

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 649 390**

51 Int. Cl.:

G01N 33/24 (2006.01)

G01N 33/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.06.2012 PCT/IB2012/001157**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.10.2012 WO12140523**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.06.2012 E 12738177 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2017 EP 2718712**

54 Título: **Método y dispositivo para evaluar el nivel de actividad microbiana de suelo**

30 Prioridad:

13.06.2011 IT VI20110154

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

11.01.2018

73 Titular/es:

UNIVERSITA DEGLI STUDI DI PADOVA (100.0%)

Via 8 Febbraio 2

35122 Padova, IT

72 Inventor/es:

**SQUARTINI, ANDREA;
CONCHERI, GIUSEPPE y
TIOZZO NETTI, STEFANO**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 649 390 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método y dispositivo para evaluar el nivel de actividad microbiana de suelo

Antecedentes técnicos de la invención

5 Esta invención se refiere a un método y un dispositivo para evaluar el nivel de actividad microbiana de un sustrato, por ejemplo, suelo cultivado, biomasa y otros entornos en los que hay una actividad enzimática, basado en la biodegradación de un material que permite la detección del mismo. Se describen varias aplicaciones del método y dispositivo. Un importante sector para su aplicación es la agricultura.

Estado de la técnica

10 Varios sectores de aplicación necesitan respuestas a cuestiones con respecto al estado de actividad biológica de un sustrato. El suelo, por ejemplo, que es la principal interfase de la producción agrícola, constituye un entorno cuya funcionalidad está mediada por la actividad de muchas especies microbianas. Esto determina la producción de la sustancia orgánica y los nutrientes destinados al cultivo de plantas. Las actividades enzimáticas del suelo son importantes "sensores", ya que proporcionan información del estado metabólico de la población microbiana y las condiciones químicofísicas del suelo.

15 Es una necesidad del agricultor de conocer el grado de fertilidad de su tierra y evaluar si es necesario o no administrar, por ejemplo, fertilizantes nitrogenados y/o fosfatados. La posibilidad de ahorrar dinero durante dicho procedimiento, evitando las adiciones superfluas a las sustancias ya disponibles en el suelo, permitiría no solo un beneficio económico para el agricultor sino también una ventaja general para el medio ambiente y el territorio, como se muestra por la severidad de los problemas relacionados con el exceso de nitratos de origen agrícola en lechos acuosos y agua corriente y por las consecuentes medidas previstas por la ley.

20 Además de los cultivos actuales, el conocimiento del estatus del potencial productivo es requerido para la tierra en reposo para determinar los cambios y duraciones óptimas para reiniciar el cultivo o evaluar la oportunidad de reconvertir tierras marginales para el cultivo.

25 Del mismo modo, el conocimiento del estado de maduración y de la actividad de un sustrato se requiere incluso en el caso de la maduración de estiércol o estiércol de ave de corral, del compostaje del residuos orgánicos, de biopilas de suelo dedicado a bioregeneración, así como en una serie de situaciones industriales cuyo fulcro es la actividad de consorcios microbianos en depósitos o bioreactores. Entre ellos es posible mencionar barros activados, tratamiento de aguas residuales, sistemas de nitrificación-desnitrificación y la conversión de biomasa y residuos agroindustriales para la producción de biogases y biocombustibles.

30 Los presentes métodos por medio de los cuales es posible cumplir las necesidades de los usuarios implicados (agricultores, gestores de plantas, agencias de protección medioambiental, legisladores) con respecto al conocimiento del estado microbiológico de suelos, medioambiente, bioreactores, etc. consisten en una serie de análisis químicofísicos que tienen una o más de las siguientes desventajas: la necesidad de encargar a laboratorios especializados de la tarea; la necesidad de analizar muchos aspectos diversos (dosis de elementos, análisis químicofísicos, análisis microbiológicos); la dificultad de interpretar los resultados para los propósitos de un diagnóstico unívoco; los costes medio-altos de los análisis; los prolongados tiempos de espera dependiendo de la disponibilidad del servicio de análisis; la necesidad de tener que transportar el material fuera del sitio implicado hasta el sitio de análisis.

35 La técnica conocida proporciona un método que analiza el grado de degradación de muestras de una fibra textil (algodón) colocándolas en el suelo y retirándolas después de un periodo de tiempo predefinido para medir su resistencia mecánica residual después de la interacción con los microorganismos. La fuerza necesaria para la rotura es un indicador de la actividad celulolítica del suelo. Según el método, la muestra se transporta a centros de análisis. El uso de grandes tiras requiere periodos prolongados en el suelo y gran maquinaria tensiométrica para romperlas. El método no proporciona ninguna información con respecto a otras actividades enzimáticas, por ejemplo, actividades proteolíticas, o información sobre los contenidos de nitrógeno, fósforo, potasio etc. en el suelo.

40 Muchos autores han descrito dicho método conocido usado para analizar suelos, por ejemplo, los siguientes: Nachimuthu et al. en "Comparison of methods for measuring soil microbial activity using cotton strips and a respirometer", Journal of Microbiological Methods, Elsevier, Amsterdam, NL, vol. 69, no.2, 13 April 2007, p. 322-329; Raymond L. Correll et al. en "Statistical analysis of reduction in tensile strength of cotton strips as a measure of soil microbial activity", Journal of Microbiological Methods, vol. 31, no. 1-2, 1 December 1997, p. 9-17; P.M. Latter et al. en "The cotton strip assay for cellulose decomposition studies in soil: history of the assay and development" en "Cotton strip assay: an index of decomposition in soils, Grange-over-Sands, NERC/ITE, 7-10. (ITE Symposium, 24)", 1 January 1988; y J.P. Obbard et al. en "The use of the cotton strip assay to assess cellulose decomposition in heavy metal-contaminated sewage sludge-amended soils", Environmental Pollution, vol. 81, no. 2, 1 January 1993, p. 173-178.

Descripción de la invención

Es un objetivo de la presente invención superar las desventajas descritas anteriormente y en particular proporcionar un método y un dispositivo capaz de facilitar la evaluación de la actividad microbiana de un sustrato, en particular de un suelo, sin necesidad de transportar muestras a centros de análisis, usar instrumentos de medida complejos, soportar elevados costes y esperar mucho tiempo. Es un objetivo adicional de la invención proporcionar un método y un dispositivo capaz de suministrar de una manera simple, sin necesidad de realizar muchos análisis diferentes, información global de la actividad microbiana del sustrato, incluyendo varias actividades enzimáticas y opcionalmente de obtener también información de la disponibilidad de elementos fertilizantes/nutrientes como nitrógeno, fósforo, potasio, etc. en el sustrato. También es el objetivo de la invención encontrar otros campos de aplicación para el método y dispositivo de la invención además de la aplicación en el campo de la agricultura.

Los objetivos mencionados anteriormente y otros que se describirán con mayor detalle a continuación se consiguen por un método para evaluar el nivel de actividad microbiana de un sustrato, preferentemente suelo, que comprende las siguientes etapas:

- a) preparar uno o más hilos biodegradables,
- b) tensar el uno o más hilos biodegradables con una tensión predefinida;
- c) introducir por lo menos parcialmente el uno o más hilos biodegradables tensados en el sustrato;
- d) dejar el uno o más hilos biodegradables tensados en el sustrato; y
- e) medir el tiempo transcurrido desde la introducción del uno o más hilos biodegradables tensados en el sustrato hasta la rotura del uno o más hilos biodegradables tensados.

Los ensayos realizados han mostrado que en los hilos recuperados después de que fueran introducidos en el sustrato es posible registrar una variación precisa de la resistencia a la tensión de rotura dinamométrica comparado con los hilos originales no introducidos en el sustrato, y que este parámetro está muy relacionado con los niveles de actividad microbiana de los entornos que se analizan. La actividad microbiana/enzimática se determina por la presencia de sustancia orgánica y la disponibilidad de nutrientes en el sustrato que se examina. El nivel de actividad microbiana es un indicador del estado de maduración y/o fertilidad del suelo u otro sustrato.

El término "hilo" quiere decir un cuerpo alargado cuya dimensión longitudinal (longitud) excede de sus dimensiones transversales (anchura o grosor). Correspondientemente, el término "hilo" comprende también fibras, y un hilo puede estar compuesto de una pluralidad de fibras o de una sola fibra. El término "hilo" incluye filamentos únicos, filamentos múltiples, mechones de fibra, tiras o bandas de fibras cortadas en otras formas, rotas en pequeños trozos o discontinuas o similares, con secciones transversales regulares o irregulares y apropiados para ser sometidos a una dada tensión de tracción. El término "fibras" aquí comprende también combinaciones de las estructuras mencionadas anteriormente.

El término "biodegradable" quiere decir que el hilo/hilos es/son por lo menos parcialmente biodegradable(s). En otras palabras, es suficiente que el grado de biodegradabilidad, queriendo decir la capacidad del hilo para ser descompuesto por una flora microbiana, cuya presencia se debe determinar adoptando el método según la invención, sea tal que una actividad microbiana dada en el sustrato en cuestión puede provocar la rotura del hilo/hilos que se está(n) tensando en un cierto periodo de tiempo. Preferentemente, este periodo de tiempo no debe exceder de 1-2 semanas.

En el caso en el que el sustrato sea suelo, los hilos apropiados podrían ser, por ejemplo, hilos compostables. Se pueden considerar apropiados todos los materiales que son suficientemente biodegradables y capaces de soportar una cierta tensión. Se pueden tomar en consideración materiales de origen natural pero también materiales artificiales, como fibras poliméricas. Los materiales naturales se dividen en materiales de origen animal, generalmente hechos de proteínas, y materiales de origen vegetal, generalmente hechos de celulosa y basados en almidón.

Según una realización diferente preferida de la invención, los hilos biodegradables son de origen proteínico o vegetal, preferentemente algodón o seda. El grado de descomposición de los hilos suministra información de la actividad proteolítica o celulolítica del sustrato. La elección del material, entre otras cosas, está también determinada por la velocidad con la que los microorganismos o las enzimas son capaces de descomponer el hilo para provocar la rotura del mismo. Idealmente, los hilos, su tensión y sus tamaños se seleccionan de tal modo que la rotura de los hilos tiene lugar en unos pocos días, máximo en 1-2 semanas.

Comparado con el estado de la técnica, el método de la invención no mide la fuerza de tracción necesaria para romper el hilo después de un periodo de tiempo dado sino el tiempo que pasa hasta la rotura del hilo sometido a una tensión de tracción dada, lo que simplifica considerablemente la técnica de medida. La estancia del hilo en el suelo permite que los microorganismos/enzimas descompongan el material biodegradable con la consecuencia de que después de la descomposición de una dada cantidad de material el hilo no puede soportar más la tensión y se

- rompe. Los hilos de coser de algodón o seda disponibles en el mercado han mostrado ser particularmente apropiados para el propósito deseado. Este método, según el cual los hilos se depositan en el suelo (o se sumergen, en el caso de sustratos más líquidos como barro) se ha desarrollado para medir la capacidad de degradación del complejo de microorganismos presente en suelos y sustratos. Preferentemente, por lo menos dos del uno o más hilos biodegradables están hechos de diferentes materiales para recoger información de diferentes actividades microbianas.
- Ventajosamente, los hilos son de origen vegetal (por ejemplo, celulósico, como algodón) o de origen animal (por ejemplo, proteináceo, como seda). El hilo de origen vegetal es susceptible de acción celulolítica aunque el hilo de origen animal es un indicador de actividad proteolítica. Se debilitan gradualmente por la actividad progresiva de los microorganismos o enzimas libres con los que están en contacto. En la aplicación del método, combinar hilos de diferentes materiales quiere decir obtener, del tiempo necesario para romperlos, información de la actividad proteolítica y la actividad celulolítica del suelo. Otros tipos de hilo se pueden tomar en consideración, como por ejemplo, lino, viscosa, lana (que ha mostrado que se degrada lentamente), etc.
- En una realización ventajosa del método de la invención, para por lo menos uno del uno o más hilos biodegradables hay por lo menos un hilo biodegradable adicional del mismo material con la adición de por lo menos una sustancia fertilizante y la falta o exceso de la sustancia fertilizante en el sustrato se determina por la comparación del tiempo de rotura de estos dos hilos. Esta realización diferente del método es particularmente interesante en el campo de la agricultura y hace posible determinar si la fertilidad del suelo en cuestión se puede incrementar adicionalmente.
- Además de las fibras individuales descritas anteriormente, de este modo se añaden y colocan en el sustrato otras versiones, a las que se añaden previamente fuentes de elementos fertilizantes, como por ejemplo, nitrógeno mineral o fosfato de potasio. En este contexto es posible tomar en consideración diferentes combinaciones de hilos, que contiene cada una un elemento fertilizante, o de hilos que tienen varios elementos fertilizantes. Son de particular interés las sustancias fertilizantes seleccionadas del grupo constituido por fuentes minerales de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre y otros meso- y micro-elementos. Estos elementos se pueden encontrar en sales minerales como $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, CaSO_4 , CaNaPO_4 , CaSiO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KNO_3 y otras conocidas por los expertos en el campo.
- En los sectores de agricultura y jardinería, los mesoelementos se consideran elementos secundarios en base a la respuesta de la planta a adiciones específicas hechas por medio de fertilización. Los mesoelementos incluyen, por ejemplo, calcio, magnesio, azufre, cloro y en algunos casos también se considera al sodio. Los macroelementos, en cambio, son los principales elementos para la fertilidad, en particular nitrógeno, fósforo y potasio. Los microelementos, en cambio, actúan en cantidades muy limitadas pero llevan a cabo un papel fundamental, dado que son parte de los componentes de enzimas. Incluyen, por ejemplo, boro, manganeso, cobre, cinc, molibdeno, cobalto, hierro y a veces se mencionan también cloro, silicio y níquel como pertenecientes a este grupo.
- En el caso más simple, el enriquecimiento con nitrógeno tiene lugar mediante la inmersión de los hilos en una disolución de NH_4NO_3 . Preferentemente, la concentración de la disolución es de aproximadamente 3 g/l. Preferentemente, el tiempo de inmersión es aproximadamente de 15 minutos.
- Con buenos resultados, el enriquecimiento con fósforo requiere, en cambio, la inmersión en una disolución de Na_2HPO_4 y KH_2PO_4 . Una concentración apropiada es aproximadamente 6 g/l de Na_2HPO_4 y 3 g/l de KH_2PO_4 . Ventajosamente, los hilos se secan al aire libre.
- En los casos en los que el debilitamiento de la resistencia a la rotura del hilo pretratado con un elemento particular es incluso mayor que en el hilo no pretratado, dicha diferencia indica en qué medida la fertilización con el elemento respectivo puede ser beneficiosa para el suelo en cuestión. De este modo, es fácil obtener información a pedido en relación con este elemento específico ensayado.
- Las diferencias de hecho indican si, y en qué medida, en los suelos en cuestión, los microorganismos activos en la mineralización de la sustancia orgánica están limitados por este elemento, por ejemplo nitrógeno o fósforo.
- En condiciones de exceso de nutrientes en el suelo, el pretratamiento con un elemento dado ha mostrado ser apropiado para indicar el resultado, incluso si es negativo, que causa degradaciones menores en comparación con las fibras a las que no se ha añadido este elemento.
- Esto es particularmente evidente en el caso del nitrógeno.
- En otras palabras, el agricultor puede comprender de manera autónoma, usando el método propuesto con varios hilos, si su suelo necesita la adición de ciertos elementos, como fósforo o nitrógeno, o no.
- El método ha sido validado por varios miles de medidas hechas en suelos y contextos con fertilidad y productividad conocidas y las correlaciones con los parámetros requeridos eran altamente significativas.
- Para expresar el resultado, el valor de resistencia de los hilos colocados en el suelo se compara con el valor de resistencia promedio de los hilos nativos correspondientes que no se colocaron en el suelo y se expresa como

porcentaje de resistencia con la siguiente fórmula: (gramos de peso aplicado necesario para romper la fibra colocada bajo tierra / gramos de peso aplicado necesarios para romper la fibra nativa) x 100. Los datos obtenidos se han convertido de porcentaje de resistencia residual a porcentaje de degradación ocurrida, restando el valor resultante de 100.

5 La correlación de los valores determinados de esta manera con ciertas concentraciones de bacterias, microhongos, algas, protozoos, enzimas o elementos fertilizantes en el sustrato se realiza por medio de una "configuración" con sustratos cuyos parámetros quimicofísicos y microbiológicos, como por ejemplo información sobre el tipo de suelo, la concentración de elementos nutrientes/fertilizantes, la cuantificación de la población microbiana, los valores con respecto a la actividad enzimática, etc. son conocidos.

10 Obviamente, es posible transferir esta parte del método (colocar hilos subterráneos de diferentes materiales y/o hilos del mismo material, pretratados y no pretratados) también al método de la técnica conocida, a continuación al método para medir la fuerza necesaria para romper los hilos después de un período dado de permanencia en el suelo.

15 La invención consigue de este modo el objetivo de proporcionar un método para la evaluación comparativa del nivel de actividad microbiana y/o del estado de fertilidad de los suelos o de la aptitud para la degradación de lodos y aguas residuales que contienen comunidades biológicamente activas, como una función de la actividad mineralizante microbiana de la sustancia orgánica en hilos de muestra biodegradables (por ejemplo, algodón, seda), colocados en el suelo o sumergidos, tanto en forma simple como con la adición de elementos fertilizantes o nutrientes (por ejemplo, nitrógeno, fósforo y potasio), por la medida de la variación de la resistencia a la rotura después de un período apropiado de permanencia en el suelo o en el sustrato que se analiza.

20 El método según la invención también hace posible, por ejemplo, controlar la recuperación de suelos que se han contaminado después de fitoextracciones o contaminación en general. El método permite que diferentes actividades sean determinadas simultáneamente.

25 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un dispositivo para medir el nivel de actividad microbiana de un sustrato, que comprende uno o más hilos biodegradables y para cada hilo biodegradable un primer elemento de fijación apropiado para fijar un extremo del hilo biodegradable y un segundo elemento de fijación apropiado para fijar el otro extremo del hilo biodegradable, entre los cuales cada hilo biodegradable se puede atar independientemente con una tensión predefinida. Obviamente, por lo menos el primer elemento de fijación puede ser común a dos o más hilos, y de la misma manera cada hilo puede tener de vez en cuando un único primer elemento de fijación. Este dispositivo es apropiado para implementar dicho método. Para los términos "hilo" y "biodegradable" se aplican las definiciones proporcionadas anteriormente.

30 El dispositivo según la invención es preferentemente un dispositivo de medida para el suelo.

35 Según una realización diferente preferida de la invención, para por lo menos un hilo biodegradable hay por lo menos otro hilo biodegradable hecho de un material idéntico provisto de por lo menos una sustancia fertilizante y/o hay por lo menos dos hilos biodegradables hechos de diferentes materiales. Las variantes y combinaciones respectivas se han descrito anteriormente con respecto al método según la invención. Al colocar en el suelo un único dispositivo, es posible introducir en el suelo varias combinaciones de fibras múltiples, integradas en una sola sonda.

En la forma más simple, hay un primer y un segundo elemento de fijación para cada hilo biodegradable presente.

40 Es posible considerar la producción de la tensión predefinida en el hilo estableciendo de antemano una distancia determinada entre los dos elementos de fijación, pero ventajosamente el dispositivo también comprende un elemento tensor apropiado para ejercer una fuerza de tracción dada sobre el hilo biodegradable para obtener la tensión predefinida en el hilo. Tal elemento tensor puede ser, por ejemplo, un resorte. Idealmente, los hilos son sometidos, por medio de estos medios tensores, a una fuerza de tracción igual al 50% de la fuerza de tracción necesaria para romper los mismos filamentos cuando son nuevos. En este sentido, el mercado ofrece resortes establecidos con fuerzas elásticas predefinidas apropiadas para ejercer fuerzas de tracción específicas sobre el hilo. Preferentemente, los medios tensores controlan la distancia entre el primer y el segundo elemento de fijación. El dispositivo según la invención también comprende, para cada hilo biodegradable, un indicador apropiado para señalar la rotura del mismo hilo. La presencia de un indicador evita la necesidad de extraer el dispositivo del sustrato a intervalos determinados para controlar las condiciones del hilo y hace posible dejar el instrumento in situ en el suelo y registrar el tiempo necesario para que el indicador se active tras la rotura del hilo específico, una vez que su resistencia ha bajado, por ejemplo, a la mitad de la resistencia de la fibra nativa.

50 Según una realización diferente ventajosa de la invención, el segundo elemento de fijación se puede mover con respecto al primer elemento de fijación y el elemento tensor es un resorte que ejerce su fuerza de tracción sobre el segundo elemento de fijación de modo que un hilo biodegradable tensado entre los dos elementos de fijación carga el resorte que, en caso de rotura del hilo, aleja el segundo elemento de fijación del primer elemento de fijación que vuelve a su posición descargado. Dos casos principales se pueden tomar en consideración. En el primer caso, el resorte, cuando se tensa el hilo, se extiende desde su configuración de reposo descargado, mientras que en el segundo caso el resorte se comprime cuando se tensa el hilo. Una vez que el hilo se ha roto, el resorte,

respectivamente, se contrae o se expande, volviendo a su configuración descargado.

Preferentemente, el indicador es parte integral del segundo elemento de fijación y, de este modo, se mueve con él, y en consecuencia su posición es apropiada para señalar la rotura del hilo, si esto ocurre. Dado que es el resorte el que ejerce la fuerza de tracción sobre el segundo elemento de fijación y este elemento de fijación es móvil, la posición del segundo elemento de fijación está determinada por la condición extendida o comprimida del resorte que a su vez está determinada por si el hilo está tensado o no. Un indicador directamente conectado al segundo elemento de fijación es capaz de indicar, como indicador de posición, la posición del segundo elemento de fijación y, por lo tanto, indirectamente, el estado del hilo, que aún puede estar tensado o puede haberse roto. El concepto de construcción incluye, en el caso más simple, la posibilidad de una supervisión visual directa del indicador que para este propósito, con buenos resultados, se debe colocar en una porción del dispositivo que no esté colocada en el suelo.

Preferentemente, el indicador se mueve de una posición a otra y de este modo entra en contacto con un detector que muestra el estado del hilo en una pantalla o de forma remota; este principio también se puede cambiar con ajustes simples, obteniendo una variante capaz de proporcionar el estado detectado por medio de la transmisión inalámbrica de datos a un software apropiado. De esta forma, el instrumento es capaz de devolver automáticamente la información que es útil para las decisiones de gestión del usuario, tales como: si existe o no la necesidad de fertilización de la tierra y la entidad de la misma en los suelos cultivados; calidad, potencial y vocación de suelo no cultivado y arbolado; idoneidad del suelo para el re-cultivo después de dejarlo en barbecho o como reserva; el grado de maduración/actividad de montones de estiércol, masas de compostaje, biopilas para recuperación de tierras, sedimentos resultantes de contextos tanto naturales como artificiales, lodos y sistemas para tratar biomásas y aguas residuales, y biorreactores en la cadena de producción de energía, etc. Esta información se puede suministrar a partir de la combinación correspondiente de diferentes hilos, como se describe anteriormente.

Ventajosamente, entre los dos puntos de fijación del hilo hay una guía del hilo apropiada para inclinar ligeramente el hilo con respecto al eje principal del instrumento, que define preferentemente una inclinación de alrededor de 3° si el hilo está aproximadamente a 15 cm bajo tierra. En una posible realización diferente, la guía del hilo tiene forma de disco y está provista de rebajes dispuestos radialmente, en la que estos rebajes pueden ser rendijas o ranuras simples en un disco en forma de estrella. Según una realización ventajosa del dispositivo, la estructura base de dicho dispositivo es una barra que para cada hilo biodegradable está provista en su parte inferior de dicho primer elemento de fijación y, axialmente separado de este primer elemento de fijación, de un alojamiento de elemento de separación para cada hilo, en una configuración que se mueve axialmente, una varilla cuyo primer extremo, que está en el lado del elemento de separación orientado hacia el primer elemento de fijación, está provista de dicho segundo elemento de fijación y a lo largo de cuya longitud, en el otro lado de elemento de separación, hay un espaciador que es parte integral de dicha varilla, y en el que dicho resorte está insertado coaxialmente en dicha varilla para estar contenido entre dicho espaciador y dicho elemento de separación, de tal manera que fijando dicho hilo entre dicho primer y dicho segundo elemento de fijación, el hilo se tensa y el resorte se comprime entre el espaciador y el elemento de separación, y en caso de rotura del hilo el resorte se extiende, moviendo de este modo la varilla cuyo segundo extremo es dicho indicador que al moverse junto con la varilla señala la rotura del hilo por medio de su nueva posición.

Las dimensiones del dispositivo según la invención son variables y dependen también del sustrato a analizar. El dispositivo para la aplicación en jarrones, por ejemplo para plantas ornamentales, será más pequeño que la versión para uso en campos, viñedos, huertos, jardines ornamentales o ambientes naturales. La longitud de la porción de hilo en contacto con el suelo se selecciona según la extensión de la actividad microbiana en profundidad del sustrato. La densidad de los instrumentos, es decir, el número de instrumentos para una superficie específica que se analiza, depende de la homogeneidad del sustrato, que generalmente es más alta en el caso de las llanuras que en el caso de las colinas. De manera indicativa, en una llanura, un promedio de seis puntos de monitoreo por hectárea de terreno puede ser suficiente. El diámetro del hilo se optimiza en base al tiempo de permanencia deseado en el suelo.

Ventajosamente, el dispositivo también se puede equipar con analizadores seleccionados entre analizadores de gas, temperatura y humedad con el fin de completar la información recogida.

Un aspecto adicional se refiere a un kit que comprende uno o más hilos biodegradables, así como

a) hilos biodegradables pretratados con disoluciones de sales minerales que contienen por lo menos una fuente mineral seleccionada entre las fuentes de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre, otros meso- y micro-elementos; y/o

b) disoluciones de sales minerales que contienen por lo menos una fuente mineral seleccionada entre fuentes de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre, otros meso- y micro-elementos, en los que los extremos de los hilos están provistos de medios de fijación, en particular esférulas, ojales, ganchos, y están provistos opcionalmente de una marca distintiva. Estos medios de fijación se seleccionan ventajosamente de modo que sean apropiados para ser fijados con elementos de fijación presentes en un dispositivo de medida según la invención. Tal kit sirve para reemplazar fácilmente los hilos rotos con hilos que pueden servir para las medidas que se van a llevar a cabo.

Para los términos "hilo" y "biodegradable" se aplican las definiciones proporcionadas anteriormente. Una marca distintiva puede ser una esférula coloreada.

5 Las ventajas ofrecidas por el método y el instrumento propuestos en comparación con la tecnología existente son evidentes, ya que ofrecen al usuario: la oportunidad de usar el instrumento en su tierra, en su fábrica, planta o jardín o jarrón; la posibilidad de hacer el diagnóstico por sí mismo comparando los tiempos determinados para la rotura con tiempos conocidos para sustratos con calidades conocidas (por ejemplo, enumerados en tablas de interpretación apropiadas); la oportunidad de obtener respuestas en tiempo real o en cualquier caso muy brevemente; y la oportunidad de usar un instrumento que tiene un precio bajo y se puede reutilizar indefinidamente reemplazando solo las fibras cambiables. La determinación de las propiedades del sustrato puede permitir a los usuarios tomar 10 decisiones directas y oportunas sobre la posibilidad de agregar fertilizantes solo cuando sea realmente necesario y usar el tipo de fertilizante más apropiado, realizando así una "fertilización de precisión", y considerando la oportunidad de usar materiales que han alcanzado la maduración (compost, estiércol) en lugar de esperar periodos innecesarios o incluso excesivos con respecto a la funcionalidad del producto. Estas opciones permiten al usuario ahorrar cantidades considerables de dinero y reducir el desperdicio y la difusión de cantidades excesivas de 15 fertilizantes en el medio ambiente, además de reducir los tiempos de espera para las intervenciones y la comercialización/distribución de los productos. Usando el método y el dispositivo según la invención, ya no es necesario recuperar los hilos y medir su límite de rotura residual en un banco dinamométrico, ya que el dispositivo puede funcionar automáticamente y solo se necesita la medida del tiempo de exposición a microorganismos necesario para romper los hilos. De esta manera, el monitoreo de la actividad microbiana (mineralizante) y/o de la 20 fertilidad del suelo, que está estrechamente relacionada con ella, se puede llevar a cabo cómodamente controlando periódicamente el estado de los indicadores provistos en el instrumento (o recibiendo los datos de los sensores inalámbricos en la versión de detección remota) y comparando los valores determinados con los valores estándar suministrados, por ejemplo, en tablas de interpretación.

25 La invención logra el objetivo de permitir un análisis comparativo (entre diferentes materiales biodegradables y/o hilos con o sin adición de elementos nutrientes, en particular: nitrógeno o fósforo-potasio) que constituye una mejora metodológica considerable proporcionando información no solo sobre la actividad celulolítica sino también sobre la actividad proteolítica y/o sobre las concentraciones de nutrientes (elementos fertilizantes) que pueden estar ya presentes o residuales en el suelo o incluso ausentes. Además, el uso de tiras considerablemente gruesas en lugar de hilos delgados en la técnica conocida requiere una gran maquinaria tensométrica usada en la industria textil y 30 largas estancias bajo tierra para romper dichas tiras. El método y el dispositivo de la invención no requieren instrumentos tensométricos sofisticados; las estancias bajo tierra son más cortas. La presente invención no se limita únicamente a la aplicación al suelo, de hecho, el método y el dispositivo se pueden usar también en otros contextos como se describió anteriormente, por ejemplo, también en el párrafo relacionado con el estado de la técnica. La invención proporciona un instrumento (opcionalmente automático) para evaluar el nivel de actividad microbiana y la 35 fertilidad de un sustrato que puede ser monitoreado por el usuario. Si el dispositivo y/o método se aplica a sustratos con actividades microbianas/enzimáticas conocidas, pueden ser útiles para determinar la biodegradabilidad/compostabilidad de materiales, por ejemplo, materiales poliméricos. Para este propósito, se usan hilos hechos del material a ensayar.

40 Las realizaciones diferentes de la invención son el tema de las reivindicaciones dependientes. La descripción de un ejemplo preferido de realización del dispositivo según la invención se proporciona a modo de ejemplo no limitante con referencia a los dibujos adjuntos.

Breve descripción de los dibujos

- La Figura 1 muestra una vista axonométrica de un dispositivo para evaluar el nivel de actividad microbiana de un sustrato según la invención;
- 45 - La Figura 2 muestra una vista axonométrica del dispositivo según la Figura 1 sin la carcasa de protección;
- La Figura 3 muestra una vista axonométrica de la parte inferior del dispositivo según la Figura 1;
- La Figura 4 muestra una vista axonométrica de un detalle de la Figura 2;
- La Figura 5 muestra una vista axonométrica de la cabeza del dispositivo según la Figura 1 con indicadores no activados;
- 50 - La Figura 6 muestra una vista axonométrica de la cabeza del dispositivo según la Figura 2 con algunos indicadores activados;
- La Figura 7 muestra una vista lateral de la parte superior del dispositivo según la Figura 2;
- La Figura 8 muestra una vista lateral de la introducción en el suelo de la parte inferior del dispositivo según la Figura 1.

Descripción de los ejemplos de realización

La figura 1 muestra un dispositivo en la versión para uso en campos, indicado en conjunto por 1. La estructura base comprende una barra 2 provista de una punta 4 estabilizadora en un extremo. En el extremo 5 opuesto que también sirve como asidero hay una cabeza 6 de medida capaz de medir la activación de un indicador (no mostrado) que señala la rotura de uno de los hilos 8 biodegradables. Dado que el dispositivo 1 está destinado a ser utilizado principalmente al aire libre, los mecanismos de tensado (ilustrados en detalle en las siguientes figuras) estarán protegidos contra los agentes meteorológicos por medio de una carcasa 10 cilíndrica cuya parte superior es transparente, para permitir que se vean los indicadores de color (ver Figura 6) que pueden estar activados. Dicha carcasa 10 tiene un diseño simple y se puede quitar fácilmente mediante un movimiento de deslizamiento axial para permitir la colocación rápida de nuevos hilos, disponibles como piezas de repuesto, sin necesidad de herramientas especiales. Los elementos de fijación apropiados para fijar de vez en cuando un extremo de los hilos 8 biodegradables correspondientes están indicados por 12.

En el ejemplo mostrado en la figura 3, los hilos están anclados en la parte inferior por medio de esférulas 34 de color, fijadas por medio de un proceso industrial estándar, que sirven como topes e insertadas en los elementos cilíndricos opuestos 12 presentes en la parte inferior del instrumento, encima de la punta 4 estabilizadora. La barra 2 está hecha de un material apropiado para su uso en campos, como por ejemplo acero inoxidable, materiales poliméricos, etc. La punta 4 estabilizadora idealmente se debe introducir en un agujero previo hecho en el suelo usando un punzón con diámetro apropiado, preferentemente ligeramente menor que el diámetro de la barra 2 para garantizar un buen contacto entre los hilos 8 y el suelo. En el caso de suelos que no son demasiado duros, también es posible insertar el dispositivo directamente, sin necesidad de hacer un agujero previo y sin riesgo de romper los hilos.

La figura 2 muestra el interior del dispositivo 1 después de retirar la carcasa 10 protectora. Los hilos 8 biodegradables se extienden desde los respectivos elementos de fijación 12 a lo largo de la barra 2 y son guiados a través de una guía del hilo en forma de disco 14 que además de separar los hilos 8 entre sí también sirve para definir una inclinación específica de los hilos 8, cada uno de los cuales termina con un ojal 16. Esto se obtiene, por ejemplo, preparando el extremo superior de los hilos 8 en forma de ojal con pequeños cilindros 18 de plástico colorerados que se forman en caliente alrededor de los hilos por medio de un proceso industrial estándar usado en la industria textil y de la confección. Estos pequeños cilindros 18 colorerados también son útiles para distinguir los hilos entre sí según el material usado y las diferentes sustancias añadidas. La divergencia resultante de los hilos 8 asegura el contacto con el suelo y, por lo tanto, la mejor interacción con los microorganismos.

Se ha demostrado que una inclinación de aproximadamente 3° es apropiada para una longitud de aproximadamente 15 cm de contacto entre el suelo y los hilos que constituye el sustrato activo. Los ojales 16 están acoplados con ganchos 20 que corresponden al primer extremo de varillas 22 que se extienden a lo largo de la barra 2 y que terminan en los segundos extremos 24 indicadores coloreados. Estos indicadores 24 están agrupados en orificios 23 de una cabeza 25. Las varillas se guían de forma móvil en agujeros 26 de un disco 28 y están provistas de anillos 30 fijos. Los anillos 30 y el disco 28 limitan la movilidad de resortes helicoidales 32 (se ha representado solo un resorte en aras de la claridad) insertados en las varillas 22 entre los anillos 30 y el disco 28. Los resortes desarrollan una reacción elástica dada para aplicar una fuerza de tracción específica al hilo 8. Los hilos 8 se mantienen de este modo tensados en la línea vertical mediante las varillas 22 cargadas por estos resortes 32 helicoidales.

En el ejemplo descrito aquí hay seis hilos (tres hilos de algodón y tres hilos de seda) y cada grupo comprende: (a) un hilo de control no pretratado, (b) un hilo pretratado con nitrógeno y (c) un hilo pretratado con fósforo. Obviamente, el usuario final es libre de elegir también otras combinaciones de materiales de hilo y tratamientos de hilo para obtener la información deseada. Obviamente, también el número de hilos puede variar. Los hilos se fabrican idealmente de forma industrial con características estándar y están ventajosamente provistos de esférulas y pequeños cilindros en colores específicos para permitir la inserción correcta en el dispositivo. Esto es necesario ya que la fuerza de tracción usada para el algodón es diferente de la fuerza de tracción usada para la seda y, con el mismo material, será necesario poder distinguir entre los distintos hilos, algodón o seda, neutros o pretratados, para una correcta evaluación de los resultados.

Para este propósito, incluso los extremos 24 del indicador superior que se activarán cuando el hilo, una vez que haya alcanzado un grado de degradación del 50%, ceda a la tracción del resorte y se rompa, se marcan con un color diferente para permitir la inserción correcta de los hilos durante el montaje y la identificación del hilo roto durante el examen de los resultados por parte del usuario. El sistema de fijación (esférulas, ojales) adoptado posibilita colocar los hilos 8 en el dispositivo 1 rápidamente y sin necesidad de herramientas especiales.

Después de la inserción de la esférula 34 de tope en su asiento (Figura 3), cada hilo 8 se pasa a través de una ranura 15 provista en el disco 14 de guía del hilo, necesaria para mantener un ligero ángulo (~ 3°) entre el hilo 8 y el eje vertical de la barra 2, y finalmente se asegura en el extremo inferior de la varilla 22 correspondiente provista de un gancho 20. Los hilos 8 son de este modo ligeramente divergentes desde abajo hasta arriba, para lograr un mejor contacto con el sustrato. De hecho, el instrumento se inserta en un agujero previo hecho con una herramienta simple que consiste en un cilindro o punzón de metal o plástico, siempre que su diámetro sea igual o ligeramente menor que el diámetro de la porción del dispositivo colocada en el suelo y su longitud sea igual a la de la porción del

dispositivo colocada en el suelo, excluyendo la punta estabilizadora, que corresponde a la profundidad de la capa activa (~ 15 cm). El dispositivo 1 está provisto idealmente de un segundo disco 36 espaciador colocado en la parte superior del dispositivo para mantener las varillas 22 esencialmente paralelas a la varilla 2.

5 La figura 8 muestra la colocación de la punta 4 estabilizadora y de los hilos 8 a una profundidad apropiada en un agujero 7 realizado en un suelo 9. Por razones de claridad, en el dibujo hay un espacio vacío entre el suelo 9 y los hilos 8; el suelo en realidad ocupa todo el espacio y toca la barra 2. Cuando el dispositivo se inserta en el agujero 7, todos los hilos 8 mantienen un contacto uniforme con el suelo y con la superficie cilíndrica externa de la barra 2, incluso en el caso de una ligera inclinación del dispositivo con respecto a la línea vertical.

10 La figura 4 muestra una vista ampliada de una varilla 22 del dispositivo 1 con el indicador 24 y el gancho 20. El resorte 32 se puede reemplazar simplemente retirándolo de la varilla 22 que se puede insertar fácilmente en un agujero 26 en el disco 28 espaciador. La figura 5 muestra la parte superior del instrumento 1 con ninguno de los indicadores 24 activados, sino todos retirados en los agujeros 23 de la cabeza 25.

15 La figura 6, en cambio, muestra dos indicadores 24b que están activados y visibles incluso si están cubiertos por la carcasa protectora, dado que debido a la deformación de los respectivos hilos, sus varillas 22, no sostenidas por el respectivo hilo roto, han sido empujadas hacia arriba por su resorte. Algunos indicadores 24a no están activados, lo que significa que el hilo correspondiente no se ha roto aún.

Alrededor de los indicadores 24 puede haber una tira protectora transparente de un material plástico apropiado para el contexto de uso, no ilustrada en el dibujo, que incluso puede ser una parte integral de la carcasa protectora. Las protecciones superiores de los indicadores, si las hay, se han omitido en todos los dibujos.

20 La cabeza 6 superior está provista de agujeros 27 que sirven de este modo como asiento para los indicadores 24 activados y puede albergar un circuito electrónico con microprocesador apropiado para detectar su estado, un receptor GPS miniaturizado, un módulo WSN, un cronómetro para medir cuándo se activa el indicador y una batería de fuente de alimentación.

25 La figura 7 resume las diferentes situaciones del sistema de medida en una vista lateral de la parte superior del dispositivo. Los hilos 8a todavía están tensos, mientras que el hilo 8b está roto. Correspondientemente, las varillas 22a conectadas a los hilos 8a sin romper están en una posición más baja en comparación con la varilla 22b conectada al hilo 8b roto. Los hilos 8a provocan la compresión de los resortes 32a correspondientes, mientras que la rotura del hilo 8b ha permitido que el resorte 32b regrese a su configuración descargada empujando la varilla respectiva 22b hacia arriba. El indicador correspondiente 24b está desplazado axialmente con respecto a los
30 indicadores 24a que no se han activado y señala la rotura del hilo 8b.

El dispositivo se puede usar en un contexto con la opción de detección remota. La estructura del instrumento permite la inserción, en la parte superior, de un módulo opcional con tecnología inalámbrica, completo con una batería con la capacidad apropiada, para la transmisión remota del estado de los distintos indicadores. La tecnología actual de las redes WSN (Wireless Sensor Network (redes de sensores inalámbricos)) permite crear una red de sensores interconectados, como ya ocurre en el campo industrial, para la detección del estado de dichos sensores y la transmisión de los parámetros del proceso sin necesidad de proporcionar un cableado específico.
35

Al adoptar esta tecnología para el dispositivo en cuestión, especialmente en el caso de áreas grandes y muy grandes, es posible obtener la detección remota del estado en un gran número de puntos en el suelo que se analiza, cuyo número y distancia mutua dependen de la tecnología inalámbrica usada y de los criterios adoptados para una campaña de medida racional relativa a la fertilidad del suelo. Las actuales especificaciones de una de las tecnologías WSN disponibles, la tecnología ZigBee, incluyen un máximo de más de 65.000 módulos que pertenecen a una sola red y una distancia máxima entre módulos y dispositivos en el campo abierto de aproximadamente 70 m en los modelos estándar y aproximadamente 200 m en la versión reforzada.
40

Además, la función de relé entre un nodo-sensor y los otros hace posible incrementar la distancia de medida hasta un máximo de seis repetidores desde el nodo más alejado y la estación receptora.
45

Actualmente dicha tecnología sería la más apropiada para la detección remota del estado del instrumento en cuestión y su transmisión a un nodo central que tiene la función de recoger datos y gestionar la red e interconectarse con un PC portátil normal.

50 Dichos módulos se caracterizan por una baja velocidad de datos pero por una alta autonomía (aproximadamente 1 año con una batería AA común) y esto los convierte en la solución ideal para uso en el contexto en cuestión, en el que los altos flujos de datos no son necesarios y la permanencia esperada in situ se limita a unas pocas semanas. El tamaño reducido de los componentes de WSN además garantiza costes reducidos y una fácil integración en un instrumento tal como el que es el objetivo de esta descripción.

55 En la práctica, independientemente de la tecnología inalámbrica adoptada, el funcionamiento de los módulos WSN presentes en los dispositivos requiere una permanencia en estado de "espera" la mayor parte del tiempo, con un mínimo consumo de corriente, excepto que se reactive durante un tiempo muy corto para verificar si en el nodo

supervisor central conectado al PC portátil hay una solicitud pendiente de datos dirigida a él.

En este caso, ese módulo llevaría a cabo una rutina de hardware para verificar qué indicadores están libres debido a la rotura de su hilo localizado en el suelo.

5 El estado de los indicadores, junto con el código de identificación del dispositivo (ID), se transmitiría por radio al nodo supervisor que lo pasaría al PC conectado a él para su almacenamiento en un archivo simple, como un archivo de Excel o software análogo.

El software introduciría los datos de entrada en un registro indexado por ID dentro del archivo de Excel que ya contiene la posición geográfica del dispositivo detectado en el momento de su colocación en el sitio por medio de un receptor GPS que puede ser autónomo o estar integrado en el PC portátil.

10 Además, la fecha y hora de inicio de funcionamiento de cada dispositivo se introducen automáticamente en el mismo registro para hacer comparaciones entre estados sucesivos.

15 La base de datos simple formada de esta manera se puede usar para el análisis sucesivo por medio de un software desarrollado específicamente que además de un resultado numérico también puede proporcionar una representación gráfica del nivel de actividad microbiana y, si es necesario, del consecuente grado de maduración y/o fertilidad del suelo según varios procedimientos útiles para tomar decisiones agronómicas y de gestión.

Una de estas es la posibilidad de mostrar el estado del suelo en un mapa apropiado obtenido integrando y comparando los datos recibidos de los dispositivos en los días posteriores a su colocación en el campo.

20 De hecho, habiendo planificado el registro de los eventos que tuvieron lugar, es decir, fecha y hora de puesta en servicio de cada dispositivo y de activación de sus indicadores, es posible obtener información útil sobre la situación general de las actividades microbianas en el suelo que se está examinando.

Más específicamente, sería posible determinar si una parte del suelo es más o menos activa que otras simplemente interrogando la base de datos por medio del software.

25 De hecho, es suficiente implementar en él un algoritmo que hace que las comparaciones entre eventos tengan lugar en distintos momentos para obtener la tasa final de actividad en el suelo, tanto comparando apropiadamente la secuencia de tiempo de la activación de los indicadores de un dispositivo como correlacionando los indicadores homólogos activados en diferentes dispositivos.

El dispositivo que es el objetivo de la invención se puede producir usando materiales y ciclos de procesado estándar, es decir, usualmente disponibles en el mercado y comúnmente usados en la industria. La reproducción masiva del dispositivo es de este modo posible.

30 Las propuestas de materiales y componentes apropiados que se deberían considerar ejemplos no limitantes se enumeran aquí a continuación.

35 El cuerpo principal, es decir, la barra, está constituido por un elemento tubular (aproximadamente de 700 mm de longitud) de un material plástico (PVC, polietileno u otro material) que garantiza la resistencia a los agentes atmosféricos y la radiación UV y, en cualquier caso, es apropiado para su uso en los campos. Se puede hacer de una sola pieza que comprende punta, cuerpo cilíndrico, discos de guía para hilos y varillas, sección superior y mango.

40 Los diversos discos de guía sirven para mantener las varillas y los hilos en su posición. Pueden ser elementos diferentes obtenidos de una lámina de PVC, perforada y montada en el cuerpo principal. Si se producen por separado, se pueden obtener a partir de una barra redonda de un material plástico o producir con todos los agujeros necesarios por medio de un procedimiento de moldeo. Se debe tener en cuenta la posibilidad de producir un disco y un cuerpo principal ya integrados en un solo ciclo de procesado. La producción de la carcasa protectora que rodea y protege el sistema de varillas y resortes requiere sustancialmente el corte de tuberías en un material plástico. Consta de dos partes: una mate inferior y una transparente superior para permitir el control del estado de los indicadores. La tubería inferior se desliza para garantizar el acceso a los extremos inferiores de las varillas y facilitar el acoplamiento de los hilos a colocar en el suelo. Los dos tubos se pueden producir también conectados entre sí o completamente independientes entre sí.

50 Dado el funcionamiento especial de las varillas, para hacerlas es posible usar radios de bicicleta comunes en acero inoxidable 18/8 adaptados al propósito por medio de una simple modificación del perfil de producción estándar. Es un detalle mecánico que ya tiene una configuración original particular en el extremo que es la solución ideal para acoplar la parte superior de los hilos (ojal). Para un uso correcto en el instrumento, solo es necesario hacer un ligero contraplegue en el extremo curvo del radio original. Dicho tipo de procesado se puede realizar simplemente reiniciando un parámetro de plegado del equipo de producción automático. El segundo pliegue sirve para asegurar que la fuerza de tracción ejercida sobre los filamentos actúa solo a lo largo del eje longitudinal de las varillas, reduciendo así al mínimo cualquier fuerza radial que pueda causar una fricción no deseada entre ellos y los discos

de guía. Dicho detalle mecánico, que es producido en masa en millones de artículos por muchas empresas nacionales y extranjeras, tiene un precio unitario insignificante y, por lo tanto, la adopción de esta solución evitaría los costes de la producción de varillas específicas.

5 Finalmente, se suministran con el extremo opuesto ya enhebrado, lo que asegura una fácil fijación de los indicadores coloreados.

Los indicadores están colocados en la parte superior de las varillas y están hechos de un material plástico coloreado. Al proporcionar a los indicadores pequeños imanes a insertar en su base superior, es posible operar microcontactos o sensores de efecto Hall que pertenecen a un circuito eléctrico de detección opcional alojado en la parte superior del instrumento como se describe a continuación.

10 Los hilos a colocar en el suelo están provistos de extremos que se pueden insertar en el instrumento de una manera rápida y sin necesidad de herramientas, como se ve en los dibujos. Para este propósito, se fija una esférula de un material plástico apropiado por medio de fundición a presión en un extremo y se fija un cilindro pequeño del mismo material en el otro extremo, en el que crea un ojal apropiado para acoplarse al extremo inferior de las varillas de acero. Tanto las esférulas como los cilindros están coloreados para permitir la identificación del tipo de hilo. Su producción se puede llevar a cabo por empresas especializadas en el moldeo de artículos de plástico para la industria del vestido, como etiquetas, etiquetas de marca, sellos, etc., que usualmente están presentes en la ropa nueva.

Para hilos de seda o algodón, han mostrado ser apropiados los siguientes tipos de fibras estándar:

- seda, TRE STELLE, art. 2624, "seta bozzolo reale", título n. 24;
- 20 • algodón, TRE STELLE, extra fuerte, título n. 16.

Después de la colocación de los hilos, las varillas se mantienen tensas por medio de resortes de acero inoxidable bloqueados con arandelas de tornillo. Los resortes son comúnmente producidos por compañías especializadas que los producen en serie a partir de modelos estándar o según el diseño del cliente. Las arandelas de tornillo están comúnmente disponibles en tamaños estándar, pero alternativamente es posible usar anillos de retención estándar más económicos con un diámetro pequeño para colocarlos a lo largo de las varillas de acero inoxidable en una posición tal que garantice la correcta compresión de los resortes.

El dispositivo termina en la parte superior con un elemento cilíndrico que sirve como mango para introducirlo en el suelo. En la versión con dispositivo electrónico, puede acomodar las baterías, la antena del módulo WSN, un receptor GPS, en su caso, un cronómetro y el interruptor de activación.

30 La parte superior del instrumento, justo debajo del mango, está provista de orificios de guía en los que los cilindros indicadores que son parte integral de las varillas se insertan después de la activación de los mismos. Una porción de ellos permanece visible, sin embargo, para permitir la verificación visual del estado de los hilos, por lo menos por una cierta distancia.

35 Sin embargo, si el dispositivo está provisto de un circuito electrónico detector, su forma y dimensiones se pueden cambiar en la fase de producción en base a las dimensiones totales reales de dicho circuito. Dicho circuito opcional debe estar dedicado a la detección electrónica del estado de los indicadores por medio de la lectura del estado encendido/apagado de los microcontactos (por ejemplo, contactos Reed o sensores Hall), operados por los imanes de los que están provistos los indicadores y colocados en una posición apropiada dentro de la estructura misma.

40 Los componentes electrónicos usados para este instrumento, además de detectar el estado de los indicadores, proporcionan el almacenamiento de un código de identificación (ID, que se establecerá por medio de una utilidad de software) y los datos de un circuito RTC (reloj de tiempo real) que suministra el dato de fecha (dd-hh-mm).

45 Usando un microprocesador, dicho sistema electrónico hace posible implementar otras funciones útiles en el dispositivo, como la determinación autónoma de la posición por medio de un módulo GPS de bajo coste o la interfase con un módulo LOC (Laboratory on Chip) y sensores para medir la temperatura del suelo/biomasa, la humedad, los gases desprendidos, etc.

50 En particular, el módulo LOC, que es el producto de la evolución de la microelectrónica y está disponible a precios aceptables, permitiría llevar a cabo análisis químicos directamente in situ de los metabolitos gaseosos producidos por los microorganismos presentes en el sustrato activo (H₂, H₂S, CO₂, CH₄, C₂H₄, NO, N₂O, NH₃, CH₄, etc.) que a continuación se traduce en la posibilidad de seguir la evolución del sustrato a lo largo del tiempo, integrando los datos suministrados con los datos de tiempo del módulo RTC y los parámetros de temperatura/humedad. Los módulos LOC para llevar a cabo varios tipos de análisis ya están disponibles en el mercado.

Los componentes electrónicos provistos en el dispositivo se completan con un módulo WSN (Wireless Sensor Network) destinado a mantener las comunicaciones remotas inalámbricas con la estación receptora (supervisor/coordinador de WSN) interconectada con un PC.

- La recogida remota de datos recibidos de instrumentos/sensores requiere su procesado con un software de aplicación que debe inicializar toda la red de dispositivos presentes en el campo y verificar periódicamente su estado para el procesado de datos apropiado necesario para la representación final, es decir, representación gráfica en un monitor de la dinámica microbiana en el suelo o en los otros objetivos que se analizan. Esta presentación se debe llevar a cabo de forma que proporcione una visión concisa y racional de la situación detectada por los sensores a los usuarios, independientemente de si son especialistas o agricultores. Usando versiones más avanzadas del dispositivo sería posible dotar al territorio de una especie de sistema nervioso capaz de monitorizar constantemente la dinámica microbiológica, aportando nuevos conocimientos que pueden ser un soporte a la hora de tomar las decisiones agronómicas y de gestión más apropiadas.
- 5
- 10 Un ensayo que implicaba 10 viñedos muestra claramente que el método propuesto por la invención se puede aplicar para la evaluación del nivel de actividad microbiana y de la consiguiente fertilidad del suelo, incluso desde el punto de vista de rendimiento de la uva. La siguiente tabla resume los datos de correlación entre los parámetros de biodegradación del hilo y la sustancia orgánica, la relación C/N y la productividad en quintales de uvas cosechadas.
- 15 Los contenidos de sustancia orgánica a 0-30 cm se correlacionan con la degradación del hilo de seda de control, mientras que los contenidos a 30-60 cm presentan correlaciones significativas con la degradación tanto del algodón tratado con nitrógeno como de la seda de control. También la relación C/N a 0-30 cm se correlaciona con la degradación del hilo de seda de control mientras que la relación C/N a 30-60 cm presenta correlaciones significativas tanto con la degradación del algodón tratado con nitrógeno como con la seda de control. La productividad ha mostrado estar correlacionada con la degradación del algodón y la seda en los ensayos de control y del algodón tratado con nitrógeno. Se ha encontrado que los coeficientes de correlación más altos existen entre la
- 20 relación C/N a 30-60 cm y la degradación de la seda en el ensayo de control.

Tabla. Correlaciones entre la actividad microbiana (% de degradación de los filamentos), sustancia orgánica, relación C/N y productividad (* p <0,05; ** p <0,01; ns.: no significativa).

	Degradación del algodón			Degradación de la seda		
	Control	Nitrógeno	Fósforo	Control	Nitrógeno	Fósforo
Sustancia orgánica (0-30 cm)	ns	ns	ns	0,650*	ns	nss
Sustancia orgánica (30-60 cm)	ns	0,667*	ns	0,706*	ns	ns
Relación C/N (0-30 cm)	ns	ns	ns	0,747**	ns	ns
Relación C/N (30-60 cm)	ns	0,733**	ns	0,803**	ns	ns
Productividad	0,774**	0,697*	ns	0,792**	ns	ns

- 25 El análisis muestra claramente cómo la degradación de la seda y el algodón se pueden convertir en un índice útil de la actividad microbiana y fertilidad del suelo.

Cuando las características técnicas mencionadas en cualquier reivindicación van seguidas de signos de referencia, esos signos de referencia se han incluido con el único propósito de incrementar la inteligibilidad de las reivindicaciones y, en consecuencia, tales signos de referencia no tienen ningún efecto limitante sobre la protección de cada elemento identificado a modo de ejemplo por tales signos de referencia.

30

REIVINDICACIONES

1. Un método para evaluar el nivel de actividad microbiana de un sustrato (9), preferentemente suelo, que comprende las siguientes etapas:
 - a) preparar uno o más hilos (8) biodegradables;
 - 5 b) tensar dicho uno o más hilos (8) biodegradables con una tensión predefinida;
 - c) introducir dicho uno o más hilos (8) biodegradables tensados por lo menos parcialmente en dicho sustrato (9);
 - d) dejar dicho uno o más hilos (8) biodegradables tensados en dicho sustrato (9); y
 - e) medir el tiempo transcurrido desde la introducción de dicho uno o más hilos (8) biodegradables tensados en dicho sustrato (9) hasta la rotura de dicho uno o más hilos (8) biodegradables tensados.
- 10 2. Un método según la reivindicación 1, caracterizado por el hecho de que por lo menos dos hilos de dicho uno o más hilos biodegradables están hechos de un material diferente.
3. Un método según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por el hecho de que dicho uno o más hilos (8) biodegradables son de origen proteico o vegetal, preferentemente de algodón o seda.
- 15 4. Un método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por el hecho de que para por lo menos uno de dicho uno o más hilos (8) biodegradables hay por lo menos otro hilo (8) biodegradable hecho de un material idéntico provisto de por lo menos una sustancia fertilizante y por el hecho de que comprende la etapa de determinar la falta o el exceso de esta sustancia fertilizante en dicho sustrato (9) mediante la comparación del tiempo de ruptura de estos dos hilos (8).
- 20 5. Un método según la reivindicación 4, caracterizado por el hecho de que dicha sustancia fertilizante se selecciona del grupo constituido por fuentes minerales de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre y otros meso- y micro-elementos.
- 25 6. Un dispositivo (1) para evaluar el nivel de actividad microbiana de un sustrato (9) que comprende uno o más hilos (8) biodegradables y para cada hilo biodegradable un primer elemento (12) de fijación apropiado para fijar un extremo de dicho hilo (8) biodegradable y un segundo elemento (20) de fijación apropiado para fijar el otro extremo de dicho hilo (8) biodegradable, entre los cuales cada hilo (8) biodegradable se puede tensar independientemente con una tensión predefinida, y un indicador (24) apropiado para señalar la rotura del hilo (8).
7. Un dispositivo (1) según la reivindicación 6, caracterizado por el hecho de que también comprende uno o más elementos (32) tensores apropiados para ejercer una fuerza de tracción dada sobre dicho uno o más hilos (8) biodegradables para obtener dicha tensión predefinida de dichos hilos (8).
- 30 8. Un dispositivo (1) según la reivindicación 6 o 7, caracterizado por el hecho de que para por lo menos un hilo (8) biodegradable hay por lo menos otro hilo (8) biodegradable hecho de un material idéntico provisto de por lo menos una sustancia fertilizante y/o por el hecho de que hay por lo menos dos hilos biodegradables hechos de un material diferente.
- 35 9. Un dispositivo (1) según la reivindicación 7 u 8, caracterizado por el hecho de que dicho segundo elemento (20) de fijación se puede mover con respecto a dicho primer elemento (12) de fijación, y por el hecho de que dicho elemento tensor es un resorte (32) que ejerce dicha fuerza de tracción sobre dicho segundo elemento (20) de fijación de modo que un hilo (8) biodegradable atado entre los dos elementos de fijación (12, 20) carga el resorte (32) que, en caso de rotura del hilo (8), aleja el segundo elemento (20) de fijación del primer elemento de fijación (12) que vuelve a su posición de descargado.
- 40 10. Un dispositivo (1) según la reivindicación 9, caracterizado por el hecho de que dicho indicador (24) es una parte integral y por lo tanto móvil de dicho segundo elemento (20) de fijación y por lo tanto apropiado para señalar cualquier rotura del hilo (8) por medio de su posición.
- 45 11. Un dispositivo (1) según la reivindicación 10, caracterizado por el hecho de que la estructura base de dicho dispositivo es una barra (2) que para cada hilo (8) biodegradable está provista en su parte inferior de dicho primer elemento (12) de fijación y, separada axialmente de dicho primer elemento (12) de fijación, con un elemento (28) de separación que aloja, en una forma axialmente móvil para cada hilo (8), una varilla (22) cuyo primer extremo, que está en el lado del elemento de separación (28) orientado hacia el primer elemento de fijación (12), está provisto de dicho segundo elemento de fijación (20) y a lo largo de cuya longitud, en el otro lado del elemento de separación (28), hay un espaciador (30) que es una parte integral de dicha varilla (22), y en el que dicho resorte (32) está insertado coaxialmente en dicha varilla (22) contenido entre dicho espaciador (30) y dicho elemento de separación (28), de tal manera que fijar dicho hilo (8) entre dicho primer (12) y dicho segundo (20) elemento de fijación quiere decir tensar el hilo (8) y comprimir el resorte (32) entre el espaciador (30) y el elemento (28) de separación, y en caso de rotura del hilo (8) el resorte (32) se expande, moviendo de este modo la varilla (22) cuyo segundo extremo
- 50

es dicho indicador (24) que moviéndose junto con la varilla señala la rotura del hilo (8) por medio de su nueva posición.

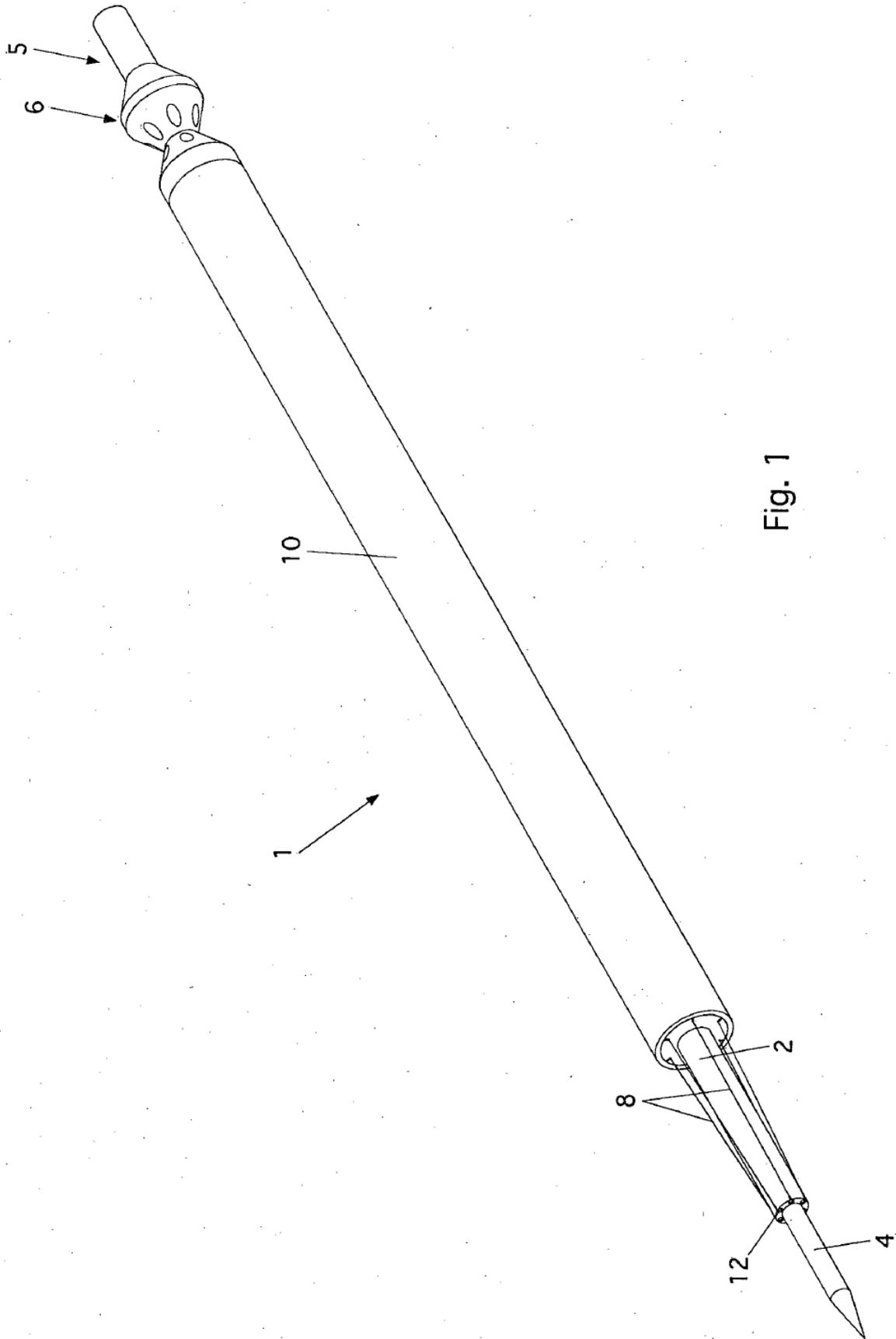


Fig. 1

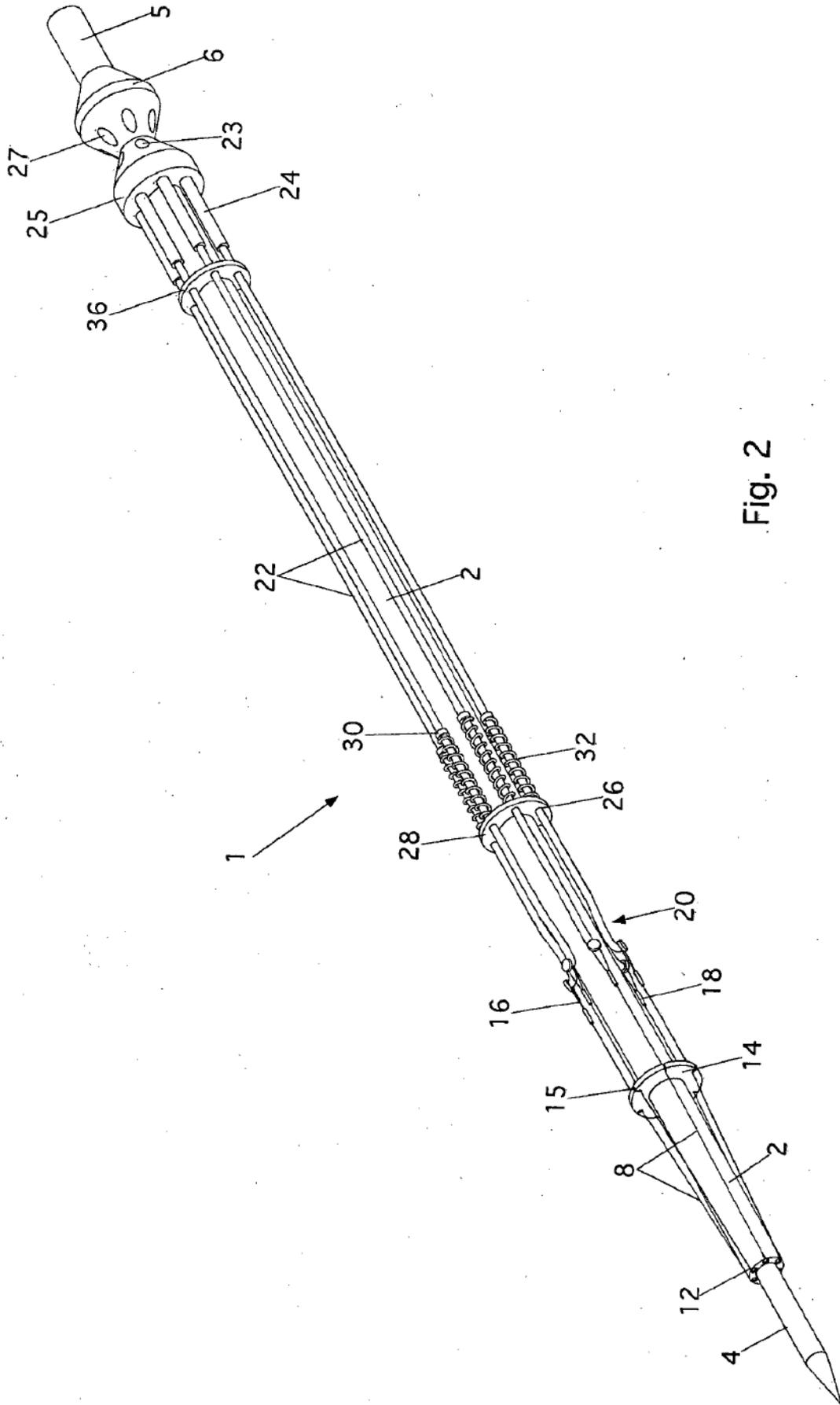


Fig. 2

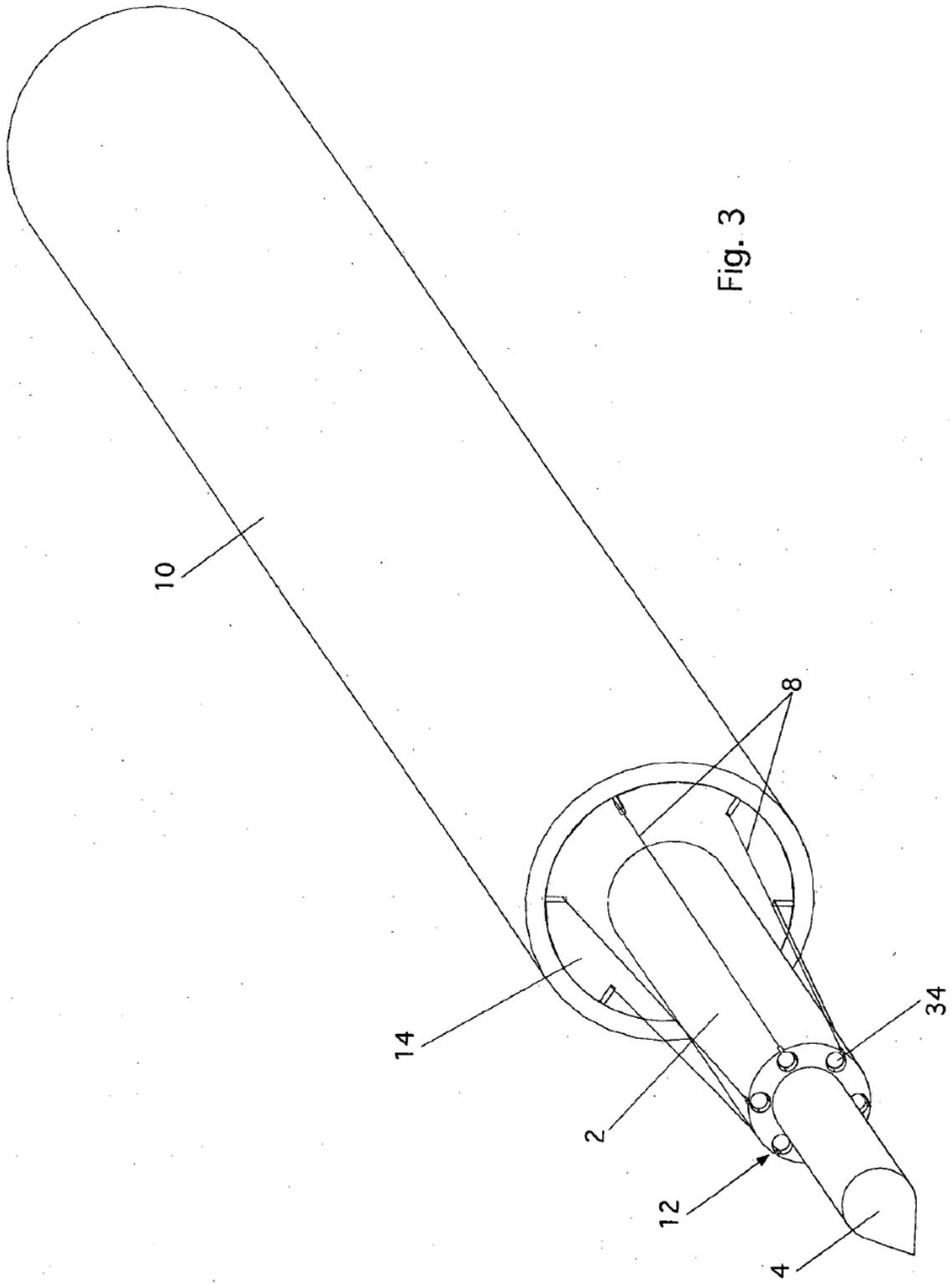


Fig. 3

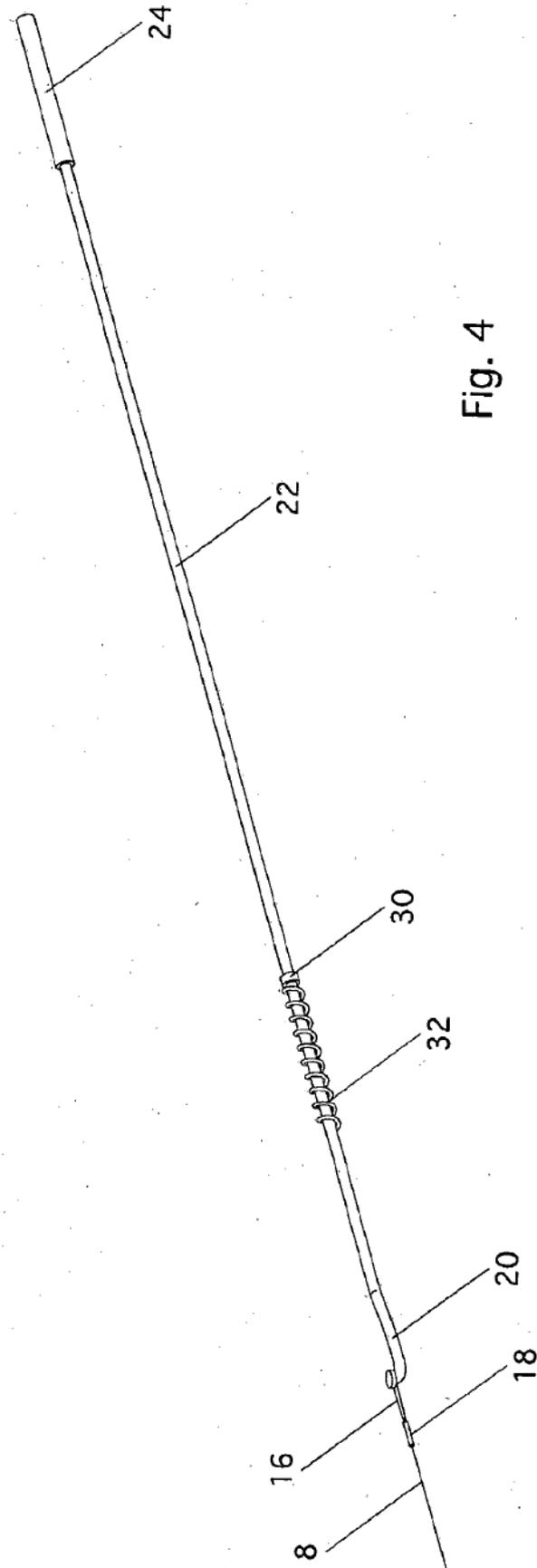


Fig. 4

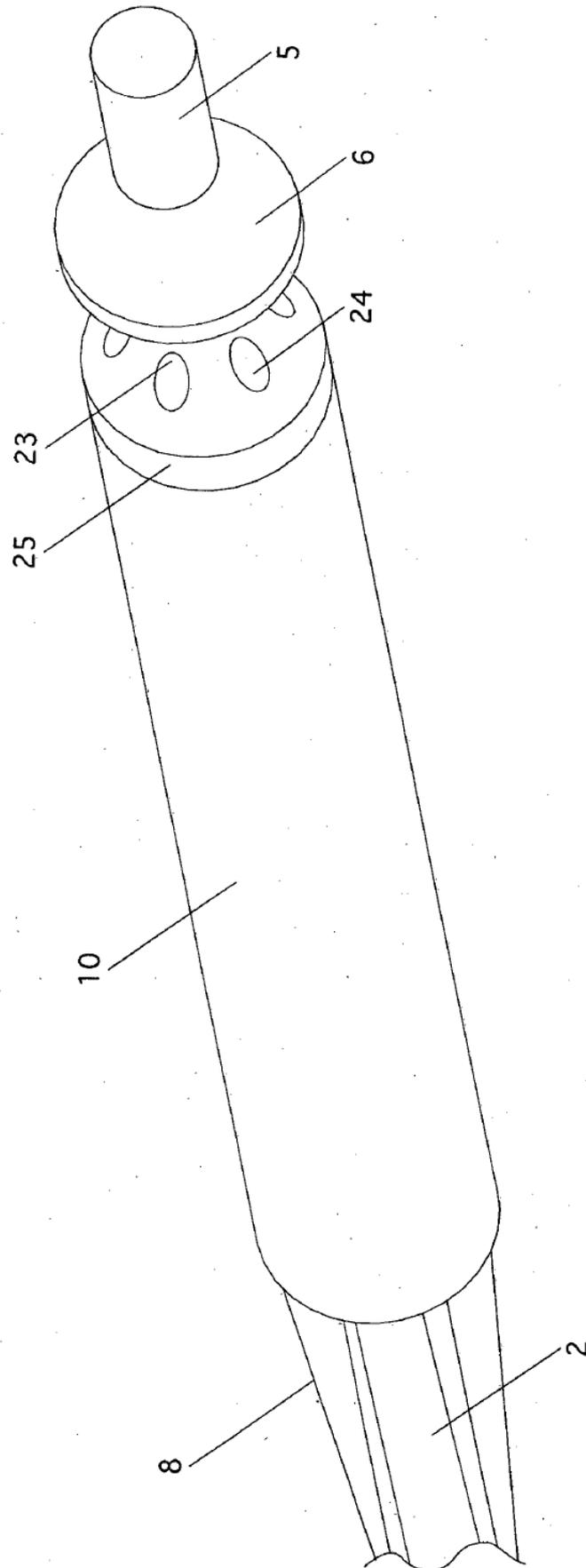


Fig. 5

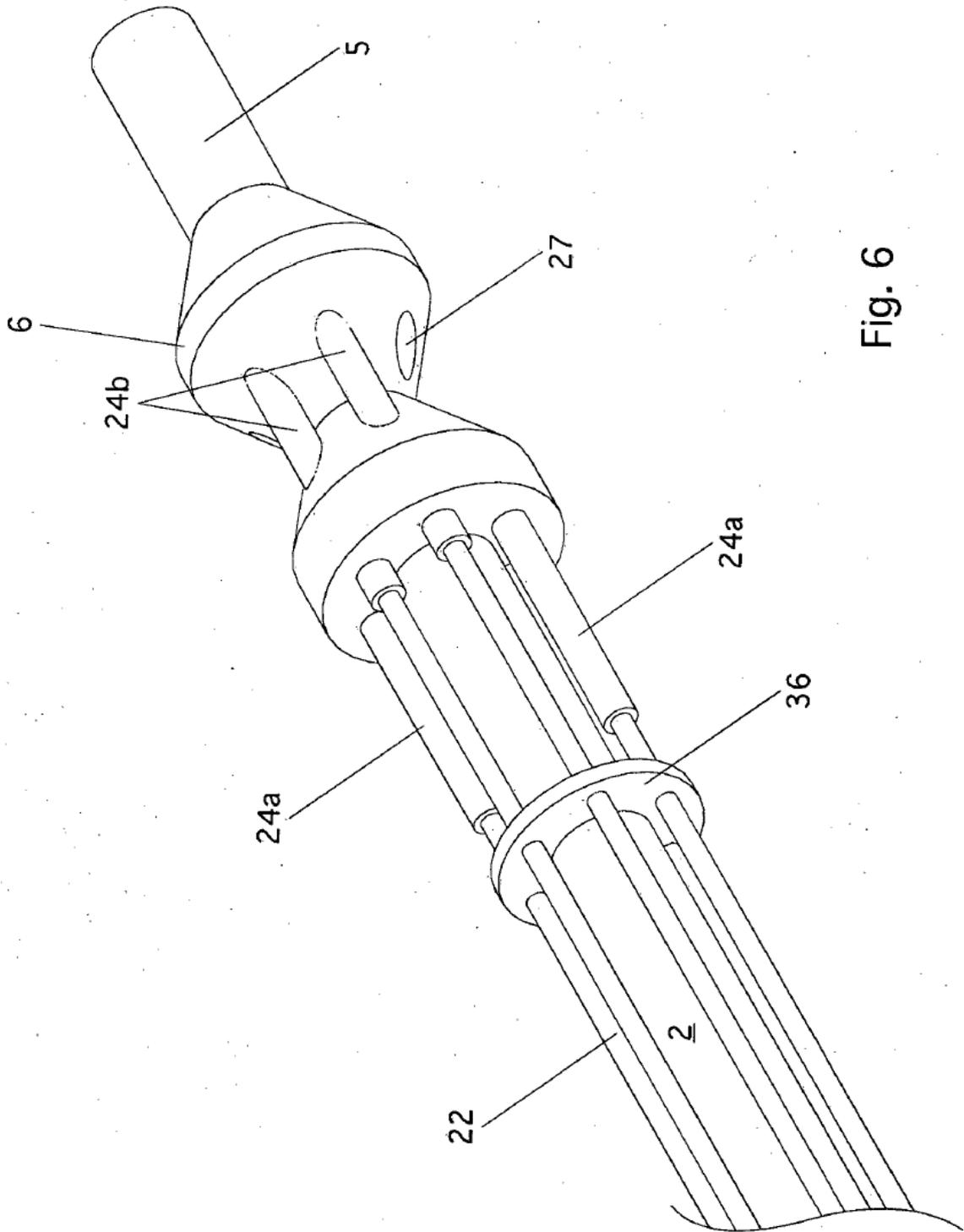


Fig. 6

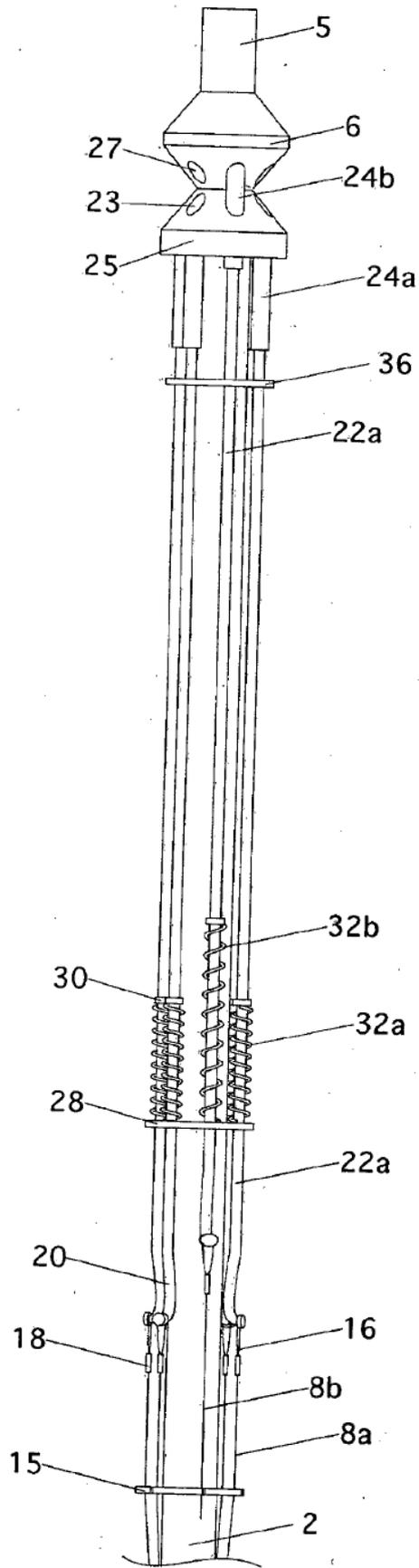


Fig. 7

