



GES & TLC Biotecnología Aplicada, S.A. de C.V.
Proveemos las Soluciones Ambientales del Mañana, ¡HOY!

ANEXO 2

Evidencia Técnica Bibliografica que Explica por qué las Bacterias Nitrificantes deben ser Líquidas, NO pueden ser exitosamente Pelitizadas (hechas Pastilla) o Liofilizadas (hechas polvo)

De la página web de Fritz: <http://www.fritzpet.com/fritz-zyme-lab-test/>

Many companies package spore-forming Bacillus bacteria and claim that the bottle contains nitrifiers. These products always have a long shelf-life (greater than 7 months). Since true nitrifiers are not spore-forming, products containing true nitrifiers always have a short shelf life. In this way, it is easy to determine when an "imposter bacteria" is masquerading as a nitrifier; it will either not have a posted shelf life, or the shelf life will be longer than 7 months. All dry product formulations claiming to contain nitrifiers use blatant false advertising. These products consist of sludge-eaters in their spore stage. Dry formulas can NOT contain nitrifiers; since true nitrifiers are not spore forming, they cannot be dried into powdered products. Any microbiologist will confirm this fact. Nitrifiers cannot survive the drying or freeze-drying process; they will not maintain any valuable culture or inoculate.

Muchas compañías empaacan bacterias formadoras de esporas de Bacillus y afirman que el empaque contiene bacterias nitrificantes. Estos productos tienen siempre una larga vida útil (más de 7 meses). Debido a que las verdaderas bacterias nitrificantes no forman esporas, los productos que contengan verdaderas bacterias nitrificantes siempre tendrán una vida útil corta. De esta manera, es fácil determinar cuándo "bacterias impostoras" se pretenden hacer pasar por una bacteria nitrificante, no publicarán su vida de anaquel, o bien mencionarán una vida útil de más de 7 meses. Todas las formulaciones de productos secos que dicen contener bacterias nitrificantes utilizan descaradamente falsa publicidad. Estos productos están compuestos de digestoras de lodos en su fase de esporas. Las fórmulas secas no pueden contener bacterias nitrificantes, ya que verdaderos nitrificantes no forman esporas, no pueden secarse en productos en polvo. Cualquier microbiólogo confirmará este hecho. Las bacterias nitrificantes no pueden sobrevivir el proceso de secado o liofilización, no mantendrán ningún cultivo o inocular valioso.

De la página web de BioCon Labs: <http://www.bioconlabs.com/autoheterobac.html>

Heterotrophic bacteria can be either gram-positive (ex: Bacillus) or gram-negative (ex: Pseudomonas). Some are strictly aerobic, but many are facultative anaerobes (they can survive in both the presence or absence of oxygen). Many species tolerate a wide range of environmental conditions: temperature, pH, salinity, etc.

They can also survive adverse conditions by forming spores, increasing the shelf life of the products. Because of this ability, they can be dried, packaged, and sold as viable cultures. Nitrifying bacteria do not form spores and cannot survive drying. This process kills the bacteria leaving no viable bacteria which might inoculate another culture. It has been debated whether or not nitrifying bacteria could survive freeze drying, but, even this is doubtful.

Las bacterias heterótrofas pueden ser gram-positivas (por ejemplo: Bacillus) o gram-negativas (ej: Pseudomonas). Algunas son estrictamente aeróbicas, pero muchas son anaerobios facultativos (que



GES & TLC Biotecnología Aplicada, S.A. de C.V.
Proveemos las Soluciones Ambientales del Mañana, ¡HOY!

pueden sobrevivir con la presencia o la ausencia de oxígeno). Muchas especies toleran una amplia gama de condiciones ambientales: temperatura, pH, salinidad, etc.

También pueden sobrevivir a las condiciones adversas mediante la formación de esporas, aumentando de la vida útil de los productos. Debido a esta capacidad, pueden ser secados, envasados, y vendidos como cultivos viables. Las bacterias nitrificantes no forman esporas y no pueden sobrevivir el secado. Este proceso mata a las bacterias dejando ninguna bacteria viable que pueda inocular otro cultivo. Se ha debatido si las bacterias nitrificantes pueden sobrevivir la liofilización, pero esto aún es dudoso.

Fact that the American Type Culture Collection (ATCC), a very authoritative source, ships the bacillus bacteria as freeze dried, but send nitrifying bacteria as liquid frozen samples:

Hecho de que la American Type Culture Collection (ATCC), una fuente muy fidedigna, envía la bacteria Bacillus como liofilizado, pero envía las bacterias nitrificantes como muestras congeladas líquidas:

***Nitrosomonas europaea* Winogradsky (ATCC® 19718™)**

ATCC® Number: 19718™

Type Strain: *no*

Biosafety Level: *1*

Product Format: *frozen*

***Nitrobacter winogradskyi* Winslow et al. (ATCC® 25391™)**

ATCC® Number: 25391™

Strain Designations: *Nb-255 [1]*

Type Strain: *yes*

Biosafety Level: *1*

Product Format: *frozen*

However, it ships the other bacteria in freeze dried form:

***Bacillus amyloliquefaciens* (Fukumoto) Priest et al. (ATCC® 23350™)**

ATCC® Number: 23350™

Strain Designations: *F [IFO 15535]*

Type Strain: *yes*

Biosafety Level: *1*

Product Format: *freeze-dried*

***Bacillus licheniformis* (Weigmann) Chester (ATCC® 14580™)**

ATCC® Number: 14580™

Strain Designations: *[46, NCIB 9375, NCTC 10341, NRS 1264]*

Type Strain: *yes*

Biosafety Level: *1*

Product Format: *freeze-dried*



GES & TLC Biotecnología Aplicada, S.A. de C.V.
Proveemos las Soluciones Ambientales del Mañana, ¡HOY!

***Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn (ATCC® 21556™)**

ATCC® Number: 21556™

Type Strain: *no*

Biosafety Level: *1*

Product Format: *freeze-dried*

We have tested every freeze dried and pelleted products on the market, and none of them nitrify.

Hemos probado todos los productos liofilizados y peletizados en el mercado, y ninguno de ellos nitrifica.

It is generally accepted in the literature that nitrifying bacteria do not survive freeze drying

Es generalmente aceptado en la literatura que las bacterias nitrificantes no pueden sobrevivir el proceso de liofilización o peletizado.

Even other manufacturers state this (Fritz and BioCon)

Otros productores afirman lo mismo (Fritz and BioCon)

And the ATCC, the most authoritative site in the world for bacterial collections, ships nitrifying bacteria as frozen liquid samples, while it ships other bacteria as freeze dried. This is further proof

Y la ATCC, el sitio de mayor autoridad en el mundo en el cultivo de bacterias, envía las bacterias nitrificantes como muestras líquidas congeladas, mientras que envía otras bacterias liofilizadas. Esta es una prueba más.

And ultimately, the freeze dried bacteria can easily be proven not to nitrify or contain nitrifying bacteria.

Y en última instancia, se puede demostrar fácilmente que las bacterias liofilizadas o paletizadas no pueden nitrificar o contener bacterias nitrificantes.

ATENTAMENTE

LIC. NEIL DÁVILA PEÑA
DIRECTOR GENERAL