8; al incrementarse la temperatura a 37°C, el pH 7 es mejor para el crecimiento de microorganismos mesófilos en la pila 1, y para la pila 2 la mejor respuesta sigue siendo a pH 5.

#### **Mohos y levaduras.**

En el análisis de varianza se observa que son significativos los efectos de la aireación de la pila y el pH sobre el crecimiento de mohos y levaduras. Este modelo tuvo un adecuado coeficiente de determinación, al obtener una  $r^2$  de 0.764299. (Tabla 2)

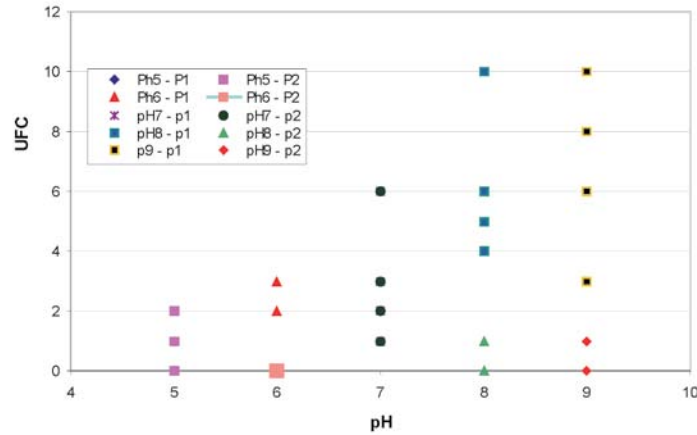
**Tabla 2. Análisis de varianza para el crecimiento de mohos y levaduras**

Variabes del modelo	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Valor de p
pH	4	71,90	17,97	7,36	0,0003
Pila	1	99,22	99,22	40,64	<0,0001
pH x pila	7	66,40	16,60	6,80	0,0005

( $F=10.81$ ,  $p<0.0001$ )

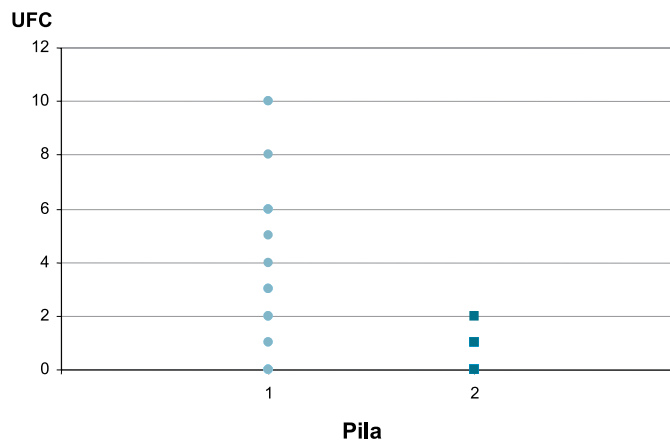
Al analizar el crecimiento de mohos y levaduras en las dos pilas y en cada valor de pH, se observa en la figura 6 que existen dos grupos: uno conformado por los pH 7, 8 y 9, y otro grupo con pH de 5 y 6, entre los cuales se observa una diferencia significativa. Las diferencias entre los pH de cada pila no son estadísticamente significantes.



**Gráfica 5. Efecto del pH sobre el crecimiento de mohos y levaduras**

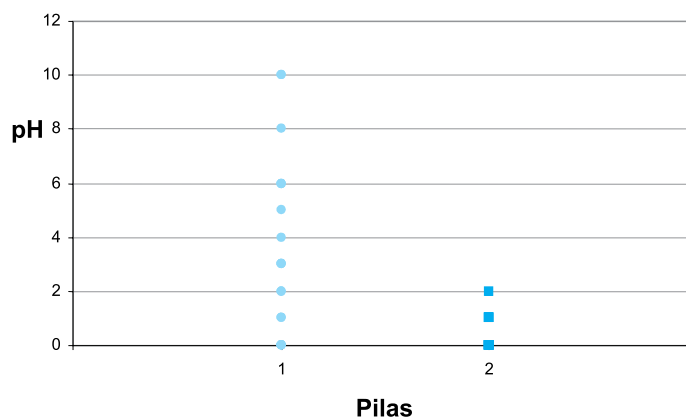
El crecimiento de UFC, mohos y levaduras, es proporcional al aumento del valor del pH hasta cuando se llega al pH de 7. A partir de un pH 8, el efecto es igual.

La gráfica 6 muestra las diferencias entre los tipos de aireación de las pilas. En la pila 1 los mohos y levaduras crecieron mejor que en la 2, debido a que ellos son aeróbicos y la pila 2 no contó con aireación.

**Gráfica 6. Total de mohos y levaduras por pila**

En la gráfica 7 se analiza el efecto combinado de pH y pila. Se puede observar que en la pila 1 el crecimiento aumenta con el valor del pH, en cambio en la pila 2 el valor de las unidades formadoras de colonias a todos los pH no presenta diferencias significativas. El comportamiento de la pila 1 puede estar relacionado con la aireación, que permite el desarrollo de hongos celulocíticos a pH más altos.

**Gráfica 7. Comparativo de mohos y levaduras con la interacción pH, pila.**



En las muestras testigo para los microorganismos mesófilos y para los mohos levaduras, las bacterias termófilas crecieron menos. Posiblemente se debe a que los microorganismos activos en la pila se multiplicaron en BHI, lo que les proporciona una carga extra de nutrientes. Los termófilos, que no se encontraban activos por las condiciones de temperatura, no se beneficiaron de la adición de nutrientes. (Tabla 3)

**Tabla 3. Datos de las muestras testigos y el ensayo**

Tratamiento	Ensayo	pH	UFC x 109 mohos y levadura	UFC x 109 bacterias		
				26°C	37°C	58°C
Pila 1 a 28,7°C en campo	Testigo	8,16	3,00	16,5	14,00	32,25
	Prueba	8,00	6,25	37,25	34,50	20,00
Pila 2 a 25,6°C en campo	Testigo	8,57	3,00	41,5	20,00	32,25
	Prueba	9,00	6,75	54,00	33,75	15,00

## DISCUSIÓN

Los resultados muestran el efecto significativo que tiene el pH sobre el crecimiento de bacterias mesófilas y termófilas, y en mohos y levaduras. También se evidencia que es un factor que no se puede evaluar en forma independiente de los demás que intervienen en el proceso de compostaje, como la aireación, la temperatura, la humedad y el tipo de sustrato utilizado como materia prima.

Las bacterias respondieron bien a diferentes pH, incluso bajo condiciones de baja disponibilidad de oxígeno como en la pila 2, con una influencia alta de la temperatura. Cuando unas colonias no toleran las condiciones presentes, existe otro grupo que se activa y continúa el proceso, ello debido a que las bacterias son un grupo de microorganismos metabólicamente provistos de una artillería enzimática capaz de permitirles sobrevivir aún en condiciones extremas.

Para los hongos la aireación fue determinante en su desarrollo, igual que el valor del pH. Muy probablemente, esto es debido a que los mohos son preferiblemente aerobios, y las levaduras que pueden llevar a cabo la fermentación (en condiciones de anaerobiosis) no resisten los cambios de pH, ni mucho menos valores extremos.

La cantidad de nutrientes disponibles afecta el desarrollo de los microorganismos, en este caso las podas de jardín como sustrato aportan una baja cantidad de nutrientes. Los microorganismos se activaron con la incubación en un sustrato enriquecido, como el BHI.

Los cambios metabólicos en la etapa de maduración del proceso de compostaje son más lentos, la temperatura y el pH tienden a estabilizarse y es la etapa propicia para realizar cambios de pH y adiciones de nutrientes que garanticen una mejor calidad de compost con mínimas pérdidas. Realizar, por ejemplo, una práctica de encalado para reducir pH cuando las temperaturas son muy altas, implica grandes pérdidas de nitrógeno amoniacal con el problema extra de contaminación de atmósfera.

Como el compostaje es un proceso microbiológico, controlar las diferentes variables que intervienen en el desarrollo de los microorganismos, así como a los diferentes grupos y consorcios microbianos que intervienen en las diferentes etapas del proceso, afecta no solamente la velocidad de descomposición, sino también la calidad del producto terminado y minimiza, además, los riesgos de contaminación ambiental.

## CONCLUSIÓN

Los resultados muestran el efecto significativo que tiene el pH sobre el crecimiento de UFC de bacterias mesófilas y termófilas, mohos y levaduras. Este factor no se puede evaluar independientemente de los demás que intervienen en el compostaje, como a aireación, la temperatura, la humedad y el tipo de sustrato utilizado como materia prima.

## BIBLIOGRAFIA

1. SYLVIA, David M. et al. Principles and applications of soil microbiology. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 550p.
2. KONEMAN, Elmer W. et al. Diagnóstico Microbiológico. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1983. 533 p.

3. BURGESS, Alan; RAW, Frank. *Biología del suelo*. Barcelona: Ediciones Omega S.A., 1983. 596 p.
4. GOYAL, Sneha; DHULL, S.K. and KAPOOR, K.K. Chemical and biological changes during composting of different organic wastes and assessment of compost maturity. In: *Bioresource Technology*. Vol. 96, No. 14 (sep. 2005); p. 1584-91.
5. SUNDBERG, Cecilia. *Improving Compost Process Efficiency by Controlling Aeration, Temperature and pH*. [on line] Uppsala, 2005, 49 pp. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural sciences. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences. Department of Biometry and Engineering. (citado mayo 2006) disponible en: <http://diss-epsilon.slu.se/archive/00000950/01/CeSu103fin0.pdf>
6. SUNDBERG, Cecilia. *Food waste composting-effect of heat, acids and size*. (on line) uppsala, 2003, 38 pp. Licentiate Thesis. Swedish University of Agricultural sciences. Department of Agricultural Engineering. (citado marzo 2006) disponible en: <http://diss-epsilon.slu.se/archive/00000374/01/TryckfilIDel.pdf>
7. SUNDBERG, Cecilia; SMÅRS, S. and JÖNSSON, H. Low pH as an inhibiting factor in the transition from mesophilic to thermophilic phase in composting. In: *Bioresource Thechnology*. Vol. 95, No. 2 (nov. 2004); p. 145-150.
8. GRAU CALVO, J. et al. *Sistemas de compostaje en pilas volteadas: Estudio de la planta de compostaje de Jorba (Barcelona)*. *Tratamientos de residuos*. En: *Ingeniería Química*. Barcelona. Vol. 32, No. 374. (Dic. 2002); p. 121-126.