



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA

TESIS DOCTORAL

LAURA GARCÍA-ESPAÑA SORIANO

TESIS DOCTORAL

Compostaje y vermicompostaje de residuos agrícolas. Su papel en la eliminación de fármacos en el sistema suelo-planta y sobre el desarrollo vegetal

Doctorado en Contaminación, Toxicología y Sanidad Ambientales.



Facultad de Farmacia
Departamento de Biología Vegetal

LAURA GARCÍA-ESPAÑA SORIANO

Dirigida por Dr D. Rafael Boluda Hernández

VALÈNCIA, JULIO 2020

2020



VNIVERSITAT
D VALÈNCIA

Facultad de Farmacia

Departamento de Biología Vegetal

**Compostaje y vermicompostaje de residuos agrícolas. Su papel
en la eliminación de fármacos en el sistema suelo-planta y
sobre el desarrollo vegetal**

Tesis Doctoral presentada por

Dña. Laura García-España Soriano

para optar al grado de doctor por la Universitat de València

Programa de Doctorado en Contaminación, Toxicología y Sanidad Ambientales

Dirigida por Dr D. Rafael Boluda Hernández

VALÈNCIA, Julio 2020

Dr. Rafael Boluda Hernández, Catedrático de Edafología y Química Agrícola del Departamento de Biología Vegetal de la Universitat de València

CERTIFICA: que la investigación del presente trabajo titulado *“Compostaje y vermicompostaje de residuos agrícolas. Su papel en la eliminación de fármacos, en el desarrollo vegetal y el sistema suelo-planta”*, presentado para optar al grado de Doctora por la Universitat de València, ha sido realizado bajo su dirección por la Licenciada en Biotecnología, Laura García-España Soriano, en la Unidad de Investigación Suelos, Residuos y Medio Ambiente del Dpto. de Biología Vegetal de la Facultad de Farmacia de la Universitat de València.



A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized initial 'R' followed by several loops and a long horizontal stroke.

Fdo. Dr. Rafael Boluda Hernández

Agradecimientos:

A mi director, el Dr. Rafael Boluda Hernández por el apoyo técnico y científico y la inestimable ayuda prestada para la realización de esta Tesis Doctoral.

A la Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural de la GVA, contrato OTR2016-16953INVES y proyecto ACOMP/2013/153, por su contribución a la financiación, en parte, de este trabajo.

A los miembros de los Departamento de Biología Vegetal y Producción Vegetal, por poner a mi disposición instalaciones, criaderos, invernaderos y laboratorios para la realización de esta tesis. Al servicio de metagenómica de la Universitat de Valencia por la ayuda en el estudio de secuenciación de los compost y vermicompost Al personal técnico de los Departamentos de Producción Vegetal y Biología Vegetal, al Servicio General de Apoyo a la Investigación y al Servicio de Microscopía, por su gran ayuda tanto en los análisis convencionales como en las técnicas de HPLC/MS/MS y de microscopía, IR y RMN. A Dr. Joaquín Moreno de la Universidad de Almería y la Dra. Pilar Santamarina de la Universitat Politècnica de València, por sus instrucciones y colaboración en el estudio de la supresividad de patógenos.

A todos mis compañeros del Master y del laboratorio por las horas de trabajo conjuntas, por su colaboración, ayuda y compañía durante estos años de trabajo.

A todos los que con su apoyo, ayuda y dedicación han hecho posible este trabajo

ÍNDICE GENERAL

1.Introducción	1
1.1. Origen, problemática y características de los residuos agrícolas en el área mediterránea.....	1
1.2. Origen, problemática y características de los lodos de depuradora en el área mediterránea.....	7
1.2.1. Metales en lodos de depuradora.....	15
1.2.2. Contaminantes emergentes.....	17
1.3. Tratamiento y aprovechamiento de residuos por compostaje y vermicompostaje.....	21
1.3.1. Compost y vermicompost como enmienda orgánica.....	26
1.4. El suelo como receptor y depurador de los biorresiduos.....	27
1.4.1. Transformación de la materia orgánica.....	29
1.4.2. Factores que influyen en la transformación de la materia orgánica del suelo.....	30
1.5. Los residuos y la Economía circular.....	36
2. Objetivos.....	43
3. Materiales y métodos	44
3.1. Experimentos de compostaje y vermicompostaje con biorresiduos.....	44
3.1.1. Diseño del experimento 1: Compostaje y vermicompostaje de residuos de maíz, higuera y cítrico.....	44
3.1.2. Diseño del experimento 2: Compostaje y vermicompostaje para eliminar medicamentos procedentes de lodos de depuradora.....	48
3.1.3. Diseño del experimento 3: Efecto del compost y vermicompost sobre la degradación de medicamentos en el suelo y la absorción por la planta.....	52
3.2. Métodos de análisis.....	56
3.2.1. Muestreo y preparación de las muestras	56
3.2.2. Métodos de análisis convencionales. Valoración de parámetros físicos, químicos y biológicos en los residuos transformados por compostaje y vermicompostaje.....	59
3.3. Métodos espectroscópicos. Técnicas espectroscópicas FTIR y RMN.....	63
3.4. Índices biológicos	65

3.5. Análisis Metagenómico. Extracción y secuenciación de ADN. Metagenómica y análisis secuencial.....	69
3.6. Determinación del efecto supresivo	71
3.7. Evaluación de los compost y vermicompost como sustratos.....	74
3.8. Extracción y degradación de medicamentos en el suelo y absorción por la planta. Análisis de la concentración de medicamentos	74
3.9. Análisis estadístico de los datos.....	78
4. Resultados y discusión.....	79
4.1. Estudio del efecto de los procesos de compostaje y vermicompostaje como técnicas de tratamiento para el reciclado y la valorización de los biorresiduos.....	79
4.1.1. Caracterización de los residuos, compost y vermicompost.....	79
4.1.2. Índices físicos de valoración para los compost y vermicompost.....	83
4.1.3. Índices químicos de valoración para los compost y vermicompost.....	89
4.1.4. Otros métodos químicos aplicados a la valoración de los compost y vermicompost.....	97
4.1.5. Índices biológicos de evaluación de la madurez de los productos obtenidos.....	104
4.2. Caracterización metanogenómica de los residuos transformados mediante compostaje o vermicompostaje.....	108
4.2.1. Análisis metagenómico de los productos orgánicos obtenidos con los residuos mediante compostaje y vermicompostaje	109
4.2.1.1. Dominio <i>Archaea</i>	110
4.2.1.2. Dominio <i>bacteria</i>	112
4.2.1.3. Dominio hongos.....	120
4.2.1.4. Relaciones entre el porcentaje de frecuencias relativas de <i>Archeas</i> , bacterias y hongos con los parámetros físicos, químicos y biológicos de los residuos transformados mediante compostaje o vermicompostaje.....	128
4.3. Estudio supresividad de los productos obtenidos.....	133
4.4. Aplicación de los productos para su utilización como sustratos: efecto de los compost y vermicompost sobre el desarrollo de plantas aromáticas.....	140
4.4.1. Efectos sobre la morfología de la planta.....	141
4.4.2. Estudio estadístico de los parámetros físicos, químicos, biológicos y del desarrollo vegetal.....	153
4.5. Evaluación del proceso de compostaje y vermicompostaje como técnicas de tratamiento de residuos para la eliminación de medicamentos presentes en lodos de depuradora	166

4.5.1. Evolución de los parámetros durante el compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodos de depuradora con los medicamentos adicionados.....	167
4.5.2. Evolución de la eliminación de medicamentos durante los proceso de compostaje y vermicompostaje.....	188
4.5.3. Efecto de los compost y vermicompost sobre la degradación de medicamentos en el suelo y la absorción por la planta.....	198
4.5.3.1. Efecto de los compost y vermicompost sobre la degradación de medicamentos en el suelo	199
4.5.3.2. Efecto de los compost y vermicompost sobre la degradación de medicamentos en la absorción por la planta.....	200
4.5.3.3. Resultados de la relación RCF (relación de la concentración de medicamentos entre la raíz y el suelo (Croot/Csoil).....	215
5. Conclusiones.....	220
6. Bibliografía.....	223

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Clasificación de los residuos agrícolas según la Lista Europea de Residuos (LER).....	2
Tabla 1.2. Composición de algunos residuos agrícolas	6
Tabla 1.3. Clasificación de lodos de depuradora.....	8
Tabla 1.4. Tipos de los lodos en función del tratamiento	13
Tabla 1.5. Características de los lodos de depuradora.....	14
Tabla 1.6. Utilización y destino de los lodos	14
Tabla 1.7. Contenido medio de metales pesados (mg.kg^{-1}) en lodos de depuradora de algunas comarcas valencianas	17
Tabla 1.8. Algunos compuestos orgánicos detectados en aguas residuales (AR), aguas depuradas (AD), fracción sólida (FS) y lodos de depuradoras (LD) de estaciones de tratamiento de aguas residuales (EDARs) valencianas. La concentración de los compuestos en la fracción líquida se da en $\mu\text{g L}^{-1}$ y en la fracción sólida en $\mu\text{g kg}^{-1}$ de materia seca	20
Tabla 1.9. Requisitos para enmiendas orgánicas del grupo 6	26
Tabla 1.10. Factores que influyen sobre la transformación de la materia orgánica.....	31
Tabla 1.11. Carbono en suelos según modelos ecológicos.....	33
Tabla 1.12. Factores que afectan a la transformación de la materia orgánica en el suelo.....	35
Tabla 3.1.1. Organización del trabajo de campo y metodología de laboratorio en el experimento 1.....	48
Tabla 3.1.2. Características de los productos farmacéuticos utilizados Descripción de las formulaciones comerciales de cada fármaco añadido a las mezclas iniciales.....	49
Tabla 3.1.3. Organización del trabajo de campo y de laboratorio en el experimento 2.....	52
Tabla 3.1.4. Características del suelo utilizado en la experiencia.....	54
Tabla 3.1.5. Preparación de las muestras.....	55
Tabla 3.1.6. Características de los productos farmacéuticos utilizados.....	55
Tabla 3.1.7. Descripción de las formulaciones comerciales de cada fármaco utilizado en las mezclas iniciales.....	56
Tabla 3.1.8. Determinaciones de laboratorio realizadas en el experimento 3.....	56

Tabla 3.1.9. Condiciones de optimización del HPLC/MS/MS.....	77
Tabla 4.1.1. Caracterización analítica de los residuos agrícolas (entre paréntesis se indica la desviación estándar, n=3).....	81
Tabla 4.1.2. Manejo de los residuos y algunas características de las mezclas (entre paréntesis se indica la desviación estándar, n=3) (RA residuo agrícola, RC estiércol de conejo).....	81
Tabla 4.1.3. Características de los compost obtenidos (entre paréntesis se indica la desviación estándar, n=3).....	82
Tabla 4.1.4. Características físicas y químicas de los vermicompost obtenidos (entre paréntesis se indica la desviación estándar, n=3).....	83
Tabla 4.1.5. Temperaturas máximas obtenidas en las fases termófilas y de maduración.....	85
Tabla 4.1.6. Valores de la DQO de las mezclas de los compost y vermicompost obtenidos (Valor medio y desviación estándar).....	96
Tabla 4.1.7. Relación entre las principales bandas de absorción representativas de procesos de transformación en el compostaje.....	100
Tabla 4.1.8. Número de lombrices iniciales y finales en el experimento.....	105
Tabla 4.1.9. Valores de germinación obtenidos en los ensayos de fitotoxicidad..	106
Tabla 4.1.10. Resultados de análisis de actividad enzimática método API.....	107
Tabla 4.3.1. Tipos de materiales usados en la bibliografía para compostar y el patógeno al que afectan.....	139
Tabla 4.4.1. Matriz de correlación de las variables correspondientes a las propiedades físicas y químicas estudiadas de los productos obtenidos en compostaje y vermicompostaje **P< 0,01, *P< 0,05	155
Tabla 4.4.2. Matriz de correlación de las variables correspondientes a las propiedades físicas y químicas con el estudio de la morfología de la planta de <i>Rosmarinus officinalis</i> **P< 0,01, *P< 0,05.....	156
Tabla 4.4.3. Matriz de correlación de las variables correspondientes a las propiedades físicas y químicas con el estudio de la morfología de la planta de <i>Mentha spicata</i> **P< 0,01, *P< 0,05.....	157
Tabla 4.4.4. Matriz de correlación de las variables correspondientes a las propiedades físicas y químicas estudiadas con los resultados del estudio de la morfología de la planta de <i>Lavandula officinalis</i> **P< 0,01, *P< 0,05.....	158
Tabla 4.4.5. Valores medios y desviación estándar de los parámetros de crecimiento de <i>Lavandula officinalis</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Mentha spicata</i> . Resultado del análisis de la varianza (ANOVA) sobre la influencia del tratamiento (compost y vermicompost) y del tipo de residuo vegetal (cítrico, maíz, higuera), indicándose en negrita aquellos estadísticamente significativos.....	159
Tabla 4.4.6. Resultados del análisis de componentes principales aplicado al estudio de los parámetros de los compost y vermicompost de cítrico, maíz e higuera.....	163

Tabla 4.4.7. Matriz de componentes principales aplicado al estudio de los parámetros de los compost y vermicompost de cítrico, maíz e higuera.....	164
Tabla 4.5.1. Características de los residuos iniciales.....	167
Tabla 4.5.2. Características de los productos finales de los procesos de compostaje y vermicompostaje.....	168
Tabla 4.5.3. Actividad enzimática de las muestras obtenidas por compostaje y vermicompostaje.....	185
Tabla 4.5.4. Resumen de los resultados de la eliminación de medicamentos en los procesos.....	193

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Distribución de los residuos procedentes de diferentes cultivos en el año 2011 en el Mundo, Unión Europea (UE) y España	3
Figura 1.2. Diseño de una planta depuradora.....	12
Figura 1.3. Residuos municipales generados en el año 2017 en países de la Unión Europea. Eurostat, (2017).....	21
Figura 1.4. Etapas y evolución de la temperatura en los procesos de compostaje y vermicompostaje.....	24
Figura 1.5. Fracciones constituyentes de la materia orgánica del suelo (Kononova <i>et al.</i> , 1982).....	28
Figura 1.6. Modelos estructurales de la materia orgánica.....	28
Figura 1.7. Esquema simplificado de la transformación de la materia orgánica. Adaptado de Porta (1994).....	30
Figura 1.8. Transformación de las sustancias húmicas.....	30
Figura 1.9. Tasas descomposición de la materia orgánica.....	32
Figura 1.10. Factores que afectan a la transformación de la materia orgánica....	34
Figura 1.11. Jerarquía Europea en la Gestión de residuos.....	39
Figura 3.1.1. Residuos vegetales iniciales triturados: a) cítrico, b) higuera c) maíz.....	45
Figura 3.1.2. a) Trituradora, b) muestras trituradas, c) recipientes utilizados.....	45
Figura 3.1.3. Preparación de las muestras para compostaje y vermicompostaje. a) mezclado, b) humectación, c) introducción en recipientes, d) detalle del riego, e) rejillas de separación, f) colocación de rejillas.....	46
Figura 3.1.4. a) Lechos cubiertos de aislante para el desarrollo de lombrices, b) instalación de riego por aspersión.....	47
Figura 3.1.5. a) Lombrices <i>Eisenia foetida</i> , b) conteo de lombrices.....	47
Figura 3.1.6. a) Sustrato humus de lombriz, b) manipulación de las lombrices, c) lombrices de <i>Eisenia foetida</i>	47
Figura 3.1.7. Preparación de las mezclas de paja de arroz con lodos de depuradora.....	51
Figura 3.1.8. Preparación muestras para compostaje y vermicompostaje.....	51
Figura 3.1.9. Materiales para ensayo de desarrollo vegetal de <i>Lactuca sativa</i> , a) plántulas de <i>Lactuca</i> , b) planta al final del desarrollo, c) conjunto de muestras.....	53
Figura 3.1.10. Esquema de la adición de medicamentos en la planta.....	54
Figura 3.2.1. Muestras preparadas para su análisis.....	57
Figura 3.2.2. Sonda HD 8601P para la medida de la temperatura.....	57

Figura 3.2.3. Sensor de medida de la temperatura y humedad.....	57
Figura 3.2.4. Preparación de las muestras. a) material, b) <i>Sputtering</i> , c) baño de carbono, d) muestras tratadas con carbono, e) microscopio electrónico de barrido HITACHI mod. S-4100 con sistema de captación de imágenes EMIP 3.0 y sistema de microanálisis RONTEC f) cañón de emisión de campo con detector BSE AURATA.....	58
Figura 3.2.5. Microondas Mars, CEM Corp.....	60
Figura 3.3.1. Preparación de la muestra a) trituración de la muestra, b) prensa, c) pastilla de BrK, d) espectrofotómetro IR.....	64
Figura 3.3.2. Equipo Varian 400MHz a) generador de campo magnético, b) introducción de la muestra.....	65
Figura 3.4.1. Placas Petri a) preparadas para la siembra, b) con la disposición de las semillas.....	66
Figura 3.4.2. a) Pesado y b) agitado de las muestras.....	67
Figura 3.4.3. Adición de los a) extractos con micropipeta, b) Tiras API, c) Tablas de interpretación.....	68
Figura 3.4.4. Equipo de respirometría y sensor de lectura.....	69
Figura 3.5.1. a) Esquema electroforesis, b) análisis RFLPs, c) etapas en la técnica de PCR/ (Agrobiotecnología, 2017).....	70
Figura 3.6.1. Procedimiento para el aislamiento de bacterias y hongos. Ensayo de extractos de compost y vermicompost	72
Figura 3.6.2. a) Tubos de sedimentación, b) agitación de extractos y c) aplicación de extractos.....	73
Figura 3.8.1. Procedimiento de extracción método Quechers. Espectrómetro de-masa.....	75
Figura 4.1.1. Muestras de compost y vermicompost.....	86
Figura 4.1.2. Valores medios y desviación típica de a) % humedad, b) densidad g/cm ³ , c) %capacidad de retención de agua. CC: compost de cítrico; CM: compost de maíz; CH: compost de higuera; VC: vermicompost de cítrico; VM: vermicompost de maíz; VH: vermicompost de higuera.....	86
Figura 4.1.3. Fotografías MEB de las muestras de residuos iniciales y finales del proceso de compostaje y vermicompostaje.....	88
Figura 4.1.4. Valores medios y desviación típica de a) pH, b) CE, c) C total, d) relación C/N, e) P ₂ O ₅ , f) CIC	90
Figura 4.1.5. Macronutrientes presentes en los compost y vermicompost (CaO, K ₂ O, MgO, Na ₂ O). Valores medios y desviación típica en CC: compost de cítrico; CM: compost de maíz; CH: compost de higuera; VC: vermicompost de cítrico; VM: vermicompost de maíz; VH: vermicompost de higuera.....	94
Figura 4.1.6. Espectros FT-IR de las muestras de CC, CH, CM y VC, VH, VM.....	99
Figura 4.1.7. Espectros RMN de los vermicompost de VC, VM, VCH.....	102
Figura 4.1.8. Espectros RMN de los compost CC, CM, CH.....	103

Figura 4.1.9. Individuos de <i>Eiseric foetida</i> en los lechos.....	105
Figuras 4.2.1. Gen 23S rRNA aislado a) del compost CC, CM, CH y b) del vermicompost VC, VM, VH.....	109
Figura 4.2.2. Árbol de la vida de Woese (Winker and Woese, 1991).....	110
Figura 4.2.3. Esquema del dominio <i>Archaea</i>	111
Figura 4.2.4. Esquema del dominio bacteria.....	113
Figura 4.2.5. Curvas de rarefacción de las muestras amplificadas para la detección de bacterias.....	113
Figura 4.2.6. Porcentaje de frecuencia relativa a nivel de familia detectado en todas las muestras correspondientes a los perfiles de bacterias en el 16s rRNA.	114
Figura 4.2.7. Curvas de rarefacción de las muestras amplificadas para la detección de bacterias.....	115
Figura 4.2.8. Distribución de los filos <i>Archeae</i> y <i>Bacteriae</i> en las muestras.....	117
Figura 4.2.9. Ramas principales del reino de Fungi.....	120
Figura 4.2.10. Curva de rarefacción de las muestras amplificadas para la detección de hongos.....	121
Figura 4.2.11. Abundancia relativa en barras acumulativas comparando los géneros detectados en las muestras estudiadas CC, CM, CH, VC, VM, VH con los perfiles de hongos/levaduras basadas en el ITS del rRNA.....	123
Figura 4.2.12. Distribución de <i>Archaea</i> en las muestras de compost y vermicompost.....	125
Figura 4.2.13. Distribución de bacterias en las muestras de compost y vermicompost.....	127
Figura 4.2.14. Distribución de los hongos en las muestras de compost y vermicompost.....	128
Figura 4.2.15. Interpretación gráfica, en un espacio común, de las características de los sustratos en relación a la microbiota. CC, CH, CM compost y VC, VH, VM vermicompost de cítrico, higuera y maíz.....	130
Figura 4.3.1. Resultados del efecto de inhibición de los compost y vermicompost estudiados.....	138
Figura 4.3.1. (Cont.) Resultados del efecto de inhibición de los compost y vermicompost estudiados.....	139
Figura 4.4.1. Medida de la parte aérea y raíces de las plantas de lavanda desarrolladas sobre los vermicompost.....	142
Figura 4.4.2. Medida de la parte aérea y raíces de las plantas de lavanda desarrolladas sobre los compost.....	143
Figura 4.4.3. Medida de la parte aérea y raíces de las plantas de menta desarrolladas sobre los vermicompost de: VC: vermicompost de cítrico; VM: vermicompost de maíz; VH: vermicompost de higuera.....	144
Figura 4.4.4. Medida de la parte aérea y raíces de las plantas de romero desarrolladas sobre los vermicompost de: VC: vermicompost de cítrico; VM: vermicompost de maíz; VH: vermicompost de higuera.....	145

Figura 4.4.5. Medida de la parte aérea y raíces de las plantas de hierbabuena desarrolladas sobre los compost de CC: compost de cítrico; CM: compost de maíz; CH: compost de higuera.....	146
Figura 4.4.6. Medida de la parte aérea y raíces de las plantas de romero desarrolladas sobre los compost de CC: compost de cítrico; CM: compost de maíz; CH: compost de higuera.....	147
Figura 4.4.7. Valores medios de los índices de desarrollo vegetal (peso planta, peso aéreo, longitud de raíces) y desviaciones para las plantas estudiadas.....	148
Figura 4.4.7 (cont). Valores medios de los índices de desarrollo vegetal (número de ramificaciones, peso raíz, altura tallo, diámetro tallo) y desviaciones para las plantas estudiadas.....	149
Figura 4.4.8. Valores medios del área foliar y desviaciones para la planta de menta.....	149
Figura 4.4.9. Representación del contenido de carbono total y su variación en los residuos transformados.....	151
Figura 4.4.10. Resultado del análisis discriminante (DA) realizado para determinar el conjunto de parámetros de crecimiento de la planta de a) lavanda, b) romero y c) menta.....	160
Figura 4.4.11. Representación gráfica, en un espacio común, de los parámetros de crecimiento y los sustratos para ilustrar la respuesta plástica de las plantas con el cambio en las condiciones del medio.....	162
Figura 4.4.12. Clasificación de los sustratos de crecimiento por sus características físicas y químicas en función de los componentes.....	162
Figura 4.5.1. Evolución de la temperatura media durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartan y telmisartan (ITI).....	169
Figura 4.5.2. Evolución de la humedad media durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartan y telmisartan (ITI).....	169
Figura 4.5.3. Evolución del a) pH lb) Conductividad eléctrica durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartan y telmisartan (ITI).....	172
Figura 4.5.4. Evolución frente al control del a) pH y b) conductividad eléctrica durante el periodo de muestreo del compost y vermicompost de paja de arroz y lodo de depuradora de ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC).....	172
Figura 4.5.5. Evolución del a) pH y b) conductividad eléctrica durante el periodo de muestreo del compost y vermicompost de paja de arroz y lodo de depuradora con irbesartan y telmisartan (ITI).....	173

Figura 4.5.6. Evolución del carbono orgánico oxidable durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartan y telmisartan (ITl).....	175
Figura 4.5.7. Evolución del carbono total durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con azitromicina (Az), ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC) e irbesartan y telmisartan (ITl).....	175
Figura 4.5.8. Evolución del nitrógeno total durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a)azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartan y telmisartan (ITl).....	176
Figura 4.5.9. Evolución de la relación C/N durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC) y c) irbesartan y telmisartan (ITl)	176
Figura 4.5.10. Evolución del P ₂ O ₅ durante las experiencias de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína, c) ibesartán y telmisartán (ITl).....	180
Figura 4.5.11. Contenido de metales Cu y Zn en muestras finales del compostaje y vermicompostaje con los medicamentos.....	181
Figura 4.5.12. Metales Ni y Cd en muestras finales del compostaje y vermicompostaje con los medicamentos.....	181
Figura 4.5.13. Evolución de la relación AH/AF durante las experiencias de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartan y telmisartan (ITl).....	183
Figura 4.5.14. Evolución del índice húmico durante las experiencias de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartan y telmisartan (ITl).....	183
Figura 4.5.15. Evolución del índice de respiración en las muestras de a) compost y b) vermicompost con adición de azitromicina (Az).....	187
Figura 4.5.16. Evolución del índice de respiración en las muestras de a) compost y b) vermicompost con adición de irbesártan y telmisártan.....	187
Figura 4.5.17. Evolución del índice de respiración en las muestras de a) compost y b) vermicompost con adición de ibuprofeno, paracetamol y cafeína.....	188
Figura 4.5.18. Evolución de la concentración de azitromicina durante los procesos de a) compostaje y b) vemicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora.....	190

Figura 4.5.19. Evolución de la concentración de Ibersártan durante los procesos de a) compostaje y b) vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora.....	190
Figura 4.5.20. Evolución de la concentración de telmisartan durante los procesos de a) compostaje y b) vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora.....	191
Figura 4.5.21. Evolución de la concentración de ibuprofeno del a) compost y b) vermicompost de paja de arroz, lodo de depuradora.....	191
Figura 4.5.22. Evolución de la concentración de paracetamol a lo largo del muestreo en el a) compostaje y b) vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora.....	192
Figura 4.5.23. Evolución de la concentración de cafeína a lo largo del muestreo en a) compost y b) vermicompost de paja de arroz y lodo de depuradora.....	192
Figura 4.5.24. Evolución de la concentración de ibuprofeno ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a las dosis de $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En la muestras de S suelo, SP suelo planta, SM_{15} y SM_{35} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM_{15} y SPM_{35} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC_{15} y SPMC_{35} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMCV_{15} y SPMVC_{35} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas.....	201
Figura 4.5.25. Evolución de la concentración de cafeína ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a las dosis de $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En la muestras de S suelo, SP suelo planta, SM_{15} y SM_{35} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM_{15} y SPM_{35} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC_{15} y SPMC_{35} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMCV_{15} y SPMVC_{35} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas.....	202
Figura 4.5.26. Evolución de la concentración de paracetamol ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a las dosis de $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En la muestras de S suelo, SP suelo planta, SM_{15} y SM_{35} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM_{15} y SPM_{35} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC_{15} y SPMC_{35} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMCV_{15} y SPMVC_{35} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas.....	203
Figura 4.5.27. Evolución de la concentración de acetilsalicílico ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a las dosis de $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En la muestras de S suelo, SP suelo planta, SM_{15} y SM_{35} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM_{15} y SPM_{35} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC_{15} y SPMC_{35} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMCV_{15} y SPMVC_{35} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas.....	204
Figura 4.5.28. Evolución de la concentración de fenitoina ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a las dosis de $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En la muestras de S suelo, SP suelo planta, SM_{15} y SM_{35} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM_{15} y SPM_{35} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC_{15} y SPMC_{35} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3	

semanas; SPMCV _{1s} y SPMVC _{3s} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas.....	205
Figura 4.5.29. Evolución de la concentración de quinolona (mg.kg ⁻¹) a las dosis de 10 mg.kg ⁻¹ y 100 mg.kg ⁻¹ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En la muestras de S suelo, SP suelo planta, SM _{1s} y SM _{3s} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM _{1s} y SPM _{3s} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC _{1s} y SPMC _{3s} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMCV _{1s} y SPMVC _{3s} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas.....	206
Figura 4.5.30. Evolución de la concentración de benzocaína (m mg.kg ⁻¹ g/kg) a las dosis de 10 mg.kg ⁻¹ y 100 mg.kg ⁻¹ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En la muestras de S suelo, SP suelo planta, SM _{1s} y SM _{3s} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM _{1s} y SPM _{3s} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC _{1s} y SPMC _{3s} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMCV _{1s} y SPMVC _{3s} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas.....	207
Figura 4.5.31. Relación RCF (concentración de medicamentos entre la raíz y el suelo) para los suelos adicionados con los medicamentos utilizados (a) ibuprofeno, b) paracetamol, c) cafeína, d) quinolona, e) ácido acetil salicílico y f) benzocaína) a las dosis de 10 y 100 mg.kg ⁻¹ sin o con adición de compost o vermicompost a la semana (SPM _{1s} , SPMC _{1s} , SPMVC _{1s}) y 3 semanas de aplicación (SPM _{3s} , SPMC _{3s} , SPMVC _{3s})	217
Figura 4.5.31 (Cont.). Relación RCF (concentración de medicamentos entre la raíz y el suelo) para los suelos adicionados con los medicamentos utilizados (a) ibuprofeno, b) paracetamol, c) cafeína, d) quinolona, e) ácido acetil salicílico y f) benzocaína) a las dosis de 10 y 100 mg.kg ⁻¹ sin o con adición de compost o vermicompost a la semana (SPM _{1s} , SPMC _{1s} , SPMVC _{1s}) y 3 semanas de aplicación (SPM _{3s} , SPMC _{3s} , SPMVC _{3s}).....	218

RESUMEN

La investigación dirigida hacia la gestión, tratamiento y aprovechamiento de los residuos agroindustriales para la producción de productos útiles como insumos de otros procesos industriales, ha sido y está siendo uno de los temas prioritarios en los campos de la biotecnología, agroquímica y ciencias medioambientales. Por otro lado, las normativas europeas, nacionales y autonómicas, incorporan capítulos específicos sobre los residuos derivados de la actividad agrícola y ganadera dado que su tratamiento requiere especificidades propias, debido a sus posibles orientaciones estratégicas. La detección de contaminantes emergentes en todos los compartimentos ambientales, así como en muchos residuos, ha creado, en los últimos años, la necesidad de desarrollar procedimientos para su eliminación que puedan aplicarse como técnicas de biorremediación. La utilización de los procesos de compostaje y vermicompostaje se vienen empleando como estrategias para el aprovechamiento y el reciclado de residuos orgánicos y, por ende, para el tratamiento y valorización de los biorresiduos agrícolas; esto puede proporcionar enmiendas orgánicas que mejoren la calidad del suelo y favorezcan el desarrollo vegetal. La necesidad de mejorar, proteger y conservar la calidad de los suelos y su funcionalidad con el fin de incrementar la producción y la seguridad alimentaria, junto con el reciclado de residuos, constituyen una de las bases que marcan el camino hacia la sostenibilidad y contribuyen, en gran parte, a llevar a cabo de manera exitosa las directrices de la economía circular, tanto en el presente como en el futuro.

Por todo lo anterior, la presente tesis doctoral se ha centrado en el estudio comparativo de los procesos de compostaje y vermicompostaje de diversos residuos agrícolas. Durante los experimentos realizados se llevó a cabo: la caracterización física y química de los materiales iniciales, el seguimiento de los procesos y la valoración de la calidad y madurez de los productos obtenidos. Para ello se emplearon técnicas convencionales de análisis de residuos, compost, vermicompost, sustratos, suelos y plantas, así como procedimientos específicos mediante HPLC/MS/MS y las técnicas de espectroscopía infrarroja, resonancia magnética nuclear y microscopía electrónica. Además, se llevó a cabo, mediante técnicas metagenómicas, la identificación de la biota presente en los materiales iniciales y productos finales, lo cual permitió conocer los principales microorganismos que participan en el compostaje y vermicompostaje de los residuos agrícolas utilizados, estudiando su presencia y diferencias; este aspecto ha contribuido a ampliar el conocimiento de los procesos que tienen lugar y los microorganismos responsables de la biodegradación y humificación de la materia orgánica. También se estudió el efecto del compostaje y vermicompostaje sobre la eliminación de contaminantes emergentes,

como los medicamentos, presentes en lodos de depuradora; los resultados demuestran la viabilidad de estos procesos para eliminar este tipo de contaminantes.

Por otro lado, se estudió el papel que ejercen los productos obtenidos sobre la inhibición del desarrollo de ciertos microorganismos patógenos comunes que afectan a vegetales con la finalidad de conocer su efecto biosupresor. Se observó que algunos extractos de los compost y vermicompost obtenidos mostraron efectos inhibidores sobre algunos fitopatógenos.

Otros aspectos que se han abordado han sido: el estudio del efecto de los compost y vermicompost obtenidos sobre el desarrollo vegetal en especies de plantas aromáticas de interés, así como su utilización como enmiendas del suelo y su influencia sobre la eliminación de algunos medicamentos en el sistema suelo-planta, analizando la capacidad de absorción y transferencia. Los resultados indicaron que, los compost y vermicompost de residuos de cítricos y maíz mejoran, en general, el desarrollo de plantas aromáticas como *Rosmarinus officinalis*, *Mentha spicata* y *Lavandula angustifolia*. La adición al suelo de compost y vermicompost sobre la eliminación de fármacos y su absorción por la planta mostraron que medicamentos como el paracetamol o benzocaína desaparecen rápidamente en el suelo mientras otros como el ibuprofeno son más persistentes. En general, se observó una acumulación en el sistema radicular. La concentración de medicamentos como el paracetamol y benzocaína disminuyó intensamente con el tiempo, mientras que en los suelos adicionados con quinolona, ácido acetil salicílico y cafeína la absorción fue similar. En el caso del ibuprofeno, se observó un aumento de su acumulación en el sistema radicular tanto a concentraciones bajas como elevadas.

La información obtenida, durante la realización de esta Tesis Doctoral, constituye una contribución valiosa en la temática del tratamiento de residuos agrícolas mediante el compostaje y vermicompostaje y el efecto de los productos obtenidos desde diferentes puntos de vista: obtención de sustratos, microorganismos implicados, enmiendas orgánicas y técnicas de biorremediación. Además de su importancia científico-técnica, el conocimiento de todos estos aspectos proporciona una herramienta interesante para el reciclaje y la valorización de los biorresiduos en el camino hacia la sostenibilidad y la economía circular.

ABSTRACT

The research based on the management, treatment and use of agroindustrial residues for developing useful products to be used as consumable goods for other industrial processes, has been, and actually is, one of the main topics investigated in the biotechnological, agrochemical and environmental sciences fields. In addition, european, national and autononomical regulations, introduce specific chapters regarding the residues produced by the agricultural and stock industries, as it's treatment requires certain unique peculiarities, due to it's posible strategic orientations. The detection of emergent contaminants in all environmental compartments, as well as other residues, have motivated during the past years the need to develop procedures for it's elimination, that can be applied as bioremediation techniques.

The use of composting and vermicomposting procedures have been employed as exploitation and recycling strategies of organical residues, and therefore, for the treatment and valorisation of agricultural bioresidues; that can produce organic amendments that improve soil quality and stimulate vegetal development. The need of improving, protecting and conserving soil quality and it's functionality in order to increase the production and food safety, together with the recycling of residues, constitute the basis that set the path towards sustainability and contribute, partly, to the successful implementation of the guidelines of circular economy, both currently and in the future.

For all these reasons, this doctoral thesis has focused in the comparative study of the composting and vermicomposting procedures of different agricultural residues. During the experiments milestones such as the physical and chemical characterisation of the initial materials, and monitoring of procedures and valuation of quality and maturity of the obtained products were achieved. For this, conventional techniques to analyse residues, composting, vermicomposting, substrates, soils and plants analysis were used, as well as specific procedures such as HPLC/MS/MS and techniques like infrared spectroscopy, nuclear magnetical resonance and electronic microscopy. Furthermore, by using metagenomical techniques, the present biota in initial materials and final products was identified, and this allowed getting to know the main microorganisms that participate in the composting and vermicomposting of the residues. This aspect has contributed to increase the knowledge of the processes that take place and the microorganisms responsible for the biodegradation and humification of organic material. The effect of composting and vermicomposting on the elimination of emerging contaminants was also analysed, as well as its effect on the presence of medicines that appear in treatment

systems muds. The results show the utility of and viability of these procedures in the elimination of these contaminants.

On the other side, the role of the obtained products on the inhibition of the development of certain common pathogenic microorganisms that affect vegetables was studied, with the goal to get to know the biosupresor effect of the products. It was observed that some compost and vermicompost extracts obtained showed inhibitor effects on some phytopathogens. Other aspects addressed have been the study of the effect of compost and vermicompost products on vegetal development in certain aromatic species, as well as its use as soil amendments and its influence on the elimination of some medicines in the system soil – plant, analysing the capacity of absorption and transference. The results indicated that the vermicomposts and composts of citrus and corn improve, in general, the development of aromatic plants such as *Rosmarinus officinalis*, *Mentha spicata* and *Lavandula angustifolia*. The addition of compost and vermicompost to the soil and study of the removal of medicines and its absorption by the plant showed that drugs such as paracetamol or benzocaine disappear fast in the soil while others such as ibuprofen are more persistent. In general, an accumulation of drugs in the radicular system was observed. The concentration of medicines such as paracetamol and benzocaine decreased drastically with time, while soils that have quinolone, acetylsalicylic acid and caffeine had a similar absorption. In the case of ibuprofen, an increase in its accumulation in the radicular system was observed both in low and high concentrations.

The obtained information, during the development of the doctoral thesis, constitutes a valuable contribution in the treatment of agricultural residues, through composting and vermicomposting and the effect of the obtained products for different points of view such as the obtainment of substrates, affected microorganisms, organic amendments and bioremediation techniques. Besides of its scientific-technical importance, the knowledge of all these aspects provides an interesting tool for the recycling and valorisation of the bioresidues in the path towards sustainability and circular economy.

RESUM

La investigació dirigida cap a la gestió, tractament i aprofitament dels residus agroindustrials per a la producció de productes útils com insumos d'altres processos industrials, ha sigut i està sent un dels temes prioritaris en els camps de la biotecnologia, agroquímica i ciències mediambientals. D'altra banda, les normatives europees, nacionals i autonòmiques, incorporen capítols específics sobre els residus derivats de l'activitat agrícola i ramadera atès que el seu tractament requereix especificitats pròpies, a causa de les seues possibles orientacions estratègiques. La detecció de contaminants emergents en tots els compartiments ambientals, així com en molts residus, ha creat, en els últims anys, la necessitat de desenrotllar procediments per a la seua eliminació que puguen aplicar-se com a tècniques de bioremediació. La utilització dels processos de compostatge i vermicompostatge s'empren com a estratègies per a l'aprofitament i el reciclatge de residus orgànics i, per tant, per al tractament i valoració dels biorresiduos agrícoles; açò pot proporcionar esmenes orgàniques que milloren la qualitat del sòl i afavorisquen el desenrotllament vegetal. La necessitat de millorar, protegir i conservar la qualitat dels sòls i la seua funcionalitat a fi d'incrementar la producció i la seguretat alimentària, junt amb el reciclatge de residus, constitueixen una de les bases que marquen el camí cap a la sostenibilitat i contribueixen, en gran part, a dur a terme de manera exitosa les directrius de l'economia circular, tant en el present com en el futur.

Per tot l'anterior, la present tesi doctoral s'ha centrat en l'estudi comparatiu dels processos de compostatge i vermicompostatge de diversos residus agrícoles. Durant els experiments realitzats es va dur a terme: la caracterització física i química dels materials inicials, el seguiment dels processos i la valoració de la qualitat i maduresa dels productes obtinguts. Per això es van utilitzar tècniques convencionals d'anàlisi de residus, compost, vermicompost, substrats, sòls i plantes, així com procediments específics per mitjà de HPLC/MS/MS i les tècniques d'espectroscòpia infraroja, ressonància magnètica nuclear i microscòpia electrònica. A més, es va dur a terme, per mitjà de tècniques metagenòmiques, la identificació de la biota present en els materials inicials i productes finals, la qual cosa va permetre conèixer els principals microorganismes que participen en el compostatge i vermicompostatge dels residus agrícoles utilitzats, estudiant la seua presència i diferències; este aspecte ha contribuït a ampliar el coneixement dels processos que tenen lloc i els microorganismes responsables de la biodegradació i humificació de la matèria orgànica. També es va estudiar l'efecte del compostatge i vermicompostatge sobre l'eliminació de contaminants emergents, com els medicaments, presents en fangs de depuradora; els resultats demostren la viabilitat d'estos processos per a eliminar este tipus de contaminants.

D' altra banda, es va estudiar el paper que exerceixen els productes obtinguts sobre la inhibició del desenrotllament de certs microorganismes patògens comuns que afecten vegetals amb la finalitat de conèixer el seu efecte biosupresor. Es va observar que alguns extractes dels compost i vermicompost obtinguts van mostrar efectes inhibidors sobre alguns fitopatògens. Altres aspectes que s'han abordat han sigut: l'estudi de l'efecte dels compost i vermicompost obtinguts sobre el desenrotllament vegetal en espècies de plantes aromàtiques d'interès, així com la seua utilització com a esmenes del sòl i la seua influència sobre l'eliminació d'alguns medicaments en el sistema sòl-planta, analitzant la capacitat d'absorció i transferència. Els resultats van indicar que, els compost i vermicompost de residus de cítrics i dacsca milloren, en general, el desenrotllament de plantes aromàtiques com *Rosmarinus officinalis*, *Mentha spicata* i *Lavandula angustifolia*. L'addició al sòl de compost i vermicompost sobre l'eliminació de fàrmacs i la seua absorció per la planta van mostrar que medicaments com el paracetamol o benzocaína desapareixen ràpidament en el sòl mentre altres com l'ibuprofeno són més persistents. En general, es va observar una acumulació en el sistema radicular. La concentració de medicaments com el paracetamol i benzocaína va disminuir intensament amb el temps, mentre que en els sòls addicionats amb quinolona, àcid acetil salicílic i cafeïna l'absorció va ser semblant. En el cas de l'ibuprofeno, es va observar un augment de la seua acumulació en el sistema radicular tant a concentracions baixes com elevades.

La informació obtinguda, durant la realització d'esta Tesi Doctoral, constitueix una contribució valuosa en la temàtica del tractament de residus agrícoles per mitjà del compostatge i vermicompostaje i l'efecte dels productes obtinguts des de diferents punts de vista: obtenció de substrats, microorganismes implicats, esmenes orgàniques i tècniques de bioremediació. A més de la seua importància científicotècnica, el coneixement de tots estos aspectes proporciona una ferramenta interessant per al reciclatge i la valoració dels biorresiduos en el camí cap a la sostenibilitat i l'economia circular.

1. Introducción

1.1. Origen, problemática y características de los residuos agrícolas en el área mediterránea

En las últimas décadas ha aumentado la investigación biotecnológica en todo el mundo dirigida hacia la utilización y aprovechamiento de los residuos agroindustriales para la producción de compuestos útiles como insumos de otros procesos industriales (Angenent *et al.*, 2004, Berndtsson *et al.*, 2008; Coelho *et al.*, 2013; Aleman-Nava *et al.*, 2015; Bertanza *et al.*, 2015; Scoma *et al.*, 2016, Bharathiraja *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2019; Odude *et al.*, 2019); con la prioridad de utilizar los residuos para reducir el impacto ambiental que ocasiona su deposición (Bravo *et al.*, 2011; Panesar *et al.*, 2017), enfocándose a la producción de bioenergéticos (Bidart *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2019a) y a la elaboración de nuevas formulaciones de alimentos para animales o sustratos vegetales (Meneses-Jacome *et al.*, 2016; Brennan *et al.*, 2011; Corominas *et al.*, 2013). No obstante, todavía se realizan incineraciones, vertidos, deposición de residuos, etc, siendo métodos de eliminación de los residuos agroindustriales que no producen beneficios comunitarios además de producir una contaminación ambiental si no se realiza adecuadamente (Vasilyev *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2018; Tasca *et al.*, 2019).

Según Lal (2005) el residuo de un cultivo se define como la parte de la planta no comestible que queda en el campo después de la cosecha. Algunos investigadores también incluyen como tales, los restos que se generan en las plantas de embalaje de las cosechas, o aquellos que se descartan tras el procesado del cultivo o la comercialización del producto derivado. Los residuos agrícolas también pueden ser definidos como aquellos residuos del sector primario que proceden tanto de la producción de materias primas de naturaleza vegetal (restos de cosechas, poda, etc.) como de su procesado (cáscaras, mazorcas, bagazo etc.). La Agencia Europea del Medio Ambiente define a los residuos agrícolas como aquellos materiales inutilizables, sólidos o líquidos, que resultan de las prácticas agrícolas. De esta forma, los residuos agrícolas pueden clasificarse en:

- Los derivados del proceso productivo, de cultivo, consistente en restos vegetales.
- Los originados en procesos industriales de transformación de los cultivos, constituidos fundamentalmente por materia orgánica.
- Los productos químicos utilizados en el desarrollo de los cultivos, fertilizantes, plaguicidas, etc. utilizados con el objeto de aumentar el rendimiento productivo.
- Los residuos específicos del sector viverista, constituidos principalmente de plásticos usados.

Por otro lado, según la lista europea de residuos (LER), dentro del código 02 se incluyen los residuos de la agricultura, horticultura, acuicultura, silvicultura, caza y pesca; así como, los residuos de la preparación y elaboración de alimentos. Con el código 020102 y 010203 se incluyen los residuos de tejidos animales y vegetales respectivamente; y con el código 020106 se incluyen los residuos de heces de animales, orina y estiércol (incluida paja podrida) y efluentes recogidos selectivamente y tratados fuera del lugar donde se generan (Tabla 1.1).

El Plan Estatal General de Gestión de Residuos (PEMAR) para el periodo 2016-2022 (MAGRAMA, 2016), incorpora un capítulo específico sobre los residuos derivados de la actividad agrícola y ganadera, pues su tratamiento requiere especificidades propias, dadas sus posibles orientaciones estratégicas (Tabla 1.1). El objetivo fundamental de este Plan, en el ámbito agrario, es asegurar la correcta recogida y gestión de los residuos generados. Según el PEGMAR (MAGRAMA, 2016), los residuos derivados de la actividad agrícola se incluyen dentro del grupo de los residuos agrarios. Los productores de estos residuos son los agricultores y ganaderos, siendo éstos los responsables de su gestión; sus obligaciones están recogidas en el artículo 17 de la Ley de Residuos (Ley 22/2011). Según el PEGMAR en el ámbito agrario se genera gran cantidad y diversidad de estos residuos o materiales, aunque en algunos casos quedan excluidos de la aplicación de la Ley de Residuos. En el contexto que nos ocupa, algunos de estos residuos son deyecciones ganaderas como estiércoles y restos vegetales (restos de plantas, restos de poda, residuos de cultivos herbáceos, etc.) (MAGRAMA, 2016).

Tabla 1.1. Clasificación de los residuos agrícolas según la Lista Europea de Residuos (LER)

Código	Definición
02	Residuos de la agricultura, horticultura, acuicultura, silvicultura, caza y pesca. Residuos de la preparación y elaboración de alimentos.
02 01	Residuos de la agricultura, horticultura, acuicultura, silvicultura, caza y pesca
02 01 01	Lodos de lavado y limpieza
02 01 02	Residuos de tejidos de animales
02 01 03	Residuos de tejidos de vegetales
02 01 06	Heces de animales, orina y estiércol (incluida paja podrida) y efluentes recogidos selectivamente y tratados fuera del lugar donde se generan

Cada año se generan en todo el mundo millones de toneladas de residuos de la agricultura. Por ejemplo, datos oficiales en ciudades como México (Valdez-Vázquez *et al.*, 2010), indican que de 75,73 millones de toneladas de materia seca proveniente de 20 cultivos, 60,13 millones de toneladas corresponden a residuos primarios, obtenidos en el momento de la cosecha, entre los que se encuentran hojas y tallos del maíz. En la Unión Europea la materia seca proveniente de cultivos mayoritarios corresponde a 350.000 millones de toneladas, gran parte

de las cuales se destina a incineración (López *et al.*, 2011; López *et al.*, 2015a; Eurostat, 2017). La Figura 1.1 muestra la distribución de los residuos vegetales de cultivo en el año 2011 en la Unión Europea (UE) y España respecto a la producción a escala mundial. En el caso de los cereales (Figura 1.1), los cultivos con mayor porcentaje de producción de residuos fueron el maíz, arroz y trigo a nivel mundial, mientras que en el caso de la UE y España fueron trigo, maíz y cebada. Con relación a la producción de hortalizas y frutas, fueron los cultivos de remolacha azucarera, patatas y vid los que generaron una mayor cantidad de residuos a escala mundial, europea y nacional, siendo el caso de los residuos derivados del cultivo de vid los de mayor producción a nivel nacional, como consecuencia de la importancia de este cultivo en nuestro país (FAO, 2013). Respecto a los cultivos oleaginosos, los cultivos de soja, colza y olivo produjeron un porcentaje más alto de residuos a escala mundial, UE y nacional, respectivamente. Finalmente, los residuos generados por los cultivos de café, cacao y tabaco fueron notables a nivel mundial, mientras que a escala europea y nacional sólo se generaron residuos de tabaco, ya que la producción de los otros cultivos es mínima en la UE y España (López *et al.*, 2015b).

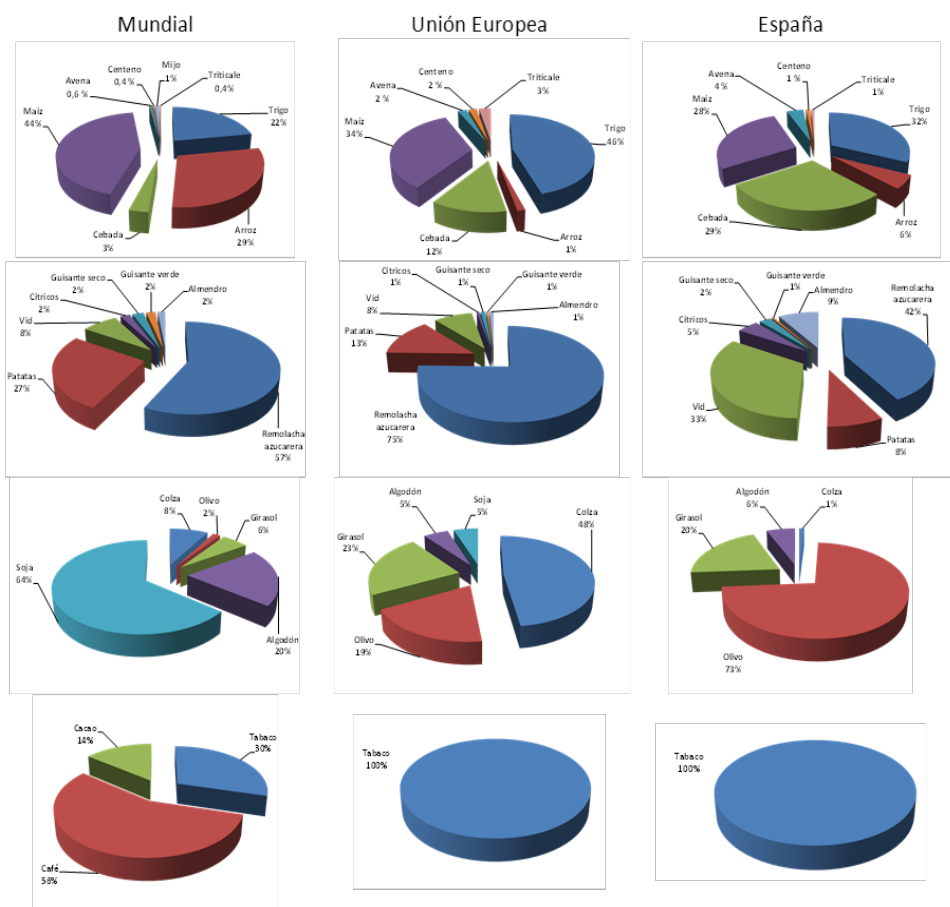


Figura 1.1. Distribución de los residuos procedentes de diferentes cultivos en el año 2011 a nivel mundial, Unión Europea (UE) y España (López *et al.*, 2015b)

Los residuos vegetales generados por la práctica agrícola pueden considerarse contaminantes ambientales cuando no son gestionados correctamente, o recursos valiosos si son gestionados adecuadamente (López *et al.*, 2015b). La contaminación del medio ambiente se incrementa con el aumento de la población debido a la generación de residuos y al consumo ilimitado de materiales residuales. La producción de residuos agrícolas se está convirtiendo en un problema grave causando efectos negativos sobre el medio ambiente y la salud pública. Para reducir estos efectos deben ser convertidos en materiales útiles (Desalme *et al.*, 2013; Tomas *et al.*, 2013; Sathiparan y Zoysa, 2018; Zhang *et al.*, 2018a). Según el PEMAR la problemática asociada a los residuos agrarios deriva fundamentalmente de:

- La dispersión espacial de las explotaciones agrarias y, por tanto, de los productores de los residuos agrarios.
- La estacionalidad de la generación de residuos agrarios, que implica una elevada producción en determinados momentos y condiciona la recogida y almacenamiento de residuos, así como su gestión.
- La heterogeneidad de los residuos que se producen en las explotaciones agrarias. Así, se pueden generar desde vallas metálicas o bebederos para el ganado en desuso, a residuos de estructuras de invernadero, láminas plásticas para ensilados, diferentes tipos de residuos de envases, residuos de materiales vegetales u otros residuos orgánicos, equipos de protección individual tras su uso. Entre los residuos generados, algunos tienen la consideración de residuos peligrosos y otros no. Algunos residuos agrarios son de gran volumen, como la maquinaria, los neumáticos, etc.
- Dificultad de la gestión de determinados residuos vegetales por su elevado contenido en agua, presencia de restos de productos fitosanitarios, de rafias de plásticos, etc.
- La existencia de pequeñas explotaciones o de explotaciones con muy poca tierra (o sin ella) en las que resulta difícil la separación en origen y el almacenamiento en condiciones adecuadas para su tratamiento in situ, o su posterior recogida y tratamiento en otras instalaciones.

Los residuos vegetales procedentes de cultivos leñosos derivados de podas, talas, etc., acumulan alrededor de 1.300.000 toneladas/año y son normalmente reutilizados, vendidos como leña, para la industria de pellets, muebles de madera, o triturados e incorporados a los campos de cultivos. En cuanto a los residuos herbáceos, según las estadísticas de la FAO su producción fue muy elevada en España (FAOSTAT, 2015). Así, la producción de arroz fue de 726.000 toneladas anuales, siendo la segunda mayor producción de Europa. En especial, la producción de arroz de la zona del Parque Natural de l'Albufera de Valencia supone el 17% de

la producción total del país, con un área cultivada de más de 16.000 hectáreas (Gimeno *et al.*, 2001; Andreu, 2008; Moreno, 2013). Este cultivo genera todos los años unas 100.000 toneladas de paja que se queman entre septiembre y octubre, originando emisiones contaminantes de dióxido de carbono y problemas medioambientales y sanitarios como son trastornos respiratorios y alérgicos principalmente (López y Boluda, 2008). Estos hechos no son exclusivos de la agricultura Valenciana, también están afectadas otras áreas del cultivo del arroz bastante amplias a nivel nacional localizadas principalmente en el Delta del Ebro, y a nivel internacional en países asiáticos. China es uno de los países con más cultivos de arroz del mundo, y de los residuos de paja de estos cultivos que son anualmente unos 735 millones de toneladas, se queman alrededor del 21% de la paja, esto no es sólo un desperdicio de recursos, sino también una intensificación del efecto invernadero. Se estima que el potencial de secuestro de carbono del suelo de las tierras de cultivo es muy elevado, y una gestión razonable del suelo puede aumentar este potencial entre un 60 % y un 70 % (Wang *et al.*, 2012). Utilizar los recursos de paja de manera adecuada es una forma factible y eficiente de mitigar el efecto invernadero (Iranzo *et al.*, 2004). Las labores de reutilización implican el triturado de la paja para posteriormente enterrarla con los laboreos; pero esta práctica encierra una problemática en los suelos de los arrozales que al ser inundados provocan la degradación anaeróbica de la paja lo cual genera emisiones de gases, malos olores y efecto invernadero. Uno de estos gases es el metano que junto al CO₂ presentan otros efectos secundarios como son: aumento de plagas, infecciones de las plantas, menor fijación de nitrógeno, etc., (Dauface, 1975; Arai *et al.*, 1998; Torigoe *et al.*, 2000; Ballesteros, 2001; Iranzo *et al.*, 2004; Cruz *et al.*, 2011; Raj *et al.*, 2011; Aslam *et al.*, 2013; Jain *et al.*, 2014; Chidthaisong *et al.*, 2018; Maneepitak *et al.*, 2019). No obstante, autores como Chu *et al.*, (2015), indican que todo esto se puede reducir con una buena gestión del agua (Datta *et al.*, 2017) y prácticas adecuadas como la humectación alternativa y el secado moderado, que aumentan el rendimiento del arroz y reducen la emisión de metano en el arrozal cuando se incorporan los residuos de paja (Liu *et al.*, 2013a; Kim *et al.*, 2014).

Dada la diversidad y el origen de estos residuos, sus características pueden variar significativamente. Los residuos poseen un contenido hídrico variable (según el desarrollo ontogénico y del cultivo en la época de recolección), un elevado contenido en materia orgánica, fracción mineral variable en concentración total y equilibrio (según el órgano o fracción vegetal que se trate) y generalmente poseen un porcentaje de C alto mientras que el N suele ser bajo, así tienen una relación C/N elevada, aunque con notables diferencias según la naturaleza y composición del residuo (López y Boluda, 2008) (Tabla 1.2).

Tabla 1.2. Composición de algunos residuos agrícolas (López y Boluda, 2008)

Cultivo		Tipo de residuo	CT(%) ^a	CO(%) ^b	MO(%) ^c	NT(%) ^d	C/N ^e	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)	Celulosa (%)
Cereal	Arroz	Paja	39,2-40,35,12	31,2-35,64	78,1-85,04	0,6-1,34,5,12	30-614,5	20,9-28,07,12	10,012	33,8-34,07,11,12
	Arroz	Cascara	40,3 ⁶	-	-	0,3 ⁶	-	-	-	-
	Avena	Paja	37,0 ¹⁵	-	-	0,5-1,1 ^{9,15}	48-98 ⁹	-	-	-
	Cebada	Paja	47,3 ⁸	-	-	1,6 ³	-	33,6 ³	6,1 ⁸	47,5 ⁸
	Centeno	Paja	46,0 ⁸	-	-	0,8 ³	-	29,7 ³	1,4 ⁸	23,4 ⁸
	Maíz	Paja	40,0 ¹⁵	38,7 ¹	77,4 ¹	1,7 ¹	55 ¹	21 ¹	25,0 ¹	32,0 ¹
	Trigo	Paja	43,6-46,6 ^{5,3}	-	-	0,3-0,5 ^{6,8,9}	-	40,5 ⁸	5,0 ⁸	41,5 ⁸
Hortícola	Alcachofa	Tallo	-	-	-	3,1 ¹⁴	-	14,8 ²	15,2 ¹⁰	21,8 ¹⁰
	Altramuz	Tallo	44,6 ¹⁴	-	-	1,6 ³	-	-	-	-
	Col Blanca	Hojas	40,1 ³	-	-	1,3 ⁸	-	5,4 ²	0,7 ⁸	11,4 ⁸
	Guisante	Tallo	45,7 ⁸	-	-	3,4 ¹⁴	-	24,6 ²	0,7 ⁸	38,7 ⁸
	Haba	Tallo	41,1 ¹⁴	-	-	2,6 ¹	-	-	-	-
	Patata	Tallo	45,7 ⁸	29,2 ¹³	55 ¹³	2,3 ¹³	13 ¹³	10,4 ¹	6,5 ⁸	27,5 ⁸
	Pimiento	Tallo	-	-	-	-	-	-	19,0 ¹⁰	-
Otros	Olivo	Hojas	-	50,5 ²	-	-	30 ²	-	-	-
	Viña	Poda	-	46,1 ³	-	-	50 ²	-	-	-
	Viña	Orujo	47,2-51,5 ¹³	-	-	-	-	-	25,9-33,6 ¹³	4-12 ¹³
	Algodón	Vainas/semillas	-	42,3 ¹	82,8 ¹	-	20 ¹	23,0 ¹	23,0 ¹	40,0 ¹

^aCarbono total, ^bCarbono orgánico, ^cMateria orgánica, ^dNitrógeno total, ^eRelación C/N, - no disponible

¹Paredes y col. (2002), ²Manios (2004), ³Sánchez-Monedero y col. (2004), ⁴Iranzo y col. (2001), ⁵Abdelhamid y col. (1999), ⁶Di Blasi y col. (1999), ⁷Qingxiang (2002), ⁸Henrtksen y Breland (1999), ⁹NRAES (1992), ¹⁰Hernandez-Ruizéres y col. (1992), ¹¹Clawson y col. (1970), ¹²Summersa y col. (2001), ¹³Roca-Pérez y col (2006), ¹⁴Tang y Yu (1999), ¹⁵Thomson y Ttriech (1980)

La biodegradabilidad de estos materiales es función del contenido relativo en biomoléculas fácilmente asimilables (azúcares solubles y otras moléculas de bajo peso molecular), de hemicelulosa y celulosa, así como de componentes de degradación más lenta (ceras, lignina y otros polifenoles); luego, son la principal fuente de carbono y energía para los microorganismos del suelo. Otros nutrientes como K, P, Mg y Ca, se encuentran en menor cantidad y en contenido variable dependiendo del tipo de residuo, pero son igualmente importantes ya que son indispensables tanto para los microorganismos que intervienen en el proceso de compostaje como para las comunidades microbianas que habitan en los suelos. Los residuos de cereales presentan baja humedad (10-15 %), alto contenido de C (37-47 %) y materia orgánica (77-85 %); poseen bajo contenido de N (0,3-1,1 %) excepto la paja de maíz y de centeno, por ello su relación C/N es muy elevada (50-100), presentan biomoléculas de fácil degradación como celulosa y hemicelulosa que también se encuentran en un porcentaje elevado (30-50%). El contenido en lignina, material difícilmente biodegradable, varía entre el 1 y el 6 % para la paja de centeno, trigo y cebada y del 10 al 25 % para la paja de arroz y maíz.

En el caso de residuos hortícolas se cosechan antes de la senescencia vegetal. Por este motivo los residuos presentan alto contenido en humedad y generalmente son fácilmente biodegradables. Comprenden, entre otros, los residuos que provienen de la mayoría de los cultivos hortícolas comestibles y de las producciones de flor cortada y raíces o tubérculos extensivos. Aunque también tienen un contenido elevado en C presentan una relación C/N baja (15-30) debido a su cantidad de N. El contenido de hemicelulosa oscila entre 5 y 15%, la celulosa varía entre el 10 y 40 %. Con alguna excepción (pimiento, alcachofa) su contenido de lignina suele ser más bajo que el del resto de residuos agrícolas (1 al 10%). En el caso de residuos de leñosas (olivo, vid y otros frutales) la relación C/N de estos materiales es muy elevada (30 a 150 %) (Albiach et al., 2018; López y Boluda, 2008).

1.2. Origen, problemática y características de los lodos de depuradora en el área mediterránea

Los lodos de depuradora son residuos que se originan en las estaciones de tratamiento de aguas residuales urbanas, así como en otras estaciones depuradoras de aguas residuales que tratan aguas de composición similar a las aguas residuales urbanas (principalmente de la industria agroalimentaria), y fosas sépticas. Según la Orden MAM/304/2002, de 8 de febrero, por la que se publicaron las operaciones de valorización y eliminación de residuos y la lista europea de residuos, los lodos procedentes del tratamiento de aguas residuales urbanas se

identifican con el código 19 08 05 y tienen por tanto la consideración de residuos. La Tabla 1.3 muestra la clasificación de estos biosólidos según la lista LER.

Tabla 1.3. Clasificación de los lodos de depuradora

Código	Definición
19	Residuos de las instalaciones para el tratamiento de residuos, de las plantas externas de tratamientos de aguas residuales y de la preparación de agua para consumo humano para uso industrial.
19 02	Residuos de tratamientos fisicoquímicos de residuos (incluidas la descromatación, descianuración y neutralización)
19 08	Residuos de plantas de tratamiento de aguas residuales no especificados en otra categoría
19 08 05	Lodos del tratamiento de aguas residuales urbanas

Respecto al marco legal, estos biosólidos están regulados por un régimen jurídico específico en diferentes normativas europeas, nacionales y autonómicas. Estas normas han ido evolucionando en función de su utilización y problemática. Así, la Directiva 86/278/CEE del Consejo, de 12 de junio de 1986, relativa a la protección del medio ambiente y, en particular, de los suelos, en la utilización de los lodos de depuradora en agricultura, establece los principios básicos que deben contemplar las normativas de los países miembros de la Unión Europea sobre este tema, con el fin de compatibilizar el reciclado de los elementos fertilizantes contenidos en los lodos de depuradora con la protección del medio ambiente. Esta directiva fue transpuesta al ordenamiento jurídico español mediante el Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la utilización de lodos de depuración en el sector agrario, norma que establece el marco normativo que permite compaginar la producción de los lodos salidos de todo tipo de estaciones depuradoras de aguas residuales domésticas, urbanas o de aguas residuales de composición similar a las anteriormente citadas, así como los procedentes de fosas sépticas y de otras instalaciones de depuración similares, y su utilización agraria en España con la protección eficaz de los factores físicos y bióticos afectados por el proceso de producción agraria. En su exposición de motivos se pone de manifiesto que a pesar de pueden plantea serios problemas para su almacenamiento, y, sobre todo, para su eliminación, son una fuente de materia orgánica y de elementos fertilizantes para su utilización en la actividad agraria, resultando la solución alternativa más adecuada para su gestión final al permitir su incorporación a los ciclos naturales de la materia y la energía.

El Real Decreto 1310/1990 fue desarrollado por la Orden de 26 de octubre de 1993, del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, con la finalidad de determinar la información sobre producción y utilización de lodos de depuración en las actividades agrarias. Desde su

publicación se han desarrollado nuevas soluciones técnicas y agronómicas en materia de producción, tratamiento y aplicación al suelo agrario de los lodos de depuración. Posteriormente, la transposición de la Directiva 2008/98/CE, de 19 de noviembre de 2008, sobre los residuos a través de la Ley 22/2011, de 28 de julio, de residuos y suelos contaminados resulta de aplicación a las instalaciones depuradoras de aguas residuales como productoras de residuos, a las instalaciones de tratamiento de los lodos de depuración como instalaciones de gestión de residuos y a las personas físicas o jurídicas que apliquen lodos tratados como gestores de residuos. El Real decreto 506/2013, de 28 de junio sobre productos fertilizantes estableció la normativa básica en materia de productos fertilizantes con la finalidad, entre otras, de prevenir los riesgos para la salud y el medio ambiente por el uso de determinados productos en agricultura, jardinería o restauración de suelos degradados.

La utilización de los lodos de depuración como un abono orgánico, supone un beneficio a la agricultura o una mejora ecológica de los suelos en los que se apliquen, pero no está exenta de riesgos ambientales, sobre todo en aquellas zonas vulnerables a la contaminación de las aguas por nitratos. La Directiva 91/676/CEE, de 12 de diciembre, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias, y transpuesta a nuestro ordenamiento jurídico por el Real decreto 261/1996, de 16 de febrero, considera la necesidad de que los Estados miembros identifiquen sus zonas vulnerables, y proyecten y apliquen programas de acción para reducir la contaminación de las aguas producida por compuestos nitrogenados en dichas zonas, así como elaborar códigos de buenas prácticas agrarias que los agricultores podrán aplicar de forma voluntaria al objeto de evitar un uso inadecuado de abonos nitrogenados, con la finalidad de reducir la contaminación producida por los nitratos de origen agrario. Por ello se publicó la Orden 7/2010, de 10 de febrero, de la Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación, por la que se aprueba el Código Valenciano de Buenas Prácticas Agrarias. Posteriormente, dado el interés de los productores agrícolas por el aprovechamiento de los lodos de depuradora como fertilizantes, y dado que este tipo de materiales está incluido entre los requisitos de condicionalidad para la percepción de las ayudas directas de la Política Agraria Común de la Unión Europea contemplados en la Orden 11/2012, de 1 de agosto, de la Conselleria de Agricultura, Pesca, Alimentación y Agua, que regula la aplicación de la condicionalidad, y se establecen los requisitos legales de gestión y las buenas condiciones agrarias y medioambientales en la Comunidad Valenciana.

En 2017 se decretó la ORDEN 22/2017, de 3 de agosto, de la Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural, por la que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario de la Comunidad Valenciana [2017/7449] (DOGV núm. 8118 de 01.09.2017) Ref. Base Datos 007766/2017.

En el PEMAR 2016-2022 (MAGRAMA, 2016), aprobado mediante acuerdo del Consejo de Ministros de 6 de noviembre de 2015, y publicado por Resolución de 16 de noviembre de 2015, de la Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental y Medio Natural, se realiza una descripción general y un diagnóstico de la producción y tratamiento de este tipo de residuos en el territorio español, además de establecer unos objetivos ambientales cualitativos y cuantitativos que apuestan significativamente por su valorización material frente a otros tratamientos. La Orden AAA/1072/2013, de 7 de junio, sobre utilización de lodos de depuración en el sector agrario, derogó la Orden de 26 de octubre de 1993, y regula la información que deben proporcionar los titulares de las depuradoras de aguas residuales, las instalaciones de tratamiento de lodos de depuración, los gestores que realizan la aplicación en los suelos de los lodos de depuración tratados, así como la información que debe acompañar a todo transporte de lodos destinados a la actividad agraria. Todo ello con la finalidad de dar cumplimiento a las obligaciones establecidas en la Directiva 86/278/CEE, del Consejo, de 12 de junio de 1986, así como mantener un Registro Nacional de Lodos, y elaborar y trasladar a la Comisión Europea un informe sobre la aplicación de esta directiva.

La Orden 22/2017 de 3 de agosto de la Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y desarrollo Rural regula la utilización de lodos de depuración en el sector agrario de la Comunidad Valenciana 2017/7449 DOGV 8118 de 01.09.2017.

La Directiva de la Unión Europea del 2018 modifica la Directiva 86/278/CEE, relativa a la protección del medio ambiente y, en particular, de los suelos, respecto a la utilización de los lodos de depuradora en agricultura. Desde el Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, a la Orden de Ley 10/2000, de Residuos de la Comunidad Valenciana cuya última revisión fue del 1/1/2018.

En 2019 se publica la última normativa, el DECRETO 55/2019 de 5 de abril del Gobierno Valenciano por el que se aprueba la revisión del Plan integral de residuos de la Comunidad Valenciana. [2019/4208].

El Plan Nacional de Lodos de Depuradoras de Aguas Residuales, para el periodo comprendido entre los años 2011 y 2020, planifica la gestión de este tipo de residuos, estableciendo el marco adecuado para su correcta valorización y reciclaje, dando prioridad al compostaje por encima de la valorización energética.

La revisión del Plan integral de la Comunidad Valenciana (DOGV nº 8536 de 26/04/19, fue aprobado el 5 de abril (Decreto 55/2019), e incluye Residuos agropecuarios y lodos de depuradora. El ámbito de aplicación de dicha Revisión y Actualización del Plan Integral de Residuos de la Comunidad Valenciana (PIRCV) incluye aquellos lodos que no cumplen los requisitos de aplicación de lodos en agricultura según lo descrito en el Real Decreto 1310/1990,

o cualquier otra normativa aplicable; y aquellos que aun cumpliendo dichos requisitos, no sean aplicables a la agricultura, en consonancia con la definición de residuo establecida en la Ley 10/2000, de Residuos de la Comunidad Valenciana y siéndoles por tanto de aplicación la legislación en materia de residuos. Los objetivos ecológicos más destacables de este Plan son:

- Reducir en origen la contaminación de los lodos.
- Maximizar su valorización.
- Reducir los lodos depositados en vertedero.
- Creación de un sistema estadístico y base de datos para su integración en el Inventario Nacional de Residuos.

En los últimos años en la UE Europa, y por ende en España, la depuración de aguas residuales urbanas es una práctica obligada desde la publicación de la Directiva 91/271/CE de 21 de mayo, donde se define como principal objetivo *proteger al medio ambiente* de los efectos negativos de los vertidos de las aguas residuales urbanas y de los sectores industriales. El cumplimiento de este objetivo supuso la construcción y puesta en marcha de multitud de instalaciones, que garanticen la recogida y tratamiento de aguas, y se ha producido un aumento notable de lodos estando previsto para el año 2020 que se generen más de 13 millones de toneladas de este tipo de residuo (Directiva 91/271/CEE sobre tratamiento de las aguas residuales urbanas). En la Comunidad Valenciana se generan aproximadamente 130.000 toneladas de lodos (materia seca) por año (Roca-Pérez *et al.*, 2009; Bustamante *et al.*, 2012; Torres-Climent *et al.*, 2015; Ghini *et al.*, 2016).

En Europa, la utilización agrícola de los lodos de depuradora es muy elevada: alcanzando un 50% en Alemania, 54% en España, 65% en Francia y 71% en el Reino Unido (FAOSTAT, 2015). En el caso de España, las principales vías de eliminación de lodos son el uso agrícola que representa el 80% del total generado, el depósito en vertederos (8%) y la incineración que se sitúa en un 4% (MAGRAMA, 2017). Según Wen *et al.*, (2019), mediante el proceso de incineración los lodos se reducen aproximadamente un 70% en masa y un 90% en volumen, dejando como residuo cenizas que se pueden utilizar posteriormente en la producción de cemento (Margallo *et al.*, 2019). Sin embargo, debido al elevado contenido en humedad y a su bajo poder calorífico, se requiere mucho consumo de energía y de combustible en este tipo de instalaciones (Margallo *et al.*, 2019). La aplicación agrícola se ha convertido en el método final más generalizado debido a que es la vía más económica en comparación con la incineración y al mismo tiempo, ofrece la oportunidad de reciclar y aportar materia orgánica y nutrientes al suelo estimulando así su actividad biológica (Momeni *et al.*, 2019). Esta práctica constituye un grave problema, ya que los lodos de depuradora contienen contaminantes emergentes, metales

pesados y otros contaminantes orgánicos que podrían tener efectos tóxicos en los organismos vivos (Alvarenga *et al.*, 2015; Calleja-Cervantes *et al.*, 2016; Carneiro *et al.*, 2019). Así, se han detectado contaminantes emergentes en lodos primarios, secundarios e incluso en aquellos tratados biológicamente (Kumar *et al.*, 2010; Lu *et al.*, 2019a).

En general, en una depuradora de tratamiento de aguas residuales urbanas se realizan las siguientes operaciones básicas y procesos (Figura 1.2):

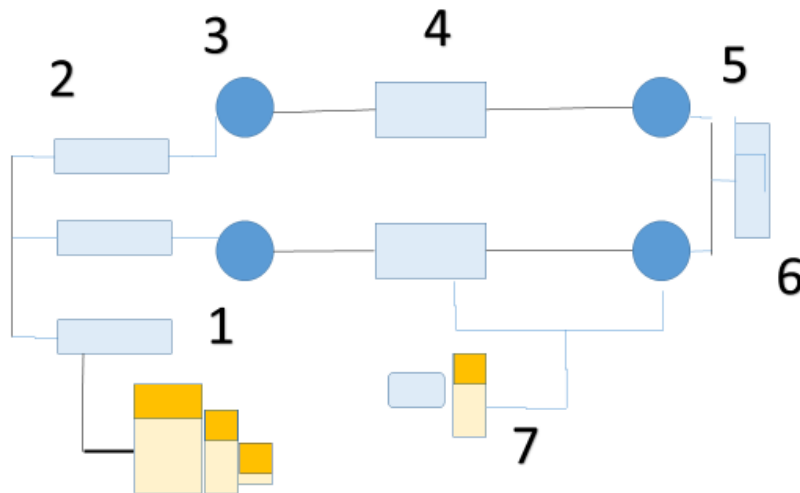


Figura 1.2. Diseño de una planta depuradora

1) Desbaste y tamizado. Rejas y tamices de diferentes calibres separan los sólidos de tamaño grande y mediano. 2) Desarenado y desengrasado. El desarenado separa gravas, minerales y otras partículas voluminosas en suspensión. El desengrasado elimina las grasas, espumas y materias flotantes. 3) Tratamiento primario. Se realiza en tanques en los que el agua fluye muy despacio, sedimentándose por gravedad los sólidos en suspensión. Las materias decantadas constituyen los lodos primarios. 4) Tratamiento secundario o biológico. Donde se dan los fenómenos biológicos por los que crecen colonias de microorganismos que se alimentan de la materia orgánica presente en las aguas, disminuyendo su contaminación. 5) Decantación secundaria. Se somete de nuevo el agua a una sedimentación en los decantadores secundarios o clarificadores para dejar el agua lo más limpia posible. En esta etapa se forman los lodos secundarios. 6) Tratamiento terciario. En ocasiones se realiza un tratamiento químico para reducir algunas sustancias concretas. 7) Línea de fangos. De estos procesos de depuración surgen los lodos o fangos (Instituto Aragonés del Agua del Gobierno de Aragón).

Los lodos de depuradora se pueden clasificar según su origen en: lodos urbanos, procedentes del tratamiento de aguas residuales urbanas; lodos industriales, procedentes del

tratamiento de aguas utilizadas en procesos industriales. Los lodos de las Estaciones de Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR) presentan unas características físicas y químicas dadas tanto por su origen como por los diferentes procesos a los que son sometidos. Algunas de las características más importantes de los distintos tipos de lodos se indican en la Tabla 1.4.

Tabla 1.4. Tipos de los lodos en función del tratamiento (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, 2018)

Lodo Primario
Procede de la eliminación de materia en suspensión principalmente. Gris, grasiento, de olor normalmente molesto, y fácilmente digerible.
Lodo precipitado químicamente con sales metálicas
Color generalmente oscuro, rojizo si contiene mucho hierro, gris marrón si contiene cal. Olor molesto, no tanto como el primario. Apariencia gelatinosa por el contenido de hidratos de hierro o aluminio.
Lodos Activado
Proceden de la eliminación de materia orgánica (DBO) por microorganismos. Apariencia floculenta, de color marrón (dependiendo su intensidad del tiempo de aireación) y característico olor a tierra que no es molesto.
Digestión aerobia
Color marrón o marrón oscuro, su olor no es molesto, y su apariencia es floculenta. Si está bien digerido, se deshidrata fácilmente.
Digestión anaerobia
Color marrón oscuro o negro. Contiene gran cantidad de gas. Si está totalmente digerido su olor no es molesto, parecido al alquitrán caliente.
Fosas sépticas
Color negro, olor molesto a causa de los gases que desprende (SH ₂ , CH ₄ , etc.).

Las características (Tabla 1.5) químicas varían según sean lodos urbanos o industriales, pues estos últimos tienen una presencia mayor de metales pesados y contaminantes orgánicos. Los constituyentes específicos más importantes de los lodos son:

- Nutrientes (nitrógeno y fósforo).
- Agentes biológicos.
- Metales pesados (cadmio, cromo, cobre, plomo, mercurio, níquel, cinc).
- Contaminantes orgánicos.

Tabla 1.5. Características de los lodos de depuradora (Pérez y Moreno, 2008)

Parámetro	Unidad	Valor medio	Desviación estándar	Rango de Variación
pH extracto 1:10	-	6,5	0,4	3,9-7,7
CE extracto 1:10	dS/m	2,3	1,7	0,5-12,1
Materia orgánica total	%	53,0	10,5	14,0-74,8
Nitrógeno (N)	%	4,7	1,4	1,2-8,4
Corg total	%	33,0	6,1	12,0-46,3
Relación C/N	-	5,8	2,3	1,9-20,4
Fósforo (P)	%	0,9	0,3	0,2-2,3
Fósforo (P ₂ O ₅)	%	2,1	0,7	0,2-5,4
Potasio	%	2,1	0,7	0,2-5,4
Potasio (K ₂ O)	%	0,4	0,2	0,1-1,52
Calcio (CaO)	%	10,6	5,2	1,41-35,5
Magnesio (Mg)	%	0,8	0,6	0,0-5,2
Magnesio (MgO)	%	1,3	1,1	0,0-8,6
Sodio (Na)	%	0,3	0,4	0,0-4,7
Hierro (Fe)	Mg.Kg ⁻¹	12,9	24,1	14-150,5

La utilización y destino de los lodos en España según MARM (2019) se muestra en la Tabla 1.6. Como se puede observar las principales técnicas de tratamiento son el compostaje y la valorización energética, técnicas que han experimentado un gran incremento frente a la incineración y la aplicación directa en agricultura en los últimos años.

Tabla 1.6. Utilización y destino de los lodos (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, 2019)

Utilización y destino de los lodos	2008	2018
Valorización energética	0%	30%
Aplicación directa a agricultura	28%	15%
Incineración (sin recuperación de energía)	59%	0%
Vertedero	11%	15%
Compostaje	2%	40%

Para optimizar el proceso de compostaje de lodos, es conveniente mezclarlos con algún agente que consiga aumentar su volumen (Roca-Pérez *et al.*, 2009; Chang *et al.*, 2010; Pérez-Gimeno, *et al.*, 2019), debido a la baja porosidad, alta humedad y baja relación C/N del fango; es adecuado el uso de materiales, como residuos agrícolas ricos en lignocelulosa, como hojas, restos de poda o paja (Gregg *et al.*, 2010) que elevan su valor añadido en el compost. La paja de arroz es un residuo cuya eliminación adecuada es una necesidad y por ello ha sido usada en numerosas experiencias anteriores de compostaje con lodos de forma exitosa, obteniendo un compost apto para ser empleado como enmienda orgánica (Benito *et al.*, 2003; López y Iranzo *et al.*, 2004; Roca-Pérez *et al.*, 2005; Boluda, 2014; Blonskaja *et al.*, 2014; Roca-Pérez *et al.*, 2009; Roca-Pérez *et al.*, 2018; Antil *et al.*, 2012; Guo *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019). No obstante, los

lodos poseen sustancias que pueden limitar su utilización. Principalmente, se trata de microorganismos patógenos, metales pesados y contaminantes orgánicos.

1.2.1. Metales tóxicos en lodos de depuradora

Como ya se ha indicado antes, los lodos se utilizan en agricultura y se aplican al suelo. Algunos estudios muestran acumulación de metales en suelos de tierras de cultivo, y efectos negativos sobre las plantas, como ejemplo se ha observado acumulación de metales tóxicos en cultivos de colza, y efectos negativos en los rendimientos de cebada y col china entre otros (Correira *et al.*, 2015; He *et al.*, 2016; Boudjabi *et al.*, 2019). Igualmente, en la utilización de estos residuos vegetales procedentes de la poda de dichos cultivos u otros de tipo mediterráneos (cítricos, maíz, olivo, etc.) o procedentes de la finalización de las cosechas en los cultivos hortícolas u otros como es el caso del residuo de arroz (Khan *et al.*, 2018; Pascual *et al.*, 2018; Lu *et al.*, 2019b) se observa acumulación de metales.

Los experimentos de lodos a largo plazo comenzaron en 1994, como parte de la investigación continua sobre los efectos de los metales pesados transmitidos por lodos en la fertilidad del suelo. Los efectos a largo plazo de Zn, Cu y Cd en el carbono de biomasa microbiana del suelo fueron monitoreados durante 8 años en suelos modificados con lodos en nueve zonas de campo del Reino Unido por Charlton *et al.*, (2016), observando que en los suelos que recibieron lodos de aguas residuales contaminados con Zn, ocurren disminuciones con el tiempo llegando a concentraciones inferiores al límite legal admitidas en el Reino Unido, que disminuyeron a la vez que se observaba un efecto interactivo entre Zn y Cu, que aumentan la biodisponibilidad de estos metales con el tiempo, mientras que el Cd no parecía tener ningún efecto sobre el C-microbiano. No obstante, autores como Abaye *et al.* (2005), indican que la comunidad microbiana cambia sustancialmente 40 años después del cese de insumos metálicos, indicando que los límites actuales permitidos por la UE para los metales pesados en suelos agrícolas no deben rebajarse para evitar estos problemas.

Respecto a la presencia de metales en lodos (Tabla 1.5), algunos autores, estudiaron la distribución en el contenido de metales pesados en el perfil del suelo en relación con la profundidad, propiedades del suelo y contenido en metales. Esto autores observaron que ciertos metales se acumulaban en horizontes arcillosos y ricos en materia orgánica.

De Figueiredo *et al.* (2019), estudiaron los efectos a corto plazo de una modificación de biocarbón de lodos de aguas residuales sobre el contenido total y disponible de metales pesados de un suelo tropical, observando una disminución importante de Zn y Mn en los productos finales. Khan *et al.*, (2019) realizaron experiencias de vermicompostaje observando que la mezcla de *Eisenia foetida* con biochar y lodos posee un efecto sinérgico que disminuye el contenido de metales pesados de manera que dichos estudios de vermicompostaje realizados con lodos de depuradora y biochar disminuyeron el contenido de metales pesados durante la valorización de los biosólidos, a través de la mejora de la calidad del vermicompost y produciendo una reducción significativa del contenido total de Cd (0,2-5,1 %), Cr (7,3-10,8 %), Cu (3,1-7,4 %), Mn (3,2-8,4 %), Pb (9,0-45,9 %) y Zn (1,1-5,7 %) en el vermicompost final en comparación con las mezclas iniciales, y aumentaron la concentración de todos los macronutrientes. Por otra parte, el orden de acumulación del cuerpo de la lombriz de tierra de metales pesados fue: Cd > Zn > Pb > Cu > Mn > Cr al final del experimento, y se observó un aumento el recuento de capullos, tasa de crecimiento y tasa de reproducción de lombrices de tierra, produciendo además un vermicompost rico en nutrientes y más bajo en metales pesados.

La Tabla 1.7 muestra algunos ejemplos del contenido de metales en lodos en algunas comarcas valencianas. En ella se muestra que los metales más abundantes en la totalidad de comarcas estudiadas son el Zn, el Cu, Cr y Pb. Existiendo en la comarca de L'Horta contenidos elevados de Cu y Zn, mientras que La Costera y el Camp del Turia destacan por tener los mayores contenidos de Cr. En la Foia de Buñol destaca la acumulación de Cu y Zn, siendo este último también abundante en la Ribera Alta y Baixa.

Ignatowicz (2017) estudio las propiedades fisicoquímicas del compost obtenido de lodos de aguas residuales municipales, determinando el contenido de macroelementos (Mg, Ca, N, P, K, Na) y metales pesados (Zn, Cu, Cr, Cd, Ni, Pb, Hg), encontrando que el contenido de metales pesados en el compost no superaba los límites establecidos por la normativa, siendo un compost enriquecido en nitrógeno y fósforo y una fuente rica en calcio y magnesio. Por otra parte, el fraccionamiento de las formas de estos metales demostró la baja movilidad de estos metales en el compost.

Tabla 1.7. Contenido medio de metales pesados (mg/kg) en lodos de depuradora de algunas comarcas valencianas (Mataix, 2001)

Comarca	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn	Hg	Cr
L'Horta	1,77	647	47,0	111	1080	1,5	132
La Vall d'Albaida	1,9	251	31,3	56	618	0,7	38
La Safor	2,7	280	37,5	116	949	2,9	201
La Costera	1,9	212	44,2	337	937	1,3	874
Els Serrans	1,2	128	13,0	372	645	1,00	16
La Foia de Bunyol	2,1	986	33,5	192	1140	0,9	51
Camp de Morvedre	1,4	250	24,3	92	948	1,8	38
Ribera Alta	3,8	226	35,1	298	1756	2,7	150
Camp de Túria	1,0	246	123	85	661	1,2	614
Canal de Navarrés	2,0	229	30,2	89	713	6,0	100
La Vall d'Aiora	2,0	200	43,0	75	714	1,6	100
Ribera Baixa	1,8	214	53,6	119	2118	3,6	122
Racó d'Ademús	1,0	149	12,0	34	477	1,0	15
La Plana d'Utiel-Requena	1,0	253	25,5	79	720	0,5	48
Media (mg/kg)	1,8	305	39,5	147	963	1,9	179

1.2.2. Contaminantes emergentes

La denominación de *contaminantes emergentes* (residuos farmacéuticos y productos para el aseo e higiene personal) se debe a su poca regulación, así como al importante impacto que tienen sobre el medio ambiente y la salud humana (Chen *et al.*, 2019). Las investigaciones científicas llevadas a cabo sobre este tema, en los últimos diez años, han puesto de manifiesto la presencia de residuos farmacéuticos en aguas, lodos, sedimentos y suelos. A esto, se suma la dificultad de su eliminación en las plantas de tratamiento de aguas residuales (Iranzo *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2019; Peltzer *et al.*, 2019). Se ha observado que las estaciones depuradoras de aguas residuales, sus lodos y los suelos tratados con lodos de estas depuradoras, son puntos críticos para la difusión y presencia de estos contaminantes en el medio ambiente. Los residuos de los medicamentos llegan a la red de alcantarillado conjuntamente con las aguas residuales, los cuales son conducidos a las estaciones depuradoras. En estas estaciones se realizan tratamientos físicos, químicos y biológicos; no obstante, numerosos estudios muestran la presencia de residuos farmacéuticos y sus metabolitos en lodos (Zhang *et al.*, 2018a; Zhang

et al., 2018b; Zhu *et al.*, 2019). Algunos de los fármacos más encontrados en estas matrices han sido: analgésicos y antiinflamatorios (ibuprofeno, acetaminofeno o paracetamol, ciclofenaco, piroxicam, naproxeno) antineoplásicos (ciclofosfamida, metotrexato, tamoxifeno), hipolipemiantes sanguíneos (gemfibrozilo, atorvastatina, entre otros), antidepresivos (citalopram, fluoxetina y velanfaxina), antibióticos (azitromicina, tetraciclina, norfloxacino, levofloxacino, claritromicina), antihipertensivos (telmisartán, irbesartán, valsartán, etc.) y hormonas (estradiol) debido a que tienen efectos tóxicos y de mayor impacto sobre el medio ambiente.

Estos compuestos son de origen y naturaleza química diversa y se presentan a bajas concentraciones, por lo cual no fueron considerados excesivamente nocivos tanto para la salud humana, como para el medio ambiente. No obstante, en los últimos años se ha observado que su acumulación en los diferentes compartimentos de los ecosistemas causa efectos tóxicos a largo plazo (Virkytyte *et al.*, 2010; Ollivier *et al.*, 2014; Iranzo *et al.*, 2019; Urra *et al.*, 2018; Vystavna *et al.*, 2019; Xia *et al.*, 2019).

La liberación al medio ambiente de las aguas regeneradas, provocan que estos contaminantes accedan a todos los compartimentos de los ecosistemas, así, se ha detectado la presencia de residuos farmacéuticos en aguas superficiales (Chen *et al.*, 2015) y aguas subterráneas, suelos y sedimentos (Chen *et al.*, 2011; Fang *et al.*, 2017). Incluso existen estudios recientes (Huang *et al.*, 2019a) que indican que estos compuestos pueden ser absorbidos por las plantas, acumularse en sus tejidos e ingresar en los organismos (Cabello *et al.*, 2006; Hossain *et al.*, 2010; Gros *et al.*, 2010; Chen, 2017). Recientemente Chen *et al.*, (2017) y Yadav *et al.*, (2019), estudiaron las características, el comportamiento y la transferencia de algunos fármacos en los vegetales observando que algunos de estos medicamentos se acumulaban en las raíces, lo cual sugiere que podían existir efectos sobre las características fisiológicas de las plantas y efectos negativos en la calidad de los alimentos (Huang *et al.*, 2019).

Su presencia en aguas superficiales, aguas subterráneas e incluso de consumo humano, está aumentado por la escasez de agua, el crecimiento de la población y la necesidad de reutilización de las aguas residuales en las zonas semiáridas, lo cual está provocando problemas de contaminación (Gros *et al.*, 2010), también en aguas de ríos (Kolecka *et al.*, 2019).

Muchos antibióticos como sulfametoxazol y ciprofloxacino se han detectado con frecuencia en suelos y aguas subterráneas; sin embargo, sus comportamientos de transporte en los suelos siguen siendo en gran medida desconocidos. Otra de las repercusiones más negativas del impacto de estos compuestos debido a su presencia en el entorno se refiere a la resistencia de los microorganismos a los antibióticos, impulsada, entre otros factores, por la presión ejercida debida a la coexposición (Urra *et al.*, 2018). La exposición constante de los

microorganismos del ecosistema, de modo que los antimicrobianos eliminados pueden generar patógenos resistentes a esos fármacos (Elsami *et al.*, 2015; Shao *et al.*, 2018), poniendo en peligro el tratamiento de futuras infecciones. Igualmente se deben considerar los efectos toxicológicos agudos sobre microorganismos y medio ambiente y para ello se realizan estudios con la lombriz *Eisenia foetida* (Pino *et al.*, 2015) y diferentes fármacos comunes en suelo artificial. Cuando estos compuestos llegan al suelo están sometidos a diferentes mecanismos de absorción y biotransformación y algunos antibióticos como tetraciclinas y quinolona presentan gran movilidad debido a que tienen coeficientes de sorción muy bajos. En otras ocasiones se realizaron estudios de plantado con *P. australis* viendo su eficacia en el tratamiento de aguas residuales contaminadas con carbamazepina, ibuprofeno y sulfadiazina.

Lillenbergh, *et al.*, (2011), muestran gran cantidad de residuos de productos farmacéuticos en lodos de depuradora en Estonia y su acumulación en las plantas de fertilización, observando una disminución de la presencia de fluoroquinolonas y sulfonamidas en lodos urbanos sometidos a compostaje. Observaron la presencia de 16 contaminantes emergentes, entre ellos el ibuprofeno y la fluoxetina en biosólidos procedentes de diferentes países del mundo (EPA, 2012).

En suelos en el noroeste de Alemania detectaron concentraciones de antibióticos elevadas. Entre ellos destacó la presencia de eritromicina y tilosina que sugieren un origen agrícola. Por otro lado, también se detectó sulfadimidina en rangos elevados (1- 2 mg.kg⁻¹), en estiércol líquido que fue utilizado como fertilizante, incluso 7 meses después de la aplicación lo cual indicó la alta estabilidad de algunos antibióticos tanto en el estiércol como en el suelo.

La Tabla 1.8 muestra un ejemplo de la presencia de medicamentos en las aguas residuales y lodos de depuradora (Iranzo *et al.*, 2018). Como se puede observar, existe gran variación dependiendo de la depuradora, lo cual está relacionado con las actividades humanas predominantes en cada zona. Los lodos son los que presentan mayor concentración dado que estos compuestos son generalmente hidrófobos y tienen gran afinidad por la materia orgánica.

El antibiótico azitromicina, el antihipertensivo telmisartán y el fungicida tebuconazol fueron algunos de los compuestos que se encontraron en mayor concentración en las aguas residuales y los lodos de las EDARs de municipios valencianos.

Tabla 1.8. Algunos compuestos orgánicos detectados en aguas residuales (AR), aguas depuradas (AD), fracción sólida (FS) y lodos de depuradoras (LD) de estaciones de tratamiento de aguas residuales (EDARs) valencianas. La concentración de los compuestos en la fracción líquida se da en $\mu\text{g L}^{-1}$ y en la fracción sólida en $\mu\text{g kg}^{-1}$ de materia seca (Fuente: Irazo *et al.*, 2018)

Compuesto	EDAR	AR	AD	FS	LD
Azitromicina	Paterna	2,43	0,16	17,143	395
	Quart Benager	0,40	0,12	551	582
	Alcoi-2	7,52	0,56	9.203	1.023
	Pinedo-I	1,58	0,62	574	588
Irbesartán	Paterna	0,63	1,14	454	20,30
	Quart Benager	<LOQ	0,57	42,82	14,20
	Alcoi-2	0,46	0,83	617	23,30
	Pinedo-I	0,45	0,43	546	108
Telmisartán	Paterna	2,49	2,70	2.354	676
	Quart Benager	1,76	2,74	232	1.052
	Alcoi-2	0,85	2,27	2.573	529
	Pinedo-I	1,31	1,93	2.527	2.734
Citalopram	Paterna	0,34	0,15	105	53,20
	Quart Benager	0,13	0,10	8,22	91,60
	Alcoi-2	<LOQ	<LOQ	130	na
	Pinedo-I	0,14	<LOQ	124	106
Venlafaxina	Paterna	0,99	0,31	10,70	18,90
	Quart Benager	0,51	0,27	<LOQ	39,10
	Alcoi-2	0,25	0,30	23,73	24,50
	Pinedo-I	<LOQ	<LOQ	120	39,30
Ciproconazol	Paterna	nd	nd	1,71	nd
	Quart Benager	nd	nd	2,58	nd
	Alcoi-2	<LOQ	nd	30,70	na
	Pinedo-I	<LOQ	nd	20,73	nd
Difenoconazol	Paterna	<LOQ	<LOQ	12,46	7,80
	Quart Benager	<LOQ	nd	5,31	32,90
	Alcoi-2	<LOQ	<LOQ	93,45	na
	Pinedo-I	<LOQ	<LOQ	33,55	7,00
Propiconazol	Paterna	<LOQ	<LOQ	8,34	23,10
	Quart Benager	<LOQ	<LOQ	19,36	48,90
	Alcoi-2	nd	nd	68,96	2,80
	Pinedo-I	<LOQ	<LOQ	46,02	115
Tebuconazol	Paterna	0,28	<LOQ	21,38	96,80
	Quart Benager	<LOQ	0,10	16,53	93,70
	Alcoi-2	nd	nd	115	na
	Pinedo-I	<LOQ	<LOQ	78,69	18,60
Triciclazol	Paterna	<LOQ	nd	<LOQ	nd
	Quart Benager	<LOQ	<LOQ	nd	nd
	Alcoi-2	<LOQ	nd	2,25	na
	Pinedo-I	nd	nd	<LOQ	nd
Triticonazol	Paterna	nd	nd	<LOQ	1,90
	Quart Benager	<LOQ	nd	5,01	1,80
	Alcoi-2	<LOQ	<LOC	29,39	1,40
	Pinedo-I	<LOQ	<LOQ	nd	2,00

LOQ, límite de cuantificación; nd, no detectado; na, dato no disponible.

1.3. Tratamiento y aprovechamiento de residuos orgánicos mediante compostaje y vermicompostaje

La producción de residuos agroindustriales en la Unión Europea en el año 2017 (Eurostat, 2017) fue superior a 250 millones de toneladas. La proporción de residuos municipales generados por habitante, reciclados o compostados en la UE ha aumentado de forma constante desde el 18% en 1995 al 24% en 2017. El reciclado y la incineración con recuperación de energía en el año 2017 fueron el 19% y el 15% respectivamente. La deposición en vertedero se empleó como eliminación en más del 50% de los residuos municipales (Eurostat,2017). La figura 1.3 muestra los residuos municipales generados en el año 2017 en países de la Unión Europea (Eurostat, 2017). España ocupa una posición intermedia en la generación de residuos dentro de los países de la Unión Europea. Por ello, es de gran necesidad disponer de diferentes propuestas de tratamiento con el fin de reciclar y aprovechar estos residuos. Ejemplos de tratamiento de residuos orgánicos son el compostaje y el vermicompostaje (Ej.: Moreno *et al.*, 2008a, Roca-Pérez *et al.*, 2009; Rashad *et al.*, 2010; Iranzo *et al.*, 2018; Moya *et al.*, 2019). Actualmente el compostaje de residuos orgánicos es la técnica de tratamiento más utilizada detrás de la eliminación mediante vertedero (Litterick *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2012. La posibilidad de obtener mediante estas dos técnicas enmiendas orgánicas, sustratos o fertilizantes para los cultivos, las hace apropiadas para el reciclado y la valorización. Por ello, en los últimos años las regulaciones en materia de residuos han sido modificadas.

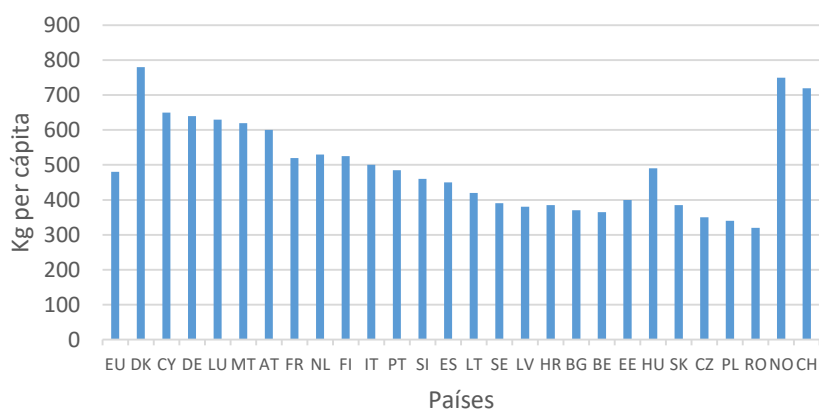


Figura 1.3. Residuos municipales generados en el año 2017 en países de la Unión Europea. Fuente: Eurostat, (2017)

La directiva 2008/98/CE, del Parlamento Europeo y del Consejo de 19 de noviembre de 2008, así como la nueva modificación de la Directiva Marco de Residuos, Directiva 2018/851, se refiere, entre otros aspectos, a la reciente política en materia de residuos, la cual debe contemplar, reducir el uso de recursos y favorecer la aplicación práctica de la jerarquía de

residuos. Así, el Plan Integral de Residuos de la Comunidad Valenciana (PIRCVA, 2019), se ajusta a la normativa nacional de gestión de residuos, Ley 22/2011 de residuos y suelos contaminados, al PEMAR y a las directivas europeas. Partiendo de ello, el nuevo PIRCVA redefine, revisa y actualiza los objetivos y acciones que se han considerado necesarios para su adaptación a una situación en continua evolución, constituyendo la estrategia a seguir en materia de residuos en la Comunidad Valenciana. Dicha estrategia se enmarca en los principios establecidos en las normativas antes indicadas, lo cual incluye el desarrollo de medidas de prevención y gestión de residuos. En el ámbito material, el PIRCVA se aplica a todas las tipologías de residuos, vertebrándose en tres grupos que responden a los principales orígenes de dichos residuos: residuos domésticos y asimilables, residuos industriales, y residuos específicos, grupo este último que aglutina aquellos residuos que, por su origen y características especiales o legislación particular, merecen un tratamiento y análisis diferenciado. Adicionalmente, pretende ser un mecanismo de implementación del acuerdo de 25 de septiembre de 2015 de la ONU de los Objetivos de Desarrollo Sostenible; entre otros, el objetivo 11: *Lograr que las ciudades y los asentamientos humanos sean inclusivos, resilientes y sostenibles*, el 12: *Garantizar modelos de consumo y producción sostenibles*, o el 13: *Adoptar medidas urgentes para combatir el cambio Climático y sus efectos*.

Cuando los residuos no se tratan adecuadamente pueden desencadenarse efectos adversos para el medio ambiente y la salud de animales y humanos. Dos técnicas de tratamiento de los residuos orgánicos (ej. restos vegetales y biosólidos) que contribuyen a la gestión, reciclado y a la sostenibilidad son el compostaje y el vermicompostaje (Ciavatta, *et al.*, 1993; Antonioli *et al.*, 2009; Bassaco *et al.*, 2015; Abou Hussien *et al.*, 2012; Schubert *et al.*, 2019; Abou Hussien *et al.*, 2019; Bian *et al.*, 2019; Tedesco *et al.*, 2019; Doublet *et al.*, 2011; Schubert *et al.*, 2019).

La efectividad de la transformación por compostaje y vermicompostaje para la obtención de un sustrato o enmienda orgánica que ayuden a la eliminación y valorización de estos residuos, ha sido motivo de numerosas investigaciones (Ej. Rangaraj *et al.*, 2007; Jemai *et al.*, 2013; Blouin *et al.*, 2019; El-Tayeh *et al.*, 2019; Khan *et al.*, 2019). El objetivo final es convertir un residuo en recurso. López *et al.*, (2015a) indican claramente la utilidad de la transformación de residuos en agricultura para su utilización en la producción de alimentos y la gestión de residuos, problemas cada vez mayores que se derivan de la creciente población mundial. El reciclaje de residuos orgánicos en enmiendas para la producción de alimentos es una oportunidad para resolver parcialmente este doble desafío. El compostaje y vermicompostaje son procesos mediante el que con o sin lombrices de tierra se transforman los residuos orgánicos en compost o vermicompost que se pueden utilizar como sustrato para el crecimiento de las

plantas debido a los efectos beneficiosos, lo que podría ayudar a unir la gestión de residuos y la agricultura (Blouin *et al.*, 2019).

Respecto al proceso de compostaje, se trata de un proceso de transformación de la materia orgánica realizada por microorganismos en condiciones aeróbicas, cuya actividad metabólica genera calor y debe conservarse realizando el proceso en pilas cerradas y adecuadas López *et al.*, (2015a). Además, para facilitar el proceso es conveniente que el material tenga unas condiciones adecuadas en cuanto al tamaño de residuo incorporado (1-5 cm), la humectación (40-50 %), relación C/N adecuada (25-30 %) y un contenido de oxígeno del 8-12%, pues esto produce las condiciones óptimas para el desarrollo de poblaciones complejas de microorganismos actúen de forma secuencial sobre la materia orgánica facilitando su transformación.

Este proceso se desarrolla en varias fases de acuerdo con la intensidad metabólica microbiana: fase inicial, fase termófila y fase de maduración. La fase inicial, con elevada proporción de materia orgánica biodegradable y una actividad microbiana intensa. Período donde son utilizados los azúcares y otros compuestos simples fácilmente degradables, y predominan los microorganismos mesófilos (hongos y bacterias acidificantes) y la temperatura se eleva hasta unos 40º C. La fase termófila, fase en la que se alcanzan las más altas temperaturas (60-80 ºC), degradándose los polímeros menos complejos y que puede durar varias semanas o meses dependiendo del contenido de celulosa y hemicelulosa en el material de partida. En ella predominan los microorganismos termófilos y sobrepasando los 60ºC, los hongos termófilos responsables de la descomposición de la celulosa y hemicelulosa cesan su actividad (Jorge-Mardomingo, *et al.*, 2015; Joergensen, *et al.*, 2008), sin embargo, dado que se produce un gradiente de temperatura, éstos permanecen activos en zonas periféricas. En cuanto a las bacterias termófilas, también tienen un comportamiento similar a los hongos (Fulekar, 2010; El Ouaquodi *et al.*, 2019). Estas al principio descomponen las proteínas, carbohidratos y lípidos, y finalmente hemicelulosa y lignina (El Ouaquodi *et al.*, 2014). Cuando desciende la temperatura se alcanza la fase con mayor tasa de degradación, llegando a la fase de enfriamiento y maduración, donde la temperatura desciende de los 35 – 40 ºC, y disminuye la tasa de descomposición con una materia orgánica menos biodegradable y empiezan a descomponerse los polímeros complejos, disminuye la actividad microbiana y la temperatura del material no varía (Figura 1.4).

Este proceso reduce el peso y volumen de los residuos, asegurando la higienización del material obteniendo un compost de gran interés agronómico, pues la materia orgánica estabilizada a partir de estos residuos puede incorporarse posteriormente al suelo en su utilización como sustrato o abono. En España, mediante composteo de residuos sólidos

municipales y los microorganismos autóctonos, se obtuvo a nivel piloto un fertilizante orgánico que fue utilizado para el cultivo de tomate. En estudios de composteo de residuos de poda, con residuos orgánicos municipales y lodos de una planta de tratamiento para obtener una composta de vivero, donde se pudo apreciar el crecimiento del arbusto *Pistacia lenticus*. A nivel piloto, el compostaje de residuos provenientes de la extracción del aceite de oliva, restos de poda de olivos, paja de arroz, o estiércol de oveja y de caballo con adición de urea fue llevada a cabo por la flora microbiana presente en los residuos utilizando diferentes proporciones y relaciones (Carbonell *et al.*, 2011).

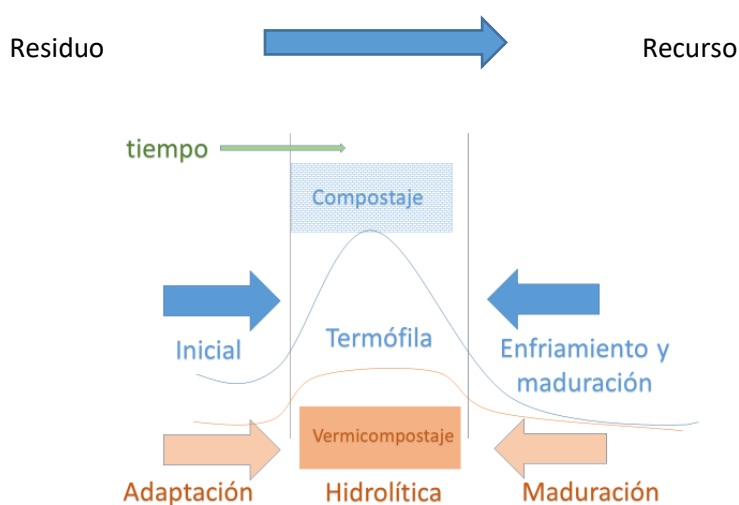


Figura 1.4. Etapas y evolución de la temperatura en los procesos de compostaje y vermicompostaje

El proceso de vermicompostaje es una biooxidación y transformación de la materia orgánica mediante la acción combinada de lombrices y microorganismos en condiciones aeróbicas y mesófilas. El material inicialmente tratado de forma similar al del compostaje debe encontrarse con un mayor contenido de humedad (80-85%) dispuesto en camas de escasa altura, lo cual condiciona que la temperatura del material no se incremente por encima de la temperatura ambiente. A ese conjunto comúnmente en climas templados se incorporan lombrices del tipo *Eisenia foetida* y se incorporan tanto residuos de ganado como vegetales (Fernández-Gómez *et al.*, 2011; Moya *et al.*, 2019).

En el vermicompostaje las lombrices y la acción mecánica de este organismo acelera la tasa de descomposición de la materia orgánica que se produce a menor temperatura que en el compostaje. En la fase inicial, ocurre una adaptación de la población de lombrices al material orgánico base, con un período previo a la inoculación de la biomasa de lombrices en donde la materia orgánica deber haber experimentado una fase de colonización primaria de

microorganismos descomponedores y poseer cierto grado de transformación. Posteriormente comienza la fase hidrolítica en donde la acción conjunta lombriz/microorganismos, acelera la tasa de descomposición (Ferruzi, 2007; Nogales *et al.*, 2005; Moya *et al.*, 2019).

En ambos procesos en el tiempo se observa una reducción del volumen de materia orgánica (por liberación de CO₂) con cambios fisicoquímicos de pH, CE, olor, aspecto, etc, que indican la finalización del proceso de descomposición. Llegando al período final de maduración o curado y la transformación de estos biorresiduos origina productos útiles. Así, se convierten los residuos en recursos produciéndose su valorización, y siendo una de las principales aplicaciones del compost y vermicompost su utilización como enmienda orgánica o como sustrato vegetal (Ali *et al.*, 2007; Cai *et al.*, 2015).

En el estudio de estos procesos compostaje y vermicompostaje, se precisa un control exhaustivo de los productos iniciales y finales, proporciones, procesos y condiciones, siendo importante realizar el estudio detallado de la materia orgánica transformada mediante la determinación de las sustancias húmicas, utilizando técnicas avanzadas como FTIR, C-RMN, microscopía electrónica de barrido durante las distintas etapas del proceso de compostaje. Finalmente se podrá obtener un producto útil con gran cantidad de propiedades como sustrato, como abono e incluso como bioplaguicida dadas las propiedades supresivas de patógenos de estos productos finales (Hoitink *et al.*, 1997; Avilés *et al.*, 1999; Boulter *et al.*, 2002b; Bailey *et al.*, 2003; Chroni *et al.*, 2009; Albrecht *et al.*, 2010; Dambolena *et al.*, 2012; Ciancio *et al.*, 2016; De Corato *et al.*, 2016)

Otro aspecto importante es la contribución de la biotecnología para mejorar los efectos de los compost y vermicompost (Abaye *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2015; Fang *et al.*, 2017; Urra *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2019).

Los estudios de los efectos supresivos de compuestos procedentes de compostaje y vermicompostaje su aplicación y control aportan gran información en la aplicación de estos bioplaguicidas y evita el gran consumo de plaguicidas sintéticos en los cultivos. En este contexto, López *et al.*, (2010) obtuvieron a nivel piloto, un bioplaguicida utilizado para el control de plagas en plantaciones de melón.

1.3.1. Compost y vermicompost como enmienda orgánica

La aplicación de los compost y vermicompost a los suelos debe realizarse bajo diferentes criterios y precauciones. En primer lugar, estas enmiendas orgánicas deben reunir unas características y requisitos concretos para su utilización, tales como el contenido en materia orgánica, pH, N y relación C/N entre otros (Tabla 1.9).

Tabla 1.9. Requisitos para enmiendas orgánicas del grupo 6 (BOE, 1/4/2008) RD. 999/2017 6 dic 2017 reglamento UE 1009 de 2019

Denominación del tipo	Informaciones sobre la forma de obtención y los componentes esenciales	Contenido mínimo y máximo (porcentaje en masa) Otros requisito	Otras informaciones sobre la denominación del tipo o del etiquetado	Contenido en nutrientes que deben declararse y garantizarse. Formas y solubilidad de los nutrientes. Otros criterios
Enmienda orgánica Compost de estiércol	Producto higienizado y estabilizado, obtenido mediante descomposición biológica aeróbica (incluyendo fase termofílica), exclusivamente de estiércol, bajo condiciones controladas	Materia orgánica total: 35% Humedad máxima: 40% C/N < 20. No podrá contener impurezas ni inertes de ningún tipo tales como: piedras, gravas, metales, vidrios o plásticos.	pH Conductividad eléctrica. Relación C/N. Humedad mínima y máxima. Tratamiento o proceso de elaboración, según la descripción indicada en la columna 3	Materia orgánica total C orgánico. N total (si supera el 1%). N orgánico (si supera el 1%). N amoniacal (si supera el 1%). P ₂ O ₅ total (si supera el 1%). K ₂ O total (si supera el 1%). Ácidos húmicos. Granulometría.
Enmienda orgánica Vermicompost	Producto estabilizado obtenido a partir de materiales orgánicos, por digestión con lombrices, bajo condiciones controladas	Materia orgánica total: 30%. Humedad máxima: 40%. C/N < 20. El 90% de las partículas pasarán por la malla de 25 m	pH Conductividad eléctrica. Relación C/N. Humedad mínima y máxima. Se podrán añadir las denominaciones usuales en el comercio	Materia orgánica total C orgánico. N total (si supera el 1%). N orgánico (si supera el 1%). P ₂ O ₅ total (si supera el 1%) K ₂ O total (si supera el 1%). Ácidos húmicos. Granulometría. Tipo o tipos

Además, estos productos son ricos en microorganismos e incluso pueden manifestar propiedades supresoras de enfermedades para los cultivos. Es decir, que la composición microbiana de compost y vermicompost es otro aspecto de su calidad. Así, en los últimos años se ha utilizado la metagenómica para estudiar y evaluar la cantidad y calidad de la microbiota presente en estas enmiendas, así como sus efectos sobre el sistema suelo-planta (Carlson *et al.*, 2006; Fulthorpe *et al.*, 2008; Spain *et al.*, 2009; Hedrich *et al.*, 2011; Cai *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2019; Ellila *et al.*, 2019; Fogler *et al.*, 2019; Jaskulak, 2019; Xue *et al.*, 2019). La información genética microbiana de los sustratos obtenidos puede ser explotada para la innovación biotecnológica. Además, las herramientas moleculares desarrolladas recientemente, también permiten evaluar la genómica del suelo y proporcionar información sobre el efecto de

la aplicación de los compost y vermicompost sobre la microbiota edáfica y sus efectos supresores (Yuan *et al.*, 2013; Awasthi *et al.*, 2019).

1.4. El suelo como receptor y depurador de los biorresiduos

Todo lo anteriormente expuesto pone de manifiesto que el principal receptor de los productos obtenidos al tratar los biorresiduos va a ser el suelo. Así pues, el tratamiento debe ser adecuado para obtener productos de calidad y evitar efectos adversos (Cui *et al.*, 2016).

El sustantivo *orgánico* significa vida, y esta vida aportada al suelo por la materia orgánica procede tanto de la descomposición de los seres vivos, como de la actividad biológica de los organismos vivos que contiene: lombrices, insectos, microorganismos, etc (Figura 1.5). Su descomposición produce un tipo de moléculas complejas formadas por la transformación de los restos que junto a los residuos metabólicos dan origen al humus (Kononova, 1982; Poffenberger *et al.*, 2017).

El humus está formado por un conjunto de sustancias de distinto origen, se compone de un complejo de macromoléculas en estado coloidal en constante evolución y degradación que está constituido por compuestos entre los que predominan proteínas, azúcares, ácidos orgánicos, minerales, sales, etc. (Stevenson, 1994; Brown *et al.*, 2014).

El término materia orgánica se refiere a los compuestos de origen orgánico denominados materia orgánica fresca compuesta por restos de animales, plantas y microorganismos, transformados de forma incompleta los cuales serían el primer paso de la obtención de las macromoléculas húmicas, mientras que la materia orgánica transformada incluye tanto a los productos resultantes de la descomposición avanzada de residuos orgánicos y síntesis microbiana, es decir sustancias no húmicas, y por otro lado a las sustancias húmicas, macromoléculas complejas formadas por productos orgánicos.

Las *sustancias orgánicas no húmicas* son fuente de elementos nutritivos para las plantas (nitrógeno, potasio, fósforo, etc.) y fuente de CO₂ para la atmósfera del suelo. Se encuentran además incluidas sustancias orgánicas originadas por la síntesis microbiana (vitaminas, fitorreguladores, etc.), otros compuestos procedentes de la descomposición de restos animales, vegetales y de la biomasa microbiana, así como compuestos orgánicos procedentes de la rizodeposición tales como son los exudados, secreciones, etc.. Se compone principalmente de carbohidratos, compuestos fenólicos, compuestos nitrogenados, grasas, ceras y resinas junto a otros compuestos que presentan en su composición los restos vegetales tales como lignocelulosas constituidas por celulosa en un 15-60 %, hemicelulosa entre el 10-30 %, lignina de 5-30% y de 2-5% de proteínas. En una menor proporción se encuentran los fenoles, azúcares,

aminoácidos y péptidos, así como numerosos metabolitos secundarios. Todos ellos en mayor o menor proporción se utilizan como nutrientes y fuente de energía para el crecimiento microbiano (Castellano *et al.*, 2015; Hu *et al.*, 2011).

MATERIA ORGÁNICA FRESCA O LABIL

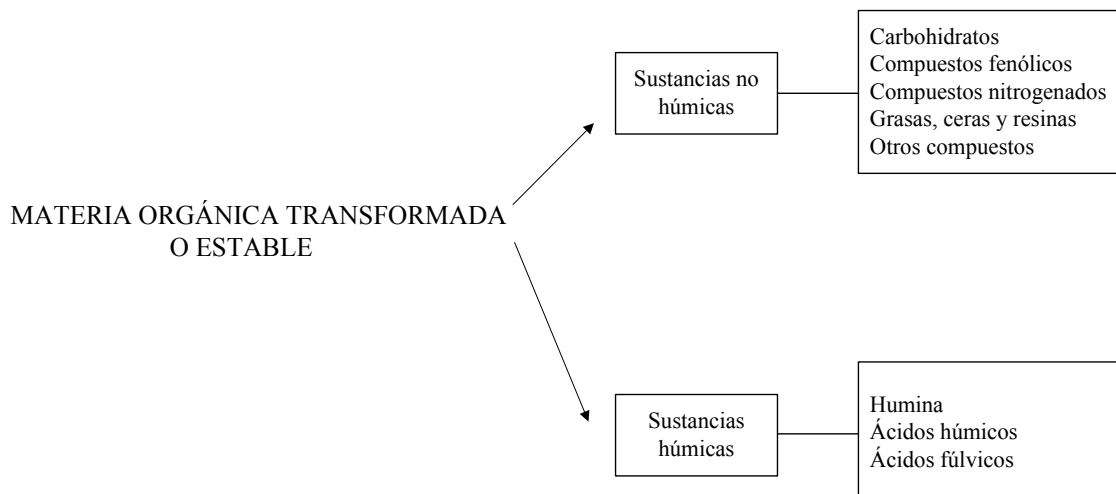


Figura 1.5. Fracciones constituyentes de la materia orgánica del suelo (Keiluweit *et al.*, 2009).

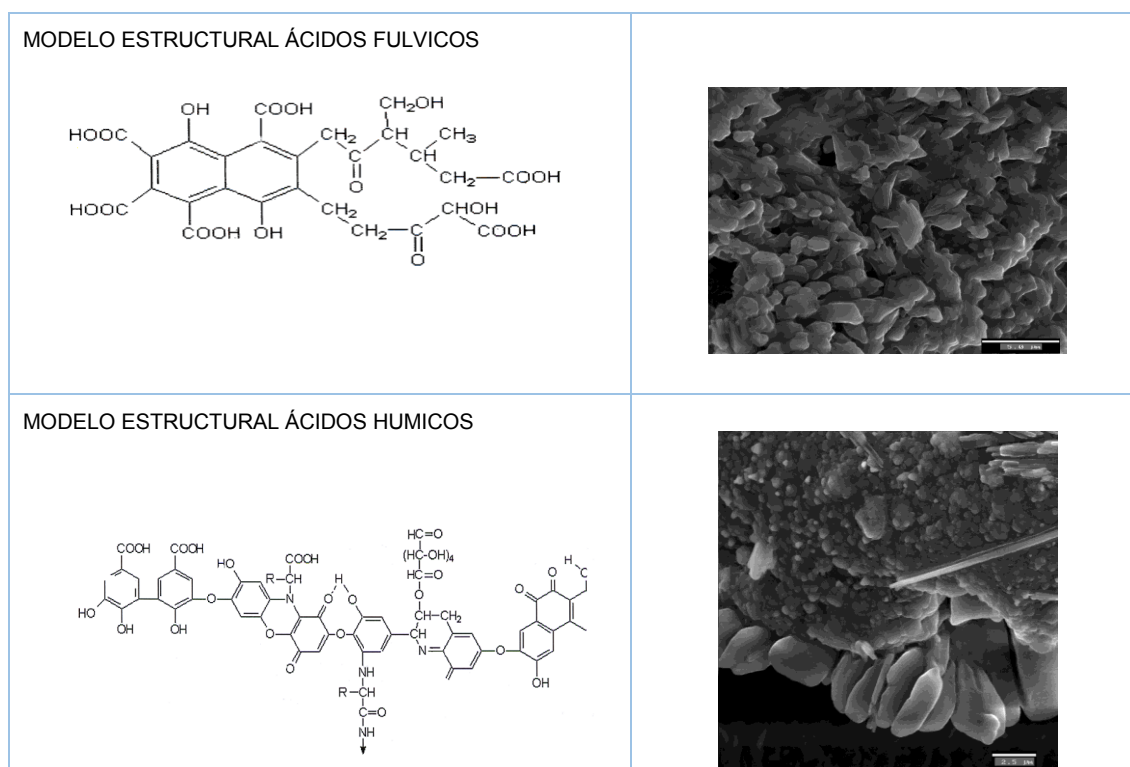


Figura 1.6. Modelos estructurales de la materia orgánica (Tan, 2014).

Las *sustancias húmicas* incluyen un conjunto de sustancias, entre las que se encuentran un grupo heterogéneo de sustancias muy polimerizadas, de peso molecular relativamente alto,

de color oscuro, con propiedades coloidales e hidrofílicas marcadas, que presentan una alta capacidad de intercambio iónico y que engloban compuestos aromáticos y alifáticos en sus moléculas (Wang *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2017; Yue *et al.*, 2017) (Figura 1.5 y 1.6).

1.4.1. Transformación de la materia orgánica

La materia orgánica en el suelo, sufre diferentes procesos de transformación hasta llegar a sus componentes elementales macro y microelementos que la planta puede tomar (King *et al.*, 2019). En un primer paso los constituyentes básicos: proteínas, hidratos de carbono, y ácidos orgánicos complejos, sufren una transformación de su estructura denominada *mineralización rápida*, hacia compuestos más sencillos, los cuales por acción microbiana pasaran a mineralizarse formando formas inorgánicas, solubles (PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , NO_3^-) o gaseosas (CO_2 y NH_3) (Seremesic *et al.*, 2017).

La fracción de materia orgánica que no se mineraliza en esta primera etapa, es sometida a resíntesis y polimerización, a través del proceso de *humificación* dando lugar a macromoléculas más complejas que se denominan sustancias húmicas y que presentan características y propiedades diversas. Estos compuestos sufrirán una *mineralización lenta* debido a su mayor complejidad llegando finalmente a ser componentes elementales (Figura 1.7).

Los responsables de la transformación son los organismos del suelo tanto macro como microorganismos. Los primeros favorecen el transporte de materiales y su alteración inicial, para ser los microorganismos que viven en el suelo los responsables de las últimas fases de su transformación (Labrador, 1996, Castellano *et al.*, 2015).

Las sustancias húmicas son complejas agrupaciones macromoleculares en las que las unidades fundamentales son compuestos aromáticos de carácter fenólico procedentes de la descomposición de la materia orgánica y compuestos nitrogenados, tanto cíclicos como alifáticos sintetizados por ciertos microorganismos presentes en la biomasa. Las moléculas precursoras son aquellas de las que proceden las sustancias húmicas (Keiluweit *et al.*, 2009) (Figura 1.8).

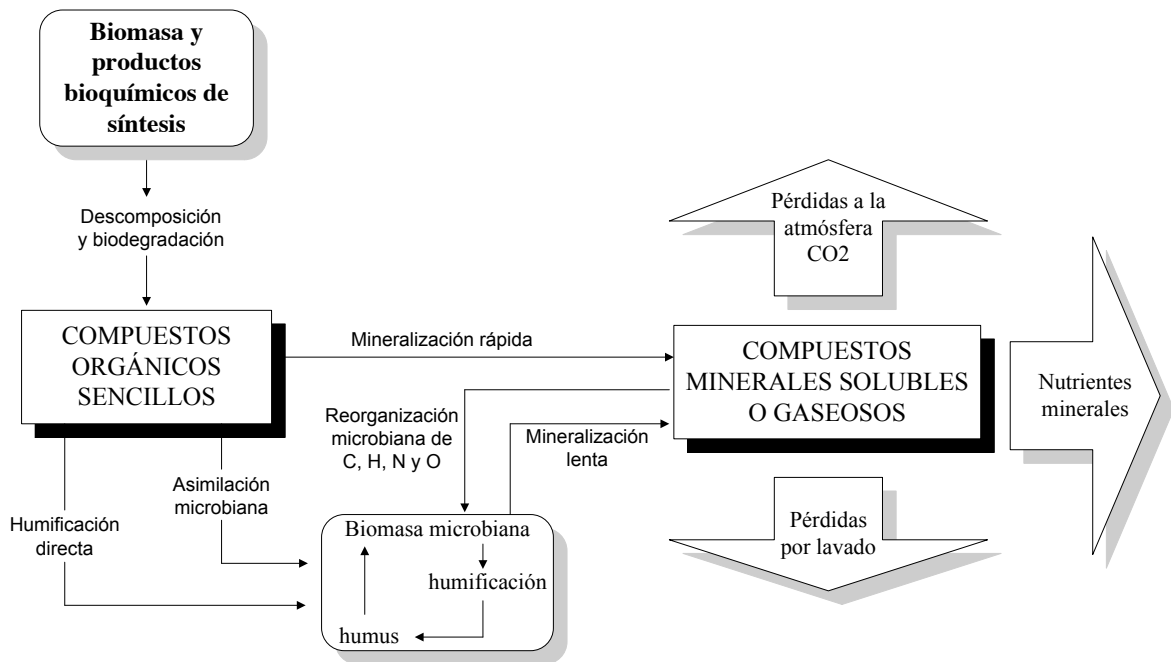


Figura 1.7. Esquema simplificado de la transformación de la materia orgánica. Adaptado de Porta (1994)

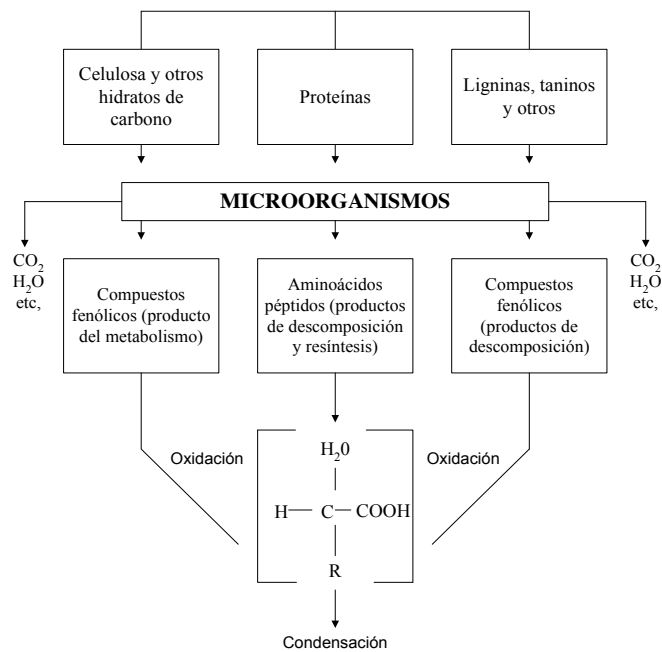


Figura 1.8. Transformación de las sustancias húmicas. (Adaptado de Villamil *et al.*, 2015)

1.4.2. Factores que influyen en la transformación de la materia orgánica del suelo

La mineralización y la humificación dependen a su vez de factores externos como el clima, el suelo, la acción humana, etc., e internos como la composición del material orgánico, etc., (Tabla 1.10).

Tabla 1.10. Factores que influyen sobre la transformación de la materia orgánica (Costa, 1991; Villamil *et al.*, 2015)

Factor	Tipos de influencia	
Vegetales	Composición de los restos orgánicos	Composición bioquímica, contenido en nitrógeno y carbono, potencial húmico de los residuos, labilidad y estabilidad, contenido en sustancias bioactivas
	Tamaño de los restos vegetales	Influye en la velocidad de descomposición y asimilación en el suelo
Organismos	Descomponen, mineralizan, transforman los constituyentes de restos orgánicos	Resintetizan sustancias a través de su metabolismo (aminoácidos, proteínas, aminoazúcares) que participan como unidades estructurales en la formación de macromoléculas húmicas
Climáticos	Pluviosidad, temperatura	Latitud, altitud, secuencias climáticas, heladas, sequías, etc.
Edáficos	Textura, arcilla, constituyentes minerales del suelo	Complejo de cambio y tipos de arcillas
	Riqueza en bases, nutrientes	pH y % de saturación
	Aireación y humedad	% de saturación hídrica, porosidad y Eh
Antrópicos	Roturación y puesta en cultivo	Alteración del equilibrio biológico, Sustitución de la vegetación natural, alteración de la horizontalización natural del suelo, cambios edafoclimáticos, contaminación química, alteración del paisaje, etc.

La velocidad de descomposición inicial de los **residuos vegetales** se relaciona en líneas generales con su estructura molecular y su composición química total. Estudios realizados con análisis isotópico indican que las moléculas persistentes en los suelos (tales como ligninas o lípidos de plantas) evolucionan más rápidamente que el conjunto de la materia orgánica. Mientras que otros compuestos potencialmente lábiles, tales como azúcares, pueden permanecer durante décadas, debido a que ciertos compuestos necesitan realizar un cometabolismo con otros compuestos ausentes, o bien ciertas condiciones microambientales restringen el acceso (o actividad) de los enzimas descomponedores (por ejemplo, la hidrofobicidad, la acidez del suelo, o su absorción por la superficie) (Nanipieri *et al.*, 1994).

Clase de compuestos químicos

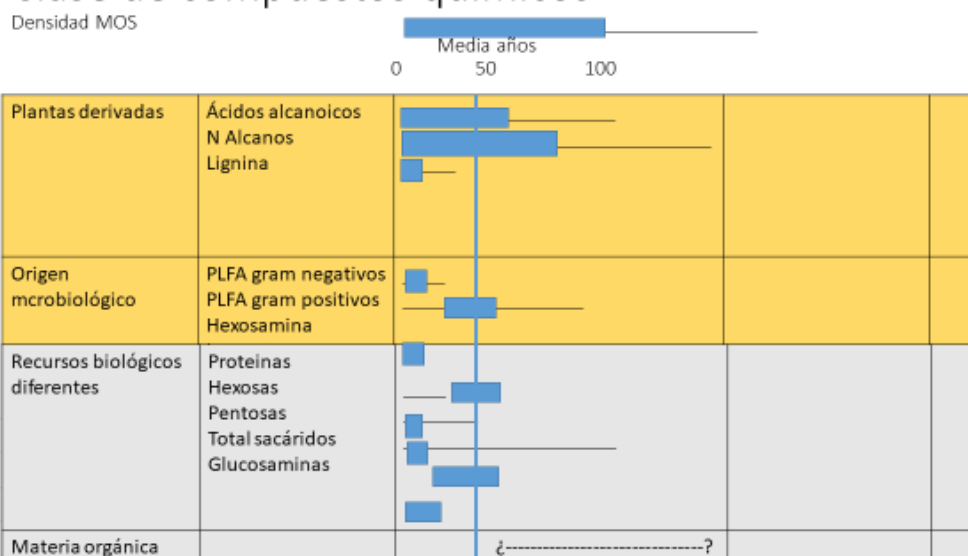


Figura 1.9. Tasas descomposición de la materia orgánica (adaptado de Nanipieri *et al.*, 2011)

Según Nanipieri *et al.*, (1994), la estructura molecular no es un factor decisivo que afecta a la descomposición a largo plazo de materia orgánica del suelo (MOS). Ciertas moléculas de origen vegetal (clásicamente, de cadena larga ácidos alcanoicos, n-alcanos, lignina y otros tejidos estructurales) a menudo persisten más que otros, mientras que la biomasa vegetal se va desgastando (Nanipieri, 1994). En el suelo mineral, sin embargo, estos componentes relativamente persistentes parecen pasar más rápido que la mayor parte del suelo (parte superior de la Figura 1.9). Nanipieri indicó como excepción a los suelos incendiados con materia orgánica (parte inferior del gráfico) incluso componentes que aparecen químicamente lábiles, incluyendo proteínas y sacáridos de origen vegetal y microbiano pueden tardar años o incluso décadas en transformarse. Por lo tanto, con el tiempo, la importancia de la calidad inicial se desvanece y los compuestos inicialmente rápidos en transformarse son propensos a persistir.

Por otra parte, el carbono procedente de las raíces es retenido en los suelos mucho más fuertemente que el procedente de hojas debido al predominio de estructuras moleculares formadas por microorganismos como son aquellos formadas por los micelios de hongos (Tabla 1.11).

Tabla1.11. Carbono en suelos según modelos ecológicos (Nanipieri *et al.*, 1998)

		Propiedades de los modelos publicados	Recomendaciones
1	Estructura molecular	Tasa de descomposición general con clave de sustrato (o textura en modelos de tipo CENTURY) y modificada por humedad y temperatura como Q10 constante por encima de 0°C	Tasa de descomposición del modelo en función de las propiedades y posiciones del sustrato en el microambiente, la actividad microbiana y las condiciones del suelo, incluyendo pH, temperatura y humedad (4, 5, 6, 8)
2	Sustancias húmicas	Tener un contenido recalcitrante intrínseco creciente debido a la descomposición y síntesis	Reemplazar la evolución por el ciclo de materia orgánica dentro y fuera de la biomasa microbiana (1,8)
3	Cartón derivado del fuego	No incluye residuos como entradas o SOM. No representa la descomposición de sustratos análogos	Añadir vía de entrada para el carbono derivado del fuego. Añadir compuestos aromáticos a los tipos SOM
4	Raíces	Parametrizar la calidad de la hojarasca con el estudio de la química de la hoja. Tener insumos de carbono orgánico disuelto y de raíz simplificados	Utilizar caracterizaciones separadas para entradas bajo tierra y sobre el suelo (6)
5	Heterogeneidad física	Carecer de procesos físicos, como la agregación (algunos tienen factor de labranza), la heterogeneidad espacial o los procesos que producirían un efecto de cebado	Distribuciones de probabilidades no normales, términos dependientes de la densidad para materia orgánica y biomasa microbiana. Parámetros de modelos 3D de resolución fina.
6	Profundidad del suelo	No hay cambios en los procesos ni velocidades constantes con respecto a la profundidad de suelo o entrada de carbono. Se requiere un ajuste a nivel de sitio para reproducir largos tiempos de turnover	Asociaciones minerales, e insumos orgánicos, y desagregación física. Resolución de profundidad explícita para la descomposición y el transporte
7	Permafrost	Faltan procesos que rigen el ciclo de carbono del suelo de permafrost. Falta de biogeoquímica de metano totalmente acoplada	Agregación de la limitación de O ₂ y liberación de los efectos en la producción de CO ₂ y CH ₄ . Desarrollar columnas de suelo para representar la inundación, el deshielo del permafrost y el termokarst.
8	Microorganismos del suelo	Tratar la biomasa microbiana como piscina de carbón activo. Falta de efectos de la comunidad microbiana o enzimas o tasas y productos de descomposición	Crear y modelar tipos funcionales microbianos, análogos a los tipos funcionales de la planta. Introducir ciclo de nitrógeno del suelo completo acoplado y/o ciclo de carbono

El papel de los organismos en el proceso de transformación es decisivo, los microorganismos descomponen, mineralizan y transforman los restos orgánicos (Figura 1.10). Su efecto se observa desde un papel macroscópico como trituradores de restos vegetales, hasta

en su papel como resintetizadores de compuestos propios de su metabolismo que participan como unidades estructurales en la formación de las macromoléculas húmicas.

	
<p>La fragmentación de los restos acelera los procesos que definen la transformación de la materia</p>	<p>El manejo intensivo de los suelos de cultivo, modifica la cubierta vegetal influyendo en el tipo de humus y la evolución del perfil edáfico</p>
	
<p>El clima condiciona la vegetación y los distintos tipos de humus formados</p>	<p>Las suelas de labor producidas por compactación impiden el óptimo drenaje de agua, creando zonas de anaerobiosis, no aptas para la vegetación y los organismos aerobios.</p>
 <p>Cuando el pH es un factor limitante, el encalado o la adición de residuos en los suelos agrícolas, optimiza las condiciones de humificación de la materia orgánica</p>	

Figura 1.10. Factores que influyen sobre la transformación de la materia orgánica

Tabla 1.12. Factores que afectan a la transformación de la materia orgánica en el suelo

Organismos	Descomponen, mineralizan, transforman los constituyentes de restos orgánicos	Resintetizan sustancias a través de su metabolismo (aminoácidos, proteínas, aminoazúcares) que participan como unidades estructurales en la formación de macromoléculas húmicas
Climáticos	Pluviosidad, temperatura	Latitud, altitud, secuencias climáticas, heladas, sequías, vientos locales, evapotranspiración etc.
Edáficos	Textura, arcilla, constituyentes minerales del suelo	Complejo arcillo húmico y tipos de arcillas
	Riqueza en bases, nutrientes	pH y porcentaje de saturación
	Aireación y humedad	Porcentaje de saturación hídrica, sortividad, porosidad, infiltración y Eh
Antrópicos	Roturación y puesta en cultivo	Alteración del equilibrio biológico, Sustitución de la vegetación natural, alteración de la horizontalización natural del suelo, cambios edafoclimáticos, contaminación química, alteración del paisaje, etc.

Los residuos orgánicos se descomponen a través de las acciones sinérgicas de las lombrices de tierra y las comunidades microbianas. Se ha demostrado que el vermicompostaje reduce eficazmente la biomasa orgánica y genera fertilizantes de alta calidad para las plantas, pero poco se sabe sobre las comunidades bacterianas que participan en este proceso de descomposición. Los procesos biológicos están caracterizados por la sucesión bacteriana implicada en el vermicompostaje que cambia y aumenta la composición de la comunidad bacteriana (riqueza y uniformidad), junto al aumento en la diversidad funcional de la comunidad bacteriana, incluyendo la capacidad metabólica, así el papel de la sucesión bacteriana durante el proceso de vermicompostaje proporcionan evidencia de funciones microbianas que pueden explicar los efectos beneficiosos del vermicompost en el suelo y las plantas (Gómez-Brandon *et al.*, 2013; Aira *et al.*, 2018).

Como factores que afectan a la transformación de la materia orgánica en suelos la Tabla 1.10 resume los más importantes entre los que se encuentran los factores edáficos, climáticos y antropogénicos, así como el papel de los microorganismos del suelo.

1.5. Los residuos y la Economía circular

Es frecuente el uso del compost como sustrato, a partir del aprovechamiento de numerosos residuos como los hortícolas, restos de poda en combinación con biosólidos, lodos residuales, residuos vitivinícolas, purines o gallinaza (Fornés *et al.*, 2012, Boluda *et al.*, 2018). Los resultados de diferentes estudios en general, indican un desarrollo favorable en la mayor parte de los cultivos a los que se aplica. Khan *et al.*, (2013) realizaron experimentos en macetas con arroz para investigar su influencia sobre el rendimiento de la biomasa, la bioacumulación de nutrientes y las emisiones de metales y gases, observando la reducción significativa de las emisiones de N₂O y estimulación de la oxidación de CH₄ lo suficiente como para hacer del suelo de arroz cultivado un reservorio de estos gases.

Por último, mencionar la problemática planteada sobre la utilización de los productos obtenidos por compostaje y vermicompostaje, y su la adición sobre la planta junto a diversos productos farmacéuticos y su persistencia en suelo, raíz y hoja en plantas de cultivo utilizando para ello plantas de lechuga (Alvarenga *et al.*, 2015; Idrovo-Novillo *et al.*, 2019).

Estudios realizados por Roca *et al.*, (2018) en relación a los parámetros de fertilidad producida por la aplicación de diferentes tipos de compost en cultivos de lechuga, mostraron cambios en la fertilidad química en parámetros como la conductividad eléctrica que se incrementa ligeramente sin afectar al cultivo de lechuga, la capacidad de intercambio catiónico y el contenido en materia orgánica aumentando en función de la dosis de compost aplicada. Esta misma tendencia fue observada para el contenido en nitrógeno, fósforo asimilable, y las bases de cambio. Los resultados biométricos en el cultivo de lechuga de estos autores muestran un incremento en perímetro, altura, peso fresco, peso y área de las hojas, siendo la dosis óptima la del 2% de compost para un máximo rendimiento, en los ensayos que no se aplicó ningún tipo de fertilización.

En el siglo XXI y de cara a la sostenibilidad la Unión Europea apuesta por la Economía Circular (Asamblea de París, 2015). Contrariamente a lo que se ha venido haciendo en el siglo pasado: producir, *consumir, utilizar y tirar*, ahora el modelo económico se puede cambiar hacia una sostenibilidad donde los materiales se procesan y los residuos se *recuperan, rehabilitan, reparan, reutilizan y reciclan*.

Nuestra economía se basa en un modelo lineal, basado en “tomar-fabricar-consumir-eliminar”. Este modelo es agresivo con el medio y agotará nuestras fuentes de suministro, tanto materiales como energéticas.

En el modelo lineal de la Unión Europea tan solo un 3% de residuos se aprovecharon a pesar que sería fácil doblar esta cantidad. Autores como Swagemakers *et al.*, (2017) en un estudio realizado para explorar sinergias entre la ganadería y la conservación del paisaje en Galicia apuntan a que además de la pérdida de recursos existen otros indicadores de la insostenibilidad de la economía lineal: dependencia de las materias primas, lo que conlleva un riesgo asociado al suministro, precios elevados de las mismas y con mucha volatilidad, así como una reducción significativa del capital natural, entre otros indicadores, además de las consiguientes pérdidas económicas.

La economía circular se basa en maximizar los recursos disponibles, tanto materiales como energéticos, para aumentar su permanencia el mayor tiempo en el ciclo productivo, reduciendo todo lo posible la generación de residuos y a aumentar el aprovechamiento al máximo de aquellos cuya generación no se haya podido evitar. Esto se aplica tanto a los ciclos biológicos como a los ciclos tecnológicos. Así se extraen materias primas, se fabrican productos y los residuos generados se reincorporan de nuevo al proceso productivo (Geissdoerfer *et al.*, 2017; Haynes *et al.*, 2017).

El camino hacia el desarrollo sostenible implica crear coherencia y sinergias en las complejas relaciones entre los sistemas económicos y ecológicos (Swagemakers *et al.*, 2017). Para facilitar el éxito de su aplicación los productos deben ser concebidos para que sean reutilizables, reparables, actualizables, con un mayor tiempo de vida útil, y reciclables cuando se convierten en residuos, para que los materiales que se emplearon en su fabricación estén en el ciclo económico el mayor tiempo posible, y para que cuando se conviertan en residuos puedan gestionarse más fácilmente mediante reciclado. Y como punto básico se deben recuperar los materiales contenidos en los residuos mediante un reciclado de alta calidad, siendo preferible antes que el vertido, la opción de valorización energética.

Los actores sociales más importantes para llevar a cabo la economía circular son la ciudadanía y los municipios, en un futuro llegaran muchas ayudas de Europa para llevar acciones en los municipios con vía a la sostenibilidad y economía circular.

De hecho, en julio de 2019 *la revista RETEMA* anuncia que diferentes instituciones y bancos nacionales de fomento europeos y el Banco Europeo de Inversiones (BEI) han lanzado en Luxemburgo la Iniciativa Conjunta para la Economía Circular apoyando el desarrollo y la aplicación de proyectos y programas de economía circular en la Unión Europea (UE). La asociación destinará un mínimo de 10.000 millones de EUR en inversiones durante los próximos cinco años (2019-2023). El objetivo es evitar y eliminar los residuos, aumentar la eficiencia en el uso de los recursos y fomentar la innovación mediante la

promoción de la circularidad en todos los sectores de la economía (Lacovidou *et al.*, 2107a; Lacovidou *et al.*, 2107b). Esta iniciativa Conjunta para la Economía Circular (ICEC) destinará préstamos, inversiones de capital o garantías a proyectos admisibles y desarrollará estructuras de financiación innovadoras para infraestructuras públicas y privadas, municipios y empresas privadas de diferente tamaño, así como para proyectos de investigación e innovación. La ICEC se basa en las iniciativas en curso dirigidas por la Comisión Europea para impulsar el conocimiento a través de grupos de trabajo especializados y desarrollar planes de financiación.

Las ayudas se centrarán especialmente en las inversiones en los Estados miembros de la UE que contribuirán a acelerar la transición hacia una economía circular y se centrará en todas las etapas de la cadena de valor y en el ciclo de vida de los productos y servicios, desde el diseño y producción circular con estrategias de reducción y reciclaje, un uso circular y prolongación de la vida útil la recuperación de valor y el apoyo circular.

Con esta estrategia (Hoyer, 2019; en RETEMA) se fortalecería la economía circular una de las herramientas más poderosas con las que contamos que no sólo ayudará a alcanzar los objetivos del Acuerdo de París, sino que también aportará enormes beneficios a la economía y a la sociedad ampliando objetivos y uniendo esfuerzos para detener la marea de residuos.

Así pues, la eliminación y el reciclado de residuos son aspectos básicos para llevar a cabo de manera exitosa las directrices de la economía circular. Numerosos artículos científicos (Vea *et al.*, 2018; Bocken, *et al.*, 2017; Wan *et al.*, 2018; Mosquera-Losad *et al.*, 2010; Rigueiro- Vea *et al.*, 2018; Swagemakers *et al.*, 2018; Gu *et al.*, 2019) sugieren que la gestión sostenible del suelo podría aumentar la producción de alimentos sin perjudicar los recursos hídricos ni el sistema edáfico. Las prácticas agronómicas mejoradas incluyen el uso de enmiendas orgánicas, laboreo mínimo y el aprovechamiento de los residuos, entre otras. Estas prácticas también pueden ofrecer beneficios en forma de emisiones reducidas de gases de efecto invernadero, menor uso de fertilizantes y mayor almacenamiento de carbono en suelos. Los resultados de diferentes proyectos enmarcados en estas temáticas han demostrado que el manejo adecuado de residuos sólidos orgánicos mediante compostaje y el empleo del compost obtenido permiten lograr objetivos como: residuo cero, minimizar la emisión de gases, disminuir el uso de fertilizantes, incrementar la fijación de carbono orgánico y mejorar la calidad del suelo, así como el rendimiento y la calidad de productos vegetales (Guisellini *et al.*, 2016).

Satisfacer las necesidades de las generaciones presentes sin comprometer las posibilidades de las generaciones del futuro para atender sus propias necesidades, fue el objetivo establecido en la Cumbre de Río en 1992, que sigue siendo plenamente válido en la actualidad. Para ello se requiere conjugar aspectos económicos, sociales y ambientales de

las actividades humanas, tratar de progresar sin destruir el medio ambiente (Murray *et al.*, 2017).

La Directiva 2008/98/CE Marco de Residuos, modificada por la orden del 19, establece como obligación para los Estados miembros la elaboración de programas de prevención y de planes de gestión de residuos, la aplicación del principio de jerarquía en la gestión de residuos es clave para avanzar en la economía circular. La prevención de la generación de residuos y la valorización, en primer lugar, material (reciclado) y después plan energético, de aquellos residuos cuya generación no pueda evitarse, son las claves del principio de jerarquía. La aplicación de los planteamientos de la jerarquía de residuos implica: prevención, reutilización, valorización y eliminación (Bocken *et al.*, 2017) (Figura 1.11).

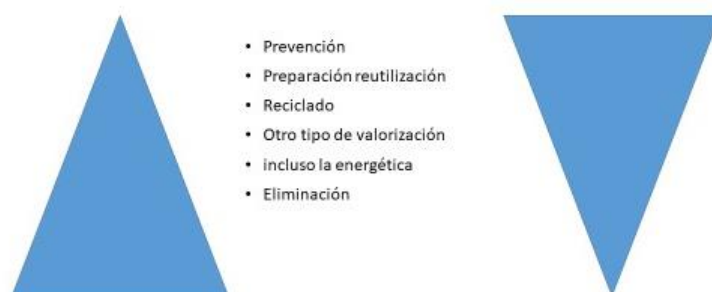


Figura 1.11. Jerarquía Europea en la Gestión de residuos

La prevención es la forma más eficiente de evitar los daños al medio ambiente causados por la generación y la gestión de los residuos siendo un elemento clave para la protección ambiental integrando políticas de ámbitos muy diferentes (industrial, de empleo, economía social, de investigación, desarrollo e innovación, de consumo, de gestión de residuos, educativas, etc.), permitiendo rentabilizar las inversiones públicas que en esta materia se han venido haciendo en las últimas décadas. Igualmente, autores como Vivero-Pol *et al.*, (2017) indican que la comida no debe ser una mercancía, animando a explorar los vínculos entre las valoraciones normativas y la agencia en la transición alimentaria, y organizar el apoyo público para desarrollar modos de gobierno colaborativos en las zonas rurales (Wellbrock *et al.*, 2013; Jongerden *et al.* 2014; Brunori *et al.*, 2016; Reed *et al.*, 2018).

El Real Decreto 110/2015, incorpora a nuestro ordenamiento la mencionada Directiva, e incluye importantes novedades orientadas a lograr el adecuado cumplimiento de los objetivos y obligaciones comunitarias en materia de gestión de residuos, a través de un sistema más eficiente y coordinado y que delimite claramente las responsabilidades de

cada uno de los actores que intervienen en la generación, recogida y gestión de los diferentes residuos.

Por otra parte, la Comisión Europea presentó en diciembre de 2015 el Plan de Acción para una economía circular en Europa. Dicho Plan tiene como objetivo señalar las diferentes medidas (hasta un total de 54) sobre las que la Comisión Europea estima que es necesario actuar en los próximos 5 años para avanzar en la economía circular. Las medidas afectan: por un lado, a las diferentes etapas del ciclo de vida de los productos (diseño y producción, consumo, gestión de residuos y aprovechamiento de los recursos contenidos en los residuos mediante su reintroducción en la economía) y a cinco áreas que la Comisión considera prioritarias (los plásticos, el desperdicio alimentario, las materias primas críticas, la construcción y la demolición y la biomasa y productos con base biológica). Así mismo, el plan incluye también un apartado horizontal relativo a la innovación y a las inversiones y un calendario para las 54 medidas (Figura 1.11).

En una futura bioeconomía circular se incluirían los biorresiduos, la idea es explotar los biorresiduos para la producción de bioproductos de alto valor. Entre ellos se incluirían aquellos biorresiduos procedentes de la agricultura y de la elaboración de alimentos como materia prima (Abad *et al.*, 2002; Aalok *et al.*, 2008; Lu *et al.*, 2012; Abbasi *et al.*, 2015; Lores *et al.*, 2016; Veaa *et al.*, 2018; Loicia *et al.*, 2019;). O también algunos autores proponen cambios en las políticas para aplicaciones de lodos de aguas residuales dentro de una perspectiva de economía circular. Rigueiro-Rodríguez, (2018) indica que la eliminación más adecuada de los lodos de aguas residuales debe ser su aplicación a suelos agrícolas, para mejorar su fertilidad y al mismo tiempo ayudar a la sostenibilidad y contribuir a la bioeconomía y economía circular. Mosquera-Losada *et al.*, (2010), recomiendan la digestión anaeróbica y el compostaje de lodos de aguas residuales para reducir la contaminación microbiana y los olores, así como para favorecer el uso agronómico.

Las nuevas tecnologías evolucionan hacia la mejora, la aplicación y la exploración de nuevos campos, así surge el ciclo de vida "Internet+Reciclaje" un sistema de gestión de residuos asociado a una aplicación móvil realizada a través de un estudio del caso donde todas las actividades relacionadas se modelan hacia el estudio del ciclo de vida (LCA) mejorando el rendimiento medioambiental en la eliminación de residuos. Todas estas tecnologías apoyan y colaboran con las medidas políticas que reconocen la obligación y el papel del productor en la reducción de los impactos de su producto a lo largo de todo su ciclo de vida, incluido el diseño para el medio ambiente y la gestión de residuos al final de su vida útil, extendiendo de esta forma la responsabilidad del productor (Niza *et al.*, 2014; Richter y Koppejan, 2016, Wang *et al.*, 2018).

La Comisión presenta el paquete de economía circular con nuevas normas sobre fertilizantes orgánicos y de desecho en la EU (Economía circular: Nuevo Reglamento para impulsar el uso de fertilizantes orgánicos basados en residuos). Dado que algunos productos fertilizantes no se producen ni comercializan en grandes cantidades, la Comisión propone una armonización facultativa: en función de su estrategia comercial y del tipo de producto, los fabricantes pueden optar por marcar su producto, haciéndolo libremente comerciable en el mercado único de acuerdo con las normas europeas comunes, o hacer que se negocie de acuerdo con las normas nacionales basadas en el reconocimiento mutuo en el mercado único, esto garantiza los principios de una mejor regulación y subsidiariedad.

El Reglamento vigente sobre los fertilizantes de 2003 garantiza la libre circulación en el mercado único, principalmente para los fertilizantes convencionales no orgánicos, normalmente extraídos de minas o producidos químicamente. Estos procesos consumen energía y consumen mucho CO₂. Los productos de fertilización innovadores producidos a partir de materiales orgánicos están fuera del ámbito de aplicación del actual Reglamento sobre los fertilizantes. Por lo tanto, su acceso al mercado único depende del reconocimiento mutuo entre los Estados miembros y, debido a la divergencia de las normas nacionales, a menudo es difícil.

El Reglamento vigente sobre los fertilizantes tampoco aborda las preocupaciones medioambientales derivadas de la contaminación por los fertilizantes del suelo, las aguas interiores, las aguas marinas y, en última instancia, los alimentos

La investigación, la innovación y la inversión se están desarrollando rápidamente, contribuyendo a la economía circular mediante la creación de puestos de trabajo locales y la generación de valor, a partir de materias primas secundarias que de otro modo se eliminarían como residuos.

Las oportunidades de mercado para las empresas que producen productos fertilizantes orgánicos son significativas. Hoy en día sólo se recicla el 5% de los biorresiduos. Según las estimaciones, si se reciclan más biorresiduos, podría sustituir hasta el 30 % de los fertilizantes no orgánicos. Actualmente, la UE importa alrededor de 6 millones de toneladas de fosfatos al año, pero podría sustituir hasta el 30 % de este total mediante la extracción de lodos de aguas residuales, residuos biodegradables, harina de carne y hueso y de estiércol.

El proyecto del Reglamento fue enviado al Parlamento Europeo y al Consejo para su adopción. Una vez adoptada, será directamente aplicable, sin necesidad de transposición al Derecho nacional, después de un período transitorio que permita a las empresas y autoridades públicas prepararse para las nuevas normas.

El año 2015 fue declarado año internacional de los suelos y se llevaron a cabo multitud de eventos científicos y sociales en esta temática. La FAO, bajo el lema “Los suelos sanos son la

base para la producción de alimentos saludables”, elaboró un informe destacando la necesidad de mejorar, proteger y conservar la calidad de los suelos y su funcionalidad con el fin de incrementar la producción y la seguridad alimentaria, ya que el 95% de la producción de alimentos en el planeta depende directa o indirectamente de nuestros suelos. Hasta el año 2050, debido al aumento de la población, es imperativo aumentar un 60% a escala global la producción de alimentos. Por otro lado, la eliminación y el reciclado de residuos son aspectos básicos para llevar a cabo de manera exitosa las directrices de la economía circular. Numerosos artículos científicos sugieren que la gestión sostenible del suelo podría aumentar la producción de alimentos sin perjudicar los recursos hídricos ni el sistema edáfico. Las prácticas agronómicas mejoradas incluyen el uso de enmiendas orgánicas, laboreo mínimo y el aprovechamiento de los residuos, entre otras. Estas prácticas también pueden ofrecer beneficios en forma de emisiones reducidas de gases de efecto invernadero, menor uso de fertilizantes y mayor almacenamiento de carbono en suelos. Los resultados de diferentes proyectos enmarcados en estas temáticas demostrando que el manejo adecuado de residuos sólidos orgánicos mediante compostaje y el empleo del compost obtenido permiten lograr objetivos como: residuo cero, minimizar la emisión de gases, disminuir el uso de fertilizantes, incrementar la fijación de carbono orgánico y mejorar la calidad del suelo, así como el rendimiento y la calidad de productos hortícolas (Boluda *et al.*, 2019).

2. Objetivos

La aplicación de los planteamientos de la jerarquía de residuos implica: prevención, reutilización, valorización y eliminación, siendo el reciclado de residuos aspectos básicos para alcanzar el residuo cero, minimizar la emisión de gases, mejorar la calidad del suelo y el rendimiento de la producción agrícola. La presente Tesis Doctoral abarca una investigación orientada a ampliar y generar conocimientos desde diferentes aspectos; por un lado, se trata de obtener más información sobre la capacidad de distintos residuos de transformarse mediante técnicas de tratamiento, como el compostaje y el vermicompostaje, para convertirlos en productos estables y utilizables en agricultura. Y, por otra parte, la evaluación de estas técnicas de tratamiento de residuos orgánicos para eliminar contaminantes emergentes. El desarrollo de estos aspectos es un camino hacia la sostenibilidad y una contribución importante de cara al desarrollo de la economía circular.

Para llevar a cabo estos objetivos generales se plantearon los siguientes objetivos concretos:

Objetivo 1. Estudio del efecto de los procesos de compostaje y vermicompostaje como técnicas de tratamiento para el reciclado y la valorización de biorresiduos.

Objetivo 2. Evaluación de los productos obtenidos mediante compostaje y vermicompostaje, como agentes de supresividad de algunas especies fitopatógenas.

Objetivo 3. Evaluación de los productos obtenidos por compostaje y vermicompostaje como sustratos para el desarrollo vegetal.

Objetivo 4. Evaluación del proceso de compostaje y vermicompostaje como técnicas de tratamiento de residuos para la eliminación de medicamentos presentes en lodos de depuradora.

Objetivo 5. Estudio del efecto de los compost y vermicompost sobre la degradación de medicamentos en el suelo y la absorción por la planta.

3. Materiales y métodos

En este apartado se describen con detalle todos los experimentos y determinaciones analíticas para llevar a cabo los objetivos anteriormente citados.

3.1. Experimentos de compostaje y vermicompostaje con biorresiduos

En este subapartado se incluye la descripción y diseño de las experiencias realizadas con los distintos tipos de residuos, y la descripción de la experiencia con medicamentos sobre suelo adicionado de compost y vermicompost.

3.1.1. Diseño experimento 1: Compostaje y vermicompostaje de residuos de cítrico, maíz, e higuera

Para llevar a cabo el objetivo 1, en una primera fase se seleccionaron los siguientes materiales: residuo de cítrico (RC), residuo de maíz (RM) y residuo de higuera (RH) (Figura 3.1.1). Estos residuos proceden de los cultivos correspondientes de la huerta de Valencia. Se trituraron utilizando un molino de cuchillas (Biotriturador VIKING 4000), hasta alcanzar un tamaño aproximado de 2 cm de longitud (Figura 3.1.2). Los residuos triturados se mezclaron con estiércol de conejo parcialmente transformado procedente de las granjas de la ETSIAMN (Figura 3.1.3). Las proporciones de las mezclas fueron 1:1:1 en el caso de RM y RC con el estiércol de conejo y agua, mientras que para RH la proporción fue 1:1:0,5 (residuo, estiércol, agua). Las mezclas se homogeneizaron introduciendo una cantidad de 25 kg en recipientes de PVC de 32 litros. Se habilitaron tres recipientes para compostaje y tres para vermicompostaje, preparando un total de 18 recipientes (realizando tres repeticiones en cada caso). Posteriormente, en las muestras destinadas a vermicompostaje se adicionaron en cada recipiente 1000 lombrices de la especie *Eisenia foetida* procedentes del stock mantenido en el campo experimental del Campus de Vera de la Universidad Politécnica de Valencia, perteneciente al Departamento de Producción Vegetal (Figuras 3.1.4, 3.1.5 y 3.1.6). Seguidamente se les añadió agua a las muestras preparadas para vermicompostaje en cantidad suficiente para lograr una humedad del 70-85%. En las mezclas preparadas para compostar, la humedad se mantuvo siempre por encima del 50%, y nunca bajando del valor crítico a partir del cual la actividad biológica podría detenerse según indican autores como Moreno y Moral (2008). Finalmente se taparon los recipientes dejándolos en condiciones de oscuridad y con una temperatura inicial entre 25 y 29°C. Para realizar todas estas experiencias se habilitó una planta en los recintos de la Escuela Técnica Superior de Agronomía

de la Universidad Politécnica de Valencia dedicada al tratamiento de los residuos. Durante 4 meses se controló la humedad y la temperatura. Se voltearon las pilas con una frecuencia semanal para asegurar una correcta aireación de éstas y mantener la humedad.

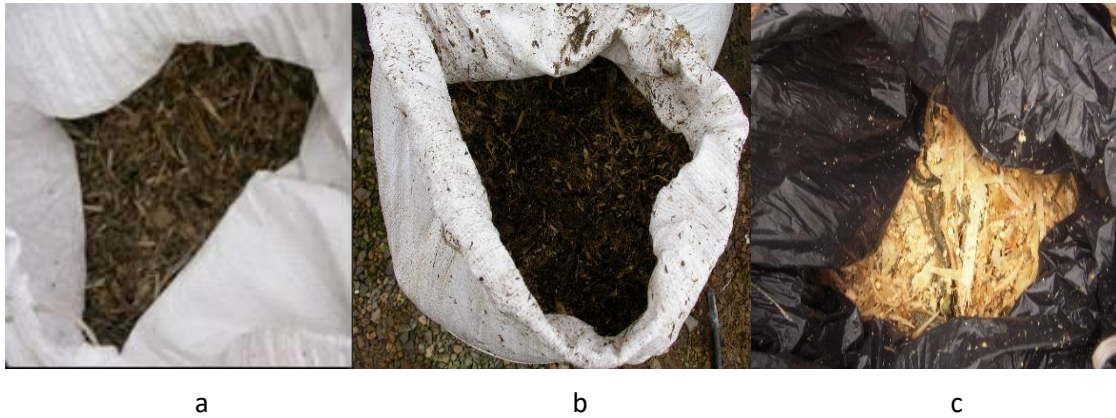


Figura 3.1.1. Residuos vegetales iniciales triturados: a) cítrico, b) higuera c) maíz



Figura 3.1.2. a) Trituradora, b) muestras trituradas, c) recipientes utilizados



a

b



c

d



e

f

Figura 3.1.3. Preparación de las muestras para compostaje y vermicompostaje. a) mezclado, b) humectación, c) introducción en recipientes, d) detalle del riego, e) rejillas de separación, f) colocación de rejillas

En cada recipiente se practicaron varios orificios en las paredes laterales que posteriormente y finalmente fueron tapados con una malla fina para permitir la ventilación y el intercambio gaseoso con el exterior, evitando al mismo tiempo la posible huida de las lombrices (Figuras 3.1.3d, 3.1.3e y 3.1.3f).



a

b

Figura 3.1.4. a) Lechos cubiertos de aislante para el desarrollo de lombrices, b) instalación de riego por aspersión

Se tomaron las lombrices de los lechos utilizados para su desarrollo habilitado en la UPV, donde previamente se instalaron y acondicionaron utilizando aislantes y riego por aspersión. Posteriormente se realizó el separado y conteo de lombrices y su inoculación en los recipientes de vermicompostaje (Figura 3.1.4a y Figura 3.1.4b)(Figura 3.1.5 y Figura 3.1.6).



a

b

Figura 3.1.5. a) Lombrices *Eisenia foetida*, b) conteo de lombrices



a

b


c

Figura 3.1.6. a) Sustrato humus de lombriz, b) manipulación de las lombrices, c) lombrices de *Eisenia foetida*

Tras finalizar los procesos de compostaje y vermicompostaje se analizan la humedad, relación C/N , pH, conductividad, actividades enzimáticas, DQO, análisis metagenómico, efecto

supresivos, así como estudio de los residuos por microscopia electrónica, infrarrojo y RMN (Tabla 3.1.1), siguiendo los métodos explicados en el apartado 3.2.1.

Tabla 3.1.1. Organización del trabajo de campo y de laboratorio en el experimento 1

EXPERIENCIAS																
EXPERIMENTO 1																
Experimento 1: Compostaje y vermicompostaje de residuos de maíz, higuera y cítrico																
Preparación de las muestras para compostaje y vermicompostaje con los residuos agrícolas. Realización de la trituración de residuos. Mezclado y humectado de los productos iniciales en las pilas			Productos iniciales	4 meses				Productos finales	Análisis de los productos obtenidos siguiendo la metodología siguiente:							
LABORATORIO MAPA (1994)			Cronograma (Metodología)										18 muestras			
Análisis FÍSICOS	Medida de la humedad	Todas las muestras	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Sensor Elitech modelo RC-4HC	Inicial semanal Final quincenal	
	Medida de la temperatura	Todas las muestras	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Sonda digital HD 8601P	Inicial semanal Final quincenal	
	Tamizado de las muestras. Color	Todas las muestras												X	Tamiz 2 cm Tablas Munsell	final
	CRA %	Todas las muestras												X	UNE-EN 13041:2001/A1	final
	Espectroscopía IR	Todas las muestras												X	Perkin Elmer FTIR Spectrum	final
	RMN ¹³ C	Todas las muestras												X	Varian 400 MHz	final
	Observación de los residuos por ME	Todas las muestras	X											X	MEB HITACHI	final
Análisis QUÍMICOS	C.E.	Todas las muestras												X	1/10 v/v modelo Hi 87314, USA.	final
	pH	Todas las muestras												X	1/10 v/v pHmetro Hanna modelo 054504P	final
	Bases de cambio (K ⁺ , Na ⁺ , Mg ²⁺ y Ca ²⁺)	Todas las muestras												X	microondas modelo Mars, CEM CorpMatthews (EPA, 1996)	final
	C.I.C.	Todas las muestras												X	Harada e Inoko, (1980)	final
	Ct, P y Nt	Todas las muestras												X	Análisis elemental CE INSTRUMENTS EA 1110 CHNS	final
	Relación C/N	Todas las muestras												X	-	final
Propiedades BIOLÓGICAS	Valoración crecimiento de las lombrices	Todas las muestras												X	Conteo lombrices y ootecas	final
	DQO	Todas las muestras												X	Método colorimétrico Estándar 5220 D	final
	Actividades enzimáticas	Todas las muestras												X	Sistema APIZYM [®]	final
	Test fitotoxicidad	Todas las muestras												X	Albuquerque <i>et al.</i> , (2006)	final
Otros métodos	Caracterización metagenómica	Todas las muestras												X	16sARNr bacterias (Klindworth <i>et al.</i> , 2013) ITS en hongos (Toju <i>et al.</i> , 2012).	final
	Estudio de supresividad	Todas las muestras												X	Medida de la inhibición (Trillas-Gay <i>et al.</i> , 2014).	final
	Evaluación de los compost y vermicompost como enmienda para el desarrollo vegetal	Todas las muestras vegetales de lavanda, romero y menta	Lavado y secado	Peso raíz	Peso aéreo	Altura tallo	Altura vástago	Ramificaciones	Peso total	Peso tallo	Peso raíces			X		final

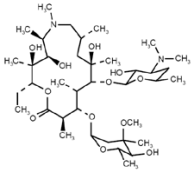
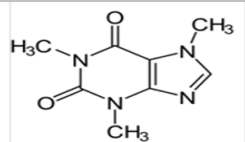
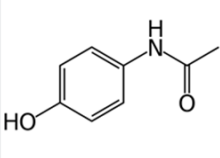
3.1.2. Diseño del experimento 2: Compostaje y vermicompostaje para eliminar medicamentos con lodos de depuradora

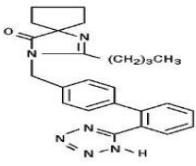
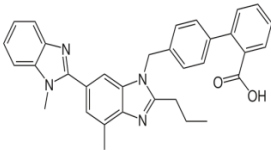
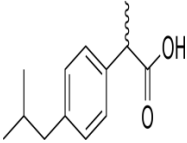
Se realizó una segunda experiencia de compostaje y vermicompostaje con residuos vegetales de paja de arroz y lodos de depuradora.

- Residuos de arroz (paja de arroz) recogidos en el Parque Natural de la Albufera, Valencia.
- Lodo de depuradora proporcionado por la Entidad Pública de Saneamiento de Aguas Residuales de la Comunidad Valenciana (EPSAR).
- Medicamentos añadidos: azitromicina, irbesartán y telmisartán, ibuprofeno, paracetamol y cafeína. Todos ellos adquiridos en oficinas de farmacia de la Comunidad Valenciana. Las características de los medicamentos aplicados en el compostaje y vermicompostaje, y la descripción de las formulaciones comerciales de cada fármaco añadido a las mezclas iniciales se muestran en la Tabla 3.1.2.

Tabla 3.1.2. Características de los productos farmacéuticos utilizados (Toxnet, 2014)

Medicamentos	Formato	Concentración mg	Laboratorio
Azitromicina	Polvo	500 mg	Cinfa S.A
Ibuprofeno	Polvo	200 mg/100 mL	Cinfa S.A.
Irbesartán	Comprimidos	300 mg	Cinfa S.A.
Telmisartán	Comprimidos	80 mg	Bayer
Cafeína	Comprimidos	20 mg	Bayer
Paracetamol	Comprimidos	200 mg	Bayer

		
Azitromicina	Cafeína	Paracetamol
Número CAS 083905-01-5	58-08-2	103-90-2
Fórmula C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	C ₈ H ₉ NO ₂
Vida media 68 h	3-4 h	1-4 h
Metabolismo Hepático	Psicoactivo	Hepático
Biodisponibilidad 38 % para capsulas 250 mg	100	63-89 %

		
Irbesartán	Telmisartán	Ibuprofeno
Número CAS 138402-11-6	144701-48-4	15687-27-1
Fórmula C ₂₅ H ₂₈ N ₆ O	C ₃₃ H ₃₀ N ₄ O ₂	C ₁₃ H ₁₈ O ₂
Vida media 11-15 h	24 h	1,8 – 2 h
Metabolismo Renal 20% fecal 65%	Hepático	Hepático
Biodisponibilidad 60-80 %	42-100%	Variable

Para llevar a cabo el proceso de compostaje con lodo de depuradora fue necesario incorporar un segundo material como la paja de arroz, un agente estructurante que aporta propiedades complementarias, tales como ser fuente de carbono, así como un contenido adecuado de humedad, ya que el lodo de depuradora presentó una humedad muy elevada (87%) frente al residuo de arroz (4,50 %).

Se pesó la cantidad adecuada de cada residuo para preparar las mezclas en proporciones de 33% de paja de arroz, 27 % de lodo de depuradora y 40 % de agua. Las muestras se prepararon por triplicado, se introdujeron en recipientes de PVC de 32 L y se adicionaron 500 mg.kg⁻¹ de cada uno de los productos farmacéuticos elegidos (azitromicina, ibersartan y telmisaltan, ibuprofeno, cafeína y paracetamol). A las muestras para vermicompostaje se le añadieron además las lombrices; 1000 individuos en cada recipiente (Figura 3.1.7).

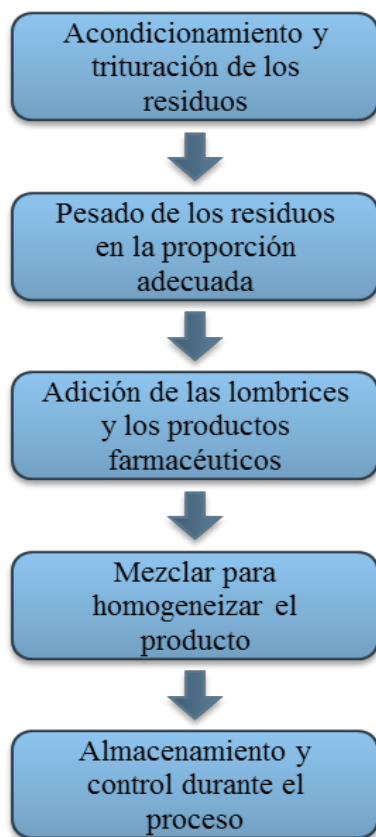


Figura 3.1.7. Preparación muestras para compostaje y vermicompostaje

Se tomaron muestras representativas en diferentes zonas del recipiente, así hasta la finalización del proceso cuando la muestra ya estaba madura y la temperatura de la mezcla se igualó a la temperatura ambiente. Los métodos analíticos realizados para el seguimiento del proceso son los descritos en los apartados 3.2, 3.3 y 3.4. En la preparación de los medicamentos

se mezclaron y adicionaron a los residuos triturados preparando una mezcla homogénea y se colocaron en los recipientes de 32 litros de PVC donde se almacenaría el resto del proceso (Figura 3.1.8). Durante todo el tiempo de maduración del compost, éste fue volteado con el fin de airearlo y evitar que alcanzara temperaturas excesivamente elevadas principalmente para el vermicompostaje.

Durante el proceso de compostaje y vermicompostaje se tomaron muestras de aproximadamente 1 kg de cada una de las mezclas en los días 0, 2, 3, 5, 8, 12, 21 y 36 desde el inicio del proceso.




Figura 3.1.7. Preparación de las mezclas de paja de arroz con lodos de depuradora

Para la extracción de los medicamentos de las distintas muestras se utilizó como agente extractante una mezcla compuesta por 750 ml de acetonitrilo (CH_3CN), 250 ml de agua destilada y 7,5 ml de ácido fórmico (CH_2O_2) (Boluda *et al.*, 2013; Iranzo *et al.*, 2018).

Finalmente se valoraron los parámetros más importantes a la hora de optimizar los procesos de compostaje y vermicompostaje tales como la relación C/N, el contenido de humedad, el pH y el consumo de oxígeno (Moreno, 2007). Además de algunos parámetros biológicos y la concentración de los medicamentos en diferentes tiempos del proceso (Marimón, 2017), cuantificando en las muestras compostadas y vermicompostadas (desde el tiempo inicial o cero hasta el día 36 en el que se consideró finalizados los procesos de compostaje y vermicopostaje. Realizando las extracciones y las medidas en un espectrómetro de masas Agilent 5977.

Tabla 3.1.3. Determinaciones realizadas en el experimento 2

EXPERIENCIAS										
EXPERIMENTO 2										
Efecto del compost y vermicompost sobre la degradación de medicamentos en el suelo										
Preparación de las muestras para compostaje y vermicompostaje con los residuos de arroz y lodo de depuradora y medicamentos adicionado de azitromicina, irbesartán y telmisartán, ibuprofeno, paracetamol y cafeína				Productos iniciales		Productos finales		Seguimiento del proceso		
LABORATORIO			Cronograma (Metodología)							
			16 muestras							
Análisis FÍSICOS	Muestreos	Días desde inicio	0	2	3	5	8	12	21	36
	Medida de la humedad	Todas las muestras	Sensor Elitech modelo RC-4HC							
	Medida de la temperatura	Todas las muestras	Sonda digital HD 8601P							
	Tamizado de las muestras	Todas las muestras	Tamiz 2mm							
	CRA / densidad	Todas las muestras	UNE-EN 13041:2001/A1 (placas Richards)							
Análisis QUÍMICOS	pH	Todas las muestras	1/10 v/v pHmetro Hanna modelo 054504P							
	C.E.	Todas las muestras	1/10 v/v conductímetro Hanna modelo 054504P							
	Nitrógeno	Todas las muestras	modelo Hi 87314, USA.							
	Bases de cambio (K ⁺ , Na ⁺ , Mg ²⁺ y Ca ²⁺)	Todas las muestras	Spectroquant, Merck microondas modelo Mars, CEM CorpMatthews (EPA, 1996)							
	P asimilable	Todas las muestras	Test de fosfatos (1.14848.0001) Spectroquant, Merck).							
	C.I.C.	Todas las muestras	Harada e Inoko (1980)							
	Ac. Húmicos y fúlvicos. Materia orgánica oxidable	Todas las muestras	Walkley-Black (1934)							
	Ct y Nt	Todas las muestras	Análisis elemental CE INSTRUMENTS EA 1110 CHNS							
	Relación C/N	Todas las muestras								
	Análisis BIOLÓGICOS	Actividades enzimáticas	Muestras finales	Sistema APIZYM [®]						
Respirometría		Muestras finales	OXITOP							
Extracción de medicamentos	Extracción y valoración	Muestras finales	Extracción acetonitrilo / ac. fórmico							
	Cuantificación	Muestras finales	Azitromicina	Irbesartán	Telmisartán	Ibuprofeno	Paracetamol	Cafeína	Espectrómetro de gases-masas	

3.1.3. Diseño del experimento 3: Efecto del compost y vermicompost sobre la degradación de medicamentos en el suelo y la absorción por la planta

Para estudiar el efecto del compost y vermicompost sobre la degradación de medicamentos en el suelo adicionado con compost y vermicompost y absorción por la planta, se diseñó una experiencia en la que se utilizaron semillas de *Lactuca sativa L.* variedad *longifolia* adquiridas en la empresa Plantas y Fitosanitarios SB, localizada en Mislata (Valencia). Se tomaron 48 recipientes de PVC con una capacidad de 500 cm³, que se llenaron con 250 g de suelo de textura franco arenosa.

Para la evaluación de los composts y vermicomposts como enmiendas para la eliminación de medicamentos se utilizó un suelo calizo procedente de la parcela de la Universitat Politècnica de València (Tabla 3.1.4).

Las macetas con el suelo se colocaron en una bandeja con una base de 2 cm de agua y en una cámara de germinación situada en el laboratorio de Fitotecnia en el Campus de Vera de

la Universitat Politècnica de València, con las condiciones: temperatura 25 °C durante 12 h y de 20 °C durante 12 h, y una humedad relativa del 60 %.



Figura 3.1.9. Materiales para ensayo de desarrollo vegetal de *Lactuca sativa*, a) plántulas de *Lactuca*, b) planta al final del desarrollo, c) conjunto de muestras

Se adicionaron 10 g de compost o vermicompost obtenidos de la mezcla de paja de arroz y lodo de depuradora a partir de las proporciones siguientes: 33 % de paja de arroz, 27 % de lodo de depuradora y 40 % de agua. Posteriormente se realizó la aplicación de los medicamentos en las plantas de lechuga a los dos meses de su crecimiento (Figura 3.1.9). Los medicamentos se adicionaron a una concentración de 10 mg.Kg⁻¹ y 100 mg.Kg⁻¹. Tras el periodo de crecimiento se tomaron las muestras de las macetas y se prepararon para realizar la extracción de los medicamentos.

Tabla 3.1.4. Características del suelo utilizado en la experiencia

Análisis textural	Arcilla (%) 18 Limo (%) 42 Arena (%) 40
Clase textural	Franco-arenosa
Color	2,5 YR 5/6
pH (1/2,5, p/v)	7,8
Carbonatos (CaCO ₃ %)	25,6
Conductividad eléctrica (1/5, p/v, dS.m ⁻¹)	0,103
N total (g. kg ⁻¹)	0,776
Carbono orgánico (%)	3,2
Relación C/N	9
CIC (cmol _c . kg ⁻¹)	25,2
Cationes de cambio (cmol _c . kg ⁻¹)	
K ⁺ (cmol _c . kg ⁻¹)	0,12
Ca ²⁺ (cmol _c . kg ⁻¹)	23,90
Mg ²⁺ (cmol _c . kg ⁻¹)	1,10
Na ⁺ (cmol _c . kg ⁻¹)	0,07

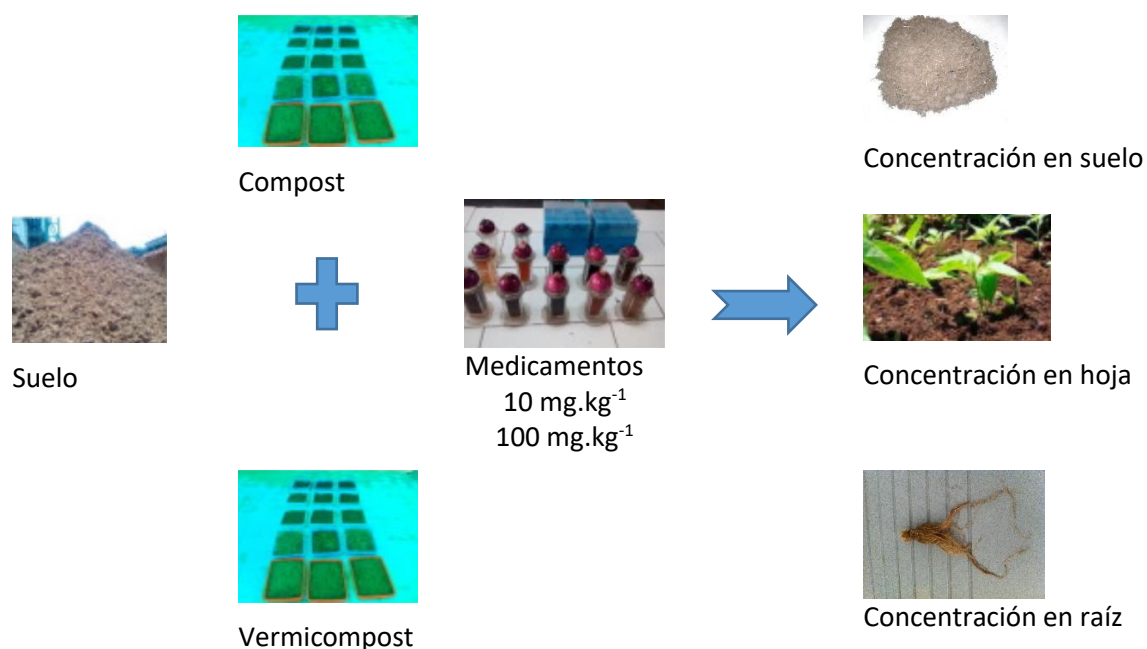


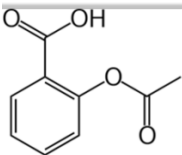
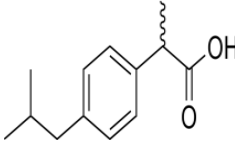
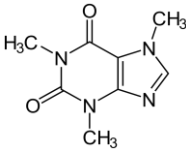
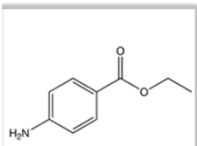
Figura 3.1.10. Esquema de la adición de medicamentos en la planta

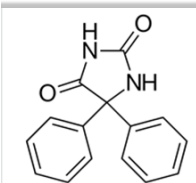
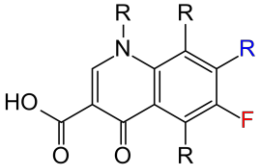
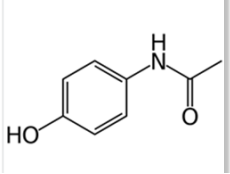
Se realizaron 2 tipos de aplicación de diferente concentración: 10 mg.kg⁻¹ y 100 mg.kg⁻¹ de los medicamentos ibuprofeno, cafeína, paracetamol, fenitoína, quinolona y ácido acetilsalicílico (Figura 3.1.10). La Tabla 3.1.5 muestra la denominación de las muestras realizada en los experimentos. Los medicamentos previamente se trituraron y disolvieron en 100 mL de agua. Se prepararon: blancos con sólo suelo (S), suelo-planta (SP) y controles (SM) para los experimentos de una semana y de tres semanas de duración. Igualmente se prepararon muestras con suelo y planta con medicamento, adicionadas de compost (SPMC) y vermicompost (SPMVC). Se realizaron 4 réplicas de cada una de las muestras preparadas. El experimento se desarrolló durante los meses comprendidos entre enero de 2018 y abril de 2018.

Tabla 3.1.5. Preparación de las muestras

Experimento		Experimento	
1 semana		3 semanas	
10 mg.kg ⁻¹	100 mg.kg ⁻¹	10 mg.kg ⁻¹	100 mg.kg ⁻¹
SPM1s	SPM1s	SPM3s	SPM3s
SPMC1s	SPMC1s	SPMC3s	SPMC3s
SPMVC1s	SPMVC1s	SPMVC3s	SPMVC3s

Tabla 3.1.6. Características de los productos farmacéuticos utilizados (Toxnet, 2014)

				
	Ac. Acetilsalicílico	Ibuprofeno	Cafeína	Benzocaína
Número CAS	50-78-2	15687-27-1	58-08-2	94-09-7
Fórmula	C ₉ H ₈ O ₄	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	C ₉ H ₁₁ NO ₂
Vida media	2-9 h	1,8 – 2 h	3-4 h	1 h
Metabolismo	Hepático	Hepático	Psicoactivo	Hepático
Biodisponibilidad	Rápida y completa	Variable	100	Variable (tópica)

			
	Fenitoína	Quinolona	Paracetamol
Número CAS	57-41-0	Grupo de agentes quimioterapéuticos	103-90-2
Fórmula	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₂		C ₈ H ₉ NO ₂
Vida media	22 h	3-5 h	1-4 h
Metabolismo	Hepático	Hepático	Hepático
Biodisponibilidad	70-100% oral, 24,4 rectal e intravenosa	Variable	63-89%

El tipo de presentación farmacéutica del medicamento y las formulaciones comerciales utilizadas se muestran en la Tabla 3.1.7.

Posteriormente se determinó la concentración de los medicamentos acumulados en los periodos de estudio en suelo, raíz y hoja tal y como se describe en el apartado 3.2. Métodos de análisis. Las estructuras y características de los medicamentos: aplicados sobre la planta de lechuga (ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, cafeína, benzocaína, fenitoína, quinolona, paracetamol) se muestran a continuación (Tabla 3.1.6).

Tabla 3.1.7. Descripción de las formulaciones comerciales de cada fármaco utilizado en las mezclas iniciales

Medicamentos	Formato	Concentración mg	Laboratorio
Ácido acetilsalicílico	Comprimidos	250 mg	Cinfa
Ibuprofeno	Solución	200 mL, 100 mg/100 mL	Cinfa S.A.
Cafeína	Comprimidos	20 mg	Bayer
Benzocaína	Comprimidos	10 mg	Bayer
Fenitoína	Comprimidos	250 mg	Cinfa
Quinolona	Comprimidos	500 mg	Almirall
Paracetamol	Comprimidos	200 mg	Bayer

La Tabla 3.1.8 muestra un resumen del experimento 3 y las determinaciones analíticas realizadas.

Tabla 3.1.8. Determinaciones analíticas realizadas en el experimento 3

EXPERIMENTO 3										
Efecto del compost y vermicompost sobre la degradación de medicamentos en el sistema suelo- planta				48 muestras						
Preparación de las muestras: macetas con suelo y 10 o 100 mg.Kg ⁻¹ de medicamentos (ibuprofeno, paracetamol, cafeína, fenitoína, quinolona, ácido acetil salicílico)				Productos iniciales		Productos finales		Seguimiento del proceso		
LABORATORIO			Cronograma (Metodología)				96 muestras			
Extracción de medicamentos	Extracción y valoración	Muestras finales	Extracción con acetonitrilo / ácido fórmico en suelo (Boluda <i>et al.</i> , 2013)						1 semana 3 semanas	
	Extracción y valoración	Muestras finales	Extracción acetonitrilo y ac. fórmico / Metodo Quechers (Planta)							
	Cuantificación	Muestras finales	Ibuprofeno	Fenitoína	Quinolona	Cafeína	Paracetamol	Acido acetilsalicilic	Método Quechers. Espectrómetro de gases-masas	

3.2. Métodos de análisis

En este apartado se describen la preparación de las muestras y las determinaciones analíticas utilizadas.

3.2.1. Muestreo y preparación de las muestras

Con objeto de analizar las características de los productos obtenidos en los experimentos que se han descrito en los capítulos anteriores, se tomaron las muestras, y previamente homogeneizadas y secadas al aire, se trituraron y tamizaron pasándolas por una malla de luz de 2 mm. Las muestras así preparadas se colocaron en bolsas de plástico hasta su análisis (Figura 3.2.1). Las muestras utilizadas para análisis específicos como actividades enzimáticas se guardaron en frigorífico. Otras muestras destinadas a análisis metagenómico o las obtenidas tras adicionar medicamentos se congelaron hasta la realización de la extracción.



Figura 3.2.1. Muestras preparadas para su análisis

Se siguieron las metodologías descritas en MAPA (1994) y algunos análisis específicos que se detallan a continuación. Las determinaciones analíticas en las muestras obtenidas se realizaron por duplicado mediante las metodologías siguientes:

Medida de la temperatura. La temperatura se monitorizó constantemente con una sonda digital HD 8601P (Figura 3.2.2) con objeto de seguir su evolución en las distintas fases, principalmente en la fase termófila, en la que la temperatura se eleva debido al aumento de la actividad biológica que tiene lugar en las pilas de compost y vermicompost. La sonda se introduce en el centro de la pila siendo la medida realizada principalmente antes y después del mezclado de las muestras.



Figura 3.2.2. Sonda HD 8601P para la medida de la temperatura

Determinación del contenido de humedad. El control de humedad se realiza por medio de un sensor de humedad (Elitech modelo RC-4HC British) introducido en el centro de la pila antes y después del mezclado de las muestras (Figura 3.2.3).



Figura 3.2.3. Sensor de medida de la temperatura y humedad

Densidad. Se tomaron las muestras con un anillo de 5 x 5 cm. Tras su secado a 105 °C se determina la masa respecto al volumen del cilindro de terminando la densidad de las mismas.

Microscopía electrónica. Se utilizó la MEB para observar el aspecto microscópico de los productos obtenidos. Se prepararon las muestras fijándolas con un adhesivo utilizado en estas técnicas sobre un portaobjetos, para asegurar un buen contacto eléctrico y evitar desplazamientos de la imagen que pueden perturbar tanto en la obtención de micrografías como la realización de microanálisis. Posteriormente las muestras se recubrieron con un baño de carbono para hacerlas conductoras. Y se colocaron en el microscopio electrónico de barrido (Figura 3.2.4). Las técnicas de metalización empleadas para mejorar la conductividad de las muestras, para su estudio al MEB, son la evaporación y el sputtering. Se utilizó un microscopio electrónico de barrido HITACHI modelo S-4100 con cañón de emisión de campo, detector BSE AUTRATA, sistema de captación de imágenes EMIP 3.0, y sistema de microanálisis RONTEC perteneciente al Servicio Central de Soporte a la Investigación de la Universitat de Politècnica de València.

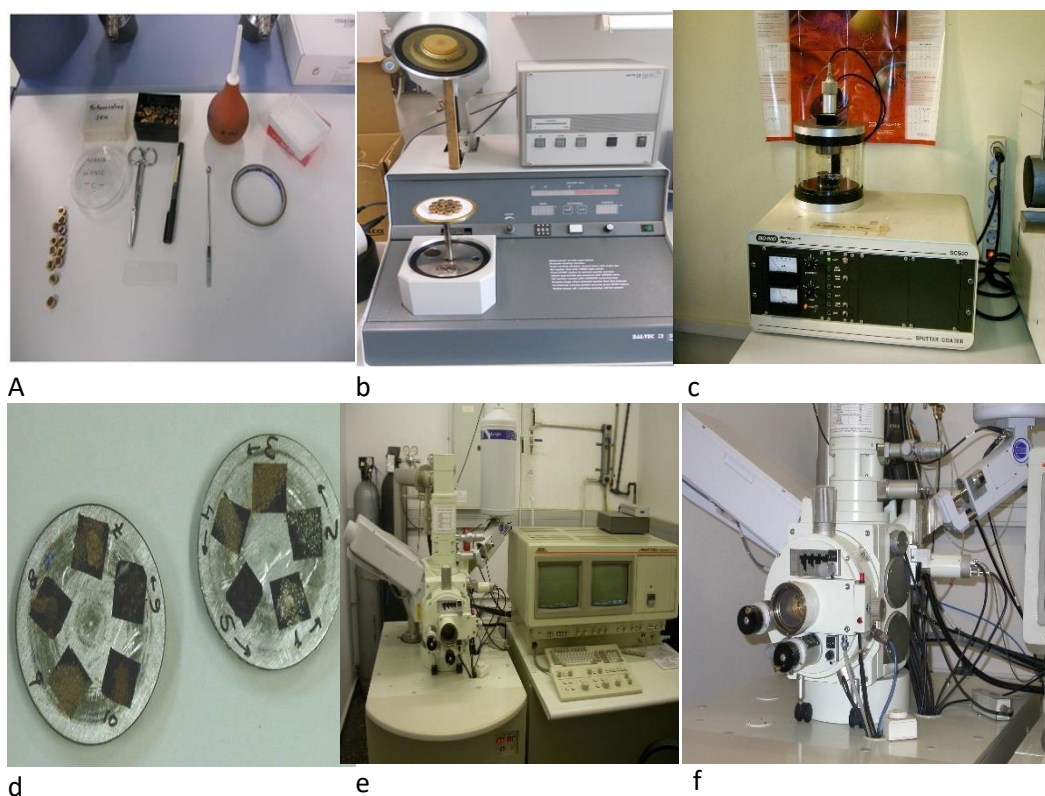


Figura 3.2.4. Preparación de las muestras, a) material, b) *sputtering*, c) proceso de bañado con carbono, d) muestras tratadas con carbono, e) microscopio electrónico de barrido HITACHI modelo S-4100 con sistema de captación de imágenes EMIP 3.0 y sistema de microanálisis RONTEC, f) cañón de emisión de campo con detector BSE AUTRATA

3.2.2. Métodos de análisis convencionales. Valoración de parámetros físicos, químicos y biológicos en los residuos transformados por compostaje y vermicompostaje

Los métodos de análisis utilizados y la descripción de las determinaciones analíticas junto a los procedimientos realizados se exponen a continuación.

Capacidad de retención de agua. El poder retentivo es la cantidad de agua que puede retener una muestra después de perder el agua de gravitación. La determinación de la capacidad de retención de agua de un material puede realizarse determinando el contenido de humedad volumétrica en función de la tensión aplicada sobre la muestra. Para su cálculo se siguieron las indicaciones de la Norma UNE-EN 13041:2001/A1 (2007). Saturando las muestras de suelo contenidas en anillos de 1,5 cm de altura y 3,7 cm de diámetro con agua desionizada en condiciones normalizadas. La capacidad de retención o almacenamiento de agua de las muestras se estima a partir del contenido de humedad utilizando las placas Richards, después de saturar y extraer toda el agua contenida en la muestra. Los resultados se expresan en porcentaje.

Acidez (pH). La medida del pH en agua se realizó en la relación 1/10, midiendo la resistencia eléctrica entre dos electrodos paralelos sumergidos en la solución. Se utilizó un pHmetro Hanna modelo 054504P (USA).

Salinidad. La medida de la conductividad eléctrica (CE) se realizó en la relación 1/10, midiendo la resistencia eléctrica entre dos electrodos paralelos sumergidos en la solución. Debido a que la conductividad de soluciones acuosas aumenta con la temperatura, se deberá referir siempre a 25° C. La solución se agita durante media hora en agitador mecánico y se filtra la suspensión realizando la medida de la conductividad a 25° C con un conductímetro modelo Hi 87314 (USA).

Determinación de Ca, Mg, K, Na, Cd, Zn, Ni, Cu. La técnica utilizada consiste en una digestión ácida de las muestras en recipientes cerrados a los que se somete a un campo electromagnético oscilatorio generado por un horno microondas modelo Mars, CEM CorpMatthews (EPA, 1996). Los ácidos utilizados, el tiempo y la potencia dentro de dicho horno varían en función del tipo de material a digerir. En este caso en particular, se realizó una modificación del método propuesto en el manual del fabricante del microondas (Mars, CEM corp. Matthews) (Figura 3.2.5). Se pesaron 0,5 gramos de muestra seca y pulverizada con un mortero de ágata, realizando una predigestión, con 8 mL de ácido nítrico (HNO₃) y 1 mL de agua oxigenada (H₂O₂) durante 24 horas en un vaso de teflón tapado dentro de la campana de extracción, pues emite gases tóxicos durante la descomposición. Posteriormente, se añadieron 3 mL de ácido fluorhídrico (HF 48 %), en el vaso del microondas, previo encamisado del mismo activando el programa. Este programa posee una rampa de temperatura para graduar la subida. Tiene una duración de 20 minutos, y

alcanza una potencia máxima de 1600 w, siendo la temperatura máxima del proceso de 200 °C. Cuando desciende la temperatura por debajo de 90° C se introducen en cada vaso 25 mL de H₃BO₃ (4%) activando el segundo programa que tiene una duración de 15 minutos. Igualmente posee una rampa de aumento de temperatura para regular progresivamente su aumento. La potencia máxima alcanzada es de 1600 w y la temperatura del proceso es de 170 °C. Para llevar a cabo las determinaciones, se filtran y se diluyen las muestras con agua destilada en relaciones 1/1, 1/10, 1/100 y 1/1000 para adecuar los elementos a analizar a la recta de calibración del aparato, midiendo así la concentración de cada elemento por absorción atómica.



Figura 3.2.5. Microondas Mars, CEM Corp.

Para la validación del método analítico se empleó un patrón certificado de BCR (Community Bureau of Reference) de la Comisión de las Comunidades Europeas. La viabilidad de la técnica analítica para la mineralización de la muestra por microondas así como la cuantificación final del método analítico, se realizaron mediante ensayos de recuperación a partir de valores certificados del CRM 141R (nº424).

Determinación del carbono orgánico oxidable y la relación sustancias húmicas e índice de humificación. El método empleado de Walkley–Black (1934) se basa en la oxidación del carbono orgánico mediante el empleo de un agente oxidante fuerte como en medio ácido. Se pesaron 0,05 g de muestra de compost triturado y seco, y añadieron 10 mL de dicromato potásico 1N y 20 mL de ácido sulfúrico al 96%. Tras 30 minutos de ataque ácido, se añadieron 200 mL de agua destilada y 10 mL de ácido ortofosfórico al 85%. Se determinó el exceso de dicromato potásico valorándolo con sulfato ferroso amónico 0,5 N y ortofenantrolina como indicador.

Las materias húmicas del suelo, pueden ser definidas como complejos coloidales relativamente estables y resistentes a la acción microbiana que son mineralizables en forma más progresiva que la materia orgánica fresca. Se puede dividir en dos fracciones:

- Ácidos húmicos: fracción soluble en reactivos alcalinos y precipitan en medio ácido.

- Ácidos fúlvicos: fracción soluble en reactivos tanto ácidos como alcalinos y no precipitan en medio ácido.

El extracto húmico total, ácidos húmicos y ácidos fúlvicos del compost se determinaron mediante el método de Fukushima *et al.*, (2009). El experimento se llevó a cabo en tres fases, en la primera se determinó el extracto húmico total, en la segunda los ácidos fúlvicos y los extractos no húmicos, y en la tercera y última fase las sustancias no húmicas. Primero se preparó la muestra pesando 1 g de muestra seca al aire y triturada de compost, se introdujo en recipientes de 30 mL y se añadió 20 mL de pirofosfato de sosa. La mezcla se dejó 24 horas en agitación a temperatura ambiente.

En la primera fase, la mezcla que se sometió a las 24 horas de agitación, se centrifugó a 10.000 rpm durante 15 minutos, el sobrenadante se filtró con papel de filtro cuantitativo de flujo rápido (tamaño de poro >10 µm). La solución filtrada correspondió al extracto húmico total, de esta solución se tomó una alícuota de 1 mL y se determinó el carbono orgánico oxidable mediante el método del dicromato explicado anteriormente. A la solución restante se le añadió H₂SO₄ hasta llevarla a un pH de entre 1 y 2, y se dejó reposar la mezcla durante toda la noche. La mezcla reposada se volvió a centrifugar a 10.000 rpm durante 15 minutos y se filtró de nuevo con un papel de filtro cuantitativo de flujo rápido. La solución resultante después del filtrado correspondió al extracto de los ácidos fúlvicos y sustancias no húmicas. De nuevo se tomó una alícuota de la solución anterior para la determinación del carbono orgánico oxidable.

En la tercera fase se tomaron 5 mL del extracto de los ácidos fúlvicos y sustancias no húmicas y se pasaron por una columna de resina DAX-8 lavada previamente con 15 mL de HCl 0,1 M. Se pasó el extracto tres veces por la columna de resina y se recogió. Este extracto correspondió a las sustancias no húmicas. Con todo el volumen de muestra recogido después del filtrado se realizó de nuevo la determinación del carbono orgánico oxidable por el método del dicromato.

El porcentaje de carbono orgánico oxidable total y el correspondiente a cada una de las fracciones: sustancias húmicas totales, sustancias húmicas, ácidos húmicos y ácidos fúlvicos, fue calculado como se indica en las ecuaciones:

- $\text{ác. húmicos} = A_{EHT} - B_{F+NH}$
- $\text{ác. fúlvicos} = B_{F+NH} - C_{NH}$

Siendo:

- A_{EHT}= %COO obtenido del extracto húmico total
- B_{F+NH}=%COO obtenido del extracto de ácidos fúlvicos y sustancias no húmicas
- C_{NH}=%COO obtenido del extracto de las sustancias no húmicas

Índices de humificación. Los índices de humificación utilizados para evaluar la madurez del compost y vermicompost fueron:

- $Relación = \frac{\text{ác.húmicos}}{\text{ác.fúlvicos}}$
- $Índice\ húmico = \frac{\text{ác.húmicos}}{\text{carbono orgánico oxidable (muestra)}} \cdot 100$

Capacidad de intercambio catiónico (CIC). Para la determinación de la capacidad de intercambio catiónico se siguió el método descrito por Harada e Inoko (1980) (Lax *et al.*, 1986). Se pesaron 200 mg de muestra seca y pulverizada se coloca en un embudo con filtro de borosilicato de entre 4-10 μm de poro (nº5). Se situó el embudo sobre el kitasatos con la llave cerrada, y parafilm en el orificio de salida. Añadimos 25 mL de 0,05 N HCl, agitamos con una varilla de vidrio durante 1 min dejando reposar 20 min. Filtramos al vacío, y posteriormente se añadieron otros 25 mL de HCl 0,05 N filtrando posteriormente. Se lavó la muestra con 200 mL de agua destilada, agitando con la varilla cada vez que se añade el agua durante 30 segundos. Cambiamos el kitasatos y desechamos los filtrados y lavados anteriores. Tras cerrar la llave se añadieron 25 mL de una solución $\text{Ba}(\text{OAc})_2$ 1 N ajustada a pH= 7, agitamos 1 min y se dejó toda la noche. Después de filtrar lo del día anterior, añadimos 25 mL de la solución $\text{Ba}(\text{OAc})_2$ 1 N, agitando durante 1 minuto, se lavó con 150 mL de agua destilada. Se mezclaron los filtrados de la solución y los lavados, se puso una alícuota de 50 mL en un vaso de precipitados de 200 mL valorando esta solución con 0,05 N de NaOH hasta pH= 8,9, midiendo con el pHmetro y comparándolo con un blanco.

Determinación del fósforo asimilable. Se empleó el test de fosfatos (1.14848.0001 de la marca Spectroquant, Merck). Se basa en que en una solución sulfúrica, los iones ortofosfato forman con los iones molibdato ácido molibdofosfórico. Este último, con ácido ascórbico, se reduce a azul de fosfomolibdeno que se puede medir fotométricamente. Este proceso es análogo a EPA 365.2+3, US Standard Methods 4500-P E e ISO 6978/1 y EN 1189. Se tomó una alícuota de 0,5 ml de muestra digerida y se diluyó con 4,5 ml de agua destilada en un tubo de ensayo (dilución 1:10), se añadió 5 gotas del reactivo 1 o reactivo PO_4^- agitando para conseguir una mezcla homogénea. Posteriormente se añadió una microcuchara azul rasa de reactivo 2 o reactivo PO_4^{-2} , agitando vigorosamente hasta que el reactivo se disolvió completamente. Se introdujo la muestra de medición en la cubeta de cuarzo y se midió con el espectrofotómetro (Spectroquant Nova 60 Merck, USA)

Los valores de la DQO de las mezclas de los compost y vermicompost se realizaron utilizando el test del método DQO usado a menudo para medir los contaminantes en las aguas naturales y residuales y para evaluar la fuerza de desechos tales como aguas residuales municipales e industriales. Los valores DQO deberán ser inferiores a 10 mg.l^{-1} O₂ al final del ciclo de tratamiento.

La demanda química de oxígeno se realiza para cualquier sustancia tanto orgánica como inorgánica susceptible de ser oxidada, mediante un oxidante fuerte. La cantidad de oxidante consumido se expresa en términos de su equivalencia en oxígeno DQO en $\text{mg.L}^{-1} \text{O}_2$. Debido a sus propiedades químicas, el ión dicromato es el oxidante especificado en la mayoría de los casos. En este test, el Cr_2O_7^- se reduce a ión crómico (Cr^{3+}). La DQO puede medirse mediante el método colorimétrico de reflujado digiriendo, el material DQO en la muestra y posteriormente se oxida por el ión dicromato. Como resultado, el Cromo pasa de estado hexavalente (VI) a trivalente (III). Ambas especies de Cromo exhiben un color y absorben luz en la región visible del espectro. En la región 400 nm el ión dicromato absorbe mucha mas luz que el ión crómico Cr^{3+} . Mientras que en la región de 600 nm es el ión crómico el que absorbe y el ión dicromato tiene una absorción prácticamente nula (Método Estándar 5220 D). La medida se realizó con un Espectrofotómetro IRIS. Fotómetro multiparamétrico de sobremesa con DQO y pHmetro (230V). Referencia HI83399-02.

Determinación del fósforo, carbono y nitrógeno total. Se determinó con el equipo de análisis elemental CE INSTRUMENTS EA 1110 CHNS (Wigan, Reino Unido), perteneciente al Servicio Central de Soporte a la Investigación de la Universitat de València, el método se basa en la completa e instantánea oxidación de las muestras por reacción exotérmica con oxígeno puro, lo cual permite medir de manera fiable los contenidos totales de carbono y nitrógeno de las muestras.

Determinación de la relación C/N. La determinación de la relación C/N se obtiene dividiendo el porcentaje de carbono total, obtenido según el método indicado anteriormente, y el porcentaje de nitrógeno total.

$$C/N = \frac{\% \text{COT}}{\% \text{N total}}$$

3.3. Métodos espectroscópicos. Técnicas espectroscópicas FTIR y RMN. Estudio por espectroscopia de infrarrojos y Resonancia Magnética Nuclear.

Se describen los métodos específicos utilizados para el análisis de las muestras de compost y vermicompost como son los procedimientos y características de la metodología y procedimiento utilizado en espectroscopía y resonancia magnética nuclear, así como en la microscopía electrónica.

Espectroscopia infrarroja. La espectroscopia infrarroja (FT-IR) permite obtener datos sobre la presencia de distintas agrupaciones atómicas. La espectroscopia infrarroja es aplicada habitualmente en los análisis de materiales orgánicos y el espectro característico de estos componentes se encuentra mayoritariamente en la frecuencia entre 600 y 4000 cm^{-1} . Para

comparar los espectros obtenidos se calcularon unos ratios entre las absorbancias de ciertas bandas (Inbar *et al.*, 1989). Por su importancia en los espectros obtenidos, se escogieron las siguientes bandas: 3500 cm^{-1} , señal producida por la tensión de los grupos OH asociados a moléculas de agua, la banda del carbono aromático (C=C) situada en 1640 cm^{-1} , las bandas ubicadas en regiones en donde representan C alifático (1037 , 2854 y 2927 cm^{-1}) y la banda de las amidas (1548 cm^{-1}), obteniendo los ratios: $2927/1640$, $3000/1050$, $1640/1548$ y $1640/1037$. Preparación de las muestras y análisis IR. El material necesario (Figura 3.3.1) consiste en: mortero de ágata, prensa y KBr para la preparación de los discos.

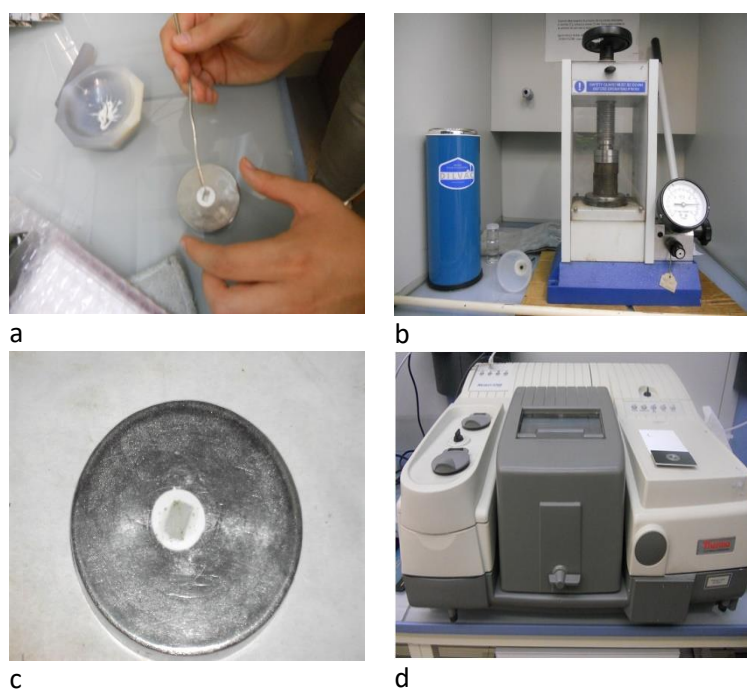


Figura 3.3.1. Preparación de la muestra: a) trituración de la muestra, b) prensa, c) pastilla de KBr, d) espectrofotómetro FTIR (Perkin Elmer FTIR Spectrum)

Los espectros FTIR, se obtuvieron a partir de pastillas preparadas con 2 mg de compost o vermicompost y 200 mg de KBr. Para la obtención de las pastillas las muestras se homogeneizan en un mortero de ágata y utilizando KBr desecado a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un día para eliminar las trazas de agua (Figura 3.3.1). El rango de adquisición de los espectros se encuentra entre 4000 y 400 cm^{-1} . Para facilitar el reconocimiento de patrones a partir de los espectros se procede a aumentar la resolución mediante un algoritmo basado en la sustracción del espectro original de un múltiplo positivo de la 2ª derivada, seguido por un suavizado (*smoothing*) mediante otro algoritmo de promedios lineales móviles (Rosenfeld y Kak, 1982; Almendros y Sanz, 1992).

Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear. La espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) estudia el comportamiento de ciertos núcleos atómicos (aquellos que

poseen spin nuclear distinto de cero) en presencia de un campo magnético externo. El campo magnético aplicado produce un desdoblamiento de los niveles generados de energía del spin nuclear, de modo que pueden inducirse transiciones entre ellos como consecuencia de la absorción de una radiación electromagnética adecuada. La intensidad, forma y posición de las señales en el espectro de un núcleo determinado están íntimamente relacionadas con su estructura molecular, por lo que un análisis detallado del espectro proporciona valiosa información acerca de la estructura del compuesto que lo origina. Los espectros de ^{13}C -RMN se han realizado a temperatura controlada y se registran a 100,58 MHz. (Figura 3.3.2).

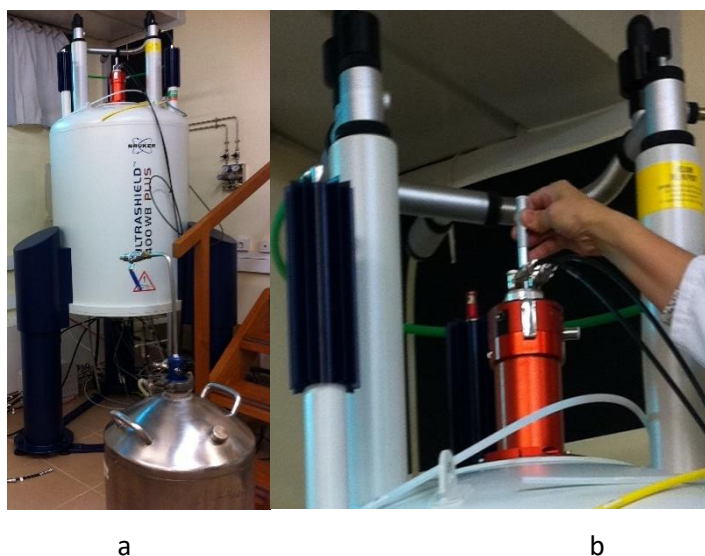


Figura 3.3.2. Equipo Varian 400 MHz a) generador de campo magnético, b) introducción de la muestra

Los disolventes utilizados han sido D_2O y CDCl_3 . Los espectros de ^{13}C -RMN utilizan el dioxano (67.4 ppm) como referencia externa. Se realizó el estudio de Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido de ^{13}C (CPMAS RMN) usando un espectrofotómetro Bruker Avance 400 MHz NMR. Los desplazamientos químicos se calibran con respecto a tetrametilsilano (D 0 ppm). La interpretación de los espectros se realiza asignando rangos preliminares: región I (0–50 ppm) C alifáticos, región II (50–110 ppm) O-C; región III (110–160 ppm) C insaturados y aromáticos; región IV (160–190) carbonos carboxílicos (MacCarthy *et al.*, 1985).

3.4. Índices biológicos

Los indicadores biológicos que fueron utilizados en los compost y vermicompost fueron:

Test de fitotoxicidad. La madurez de un compost desde el punto de vista biológico puede evaluarse mediante test basados en el efecto negativo que produce la aplicación de un compost inmaduro sobre la germinación de las semillas, debido a la presencia de compuestos

fitotóxicos cuando estos productos todavía no están maduros (Wei, 2001; Schlosset *et al*, 2003; Brown *et al.*, 2004).



Figura 3.4.1. Placas Petri a) preparadas para la siembra, b) con la disposición de las semillas

Para la realización del test de fitotoxicidad se siguió una modificación del procedimiento indicado por Albuquerque *et al.*, (2006) que se basa en el test de Zucchini. Se pesaron 4 gramos de muestra seca y se colocaron en un tubo de centrifuga de 70 mL Se añadieron 6 mL de agua destilada dejándolo reposar 30 minutos, posteriormente se añadieron 54 mL de agua destilada y tras agitar la mezcla durante 30 minutos a la máxima velocidad en un agitador de vaivén se centrífuga a 3500 rpm durante 10 minutos. Después, se filtró mediante un sistema de filtrado forzado al vacío utilizando un papel de filtro MILLIPORE type HA de tamaño de poro 0,45 μm . Con el filtrado obtenido se realizó el test de fitotoxicidad. Se prepararon 10 placas control con 1 mL de agua destilada, 10 más con 1 mL de extracto de vermicompost o compost, y sobre el papel de germinación impregnado en extracto o agua, se colocaron 8 semillas de *Lepidium sativum* (berro de jardín) (Figura 3.4.1). Se sellaron las placas con parafilm y se incubaron a 28 °C durante 48 horas. En ese momento se detuvo el crecimiento radicular añadiendo 5 cm³ de metanol al 50 % a las placas. Se contó el número de semillas germinadas (GS) y se midió la longitud radicular (ER). Con estos datos se procedió a calcular el índice de germinación (IG) mediante la fórmula:

$$GS(\%) = \frac{\text{Número de semillas germinadas en el extracto}}{\text{Número de semillas germinadas en agua destilada}} \times 100$$

$$ER(\%) = \frac{\text{Media de elongación radicular en el extracto}}{\text{Media de elongación radicular en agua destilada}} \times 100$$

$$IG(\%) = \frac{GS \times ER}{100}$$

Actividad enzimática. La determinación de las actividades enzimáticas se realizó utilizando el sistema APIZYM®, que se trata de un micro método semicuantitativo de investigación de actividades enzimáticas aplicable a diferentes tipos de muestra (microorganismos, suspensiones celulares, tejidos, líquidos biológicos, suelos, compost, etc.)

(Tiquia, 2001, Tiquia, 2002, Boluda *et al.*, 2014). El método permite estudiar de forma rápida y simultánea 19 actividades enzimáticas a partir de pequeñas cantidades de muestra. La primera de ellas corresponde a la muestra control.

El sistema API permite detectar actividades enzimáticas de un extracto complejo no purificado. Este método no sustituye a las técnicas de separación electroforéticas, pero puede orientar el resultado, dando en su estado en bruto, el espectro de actividades enzimáticas de la muestra. Los test enzimáticos se inoculan con la suspensión densa, que rehidrata los substratos. Las reacciones producidas durante el periodo de incubación se traducen en cambios de color que se revelan mediante la adición de reactivos. Para la preparación de las muestras se pesan en recipientes tarados, 5 g de cada muestra. Realizando un estudio en blanco y otro en arena para asegurarnos de la credibilidad del método y de los resultados obtenidos (Figura 3.4.2). Se agitan las muestras durante 10 minutos seguidos de 10 minutos de reposo. Posteriormente las muestras se filtran para eliminar así cualquier partícula en suspensión, utilizando embudos, papel de filtro y recipientes de plástico. Una vez filtradas las muestras, con una micropipeta se añaden 65 μ l a cada uno de los pocillos de la tira API y se cubren con la tapa de la tira API correspondiente (Figura 3.4.3). Las tiras se dejaron incubar durante 4 horas a 37 $^{\circ}$ C (García *et al.*, 2000).



Figura 3.4.2. a) Pesado y b) agitado de las muestras

Pasado el tiempo de incubación, se añaden 30 μ l del reactivo ZYM A (Tris-hidroximetilaminometano y lauril sulfato de sodio) y 30 μ l de ZYM B (Fast Blue BB) a cada uno de los pocillos. La lectura e interpretación se hace a los 10 minutos de la adición de los reactivos comparando con las tablas de referencia. Para efectuar la lectura y anotar todas las reacciones en la hoja de resultados, el fabricante de las tiras indica los siguientes valores de referencia: en función de la intensidad de color (sin ninguna reacción o reacción negativa (valor 0), valores entre 1 y 2 (> 10 y > 20 η moles), valores 3 y 5 (> 20 y > 40 η moles) (Figura 3.4.3).

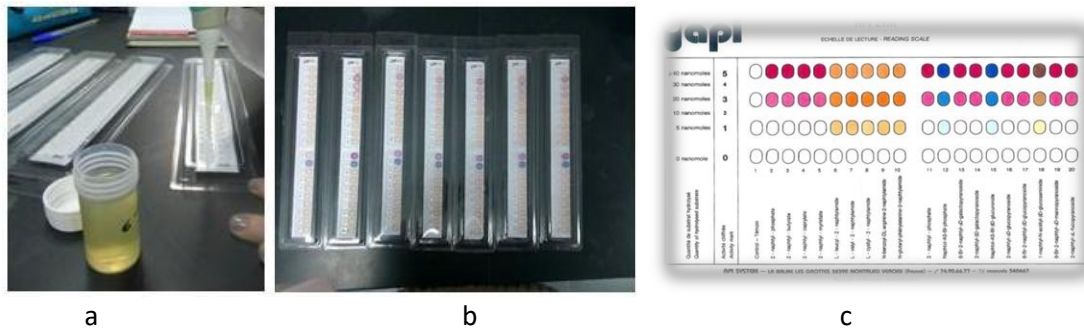
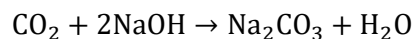


Figura 3.4.3. Adición de los a) extractos con micropipeta, b) Tiras API, c) Tablas de interpretación

Determinación del índice de respiración. La técnica de respirometría se basa en medir el consumo de oxígeno y posterior formación de CO₂ debido a la actividad de los microorganismos aeróbicos que van a encargarse de biodegradar los materiales orgánicos de las mezclas de residuos compostados y vermicompostados.

El principio de la determinación manométrica de oxígeno se basa en que los microorganismos al degradar la materia orgánica consumen oxígeno y desprenden anhídrido carbónico. Este gas puede ser retenido por un agente absorbente alcalino (hidróxido sódico).

La reacción ocurrida durante la determinación entre el anhídrido carbónico y el agente absorbente (hidróxido sódico) es la siguiente:



Para que el consumo de oxígeno pueda ser medido manométricamente, se deben dar las siguientes condiciones:

- La actividad biológica se debe producir en un recipiente herméticamente cerrado.
- El recipiente debe contener un espacio para el agente absorbente del anhídrido carbónico que asegure el contacto entre ambos.
- Este recipiente debe mantenerse a temperatura constante ya que cambios en la temperatura provocan fluctuaciones de presión que hacen imposible una medida exacta del oxígeno consumido.

Se utilizaron sensores de medida (Figura 3.4.4) OxiTop® (WTW, Weilheim, Alemania). Consiste en una medición de presión en un sistema cerrado: los microorganismos que se encuentran en la muestra consumen oxígeno y generan CO₂. El CO₂ se absorbe en una trampa de NaOH. Creando una presión negativa que puede leerse directamente como valor de medición en forma de DBO en mg L⁻¹. Los datos obtenidos fueron tratados mediante el programa informático ACHAT OC PC Communication Software (WTW, Weilheim, Alemania). A partir de estos datos se calcula el consumo de oxígeno a través de la siguiente ecuación:

$$gO_2 = \frac{\Delta\rho \cdot V_{fr} \cdot M_R}{R_{O_2} \cdot T}$$

Siendo:

- p = Medida de presión que proporciona el sensor (hPa)
- V_{fr} = Volumen de aire libre del recipiente (L)
- M_R = Pm de oxígeno (32 gmol^{-1})
- R_{O_2} = $8.301 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$
- T = temperatura medida en $^{\circ}\text{K}$

En esta técnica, los factores limitantes para el crecimiento de la población microbiana responsable de la degradación de la materia orgánica son el agua, el oxígeno y/o los nutrientes. Cuando se observaba una estabilización de las gráficas de consumo de oxígeno en función del tiempo, se procedió a inocular oxígeno en la botella de respirometría. Si la actividad biológica se reactivaba, esto indica que el oxígeno es en este caso el factor limitante y el experimento debe continuar. Cuando al inocular oxígeno en la botella, el consumo de oxígeno no continuaba, los nutrientes eran en este caso el factor limitante y se ponía fin al experimento.



Figura 3.4.4. Equipo de respirometría y sensor de lectura.

3.5. Análisis Metagenómico. Extracción y secuenciación de ADN. Metagenómica y análisis secuencial

La secuenciación del ADN es un conjunto de métodos y técnicas bioquímicas cuya finalidad es la determinación del orden de los nucleótidos (A, C, G y T) en un oligonucleótido de ADN. La secuencia de ADN constituye la información genética heredable que forma la base de los programas de desarrollo de los seres vivos (de procariontes, de eucariotes en el núcleo celular, y en los plásmidos, en la mitocondria y en cloroplastos de las plantas). Su determinación es útil en el estudio de la investigación básica de los procesos biológicos fundamentales, además, se puede utilizar la secuenciación del ADN para conocer las mutaciones somáticas, como las sustituciones de bases, generadas entre distintos organismos. Las muestras fueron cargadas en la plataforma MiSeq de Illumina y secuenciadas en combinación de 300 nts Paired End. En los resultados de la secuenciación se muestra el número de secuencias crudas obtenidas, la longitud

media, el número total de bases secuenciadas mediado en Megabases (Mb) y la calidad media de cada una de las muestras (Figura 3.5.1).

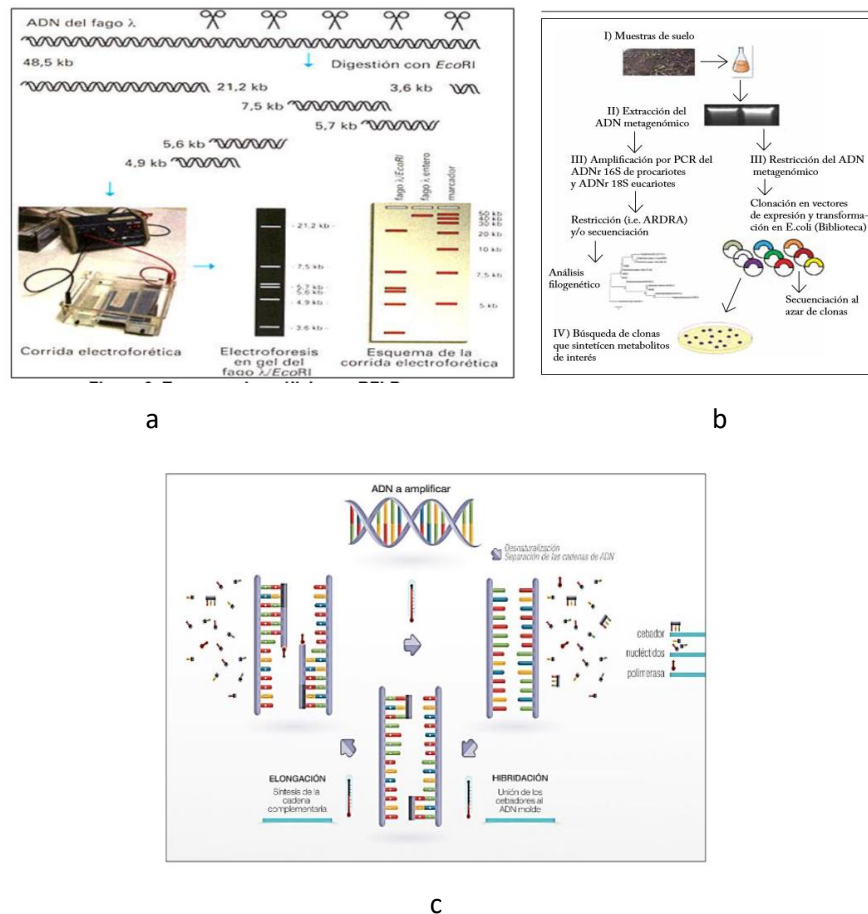


Figura 3.5.1.a) Esquema electroforesis, b) análisis RFLPs, c) etapas en la técnica de PCR/ (Agrobiotecnología, 2017)

El estudio de secuenciación metagenómica se realizó para analizar los compost y vermicompost finales obtenidos de la experiencia 1 de las muestras CH, CC, CM y VH, VC y VM. La cantidad de ADN se valoró en un espectrofotómetro UV (SmartSpec Plus-Biorad) a 260 y 280 nm, considerando 1 unidad de absorbancia (UA) igual a 50 µg/mL de ADN suspendido. Se estimó el grado de pureza de ADN con la relación de A_{260}/A_{280} , considerándose puro los valores aproximados a 1,8. La calidad de ADN se valora por electroforesis en gel de agarosa al 1,5% (1,5 g de agarosa, 50 mL de buffer TAE 1X (242 g Tris Base, 100 ml de EDTA 0,5 M pH 8,57, 1 mL Ac. Acético, 1 µl de solución de bromuro de etilo (5 µg/ mL), en litro de solución)), capturando la imagen de corrida, para evaluar el tamaño de las bandas.

Se realiza la extracción del ADN de las muestras realizando el control de su calidad cualitativa y cuantitativamente.

En el ADN limpio de inhibidores, metales y pigmentos, se capturó la región de estudio del 16s ARNr (región v3-v4 (Klindworth *et al.*, 2013) para bacterias y del ITS para hongos y levaduras (Toju *et al.*, 2012).

Análisis Bioinformático: Se realizó la anotación de las secuencias obtenidas en el proceso de secuenciación. Para cada muestra se estudian las secuencias (R1) y (R2) y la secuencia solapante, (PEAR V.0.9.1) que se fijó en 70 nts, eliminando aquellas secuencias de baja calidad (límite valor de calidad medio menor de Q20) y se procedió a la eliminación de restos de cebadores de amplificación, logrando reducir el sesgo que se puede introducir en el proceso de anotación y, seleccionando las secuencias de longitud mayor a 100 nt en las librerías de ITS y mayor a 200 nt en las de 16S, eliminando así errores de grupos taxonómicos (programa CUTADAPT versión 1.4.1). Finalmente se eliminan las secuencias quimeras utilizando la versión 5.2 del programa Usearch (Qiime), y las secuencias resultantes fueron utilizadas para el proceso de anotación, realizando el *clustering* y asignación taxonómica agrupando aquellas que comparten el 98% de su secuencia, porcentaje suficiente para asumir que provienen de la misma especie (programa Uclust). Se realizan aislamientos con la base de datos Silva (versión 123) y secuencias de los genes 16S y 18S ribosómicos, utilizados en la identificación de especies bacterianas y fúngicas respectivamente. Ambas tareas de *clustering* y alineamiento se realizan con el implementado dentro de Qiime. Las lecturas se agrupan en base a que pertenezcan al mismo phylum, familia o género, por lo que se obtienen gráficas para cada muestra reflejando su composición y se realizan los análisis de alfa y betadiversidad.

Por defecto Uclust permite 3 asociaciones taxonómicas como máximo para cada secuencia. Se realiza una curva de rarefacción comparativa entre las secuencias analizadas y el número de taxones detectados a distintos niveles, de forma que a mayor número de secuencias mayor número de organismos a detectar hasta que se llegue a una situación de saturación donde, en teoría, todos los organismos han sido detectados. Los análisis fueron realizados por la empresa Life Sequencing S.L. (Valencia, Spain).

3.6. Determinación del efecto supresivo

Se ha comprobado que el compost, además de su utilidad como fertilizante natural y como estructurante del suelo, puede presentar cierta capacidad biocontroladora frente a distintos fitopatógenos, por lo que también sería de utilidad en la lucha contra determinadas enfermedades vegetales. Este control viene dado principalmente por la actividad antagónica de los microorganismos que están presentes en el producto (Trillas-Gay *et al.*, 2014).

Como material vegetal para el estudio realizado se utilizaron las siguientes especies vegetales para la preparación de compost y vermicompost y la realización de los extractos correspondientes:

- *Lavandula angustifolia* M.
- *Thymus vulgaris* Mill
- *Rosmarinus Officinalis*
- *Oryza sativa*
- *Citrus limón*
- *Citrus sinensis*
- *Olea europea*
- *Zea mays* L.
- *Fycus carica*

Se utilizaron los compost obtenidos de la experiencia 1 a partir de cítrico, higuera y maíz en las proporciones 1:1:1 y 1:1:0,5, con estiércol de conejo y agua, así como compost obtenidos a partir de las especies vegetales que se mencionan en la lista anteriormente, obtenidos en otras experiencias tras 4 meses de compostado y vermicompostado en las mismas proporciones 1:1:1 del residuo con estiércol de conejo y agua (*Lavandula angustifolia* M; *Thymus vulgaris* Mill, *Rosmarinus Officinalis*, *Oryza sativa*, *Citrus limón* y *Olea europea*).

Para el estudio del efecto supresivo de los compost y vermicompost se ha seleccionado como bacteria *Xanthomonas campestris* spp y como hongo fitopatógeno *Fusariums* sp.

El ensayo se ha realizado a partir de extractos acuosos de muestras de compost y vermicompost a una concentración estandarizada en todos los casos.

Ensayo previo de supresividad: Método de difusión en agar: Se basa en la inhibición del crecimiento bacteriano, mediante la difusión de sustancias activas en un medio sólido, lo que se evidencia con la formación de halos de inhibición.

Preparación de la suspensión del inóculo: Se realizó una prueba en placa con los extractos usados, sobre hongos y bacterias que se aislaron en los Departamentos de Microbiología (Universidad de Almería y Universidad Politécnica de Valencia). Las cepas fueron proporcionadas por la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). La inhibición del crecimiento de los patógenos se midió tras 48 h en el caso de la bacteria *Xanthomonas campestris* y 7 días en el caso de *F. oxysporum* sp. Después de la prueba previa se realizó el aislamiento.

Para estudiar el efecto supresivo, se seleccionaron todos aquellos que resultaron ser activos y una vez aisladas las bacterias y hongos se aplica el extracto de material compostado o

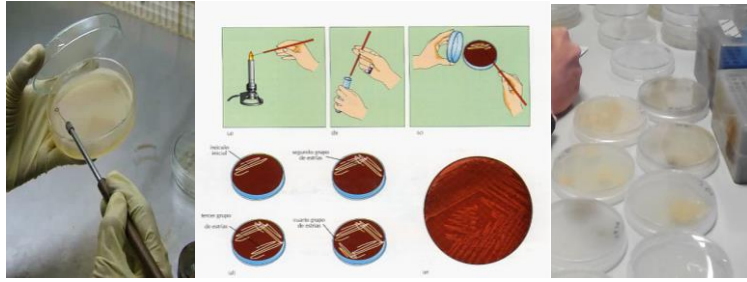


Figura 3.6.1. Procedimiento para el aislamiento de bacterias y hongos. Ensayo de extractos de compost y vermicompost (<http://www.ucm.es/info/mfar/pdfs/GuiaMicro2.pdf>)

vermicompostado de forma individual. Las colonias aisladas fueron seleccionadas de un cultivo en placa de agar, después de 18 a 24 horas a 35º de temperatura. El inóculo se preparó mediante una suspensión directa de las colonias aisladas. Para el aislamiento de hongos y bacterias se siguió el esquema de la Figura 3.6.1.

Los extractos usados en el ensayo son los siguientes:

- Compost y vermicompost de residuo de *Lavandula angustifolia L.*
- Compost y vermicompost de residuo de *Thymus vulgaris L.*
- Compost y vermicompost de residuo de *Rosmarinus Officinalis L.*
- Compost y vermicompost de residuo de Arroz *Oryza sativa L.*
- Compost y vermicompost de residuo de Cítrico *Citrus sinensis L.*
- Compost y vermicompost de residuo de Limonero *Citrus limón L.*
- Compost y vermicompost de residuo de olivo *Olea europea L.*
- Compost y vermicompost de residuo de Maíz *Zea mays L.*
- Compost y vermicompost de residuo de Higuera *Fycus carica L.*

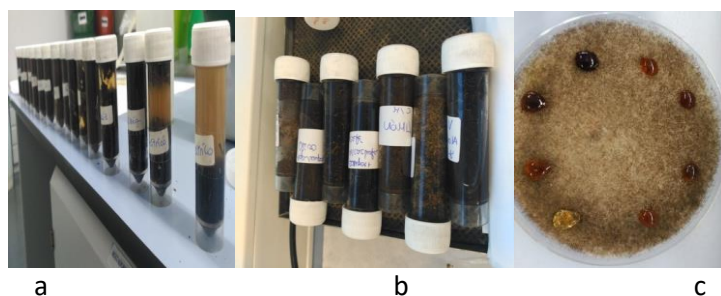


Figura 3.6.2. a) Tubos de sedimentación, b) agitación de extractos y c) aplicación de extractos

Los compost y vermicompost se mezclaron con agua en una proporción 1:5 (p/v) y fueron agitados a 25 °C durante dos días (Figura 3.6.2). Tras la incubación los extractos se pasaron por fibra de vidrio para retirar partículas y obtener unas muestras homogéneas. Posteriormente se preparan placas PDA. Para ello se prepara PDA, y tras el autoclavado y enfriamiento del medio a 48-50 °C, se completó el agua con los extractos de compost y

vermicompost al 5%. Tras la solidificación del medio, un disco de un cultivo de 7 días del hongo se colocará en el centro de cada placa, las cuales se incubarán a 28 °C. Se utilizan placas sin extractos como controles del ensayo.

El efecto supresivo se estimó por la inhibición del crecimiento del patógeno en las placas con extractos de compost y vermicompost. La intensidad o grado de supresividad se indica en las tablas en una escala de 1 a 3 (1 inhibición del 25%, 2 inhibición entre 25 y 50 % y 3 inhibición entre el 75 y 100 %) en función del halo de inhibición.

3.7. Evaluación de los compost y vermicompost como sustratos

Para el estudio del desarrollo vegetal sobre los sustratos obtenidos de compost y vermicompost a partir de los residuos mencionados se utilizaron plantas de romero, hierbabuena y lavanda. La experiencia se realiza en recipientes de PVC con una capacidad de 500 cm³, se llenaron los recipientes con un suelo franco al que se adicionan 100 g del compost o vermicompost correspondiente. Se utilizan 5 macetas por cada residuo compostado o vermicompostado y los testigos correspondientes.

Durante aproximadamente 4 meses se cultivaron las plantas de lavanda, menta y romero en las correspondientes macetas. Inicialmente las macetas con las plántulas se llevaron a la cámara del laboratorio controlada (12 h de luz a 25 °C, 12 h de oscuridad y una humedad relativa del 60 %), manteniendo la humedad mediante riego por goteo en el invernadero.

Al final de la experiencia que duró aproximadamente 4 meses se recolectaron las plantas, se lavaron, secando y pesando la raíz, por un lado, y por otro la parte aérea, se midió la altura y el grosor del tallo, la altura del vástago, contando el número de ramificaciones, y se determinó el peso total, el peso y la longitud total de raíces. La denominación de los sustratos de crecimiento de romero utilizada es la siguiente: CC compost de cítrico, CH compost de higuera, y CM compost de maíz; VC vermicompost de cítrico, VM vermicompost de maíz, VH vermicompost de higuera.

3.8. Extracción y degradación de medicamentos en el suelo y absorción por la planta.

Análisis de la concentración de medicamentos

Finalizado el tiempo de aplicación, se cuantificó en los residuos la cantidad de los productos farmacéuticos remanentes en los suelos adicionados de compost y vermicompost en los correspondientes tiempos indicados, así como en la raíz y hojas de las plantas de lechuga. La metodología utilizada para realizar las extracciones fue la siguiente:

Extracción de medicamentos en suelo. En la extracción de los medicamentos, tanto en la experiencia de compostaje y vermicompostaje como en la adición de dichas enmiendas con medicamentos en las macetas de lechuga (véase apartado 3.1), se pesaron 5 g de suelo, compost o vermicompost que se colocaron en tubos de centrífuga de 50 mL. Se añadieron 20 mL de una solución extractante con agua/acetonitrilo 25/75 con 1% de ácido fórmico (v/v). Se agitó durante 60 minutos y posteriormente se centrifugó a 4000 rpm durante 5 min tal como se describe en el procedimiento de Boluda *et al.*, (2013). Posteriormente mediante la utilización de un filtro de jeringuilla de 0,45 μm , filtramos el líquido de los recipientes para retirar los restos de compost y vermicompost en suspensión y el extracto obtenido lo almacenamos en un congelador. Finalmente, se determina por espectrometría de gases-masas la concentración de medicamentos.

Extracción de medicamentos en la parte vegetal. Se utiliza el método de extracción en fase sólida dispersiva “QueChers” (adaptado mediante la Norma EN 156624) por ser uno de los procedimientos más rápidos y sencillos. Este método combina dos etapas, una etapa de extracción de 5 g de muestra vegetal con acetonitrilo y diferentes sales, (las sales que pueden ser empleadas en esta etapa son el sulfato de magnesio, el cloruro sódico, el citrato tribásico de sodio dihidrato y citrato de sodio dibásico sesquihidrato), y una fase de dispersión en fase sólida donde se realiza una limpieza o “clean-up”. Las sales y sorbentes empleados en esta fase son: Sulfato de magnesio (MgSO_4): elimina el exceso de agua residual; amina primaria/secundaria (PSA) que elimina ácidos orgánicos, ácidos grasos, azúcares y pigmentos de antocianina; Sorbente C18: elimina grasas, esteroides y otras interferencias no polares de la muestra, y Carbón negro grafitado (GCB): elimina pigmentos de la muestra como clorofilas y carotenoides, sin afectar a los compuestos planares.

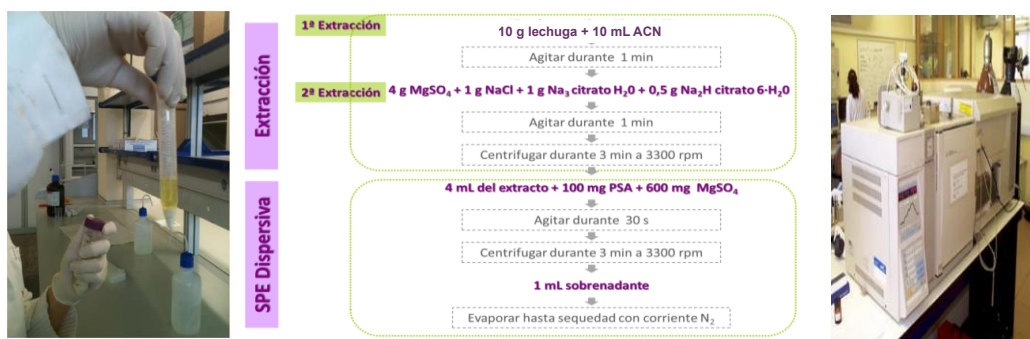


Figura 3.8.1. Procedimiento de extracción método Quechers. Espectrómetro de-masas

A continuación, tras la extracción y concentración de los analitos, puede realizarse la identificación y cuantificación de los compuestos de interés por análisis cromatográfico.

Especificaciones técnicas del Espectrómetro:

El equipo usado es un Espectrómetro de masas Agilent 5977A con analizador cuadrupolar de baja resolución, con cromatografía de gases (Agilent 7890B) para columnas capilares (split/spitless, plused Split y plused spitless) e interfase GC-MS.

Se ha utilizado una columna HP-5MSi (Agilent), compuesta por 5% de fenil, 95% de dimetilpolisiloxano de 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm .

Las condiciones del MS/MS para los productos fueron obtenidas a partir de la inyección directa de 1 mg L^{-1} de agua/acetonitrilo (98:2 v/v) de las soluciones estándar individuales con un flujo de 10 $\mu\text{L min}^{-1}$. Se utilizaron dos transiciones MRM para garantizar la identificación del compuesto; en algunos casos se tuvo que utilizar tres transiciones MRM. Se realizaron curvas de calibración con la finalidad de controlar un posible efecto matriz que pudiese influir en la exactitud. Se elaboró un blanco fortificado añadiéndole diferentes alícuotas de una mezcla de las soluciones estándar a concentraciones de 1 a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Las condiciones del cromatógrafo de gases acoplado al espectrómetro de masas son:

- Volumen de inyección: 1 μL
- Temperatura inicial de 60 $^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos, a 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta 180 $^{\circ}\text{C}$ durante 0 minutos, seguido de una rampa de 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta 280 $^{\circ}\text{C}$ durante 10 minutos.

- Modo de inyección: Split ratio 3:1
- Flujo constante a 1 mL . min^{-1}
- Rango de masas: 30-650 μma
- Solvent delay: 3 min.
- Flujo de He: 1 mL . m^{-1}

El límite de cuantificación fue de 0,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ y el porcentaje de recuperación fue desde un 86% a un 88% para los medicamento, las soluciones estándar de 1 a 5 R2.

Recuperación y validación del método:

La linealidad del método se estudió analizando las soluciones estándar a cinco concentraciones de 1 a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$. Al aplicar la regresión por mínimos cuadrados, se asumió que la linealidad era satisfactoria cuando el coeficiente de correlación (r^2) fue mayor de 0,99 y el error residual menor del 30%. Se estudiaron la exactitud (expresada como el porcentaje de recuperación) y la precisión (expresada en términos de desviación estándar relativa, DER) a partir de las medias de los experimentos de recuperación.

Optimización del método analítico para la determinación de fármacos. Condiciones de optimización.

El método se ha optimizado con la finalidad de determinar los compuestos en las diferentes matrices, tal y como se describe a continuación. Se realizaron curvas de calibración con la finalidad de controlar un posible efecto matriz que pudiese influir en la exactitud. Se elaboró un blanco fortificado añadiéndole diferentes alícuotas de una mezcla de las soluciones estándar a concentraciones de 1 a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$.

En la Tabla 3.1.7 se resumen los parámetros del aparato y los tiempos de retención para cada uno de los compuestos analizados. La concentración de los compuestos detectados en las muestras sólidas se expresó en $\mu\text{g kg}^{-1}$ de masa seca (ms).

Obtenidos los valores se realizó el cálculo de la concentración de medicamentos; y de su tiempo de vida media:

$$\frac{\text{mg}}{\text{Kg}} = \frac{\text{Concent. medicamento } \left(\frac{\text{mg}}{\text{l}}\right) * \text{Volumen extractante (ml)}}{\text{muestra seca (g)}}$$

Tabla 3.1.9. Condiciones de optimización del HPLC/MS/MS.

Compuestos	Tiempo (min)	Ion precursor	PD	PD m/z	EC
Azitromicina	9,2	749,5	76	591-158	37- 51
Irbesartán	15,1	429,2	61	207-195	31-29
Fluoxetina	12,4	310,1	26	148-44	13 -7
Ibuprofeno	16,3	205,0	25	161-158	14-10
Telmisartán	14,3	515,2	86	276-497	65-43
Cafeína	2,9	199,0	45	195-138	67-7
Paracetamol	1,3	234,1	76	152-109	102-142
Benzocaína	9,8	278,2	41	121-147	37-31
Acido acetilsalicílico	2,70	189,2	61	179-137	49-51
Fenitoína	2,9	312,0	36	253-182	57-61
Quinolona	2,4	308,0	81	332-288	41-47

PD: potencial de desfragmentación; m/z: relación masa/carga de ion; EC: energía de colisión

El tiempo de vida media hace referencia al tiempo que tarda en degradarse la mitad de la concentración de una sustancia (Dorival-García *et al.*, 2015) en nuestro caso los medicamentos aplicados. Para calcular el tiempo de vida media de ambos medicamentos se han utilizado las siguientes ecuaciones:

$$\left. \begin{array}{l} C = C_0 e^{-kt} \\ t_{1/2} \rightarrow C = C_0/2 \end{array} \right\} \begin{array}{l} C_0/2 = C_0 e^{-kt_{1/2}} \rightarrow \ln 0.5 = -k t_{1/2} * \ln e \\ t_{1/2} = \frac{-(-0.693)}{k} = \frac{0.693}{k} \end{array}$$

3.9. Análisis estadístico de los datos

En los análisis de las muestras se realizaron numerosas repeticiones (de 2 a 4), cálculo de los valores medios y desviación estándar. El análisis de los datos se realizó usando el pack de herramientas de Excel (Microsoft Office 2017).

Para el estudio estadístico de los resultados se utilizó el programa SPSS para Windows versión 22.0. Los resultados experimentales obtenidos se analizaron mediante las correspondientes técnicas de Análisis de la Varianza (ANOVA).

La relación entre las características fisicoquímicas y biológicas y el crecimiento vegetal se estudió con un análisis de regresión y correlación.

Para determinar la significación de las diferencias entre las medias de los distintos grupos o niveles establecidos, se aplicó el test de Student considerando un nivel de significación mínimo de $P \leq 0,05$. Se obtuvo la matriz de correlación entre parámetros empleando la correlación bilateral de Pearson.

Finalmente, y para reducir la dimensionalidad de los conjuntos de datos estudiados, se aplicó el Análisis de Componentes Principales (PCA) basado en la matriz de correlación de dichos datos.

La determinación de las diferencias de grupos taxonómicos, abundancia de genes funcionales e índices fue determinado mediante m-package y abundancia relativa de bacterias, hongos y *archaeae*. Se utilizó la base de secuencias comparativas Silva en su versión 123, posteriormente se realizaron distintos análisis y filtrajes utilizando el programa Qiime. Se realizaron además los análisis de alfa-y betadiversidad utilizando la base de referencia Uclust.

4. Resultados y discusión

En este capítulo se exponen los resultados sobre los diferentes aspectos, que se recogen en el estudio de la capacidad de distintos residuos de transformarse mediante las técnicas de compostaje y vermicompostaje en productos estables y utilizables en agricultura. Así como la evaluación de estas técnicas de tratamiento para eliminar contaminantes emergentes de cara a la sostenibilidad y a la economía circular.

4.1. Estudio del efecto de los procesos de compostaje y vermicompostaje como técnicas de tratamiento para el reciclado y la valorización de los biorresiduos

En cualquier proceso de compostaje y vermicompostaje interesa estudiar las características de los productos de partida y los finalmente obtenidos tras el proceso. En este apartado se analizan tanto las características de los residuos iniciales como las de las mezclas utilizadas en el proceso de compostaje, para posteriormente valorar detalladamente las características de los productos finales obtenidos y su utilidad desde diferentes aspectos entre los que se incluirán su utilización como fertilizante, como sustrato vegetal y su efecto supresivo sobre agentes patógenos.

4.1.1 Caracterización de los residuos, compost y vermicompost

Para llevar a cabo cualquier tipo de tratamiento de residuos orgánicos, es fundamental conocer su origen, composición y propiedades. En el caso de seleccionar el proceso de compostaje y vermicompostaje para tal finalidad, este aspecto es todavía más importante, ya que es necesario que el residuo posea unas propiedades físicas y una composición adecuada, dado que son procesos biológicos en los que intervienen microorganismos que necesitan un entorno y un medio nutritivo adecuados para que el proceso se desarrolle con efectividad (Soliva, 2001; López y Boluda, 2008).

En nuestro caso, los residuos utilizados son evidentemente materiales orgánicos debido a su origen vegetal. No obstante, su composición puede ser variada dependiendo del tipo de cultivo del que proceda. La Tabla 4.1.1 muestra los resultados de la caracterización de los residuos agrícolas de maíz (RM), higuera (RH) y cítrico (RC) así como del estiércol de conejo (EC), y en la Tabla 4.1.2 se indica el manejo de los residuos, humedad, pH y relación C/N de las mezclas.

Desde el punto de vista del compostaje hay que señalar que los tres residuos agrícolas que hemos utilizado no son compatibles al tener un contenido de humedad y una relación C/N semejantes, luego se requiere un residuo que pueda aportar las necesidades nutricionales necesarias, en este sentido, el estiércol de conejo aporta un contenido importante de nitrógeno (1,5 %) que no tienen nuestros residuos vegetales (0,6 -1,0).

Aunque el compostaje y vermicompostaje de estos residuos por si solo puede ser factible, se recomienda su mezcla con otros residuos que contengan características adecuadas de manera que se acelere y mejore el rendimiento del proceso de compostaje y vermicompostaje.

Existen muchas referencias en la bibliografía en las cuales se lleva a cabo estas técnicas de tratamiento con residuos de poda (Day y Shaw, 2001; Goldstein, 2004; Smidt., 2009; Haug, 2014; Abbasi *et al.*, 2015; Rekasi *et al.*, 2019).

Los contenidos de humedad de RM, RH y RC son semejantes situándose entre 72 y 75,8 % mientras que el contenido del estiércol de conejo es ligeramente inferior (48,8 %). Como es obvio, la salinidad de los residuos agrícolas es baja (entre 0,3 y 0,7 dS.m⁻¹) y la del estiércol de conejo es bastante más elevada (2,1 dS.m⁻¹). El pH es de 5,7 para el RM, siendo mucho más alto para RC y RH, el EC presenta un valor de pH de 8,2, es mucho más elevado dada su etiología. El carbono total varía de 42 a 54 % en los residuos agrícolas, mientras que en el EC es de 38,6 %. La relación C/N es 42,3 para RM, 48,5 para RH, 41,2 para RC y 25,7 para EC, en EC es mucho más baja por su mayor proporción en nitrógeno (1,5 %).

Los demás parámetros como son los nutrientes tales como fósforo, potasio, calcio y magnesio, presentan los valores característicos de residuos agrícolas y complementan el medio nutritivo adecuado para los organismos que deben llevar a cabo el proceso. Respecto al sodio, indicar de la misma manera que es muy bajo para los residuos agrícolas (de 0,1 a 0,03 % de Na₂O) y más elevado para el estiércol de conejo (1,8 %).

Estos resultados son semejantes a los que se observa en la bibliografía obtenidos por otros autores (ej. Sumer *et al.*, 2001; Paredes *et al.*, 2002 y López y Boluda, 2008; Gul *et al.*, 2016).

Respecto al residuo de conejo nuestros valores son semejantes a los mostrados en los trabajos de Soliva, (2001); Li *et al.*, (2013); Gong *et al.*, (2018); Boluda *et al.*, (2014); Lim *et al.*, (2016).

Tabla 4.1.1. Caracterización analítica de los residuos agrícolas (entre paréntesis se indica la desviación estándar, n=3)

Parámetro	R. Maíz	R. Higuera	R. Cítrico	Estiércol de conejo
Humedad %	75,3 (0,4)	72,3 (0,4)	75,8 (2,4)	48,8 (2,4)
CE (dS.m ⁻¹) 1:10	0,7 (0,1)	0,7 (0,0)	0,3 (0,0)	2,1 (0,0)
pH 1:10	5,7 (0,0)	6,7 (0,0)	7,8 (0,0)	8,2 (0,0)
Carbono Total (%)	42,2 (1,1)	49,6 (0,6)	53,5 (0,8)	38,6 (0,8)
Relación C/N	42,3 (1,0)	48,5 (0,3)	41,2 (0,6)	25,7 (0,6)
Fósforo (% P ₂ O ₅)	0,6 (0,1)	1,6 (0,0)	0,5 (0,0)	1,7 (0,0)
Potasio (% K ₂ O)	0,6 (0,1)	0,5 (0,0)	0,5 (0,0)	0,8 (0,0)
Calcio (% CaO)	0,6 (0,1)	2,9 (0,0)	6,5 (0,3)	3,5 (0,4)
Magnesio (% MgO)	0,3 (0,1)	0,2 (0,0)	1,3 (0,0)	2,2 (0,0)
Sodio (% Na ₂ O)	0,03 (0,0)	0,03 (0,0)	0,1 (0,0)	1,8 (0,0)

Algunas de las características de las mezclas obtenidas de los residuos agrícolas con estiércol de conejo y agua en las proporciones que se citan en el apartado materiales y métodos (RM:EC:H₂O) 1:1:1, (RH:EC:H₂O) 1:1:0,5 y (RC:EC:H₂O) 1:1:1, se muestran en la Tabla 4.1.2. Donde se observan contenidos elevados de humedad y semejantes para las tres mezclas que van de 72,3 % para RH a 74,5 % para RM, y valores de pH superiores a 8 en todas las mezclas, siendo en la mezcla del RM donde se alcanzan los valores de pH más elevados (8,5). Las relaciones C/N oscilan entre el valor más bajo de 29,8 para RH al valor más elevado para el residuo de cítrico (RC 31,0), variando estas relaciones con respecto al residuo inicial.

Tabla 4.1.2. Manejo de los residuos y algunas características de las mezclas (entre paréntesis se indica la desviación estándar, n=3) (RA residuo agrícola, RC estiércol de conejo)

Parámetro	Mezcla inicial R. Maíz	Mezcla inicial R. Higuera	Mezcla inicial R. Cítrico
Proporción (RA:EC:H ₂ O)	1:1:1	1:1:0,5	1:1:1
Humedad %	74,5 (0,4)	72,3 (0,4)	73,9 (2,4)
pH 1:10	8,5 (0,0)	8,3 (0,0)	8,2 (0,0)
Relación C/N	30,1(1,0)	29,8 (0,3)	31,0 (0,6)

La estabilización del proceso de vermicompostaje suele ocurrir entre 12 a 16 semanas después de haber iniciado el proceso, esto se suele observar utilizando diferentes indicadores. En los últimos años las actividades enzimáticas (deshidrogenasa, proteasa, ureasa, glucosidasa, fosfatasa, etc.) se han utilizado con objeto de obtener información sobre los cambios de los residuos orgánicos en procesos de este tipo. Se ha observado que el índice potencial metabólico y la fase de maduración en el vermicompostaje se consiguen tras 12 a 18 semanas de haberse iniciado el proceso de tratamiento (Benítez *et al.*, 1999, en: Nogales *et al.*, 2008; Lim *et al.*, 2016).

Así pues, en nuestro caso después de aproximadamente 4 meses tras haber iniciado el proceso se consideró finalizado y se procedió a la evaluación de las características de los compost y vermicompost obtenidos (Tablas 4.1.3 y 4.1.4).

Tabla 4.1.3. Características físicas y químicas de los compost obtenidos (entre paréntesis se indica la desviación estándar, n=3)

Parámetro	CM	CH	CC
Humedad %	31 (0,2)	32 (1,2)	38 (1,4)
Densidad (g /cm ³)	0,9 (0,1)	1,1 (0,2)	0,9 (0,1)
CRA %	74 (2,9)	76 (6,1)	89 (2,3)
CE (dS.m ⁻¹) 1:10	2,9 (0,1)	2,3 (0,1)	4,3 (0,3)
pH 1:10	7,6 (0,1)	7,8 (0,1)	7,9 (0,7)
Carbono Total (%)	27,5 (0,1)	28,8 (0,2)	32,3 (0,3)
Relación C/N	21,5 (0,4)	19,0 (1,9)	12,30 (0,6)
Fósforo (% P ₂ O ₅)	1,3 (0,2)	2,0 (0,3)	1,7 (0,3)
Calcio (% CaO)	3,2 (0,2)	4,2 (0,1)	2,2 (0,1)
Potasio (% K ₂ O)	1,5 (0,0)	1,2 (0,0)	0,9 (0,1)
Magnesio (% MgO)	2,1 (0,1)	2,9 (0,1)	2,4 (0,1)
Sodio (% Na ₂ O)	0,5 (0,1)	0,4 (0,1)	0,3 (0,1)
CIC (cmol _c .kg ⁻¹)	64,2 (2,0)	65,2 (3,8)	71,3 (1,6)

Tabla 4.1.4. Características físicas y químicas de los vermicompost obtenidos (entre paréntesis se indica la desviación estándar, n=3)

Parámetro	VM	VH	VC
Humedad %	35 (0,6)	34 (1,4)	31 (1,4)
Densidad (g /cm ³)	0,8 (0,1)	0,9 (0,2)	0,8 (0,1)
CRA %	78 (2,8)	75 (3,0)	72 (2,3)
CE (dS.m ⁻¹) 1:10	2,9 (0,1)	1,5 (0,1)	2,2 (0,2)
pH 1: 1:10	7,6 (0,1)	7,8 (0,1)	7,8 (0,1)
Carbono Total (%)	30,5 (0,1)	34,3 (0,1)	35,5 (0,4)
Relación C/N	12,3 (0,2)	10,5 (0,9)	14,0 (0,2)
Fósforo (% P ₂ O ₅)	1,3 (0,2)	1,7 (0,3)	1,5 (0,2)
Calcio (% CaO)	3,2 (0,0)	1,2 (0,0)	2,1 (0,0)
Potasio (% K ₂ O)	1,9 (0,0)	1,2 (0,0)	0,9 (0,0)
Magnesio (% MgO)	1,6 (0,9)	1,9 (0,1)	3,8 (0,1)
Sodio (% Na ₂ O)	0,3 (0,0)	0,5 (0,0)	0,4 (0,1)
CIC (cmol _c .kg ⁻¹)	73,7 (2,7)	70,2 (3,8)	83,1 (1,6)

4.1.2. Índices físicos de valoración para los compost y vermicompost

Durante el seguimiento del proceso a través de las observaciones de campo se apreciaron cambios morfológicos, físicos y químicos: pérdida del olor desagradable, oscurecimiento (Figura 4.1.1), disminución del volumen, del peso y de la humedad.

Un aspecto importante fue el seguimiento, control y mantenimiento de las condiciones de humedad y temperatura adecuadas para el desarrollo del proceso. Este parámetro es un factor fundamental para que se reproduzcan y crezcan los distintos microorganismos responsables de los procesos de compostaje y vermicompostaje (Negro *et al.*, 2000; Rodríguez, 2001; Gigliotti *et al.*, 2012; Khaitov *et al.*, 2019). Cuando el porcentaje de humedad es demasiado elevado, el agua desplaza al aire de los espacios existentes, produciéndose una bajada de temperaturas y las condiciones del proceso se tornan anaeróbicas (Saña *et al.*, 1987; Negro *et al.*, 2000; Rodríguez, 2001; Guo *et al.*, 2012; Oviedo *et al.*, 2014). Si la humedad es excesivamente baja, se disminuye la actividad de los microorganismos y por tanto, la velocidad de descomposición biológica de la materia orgánica se ralentiza, pudiéndose llegar finalmente a la inhibición y el fracaso de estos procesos, obteniéndose un producto biológicamente inestable (Saña *et al.*, 1987; Negro *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 2010; Agnolucci *et al.*, 2013). Por debajo del

20 % de humedad la actividad microbiana cesa (Rodríguez, 2001). No obstante, siempre podemos corregir el exceso de humedad con un aumento de la aireación, y el defecto mediante riegos a los materiales en descomposición (Saña *et al.*, 1987; Liu *et al.*, 2013; Paradelo *et al.*, 2019).

El contenido de humedad óptimo para el proceso de compostaje es aquel comprendido entre el 40-60 % (Saña *et al.*, 1987; Rekasi *et al.*, 2019), mientras que para otros autores el proceso se mejora con unas condiciones de humedad entre el 50 y el 70 % principalmente en la fase termófila (Haug, 1993; Roca-Pérez *et al.*, 2005; Bueno *et al.*, 2008; Roca-Pérez *et al.*, 2009). En cuanto al vermicompostaje, la exigencia de humedad en él debe ser alrededor al 85 %, ya que las lombrices poseen un mecanismo de intercambio gaseoso que se realiza a través de su epidermis y pueden resistir estos altos contenidos de humedad (Edwards, 1998). Esto implica, que el contenido en agua del residuo orgánico debe ser ajustado antes de iniciar el proceso de vermicompostaje en base a los requerimientos óptimos de la lombriz particular usada en el proceso, en nuestro caso debe estar entre un 85 y 90 % (Dominguez, 1997; Nogales, 2008).

El producto final obtenido presentaba una humedad comprendida entre el 30 y el 40 % (Figura 4.1.2), valores que se encuentran en los rangos de los índices establecidos en el R.D. 506/2013 sobre fertilizantes (Domínguez *et al.*, 1997; Chang *et al.*, 2017).

Los valores finales de humedad que se obtuvieron en los compost fueron de 31, 32 y 38 % para los CM, CH y CC, respectivamente, y 35, 34 y 31 % para VM, VH y VC, valores adecuados según el R.D. 506/2013 sobre fertilizantes.

Respecto a la temperatura la tabla 4.1.5 muestra el resumen del seguimiento de este parámetro durante los experimentos compostaje y vermicompostaje.

La variación de la temperatura juega un papel selectivo durante el proceso de compostaje, tanto en la evolución como en la sucesión de las comunidades microbianas, la diversidad microbiológica y la higienización del producto final (Haug, 1993; Zhu *et al.*, 2006; Roca-Pérez *et al.*, 2009, Nakasaki *et al.*, 2017).

Los valores de temperaturas media máximas que se alcanzaron en la fase termófila en los compost fueron de 68,1 °C, 70,9 °C y 65,1 °C para los CC, CM y CH respectivamente. La temperatura por encima de 55 °C permaneció 58, 110 y 69 horas para CC, CM y CH respectivamente.

Desde el punto de vista de la higienización del producto, existen diferencias de criterios a la hora de evaluar la efectividad del proceso. Algunos autores indican que de 48 horas a 72 horas por encima de 55 °C es lo más adecuado (Hanajima *et al.*, 2001, EPSAR, 2018; R.D. 506/2013 sobre fertilizantes). Otros indican que por encima de 40 °C durante tres días es suficiente para destruir los patógenos (Crockett *et al.*, 2001; Cai *et al.*, 2012).

En nuestro caso se alcanzó esta temperatura en todas las muestras compostadas, aunque las mezclas vermicompostadas no llegan a elevar su temperatura a este umbral, siendo bastante inferior la temperatura. En este caso, todos los vermicompost tuvieron un comportamiento similar respecto a las temperaturas, debido a los valores elevados de humedad (Tabla 4.1.5).

Tabla 4.1.5. Temperaturas máximas obtenidas en las fases termófilas y de maduración

°C	CC	VC	CM	VM	CH	VH
Temperaturas medias máximas en la fase termófila	68,1	38,3	70,9	35,6	65,1	35,7
Temperaturas medias máximas en la fase de maduración	25,2	22,3	31,3	24,3	26,7	23,1
Duración de horas ($T^a > 55$ °C)	58	-	110	-	69	-
Duración de horas ($T^a > 45$ °C)	16	-	18	-	12	-

El estudio de las propiedades físicas de un compost, la granulometría, la retención de agua, y la densidad aparente, es de interés para poder evaluar la porosidad y la capacidad del compost de ser utilizado para aumentar los espacios entre sólidos en compost de biosólidos o estiércol con muy alto contenido de humedad y escasa porosidad (Haug, 1993; Chang *et al.*, 2010; Hanc *et al.*, 2016) como también la alternativa de uso como sustrato o componente de otras mezclas. La densidad de un sustrato es la relación que existe entre la masa del sólido y el volumen total ocupado por el sólido y por el espacio poroso. En los resultados, observamos que los vermicompost tienen menor densidad aparente que los compost. Y tanto en compost como en vermicompost la menor densidad es la del sustrato preparado con residuo de cítrico (CC 0,9 g/cm³, y VC 0,8 g/cm³) y de maíz (CM 0,9 g/cm³, y VM 0,8 g/cm³), la mayor densidad fue la obtenida con el compost de higuera (CH 1,1 g/cm³) (Figura 4.1.2). Resultados similares fueron obtenidos por Leege y Thompson (1997), Goyal *et al.*, (2005) y Chang *et al.*, (2019) en residuos de poda y los valores de densidad indicados por Sullivan y Miller (2005) en relación con los contenidos de humedad que obtuvieron.

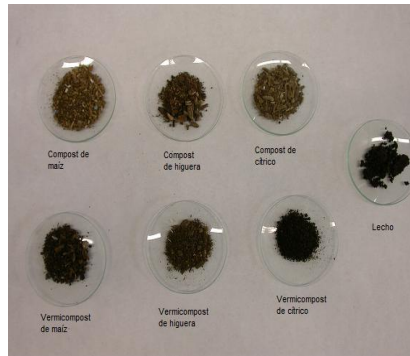
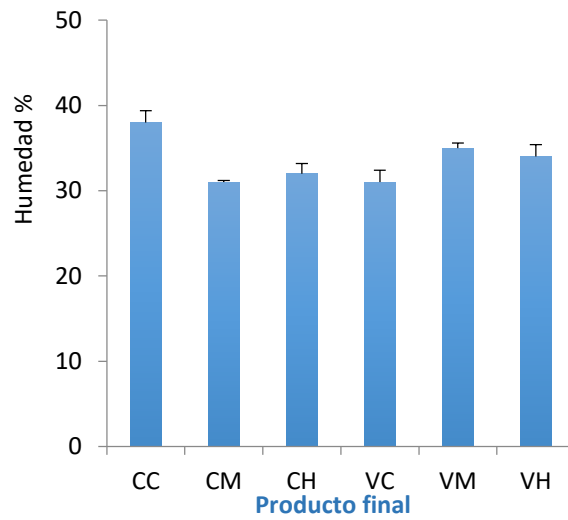
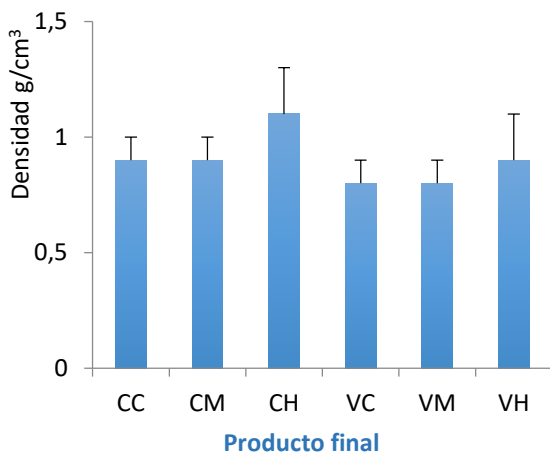


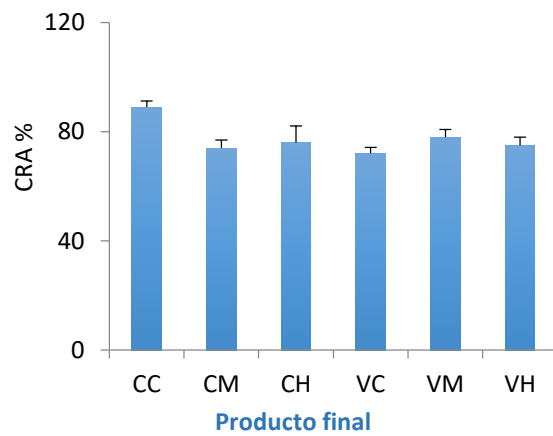
Figura 4.1.1. Muestras de compost y vermicompost



a



b



c

Figura 4.1.2. Valores medios y desviación típica de a) % humedad, b) densidad g/cm³, c) % capacidad de retención de agua. CC: compost de cítrico; CM: compost de maíz; CH: compost de higuera; VC: vermicompost de cítrico; VM: vermicompost de maíz; VH: vermicompost de higuera

Para un óptimo crecimiento de la planta un sustrato debe contener suficiente cantidad de agua y aire y ambos estar disponibles. Siendo de gran importancia el efecto directo de la distribución del tamaño de partícula sobre la disponibilidad de agua y aire en mezclas de compost y vermicompost (Campos-Motta *et al.*, 2009; Jain *et al.*, 2014).

Los valores de capacidad de retención de agua son ligeramente mayores en los compost frente a los vermicompost (CM 74 %, CH 76 % y CC 89 %), obteniéndose los valores más bajos para el vermicompost de cítrico (VC 72 %). Se observa que a excepción del compost obtenido del residuo de cítrico, en general los valores son bastante similares con escasa desviación estándar, y similares a los obtenidos por Kukal *et al.*, (2012) (Figura 4.1.2c).

La observación por microscopía electrónica de barrido de los distintos residuos utilizados: maíz, higuera y cítrico, comparando el compostaje y vermicompostaje obtenido con el método MEB (Tabla 4.1.10), mostró la complejidad de las fracciones orgánicas, así como la diferencia de densidad referida a la compactación de su estructura en cuanto a la mayor o menor existencia de espacio poroso en función del proceso de compostaje y vermicompostaje.

Las muestras de vermicompost presentaron una estructura menos compacta donde se observaron las fibras más destruidas y transformadas por el efecto de la lombriz, mostrando además gránulos minerales debido a la formación de precipitados por la mineralización de la materia orgánica y la posible evaporación de humedad de la muestra. Las muestras iniciales mostraron un tamaño de partícula más grande con una superficie gruesa, menos compactación y disposición de la biomasa como una malla densa de fibras lingocelulósicas, mientras que las muestras finales mostraron un tamaño de partícula más pequeño, compactación y menor porosidad por unidad de área. Las micrografías de electrones muestran claramente la mejora de la degradación y una mejor textura. Resultados similares fueron obtenidos por Kumar *et al.*, (2014); Soobhany *et al.*, (2017) y Arora *et al.*, (2019) que indican en un estudio similar que las muestras iniciales presentan un tamaño de partícula más grande con una superficie gruesa, menos compactación y disposición de la biomasa como una malla densa de fibras lingocelulósicas, mientras que las muestras finales mostraron un tamaño de partícula más pequeño, mayor compactación y menor porosidad por unidad de área (Figura 4.1.3).

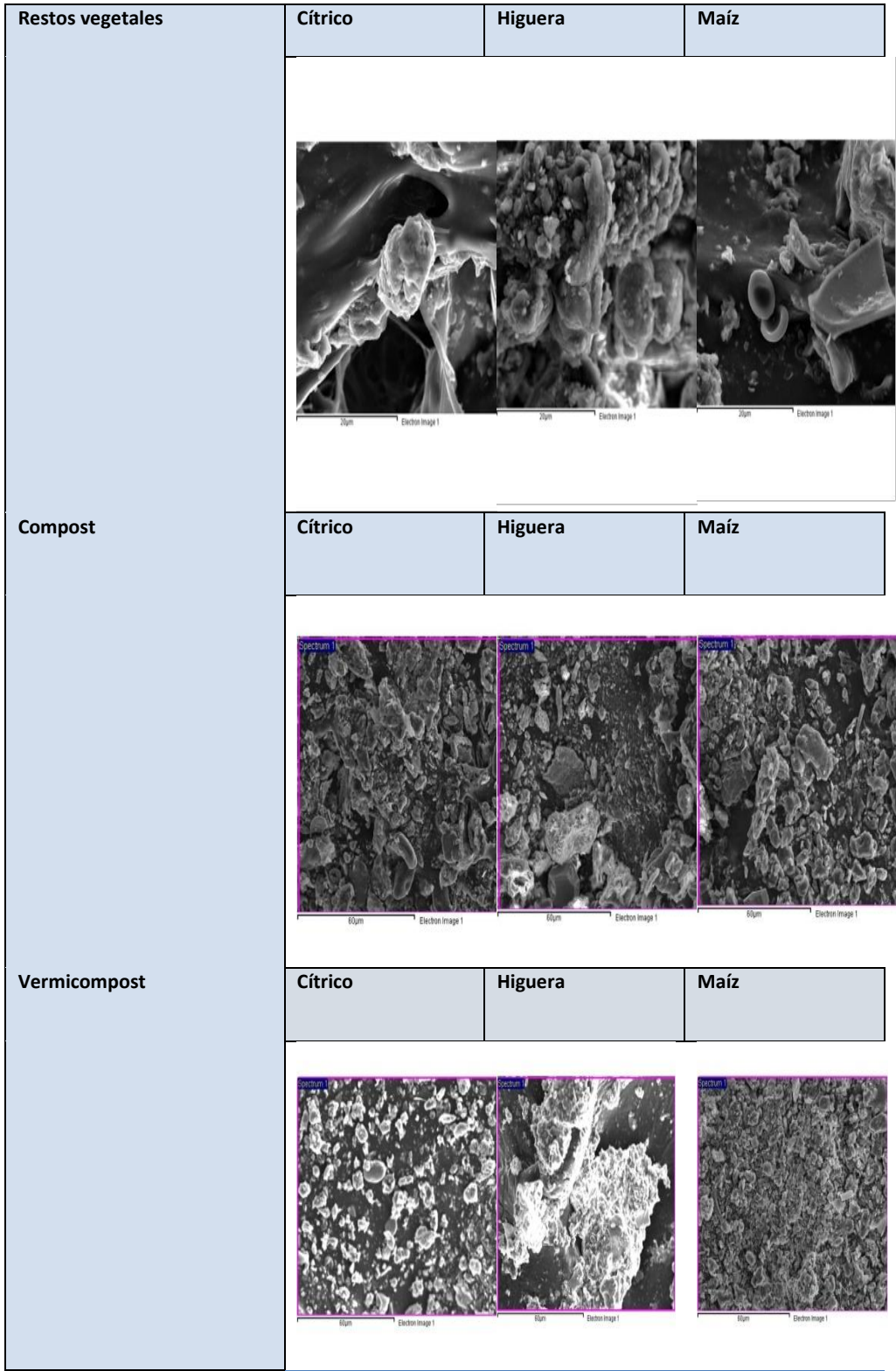


Figura 4.1.3. Fotografías MEB de las muestras de residuos iniciales y finales del proceso de compostaje y vermicompostaje

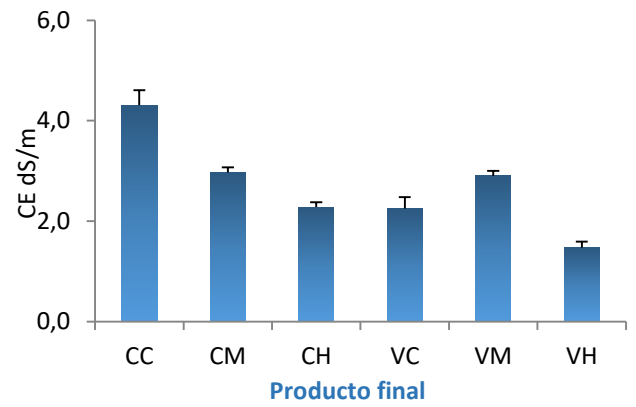
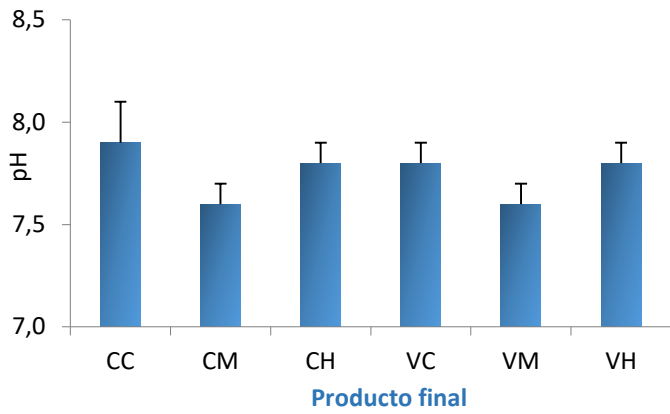
Las micrografías SEM del vermicompost reflejaban una fuerte fragmentación del material que revelaba el mayor grado de degradación de su estructura, y que mostraban una clara diferencia entre compost y vermicompost relacionada con los de índices de madurez (Arora *et al.*, 2019). Resultados favorables fueron encontrados por Soobhany *et al.*, (2017) al aplicar estos compuestos en suelos agrícolas como fertilizante orgánico, revelando un efecto favorable en los suelos en los que se aplicó vermicompost.

4.1.3. Índices químicos de valoración para los compost y vermicompost

El pH varía significativamente durante el compostaje y vermicompostaje. Los valores de pH para los residuos iniciales y las correspondientes mezclas son elevados en los residuos, con un rango entre 8,5 y 8,2 con los valores más elevados para el residuo de conejo y en las mezclas iniciales (Figura 4.1.4).

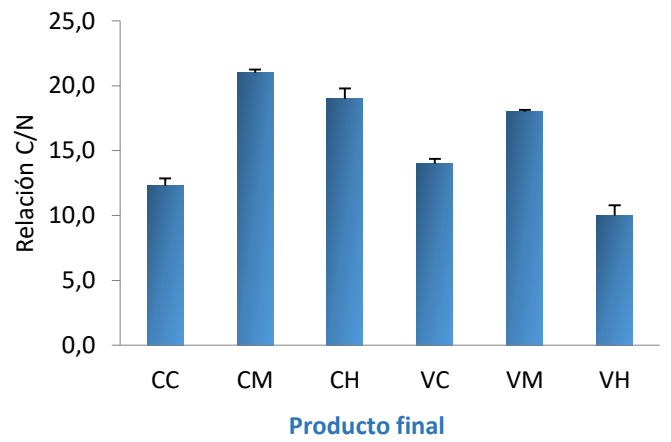
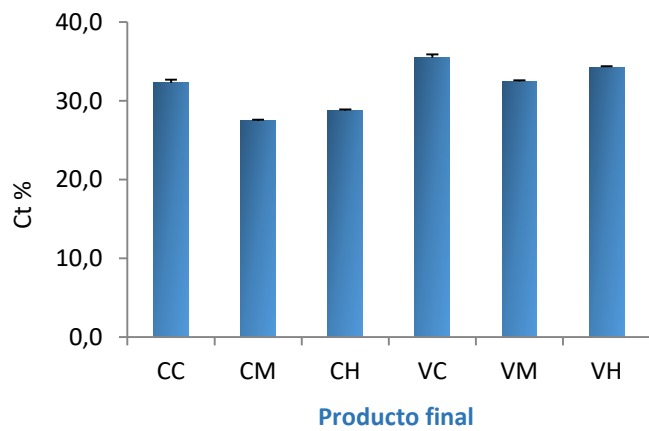
Conforme indica Sánchez-Monedero *et al.*, (2001) y Cao *et al.*, (2019), durante la fase inicial de los proceso se observa una disminución del pH debido a la acción de los microorganismos sobre la materia orgánica más lábil, que causa la liberación de ácidos orgánicos. Posteriormente, se produce una progresiva alcalinización del medio, debido a la degradación de los ácidos orgánicos y a la generación de amoníaco por la descomposición de las proteínas. Finalmente, el pH tiende a la neutralidad debido a la formación de compuestos húmicos, que tienen propiedades tampón. En un estudio realizado por Suler *et al.*, (1977) se estableció una relación entre los cambios de pH y la aireación de la mezcla, concluyéndose que un compostaje con aireación adecuada conduce a productos finales (compost) con valores de pH próximos a la neutralidad, y que la degradación de la materia orgánica se inhibe a pH bajos, por lo que valores de pH iguales o superiores a 7,5 durante el proceso son indicativos de una correcta descomposición (Gao *et al.*, 2010).

El valor de pH del residuo puede afectar al proceso de vermicompostaje ya que las lombrices presentan un rango de tolerancia a este factor, así como un valor de pH óptimo en el cual logran desarrollarse y reproducirse con más eficiencia. Por ejemplo, las *E. foetida* son lombrices capaces de tolerar valores de pH en el residuo orgánico en el que se desarrollan comprendidos entre 5 y 9, aunque prefieren valores cercanos a la neutralidad (Nogales *et al.*, 2008; Jiang *et al.*, 2013).



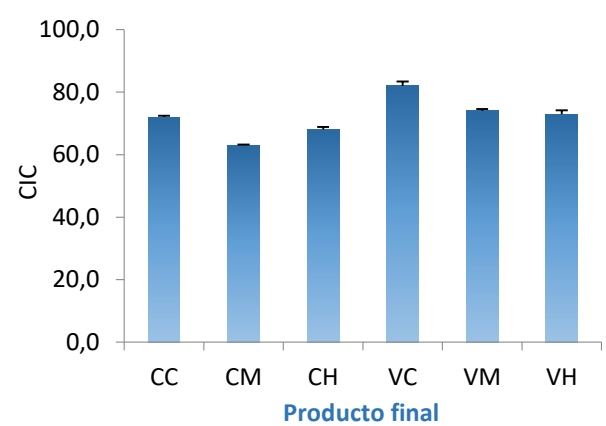
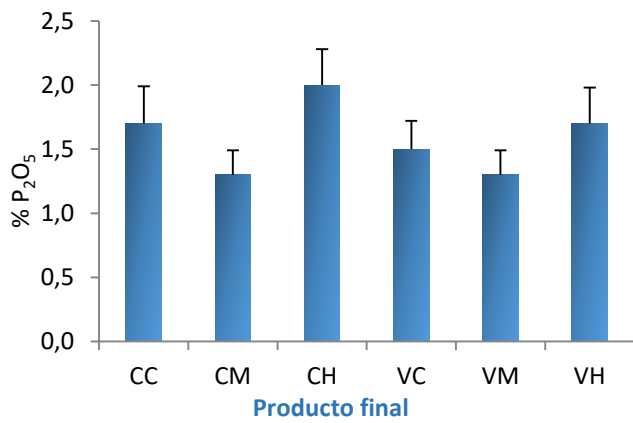
a

b



c

d



e

f

Figura 4.1.4. Valores medios y desviación típica de a) pH, b) CE, c) Cttotal, d) relación C/N, e) P₂O₅, f) CIC. CC: compost de cítrico; CM: compost de maíz; CH: compost de higuera; VC: vermicompost de cítrico; VM: vermicompost de maíz; VH: vermicompost de higuera

En ambos casos, tanto en vermicompostaje como en compostaje encontramos un aumento del pH en los compost y vermicompost finales. Normalmente durante la fase biooxidativa activa (termófila y fase de enfriamiento) estos valores aumentan para luego, en la fase de maduración tender a equilibrarse y acercarse a la neutralidad (Chang *et al.*, 2010). En todos los resultados vemos que se encuentran alrededor de un pH básico, y aceptable como enmienda orgánica sin ningún riesgo tal y como indica la legislación.

Se observa que el pH de los compost y vermicompost del mismo residuo vegetal son muy similares. Siendo el pH de los productos procedentes de residuos de cítrico e higuera (pH CH 7,8, VH 7,8 y pH CC 7,9, VC 7,8), mayor que el de los compost y vermicompost de los residuos procedentes del maíz (pH CM 7,6, VM 7,6), presentando estos últimos los valores más bajos del conjunto.

La conductividad eléctrica de los residuos iniciales al igual que el de las mezclas es elevada, pues la conductividad eléctrica de un compost, está determinada tanto por la naturaleza y la composición del material de partida, en función de su concentración de sales y en menor grado por la presencia de iones amonio o nitrato formados durante el proceso (Sánchez-Monedero *et al.*, 2001; Sundberg *et al.*, 2004; Moreno y Moral, 2008; Rekasi *et al.*, 2019).

La conductividad eléctrica tiende generalmente a aumentar durante el proceso del compostaje y vermicompostaje debido a la mineralización de la materia orgánica, hecho que produce un aumento de la concentración de nutrientes.

No obstante, el lixiviado producido durante los procesos provocó un lavado de sales rebajando como consecuencia la CE en todas las muestras respecto a la CE inicial, como se puede comprobar en la Figura 4.1.4.

Si consideramos como niveles admisibles de salinidad de la enmienda al suelo al que se adicione sin que ocasione problemas para los cultivos, los valores del orden de 4 dS m⁻¹ medido en la suspensión 1:10 (Valenzuela *et al.*, 1999; Carmo *et al.*, 2016; Jain *et al.*, 2019), así pues, se debe cuidar la dosificación para evitar el riesgo potencial de salinización derivado del uso agrícola de los compost y vermicompost que superen este valor. En nuestro caso, todos los compost o vermicompost obtenidos podrán añadirse en concentraciones elevadas dado que los valores de salinidad finales descienden considerablemente con unos rangos que oscilan entre 4,3 y 2,2 dS m⁻¹ a excepción del compost de cítrico donde ligeramente se supera el valor límite (4,3 dS m⁻¹). Estos valores descienden considerablemente en los vermicompost obtenidos con rangos entre 2,9 y 1,5 dS m⁻¹.

En general se observan valores inferiores de conductividad eléctrica en los vermicompost frente a los compost (CM 2,9 y VM 2,9 dS m⁻¹), (CH 2,3 y VH 1,5 dS m⁻¹), CC 4,3 y

VC 2,2 dS m⁻¹) especialmente en el producido por restos vegetales de higuera y cítrico (Figura 4.1.4).

Las principales funciones de la materia orgánica en el suelo se relacionan con las mejoras en la aireación, en la estructura y en la capacidad de infiltración y retención de agua en el suelo, lo que conlleva unos efectos favorables en la reducción de la compactación y la erosión del suelo, asimismo favorece una mayor capacidad de intercambio iónico (Porta *et al.*, 2003; Fornés *et al.*, 2013). Otro papel fundamental de la materia orgánica es la estimulación del desarrollo de los micro y macroorganismos como bacterias, hongos micorrízicos o lombrices, y es de este modo, una parte esencial del ecosistema, que influye en un gran número de procesos entre los que cabría destacar los ciclos biogeoquímicos, la formación de agregados o la solubilización de los minerales (Ahmad *et al.*, 2001; Roterberg *et al.*, 2005; Garg *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2019)

Comparado con las mezclas iniciales se observa que durante el proceso de compostaje la materia orgánica tiende a descender, dado que se forman compuestos simples al final del proceso (Castaldi *et al.*, 2005; Lital *et al.*, 2014). Algunos compuestos procedentes de la materia orgánica son incorporados por los microorganismos y otros son transformados en anhídrido carbónico y agua. La velocidad de transformación de la materia orgánica depende de su naturaleza física y química, de los microorganismos que intervienen, y de las condiciones físico-químicas del proceso (Castaldi *et al.*, 2005; Bedada *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2019).

El contenido de carbono total obtenido en los experimentos de vermicompostaje varían de 31 a 35% (30,5% en VM, 34,3% en VH y 35,5% en VC), debido a la variedad de los residuos utilizados, con valores ligeramente inferiores para los productos compostados de estos residuos (27,5% en CM, 28,8% en CH y 32,3% en CC).

Los compost y vermicompost obtenidos tienen mayoritariamente un contenido de carbono orgánico mayor o igual al 30%, valores aceptables para considerarlos como enmienda orgánica en suelos (Real Decreto 824/2005, modificado por la Orden APA/863/2008).

La relación C/N decrece durante los procesos de compostaje y vermicompostaje, obteniendo valores inferiores de la relación para este último proceso (Albanell *et al.*, 1988; Buchanan *et al.*, 2002; Bueno *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2017; Marzi *et al.*, 2019).

El contenido de nitrógeno total es importante durante los procesos, pues como nutriente favorece el crecimiento de la parte aérea de los vegetales (hojas, tallos), siendo en parte, responsable del color verde de las plantas y confiere resistencia a las plagas.

La dinámica del nitrógeno durante los procesos de compostaje y vermicompostaje es variable, los aumentos se pueden relacionar con un efecto de concentración del mismo, debido a la mineralización de la materia orgánica (Elvira, 1998). Mientras que las disminuciones se pueden atribuir al propio consumo de las lombrices inoculadas, a procesos de desnitrificación,

a pérdidas por volatilización, y a pérdidas por lixiviación (Nogales *et al.*, 1999; Nogales *et al.*, 2005).

El contenido en nitrógeno total al final de los procesos de compostaje y vermicompostaje mostró valores superiores a los encontrados en la muestra inicial, influyendo en las relaciones C/N, debido probablemente a la mineralización de compuestos orgánicos (Albuquerque *et al.*, 2009; Paredes *et al.*, 2002; Subramanian *et al.*, 2010; Gul *et al.*, 2016).

Los valores obtenidos están considerados como aceptables para los productos usados como enmiendas orgánicas y son un indicativo de su posible efecto positivo en la disponibilidad de nitrógeno para las plantas (Bustamante *et al.*, 2008; Haiba *et al.*, 2014).

La relación C/N se trata de un parámetro que afecta notablemente al proceso de compostaje del material de partida. Esta relación influye en la velocidad del proceso y en la pérdida de amonio durante el mismo. Los microorganismos utilizan generalmente 30 partes de C por cada parte de N asimilado, por lo que el rango óptimo teórico establecido para la relación C/N es de 25-35 (Jhorar *et al.*, 1991). Si la relación C/N es superior a 40 la actividad biológica disminuye, ya que los microorganismos deben oxidar el exceso de carbono, con la consiguiente ralentización del proceso debido a la deficiente disponibilidad de N para la síntesis proteica. Por el contrario, si la relación C/N es muy baja el compostaje se lleva a cabo con mayor rapidez (Zhu, 2006; Zhu, 2019; Biruntha *et al.*, 2020) pero el exceso de nitrógeno se desprende en forma amoniacal, produciéndose una pérdida de este elemento así como un problema medioambiental, ya que el amoníaco es un gas con un considerable efecto invernadero. (Bedada *et al.*, 2014)

Los valores de la relación C/N obtenidos (Tablas 4.1.3 y 4.1.4, Figura 4.1.4) disminuyeron notablemente respecto a las mezclas iniciales, tanto en el compost como en el vermicompost y las muestras se encuentran dentro del intervalo indicado para materiales maduros (<20), valores considerados por, Roig *et al.*, (1998), Iglesias-Jiménez *et al.*, (1992b), Bernal *et al.*, (1998) y como criterio seguro de madurez (Lital *et al.*, 2014). Los que poseen una relación C/N baja poseen un alto contenido en N y aportaran a la mezcla gran cantidad de este nutriente esencial (Figura 4.1.8) (Bustamante *et al.*, 2008; Fornés *et al.*, 2012; Abbasi *et al.*, 2015; Gul *et al.*, 2016). Los valores varían de 21,5 a 12,3 % (21,5 % en CM, 19,0 % en CH y 12,3 % en CC) en compostaje para los residuos utilizados, con valores ligeramente inferiores para los productos vermicompostados de los estos residuos (12,3% en VM, 10,5% en VH y 14,0% en VC).

La relación carbono orgánico/nitrógeno (C/N) es un índice utilizado comúnmente para establecer el grado de madurez del compost y vermicompost (Buchanan, 2002, Campitelli *et al.*, 2008; El Felds *et al.*, 2014, Zhu, 2007; Lim *et al.*, 2016). Según esta relación todas las muestras podrían considerarse lo suficientemente maduras al finalizar el proceso.

Los macronutrientes son los nutrientes que las plantas necesitan en mayor proporción, ya que constituyen los elementos químicos más abundantes de su composición orgánica (Harada *et al.*, 1980a; Harada *et al.*, 2008b). Nitrógeno, fósforo, potasio, son requeridos en cantidades grandes durante el desarrollo del ciclo vegetal completo (Bouchanan *et al.*, 1988, Butler, *et al.*, 2008, Butler *et al.*, 2001, Lim *et al.*, 2016; Butkovskiy *et al.*, 2016).

Los valores obtenidos en este experimento varían dentro de un rango entre 1,9 y 0,9 % de K₂O del vermicompost y 1,5 y 0,9 % de K₂O para el compost. Los valores son bastante similares en ambos tratamientos y en general se elevan con respecto al residuo inicial, a excepción del residuo de maíz. El porcentaje de nitrógeno del vermicompost suele estar comprendido entre 1 y 4%, el del fósforo de 0,15 a 3,75%, el del potasio de 1,0 a 2,3%, siendo muy variable el porcentaje de calcio de 2 a 16%. (García *et al.*, 1992, Tiquia, *et al.*, 2000, Santamaría, *et al.*, 2001; Carmo *et al.*, 2016).

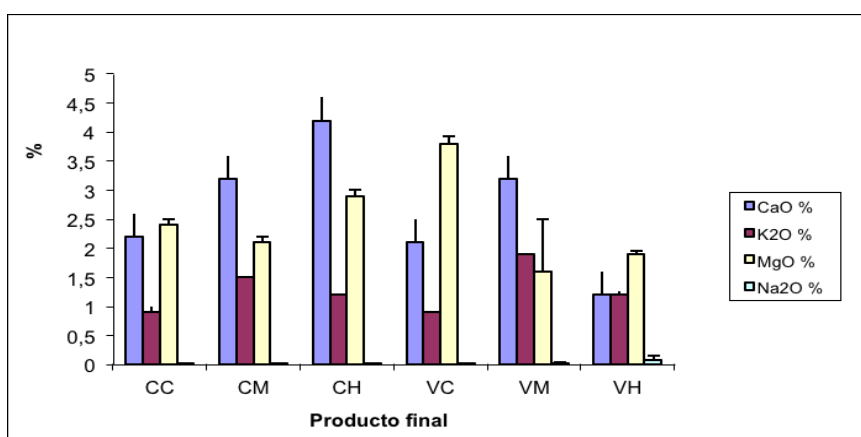


Figura 4.1.5. Macronutrientes presentes en los compost y vermicompost (CaO, K₂O, MgO, Na₂O). Valores medios y desviación típica en CC: compost de cítrico; CM: compost de maíz; CH: compost de higuera; VC: vermicompost de cítrico; VM: vermicompost de maíz; VH: vermicompost de higuera

El porcentaje de K₂O debe ser superior a 1% según la normativa española que regula el uso de vermicompost como enmiendas orgánicas (R.D. 824/2005 sobre fertilizantes).

En la bibliografía consultada aparecen valores de diferentes vermicompost comprendidos entre 0,67% en aquellos elaborados con estiércol de vacuno (Benítez *et al.*, 1996; Benítez *et al.*, 2002; Bueno *et al.*, 2012; Hussain *et al.*, 2018; Soobhany *et al.* 2019), 0,89 % en aquellos elaborados para lodo de vinazas y 1% en alperujo (Nogales y Domínguez., 1999) (Figura 4.1.5). Según la bibliografía consultada, se produce un alto contenido de nutrientes en el vermicompost que podría ser explicado por efecto de los microorganismos transmitidos por el intestino de la lombriz de tierra que se mezclan con materia orgánica. Durante su paso en el intestino los microorganismos tienen un papel vital en la bioquímica y en las alteraciones de los

elementos nutritivos como Mg y Na y también otros oligoelementos (Fe, Cu, Mn, Zn, B, Mo, S) y logrando un enriquecimiento de nutrientes).

El aumento de calcio y de magnesio en los vermicompost y en los compost y especialmente el de cítrico, son debidos a un efecto de concentración de este elemento en el sustrato, causado por la pérdida de materia orgánica en forma de CO₂ durante el proceso de biodegradación (Nogales *et al.*, 1995; Nogales *et al.*, 1999, Zuconi *et al.*, 1986; Singh *et al.*, 2010). Destaca el aumento de magnesio también en los compost obtenidos, valores similares fueron obtenidos por Cruz (2009) en alperujos mezclados con otros residuos agrícolas (%CaO 3,2, 4,2 y 2,2 para CM, CH, y CC respectivamente y % MgO de 2,1, 2,9 y 2,4 para CM, CH, y CC respectivamente) (% CaO 3,2, 1,2 y 2,1 para VM, VH, y VC respectivamente y % MgO 1,6, 1,9 y 3,8 para VM, VH, y VC respectivamente).

Los resultados de la determinación del fósforo total se muestran en la Figura 4.1.4. Al comparar los valores de los residuos iniciales y de los compostados o vermicompostados, se puede observar un aumento de la concentración de fósforo (expresado como % de P₂O₅) en los productos obtenidos (Tabla 4.1.2).

La disminución de la masa de materia orgánica en la mezcla de residuos utilizada durante los procesos de biodegradación y estabilización estudiados provoca un aumento en la cantidad de fósforo, ya que las pérdidas de este elemento por volatilización o lixiviación son prácticamente nulas, produciendo un incremento en la concentración del mismo a lo largo de dichos procesos (Galvez-Sola *et al.*, 2010; Fornés *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2018).

Según algunos autores, en el caso de vermicompostaje, se produce un aumento mayor en comparación, este efecto puede atribuirse además de la fragmentación y división mecánica del material orgánico (sustrato) ocasionado por las lombrices y la actividad microbiana que estos anélidos generan durante el vermicompostaje, así como a la estimulación de la actividad enzimática desarrollada dentro del tracto digestivo de las mismas (Subramanian *et al.*, 2010; Guo *et al.*, 2019).

Sin embargo, en nuestro caso como valor medio se observa una ligera elevación de este parámetro en las muestras compostadas frente a las vermicompostadas. (1,3, 2,0 y 1,7 para CM, CH, y CC respectivamente y 1,3, 1,7 y 1,5 para VM, VH, y VC respectivamente). Este aumento, similar al que aparece en otros estudios en los que se utilizan residuos orgánicos (Elvira *et al.*, 1998; Satchell y Martin, 1984; Fornés *et al.*, 2013; El Fels *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2019), se debe fundamentalmente a un proceso de concentración del fósforo inorgánico, motivado por la mineralización de parte de la materia orgánica.

La capacidad de intercambio catiónico es una de las variables frecuentemente determinadas para estimar el grado de transformación alcanzado por un compost durante el

proceso de compostaje y su determinación en una enmienda orgánica permite conocer el nivel de estabilidad de la misma. Numerosos estudios sobre diferentes tipos de compost han demostrado que la CIC aumenta con el grado de estabilidad del compost (Harada e Inoko, 1980a, Harada e Inoko, 1980b; Hernández *et al.*, 2016). Harada *et al.*, (1980b); Iglesias (1992a); Iglesias (1992b); Rashad, *et al.*, (2010), Kalantari-*et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2018) consideran que la CIC de un compost suficientemente maduro debe ser superior a 60, en la muestra libre de cenizas.

En ambos procesos, los valores de la CIC más elevados correspondieron al vermicompost de cítrico, donde se alcanzaron valores de 83 cmol.kg^{-1} y 73 cmol.c.kg^{-1} en el caso del vermicompost de maíz, disminuyendo considerablemente para las muestras de compost (CM 64,2 cmol.c.kg^{-1} ; CH 65,2 cmol.c.kg^{-1} , CC 71,3 cmol.c.kg^{-1}). Sin embargo, todos ellos según este parámetro se encontrarían en la fase de madurez (Figura 4.1.5).

En diferentes estudios, los valores de CIC, van aumentando progresivamente a medida que la humificación de la materia orgánica progresa, ya que el incremento del grado de polimerización provoca un aumento considerable de la superficie específica de las macromoléculas y un aumento progresivo de grupos carboxílicos fundamentalmente e hidroxifenólicos en menor medida (Lax *et al.*, 1986). Este incremento de la CIC ha sido descrito por numerosos autores en todo tipo de residuos siendo su valor aceptado universalmente como criterio de madurez e indirectamente como criterio de humificación de materiales orgánicos (Roig *et al.*, 1998; Hernández *et al.*, 2010).

Respecto a la Demanda Química de Oxígeno (DQO), no se especifica en la bibliografía ningún valor a partir del cual se pueda considerar que un compost esté maduro. Pero sí que se establece en este parámetro, que a lo largo del proceso de compostaje, debe ser cada vez menor. Los valores de DQO, (Tabla 4.1.6) de los compost finales fueron mayores que la de los vermicompost, lo que podría indicar por ello un aumento de la estabilidad de los sustratos generados en este proceso. Estando los valores en las muestras de vermicompostaje entre 0,16 y 0,26 mg.g^{-1} y las procedentes del compostaje ligeramente superiores entre 0,27 y 0,32 mg.g^{-1} . Valores similares fueron obtenidos por Haug, (1993), Iñiguez *et al.*, (2005), Dávila *et al.*, (2009) y Soto *et al.*, (2017), en el compostaje de bagazo y vinazas.

Tabla 4.1.6. Valores de la DQO de las mezclas de los compost y vermicompost obtenidos (Valor medio y desviación estándar)

Vermicompost	VM	VH	VC
DQO ($\text{mg O}_2/\text{gsv}$)	0,19 (0,02)	0,16 (0,02)	0,26 (0,01).
Compost	CM	CH	CC
DQO ($\text{mg O}_2/\text{g sv}$)	0,27(0,04)	0,28(0,03)	0,32 (0,02)

4.1.4. Otros métodos químicos aplicados a la valoración de los compost y vermicompost

Además de los índices químicos habitualmente utilizados para evaluar la calidad y madurez del producto final, también hemos empleado el análisis mediante la obtención de los espectros por FTIR y RMN ^{13}C . En nuestro caso el objetivo fue utilizar estas técnicas para comparar diferencias entre compost y vermicompost según el material de partida empleado.

En la Figura 4.1.13 se muestran los espectros de FT-IR. La interpretación de estos grupos funcionales se ha realizado según la bibliografía especializada (Stevenson *et al.*, 1994; Hagemann *et al.*, 2018; Barraza-Garza *et al.*, 2013; Kazanian *et al.*, 2013; Nawaz *et al.*, 2019).

A continuación se describen las diferencias más significativas de las bandas dominantes centradas en las regiones de: 3400 cm^{-1} , 1700 cm^{-1} , 1200 cm^{-1} , 1389 cm^{-1} y 600 cm^{-1} .

La banda a 3400 cm^{-1} corresponde a la absorción de oxígenos carboxílicos O-H o carbonos alifáticos C-H, así como grupos amina). La presencia de grupos C=O carbonilo de los ácidos y ésteres alifáticos y aromáticos se confirma con la señal a 1700 cm^{-1} (Stevenson *et al.*, 1994) alrededor de 1200 cm^{-1} (ésteres alifáticos y aromáticos C=C y alquenos (Kazarian *et al.*, 2013), 1389 cm^{-1} y 600 cm^{-1} . Entre 1000 y 1100 se observan vibraciones cuyas bandas se relacionan con C-O de polisacáridos y carbohidratos (Varias bandas entre 700 y 900 cm^{-1} incluyen la absorción por alcanos, alquenos y alcoholes (Stevenson *et al.*, 1994; Hagemann *et al.*, 2018).

Los espectros de correspondientes a los residuos de cítrico compostado y vermicompostado muestran como grupos funcionales más abundantes en este tipo de sustancias aquellos que presentan las señales de absorción alrededor de 3000 cm^{-1} (Cross, 1969, Coates *et al.*, 2000). Para el vermicompost de cítrico se observa una mayor intensidad y diferenciación de picos característicos en la región de 1200 cm^{-1} a 900 cm^{-1} atribuida a cadenas alifáticas y compuestos con núcleos aromáticos enlazados a los anteriores (Nimeyer *et al.*, 1992; Nakanishi *et al.*, 1998; Smidt, *et al.*, 2007, Fialho, *et al.*, 2010; Ali *et al.*, 2007; Ali *et al.*, 2012; El Ouaqoudi *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2017).

Los resultados nos indican distinta composición de las muestras probablemente con estructuras formadas por una mayor proporción de carbonilos y polisacáridos, y un aumento en la conversión de especies de polisacáridos y grupos alifáticos de metileno en el vermicompost en comparación con el compost, como se muestra a partir de la variación de la intensidad de los picos (Soobhany *et al.*, 2017).

Los espectros de las muestras compostadas de higuera presentaron diferencias respecto a las vermicompostadas, observándose en estas últimas una gran deformación en la región de 4000 a 2000 cm^{-1} , debida a la formación de otras sustancias orgánicas a partir de sustancias simples que impliquen a los grupos OH y NH con polisacáridos, y grupos C=O carbonilo de los

ácidos y ésteres alifáticos con señales a 1700 cm^{-1} . En lo que se refiere a los espectros infrarrojos de los residuos transformados de maíz se observó que las bandas más características de los espectros correspondientes al residuo compostado aparecen a 1050 cm^{-1} (polisacáridos), 1460 cm^{-1} (derivados lignocelulósicos), 1650 cm^{-1} (grupos carboxilo y amidas), y la banda a 3480 cm^{-1} correspondientes a grupos OH fundamentalmente de los restos lignocelulósicos de la fracción orgánica.

En los residuos vermicompostados se pudo apreciar una variación de la intensidad de la banda a 3480 cm^{-1} correspondiente a grupos OH en la muestra posiblemente causada por una fuerte transformación de los residuos por las lombrices frente a los compostados. Una mayor intensidad a campos bajos de la muestra compostada de maíz podría indicar la presencia de gran cantidad de azúcares (Pascualoto *et al.*, 1999; Zittel, *et al.*, 2018).

En general, observamos que en las muestras vermicompostadas hay menos proporción de polisacáridos y lignoderivados que en las compostadas, posiblemente debido al proceso de oxidación favorecido por la aireación facilitada por las lombrices, donde los compuestos orgánicos están libres, y no forman quelatos ni complejo arcillo-húmico tan estables (Grover *et al.*, 2006; Zittel *et al.*, 2018)

La mayor intensidad de la banda de los grupos carboxilo-amidas, puede estar indicando diferencias ligeramente más favorables en los procesos biológicos y de nitrógeno potencialmente disponible para los residuos compostados (1384 cm^{-1}). La proporción de polisacáridos respecto de la proporción de grupos OH es menor posiblemente debido a una mayor interacción con los microorganismos.

Comparando los productos finales obtenidos de los diferentes residuos, se pudo observar que para los compost los espectros de higuera y de cítrico presentan características similares, con bandas de gran amplitud en la región de $4000\text{ a }3000\text{ cm}^{-1}$, debidas a la formación de otras sustancias orgánicas a partir de sustancias simples que impliquen a los grupos OH y NH, que en la actualidad se muestran menos transformadas que los respectivos vermicompost (Alperti *et al.*, 1983; Allardice *et al.*, 2015).

Los tres espectros correspondientes a los vermicompost presentan características similares entre sí, pero con una mayor intensidad del espectro total y en especial de las bandas correspondientes a los carbonilos de los ácidos y ésteres alifáticos, con señales entre los $1600\text{ y }900\text{ cm}^{-1}$.

El vermicompost de maíz presentó una banda más ancha alrededor de los 3000 cm^{-1} que el resto de vermicompost, indicando mayor cantidad de grupos OH enlazados con el material compostado.

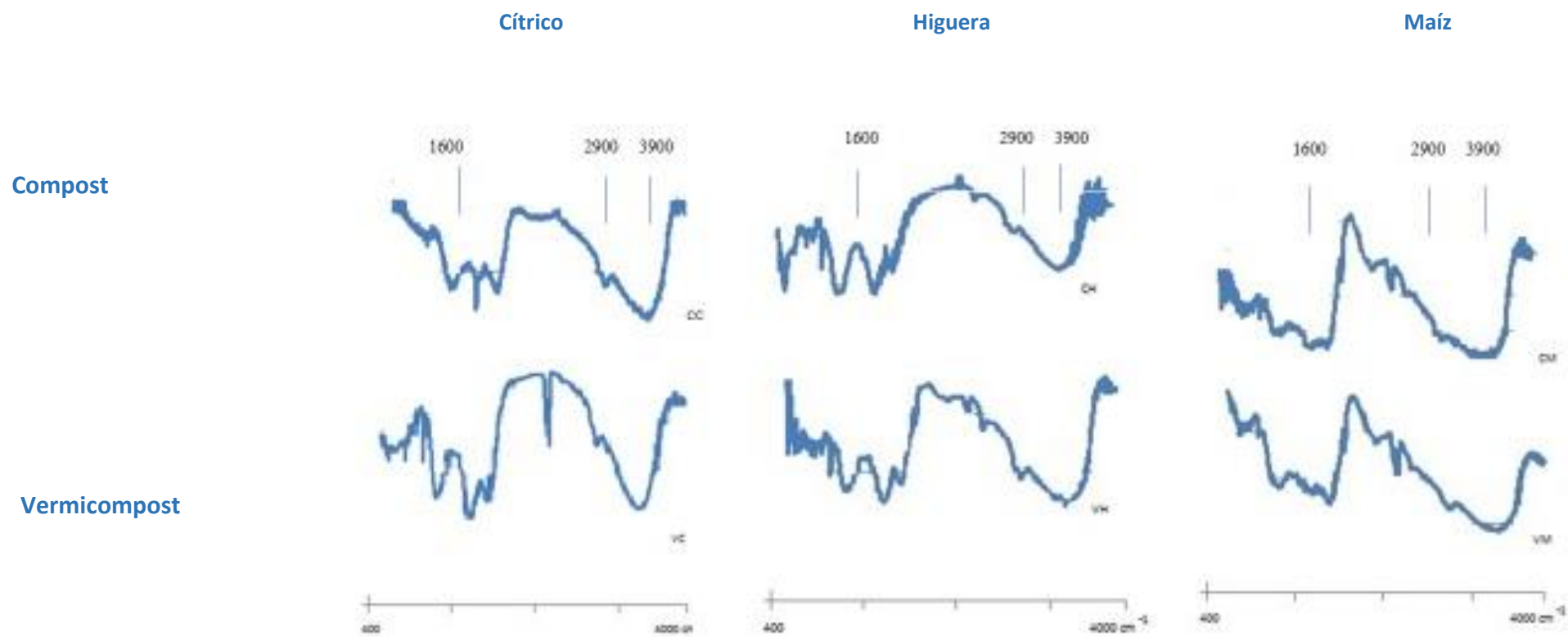


Figura 4.1.6. Espectros FT-IR de las muestras CC, CH, CM y VC, VH y VM

Destaca la baja intensidad de las bandas alrededor de los 1600 y 1400 cm^{-1} pertenecientes a los grupos carbonilo indicando la elevada transformación de los productos, en especial la correspondiente al vermicompost del maíz.

La comparación de los espectros FT-IR se realizó calculando las absorbancias relativas (rA), dividiendo la intensidad de cada banda por la suma de las intensidades de todas las bandas consideradas y multiplicando el resultado por 100 (Martínez-Sabater *et al.*, 2009). Se tomaron las bandas 1037, 1200, 1384, 1420, 1548, 1640, 2854 y 2927, bandas representativas del proceso de compostaje (Almendros *et al.*, 2000; Baddi *et al.*, 2004; Amir *et al.*, 2005; Almendros *et al.*, 2010; El Ouaqoudi *et al.*, 2015; Soobhany *et al.*, 2017; Zittel *et al.* 2018; Tan *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2017; Guo *et al.*, 2018).

Por su importancia en los espectros obtenidos, se escogieron las siguientes bandas: la banda del carbono aromático (C=C) situada en 1640 cm^{-1} , las bandas ubicadas en regiones en donde representan C alifático (1037, 2854 y 2927 cm^{-1}) y la banda de los polisacáridos (1050 cm^{-1}). Se obtuvieron los siguientes ratios: 1640/2927 y 3000/1050.

Tabla 4.1.7. Relación entre las principales bandas de absorción representativas de procesos de transformación en el compostaje

	Alifáticos/Aromáticos 2927/1640	OH/Polisacáridos 3000/1050
CH	1,50	1,30
VH	1,54	1,00
CM	0,87	0,80
VM	1,23	0,65
CC	1,50	0,86
VC	2,75	2,90

Los resultados obtenidos permiten hacer comparaciones entre la calidad de un compost y vermicompost.

Se observan diferencias en las bandas respecto al aumento de la relación entre grupos aromáticos y alifáticos que se ve incrementada en los compost frente a los vermicompost.

La relación de la absorción 2927/1640 cm^{-1} está relacionada con la presencia de compuestos con anillos alifáticos respecto a anillos aromáticos y cadenas hidrocarbonadas (Cross *et al.*, 1969), relación que es más elevada en general en los vermicompost comparándolos con los compost. Esto indica que existe menor condensación y menor grado de polimerización en los productos obtenidos mediante el vermicompostaje. Así la imagen FTIR sugiere (en todas las relaciones) que el proceso de vermicompostaje provoca un mayor grado de descomposición de la materia orgánica. Esto está de acuerdo con los resultados

obtenidos por Hsu y Loo, (1999); Albrecht *et al.*, (2008a), Wang, *et al.*, (2014), Yuan *et al.*, (2017) que estudiaron el compostaje de residuos y observaron una mineralización sustancial de la materia orgánica, donde los grupos aromáticos complejos como la lignina y los polifenoles se degradan en carbohidratos y lípidos más simples. Indicando una fragmentación significativa, biooxidación y reordenamientos moleculares de compuestos químicos en vermicompost, cuyos resultados mostraron la presencia de grupos funcionales que contienen O (carbonilo en aldehídos y cetonas, carboxilo en ácidos carboxílicos, grupos de éster y éter) más elevados en compost y una estructura más policondensada, oxidada, insaturada, humificada y aromática de estructuras carboxílicas y una amplia heterogeneidad molecular.

En cuanto a la relación polisacáridos y alcoholes, la comparación entre compost y vermicompost indica un estado de maduración óptimo en todos los casos, mejorado en el caso de algunos vermicompost (Albrecht, *et al.*, 2008; Caricasole *et al.*, 2011; Wang, *et al.*, 2014; Torres-Climent *et al.*, 2015; Yuan *et al.*, 2013). Así, los espectros FT-IR mostraron un aumento en la conversión de especies de polisacáridos y grupos alifáticos de metileno en vermicompost en comparación con el compost como se muestra a partir de la variación de la intensidad de los picos, relacionado con una pérdida de masa mucho menor en vermicompost en comparación con el compost, lo que indica una mayor estabilidad en la materia prima. Para Soobhany *et al.*, (2017), estos hallazgos aclaran una diferencia notable entre compost y vermicompost en términos de índices de madurez para la mejora del suelo y en la agricultura como fertilizante orgánico.

Según nuestros resultados la materia orgánica fácilmente degradable como proteínas y polisacáridos son descompuestos (Wang *et al.*, 2014). El contenido en polisacáridos decrece tal como se indica en la intensidad de la banda a 1050 cm^{-1} (Lim *et al.*, 2015), mostrando una mayor mineralización de polisacáridos, carbohidratos y compuestos alifáticos en el vermicompost en comparación con el compost (Arumugam *et al.*, 2015; Kumar *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014).

Para completar este análisis también se ha llevado a cabo el estudio de los espectros obtenidos mediante Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido de ^{13}C (CPMAS/RMN).

La interpretación de los espectros se realizó asignando rangos preliminares en las siguientes regiones: región I (0– 50 ppm) C alifáticos, región II (50–110 ppm) O-C, región III (110–160 ppm) C insaturados y aromáticos; región IV (160–190) carbonos carboxílicos (Smidt *et al.*, 2003; Smidt *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2014).

En las Figuras 4.1.7 y 4.1.8 se muestran los espectros correspondientes a los grupos funcionales de la materia orgánica para los productos obtenidos mediante vermicompostaje y compostaje.

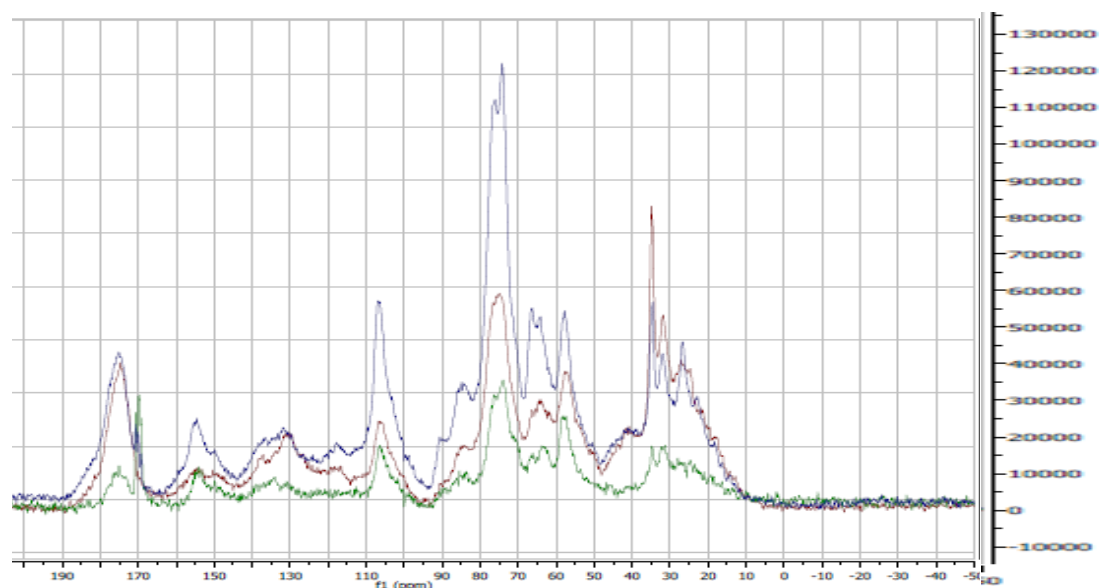


Figura 4.1.7. Espectros RMN ^{13}C de las muestras de vermicompost (VC, línea azul; VM, línea roja; VH, línea verde)

Las muestras presentan en general picos correspondientes a grupos O-alquilo que indican principalmente, la presencia de glúcidos, atribuibles a la composición vegetal de los materiales. Siguiendo el ejemplo de Martínez – Sabater *et al.* (2009), las diferencias más destacables entre los compost y vermicompost se localizan en los picos correspondientes a los grupos alifáticos y carboxilos, siendo estos últimos mayores en las muestras de vermicompostaje (Baes *et al.*, 1988; Hsu *et al.*, 1999; Amir *et al.*, 2005).

Comparando los compost observamos que el CH presenta en general, menor número de grupos carbonilos que el producido por el CC. El desplazamiento químico entre 20 y 25 ppm indica la presencia de carbonos alifáticos, N y O alquilo o dialquilo a 64, 74 y 84 ppm respectivamente. Los grupos aromáticos se encuentran alrededor de 150 ppm, esta señal a excepción de la muestra de VC, presenta valores inferiores en vermicompostaje que en compostaje. Lo que nos indica de nuevo procesos de transformación que han producido la formación de compuestos más complejos que tienden a la formación de aromaticidad en las moléculas indicando una evolución más favorable del vermicompostaje frente al compostaje (Jouraiphy *et al.*, 2005; Jouraiphy *et al.*, 2008; Albrecht *et al.*, 2008b; Albrecht *et al.*, 2015).

Por último, los grupos fenólicos aparecen en la señal a 175 ppm con mayor intensidad en las muestras vermicompostadas.

Los picos de ^{13}C NMR asignados a los diferentes tipos de carbonos muestran: los grupos alquilo se encuentran a 21 ppm (metilo) y 22 ppm (metileno en anillos y cadenas) que alcanzan su máxima intensidad en las muestras de vermicompost, en especial el vermicompost de higuera y de cítrico. Este efecto de concentración de estructuras de carbono alquilo se debe a la degradación preferencial de polímeros de azúcares, como celulosa y hemicelulosa durante el compostaje (Almendros *et al.*, 2000; Martínez-Sabater *et al.*, 2009).

La señal a 56 ppm puede ser asignada a los grupos metoxilo en la lignina y hemicelulosa que presentan una intensidad similar en ambos tratamientos, ligeramente inferior en los tratamientos vermicompostados.

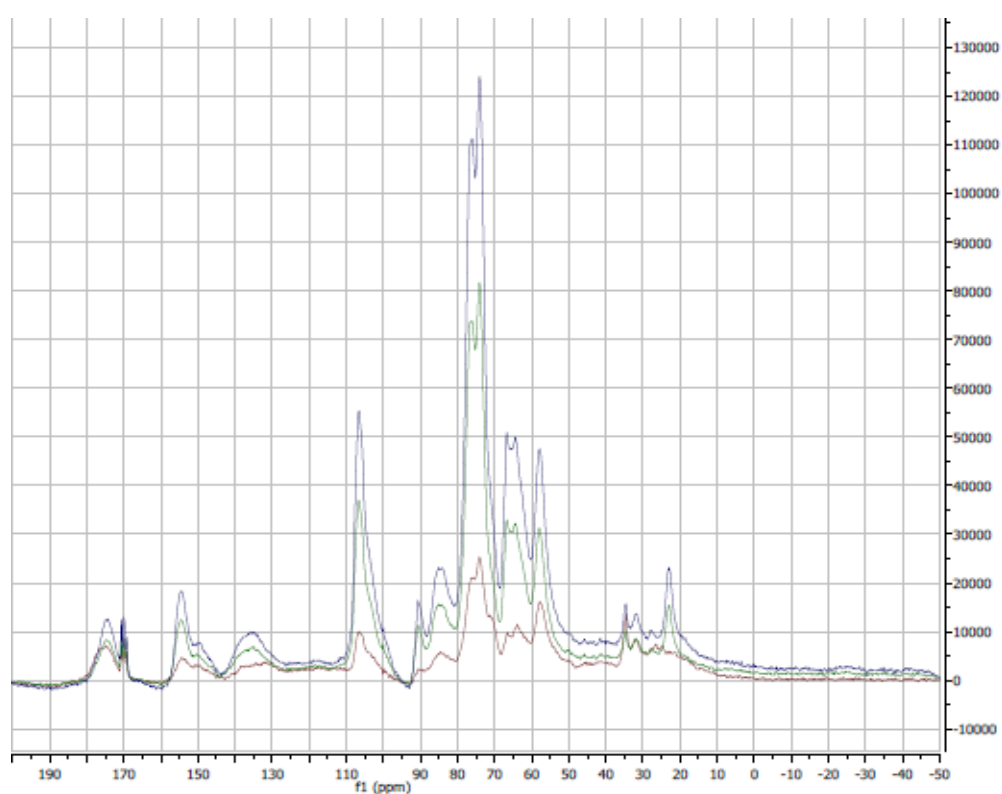


Figura 4.1.8. Espectros RMN de los compost (CC, línea azul; CM, línea roja; CH, línea verde)

La región entre 60 y 110 ppm muestra picos típicos de polisacáridos y proteínas la cual es ligeramente más patente en las muestras compostadas que en las vermicompostadas, las cuales presentan un ligero descenso de estas señales (Almendros *et al.*, 2000; Vane *et al.*, 2006; Martínez – Sabater *et al.*, 2009; Almendros *et al.*, 2010).

Mientras que las señales que aparecen alrededor de 170-173 ppm fueron asignados a grupos carboxílicos, amidas y ésteres. Las señales de O-alcanos se muestran en la región 50-110 ppm, que aparecen más intensamente en las muestras de vermicompost. Estas señales

decrecen para las muestras de vermicompost de higuera frente a las de maíz y de cítrico. En las muestras vermicompostadas disminuyen ligeramente las señales propias de los carbonos aromáticos y carbonos carboxílicos, mientras que los carbonos alifáticos y O-C aumenta.

En las condiciones experimentales del estudio, los resultados sugieren que las mayores diferencias debidas a la fracción orgánica se producen en las muestras procedentes de residuos de cítricos, tanto en compostaje como en vermicompostaje y podrían estar relacionados con diferentes procesos de degradación de los derivados celulósicos (Inbar *et al.*, 1989; Inbar *et al.*, 1990).

Los análisis espectroscópicos RMN ^{13}C y FT-IR sirven para estudiar la evolución de la materia orgánica en procesos de compostaje y vermicompostaje de residuos agrícolas. En estos procesos la composición de los productos finales es interesante para entender la degradación preferencial de las diferentes biomoléculas (Albrecht *et al.*, 2008a; Albrecht *et al.*, 2008b). Los resultados indican una situación preferente de la degradación de los carbohidratos e incremento de material alifático (posiblemente debido al efecto de concentración). Resultados similares fueron obtenidos por Martínez-Sabater *et al.*, (2009).

Autores como Barreto *et al.*, (2010); Caricasole, (2011); Al-Faiyz *et al.*, (2017); Azim *et al.*, (2018); Cao *et al.*, (2019); Mayans *et al.*, (2019) indicaron que se puede evaluar las señales propias del C aromático, C fenólico y O-alquil C para evaluar el grado de humificación. Autores como Mayans *et al.*, (2019) indican que las sustancias húmicas en los desechos de poda son más estables debido a su alto contenido de materia orgánica recalcitrante, frente al estiércol menos estable, dada la naturaleza lábil de su contenido de materia orgánica. Estudios de germinación y fitotoxicidad se correlacionan negativamente con la relación metoxilo/N-alquil-C y O-alquil-C de estos grupos funcionales que según Azim *et al.*, (2018) son probablemente el origen de la expresión de fitotoxicidad en pruebas de calidad de compost. Siendo por lo tanto, esta relación una prueba de calidad simple y precisa para evaluar directamente la fitotoxicidad y la madurez del compost (Albuquerque *et al.*, 2009; Sarker *et al.*, 2018).

4.1.5. Índices biológicos de valoración para los compost y vermicompost y crecimiento de las lombrices

La valoración del número de lombrices en relación a las aportadas después de obtener el vermicompost nos da idea de su evolución frente a diferentes sustratos (Tabla 4.1.8).

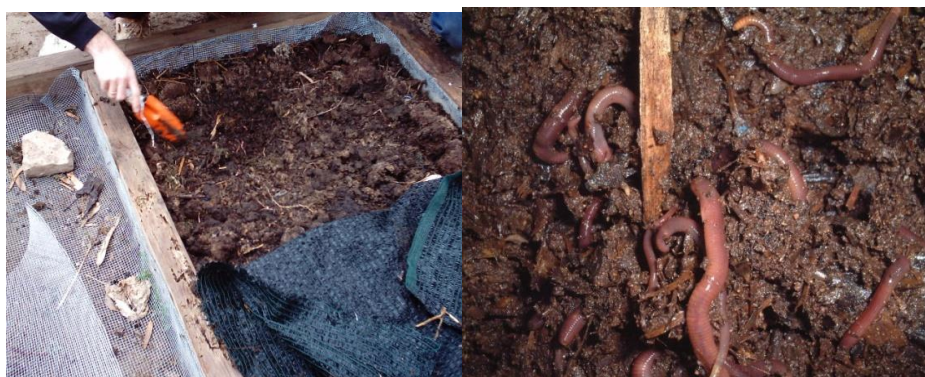


Figura 4.1.9. Individuos de *Eisenia foetida* en los lechos

Tabla 4.1.8. Número de lombrices iniciales y finales en el experimento

Nº individuos	V. maíz	V. higuera	V. cítrico
Inicial	1000	1000	1000
Final	340	420	618

Los resultados obtenidos indican un adecuado desarrollo de las lombrices en todos los medios de compostaje que alcanzaron su máximo aproximadamente a los dos meses, disminuyendo su número después de este periodo.

En la Tabla 4.1.8 se observa que la población de lombrices en el sustrato de cítrico es mayor que en el resto de sustratos. Cuando se contabilizaron los individuos que había en cada uno de los recipientes, en el caso del maíz y sus diferentes mezclas se pudo comprobar que la gran mayoría eran individuos adultos, siendo el tamaño de los individuos más regular en el resto de residuos. En general, podemos afirmar que las lombrices se desarrollaron mejor y en mayor número al aplicar residuo de cítrico, que al aplicar el de maíz o higuera.

Según diferentes autores existe un mecanismo regulador del crecimiento de *E. foetida* según el cual la población total de lombrices se estabiliza alrededor de un cierto número de individuos, debido a que un gran aporte de alimento y el control de las condiciones ambientales favorecen, a corto plazo, la rápida colonización del sustrato y una posterior superpoblación de lombrices en éste (Aira *et al.*, 2002; Aira *et al.*, 2007; Aira *et al.*, 2010). A partir de aquí, disminuye la tasa reproductiva, apreciándose además una disminución del tamaño de las lombrices, a pesar de la abundancia de alimento (Nogales *et al.*, 2005; Nogales *et al.*, 2008; Fialho, *et al.*, 2015).

Los efectos fitotóxicos de un material orgánico inmaduro se deben a diversos factores, entre los cuales destacan los contenidos de amonio, de ácidos volátiles orgánicos, de metales pesados y de sales. Para poder asegurarnos de que los productos obtenidos no tienen efecto fitotóxico se realizó el test de fitotoxicidad. Los resultados del bioensayo de fitotoxicidad se

muestran en la Tabla 4.1.9 expresan los valores de germinación obtenidos en dichos ensayos de fitotoxicidad.

Zucconi *et al.*, (1981b) establece el siguiente criterio de interpretación: valores de IG $\geq 80\%$ indicarían que no hay sustancias fitotóxicas o están en muy baja concentración; si el IG $\leq 50\%$ indicaría que hay una fuerte presencia de sustancias fitotóxicas y si se obtiene un valor entre 50% y 80% se interpretaría como la presencia moderada de estas sustancias. Los índices de germinación de los sustratos de compost y vermicompost, excepto para el compost preparado con residuos de maíz, podrían utilizarse para el desarrollo vegetal. Según nuestros resultados los índices de germinación de los compost alcanzaron los valores recomendados para compost maduros (superior a 50 %), por lo tanto, atendiendo a este parámetro, aunque los compost según este criterio no estarían totalmente maduros, sus valores comprendidos entre el 50 y 80% i ndicarían suficiente madurez.

Para los vermicompost los valores son superiores al 63% lo cual indicaría mayor madurez en todos los casos y en especial en el vermicompost de cítrico (Celis-Hidalgo *et al.*, 2007; Bhat *et al.*, 2018).

Es decir, los residuos agrícolas biodegradados con *E. foetida* tuvieron unos índices de germinación comprendidos entre el 71 y el 63 % (Tabla 4.1.9), próximos al límite del 80% establecido para considerar a una enmienda orgánica como carente de fitotoxicidad (Zucconi *et al.*, 1981a; Zubillaga *et al.*, 2006; Varnero *et al.*, 2007; El Felds *et al.*, 2014; Ariunbaatarad *et al.*, 2014).

Tabla 4.1.9. Valores de germinación obtenidos en los ensayos de fitotoxicidad

Compost	CC	CH	CM
Índice germinación	51± 3	59± 4	43± 4
Vermicompost	VC	VH	VM
Índice germinación	71± 6	63± 5	66± 5

Las actividades enzimáticas se determinaron a los tres meses de iniciado el proceso, dado que algunos autores (Foster *et al.*, 1992; Avnimelech, *et al.*, 1996; Defrieri *et al.*, 2005; Goyal *et al.*, 2005) indican que a partir de este tiempo es cuando se obtienen los valores más bajos, pues la actividad enzimática disminuye en relación directa con la madurez de la composta (Hong *et al.*, 2011).

Los resultados de la actividad enzimática se muestran en la Tabla 4.1.10. Las actividades más elevadas (entre 4 y 5) fueron para la fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida y la leucina aril amilasa en general en todos los sustratos. Normalmente, la actividad de la fosfatasa decrece en el compostaje y vermicompostaje pudiendo atribuirse a un fenómeno de inhibición por retroalimentación (Nannipieri *et al.*, 1980; Nannipieri *et al.*, 1994, Benitez *et al.*, 1999; He *et al.*, 2013), provocado por el fósforo inorgánico, que aumenta en estos

Tabla 4.1.10. Resultados de análisis de actividad enzimática método API

Enzima testado	Sustrato	Vermicompost ηmoles			Compost ηmoles		
		Maíz	Higuera	Cítrico	Maíz	Higuera	Cítrico
Fosfatasa alcalina	2-naftil fosfato	5(0)	5(0)	5(0)	3(0)	5(0)	3(0)
Fosfatasa ácida	2-naftil fosfato	5(0)	4(1)	5(0)	5(0)	4(1)	3(0)
Naftol-AS-BI-fosfohidrolasa	Naftol-AS-BI-fosfato	1(0)	2(1)	1(1)	1(1)	1(1)	3(0)
Esterasa (C4)	2-naftil-butirato	1(1)	2(0)	2(0)	2(0)	1(0)	2(1)
Lipasa (C14)	2-naftil-miristato	0(0)	0(0)	1(0)	0(0)	0(0)	1(0)
Esterasa Lipasa (C8)	2-naftil-caprilato	3(0)	3(1)	3(0)	1(0)	1(1)	3(0)
Leucina arilamidasa	L-leucil-2-naftilamina	4(0)	3(1)	5(1)	2(1)	5(1)	5(0)
Valinaarilamidasa	L-valil-2-naftilamida	0(0)	1(0)	1(1)	1(1)	1(0)	2(1)
Cistina arilamidasa	L-cistil-2-naftilamida	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
Tripsina	N-benzoil-DL-arginina-2-naftilamida	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
α-quimotripsina	N-glutaril-fenilalanina-2-naftilamida	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
α-galactosidasa	6-Br-2-naftil-α-D-galactopiranosido	2(0)	1(0)	1(1)	0(1)	0(0)	0(0)
β-galactosidasa	2-naftil-βD-galactopiranosido	4(0)	1(0)	3(1)	1(1)	1(0)	0(1)
β-glucuronidasa	Naftol-AS-BIβD-glucurónido	0(0)	0(0)	3(0)	0(0)	5(0)	1(1)
α-glucosidasa	2-naftil-αD-glucopiranosido	4(1)	2(0)	0(0)	0(0)	1(0)	0(0)
β-glucosidasa	6-Br-2-naftil-β-D-glucopiranosido	5(1)	5(0)	2(1)	2(1)	2(0)	0(0)
N-acétil-β-glucosaminidasa	1-naftil-N-acetil-βD-glucosamínido	3(1)	5(1)	3(0)	1(0)	1(1)	0(1)
α-mannosidasa	6-Br-2-naftil-α-D-mannopiranosido	0(0)	0(0)	0(1)	0(1)	0(0)	0(0)
α-fucosidasa	2-naftil-αL-fucopiranosido	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

procesos a partir de la mineralización del fósforo orgánico. Mientras que las betagalactosidasas y las glucosidasas sólo están elevadas en el VM (Adani *et al.*, 2006).

Los valores de N-acétil-β-glucosaminidasa, se encuentran entre < 20 ηmoles en el VH, y de > 0 moles en el CC y VC. Destaca en todas las muestras la escasa cantidad de Lipasa, mencionado en la bibliografía por Speir *et al.*, (2002) para muestras procedentes de compostaje. Según la bibliografía consultada en los compost la actividad biológica y enzimática se relaciona con una disminución de la toxicidad de los residuos durante el proceso de compostaje y vermicompostaje, (Jacas *et al.*, 1987; Benítez *et al.*, 2005, Buckley *et al.*, 2003, Cayuela, 2008; Hong *et al.*, 2011, Zhang *et al.*, 2018). Pero en todos los casos se indica que el uso de estos materiales puede ser una alternativa para reactivar los ciclos de carbono, fósforo

y de nitrógeno en los suelos erosionados, por su efecto en la actividad de las enzimas que participan en el ciclo de estos nutrientes. Además, los valores obtenidos en el experimento son muy similares a aquellos obtenidos por Benítez *et al.*, (2005) y Tiquia *et al.*, (2002), que indican que la alta actividad de estas enzimas se deba probablemente al alto contenido en materia orgánica, lo que estimuló el crecimiento de las bacterias aeróbicas y por lo tanto, la síntesis de fosfatasa y peptidasa. Nannipieri *et al.*, (1990) demostraron que la adición de materia orgánica en suelo tiene un efecto estimulante en la actividad enzimática. Se observaron elevados valores de actividad de β -glucosidasa al final del proceso de compostaje, siendo los hongos la fuente primaria de β -glucosidasa en suelos. La β -glucosidasa, involucrada en el proceso de hidrólisis de celobiosa, tiene una correlación positiva con las poblaciones de hongos y actinomicetos (Tabla 4.1.10).

Nuestros resultados mostraron que N-acétil- β -glucosaminidasa, y la betaglucoronidasa fueron elevadas en el VH y CH respectivamente. El resto mostraron valores muy bajos (de cero a 3). De los compost analizados, los que menor actividad enzimática poseen son CC y CM.

4.2. Caracterización metagenómica de los residuos transformados mediante compostaje o vermicompostaje

En los últimos años, el empleo de las técnicas ómicas (proteómica, metagenómica, transcriptómica, etc.) aporta abundante información sobre la estructura y composición de las comunidades microbianas tras los procesos de compostaje y vermicompostaje. Siendo interesante tanto realizar el análisis de las comunidades bacterianas, como de las poblaciones fúngicas (Jurado *et al.*, 2014; Lagarica-Fuertes *et al.*, 2015; López- Gonzalez *et al.*, 2015a; López- Gonzalez *et al.*, 2015b; López- Gonzalez *et al.*, 2015c; Maza-Márquez *et al.*, 2018). Tras estudiar la efectividad de las técnicas de compostaje y vermicompostaje de los tres tipos de residuos utilizados, (ver capítulo 4.1), se evaluó la composición de la biota de los compost y vermicompost obtenidos con idea de estudiar diferencias en su composición, valorando la influencia tanto del residuo como del proceso sobre las poblaciones de hongos y bacterias desarrollados en dichos residuos.

Los resultados de la secuenciación del ADN muestran como la mayor parte de las muestras presentan valores óptimos para la relación 260/280 (CC 1,77; CM 1,85; VC 1,83; VM 1,85; VH 1,85) pero no para 260/230 (CC 1,25; CM 1,4; VC 0,86; VM 1,5; VH 1,68) con algunos valores inferiores a 1,8 (CH 1,86 y 1,3). Esto es común para estudios de metagenómica donde se utilizan compost como fuente de microorganismos, dado el mayor grado de contaminación

presente a diferencia de lo que ocurre con un cultivo in vitro (Baker *et al.*, 2003; Desantis *et al.*, 2006).

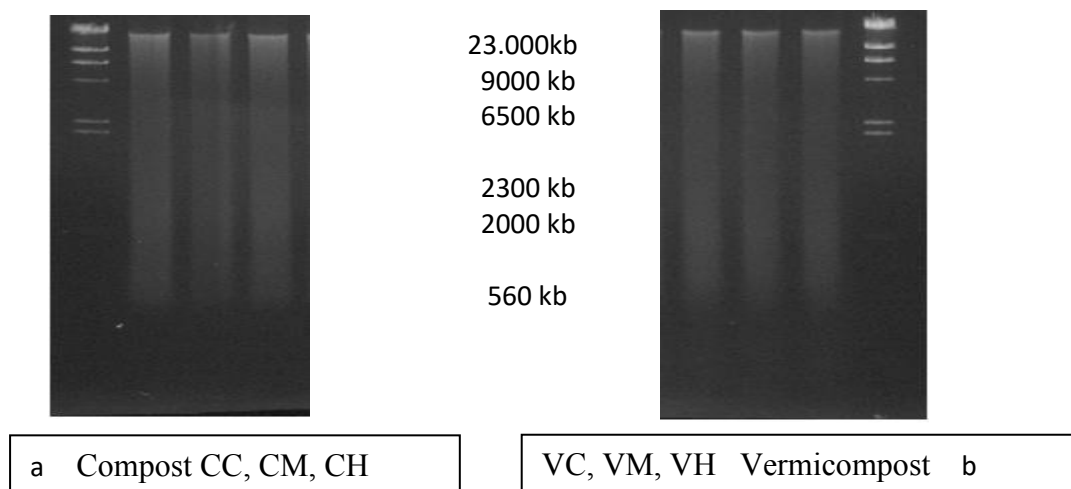


Figura 4.2.1. Gen 23S rRNA aislado a) del compost CC, CM, CH y b) del vermicompost VC, VM, VH

Posterior a la purificación se obtiene que los valores 260/280 de las muestras poseen ADN de alta pureza, debido posiblemente a sus características agronómicas. Se puede pensar que los bajos valores obtenidos en las muestras de VC son la influencia de genomas con alto contenido de guanina-citosina (Leninger, 1975; Klindworth *et al.*, 2013), en ellas se aprecian valores de 260/280 próximos a 1,2. La purificación del ADN metagenómico presente en el gel de agarosa y posterior digestión de ADN y la ligación de los fragmentos (Tsai *et al.*, 1992) por los métodos de recuperación de ADN, mostraron un porcentaje elevado de recuperación (Chen, 2018a) con valores que se encuentran entre 84 $\mu\text{g/mL}$ (CM) y 20,8 $\mu\text{g/mL}$ (VH) después de la purificación.

La distribución de las bandas de ADN por electroforesis en gel de agarosa se muestra en las figuras 4.2.1a y 4.2.1b, donde se ha capturado la imagen de corrida, y evaluado el tamaño de las bandas, apreciándose una banda a 23.000 kb de gran tamaño y bandas intermedias a 9000 kb y 6500 kb a las que le siguen bandas mas bajas, para terminar con la inferior a 560 kb.

4.2.1. Análisis metagenómico de los productos orgánicos obtenidos con los residuos mediante compostaje y vermicompostaje

Para la descripción de los resultados del estudio realizado sobre la biota en las muestras obtenidas tras el compostaje y vermicompostaje a partir de los residuos de cítrico,

maíz e higuera se agruparon para su estudio dentro de los dominios de *Archaea*, Bacterias y Hongos.

4.2.1.1. Dominio *Archaea*

Woese empleó diferentes análisis relacionados con las secuencias de ARN ribosomal para proponer su versión del árbol de la vida, donde se hace evidente la proximidad entre las arqueas y los eucariotas, separadas de las bacterias a pesar de la similitud entre las secuencias de ARN ribosomal entre arqueas y bacterias (Figura 4.2.2).

Árbol Filogenético de la Vida

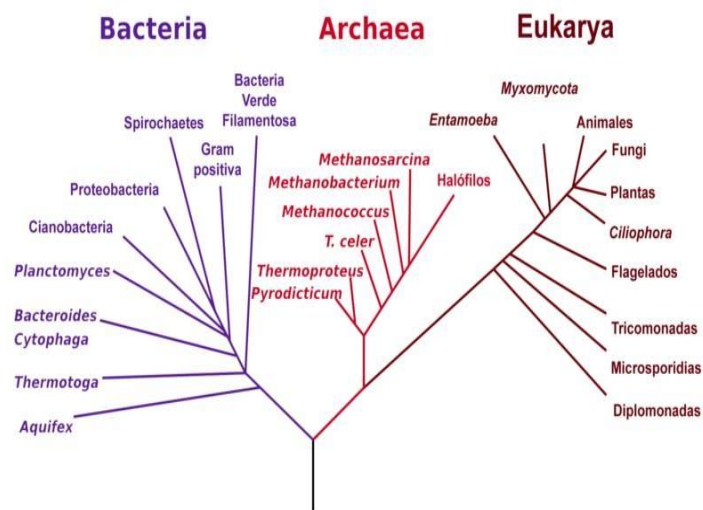


Figura 4.2.2. Árbol de la vida de Woese. (Winker and Woese, 1991)

El dominio *Archaea* es un grupo de microorganismos unicelulares que, al igual que las bacterias, tienen morfología procariota, pero son fundamentalmente diferentes a estas, de tal manera que conforman su propio dominio y reino con una historia evolutiva independiente (Garret *et al.*, 2007). Respecto al número total de bases secuenciadas de las muestras y su calidad media, en las muestras de compost se han obtenido valores medios de $33,30 \pm 3,19$ de desviación para la longitud media de 16S rRNA en *Archaea*. En los vermicompost los valores medios del total de bases son bastante similares $32,22 \pm 3,24$.

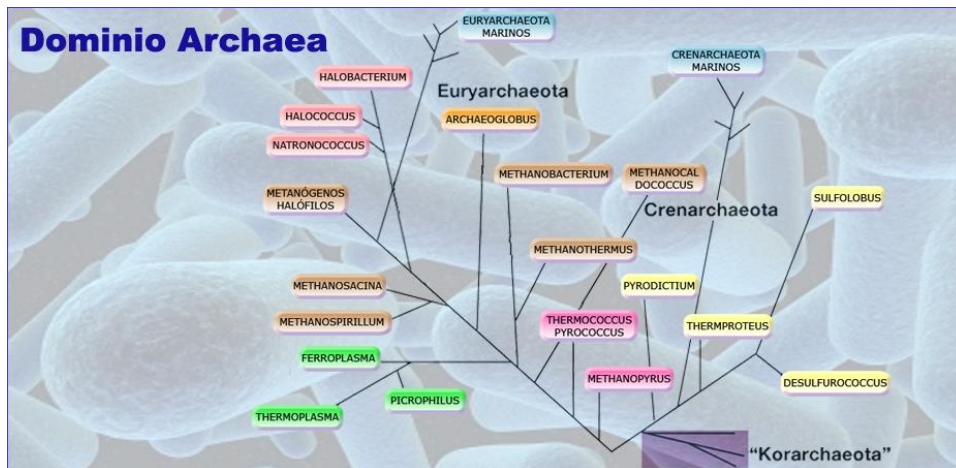


Figura 4.2.3. Esquema del dominio *Archaea* (Allers *et al.*, 1970)

Dentro de este dominio *Archaea* encontramos en las muestras los filos *Crenarchaeota*, *Euryarchaeota*, *Thaumarchaeota* y *Korarchaeota*, estando presentes *Aigarchaeota* y *Goarchaeota* en menor proporción (Figura 4.2.4).

Woesearchaeota es un filo del dominio *Archaea* recientemente propuesto, los cuales difieren considerablemente de otras arqueas y que está presente en nuestras muestras. Este dominio ha sido identificado tanto en sedimentos como en aguas superficiales de acuíferos y lagos, abundando especialmente en condiciones salinas, junto al también filo *Pacearchaeota*. Los análisis genéticos han determinado que presentan genomas pequeños y capacidades metabólicas limitadas (Birtrim *et al.*, 1997; Ginolhac *et al.*, 2004; Ginolhac *et al.*, 2011). La composición de sus genomas sugiere que realizan un papel importante en el reciclado del hidrógeno y del carbono (Bisht *et al.*, 2018).

Por otra parte, las *Arqueas metanógenas* se encuentran bien representadas con mayor porcentaje en las muestras, son termófilas y mesófilas y aparecen en todas las muestras, con mayor porcentaje en el vermicompost de maíz (VM).

Los Euryarchaeota incluyen microorganismos metanógenos, termoacidófilos e hiperhalófilos adaptados a vivir en residuos en transformación. Dentro del dominio *Archaea*, el grupo *Methanosarcina* es el único metanógeno anaerobio y es frecuente encontrarlo en aguas residuales, actualmente también se asocia a pesticidas organoclorados (Dees *et al.*, 2001; Cao *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2011; Ortiz-Alvarez *et al.*, 2016; Dominguez *et al.*, 2019). Las *Korarchaeota* suelen ser escasas en ambientes naturales aunque se han encontrado en residuos transformados. Poseen estructuras resultantes de la fusión de cadenas hidrofóbicas, originando moléculas con mayor rigidez a las condiciones extremas, y utilizan compuestos orgánicos como fuentes de carbono por ello son frecuentes en los procesos de transformación de residuos (Nunoura *et al.*, 2018).

Respecto a la proporción relativa de órdenes pertenecientes al dominio *Archeae* y dentro del grupo *Euryarchaeota* se ha obtenido un elevado porcentaje de *Metanobacterias* y *Metanosarcinae*, con mayor proporción en VM, grupo que muestra ciertas diferencias con el resto de muestras. Mientras que en las muestras del compost de higuera CH se obtienen los valores más bajos de este tipo de microorganismos.

La principal característica diferenciadora de las arqueas es su capacidad para sobrevivir en ambientes tóxicos y hábitats extremos por sus propiedades como hipertermofilia, acidofilia y alcalinofilia, y halofilia, adaptando su metabolismo a estas condiciones. Las arqueas pueden usar una gran variedad de fuentes de energía, incluida la luz solar, el alcohol, el ácido acético, el amoníaco, el sulfuro y la fijación de carbono a partir de dióxido de carbono en la atmósfera. Los productos de desecho que se utilizan para realizar compostaje incluyen abundante cantidad de carbono y las arqueas metanogénicas son las únicas células capaces de producir este químico. Y aunque el volteo y la homogeneización del residuo evita la estratificación, en el compostaje pueden aparecer pequeñas zonas anaerobias y gradientes de O₂, que dan lugar a la formación de CH₄ y N₂O respectivamente (Castelle *et al.*, 2015).

No obstante, autores como Craft *et al.*, (1996) sugirieron que el menor contenido en carbono y menor flujo de emisión de gases al final del proceso es el responsable de una menor abundancia y diversidad de la comunidad arqueogénica, menor actividad metanogénica y mayor actividad metanotrófica. En nuestras algunas muestras el efecto del tratamiento también se hizo patente, (VM y VC), con una mayor abundancia relativa de familias de este filo, tal y como mencionan diversos autores (Han *et al.*, 2013).

4.2.1.2. Dominio Bacteria

En el dominio de las bacterias se incluyen a los organismos procariotas, células que no tienen un núcleo celular diferenciado. Las bacterias se dividen en tres grupos: Cocos, Bacilos y formas helicoidales (Figura 4.2.4).

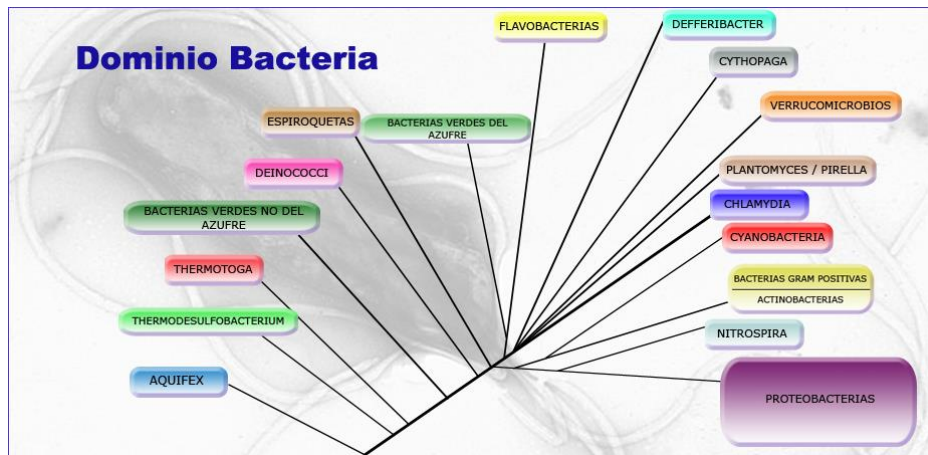


Figura 4.2.4. Esquema del dominio bacteria (Woese, 1987)

Las bacterias son las más numerosas en los procesos de compostaje y vermicompostaje, y constituyen entre el 80 % y el 90 % de los microorganismos existentes en el compost (Daniel *et al.*, 2005). Se trata de un grupo de gran diversidad metabólica, que utilizan un amplio rango de enzimas que degradan químicamente una gran variedad de compuestos orgánicos. La cuantificación de las bacterias aerobias totales representa, de alguna manera, un índice de actividad biológica. Dentro de este tipo de microorganismos, se puede destacar el género de las *Pseudomonas*, constituido por algunas especies de bacterias asociadas a procesos de transformación de residuos como puede ser el compostaje y de biocontrol de patógenos de plantas, y también a procesos de estimulación del desarrollo radicular. Por esta causa se ha considerado a los compost y vermicompost como estimuladores del desarrollo de las plantas y con un efecto supresivo a diferentes fitopatógenos (Pace *et al.*, 1986; Poinar *et al.*, 2006; Han *et al.*, 2013; Quian *et al.*, 2016).

La curva de rarefacción obtenida para las bacterias alcanza la situación de saturación, indicando un rendimiento óptimo, lo que representa que en el estudio realizado la mayor

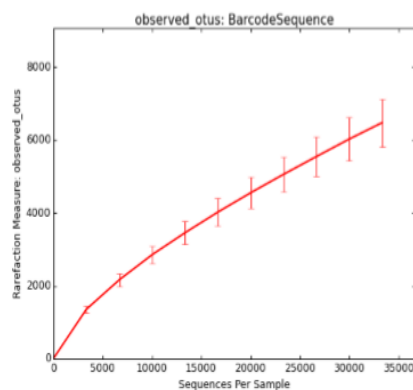


Figura 4.2.5. Curvas de rarefacción de las muestras amplificadas para la detección de bacterias

parte de los microorganismos fueron detectados. La Figura 4.2.5 muestra la curva de rarefacción, correspondiente a los perfiles estudiados a nivel de género para las bacterias.

Los resultados obtenidos de la secuenciación de las muestras de bacterias, pueden observarse en la Figura 4.2.6, la cual representa los distintos géneros obtenidos en cada una de las muestras.

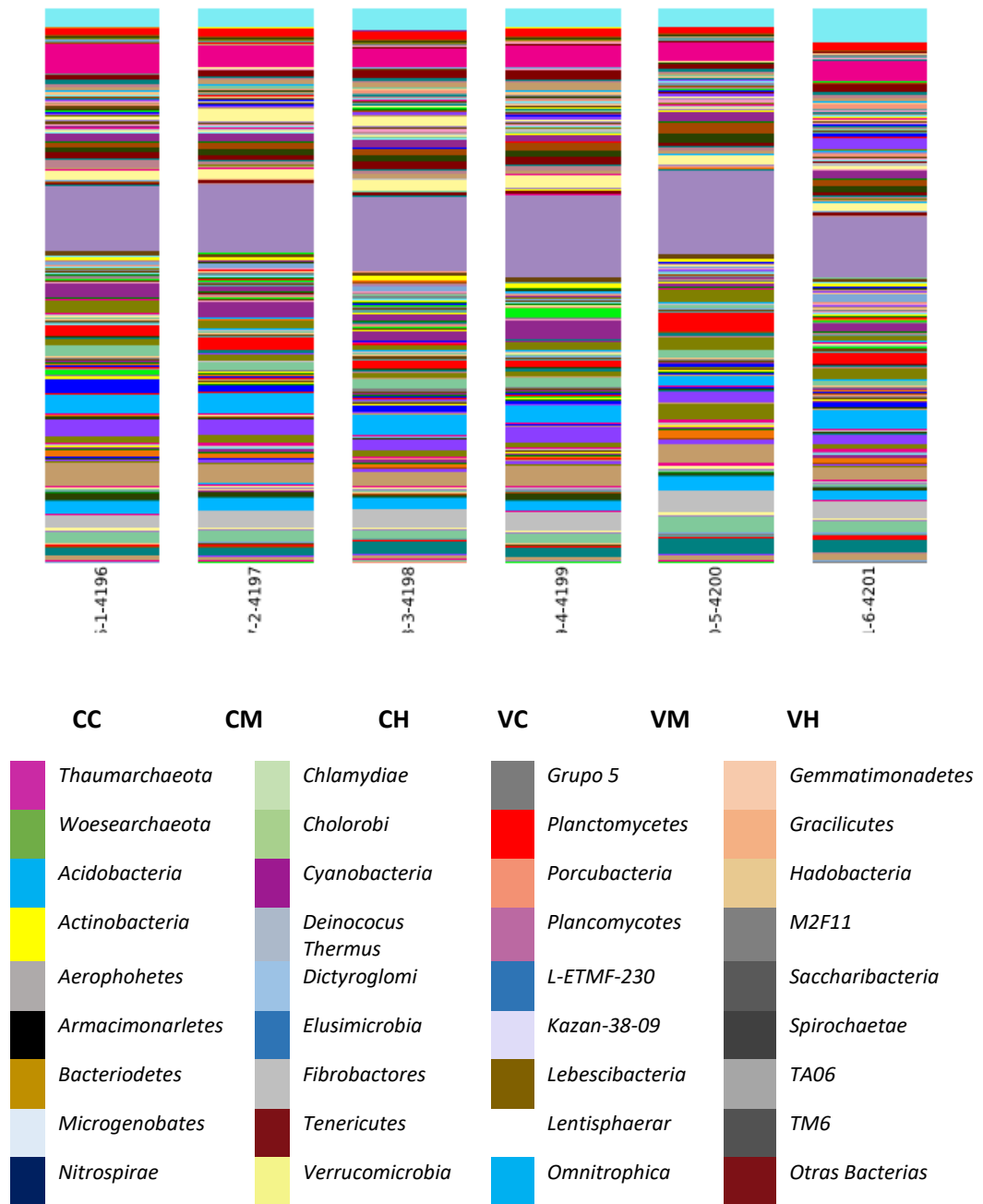


Figura 4.2.6. Porcentaje de frecuencia relativa a nivel de familia detectado en todas las muestras correspondientes a los perfiles de bacterias en el 16s rRNA

En el filo *Bacteria* la microbiota dominante detectada según perfiles basados en el 16s rRNA: pertenece a las siguientes familias: *Planctomycetaceae*, *Acidimicrobiaceae*, *Cytophagaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Staphylococcaceae*, *Bacillaceae* y *Comamonadaceae*.

La distribución de bacterias en las muestras se presenta en la Figura 4.2.7 donde se observa que la muestra correspondiente al VH presenta la mayor cantidad de géneros y el mayor número de bacterias frente al resto, siendo en la muestra de compost de cítrico donde los valores son menores. El resto de muestras parecen bastante similares respecto al número de bacterias.

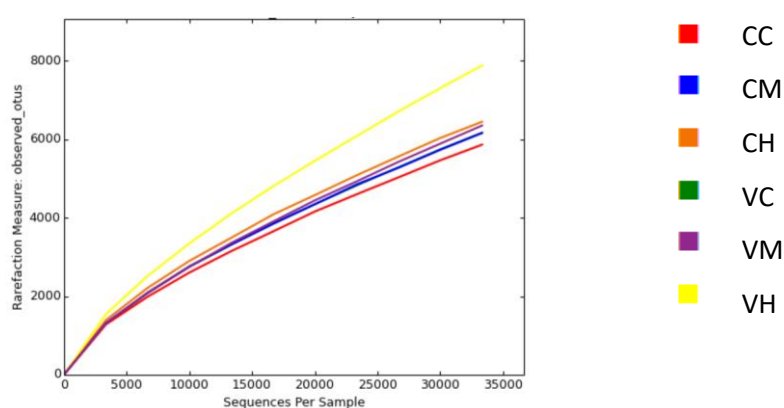


Figura 4.2.7. Distribución de la biota de bacterias en las muestras estudiadas

En el dominio *Eucaria Bacteria*, la familia *Planctomycetaceae* es la más representada en la mayoría de las muestras y concretamente el género *Planctomyceses*. Este género está formado por bacterias Gram negativas acuáticas que pueden encontrarse en aguas dulces, salobres y marinas. La principal característica es la ausencia de peptidoglicanos en sus paredes celulares, lo que les proporciona una forma esférica (Kotzerke *et al.*, 2008; King *et al.*, 2019; Koo *et al.*, 2018).

Mientras que la familia anterior mantenía sus valores en un porcentaje casi constantes en cada una de las muestras secuenciadas, el resto de las familias varían sus valores considerablemente. La familia *Acidimicrobiaceae* y en concreto el género *Illumatobacter* se detectó de forma mayoritaria en la muestra VM, mientras que para el resto de muestras sus valores son muy semejantes. La familia *Cytophagaceae* se detecta en niveles más altos en las muestras CM y VM, mientras que para las otras tres muestras estos valores disminuyen, siendo considerablemente visible para la muestra VC. Se trata de bacterias cuyo metabolismo es quimioorganótrofo aerobio o microaerófilo, muchos de ellos reciclan las sustancias orgánicas del suelo y algunas especies pueden vivir a temperaturas por debajo de los 5 °C (Lv

et al., 2015) (Ruiz-Urighuen *et al.*, 2018). También se incluyen *Acidobacter* y *Acidomicrobiota*, ambas aparecen en todas las muestras y especialmente en el vermicompost de maíz.

Para la familia *Flavobacteriaceae*, los niveles más altos de detección se han obtenido en la muestra CM, mientras que decaen para el resto de las muestras, llegando a valores no detectables para la muestra VM. Esta es la familia bacteriana más grande del filo *Bacteroidetes* y poseen metabolismo respiratorio aerobio (Bjornsson *et al.*, 2002).

El orden *Bacillaceae* perteneciente a la división Firmicutes se puede encontrar en todas las muestras a excepción de la muestra VH, y se detecta de forma mayoritaria en las muestras CM, CH y VM. Dentro de este orden, la familia que se detecta únicamente en la muestra VC es *Staphylococcaceae*.

Firmicutes es un filo de bacterias la mayoría de las cuales tienen una estructura celular Gram-positiva (Matsumoto *et al.*, 2009). Algunas de ellas (*Mollicutes*, entre las que se encuentran los micoplasmas) carecen de paredes celulares por lo que no se colorean con la tinción de Gram, y además carecen de la segunda membrana encontrada en la mayoría de las bacterias Gram negativas. Otras, las del grupo *Negativicutes*, tienen una pseudomembrana exterior porosa que las hace Gram negativas. *Firmicutes* fue creado originalmente para incluir todas las bacterias Gram positivas, pero más recientemente se ha restringido a un grupo base de formas relacionadas, llamado grupo de contenido GC bajo, en contraposición con *Actinobacteria* que tiene contenido GC alto. Su porcentaje se encuentra en un valor medio de 4,8 %, con valores entre 2,3 y 6,9 %, siendo en general los valores menores los obtenidos en vermicompostaje, con rangos de 4,1 y 6,2 para CC y VC respectivamente, 6,9 y 2,3 para CM y VM, y 6,7 y 2,6 % en CH y VCH.

Las proteobacterias (*Proteobacteria*) son uno de los principales filos de bacterias. Todas las proteobacterias son Gram negativas, y mayoritariamente anaerobias. Incluyen una gran variedad de patógenos, tales como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Vibrio* entre otros. Otras son de vida libre, e incluyen muchas de las bacterias responsables de la fijación del nitrógeno. El filo se estableció inicialmente en términos de secuencias de ARNr, denominándose bacterias púrpuras y relacionadas. Sus proporciones son similares en todos los compost y vermicompost a excepción del vermicompost de maíz donde las diferencias con el compost son ligeramente superiores (21,8 % CC y 20,7 % VC), (20,9 % y 23,1 % para CM y VM), con (20,0 % y 22,8 % para CH y VH), siendo en CH donde se observan los valores más bajos. Por último, también dentro del filo *Proteobacteria* la familia *Comamonadaceae* se encontró en las muestras CH y CC, mientras que para las otras tres muestras esta familia se detecta a valores muy bajos, y en la muestra CM no se detecta esta familia (Figura 4.2.8).

Parcubacteria es un extenso grupo de bacterias recientemente propuesto sobre la base de análisis genómicos, usualmente se le asigna el rango de superfilo debido a su gran divergencia evolutiva. Se caracterizan por ser células extremadamente pequeñas, genomas reducidos y capacidades metabólicas muy limitadas, centradas principalmente en la fermentación, que generalmente viven como simbioses en comunidades microbianas y tienen capacidad de respiración aeróbica y se estima constituye al menos un 15% de la diversidad bacteriana. Este filo *Parcubacteria* presenta mayor proporción que el resto especialmente en CM y VM. Son bacterias de gran divergencia evolutiva centradas principalmente en la fermentación, que generalmente viven como simbioses en comunidades microbianas, y con capacidad de respiración aeróbica (Barns *et al.*, 1992).

Los filos *Bacterioidetes* muestran proporciones similares en todas las muestras, al igual que *Candidate*, *Fusomicrobia* y *Cyanobacteria* que se han encontrado en proporciones similares.

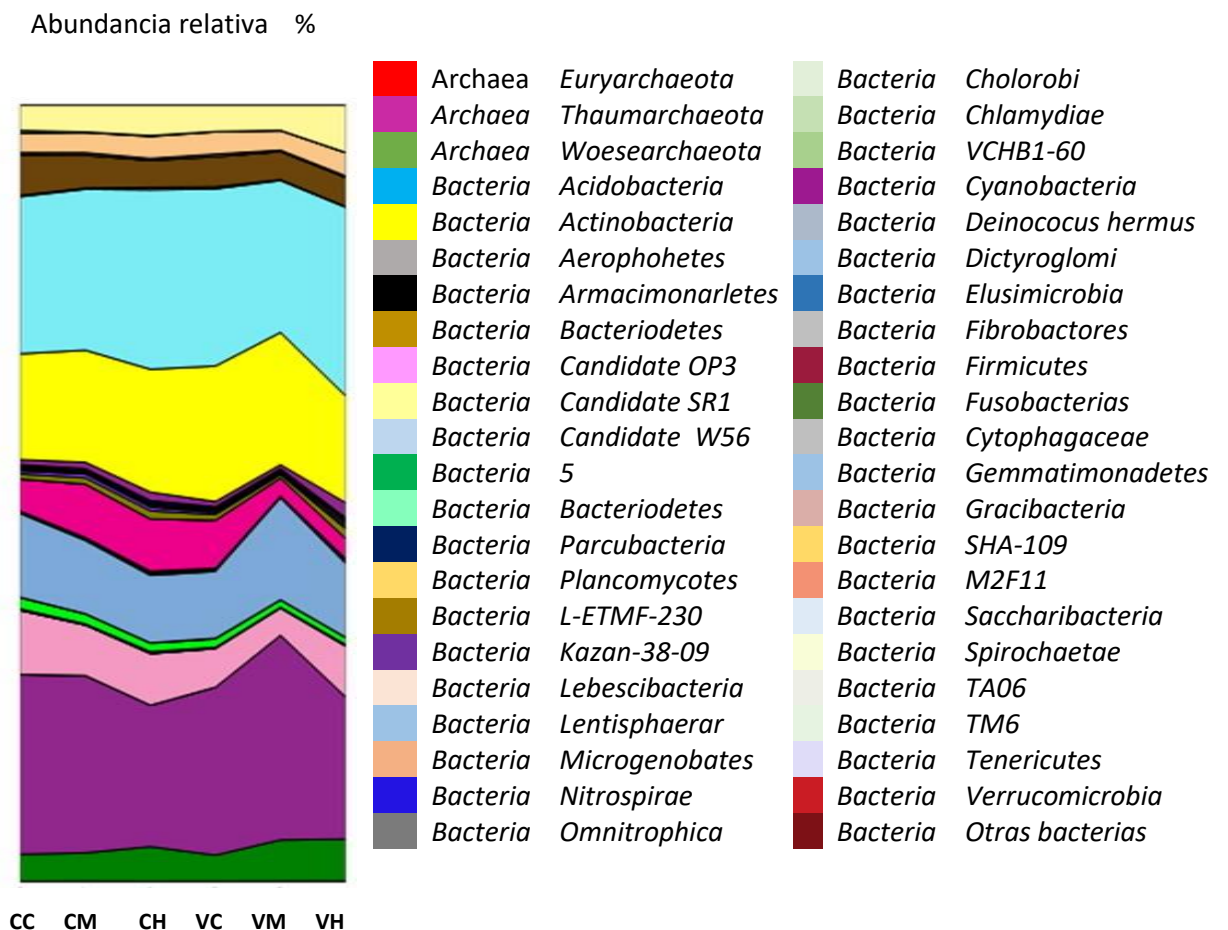


Figura 4.2.8. Distribución de los filos *Archeae* y *Bacteriae* en las muestras estudiadas

Las altas concentraciones de oxígeno disuelto representan condiciones ambientales beneficiosas para el filo *Acidobacteria*, que estaría relacionada con las *Proteobacterias* sobre

la base de diversos árboles filogenéticos y se sitúa usualmente próximo a *Thiobacteria*. Los porcentajes obtenidos para *Acidobacteria* oscilan entre el 18,2 % en compost y 18,3 % en vermicompost de higuera, y entre 22,8 y 26,4 % en el compost y vermicompost de maíz, y 23,2 y 21,6% para compost y vermicompost de cítrico.

Chlamydia trachomatis es un microorganismo ubicuo, siendo *Chlamydiaceae* una familia de las bacterias intracelulares que pueden infectar a los seres humanos y otros animales. Durante su inusual ciclo de vida bifásico alternan entre dos formas diferentes. Antes de entrar en un huésped están constituidos por pequeños cuerpos infecciosos elementales (EBS). Éstos se unen al anfitrión y son tomados por la fagocitosis. Y cuando entran en la célula del huésped EBS se transforma en cuerpos reticulares más grandes y metabólicamente activos, los cuales utilizan la energía del hospedador para replicarse dentro de la célula. Al final del ciclo se transforma de nuevo en EBS antes de estallar fuera de la célula, infectando luego a nuevas células. La familia comprende un número de especies incluyendo *C. pneumoniae* y *C. psittaci*. Los valores medios tienen una distribución de 1,4 y 1,1 % para CC y VC; 1,3 y 0,9 % para CM y VCM, y 1,1 y 0,9 % para CH y VH.

Tanto *Acidobacteria*, *Chrysiogenetes* como *Deferribacteres*, son bacterias del suelo no patógenas (Courtois *et al.*, 2003; Danon *et al.*, 2008).

Saccharibacteria es un filo de bacterias recientemente propuesto, previamente conocido como TM7, probablemente perteneciente al superfilo *Patescibacteria*. Mediante el estudio de muestras ambientales de ARNm se ha encontrado que los miembros de este filo se encuentran ampliamente distribuidos por el medio ambiente, tanto en suelos, sedimentos, aguas residuales y animales. Los estudios genéticos indican que *Saccharibacteria* es un grupo filogenéticamente diverso y que juega un papel importante en la degradación de diversos compuestos orgánicos en condiciones aerobias, reductoras de nitratos y anaerobias. El nombre dado al filo hace referencia a su capacidad de degradación de los azúcares (Vivas *et al.*, 2009). Este filo forma parte del grupo CPR (*Candidatae phyla radiation*). Por otra parte, *Saccharibacteria* representa el 4 % de media total, con valores 5,3 % y 3,9 % para para CC y VC, con 4,2 % y 3,6 % para CM y VM y 3,5 % y 3,7 % para CH y VH.

Los *Verrucomicrobios* (*Verrucomicrobia*) son un filo recientemente descrito de bacterias. Este filo contiene sólo unas pocas especies, siendo *Verrucomicrobias pinosum* la que ha dado nombre al grupo. Existen especies aisladas en agua dulce, en el suelo, agua de mar y heces humanas.

También encontramos microorganismos que se aislaron en aguas termales como *Methylacidiphilum infernorum*, un autótrofo-metanótrofo hiperacidófilo.

Algunas *Verrucomicrobia*, todavía no cultivadas, se han encontrado en asociación con huéspedes eucariotas, incluyendo protistas y nematodos lo que sugiere que muchas de ellas son abundantes e importantes para el medio ambiente (Yasir *et al.*, 2008). Los *Verrucomicrobios* representan el 2,7% del total, con valores 2,5 y 2,9 para para CC y VC, con 2,6 y 2,5% para CM y VCM y 2,9 y 3, para CH y VH.

Se considera a *Verrucomicrobia* parte del supergrupo PVC o también llamado *Planctobacteria*, el cual agrupa a *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Chlamydiae* y *Lentisphaerae*.

Thermomicrobia es otro de los grupos encontrados en las muestras, se consideró un filo, pero ahora es una clase dentro de *Chloroflexi*. Cavalier-Smith denomina a estos dos grupos *Chlorobacteria* y considera que son las bacterias más primitivas. *Chloroflexia*: representa 10,0% del total, con valores 10,8% y 8,6% para para CC y VCC, con 9,4% y 13,1% para CM y VM y 9,4% y 9,5%, para CH y VCH.

Generalmente *Chloroflexia* son bacterias fotosintéticas, filamentosas, muchas veces termófilas. Pueden ser no-fotosintéticas y marrones en la oscuridad y fotótrofas y verdes a la luz ((Fierer *et al.*, 2007). Karadag *et al.*, (2013), Khan *et al.*, (2009), identifican gran número de estas bacterias presentes en los compost y vermicompost a lo largo de los procesos (Fu *et al.*, 2015; Fracchia *et al.*, 2006).

La figura 4.2.8 nos indica la proporción relativa de los filos pertenecientes al dominio *Archeae* y *Bacteria* donde se observa un contenido elevado de *Metanobacterias* y *Metanosarcinae* con mayor proporción en VM. Igualmente *Acidobacterias* y *Acidomicrobiota* se muestran con mayor proporción y con mayor intensidad en VM.

No obstante, no se observan grandes diferencias entre los grupos, de bacterias *Acidobacteria*, *Metanobacterium*, etc.

El tamaño de la población, el número de especies y la actividad metabólica de las bacterias mesófilas se incrementa al final de los procesos de compostaje y vermicompostaje, al favorecer la descomposición de los compuestos orgánicos, la oxidación y mineralización del nitrógeno inorgánico y los compuestos azufrados (producción de nitratos y sulfatos). Lo mismo ocurre con la formación de compuestos del humus (exopolisacáridos) a través de la polimerización de compuestos orgánicos simples, la fijación del nitrógeno atmosférico, la supresión de fitopatógenos, la mineralización del hierro, manganeso y fósforo, la capacidad de intercambio catiónico y la formación de agregados minerales (Yasir *et al.*, 2008). Estos microorganismos contribuyen a la degradación de compuestos orgánicos tóxicos (pesticidas)

y a la disminución de gran cantidad de metales pesados a través de la formación de sales insolubles (Zhang *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2016).

En nuestras muestras se obtiene que en los composts los filos con mayor presencia pertenecían principalmente a los filos *Actinobacterias* y *Firmicutes*. Por el contrario, el vermicompost estaba dominado por bacterias relacionadas con *Cloroflexis*, *Acidobacterias*, *Bacteroidetes* y *Acidomicrobiota*. La especificidad y consistencia de las comunidades bacterianas que habitan los materiales de compost sugieren que el análisis de la comunidad bacteriana es un indicador potencialmente útil para caracterizar la calidad de los compost (Zhong *et al.*, 2016).

4.2.1.3. Dominio Hongos

Se estima que los hongos incluyen 1,5 millones o más especies, desempeñando papeles clave como descomponedores, mutualistas y parásitos en todos los biomas de la tierra (Bonifaz, 2012).

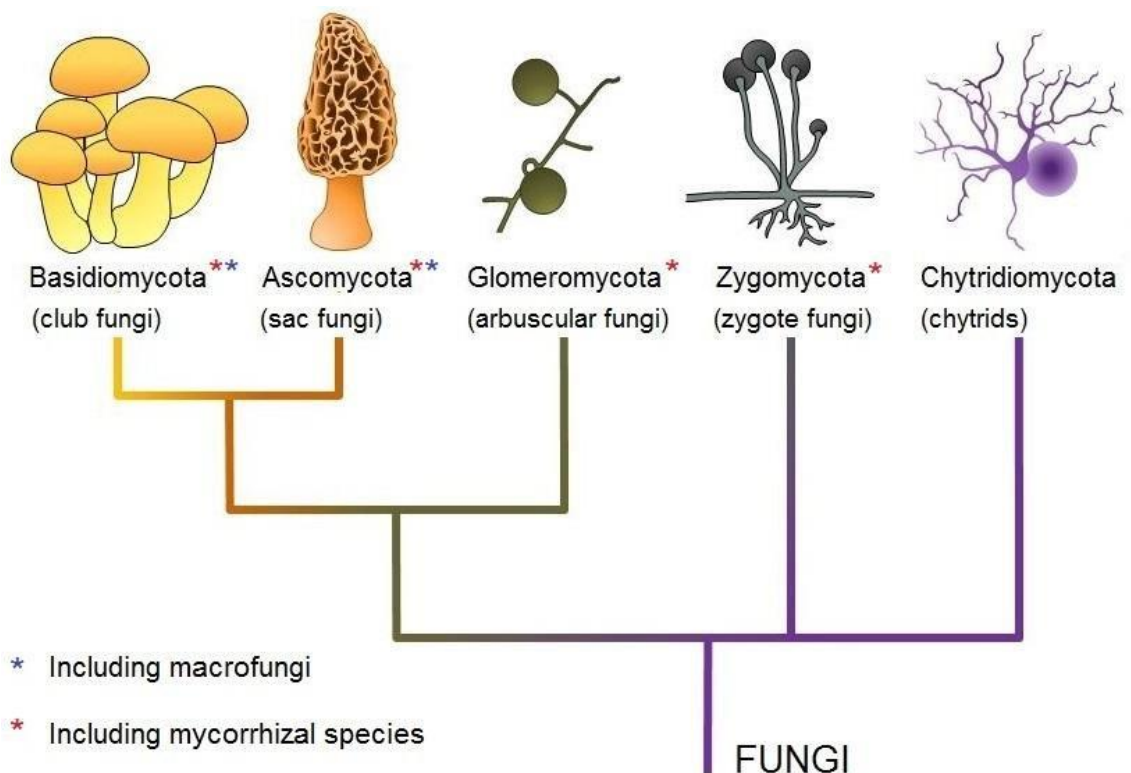


Figura 4.2.9. Ramas principales del reino *Fungi*. (Bear *et al.*, 2016)

Entre ellos los *Actinomycetes* tienen un papel importante en el proceso de transformación de la materia orgánica dada la capacidad enzimática para degradar

compuestos orgánicos complejos (celulosa, lignina, etc.). Muchas de estas especies son tolerantes a las temperaturas que alcanza el compost durante el proceso de degradación aeróbica, siendo uno de los grupos de microorganismos más abundantes en el compost, siendo importante conocer su evolución y abundancia durante estos procesos (Zhang *et al.*, 2018).

La figura 4.2.9 muestra el esquema simplificado del árbol filogenético indicando los principales Filos: *Ascomycota* y *Basidiomycota*, *Glomeromycota* (anteriormente clasificados dentro del filo *Zygomycotas*), representantes de los *Zygomycota* y *Chytridiomycota* se mezclaron en la base del árbol, compartiendo sólo la morfología primitiva. (González-Teuber *et al.*, 2017; Honsaana *et al.*, 2017; Pérez-Losada *et al.*, 2005).

Por otra parte los hongos filamentosos constituyen un grupo muy amplio que suelen estar implicados durante el proceso de compostaje, participando en la degradación aeróbica de la materia orgánica debido a su alta capacidad lignocelulolítica.

La identificación taxonómica de hongos realizada por la secuenciación de las regiones ITS mostró para el gen ITS los valores medios de 37,13 y 37,39 para compost y vermicompost respectivamente, con desviaciones de 0,14 y 0,20 respectivamente.

Para cada una de las muestras analizadas se ha obtenido una curva de rarefacción, que muestra una comparativa entre las secuencias analizadas y el número de taxones detectados a distintos niveles, hasta llegar a una situación de saturación con la totalidad de detectados.

Se muestra la curva de rarefacción, correspondientes a hongos (Figura 4.2.10) de los perfiles estudiados a nivel de género.

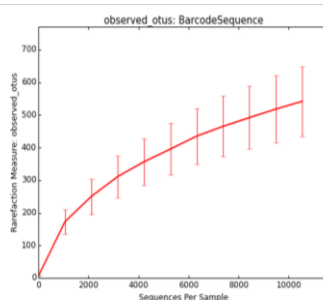


Figura 4.2.10. Curva de rarefacción de las muestras amplificadas para la detección de hongos

La figura 4.2.11 resume los resultados mostrando el filo principal y las ramas correspondientes a los hongos. El filo *Chytridiomycota* comprende hongos verdaderos que producen esporas flageladas (zoosporas) para reproducirse (Alexopoulos *et al.*, 1996). En la evolución de los hongos, Taylor *et al.*, (2001) propusieron que en su estructura había al menos

3 pérdidas de nitrógeno dentro del grupo de *Chytridiomycota* y *Zygomycota*. Posteriormente, sugirieron ciertas modificaciones como de 4 a 6 pérdidas de nitrógeno, que habrían ocurrido en las ramas en las cuales divergen *Hyaloraphydium curvatum* (el único hongo que crece superficial como alga marina palmerina), el *Microsporidia* que presenta de 2 a 4 pérdidas en los grupos derivados de *Zygomycota*. (Mockel *et al.*, 2015) indicaron que sólo se identificó una pérdida de nitrógeno, cuando los antepasados del *Chytridiomycota* pasaron el ambiente terrestre. Todos los trabajos de filogenia concluyen que el filo *Chytridiomycota* no es monofilético, es decir, el filo no deriva de un solo ancestro común, lo que implica una nueva clasificación sobre la base de la evolución de los hongos (Hugenholtz *et al.*, 1996; Taylor, 2001; Huber *et al.*, 2002; Chroni *et al.*, 2009; Caporaso *et al.*, 2010; López-González *et al.*, 2015).

Los resultados obtenidos de las muestras de hongos se ha observado (Figura 4.2.11) una mayor abundancia de especies en las muestras vermicompostadas frente a las compostadas, manifestándose el efecto beneficioso de las lombrices en el proceso en la madurez de los productos (Wang *et al.*, 2011). Entre los distintos géneros obtenidos a partir de la secuenciación, cabe destacar los siguientes: *Microascus*, *Aspergillus*, *Acremonium*, *Graphium* y *Clitopilus*.

El género *Microascus* es el que se encuentra más representado en todas las muestras, especialmente en la muestra CC, pero su cantidad disminuye de forma considerable en las muestras CH, VC y VM. *Microascus brevicaulis* es un microhongo dentro de *Ascomycota*, es un saprotrofito en el suelo, un agente común de biodegradación y un patógeno de planta irregular y ocasional agente de infección de la uña humana. Bartolomeo Gosio descubrió en 1890 que bajo condiciones húmedas *M. brevicaulis* produce cantidades significativas de pigmentos inorgánicos (Awasi *et al.*, 2014). Este hongo generalmente se produce como un moho que está presente en numerosos tipos de suelos, así como en varios tipos de descomposición de materia orgánica. Está representado en más de un 80% de las muestras, analizadas, en pequeñas cantidades, y es un hongo frecuente en las fases finales y de maduración en los procesos de compostaje (Federici *et al.*, 2011).

Abundancia relativa %

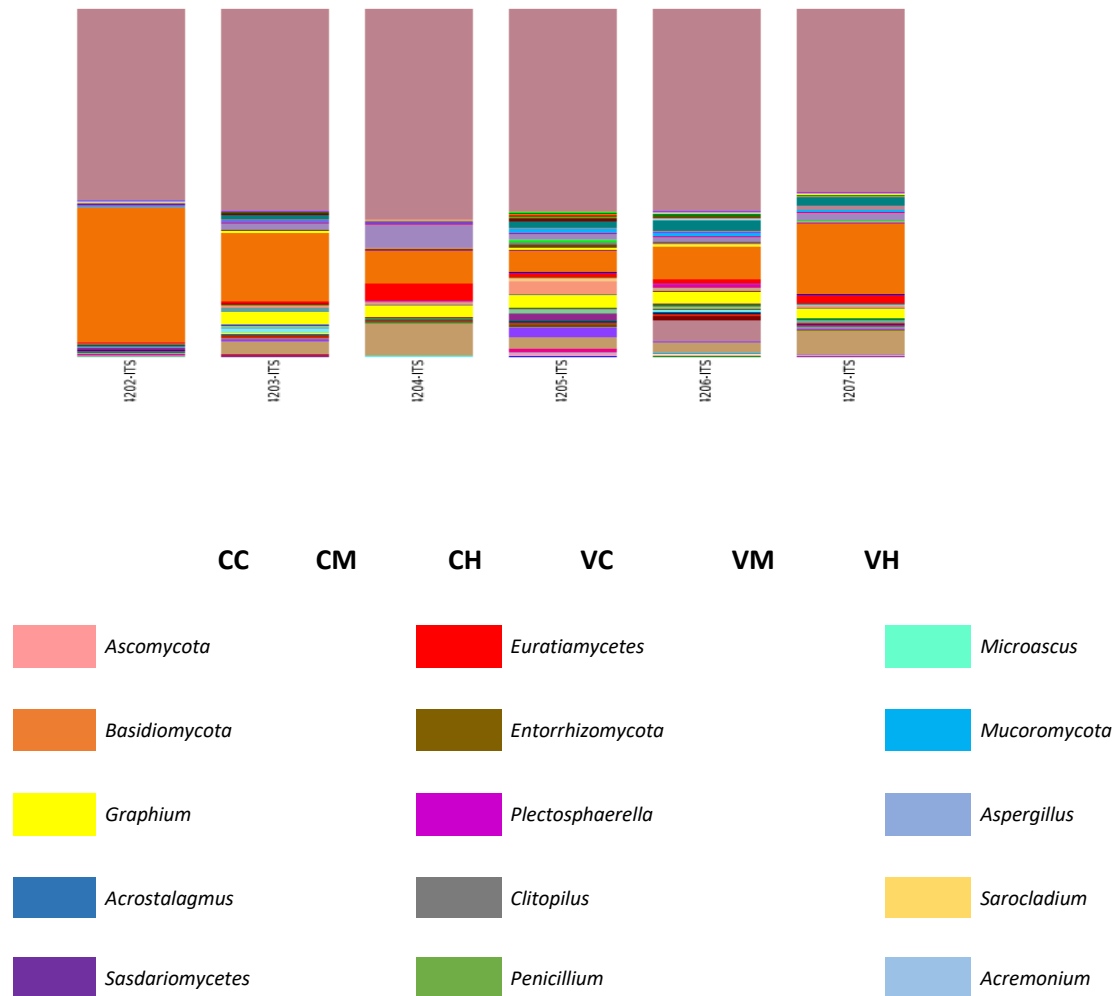


Figura 4.2.11. Abundancia relativa en barras acumulativas comparando los filis detectados en las muestras estudiadas CC, CM, CH, VC, VM, VH con los perfiles de hongos/levaduras basadas en el ITS del rRNA

También en gran proporción encontramos el phylum *Basidiomycota* en especial el género *Clitopilus*, género descrito como productor de enzimas lignolíticas (Goud *et al.*, 2001).

Microascus brevicaulis tiene una distribución mundial y se presenta principalmente en el suelo como saprofito. Esta especie también se encuentra con cierta frecuencia como agente no dermatofito de infecciones de las uñas (onicomicosis), además en la vida del suelo es un típico descomponedor. Este hongo es también conocido por vivir dentro de la garrapata del perro americano. Algunos estudios han demostrado que *M. Brevicaulis* habita en su hospedador como un endosimbionte y puede brindar protección contra hongos de insecto-patógenos, *Metarhizium anisopliae* (Fernández-Gómez *et al.*, 2011).

Sin embargo, los géneros restantes son detectados a niveles muy bajos o incluso no son detectados en la muestra CC. El género *Aspergillus* se detecta a niveles más altos en las

muestras de compost y vermicompost de higuera CH y VH, siendo lógico dado que las esporas de este hongo se encuentran en el aire. Este hongo puede encontrarse en el compostaje o en lugares húmedos. *Acremonium* es especialmente relevante por su significación clínica ya que puede ser el causante de varias infecciones de los pulmones y del tracto gastrointestinal. Este hongo se encuentra en los restos de vegetales muertos y en el suelo. El género *Graphium* se detecta en niveles más altos en la muestra CH, puede encontrarse en el suelo, en restos de vegetales, en madera o en agua contaminada. Dentro de la familia *Entolomataceae* el hongo basidiomiceto *Clitopilus* es el más representativo de la muestra VM (Figura 4.2.11).

En general, podemos decir que en los sustratos vermicompostados hay mayor porcentaje de frecuencia para los filos *Basidiomycota* y *Ascomycota*. La mayor cantidad de individuos en los sustratos vermicompostados indica que las lombrices tienen un efecto beneficioso en las muestras vermicompostadas (Fukasawa *et al.*, 2017).

En general, los resultados indican que existen diferencias considerables entre las muestras de compost y vermicompost. Sin embargo, en algunos casos como en el compost y vermicompost de higuera, y concretamente en el caso del género *Aspergillus* se encuentran ciertas similitudes, nuestros resultados son similares a los obtenidos por Karadag *et al.*, (2013). A pesar de la abundancia del género *Aspergillus* en nuestras muestras, autores como Bonito *et al.*, (2010) no lo detectan en compost de residuos municipales.

Todos los aislados de *Microascus* y *Aspergillus* fueron asignados a los phyla *Ascomycota* y *Basidiomycota*, con prevalencia de las clases *Sordariomycetes* y *Eurotiomycetes*. Las especies *Aspergillus clavatus* y *Microascus brevicaulis* mostraron las mayores abundancias relativas. También se han encontrado los géneros *Acremonium*, *Graphium* y *Clitopilus*.

Microascus, *Aspergillus*, *Acremonium*, *Graphium* y *Clitopilus* fueron los géneros dominantes, con cierta similitud entre las comunidades fúngicas asociadas a las muestras con un grado de actividad biológica similar (Storey *et al.*, 2015).

Chromi *et al.*, (2009) y Bonito *et al.*, (2010), indicaron que la diversidad fúngica disminuye a medida que avanzan los procesos de compostaje y vermicompostaje. En nuestro caso existe cierta similitud entre las comunidades fúngicas asociadas a las diferentes muestras, lo que podría relacionarse con un grado de actividad biológica similar, a excepción del *Microascus* que destaca por su abundancia en el CC.

En general, la bibliografía consultada indica que en el vermicompostaje donde la formación de humus está mediada por las lombrices mediante la digestión intestinal, la excreción de moco de la lombriz podía acelerar la mineralización y las tasas de humificación

de los componentes orgánicos, estimulando significativamente la actividad microbiana y la abundancia bacteriana (Huang *et al.*, 2018).

Huang *et al.*, (2018) considera que el vermicompost estimula positivamente el crecimiento del filo *Proteobacterias*, pero afecta negativamente al filo *Firmicutes* y aumenta, en general, la diversidad de la comunidad bacteriana.

Autores como Huang *et al.*, (2014), en un estudio sobre transformación de residuos vegetales y frutas frescas por vermicompostaje, muestran por PCR cuantitativa que las lombrices aumentaron notablemente las densidades bacteriana y fúngica, mostrando durante todo el proceso de descomposición valores más altos que el control.

Las lombrices aceleran la modificación de las estructuras comunitarias bacterianas y fúngicas, ampliando la diversidad de las comunidades de *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacterias*, y *Ascomycotina*. La presencia de lombrices promovió la actividad y la población de bacterias y hongos, y modificó sus comunidades, mejorando así la vía de descomposición de los residuos frescos.

En nuestro caso y en cuanto a la presencia de *Archaeas*, la familia *Cytophagaceae* tiene niveles de detección más altos en las muestras CM y VM pertenecientes al compost y vermicompost de maíz. También es frecuente encontrar arqueas metanógenas en la mayor parte de las muestras, y especialmente en los residuos vermicompostados de maíz. El grupo *Methanosarcina*, frecuente en aguas residuales, también se detectó en gran parte de las muestras.

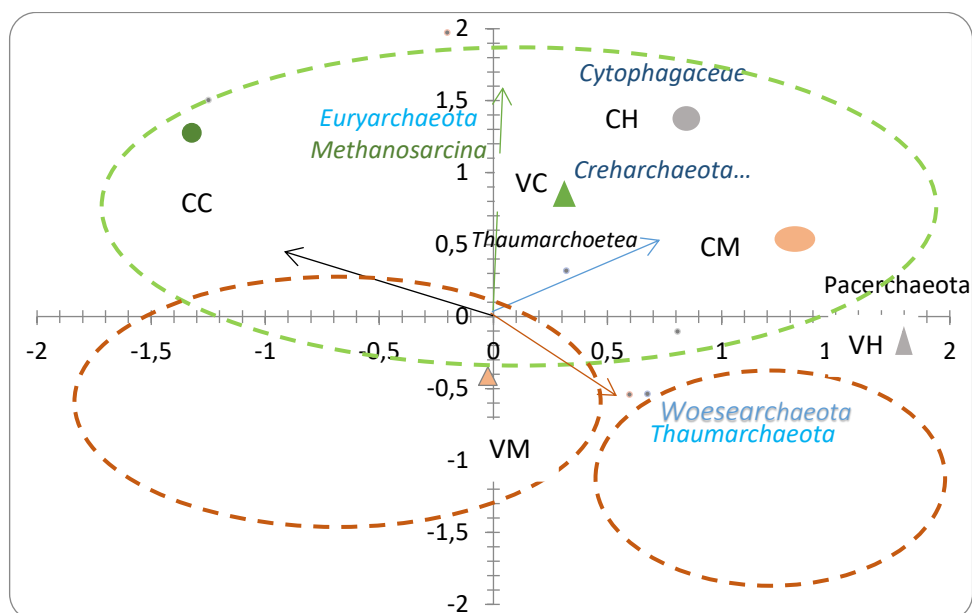


Figura 4.2.12. Distribución de *Archaea* en las muestras

▲ VC ▲ VH ▲ VM ● CC ● CH ● CM

Las diferencias en los perfiles de temperatura en las distintas etapas del compostaje afectan a las propiedades químicas y la diversidad de las comunidades microbianas. El estado del compost afecta a las comunidades microbianas debido a que en el compost maduro existe menor cantidad de agua, y mayor pérdida de C y materia orgánica. Anastasi *et al.*, (2005) muestran cualitativa y cuantitativamente los efectos de la temperatura sobre las diferencias en la caracterización estructural de la microflora de un abono verde y de un humus de lombriz, observando diferencias en los procesos termofílicos o mesofílicos sobre el desarrollo y producción de los microorganismos. Dichos factores pueden afectar a la presencia de los filos y el estudio permite agruparlos en función de su abundancia en las muestras en relación a las condiciones características de cada proceso (Figura 4.2.12).

Tian *et al.*, (2013) indicaron que los microorganismos actúan como degradadores dominantes durante el proceso de compostaje, siendo *Firmicutes* y *Proteobacterias* los dos filos más abundantes en todas las etapas de transformación, mientras que *Bacteroidetes* y *Chloroflexi* fueron menos frecuentes. El filo *Actinobacteria* según López-González *et al.*, (2015), aparece como dominante solamente en la etapa termofílica, y se observó un ligero aumento en el estudio de la diversidad bacteriana en los niveles de filo y de género a medida que progresaba el proceso de compostaje.

Nuestros resultados muestran la presencia de *Actinobacterias* y hongos en los compost y vermicompost maduros con comunidades bacterianas y fúngicas más diversificadas para los vermicompost.

Según indican algunos autores, otro factor a tener en cuenta, es que la aplicación de fertilizantes podría cambiar significativamente la estructura de la comunidad bacteriana del suelo, y la abundancia de algunos géneros como *Cytophagaceae*; posibilidad que pudo producirse en nuestras muestras principalmente para aquellas con residuos de cítricos (CC y VC) ya que eran los cultivos más fertilizados.

Nuestros resultados permitieron determinar que la diversidad bacteriana de las muestras de compost y vermicompost está conformada por bacterias frecuentes y por otras menos abundantes, relacionados o no relacionados filogenéticamente. En nuestro caso, el análisis del metagenoma determinó que el 68,5% de las secuencias de 16S rRNA identificadas pertenecen al dominio *Bacteria*; de ellas, 20% son *Proteobacterias*, 8% del grupo *Cytophaga-Flexibacter-Bacteroides*, estando el resto distribuidas en grupos fuera del dominio *Bacteria*.

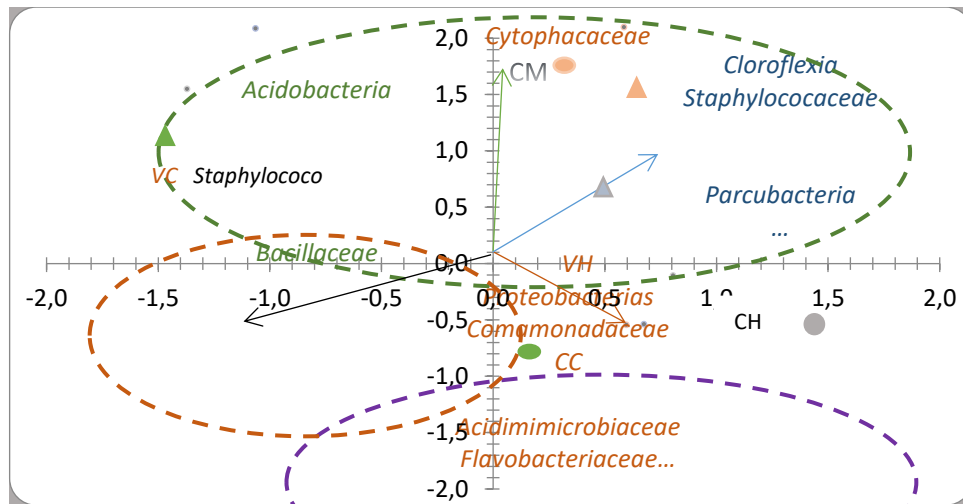


Figura 4.2.13. Distribución de las bacterias en relación a las muestras

▲ VC △ VH ▲ VM ● CC ○ CH ○ CM

Las especies bacterianas de los filos *Firmicutes*, *Actinobacteria* y *Proteobacterias* y los hongos del filo *Ascomycota* se encontraron en gran parte de las muestras compostadas y vermicompostadas. También observamos los géneros *Arthrobacterrussicus*, *Microbacteria* y *Cladosporium*, algunos de estos géneros fueron encontrados por primera vez en este ecosistema de transformación de residuos por Jurado et al., (2014). En todos los casos, la inoculación de lombrices, aumentó en los sustratos los filos dominantes como *Proteobacterias*, *Bacteroidetes*, indicando que las lombrices presentan un efecto beneficioso aumentando su diversidad. Este hecho permitió la diferente agrupación separando a los compost de los vermicompost (Figura 4.2.13).

La abundancia de la comunidad fúngica se manifestó en los diferentes productos obtenidos, observándose cambios en la composición de las comunidades (*Aspergillus* y *Cytophilus*). Igualmente la presencia de los filos *Basidiomycota* y *Ascomycota* en los sustratos, especialmente abundantes en vermicompostaje, indica que las lombrices presentan también un efecto beneficioso en este caso sobre los hongos (Horisawa et al., 2017; Hsuan et al., 2010).

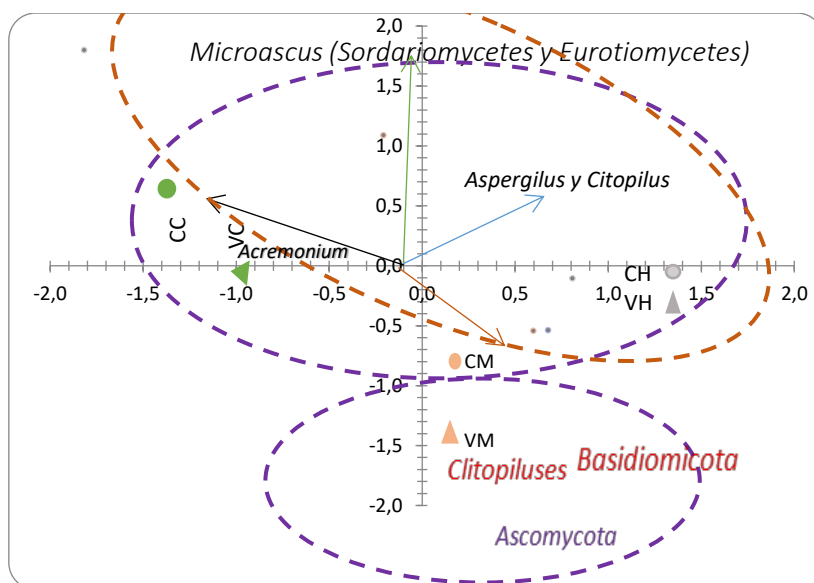


Figura 4.2.14. Distribución del filo *Fungi* en las muestras

▲ VC ▲ VH ▲ VM ● CC ● CH ● CM

En el caso de las *Archae* son numerosos los filos encontrados en las muestras. Algunas de ellas como *Woesearchaeota* se caracterizan por su desarrollo en condiciones salinas (Figura 4.2.14).

En los productos finales, se observan comunidades bacterianas específicas, lo que constituye un indicador potencialmente útil para conocer el proceso de transformación (Yasir *et al.*, 2008). Así las *Actinobacterias* asociadas a fases aeróbicas son más frecuentes en las muestras de vermicompostaje, mientras que especies más termófilas como *Verrocumicrobio* se asocian a fases del compostaje.

En el grupo de los hongos, el filo *Pacearchaeota*, el grupo de *Chytridiomycota* y *Zygomycota*, son los más abundantes con la presencia de *Hyaloraphydium curvatum*, un hongo que crece sobre superficies salinas. Por otra parte, *Aspergillus* y *Graphium* hongos muy abundantes en nuestras muestras viven en sustratos ricos en lignina como fuente de carbono.

4.2.1.4. Relaciones entre el porcentaje de frecuencias relativas de *Archae*, Bacterias y Hongos con los parámetros físicos, químicos y biológicos de los residuos transformados mediante compostaje o vermicompostaje

Las relaciones entre los parámetros físicos y químicos de los productos obtenidos en los procesos de compostaje y vermicompostaje, presentan diferencias que afectaron a la estructura y la sucesión de bacterias (Wang *et al.*, 2015). En nuestro caso se detectaron 16 especies predominantes durante ambos procesos, la mayoría de ellas existieron en todos los tipos de compost, mientras que otras fueron detectadas principalmente en el compost y

vermicompost de maíz. Los resultados del análisis multifactorial y de redundancia mostraron que las composiciones de especies bacterianas estaban influenciadas significativamente por parámetros como la relación C/N, temperatura y la humedad (Figura 4.2.15). Así, en los vermicompost donde el contenido de humedad fue mayor durante el proceso y el carbono fue transformado más activamente, se obtiene mayor porcentaje de carga tanto bacteriana como fúngica, y especialmente en la muestra VM.

Los resultados confirmaron que diferentes sustratos y tipos de procesos de compostaje y vermicompostaje producen comunidades bacterianas específicas en los productos finales, lo que constituye un indicador potencialmente útil para caracterizar la calidad de los compost y vermicompost.

Los residuos transformados tras el compostaje y vermicompostaje se convierten en sustratos útiles reduciendo sus efectos nocivos. El potencial de valorización de las lombrices y su capacidad para desintoxicar los productos obtenidos, así como para favorecer la eliminación de metales en los desechos industriales se debe a su fuerte sistema metabólico y a la implicación de los microbios intestinales y las células *Chloragocyte* de la lombriz. La mayoría de los estudios publicados indican que el humus de lombriz producido a partir de desechos orgánicos contiene mayores cantidades de sustancias húmicas, que desempeñan un papel importante en el crecimiento de las plantas. Existen numerosos artículos que abordan la desintoxicación de los desechos industriales por las lombrices, y el papel del humus de lombriz final en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Raghavendra *et al.*, 2017).

Durante la formación del humus, los desechos orgánicos pueden ser reciclados en productos de alto valor mediante la digestión intestinal, la expulsión, la mezcla y la excreción de moco de las lombrices. Huang *et al.*, (2018) estudiaron el papel de la mucosidad en el sistema de humus de lombriz en comparación con los efectos de otros tratamientos. Su estudio mostró el papel potencial del moco de las lombrices en la descomposición y humificación de desechos orgánicos, extraído e inoculado en tres sustratos de humus usando estiércol de vaca, desechos de frutas y vegetales, y lodos de aguas residuales. Los resultados obtenidos después de un experimento de 20 días mostraron que el moco podía acelerar la mineralización y los índices de humificación de los componentes orgánicos. En nuestro caso, estimuló positivamente el crecimiento de *Proteobacterias*, pero afectó negativamente a *Firmicutes*. Este resultado sugiere que el moco de las lombrices aceleró significativamente la descomposición y la humificación de los materiales de humus, pudiendo incluso promover la actividad microbiana, el crecimiento y la diversidad en estos sistemas. Por otra parte, Wang *et al.*, (2000), Karadag, *et al.*, (2013) y García-Gúzman *et al.*, (2017), indican que las etapas

termófilas son más ricas en diversidad bacteriana que las mesófilas, y que las condiciones hipertermófilas producen cambios en la comunidad bacteriana (Charlton *et al.*, 2013). Por otra parte Zheng *et al.*, (2020) estudiaron los cambios en las comunidades microbianas durante el proceso de compostaje, observando su mayor coincidencia en el período mesofílico y en la etapa temprana del período de fase termófila, estos cambios son de gran ayuda y pueden ayudar a explicar el proceso de compostaje.

Los cambios en la temperatura, el pH, la humedad y la relación C/N también afectan a la comunidad bacteriana en los procesos de compostaje (Karadaga *et al.*, 2013) y vermicompostaje (Xiao *et al.*, 2011). La representación gráfica, en un espacio común, de las características de los sustratos en relación a la microbiota se muestra en la Figura 4.2.15, donde hongos, bacterias y *archaeas* son agrupados alrededor de las características físicas y químicas de los compost y vermicompost tales como el contenido de agua, la riqueza en carbono y la disponibilidad de nutrientes.

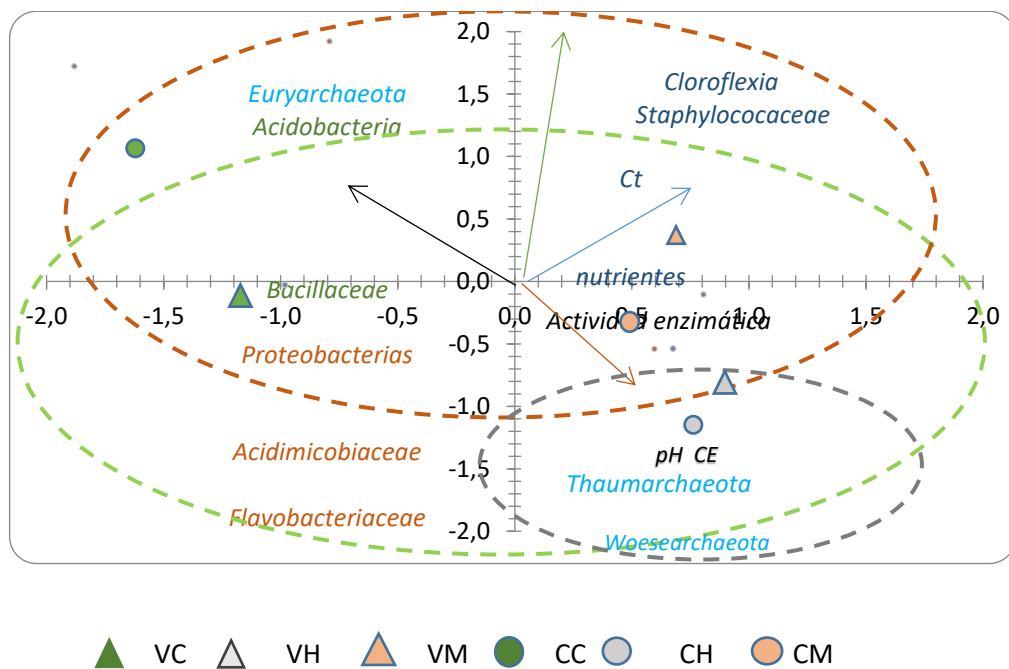


Figura 4.2.15. Interpretación gráfica, en un espacio común, de las características de los sustratos en relación a la microbiota. CC, CH, CM compost y VC, VH, VM vermicompost de cítrico, higuera y maíz

Autores como Albrecht *et al.*, (2010) en un estudio similar relacionaron significativamente la rápida descomposición de la materia orgánica biodegradable no húmica, con la disminución de C, la relación C/N y materia orgánica. Alves *et al.*, (2019), en un estudio de eliminación de los lodos de aguas residuales municipales observaron un efecto de bioaumentación debido a su rica diversidad y biomasa microbiana (Ellis *et al.*, 2016).

En nuestras muestras, tanto durante el compostaje como el vermicompostaje, el cociente C/N disminuyó y los productos maduros finales obtenidos de los residuos vegetales presentaron en todos los casos una relación C/N menor de 20. Durante el compostaje, la temperatura marca una influencia sobre las especies pues la diversidad bacteriana puede cambiar por un considerable aumento de la temperatura (Tortosa *et al.*, 2017).

Según números autores, las *Proteobacterias* son el filo bacteriano más abundante en compost o vermicomposts aeróbicos obtenidos a partir de algunos residuos agrícolas, lodos de aguas residuales, hojas de coco o estiércol de vaca (Danon *et al.*, 2008; Martín-Cuadrado *et al.*, 2007; Vivas *et al.*, 2008; Mori *et al.*, 2008; Marschner *et al.*, 2011; Aira *et al.*, 2016; Gopal *et al.*, 2017). Las *Proteobacterias* son escasamente afectadas por la temperatura, aunque con un cierto predominio respecto a la mayor exigencia de humedad, siendo abundantes en el compostaje y vermicompostaje de maíz. También *Cloroflexia* se encuentra en un 10% en las muestras. *Acidobacteria* es frecuente y está representada en todas ellas. *Chlamidia*, *Scharibacteria* y *Verrucobacteria* son más abundantes en los compost, destacando su abundancia en los procedentes de residuos de cítricos.

El análisis de la biota realizado por separado del compost y vermicompost para el reino *bacteria* nos indica que el género *Cytophacaceae* está presente en los vermicompost especialmente en el de cítrico e higuera, siendo predominante el filo *Acidobacteria* en el residuo de maíz, mientras que *Staphylococo* sólo está presente en el vermicompost de cítrico. Y el filo *Bacillaceae* se encuentra mayoritariamente tanto en vermicompost de maíz como de higuera.

Al igual que ocurría en el vermicompost el filo mayoritario en el compost es *Plantomycetaceae*, coincidiendo también la abundancia de *Cytophaceae* en los tres tipos de compost. En todos los compost, el género *Comomonaceae* es uno de los que siguen en abundancia.

En el caso de los hongos, *Microascua* está presente en todos los géneros encontrados, principalmente en los vermicompost y también es elevado en el compost de cítricos frente al resto de compost. *Aspergillus* y *Graphium* predomina en los residuos transformados de higuera tanto en el compost como en el vermicompost, ambos tipos de hongos están presentes en residuos lignificados como es el caso de los residuos procedentes de higuera que son aquellos donde existe mayor a cantidad de lignina.

Basidiomycota y *Ascomycota* también se encuentran en todos los residuos transformados y especialmente en el vermicompost de maíz. Y, especies de hongos resistentes a la temperatura como *Microascus* se asocian con los procesos de compostaje y especialmente en el compost de cítrico y de higuera, al igual que ocurre con *Graphium* predominante en el compost de higuera. Mientras que *Aspergillus* y *Citopilus* son más abundantes en vermicompostaje (VH y VC).

Autores como Wang *et al.*, (2018), indican que aquellos factores ambientales primarios que afectan a una determinada especie, pueden ser identificados como un potencial control de la diversidad bacteriana.

Las abundancias de taxones microbianos y por lo tanto las estructuras comunitarias bacterianas y fúngicas difieren entre vermicompost y compost. La calidad del producto obtenido a partir de residuos agrícolas fue mayor con vermicompost que con compost, resultados que están de acuerdo con los obtenidos por Cai *et al.*, (2018); Hanajima *et al.*, (2011).

Lu *et al.*, (2009) realizaron un análisis comparativo del compostaje y el vermicompostaje de lodos de aguas residuales y estiércol de ganado. Encontraron un aumento en la diversidad bacteriana durante el vermicompostaje, similar al visto por Huang *et al.*, (2014) y Cai *et al.*, (2018), observando una mayor riqueza bacteriana y diversidad en el vermicompost que en las muestras de compost a lo largo del proceso de vermicompostaje de residuos verdes.

Las secuencias obtenidas tanto del compost como vermicompost pertenecían principalmente a los filos *Actinobacterias* y *Firmicutes*. Pero el vermicompost estaba dominado por bacterias relacionadas con *Cloroflexis*, *Acidobacterias*, *Bacteroidetes*. La especificidad y consistencia de las comunidades bacterianas que habitan los materiales de

compost sugieren que el análisis de la comunidad bacteriana es un indicador potencialmente útil para caracterizar la calidad de los compost (Gill *et al.*, 2006; Giuntini *et al.*, 2006; Girardi *et al.*, 2011; Gómez-Brando *et al.*, 2011; Gómez- Brando *et al.*, 2012).

Otro aspecto derivado de la frecuencia y abundancia de bacterias son algunos efectos supresivos que pueden también ser asociados a ciertas bacterias, que han sido identificadas genómicamente en estudios de Metacontrol (Van Elsas, 2008, Van Elsas *et al.*, 2010).

4.3. Estudios de supresividad de los productos obtenidos

En los últimos años existe un gran interés en la búsqueda de alternativas al control químico para la supresión de fitopatógenos. Por ello, continuamente se ensayan diferentes extractos, mezclas o esencias, entre otros productos naturales. No obstante, es difícil sustituir a los pesticidas químicos por estos productos derivados de vegetales u otros productos naturales, en ocasiones por la dificultad de extraer volúmenes suficientes para su comercialización y en otras por su baja actividad supresiva (Avilés, *et al.*, 1999; Aryantha *et al.*, 2000; Anastasi *et al.*, 2005; Armirante *et al.*, 2006; Bailey *et al.*, 2003).

En nuestro caso, fueron seleccionados para el estudio las especies *Xanthomonas campestris* y *Fusarium oxysporum*, principalmente por su frecuente abundancia en plagas y por su facilidad de aislamiento.

La Figura 4.3.1 muestra los resultados obtenidos. Tanto en los extractos de compost como los de vermicompost de Lavanda, Tomillo y Romero han presentado un elevado efecto supresivo. Entre los componentes presentes en sus extractos vegetales, se encuentran el timol y el carvacrol, ambos están presentes en concentraciones elevadas y han demostrado ser efectivos tanto sobre los hongos como sobre bacterias (Barrera *et al.*, 2006; Barrera *et al.*, 2008; Barrera *et al.*, 2009). La bibliografía consultada confirma que el timol posee efectos inhibitorios sobre bacterias y hongos (Delgado *et al.*, 2002).

El aceite esencial de Tomillo posee una proporción elevada de timol (51,34%) y de carvacrol (3,52%), posible causa de su efecto supresivo significativo tanto en los extractos de compost como de vermicompost (Cosentio, *et al.*, 1999; Marques-Calvo *et al.*, 2017; Mucciarelli *et al.*, 2001; Markakis *et al.*, 2015). El extracto de romero también produce inhibición del crecimiento sobre el hongo *Fusarium* y sobre *Xantomonas*.

En los extractos de limonero existen un 2% de sustancias no volátiles (alcohol, aldehídos, ésteres, cetonas, ácidos, e hidrocarburos). Su esencia presenta un 63 % de limoneno, 12 % beta-pineno, 9 % gama-terpineno así como: 1,5 % geranial, el linalol, geranil, citronela y geranial, causantes de su actividad supresiva sobre hongos y bacterias estudiados.

La gran variedad de componentes hace difícil la identificación del principal causante, por lo que habría que realizar un estudio de dichos compuestos aislados para determinar el papel individual. A pesar de ello, la bibliografía identifica elevada actividad antifúngica en experiencias con los compuestos de citral, geraniol, linalol y citronela presentes en las plantas utilizadas (Barrera *et al.*, 2008).

Tabla 4.3.1. Tipos de materiales citados en la bibliografía para compostar y el patógeno al que afectan. Fuente: <http://revistas.um.es/agroecologia/article/view/20/8>

Material Compostado	Patógeno	Referencia
Corteza de frondosas	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	Hoitink <i>et al.</i> , 1977 Sivasithamparam, 1981 Spencer & Benson, 1981, 1982 Blaker & MacDonald, 1983 Hardy & Sivasithamparam, 1991
	<i>Phytophthora citricola</i>	Spencer & Benson, 1981 Hardy & Sivasithamparam 1991
	<i>Phytophthora drechleri</i>	Hardy & Sivasithamparam, 1991
	<i>Phytophthora nicotiana evar.nicotianae</i>	Hardy & Sivasithamparam 1991
	<i>Pythium ultimum</i>	Daft <i>et al.</i> , 1979 Chen <i>et al.</i> , 1987 Chen <i>et al.</i> , 1988
	<i>Rhizoctonia solani</i>	Draft <i>et al.</i> , 1979 Stephens <i>et al.</i> , 1981 Nelson & Hoitink, 1982-1983 Kuter <i>et al.</i> , 1983 Stephens & Stebbins, 1985
	<i>Fusarium oxysporum</i>	Chef <i>et al.</i> , 1983 Cebolla & Pera 1983 Trillas-Gay <i>et al.</i> , 1986 Hoitink <i>et al.</i> , 1991
Corteza de pino	<i>Nemátodos</i>	Malek & Gartner, 1975 McSorley & Gallear 1995
	<i>Phytophthora spp</i>	Sivasithamparam, 1981 Spencer & Benson, 1981, 1982
	<i>Pythium spp</i>	Gugino <i>et al.</i> , 1973 Zhang <i>et al.</i> , 1996
Orujo de uva	<i>Fusarium oxysporum</i>	Chef <i>et al.</i> , 1973 Couteadieur <i>et al.</i> , 1987 Pera & Calvet, 1989
	<i>Pythium aphanidermathum</i>	Mandelbaum <i>et al.</i> , 1988
	<i>Rhizoctonia solani</i>	Gorodecki & Hadar, 1990
Orujo de aceituna	<i>Slclerotium rolfsii</i>	Hadar & Gorodecki, 1991
Lodos de depuradora	<i>Fusarium oxysporum f.sp.dianthi</i>	Pera Calvet, 1989
Residuos urbanos	<i>Pythium spp.</i>	Lumsden <i>et al.</i> , 1983
Estiércol de ganado	<i>Rhizoctonia spp</i>	Mathot 1987
	<i>Pythiuma phanidermatum</i>	Mandelbaum <i>et al.</i> , 1988 Mandelbaum & Hadar 1990
	<i>Phytophthora nicotiana evar</i>	Szcaech <i>et al.</i> , 1993
	<i>Rhizoctonia solani</i>	Gorodecki & Hadar, 1990
	<i>Sclerotium rolfsii</i>	Gorodecki & Hadar, 1990
	<i>Fusarium oxysporum</i>	Garibaldi, 1988 Szczech <i>et al.</i> , 1933
	Lodo industria cerveza	<i>Pythium graminicola</i>
Residuos raíz regaliz	<i>Pythium aphanidermatum</i>	Hadar & Mandelbaum, 1988

Los extractos de lavanda muestran en nuestro estudio un efecto supresivo contra *Fusarium*, posiblemente debido a dos componentes que destacan por su proporción, el acetato de linalilo y el ocimeno, ambos poseen actividad antimicrobiana (Ara, 1997; Lacey *et al.*, 1999; Bhaskara *et al.*, 1998; Bedman *et al.*, 2006; Bakkalia *et al.*, 2008; Borella *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2013).

Se cita en numerosas ocasiones el potencial añadido del vermicompost como agente biosupresor al incrementar la diversidad microbiana (Alvarez-Martin *et al.*, 2016). Cuando se añade a un medio aumentan los microorganismos que actúan como agentes de biocontrol contra algunas plagas en las plantas. Además, el vermicompost es una fuente de nutrientes de liberación lenta, y su aplicación sobre la planta puede aumentar la producción de compuestos fenólicos en la misma, haciéndola más resistente a la invasión por parásitos y microorganismos. Algunos autores han encontrado correlación entre el contenido de fenoles de algunos extractos frente a bacterias como *S. aureus* y *Salmonella spp*, siempre a altas concentraciones. A esto se le une en ocasiones el poder antioxidante dada la capacidad algunos extractos para capturar radicales libres (Tabla 3.2).

Parece ser que el compost y vermicompost tienen un papel importante como bioplaguicidas, aunque no se conocen exactamente los factores desencadenantes de este efecto supresivo y sus relaciones con los compuestos de origen, de la especie de lombriz de tierra y del proceso de vermicompostaje (Domínguez *et al.*, 2004). Autores como Bulluck *et al.*, (2002) observaron que tras la adición de diferentes tipos de compost al suelo, se aumentaba la abundancia de microorganismos beneficiosos para el crecimiento vegetal, reduciéndose el número de microorganismos patógenos, aumentando la actividad biológica de los ácidos húmicos extraídos del suelo con efectos hormonales similares a los de las giberelinas sobre algunas plantas, y disminuía la incidencia de enfermedades producidas por hongos (Bonanomi *et al.*, 2007; Nakamura *et al.*, 2008; Nakamura, 2018).

Nakamura (2008) estudió las propiedades bioplaguicidas de los vermicompost contra *Plasmidiophora brassicae*, *Phytophthora nicotianae* y *Fusarium lycopersici*, hongos patogénicos que causan podredumbre en los cultivos de tomate. Orlikowski (1999) observó una reducción en la esporulación del patógeno *Phytophthora cryptogea* tras la adición de vermicompost, y Nakamura *et al.* (2008), utilizando extractos acuosos de vermicompost, observaron una inhibición en el crecimiento del micelio de hongos patogénicos como *Fusarium oxysporum* y otras especies. Otros estudios en planta (Lodha *et al.*, 2002; Lorenzo *et al.*, 2010; Lebeau *et al.*, 2016), sobre la adición de vermicomposts de residuos ganaderos a semillas de tomate muestran disminución de la infección causada por *Fusarium lycopersici*

(Szczecz, 1999) y *Phytophthora nicotianae* (Szczecz y Smolinska, 2001; Backhouse *et al.*, 2001); sin embargo, no encontraron diferencias significativas en la supresión de *Phytophthora nicotianae* cuando utilizaron vermicomposts obtenidos de lodos residuales (Vane *et al.*, 2006).

Hashem *et al.*, (2010) demostraron la supresión de hongos fitopatógenos del suelo en compostas de desechos orgánicos, y su efectividad en la supresión de *Pythium spp.* y *Rhizoctonia solani*, utilizando composta preparada con desechos orgánicos como corteza de madera madura, estiércol de vaca, y lodos activados (Chen *et al.*, 1988; Hoitink *et al.*, 1997). Chaoni *et al.*, (2003) muestran que la aplicación de vermicompost suprime las enfermedades de plantas como por ejemplo *Phytophthora*, *Fusarium*, y *Plasmodiophora* en tomate y calabaza, *Pythium* y *Rhizoctonia* en pepino y rábano, y *Verticillium* en fresa.

Craft y Nelson (1996) y Fisher *et al.*, (2006) encontraron que el compost preparado de diferentes materiales base puede ser supresor de *Pythium graminicola* en áreas de pastos.

Los extractos de vermicompost de distintos residuos orgánicos (estiércol de vaca, purín de cerdo, restos de comida y residuos de la industria papelera) son bioplaguicidas contra los parásitos vegetales *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Plectosporium* y *Verticillium*, (Arancon *et al.*, 2007a). Los mecanismos de supresión específica por el vermicompost no se conocen bien por lo que el papel bioplaguicida de los vermicompost suele explicarse por el mecanismo de supresión general (Dominguez *et al.*, 2010a), al incrementar la diversidad de los microorganismos y de la fauna del suelo (Boulter, *et al.*, 2002a; Boulter, *et al.*, 2002b; Gunadi *et al.*, 2002; Fernandez- Gómez *et al.*, 2011). La tabla 4.3.1 recoge numerosa información sobre estudios realizados con diferentes residuos y su actividad sobre diversos patógenos como hongos, nematodos, etc. Los hongos como *Fusarium* han sido estudiados en numerosas ocasiones para valorar el efecto supresivo de compuestos o sustratos como compost, fangos de depuradora, estiércol y diferentes residuos (Ortega *et al.*, 1990; Rjendran *et al.*, 1996; Macías *et al.*, 2004; Macías *et al.*, 2000; Noble *et al.*, 2005; Maguna *et al.*, 2006; Mahuku *et al.*, 2006; Ortuo *et al.* 2006; Macias *et al.*, 2007; Malandraki *et al.*, 2008; Maalink *et al.*, 2008; Manoel *et al.*, 2009; Rodriguez, *et al.*, 2001; Dambolena *et al.*, 2012; Rodriguez-Rodriguez *et al.*, 2012; Santamarina *et al.*, 2013; Sumalan *et al.* 2013; Quian *et al.*, 2016; Maghania *et al.*, 2017).

Los resultados de la efectividad supresiva de los compost y vermicompost se muestran en la Figura 4.3.1. Los compost y vermicompost aplicados al suelo tienen utilidad en el control biológico de enfermedades de plantas, tal y como lo han demostrado diferentes autores (Benitez *et al.*, 1996; Craft *et al.*, 1996; Hooiting *et al.*, 1997; Baskara *et al.*, 1998; Hoitink y Boehm, 2001; Benitez *et al.*, 2002; Boulter *et al.*, 2002; Noble *et al.*, 2005; Danon *et al.*, 2008;

Bhat *et al.*, 2018). La supresividad es atribuida a los microorganismos que habitan en los sustratos utilizados, así como a los compuestos presentes. Los primeros inhiben el crecimiento de patógenos mediante antagonismo y en el segundo caso la inhibición está supeditada a la presencia de ciertos compuestos tóxicos para su desarrollo (Van Os *et al.*, 2001; Velluti *et al.*, 2003; Vergis *et al.*, 2015; Van Elsas *et al.*, 2008; Van Elsas *et al.*, 2010). Posiblemente nuestros residuos transformados pueden introducir agentes de biocontrol al suelo y mejorar el desarrollo vegetal.

La supresión biológica por medio del compost involucra mecanismos de antagonismo directo como la competencia (Anastasi *et al.*, 2005a; Anastasi *et al.*, 2005b), ocasionando efectos directos sobre el control de microorganismos (Block, D. 1997; Suárez-Estrella, *et al.*, 2007; Malandraki, *et al.*, 2008; Bailey, 2016; De Corato *et al.*, 2016; Suárez-Estrella, *et al.*, 2014). Como resumen podemos indicar que la mayor parte de los compost y vermicompost estudiados presentaron efectos supresivos sobre la bacteria *Xanthomonas campestris* spp., concretamente los extractos de compost y vermicompost de romero, tomillo, lavanda fueron los más efectivos, presentando elevada inhibición tanto sobre *Fusarium* como en *Xanthomonas campestris*.

Los efectos supresivos de los compost obtenidos sobre *Fusarium* son:

El compost de limonero, presentó una elevada inhibición del desarrollo sobre *Fusarium*, mientras que los compost de higuera, arroz y naranjo presentan un efecto moderado de inhibición. En la bibliografía consultada existen evidencias sobre el papel antimicrobiano de los subproductos de cítricos (Oyarzabal *et al.*, 2007; Hosni *et al.*, 2010).

Existen investigaciones del efecto antimicrobiano del linalol (Maguna *et al.*, 2006), y a pesar de que el aceite esencial de la hoja de higuera posee entre sus componentes linalol, en los resultados no se aprecian evidencias de su efecto supresivo.

Entre los extractos de vermicompost con elevado efecto supresivo, se encuentran igualmente los obtenidos a partir de plantas aromáticas de tomillo, lavanda y romero. Con efecto moderado encontramos los obtenidos de cítrico (naranja y limonero), maíz y arroz. No presentándose inhibición sobre *Fusarium* en los vermicompost de higuera y olivo (Trillas *et al.*, 1986; Handelsman *et al.*, 2004; Arancon *et al.*, 2005b; Ebrahimi *et al.*, 2018; Ebrahimi *et al.*, 2020) (Figura 4.3.1).


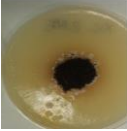


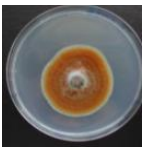

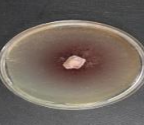



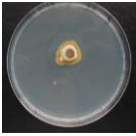






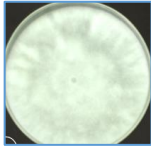

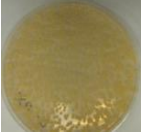

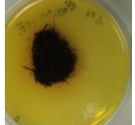

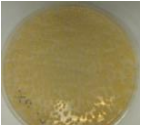
Tipo extracto de	Inhibición <i>Fusarium</i>	Inhibición <i>Xanthomonas</i>	Inhibición <i>Fusarium</i>	Inhibición <i>Xanthomonas</i>	Tipo de Extracto
Compost romero	Elevado Positivo 	Elevado Positivo 	Elevado Positivo 	Elevado Positivo 	Vermicompost romero
Compost lavanda	Elevado Positivo 	Elevado Positivo 	Elevado Positivo 	Elevado Positivo 	Vermicompost lavanda
Compost tomillo	Elevado Positivo 	Elevado Positivo 	Elevado Positivo 	Elevado Positivo 	Vermicompost tomillo
Compost arroz	Moderado Positivo 	Elevado Positivo 	Moderado Positivo 	Moderado Positivo 	Vermicompost arroz
Compost higuera	Moderado Positivo 	Negativo 	Negativo 	Negativo 	Vermicompost higuera
Compost olivo	Negativo 	Elevado Positivo 	Negativo 	Negativo 	Vermicompost olivo

Figura 4.3.1. Resultados del efecto de inhibición de los compost y vermicompost estudiados





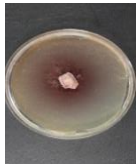
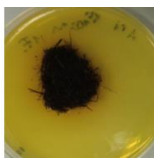

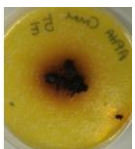




Tipo de extracto	Inhibición <i>Fusarium</i>	Inhibición <i>Xanthomonas</i>	Inhibición <i>Fusarium</i>	Inhibición <i>Xanthomonas</i>	Tipo de Extracto
Compost maíz	Negativo 	Moderado Positivo 	Moderado Positivo 	Elevado Positivo 	Vermicompost maíz
Compost limonero	Elevado Positivo 	Elevado Positivo 	Moderado Positivo 	Elevado Positivo 	Vermicompost limonero
Compost cítrico	Moderado Positivo 	Elevado Positivo 	Moderado Positivo 	Elevado Positivo 	Vermicompost cítrico

Figura 4.3.1 (cont.). Resultados del efecto de inhibición de los compost y vermicompost estudiados

Entre los extractos de compost que han aportado un elevado efecto supresivo sobre *Xanthomonas campestris*, se encuentran: los compost de arroz, limonero, naranjo y olivo. Existen estudios sobre la actividad antimicrobiana del extracto de hoja de olivo contra patógenos bacterianos de origen alimentario (Reuveni *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2004; Albuquerque *et al.*, 2006, Markakis *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2017). Entre los extractos de compost con efecto moderado tenemos el de maíz, mientras que los resultados fueron negativos para el extracto obtenido de compost de la higuera.

Para los extractos de vermicompost los resultados fueron similares con un efecto supresivo elevado para los extractos de vermicompost de maíz, naranjo y limonero. Un efecto moderado se ha obtenido en el caso del extracto de vermicompost de arroz, mientras que los resultados fueron negativos para los de higuera y olivo. La bibliografía muestra gran actividad antibacteriana del vermicompost de cítrico contra cepas Gram positivas (Dabbah *et al.*, 1997). Los aceites esenciales de los cítricos (naranja, limón) también se citan como inhibidores del desarrollo de microorganismos como *Aspergillus flavus* (Burt *et al.*, 2003; Albuquerque *et al.*, 2006; Yardín *et al.*, 2006; Barrera *et al.*, 2009; Alidadi *et al.*, 2016). Igualmente existen evidencias sobre el papel antimicrobiano de los subproductos de cítricos (Dabban *et al.*, 1970; Dominguez *et al.*, 2003; Oyarzabal *et al.*, 2007; De Vuyst *et al.*, 2007; Di Vaio *et al.*, 2010).

Los fenoles y alcaloides que son específicamente responsables de la toxicidad y alelopatía de la *ipomoea*, fueron significativamente degradados en el curso de su vermicompostaje, convirtiéndola en un fertilizante orgánico apto para plantas.

En general, los compost tienen un efecto positivo sobre la supresión en gran número de patógenos, aunque autores como Termorshuizen *et al.*, (2006) indican que en raras ocasiones pueden tener un efecto estimulante de la enfermedad de *Fusarium*, siendo en general supresivo sobre diversas poblaciones de hongos (Arancón *et al.*, 2007a; Arancón *et al.*, 2007b; Hashem *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2008). Autores como Hussain *et al.*, (2018) indican que los fenoles y alcaloides, que son específicamente responsables de la toxicidad, disminuyen tras el vermicompostaje.

4.4. Aplicación de los productos para su utilización como sustratos: efecto de los compost y vermicompost sobre el desarrollo de plantas aromáticas

Existen gran cantidad de estudios en los que se constata la utilidad del compost y vermicompost elaborados con distintos residuos como potencial fertilizante, para su utilización en el desarrollo vegetal de cultivos agrícolas (Abad *et al.*, 1991; Abad *et al.*, 1992; Abad *et al.*, 1997; Sánchez-Monedero *et al.*, 1997; Boixadera, 2001; García-Gómez, *et al.*, 2002; Mastouri *et al.*, 2005; Lazcano *et al.*, 2010; Shober *et al.*, 2011; Bernal, 2011; Kalandari *et al.*, 2011; Krucker *et al.*, 2010; Kukal *et al.*, 2012; Ansonera *et al.*, 2014; López *et al.*, 2015; Montesano *et al.*, 2014; Huerta *et al.*, 2015; Mazuela *et al.*, 2005; Pergola *et al.*, 2017; Gong *et al.*, 2018; Rekasi *et al.*, 2019). La valoración de la utilidad de los sustratos obtenidos se ha llevado a cabo desarrollando la experiencia descrita en el apartado de materiales y métodos sobre el desarrollo de plantas de lavanda, menta y romero crecidas sobre los compost y vermicompost obtenidos.

Las plantas recolectadas, lavadas y secadas se separan pesando por un lado la raíz y por otro la parte aérea, realizando la medida del área foliar, y evaluando la altura del tallo, ramificaciones, y el resto de parámetros mencionados en el apartado material y métodos (Figuras 4.4.1, 4.4.2, 4.4.3, 4.4.4, 4.4.5 y 4.4.6).

Existen gran cantidad de estudios en los que se constata la utilidad del compost y vermicompost elaborados con distintos residuos como potencial fertilizante, para su utilización en el desarrollo vegetal de cultivos agrícolas (Abad *et al.*, 1991; Abad *et al.*, 1992; Abad *et al.*, 1997; Sánchez-Monedero *et al.*, 1997; Boixadera, 2001; García-Gómez, *et al.*, 2002; Mastouri *et al.*, 2005; Lazcano *et al.*, 2010; Shober *et al.*, 2011; Bernal, 2011; Kalandari *et al.*, 2011; Krucker *et al.*, 2010; Kukal *et al.*, 2012; López *et al.*, 2015; Montesano *et al.*, 2014;

Huerta *et al.*, 2015; Mazuela *et al.*, 2005; Pergola *et al.*, 2017; Gong *et al.*, 2018; Rekasi *et al.*, 2019). La valoración de la utilidad de los sustratos obtenidos se ha llevado a cabo desarrollando la experiencia descrita en el apartado de materiales y métodos sobre el desarrollo de plantas de lavanda, menta y romero crecidas sobre los compost y vermicompost obtenidos (Ansonera *et al.*, 2014; .

Las plantas recolectadas, lavadas y secadas se separan pesando por un lado la raíz y por otro la parte aérea, realizando la medida del área foliar, y evaluando la altura del tallo, ramificaciones, y el resto de parámetros mencionados en el apartado material y métodos (Figuras 4.4.1., 4.4.2, 4.4.3, 4.4.4, 4.4.5 y 4.4.6).

4.4.1. Efectos sobre la morfología de la planta

Los resultados obtenidos indican diferencias morfológicas respecto al crecimiento en el cultivo de las plantas de *Lavandula officinalis*, *Mentha spicata* y *Rosmarinus officinalis* en función del sustrato utilizado. Si comparamos los pesos de las plantas en los diferentes tratamientos, observamos que los pesos de planta total más elevados se han obtenido para las plantas de *Rosmarinus officinalis* y *Lavandula officinalis*, y un menor desarrollo se obtuvo para la planta de *Mentha spicata*. Los pesos fueron superiores en aquellas plantas a las que se adicionó compost y vermicompost de cítrico y de maíz, siendo sobre el vermicompost de higuera donde se obtiene el menor desarrollo vegetal.

El aumento del peso de la planta en los tratamientos con vermicompost se citan en la literatura científica, donde se mencionan efectos positivos en el incremento en peso fresco y seco de plantas de hortalizas y otros cultivos fertilizados con vermicompost en comparación con el uso de compost obtenido de residuos (Arancón *et al.*, 2003; Atiyeh *et al.*, 2002; Chaoui *et al.*, 2003; Atiyeh *et al.*, 2005; Arancón *et al.*, 2007a; Abad *et al.*, 2007b; Abad *et al.*, 2009; Lazcano *et al.*, 2009; Tejeda *et al.*, 2011; Hernández *et al.*, 2010; Jouquet *et al.*, 2011; Fornés

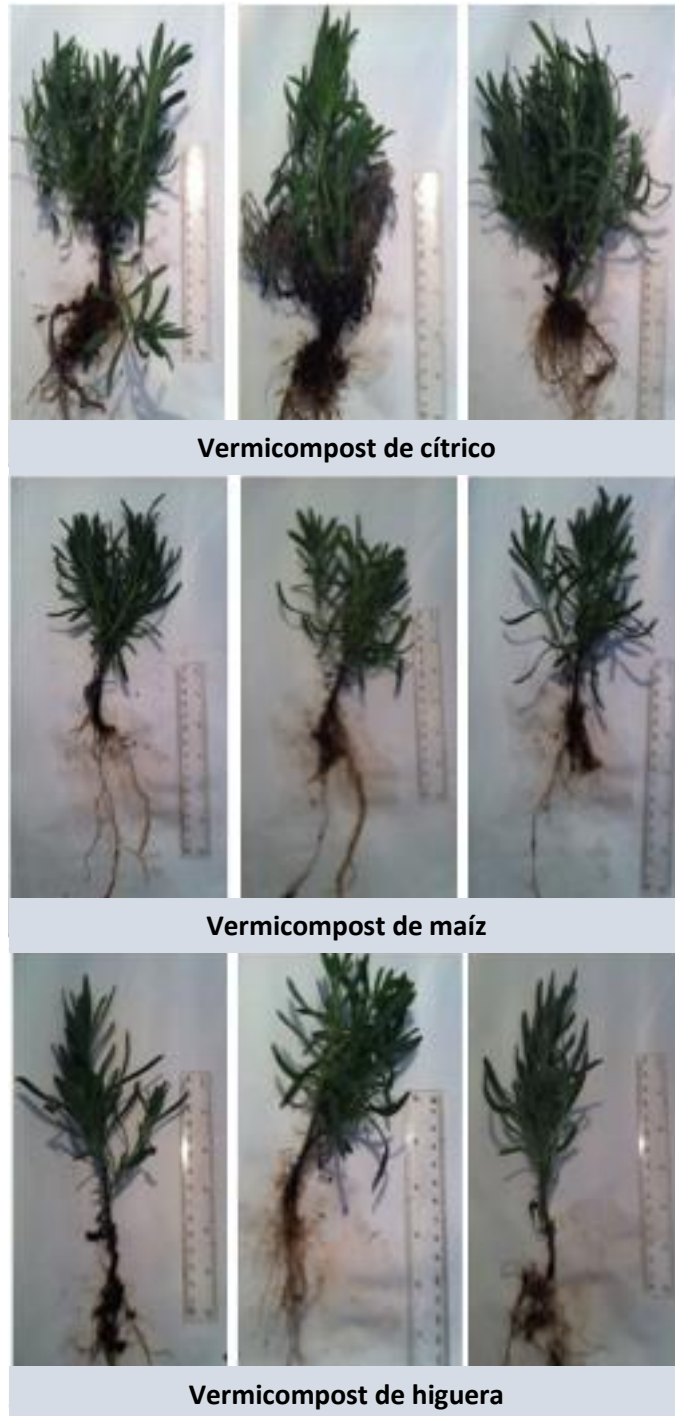


Figura 4.4.1. Medida de la parte aérea y raíces de las plantas de lavanda desarrolladas sobre los vermicompost

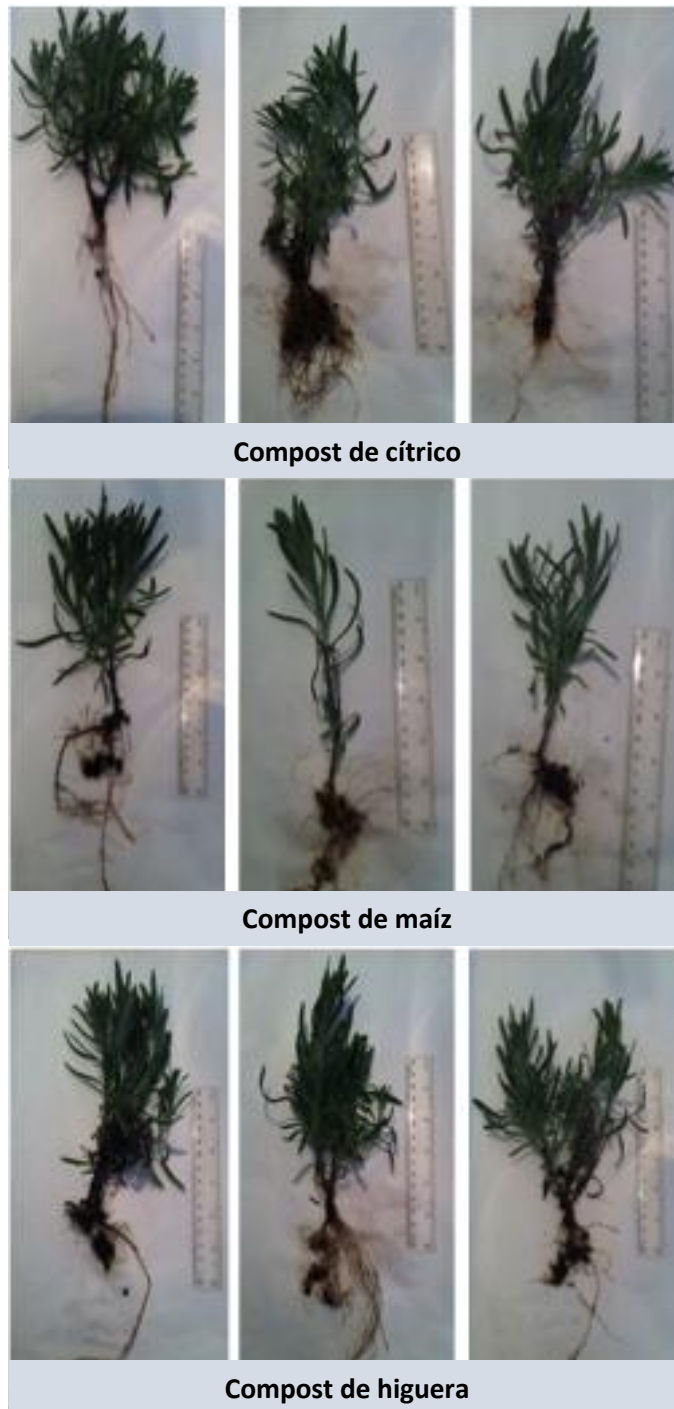


Figura 4.4.2. Medida de la parte aérea y raíces de las plantas de lavanda desarrolladas sobre los compost

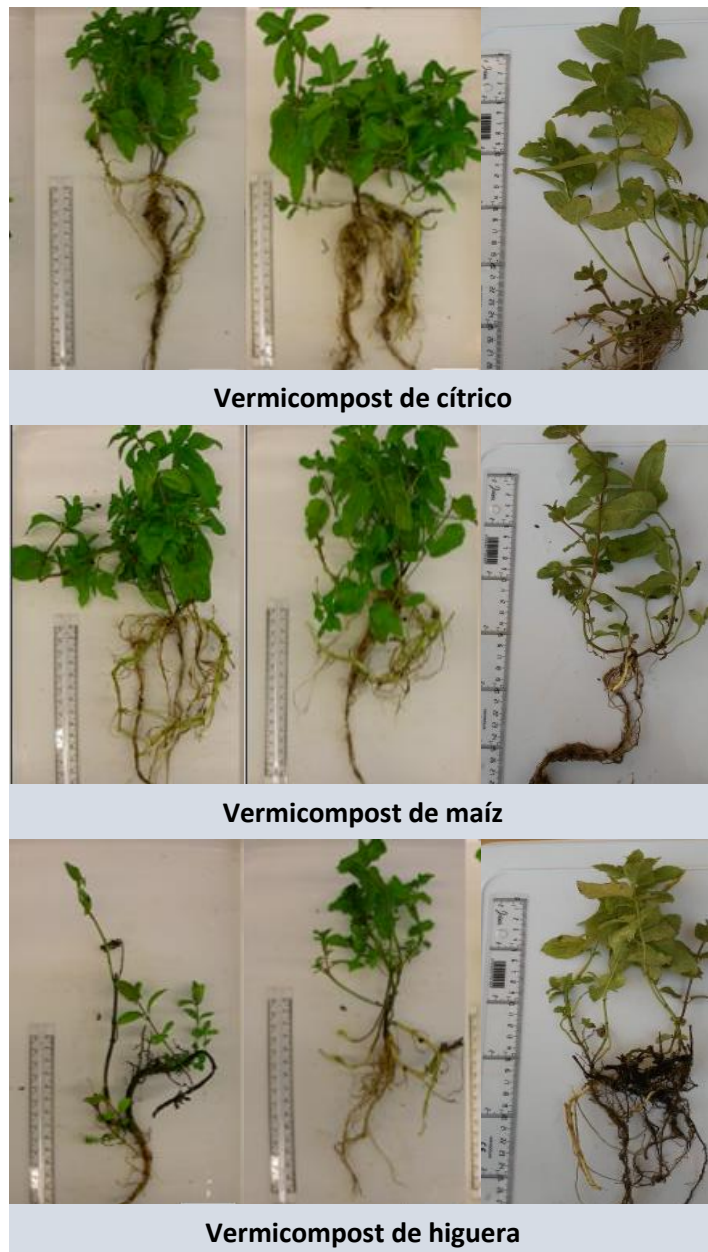


Figura 4.4.3. Medida de la parte aérea y raíces de las plantas de menta desarrolladas sobre los vermicompost

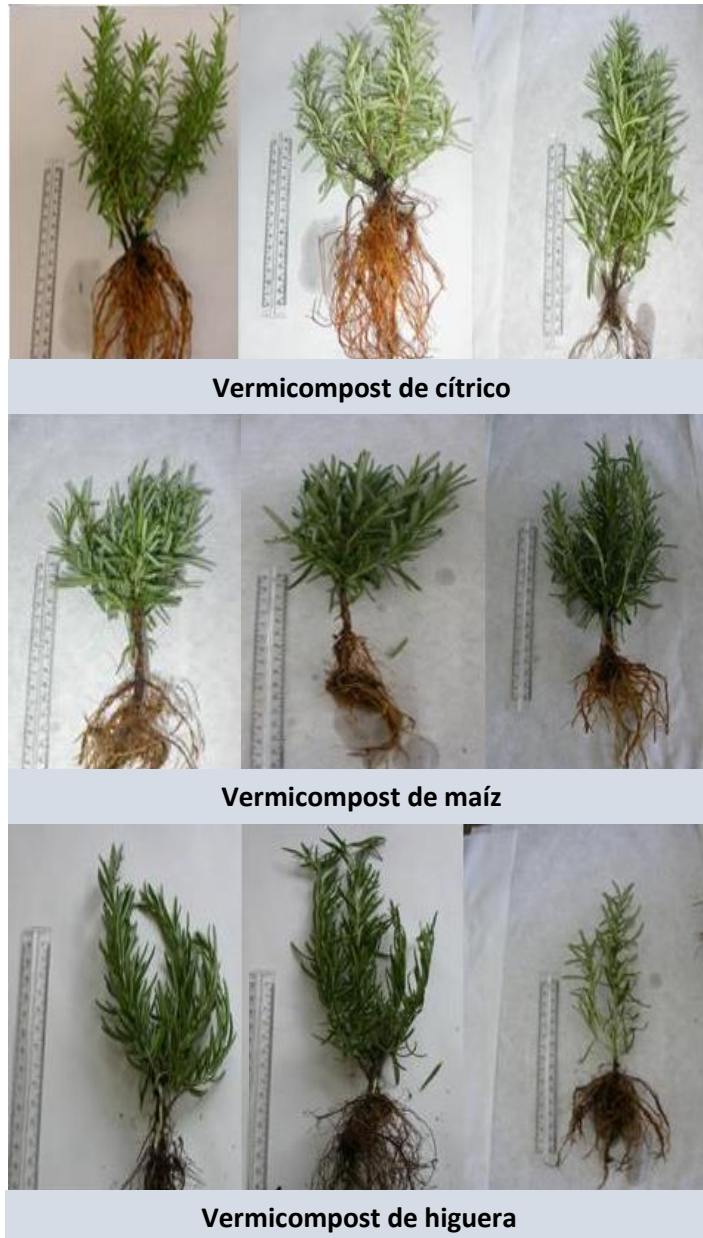


Figura 4.4.4. Medida de la parte aérea y raíces de las plantas de romero desarrolladas sobre los vermicompost de: VC: vermicompost de cítrico; VM: vermicompost de maíz; VH: vermicompost de higuera

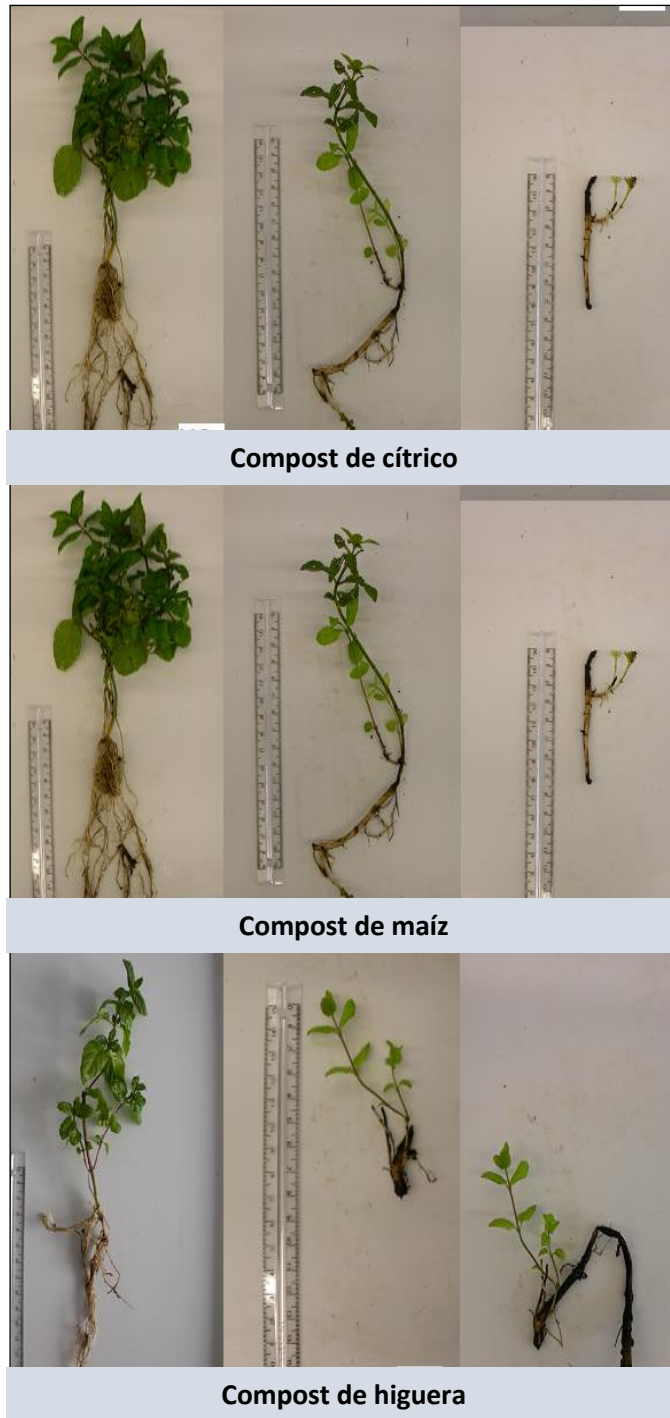


Figura 4.4.5. Medida de la parte aérea y raíces de las plantas de menta desarrolladas sobre los compost de CC: compost de cítrico; CM: compost de maíz; CH: compost de higuera

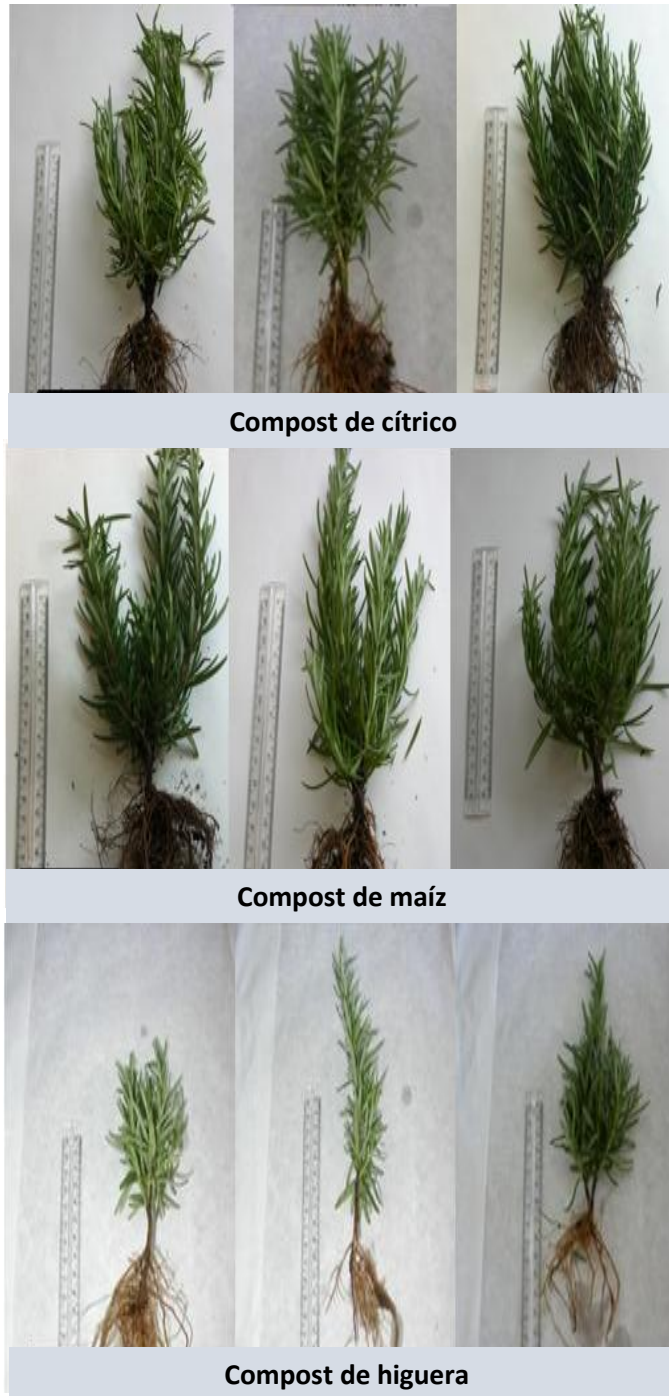


Figura 4.4.6. Medida de la parte aérea y raíces de las plantas de romero desarrolladas sobre los compost de CC: compost de cítrico; CM: compost de maíz; CH: compost de higuera

et al., 2013, Sofiadou, et al., 2013, Albuquerque, et al., 2009, Vecchieti, et al., 2013, Gong et al., 2018; Idrovo-Novillo et al., 2018; Saba et al., 2019).

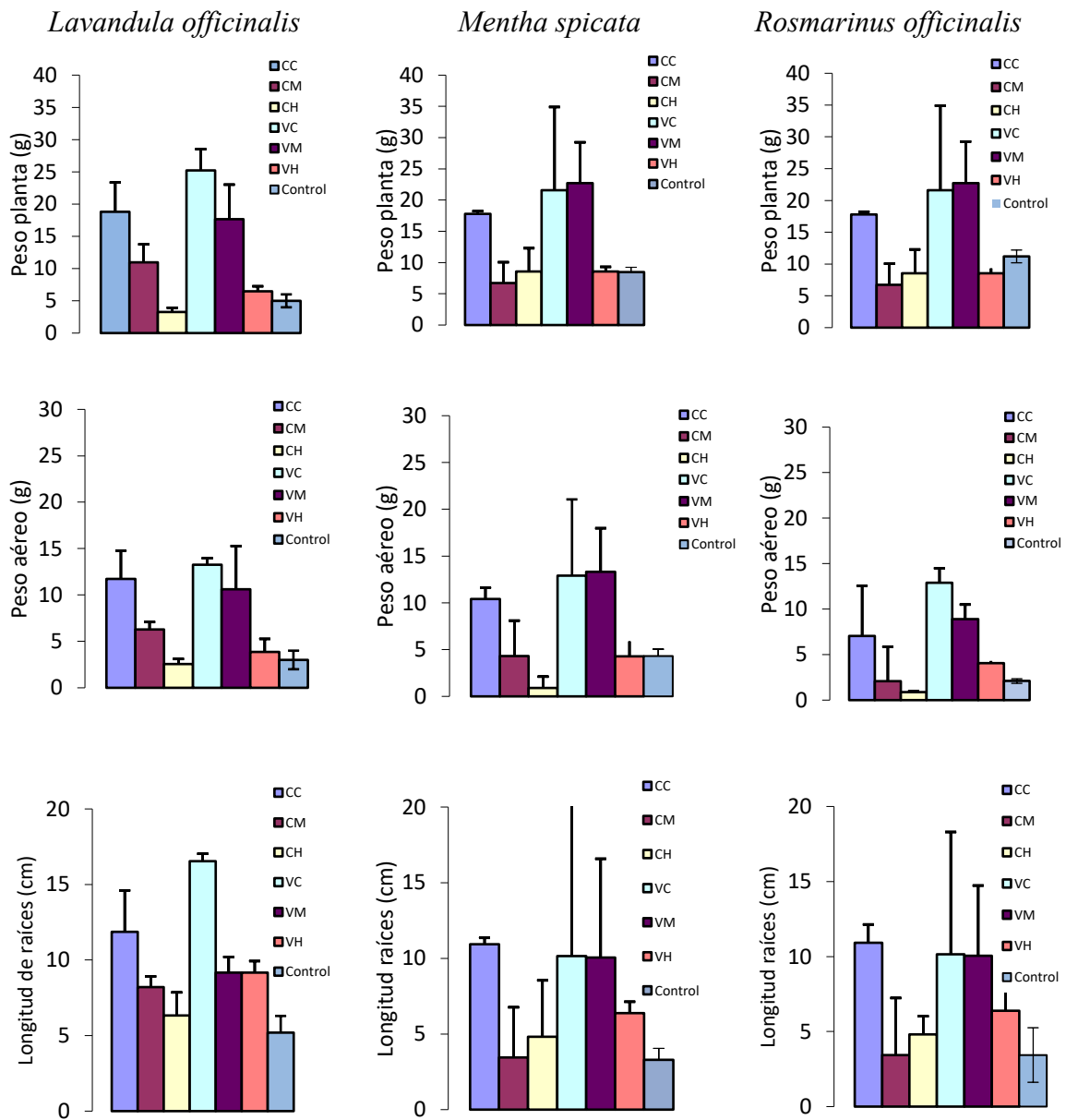


Figura 4.4.7. Valores medios de los índices de desarrollo vegetal (peso planta, peso aéreo, longitud de raíces) y desviaciones para las plantas estudiadas. CC compost de cítrico, CH compost de higuera, y CM compost de maíz; VC vermicompost de cítrico, VM vermicompost de maíz, VH vermicompost de higuera, C control

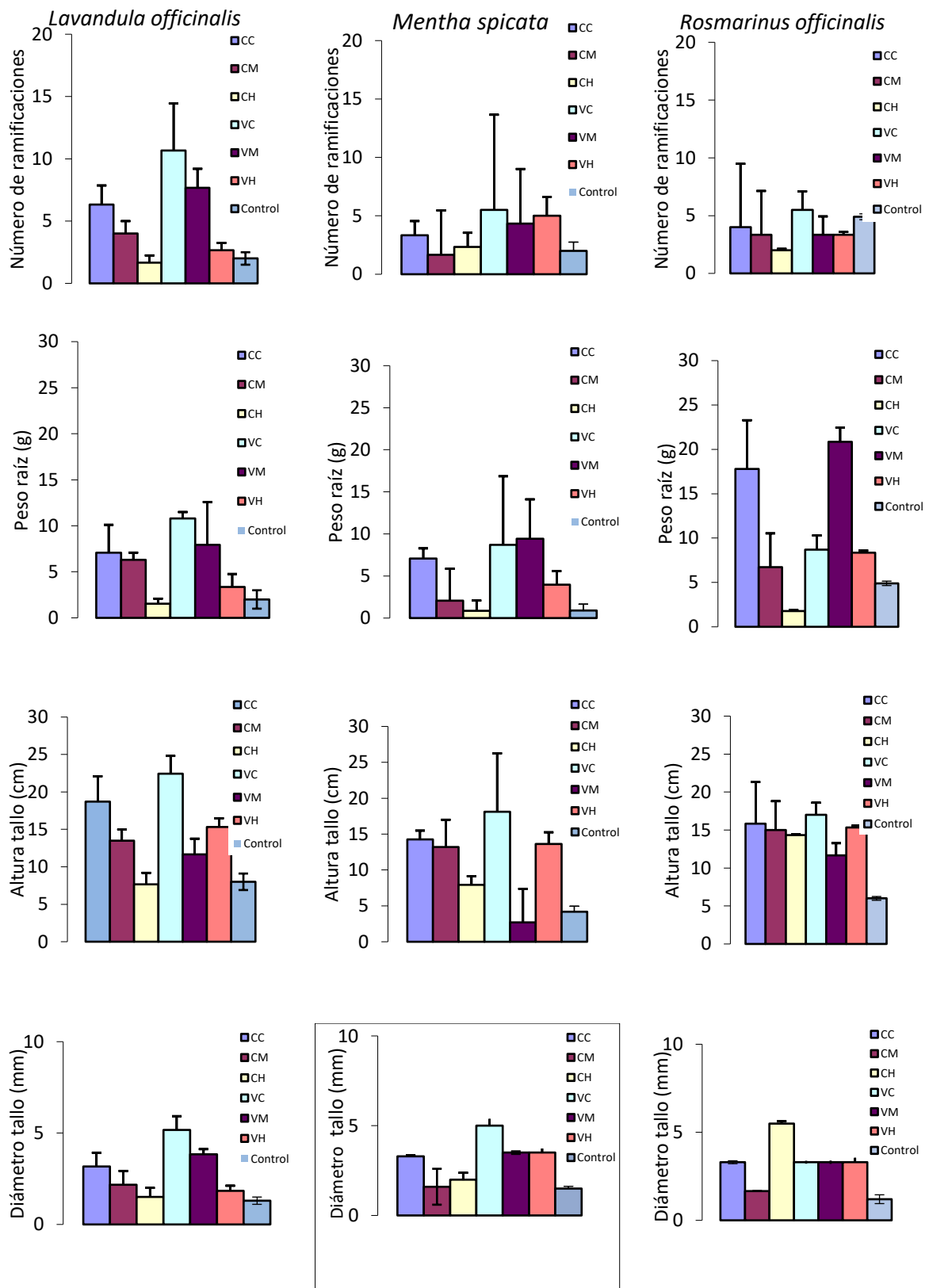


Figura 4.4.7 (cont). Valores medios de los índices de desarrollo vegetal (número de ramificaciones, peso raíz, altura tallo, diámetro tallo) y desviaciones para las plantas estudiadas. CC compost de cítrico, CH compost de higuera, y CM compost de maíz; VC vermicompost de cítrico, VM vermicompost de maíz, VH vermicompost de higuera, C control

Nuestros resultados mostraron que el desarrollo de la parte aérea de las plantas sigue una pauta similar al de la planta total, y a excepción de la planta de *Lavandula officinalis* sobre el residuo de higuera donde en todos los casos el peso fue inferior, especialmente para la planta adicionada con compost de higuera. Los pesos aéreos fueron siempre superiores en las plantas adicionadas de vermicompost y este peso fue bastante similar en las plantas de las tres especies adicionadas de vermicompost de cítrico y maíz. El desarrollo de la parte aérea fue en general bastante más elevado en las plantas donde se realizó la adición de vermicompost (Figura 4.4.1), resultados similares fueron obtenidos por Abad *et al.*, (2001), Abad *et al.*, (2006), Atiyeh *et al.*, (2000).

Los estudios de Kalantari *et al.*, (2011) apoyan este hecho indicando que el compost produce menos biomasa seca en comparación con vermicompost.

La altura del tallo y su diámetro fue más elevada en vermicompostaje en especial en las plantas de romero desarrolladas sobre vermicompost de cítrico, frente a compostaje, a excepción de las plantas desarrollada sobre el residuo de maíz que se desenvuelven mejor en sustratos adicionados de compost.

En el número de ramificaciones de las plantas sobre los distintos sustratos se observó que, en general, las plantas desarrolladas sobre vermicompost alcanzaron mayor número de ramificaciones, resultados similares fueron obtenidos por Mendoza *et al.*, (2014) y Doan *et al.*, (2013). Nuestros resultados mostraron de nuevo en la planta sobre el sustrato de cítrico los valores más altos para este parámetro.

Respecto al peso de las raíces de las plantas se observó, que las plantas desarrolladas sobre vermicompost alcanzaron en general mayor peso de la raíz y mayor desarrollo de estas. Entre los sustratos utilizados, los de cítrico y maíz fueron el que en mayor medida mejoró el peso de la raíz. Existen escasas diferencias entre los resultados sobre los vermicompost de higuera y maíz.

La longitud de las raíces siguió una pauta similar a su peso, con raíces más largas en las plantas que se desarrollaron sobre el sustrato vermicompostado frente al compostado. Continúa siendo la planta desarrollada sobre el sustrato de cítrico en ambos tratamientos la que presenta mayor desarrollo radicular. Los valores de desviación obtenidos fueron ligeramente superiores en los vermicompost.

En general, podemos afirmar que los resultados sobre el estudio del cultivo de las plantas aromáticas realizado en recipientes en condiciones controladas utilizando compost y vermicompost obtenido con los residuos de cítrico, maíz e higuera muestran los mejores resultados de los parámetros valorados para las plantas desarrolladas sobre vermicompost,

obteniendo en la mayor parte de los parámetros analizados mejores resultados en el desarrollo sobre el sustrato de residuo de cítrico.

Autores como Misra *et al.*, (2019), observaron que la productividad de los cultivos podría mejorarse mediante la inclusión de cultivos seleccionados y estiércol orgánico en los sistemas de cultivo. Ebrahimi *et al.*, (2018) investigaron diferentes métodos de aplicación del vermicompost (VC), con el objetivo de mejorar el rendimiento en la producción de tomate orgánico y disminuir la cantidad de fertilizante requerido, la adición aumentó los rendimientos del cultivo, la ingesta de nutrientes y su eficiencia en la producción de tomate orgánico.

El estudio del área foliar se realizó únicamente para las plantas de menta, dado que en las plantas del romero y lavanda visualmente existía poca diferencia tras los tratamientos en este parámetro.

En el estudio del área foliar de las plantas de menta se muestran una tendencia similar a los resultados en apartados anteriores. Los valores de este parámetro en vermicompostaje fueron más elevados para todos los casos respecto a los obtenidos por compostaje de residuos. Comparando diferencias entre residuos vemos que en ambos tratamientos el residuo de cítrico presentó los valores más elevados de área foliar. Doblándose estos valores en el caso de vermicompostaje.

Las diferencias más acusadas fueron para el residuo de maíz con valores mucho más elevados en vermicompostaje, e incluso con pequeñas diferencias con el residuo de cítrico. En todos los casos, la planta desarrollada en el residuo de higuera mostró los valores más pequeños de este parámetro, con mucha mayor diferencia con el resto de residuos en ambos productos (Figura 4.4.8).

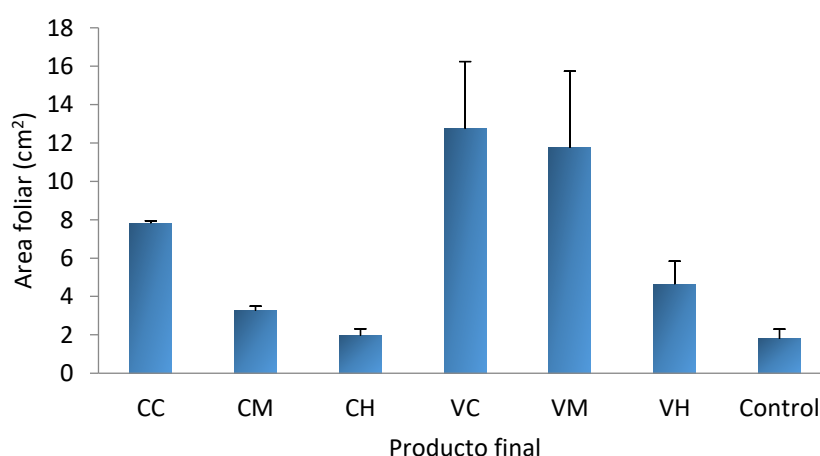


Figura 4.4.8. Valores medios del área foliar y desviaciones para la planta de menta

La utilización de residuos con fines agrícolas es una práctica habitual que favorece la producción de los cultivos favoreciendo la fertilidad de los suelos, siendo estos residuos utilizados como enmienda con el incremento de las propiedades antioxidantes de algunos cultivos. El estudio de la aplicación de compost y vermicompost obtenidos con restos de poda produce un incremento en el contenido en nutrientes en las plantas cultivadas en los suelos tratados con compost y vermicompost, debido al contenido de clorofila y antocianos que indica en numerosos estudios una tendencia positiva en el tratamiento orgánico en relación al mineral. Los polifenoles totales y la actividad antioxidante aumentaron significativamente en los tratamientos con compost proporcionalmente a la dosis aplicada. En este sentido, el reciclado de este tipo de residuos puede constituir una alternativa a la fertilización mineral para conseguir cultivos de calidad al mismo tiempo que se mejora la fertilidad del suelo.

Diferentes estudios sugieren que el empleo de una adecuada dosis de lodos compostados con restos de poda puede inducir efectos beneficiosos sobre el contenido de nutrientes y las propiedades antioxidantes en vegetales (Lobo *et al.*, 2012).

La utilización de estos residuos transformados es una alternativa viable a la fertilización mineral convencional, produciendo cultivos de calidad, pues al mismo tiempo que se mejoran las propiedades del suelo dando un nuevo valor a los residuos siendo interesantes tanto estudios a escala de invernadero y de campo que permitan confirmar estos resultados.

El uso de este tipo de residuos compostados o vermicompostados para mejorar la calidad de los suelos o el rendimiento de los cultivos, es la línea de la Estrategia Española de Economía Circular (MAPAMA, 2018), consiguiendo que lo que inicialmente se considera un residuo pueda ser utilizado como recurso. Diversos autores han relacionado su uso como enmienda con el incremento de las propiedades favorables de algunos cultivos (Gallardo *et al.*, 1987; Cruz *et al.*, 2009; Cruz *et al.*, 2015; Bartiková *et al.*, 2016; Das *et al.*, 2017).

Nuestros resultados sobre el estudio del cultivo de las plantas realizado en recipientes en condiciones controladas utilizando compost y vermicompost obtenido con los residuos de cítrico, maíz e higuera muestran los mejores resultados de los parámetros valorados en las plantas desarrolladas sobre vermicompostaje, obteniendo en la mayor parte de los parámetros analizados mejores resultados en el desarrollo sobre el sustrato de residuo de cítrico. Resultados similares fueron obtenidos por Atiyeh *et al.*, (2000) y Atiyeh *et al.*, (2001), adjudicándoles tales efectos a las propiedades nutricionales o físicas del vermicompost obtenido en su caso del estiércol de cerdo. Mientras que Ebrahimi *et al.*, (2018) observa la eficiencia del vermicompost en el desarrollo de tomate.

4.4.2. Estudio estadístico de los parámetros físicos, químicos, biológicos y del desarrollo vegetal

Se realizó un análisis estadístico de los datos para estudiar la posible relación entre las diferentes variables determinadas en este trabajo. En primer lugar, se ha evaluado el efecto del proceso sobre la variación de algunos parámetros, analizando la variabilidad de los valores del contenido de carbono en relación a los productos obtenidos. La Figura 4.4.9 muestra los resultados; donde se observan diferencias significativas para el contenido de C entre los compost y vermicompost sobretodo con respecto a VC, VH y CH y CM, indicando que los vermicompost poseen un mayor contenido de carbono, dada la mayor biodegradabilidad que se produce durante la fase bio-oxidativa durante el proceso de compostaje que se traduce en emisiones de CO₂.

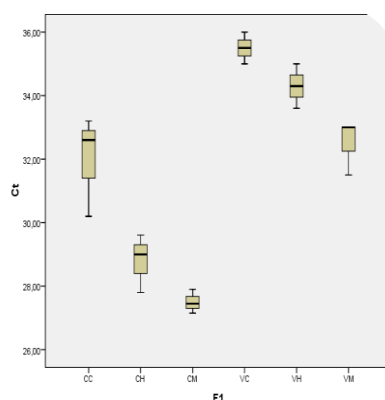


Figura 4.4.9. Representación del contenido de carbono total y su variación en los residuos transformados

Por otro lado, se realizó un análisis de correlación entre todas las variables estudiadas de los tres tipos de compost y vermicompost, obteniendo relaciones con elevada significación entre un gran número de ellas, por ejemplo el contenido de humedad y conductividad eléctrica, o entre los valores obtenidos de pH con el contenido de carbono (Tabla 4.4.1).

Algunas de estas relaciones son totalmente lógicas como la observada entre el contenido de humedad y la conductividad eléctrica, o la relación entre el fósforo y el contenido de carbono. Otras son especialmente interesantes como la relación entre índices quimiométricos (Aromáticos/Alifáticos y OH/Polisacáridos) con la conductividad eléctrica y los valores de fósforo asimilable. Los índices Aromáticos/Alifáticos y OH/Polisacáridos, se han correlacionado significativamente con la capacidad de retención de agua, fósforo asimilable y carbono total (Tabla 4.4.2). Los contenidos en macronutrientes se correlacionan con variables tanto físicas como químicas tales como el contenido de humedad y la relación C/N.

Otras relaciones interesantes son aquellas en las que intervienen los parámetros indicadores del desarrollo de las plantas, por ejemplo, los índices quimiométricos se han

correlacionado significativamente con la altura del tallo, diámetro del tallo y peso de la planta (Tabla 4.4.3). De manera que la altura de tallo y el peso de la planta se correlacionaron directamente con la transformación del residuo y la disminución de polisacáridos en los sustratos obtenidos.

Parámetros como la longitud de las raíces, peso de la raíz y el peso de la parte aérea se han correlacionado con la relación C/N y el contenido de fósforo asimilable. Y el número de ramificaciones fue inversamente proporcional al valor de la conductividad eléctrica del sustrato (Tabla 4.4.4).

El tipo de técnica de estabilización de los residuos vegetales influye significativamente en los parámetros de biomasa total, aérea y radicular y en el diámetro del tallo. En general, las plantas desarrolladas sobre vermicompost tienen mayores valores de dichos parámetros. El tipo de residuo vegetal utilizado también influye significativamente en todos ellos de forma que la mayoría de los parámetros varían en el orden cítrico > maíz > higuera. Para ninguna de las plantas ni el proceso ni el tipo de residuo influyen significativamente en la altura del tallo aunque la influencia del tipo de residuo está próxima a la significación, de modo que el residuo de higuera es el que produce en general las plantas con menor porte y también menor biomasa aérea, radicular y diámetro de tallo. La interacción de ambos factores no es significativa lo que indica que el tipo de residuo influye de la misma forma cuando se utiliza el compostaje o el vermicompostaje como técnica de estabilización (Tabla 4.4.2).

Para analizar cómo influye el tipo de técnica de estabilización y el tipo de residuo vegetal utilizado como medio de crecimiento de las plantas, se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) de dichos factores. El resultado se indica en la Tabla 4.4.5.

Tabla 4.4.1. Matriz de correlación de las variables correspondientes a las propiedades físicas y químicas estudiadas de los productos obtenidos en compostaje y vermicompostaje **P< 0,01, *P< 0,05

Correlaciones	Humedad	CRA	CE	pH	Relación C/N	P ₂ O ₅	CaO	K ₂ O	MgO	Na ₂ O	Ct%	Aromáticos / Alifáticos
Humedad	1,000											
CRA	-0,453	1,000										
CE	-,786**	,707**	1,000									
pH	-0,163	0,377	0,032	1,000								
Relación C/N	-0,216	-0,163	-0,161	0,221	1,000							
P₂O₅	0,011	0,326	0,117	0,213	,580*	1,000						
CaO	-0,375	-0,241	0,236	-0,234	,600**	0,313	1,000					
K₂O	0,357	-0,282	-0,066	-,528*	-0,182	0,077	0,431	1,000				
MgO	-,646**	0,421	0,406	0,430	-0,036	-0,340	-0,284	-,797**	1,000			
Na₂O	-0,268	-0,281	0,098	-0,114	0,072	-0,136	0,454	0,312	-0,077	1,000		
Ct%	0,338	0,103	-0,328	0,234*	-0,400*	-,482*	-,736**	-0,324	0,359	-,544*	1,000	
Aromáticos / Alifáticos	-0,055	,601**	,493*	-0,092	-0,065	,555*	0,213	,509*	-0,334	-0,173	-0,200	1,000
OH/ Polisacáridos	-0,252	0,439	,529*	0,022	0,026	,621**	0,132	-0,033	-0,125	0,073	-,649**	0,396

Tabla 4.4.2. Matriz de correlación de las variables correspondientes a las propiedades físicas y químicas con el estudio de la morfología de la planta de *Rosmarinus officinalis***P< 0,01, *P< 0,05

	Altura tallo	Diámetro tallo	Número de ramificaciones	Longitud raíces	Peso planta	Peso raíz	Peso aéreo
Humedad	0,044	0,015	0,364	0,271	0,151	-0,084	0,187
CRA	0,073	-0,003	-0,053	,475*	0,328	0,363	0,261
CE	-0,070	-0,168	-0,394	0,320	0,239	0,163	0,261
pH	-0,013	-0,109	0,277	0,086	0,044	0,087	0,028
Relación C/N	-0,426	-0,255	-0,308	-0,290	-,585*	-,491*	-,570*
P ₂ O ₅	-,537*	-,582*	-0,420	-0,251	-,547*	-0,433	-,575*
CaO	-,512*	-,492*	-,588*	-0,355	-0,356	-0,333	-0,315
K ₂ O	-0,181	-0,428	-0,135	-0,141	0,092	0,073	0,098
MgO	0,399	,513*	0,243	0,460	0,356	0,249	0,397
Na ₂ O	-0,184	-0,282	-0,186	-0,272	-0,056	-0,165	0,048
Ct %	,690**	,660**	,809**	,544*	,604**	,602**	,536*
Aromáticos/Alifáticos	-0,165*	-0,409	-0,205	0,248	0,159+	0,182	0,118
OH/Polisacáridos	-,476*	-,519*	-,640**	-0,321	0,454*	-0,411	-0,458
Altura tallo	1,000	,788**	,724**	,684**	,698**	,553*	,708**
Diámetro tallo		1,000	0,436	0,389	0,423	0,343	0,416
Número de ramificaciones			1,000	,606**	,472*	,647**	0,115
Longitud raíces				1,000	,801**	,700**	,782**
Peso planta					1,000	,909**	,950**
Peso raíz						1,000	,738**
Peso aéreo							1,000

Tabla 4.4.3. Matriz de correlación de las variables correspondientes a las propiedades físicas y químicas con el estudio de la morfología de la planta de menta. **P< 0,01, *P< 0,05

Correlaciones	Altura tallo	Altura vástago	Diámetro tallo	Número de ramificaciones	Longitud raíces	Peso planta	Peso raíz	Peso aéreo
Humedad	-0,036	0,044	-0,015	0,364	-0,271	-0,151	-0,084	-0,187
Densidad	0,028	0,100	-0,108	0,409	-0,075	-0,152	-0,112	-0,159
CRA	-0,040	0,073	-0,003	-0,053	,475*	0,328	0,363	0,261
CE	-0,114	-0,070	-0,168	-0,394	0,320	0,239	0,163	0,261
pH	-0,116	-0,013	-0,109	0,277	0,086	0,044	0,087	0,028
Relación C/N	0,405	-0,426	-0,255	-0,308	-0,290	-,585*	-,491*	-,570*
P ₂ O ₅	0,186	-,537*	-,582*	-0,420	-0,251	-,547*	-0,433	-,575*
CaO	0,138	-,512*	-,492*	-,588*	-0,355	-0,356	-0,333	-0,315
K ₂ O	0,016	-0,181	-0,428	-0,135	-0,141	0,092	0,073	0,098
MgO	-0,024	0,399	,513*	0,243	0,460	0,356	0,249	0,397
Na ₂ O	-0,074	-0,184	-0,282	-0,186	-0,272	-0,056	-0,165	0,048
Ct%	0,082	,690**	,660**	,809**	,544*	,604**	,602**	,536*
Aromáticos/Alifáticos	0,066	-0,165*	-0,409	-0,205	0,248	0,159+	0,182	0,118
OH/Polisacáridos	-0,230	-,476*	-,519*	-,640**	-0,321	0,454*	-0,411	-0,458
Altura tallo	1,000	0,439	0,261	0,263	0,460	0,124	0,120	0,107
Altura vástago		1,000	,788**	,724**	,684**	,698**	,553*	,708**
Diámetro tallo			1,000	0,436	0,389	0,423	0,343	0,416
Número de ramificaciones				1,000	,581*	,606**	,472*	,647**
Longitud raíces					1,000	,801**	,700**	,782**
Peso planta						1,000	,909**	,950**
Peso raíz							1,000	,738**
Peso aéreo								1,000

Tabla 4.4.4. Matriz de correlación de las variables correspondientes a las propiedades físicas y químicas estudiadas con los resultados del estudio de la morfología de la planta de *Lavandula officinalis***P< 0,01, *P< 0,05

Correlaciones	Altura tallo	Altura vástago	Diámetro tallo	Número de ramificaciones	Longitud raíces	Peso planta	Peso raíz	Peso aéreo
Humedad	1,370	0,557	0,2,57	0,322	0,754	0,325	-0,126	-0,220
Densidad	0,0368	0,113	-0,107	0,521	-0,125	-0,256	-0,156	-0,243
CRA	-0,158	0,123	-0,025	-0,153	,889*	0,284	0,456	0,458*
CE	-0,227	-0,178	-0,326	-0,194*	,879	0,239	0,163	0,261
pH	-0,133	-0,435	-0,893	0,133	0,233	0,762	0,335	0,276
Relación C/N	-0,128	-0,546	-0,899	-0,308	-0,290	-,585*	-,491*	-,570*
P ₂ O ₅	0,245	-,457*	-,344*	-0,212	-0,567	-,134*	-0,299	-,300*
CaO	0,228	-,324*	-,578*	-,122*	-0,980	-0,430	-0,893	-0,323
K ₂ O	0,127	-0,312	-0,556	-0,238	,980**	0,192	0,333	0,458
MgO	-0,024	0,399	,513*	0,243	,700**	,700**	0,249	0,397
Na ₂ O	-0,022	-0,098	-0,223	-0,122	-0,902	-0,226	-0,475	0,678
C	0,134	,250**	,699**	,824**	,125*	,100**	,677**	,561*
Aromáticos/Alifáticos	0,189	-0,120	-0,300	-0,200	0,399**	0,209	0,987	0,308
OH/Polisacáridos	-0,241*	-,258*	-,279*	-,887**	-0,227**	0,980*	-,220*	-0,775
Altura tallo	1,000	0,390	0,189	0,220	0,298	0,339	0,398	0,172
Altura vástago		1,000	,745**	,765**	,639**	,338**	,583*	,799**
Diámetro tallo			1,000	0,676	0,290	0,099	0,001	0,289
Número de ramificaciones				1,000	,501**	,502*	,655**	,212**
Longitud raíces					1,000	,891**	,880**	,735**
Peso planta						1,000	,701**	,60**
Peso raíz							1,000	,722**
Peso aéreo								1,000

Tabla 4.4.5. Valores medios y desviación estándar de los parámetros de crecimiento de *Lavandula officinalis*, *Rosmarinus officinalis* y *Mentha spicata*. Resultado del análisis de la varianza (ANOVA) sobre la influencia del tratamiento (compost y vermicompost) y del tipo de residuo vegetal (cítrico, maíz, higuera), indicándose en negrita aquellos estadísticamente significativo.

Tratamiento (T)	Compost (1)			Vermicompost (2)			ANOVA		
	Cítrico	Maíz	Higuera	Cítrico	Maíz	Higuera	p-Value		
Código substrato	11	12	13	21	22	23	T	R	T x R
Parámetros planta									
Lavandula									
Altura tallo (cm)	18,7 ± 3,4	13,5 ± 1,5	9,2 ± 1,5	22,4 ± 2,4	11,7 ± 2,1	15,3 ± 1,2	0,632	0,062	0,328
Diámetro tallo (mm)	3,2 ± 0,8	2,2 ± 0,8	1,5 ± 0,5	5,2 ± 0,8	3,8 ± 0,3	1,8 ± 0,3	0,001	0,019	0,574
Nº ramificaciones	6,3 ± 1,5	4 ± 1	1,7 ± 0,6	10,7 ± 3,8	7,7 ± 1,5	2,7 ± 0,6	0,325	0,093	0,371
Long. raíces (cm)	11,9 ± 2,7	8,2 ± 0,7	6,3 ± 1,5	16,5 ± 0,5	9,2 ± 1,0	9,2 ± 0,8	0,932	0,104	0,641
Peso planta (g)	18,8 ± 4,6	11,0 ± 2,8	3,3 ± 0,7	25,2 ± 3,3	17,7 ± 5,4	6,5 ± 0,4	0,000	0,000	0,122
Peso raíz (g)	7,1 ± 2,7	2,7 ± 0,9	1,5 ± 0,5	10,8 ± 4,0	7,9 ± 2,3	3,4 ± 1,2	0,000	0,002	0,337
Peso aéreo (g)	11,7 ± 3,0	6,3 ± 0,8	2,6 ± 0,6	13,3 ± 0,7	10,6 ± 4,7	3,9 ± 1,4	0,010	0,000	0,433
Rosmarinus									
Altura tallo (cm)	15,3 ± 4,1	14,2 ± 2,5	14,3 ± 0,3	14,2 ± 1,2	12,6 ± 2,3	14,2 ± 2,1	0,742	0,075	0,355
Diámetro tallo (mm)	4,0 ± 0,4	2,4 ± 0,8	5,8 ± 0,3	4,1 ± 0,3	3,3 ± 0,3	3,7 ± 0,4	0,000	0,002	0,632
Nº ramificaciones	4,3 ± 3,9	3,5 ± 2,9	3,0 ± 0,2	5,3 ± 1,5	4,3 ± 1,2	4,2 ± 0,3	0,521	0,143	0,232
Long. raíces (cm)	11,5 ± 2,1	3,2 ± 1,7	4,8 ± 1,5	9,2 ± 2,4	9,0 ± 3,0	6,5 ± 1,4	0,890	0,122	0,143
Peso planta (g)	24,4 ± 2,1	12,2 ± 5,1	13,7 ± 1,6	21,6 ± 3,3	26,5 ± 5,2	11,3 ± 0,9	0,000	0,000	0,325
Peso raíz (g)	17,7 ± 3,5	6,0 ± 1,5	1,9 ± 0,3	8,5 ± 3,1	21,9 ± 3,3	6,9 ± 1,0	0,000	0,001	0,256
Peso aéreo (g)	8,4 ± 5,3	3,1 ± 1,5	0,8 ± 0,3	13,3 ± 1,4	8,3 ± 2,1	3,5 ± 0,1	0,000	0,002	0,311
Mentha									
Altura tallo (cm)	14,2 ± 1,2	9,13 ± 3,9	7,7 ± 1,5	18,2 ± 3,4	14,4 ± 0,3	13,6 ± 2,4	0,635	0,062	0,328
Diámetro tallo (mm)	3,3 ± 0,6	1,7 ± 1,5	2,0 ± 1,0	5,0 ± 0,4	2,7 ± 1,2	3,3 ± 2,3	0,000	0,001	0,574
Nº ramificaciones	3,3 ± 0,5	2,0 ± 1	2,3 ± 0,5	5,0 ± 3,0	3,0 ± 0,5	5,0 ± 1,7	0,325	0,093	0,371
Long. raíces (cm)	10,9 ± 0,43	3,4 ± 2,3	4,8 ± 3,7	10,7 ± 0,3	10,0 ± 0,3	6,3 ± 1,8	0,932	0,104	0,641
Peso planta (g)	17,8 ± 5,3	6,7 ± 5,1	1,7 ± 1,3	21,2 ± 13,3	22,7 ± 6,5	8,5 ± 0,6	0,000	0,000	0,122
Peso raíz (g)	7,1 ± 6,7	2,4 ± 1,8	0,8 ± 0,5	8,7 ± 5,3	7,9 ± 2,3	3,9 ± 0,3	0,001	0,002	0,337
Peso aéreo (g)	10,4 ± 1,2	4,3 ± 3,8	0,9 ± 0,5	12,5 ± 4,8	13,3 ± 4,6	4,6 ± 1,6	0,010	0,000	0,433

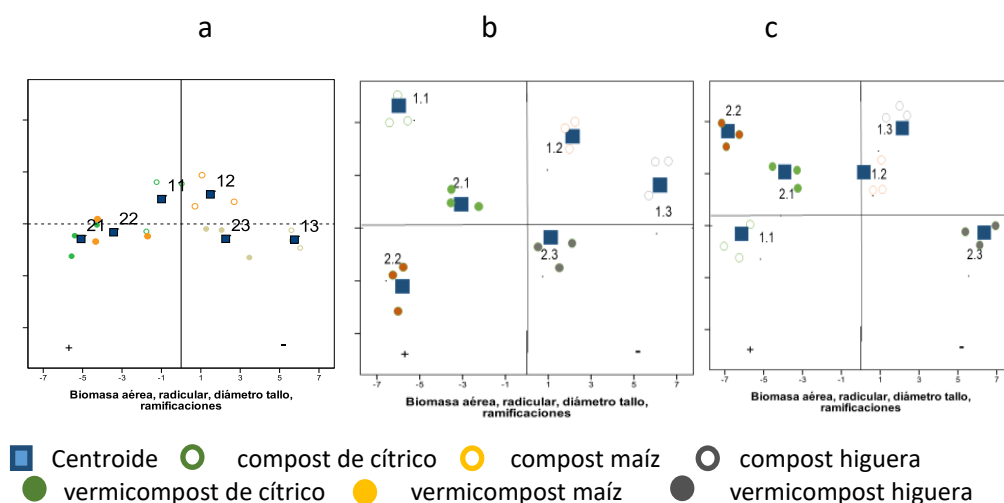


Figura 4.4.10. Resultado del análisis discriminante (DA) realizado para determinar el conjunto de parámetros de crecimiento de la planta de a) lavanda, b) romero y c) menta

La Figura 4.4.10 muestra el resultado del análisis discriminante (DA) realizado para determinar el conjunto de parámetros de crecimiento de las plantas que mejor distinguen los sustratos para el desarrollo de éstas. En ella se observa que en los compost y vermicompost de cítrico y vermicompost de maíz, situados a la izquierda del eje vertical para la planta se facilita mejor el desarrollo de las plantas, por aumentar la biomasa total, la biomasa aérea y radicular, el diámetro del tallo y, en menor medida, el número de ramificaciones. Esta función explica el 89% de la varianza y es estadísticamente significativa ($p = 0,001$). El vermicompost de cítrico, seguido de cerca por el de maíz, y después el compost de cítrico, en ese orden, facilitan un mejor desarrollo de la planta (Carmona *et al.*, 2009; Lazcano *et al.*, 2010; Shoher *et al.*, 2011; López-López *et al.*, 2013; Giannakis *et al.*, 2014; Montesano *et al.*, 2014). En el extremo derecho, con menor desarrollo, se sitúa el compost de higuera. Claramente, los productos derivados de cítrico producen mejor resultado que los de maíz, destacando el vermicompostaje como técnica más deseable para la elaboración del sustrato de desarrollo para nuestras plantas. A la derecha del eje vertical, con valores de dichos parámetros significativamente menores, se sitúan los demás sustratos, con el compost de higuera claramente separado del resto. Por tanto, el peor desarrollo ocurre en los sustratos con restos de higuera, aunque la acción de las lombrices sobre dicho material vegetal mejora la calidad del sustrato comparado con la técnica de compostaje, y sitúa este sustrato con posibilidades de utilización cercanas a las del compost de maíz. Luego las plantas de lavanda mostraron mejores parámetros de crecimiento sobre residuos de cítrico y estiércol de conejo, estabilizados mediante vermicompostaje, lo que

sugiere mejor mineralización de la materia orgánica y disponibilidad de agua y nutrientes para la planta. Para las plantas de romero, los compost y vermicompost de cítrico y el vermicompost de maíz se muestran como sustratos más favorables para el desarrollo. Mientras que el compost de maíz junto al compost y vermicompost de higuera se muestran los menos favorables. De nuevo, la adición de lombrices favorece el desarrollo vegetal siendo el caso del vermicompost de higuera el que en menor medida lo favorece.

Para la planta de menta tanto los compost como vermicompost de cítrico e higuera se muestran más favorables para el desarrollo vegetal que el compost y vermicompost de higuera, indicando la peor calidad del sustrato de los productos obtenidos a partir de los residuos de esta planta.

La Figura 4.4.11 muestra otro aspecto del desarrollo de las plantas que puede resultar de interés por mostrar tendencias que pueden ilustrar el comportamiento de las plantas estudiadas en los sustratos menos favorables, como son los resultantes de la utilización de restos vegetales de higuera. Los sustratos situados en la parte superior del gráfico son los que producen mejor desarrollo, en el orden VC>VM>CC>CM como así indican las variables de medida que los agrupan y su situación hacia la derecha en el gráfico. El compost y el vermicompost de higuera (CH y VH, respectivamente) se sitúan más hacia abajo que los grupos de sustratos anteriores, lo que indica que las plantas que crecen en los productos obtenidos con restos de higuera tienden a tener alturas, biomasa total, aérea y radicular y diámetro del tallo menores pero modifican su desarrollo (podríamos definir dicho comportamiento como “plasticidad fenotípica” para paliar las deficiencias en las condiciones del medio de crecimiento. Estas modificaciones son: aumento del número de ramificaciones (aunque con menos biomasa foliar), aumento de la longitud de raíces (aunque más finas) y mayor altura del tallo (aunque menor diámetro del tallo). Además, la situación más hacia la izquierda (en el círculo inferior) del compost de higuera (CH), indica que también los mencionados parámetros se reducen respecto al vermicompost de higuera (VH).

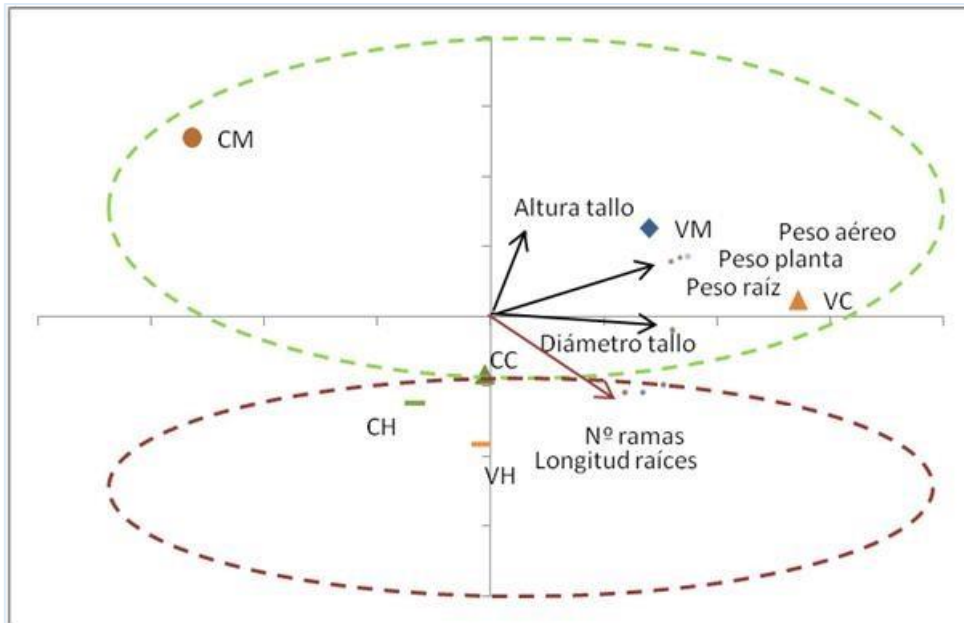


Figura 4.4.11. Representación gráfica, en un espacio común, de los parámetros de crecimiento y los sustratos para ilustrar la respuesta plástica de las plantas con el cambio en las condiciones del medio

Con los parámetros físicos y químicos caracterizados en los sustratos se ha realizado un análisis de componentes principales (PCA) para determinar qué propiedades de los sustratos influyen más en las diferencias de crecimiento observadas. Las variables que más contribuyen a dicha diferenciación, el porcentaje de varianza explicado y la clasificación de los sustratos en función de las anteriores se indican en la Figura 4.4.12 y Tablas 4.4.6 y 4.4.8.

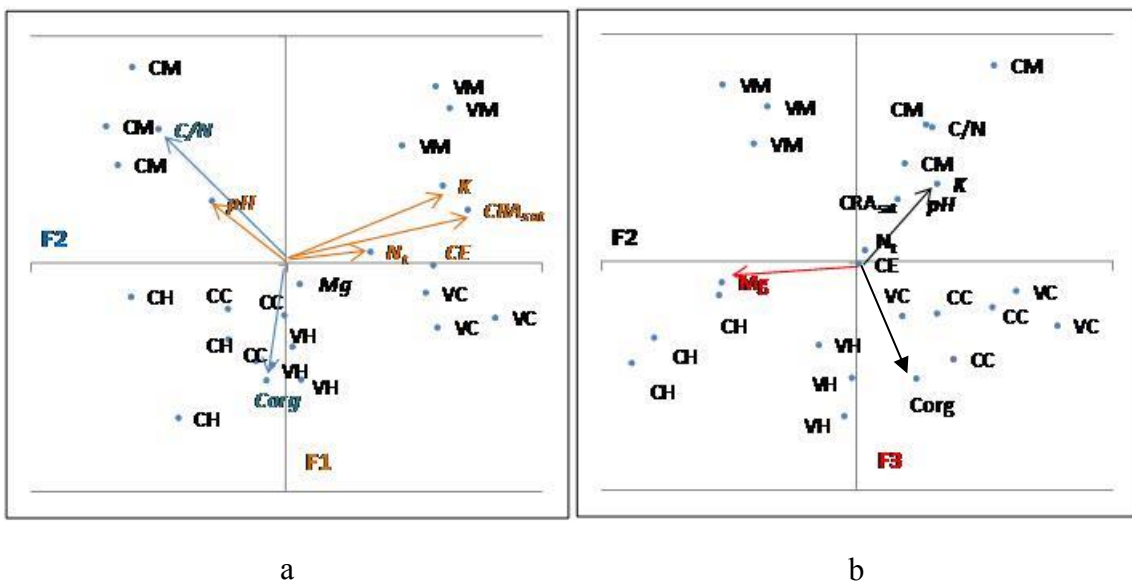


Figura 4.4.12. Clasificación de los sustratos de crecimiento por sus características físicas y químicas en función de los componentes.

En la Figura 4.4.12a, se representan los resultados de los componentes. La función o componente F1, que explica la mayor parte de las variaciones entre los compost y vermicompost obtenidos (65,4%), denominada factor fertilidad, está representada por los parámetros capacidad de retención de agua a saturación (CRA_{sat}), o lo que es lo mismo, la porosidad total y contenido de K, que son las variables que mejor se correlacionan con dicha función. Así mismo, dichas variables se correlacionan positivamente entre ellas y con la conductividad eléctrica (CE) y el contenido de nitrógeno (N_t) y ésta última, a su vez, se correlaciona negativamente con el pH. Estas variables separan los vermicompost de cítrico (VC) y maíz (VM) del resto. Por tanto, la disponibilidad de agua, macronutrientes como K y el contenido de N_t son los parámetros principales del substrato que favorecen el desarrollo de las plantas aromáticas. La Función F2 denominada factor calidad de los compost y vermicompost, que explica un 25,4% de la varianza, está representada por el contenido de Carbono orgánico (C_{org}) y la relación C/N, y separan los compost de cítrico (CC) e higuera (CH) por una relación C/N menor que el compost de maíz (CM). Por tanto, el desarrollo de la planta, además de la capacidad de retención de agua, el contenido de K y de N_t anteriores, se favorece en el caso de los compost CM y CC. Finalmente, en la Figura 4.4.12b, la función F3, que explica el 9,2% de las diferencias entre substratos, se trata del factor que indica la relación con la clorofila y separa el compost de higuera (CH), situado más hacia la izquierda del eje vertical F3, por el alto contenido de magnesio, que se correlaciona negativamente con el pH y el contenido de K. Es decir, el compost y vermicompost de higuera (CH, y VH), producen plantas con menor biomasa total (especialmente el CH), pero con mayor altura del tallo y raíces más largas (Fig. 4.4.12b) y ello se relaciona con un aumento del contenido de Mg, con el descenso de la disponibilidad de agua (descenso de CRA_{sat}), del carbono orgánico y de los nutrientes esenciales N y K. Este componente sugiere una inadecuada transformación de los restos vegetales con la consiguiente reducción de parámetros físicos y químicos importantes para un adecuado crecimiento de la planta.

Tabla 4.4.6. Resultados del análisis de componentes principales aplicado al estudio de los parámetros de los compost y vermicompost de cítrico, maíz e higuera.

Componente	Sumas de las saturaciones al cuadrado de la extracción		
	Total	% de la varianza	% acumulado
1	4,385	65,465	65,465
2	1,769	25,402	90,864
3	1,385	9,012	93,876

Método de extracción: Análisis de componentes principales.

Tabla 4.4.7. Matriz de componentes principales aplicado al estudio de los parámetros de los compost y vermicompost de cítrico, maíz e higuera.

Matriz de componentes	Componentes ^a		
	F1	F2	F3
CRA _{sat}	0,910	-0,342	-0,342
CE	0,740	0,633	0,642
Nt	0,822	0,091	0,321
Ca	0,338	0,441	0,541
Mg	0,531	0,372	0,907
K	0,889	-0,280	-0,130
pH	-0,841	-0,337	-0,425
C _{org}	0,130	0,819	-0,319

Método de extracción: Análisis de componentes principales.

a. 3 componentes extraídos

saturación (CRA_{sat}), o lo que es lo mismo, la porosidad total y contenido de K, que son las variables que mejor se correlacionan con dicha función. Así mismo, dichas variables se correlacionan positivamente entre ellas y con la conductividad eléctrica (CE) y el contenido de nitrógeno (N_t) y ésta última, a su vez, se correlaciona negativamente con el pH (Tablas 4.4.14 y 4.4.15).

Como resumen de este apartado podemos indicar que:

- Los resultados obtenidos respecto a la calidad de los compost y vermicompost a partir de los residuos de cítrico, maíz e higuera y el desarrollo vegetal sobre ellos de las plantas aromáticas de romero, lavanda y menta indican que los residuos agrícolas utilizados (residuo de cítrico, higuera y maíz) son susceptibles de tratarse mediante las técnicas de compostaje y vermicompostaje.
- No obstante, la calidad de los vermicompost fue generalmente superior a la calidad de los compost. Esta afirmación se realiza sobre la base de los valores obtenidos para algunas propiedades (contenido en carbono, relación C/N, nutrientes), actividades enzimáticas (fosfatasas, esterasa-lipasa y algunas glicosil-hidrolasas), índices quimiométricos (compuestos aromáticos y presencia de polisacáridos) e índices de maduración (demanda química de oxígeno, test de fitotoxicidad y capacidad de intercambio catiónico). De todos los productos obtenidos el vermicompost elaborado con residuo de cítricos presentó mejor calidad.
- Con objeto de evaluar la aplicabilidad de estos productos, se estudió su efecto sobre el desarrollo vegetal; se realizaron experimentos en invernadero utilizando lavanda

(*Lavandula officinalis* L), *menta* (*Mentha spicata*) y romero (*Rosmarinus officinalis*). Los resultados indicaron que los compost y vermicompost mejoraron en general el desarrollo de las plantas comparado con el control. El vermicompost elaborado con residuo de cítricos se confirmó como el más efectivo.

➤ El análisis estadístico de los datos mostró un gran número de relaciones entre los parámetros relativos a las características de los compost y vermicompost y el desarrollo de las plantas, así, la altura y diámetro del tallo y el peso de la planta se correlacionaron con el contenido de algunos nutrientes (ej. fósforo y potasio).

➤ Por otro lado, el análisis de componentes principales permitió una observación más profunda en el estudio de las relaciones, observándose diferentes grados de agrupación de las variables que confirmó el efecto positivo de estos productos sobre el desarrollo de la planta. Se ha obtenido un crecimiento favorable de las plantas sobre sustratos con alta capacidad de retención de agua y disponibilidad de nutrientes como son los vermicompost de cítrico y maíz, pero también en sustratos de peor calidad como es el compost de higuera. Sin embargo aquellos sustratos con mayor capacidad de retención de agua, C orgánico, N_t y de K y pH adecuado que facilite la disponibilidad de éstos, como ocurre con los vermicompost de cítrico y maíz, producen plantas más compactas por su desarrollo radicular y su biomasa aérea (mientras que los más pobres inducen cambios fenotípicos que consisten en menor biomasa aérea y radicular y la producción de tallos y raíces más delgados y más largos. Estos cambios se interpretan como la respuesta plástica de la planta a la disminución de recursos en el sustrato de crecimiento que, en el caso de los compost y vermicompost obtenidos con restos de higuera, pueden estar relacionados con la abundancia en el contenido de magnesio.

➤ Los futuros trabajos de investigación deben encaminarse a completarse este estudio con la finalidad de evaluar la posible utilización de estos productos como sustratos en sentido estricto.

4.5. Evaluación del proceso de compostaje y vermicompostaje como técnicas de tratamiento de residuos para la eliminación de medicamentos presentes en lodos de depuradora

Como se describió en el apartado 1.2.2 (Introducción), la presencia de contaminantes emergentes en lodos de depuradora es un hecho, y afecta a la contaminación de aguas y suelos (Kinney *et al.*, 2008; Tortosa *et al.*, 2012) pudiendo provocar efectos ecotoxicológicos (Petrie *et al.*, 2015). Autores como Qiuguo *et al.*, (2019) indican que la reutilización de residuos y biosólidos en la agricultura aporta muchos beneficios sociales y económicos y contribuye a la sostenibilidad agrícola y ambiental, pero pueden introducir numerosos contaminantes emergentes en los sistemas agroalimentarios. Así pues, la finalidad en este apartado es evaluar la efectividad de las técnicas de compostaje y vermicompostaje en la eliminación de medicamentos presentes en los lodos. Como ya se ha detallado en el apartado de Materiales y métodos, se llevaron a cabo varios experimentos con residuo del arroz y lodo de depuradora procedentes del Parque Natural de la Albufera y de la depuradora de Pinedo (Valencia).

Las características de los residuos utilizados en la experiencia se resumen en la Tabla 4.5.1. Como se puede observar, el lodo presentó una humedad muy elevada (86,7 y escasa desviación), con un contenido de carbono orgánico oxidable de 30,7 g / 100 g, valor de 7,7 de pH y una conductividad de 2,8 dS.m⁻¹. El residuo de arroz presentó un contenido bajo de humedad (4,5 ± 0,5); elevado contenido en carbono total de 85,2 g / 100 g, y de carbono orgánico oxidable 36,2 g / 100 g y una elevada relación C/N (33,5 con baja desviación (± 1)), indicando se trata de una buena fuente de carbono para el desarrollo de los organismos. La paja de arroz demostró ser un agente estructurante de calidad para ser mezclado con los lodos de depuradora, por tanto, la mezcla de estos materiales presentó valores de pH, CE, relación C/N y humedad óptimos para el correcto desarrollo del proceso de compostaje (Roca-Pérez *et al.*, 2009) (Tabla 4.5.1).

Estos residuos ya fueron estudiados por Irazo *et al.*, (2004); Roca *et al.*, (2005), Roca *et al.*, (2009); y Roca *et al.*, (2019). Entre los aspectos a tener en cuenta en un proceso de compostaje y vermicompostaje destinado a la valorización de residuos, se menciona en la bibliografía (Roca *et al.*, 2005; Bueno *et al.*, 2008; Moreno *et al.*, 2008; Bueno *et al.*, 2012) la compatibilidad de los mismos y la forma de mezclarlos. Nuestros datos son semejantes a los obtenidos por Roca-Pérez *et al.*, (2004) y Roca-Pérez *et al.*, (2009) en lodos similares, aunque con valores de conductividad eléctrica ligeramente superiores.

Tabla 4.5.1. Características de los residuos iniciales

Parámetro	Lodo	Paja de arroz
Humedad %	86,7 (0,2)	4,5 (0,5)
Cox g/100g	30,7 (2,0)	36,2 (5,0)
pH 1:2.5	7,7 (0,1)	6,3 (0,1)
CE _{1:5} dS m ⁻¹	2,8 (0,0)	2,0 (0,1)
N %	3,0 (0,0)	1,1 (0,0)
P ₂ O ₅ as g kg ⁻¹	5,2 (0,1)	6,0 (0,2)
Ct g/100g	28,7 (0,1)	85,2 (0,1)
Ct/N	14,0 (1)	33,5 (1)

4.5.1. Evolución de los parámetros durante el compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodos de depuradora con los medicamentos adicionados

Los medicamentos estudiados fueron: Azitromicina (Az), antibiótico de amplio espectro; Ibuprofeno (I) un antiinflamatorio, Paracetamol (P) un analgésico y un estimulante y diurético; Cafeína (C) y la mezcla de dos antihipertensivos como son Ibersartan (Ib) y Telmisartán (TI). Para ello adicionamos los medicamentos mencionados agrupados en tres experimentos en la concentración indicada en el apartado de Materiales y métodos.

Durante los experimentos se llevó a cabo el seguimiento de los parámetros habituales, así como de la concentración de los medicamentos durante el proceso. La duración de los experimentos fue de unos 40 días. En general, la evolución de los parámetros determinados en los procesos estuvieron acordes con los de otros trabajos previos (Iranzo *et al.*, 2004; Roca-Pérez *et al.*, 2005; Roca-Pérez *et al.*, 2009; Marimón, 2017; Roca-Pérez *et al.*, 2018;).

La tabla 4.5.2 muestra las características de los productos finales obtenidos en los procesos de compostaje y vermicompostaje. Las figuras 4.5.1 a 4.5.2 muestran la evolución de los parámetros analizados durante ambos procesos.

Entre los cambios morfológicos observados en las muestras finales, destacamos que estas presentaron un color oscuro, con un aspecto favorable y sin olor desagradable, indicando una favorable transformación de los productos.

Por lo que se refiere a la temperatura en el compostaje varió de 25 a 46° C, la fase termófila se inició entre los días 10 y 15 del proceso. En general las temperaturas no fueron muy elevadas debido a la pequeña capacidad de los recipientes que favoreció la pérdida de calor, no obstante, se alcanzó suficiente temperatura para asegurar la eliminación de los patógenos. En el caso del vermicompostaje, las temperaturas variaron de 25 a 35 °C, observándose en todos los casos valores de temperatura muy inferiores a las obtenidas en el proceso de compostaje.

Tabla 4.5.2. Características de los productos finales de los procesos de compostaje y vermicompostaje

Parámetro	Compost			Vermicompost		
	Az	IPC	ITI	Az	IPC	ITI
Humedad %	36,0 (2,0)	41,0 (2,0)	43,0 (2,0)	32,6 (6,0)	42,0 (6,0)	57,0 (6,0)
Cox g /100 g	9,5 (0,5)	12,5 (0,5)	12,0 (0,5)	9,4 (0,3)	11,5 (0,6)	11,0 (0,5)
pH _{1:2.5}	7,5 (0,2)	7,6 (0,2)	7,1(0,2)	7,2 (0,3)	7,7 (0,3)	7,1 (0,3)
CE _{1.5} dS m ⁻¹	3,5 (0,1)	3,4 (0,1)	2,5 (0,1)	3,8 (0,2)	3,6 (0,2)	3,2 (0,1)
N %	1,5 (0,0)	1,4 (0,0)	1,2 (0,0)	1,3 (0,0)	1,5 (0,0)	1,2 (0,0)
P ₂ O _{5as} g kg ⁻¹	2,4 (0,2)	2,1 (0,1)	2,4 (0,2)	2,5 (0,15)	2,5 (0,3)	2,9 (0,2)
Ct g/100 g	21,5 (0,1)	20,2 (0,1)	23,4 (0,1)	20,0 (0,2)	19,7 (0,3)	19,3 (0,3)
Ct/N	14,3 (1,0)	14,4 (2,0)	18,0 (2,0)	15,4 (1,0)	13,1 (2,0)	16,0 (2,0)

Los valores de las temperaturas indican las fases desarrolladas durante el compostaje (Figura 4.5.1). En todos los casos se aprecia una clara diferencia en la etapa termófila.

Para las mezclas vermicompostadas las temperaturas fueron inferiores, ya que no son necesarios valores tan altos para la eliminación de microorganismos dado el papel de las lombrices durante el proceso (Rynk *et al.*, 1992; Rynk *et al.*, 2000 Rynk *et al.*, 2003; Roca-Pérez *et al.*, 2009; Eastman *et al.*, 2001; Romero-Figueroa *et al.*, 2015; Chang *et al.*, 2017; Nakasaki, 2017; Soobhany, 2017), siendo la temperatura media del proceso de 25 °C, valores idóneos en vermicompostaje, dado que por encima de 35°C la temperatura es crítica para el crecimiento de las lombrices

La temperatura es un parámetro importante que afecta al proceso del compostaje y vermicompostaje de las mezclas de paja de arroz y lodo con los medicamentos adicionados, pues se relaciona con la actividad microbiana, y marca la eficiencia y el grado de estabilización del proceso (Nakasaki, *et al.*, 2017).

Los contenidos finales de humedad del compost y vermicompost se muestran en la Tabla 4.5.2. La humedad un parámetro muy importante a considerar en el desarrollo de ambos procesos. En nuestro caso la humedad varió aproximadamente entre 80 a 40 % en el compost y vermicompost. Las humedades medias obtenidas fueron al final del experimento de 43 %, 40 % y 40 % para las experiencias de vermicompostaje, compostaje y para la muestra control respectivamente (Figura 4.5.1), y en las muestras adicionadas con irbesartán y telmisartán (ITI), siendo los valores inferiores los correspondientes siguiendo el orden en las experiencias de

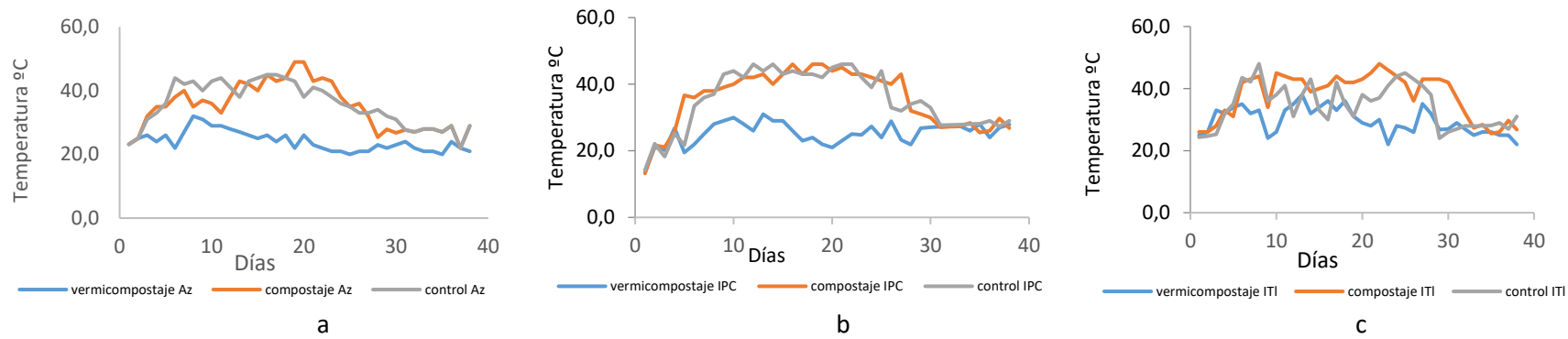


Figura 4.5.1. Evolución de la temperatura media durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartán y telmisartán (ITI)

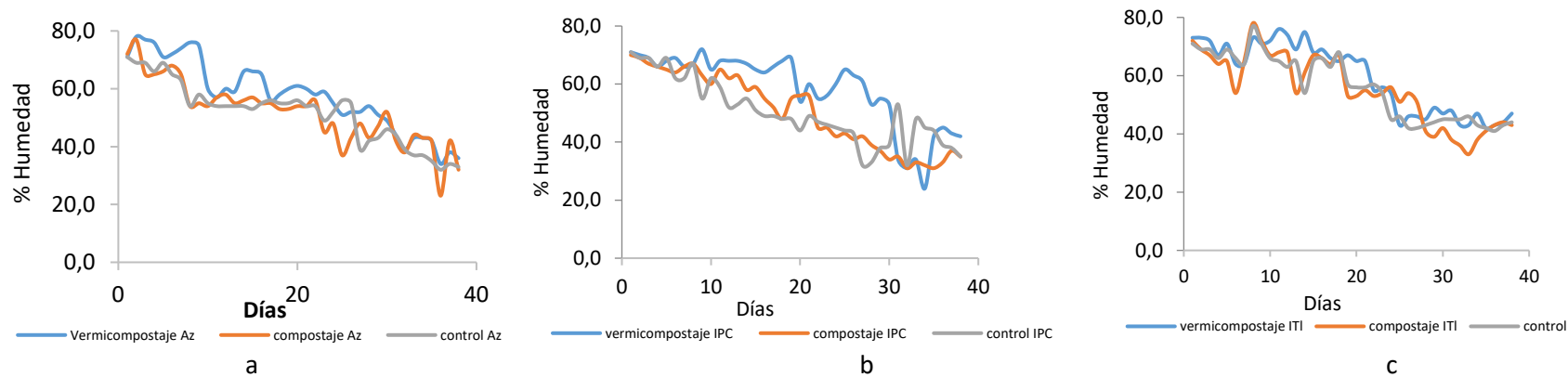


Figura 4.5.2. Evolución de la humedad media durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartán y telmisartán (ITI)

compostaje, control y vermicompostaje, para las muestras adicionadas de azitromicina (Az) 32,6 %, 36,0 %, 33,0 % respectivamente. Mientras que los valores para las muestras adicionadas de ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC) fueron ligeramente superiores en las muestras vermicompostadas

Los valores de humedad descienden en todos los procesos llegando a valores mínimos al final de los procesos (Tabla 4.5.2). En general los valores de humedad son superiores en las muestras vermicompostadas favorecido por la adición de agua para controlar el aumento de la temperatura.

Bueno *et al.*, (2007); Roca-Pérez *et al.*, (2009); Chang *et al.*, (2017) y Almendros, (2015) indican que una humedad alrededor del 60 % es óptima para el desarrollo del compostaje con este tipo de residuos, siendo ligeramente superior para el vermicompostaje, en ambos casos favoreciendo la actividad biológica y evitando la generación de lixiviados. Las humedades en los procesos de vermicompostaje deben ser ligeramente superiores para mantener la supervivencia de las lombrices (Almendros, 2015).

En todos los casos se consideran resultados óptimos, ya que para que el compost pueda comercializarse se necesita una humedad por debajo del 45 %. Roca *et al.*, (2009) obtuvieron para el compost de lodo de depuradora y paja de arroz valores finales de humedad del 39,9 % y 42 %. No obstante, y como se menciona en el capítulo anterior, en el vermicompostaje la exigencia de humedad debe ser ligeramente superior, ya que las lombrices poseen un mecanismo de intercambio gaseoso que se realiza a través de su epidermis y pueden resistir estos altos contenidos de humedad (Edwards *et al.*, 1988).

Los resultados de autores como Richard *et al.*, (2013), demuestran que el contenido de humedad óptimo para la biodegradación puede variar ampliamente para diferentes mezclas de residuos y tiempos en el proceso de compostaje, siendo desde el 50 % a más del 70 % en base húmeda. Dichos autores indican que hay una reducción significativa en la velocidad de biodegradación cuando se trabaja fuera del intervalo óptimo, influyendo la densidad del sustrato y tamaño de partícula. Igualmente es importante el contenido de humedad, óptimo en sistemas de compostaje o vermicompostaje debido a los cambios en la compactación y la porosidad durante los procesos (Figura 4.5.2).

Los valores de pH obtenidos fueron similares para las mezclas compostadas y vermicompostadas con azitromicina (7,5 y 7,2) (Figura 4.5.3), observándose cambios durante el proceso asociados a la mineralización de la mezcla y la volatilización del amoníaco o por la actividad biológica que libera ácidos orgánicos al medio haciendo bajar el pH (Nogales *et al.*, 2005; Bueno *et al.*, 2007). Para las muestras adicionadas de antihipertensivos (ITI) y para las adicionadas con el tercer grupo de medicamentos (IPC) (Figura 4.5.4), los valores fueron

ligeramente superiores (7,6 para IPC y 7,1 para ITI) (Figura 4.5.5). En general, se obtiene que las muestras de vermicompost procedentes de paja de arroz y lodo de depuradora con los medicamentos mostraron un carácter ligeramente más básico que las muestras compostadas. Esto puede ser debido al mayor contenido de humedad en el vermicompostaje y al efecto de la transformación debido a las lombrices. Los valores de pH de los controles fueron ligeramente más elevados ($7,75 \pm 0,11$) que los de las muestras, concretamente para las tratadas con ITI y Az (Figuras 4.5.3a; 4.5.3b y 4.5.3c).

Los valores óptimos para compost y vermicompost maduros deberían estar entre pH 7 y 8. Nuestros productos tuvieron en todos los casos valores de pH inferiores a 8, similares al descrito en otros trabajos (Fornés *et al.*, 2011; Romero-Figueroa *et al.*, 2015).

El pH inicial óptimo en el proceso de compostaje está entre 6,5 y 8,5 (Day *et al.*, 1998), y en el vermicompostaje y entre 5 y 9 (Nogales y Dominguez, 2008). En nuestro caso, los valores de pH iniciales de las mezclas en ambos experimentos realizados se encuentran entre 7,05 a 7,37 para todas las mezclas de compost y vermicompost.

Para las muestras compostadas en la fase mesófila inicial se observa en general una bajada del pH, aunque no ocurre lo mismo en la muestra control cuyo comportamiento no muestra la misma tendencia en todas las muestras.

El pH tiene una influencia directa en el compostaje y vermicompostaje debido a su acción sobre la dinámica de los procesos microbianos. Mediante el control de este parámetro se obtiene una medida indirecta del control de la aireación de la mezcla durante el proceso. En el presente estudio, en condiciones aerobias, el pH disminuyó en todos los experimentos al principio del proceso tanto en compostaje como en vermicompostaje, volviendo a alcanzar los valores iniciales en la etapa de maduración.

En una segunda fase se produce el aumento de pH por desnaturalización de las proteínas, y en la tercera fase el pH tiende a la normalidad debido a las sustancias húmicas que tienen carácter tampón, según mencionan diferentes autores (Bueno y Cabrera 2008), (Bueno *et al.*, 2021).

Estudios realizados por Chen *et al.*, (2011) sobre el efecto del pH sobre la eliminación de medicamentos como sulfametoxazol y el ciprofloxacino en medios porosos saturados muestran resultados diversos de los valores de pH, presentando el sulfametoxazol una mayor movilidad a pH entre 5 y 6, indicando un efecto importante en función del tipo de compuesto.

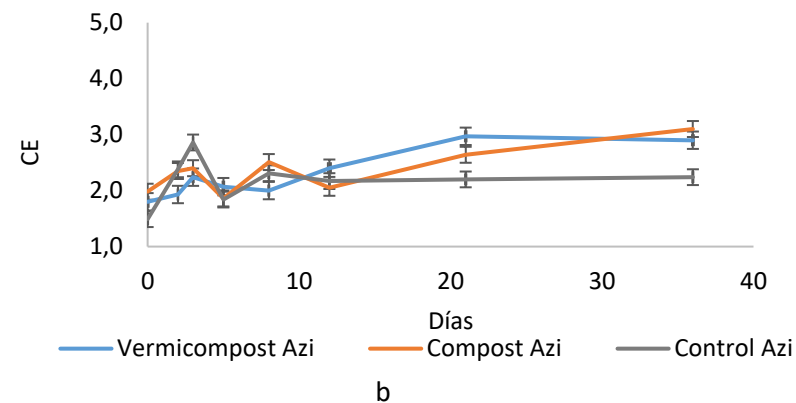
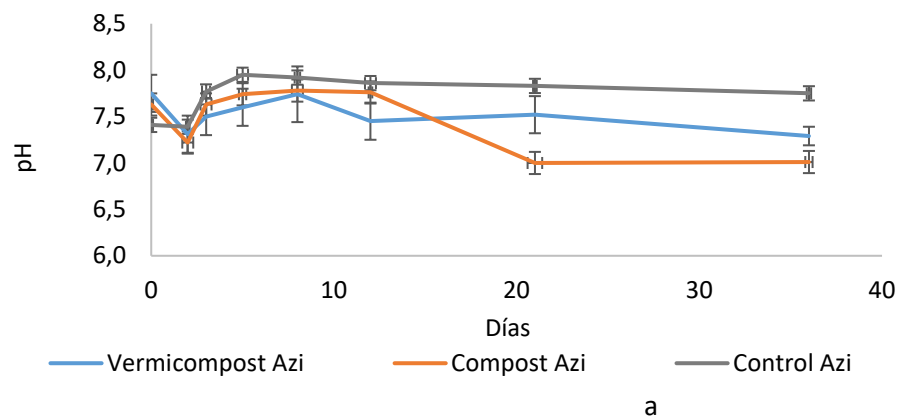


Figura 4.5.3. Evolución frente al control del a) pH y b) conductividad eléctrica durante el periodo de muestreo del compost y vermicompost de paja de arroz y lodo de depuradora con azitromicina (Az)

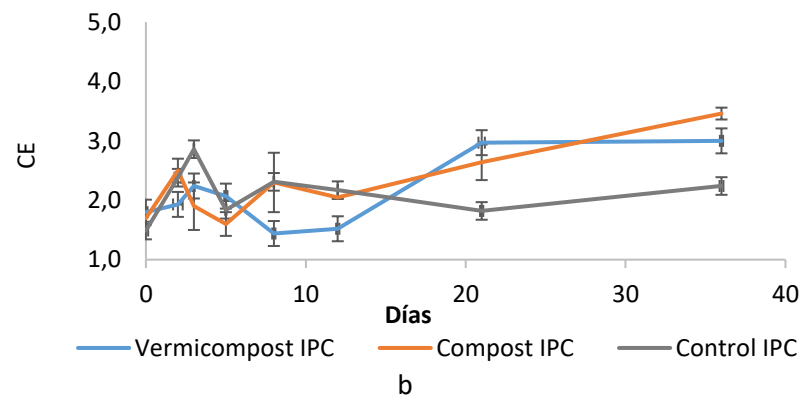
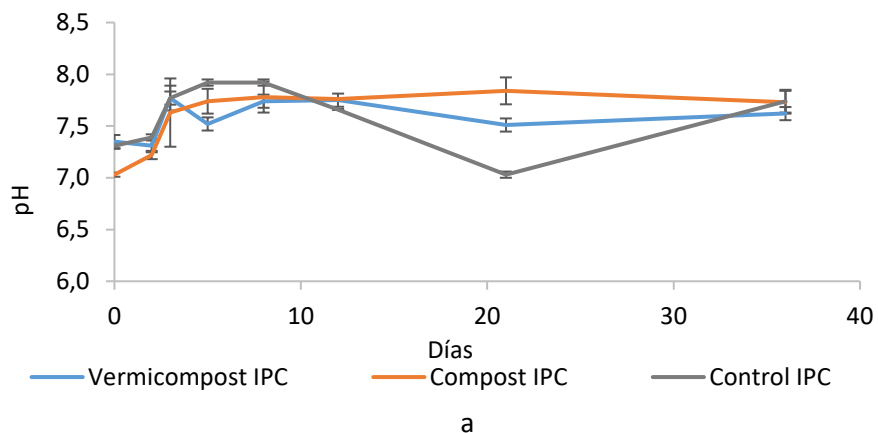


Figura 4.5.4. Evolución frente al control del a) pH y b) conductividad eléctrica durante el periodo de muestreo del compost y vermicompost de paja de arroz y lodo de depuradora de ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC)

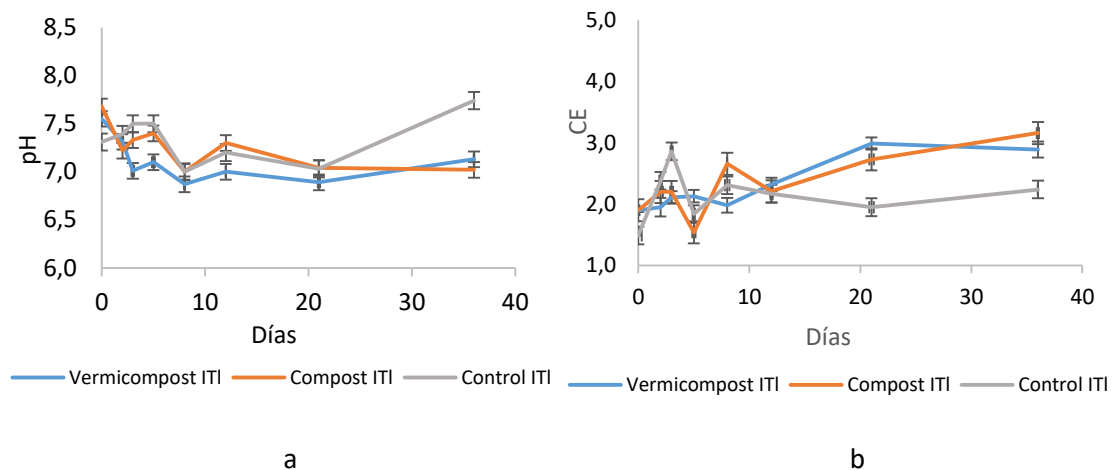


Figura 4.5.5. Evolución del a) pH y b) conductividad eléctrica durante el periodo de muestreo del compost y vermicompost de paja de arroz y lodo de depuradora con irbesartán y telmisartán (ITI)

Los valores de conductividad eléctrica obtenidos se encuentran dentro de los valores descritos en otros trabajos utilizando residuos similares (Marimón, 2017). En nuestro caso, los rangos finales se encuentran en valores de conductividad eléctrica entre 2,5 y 3,8 $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$. En todos los compost y vermicompost adicionados de ITI (2,5 y 3,2 $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$) presentan los valores inferiores de este parámetro (Figura 4.5.5b).

Los valores de conductividad eléctrica fueron ligeramente más bajos para el control respecto a los tratamientos y especialmente en la muestra adicionada con IPC, con escasa desviación en todos los casos (0,1 - 0,2). Las oscilaciones durante los procesos de este parámetro indican la evolución y fases que se producen en dichos procesos, y los cambios que se van produciendo en la microflora existente en las muestras. Durante los primeros días, en general, en las muestras se produce un aumento de la conductividad eléctrica, para a continuación ir descendiendo alrededor del día 10 y volviendo a elevarse a partir del día 20 en ambos procesos, cuando se inician las últimas fases del compostaje y vermicompostaje. Los valores más elevados se obtienen en el compostaje y vermicompostaje de IPC, quizás la elevada solubilidad de estos medicamentos influye en que el compost eleve dichos valores (Rafols *et al.*, 1997; Hernando *et al.*, 2006; Parolini *et al.*, 2011; Collado *et al.*, 2012; Alves *et al.*, 2013b). Las similitudes mayores en los valores de las muestras se obtuvieron para el pH de las muestras compostadas y vermicompostadas con Az y IPC.

La conductividad eléctrica de un compost y vermicompost está determinada por la naturaleza y composición del material de partida, fundamentalmente por su concentración de sales y en menor grado por la presencia de iones amonio o nitrato formados durante el proceso (Sánchez-Monedero, 2001). Los resultados obtenidos indican que la salinidad tiende a aumentar debido probablemente a la mineralización de la materia orgánica y a la disminución del

contenido de humedad, hecho que produce un aumento de la concentración de nutrientes. Este parámetro es importante puesto que la dosis de un compost o vermicompost que puede añadirse a un suelo debe ser proporcional a los valores de su conductividad eléctrica. La importancia de este parámetro radica en que un exceso de salinidad en los productos finales dificulta la absorción de agua por las raíces de las plantas, en esas condiciones, sólo prosperan las especies resistentes a salinidades altas. La conductividad eléctrica refleja la evolución del grado de salinidad e indica tal característica en el producto final y su posible efecto fitotóxico o fitoinhibidor sobre el crecimiento de las plantas cuando es aplicado al suelo. Biruntha *et al.*, 2020) en una experiencia de compostaje y vermicompostaje con residuo de caña de azúcar, coco y residuos vegetales con algas indican que el pH en los vermicompost mostró una disminución, mientras que los valores de conductividad eléctrica se incrementaron durante el proceso.

El contenido en materia orgánica se considera como el principal factor para determinar la calidad agronómica en los productos obtenidos tras el compostaje y vermicompostaje. La velocidad de transformación de la materia orgánica depende de su naturaleza física y química, de los microorganismos que intervienen, y de las condiciones físico-químicas del proceso (Alidadi *et al.*, 2016). Tras ambos procesos se produce un descenso del carbono orgánico debido probablemente a su mineralización y a la consiguiente pérdida de carbono en forma de anhídrido carbónico (Zucconi *et al.*, 1986).

Se observaron diferencias entre el proceso de compostaje y el de vermicompostaje, ya que en este último proceso, y como efecto de las lombrices, la velocidad de transformación de la materia orgánica fue mayor con un descenso más acusado que en el caso del compostaje.

Como indicativo de la favorable evolución de los procesos del compostaje y vermicompostaje el carbono orgánico oxidable disminuye a lo largo de los procesos, característica común en productos orgánicos procesados (Domínguez *et al.*, 1997a). En la Figura 4.5.6 se muestran los datos obtenidos en esta determinación. Se comprueba que en todas las muestras hay una disminución continua de este parámetro. Se observó que en el proceso de vermicompostaje, debido probablemente a la acción combinada de lombrices y microorganismos, se generó una disminución ligeramente más pronunciada, obteniendo valores menores de carbono orgánico oxidable que en el proceso de compostaje y en todos los casos con escasa desviación ($13,2 \pm 0,15$ y $10,5 \pm 0,18$) (Tabla 4.5.1).

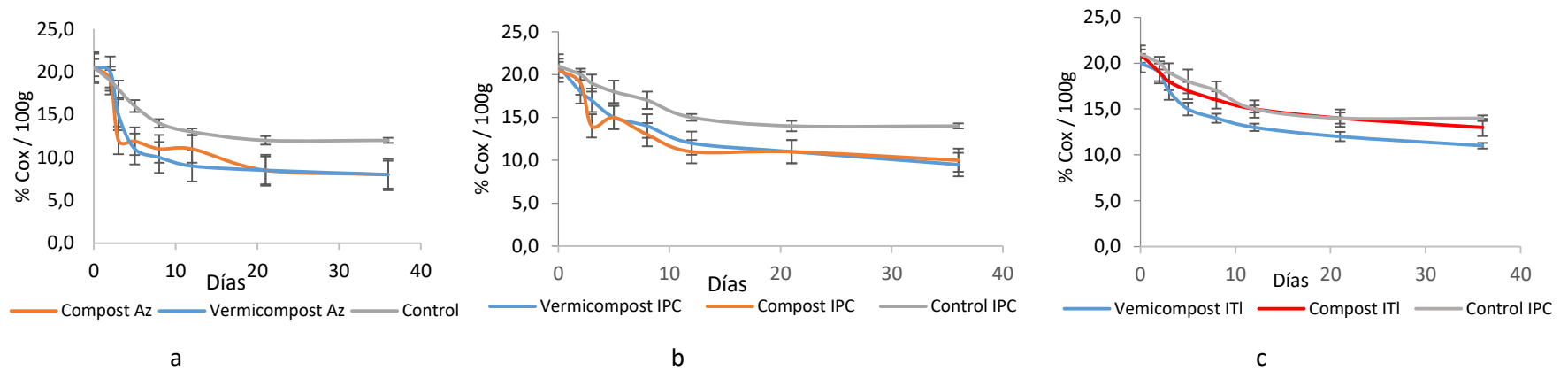


Figura 4.5.6. Evolución del carbono orgánico oxidable durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartán y telmisartán (ITI)

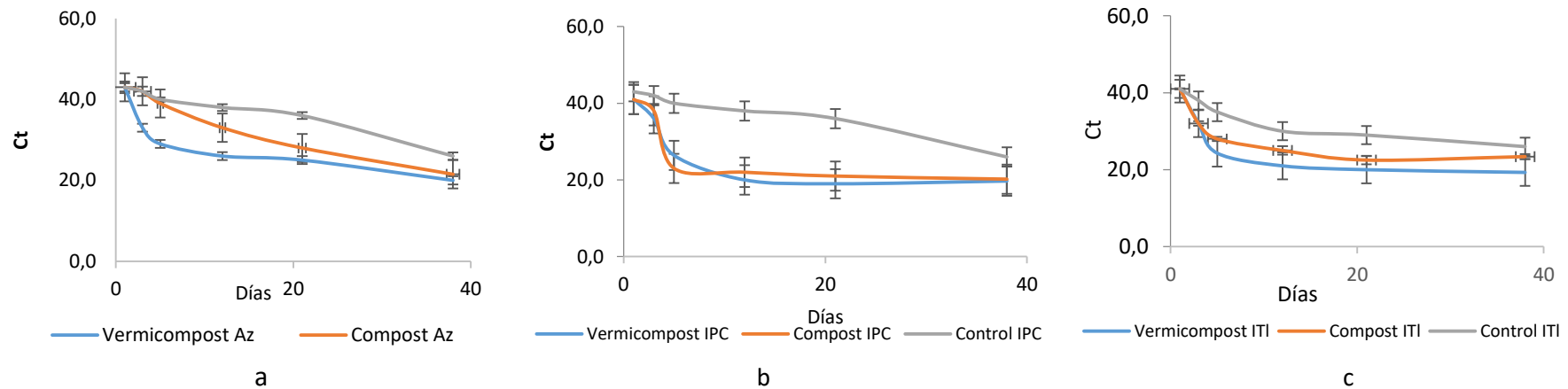


Figura 4.5.7. Evolución del carbono total durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC) c) irbesartán y telmisartán (ITI)

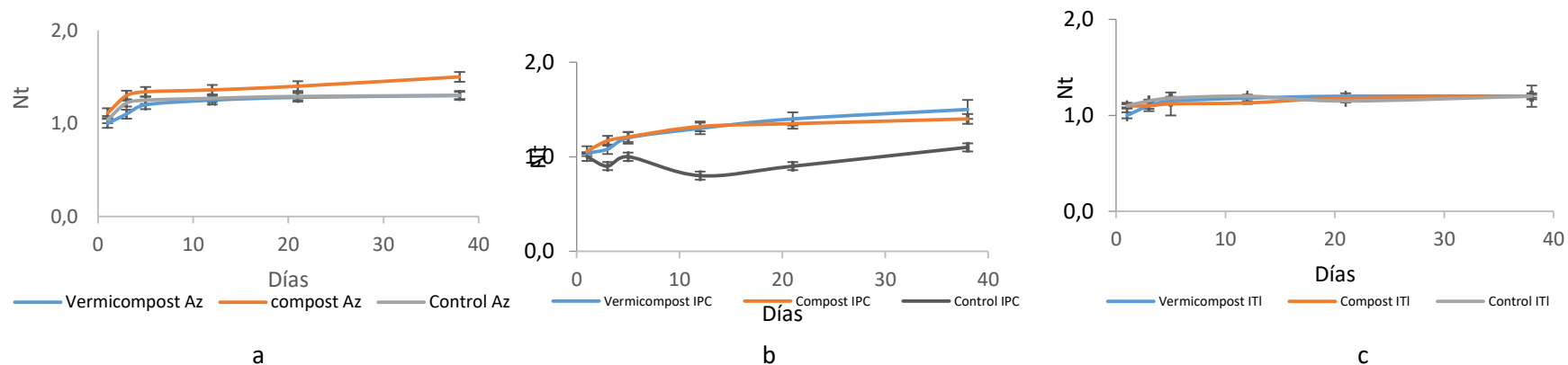


Figura 4.5.8. Evolución del nitrógeno total durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartán y telmisartán (ITI)

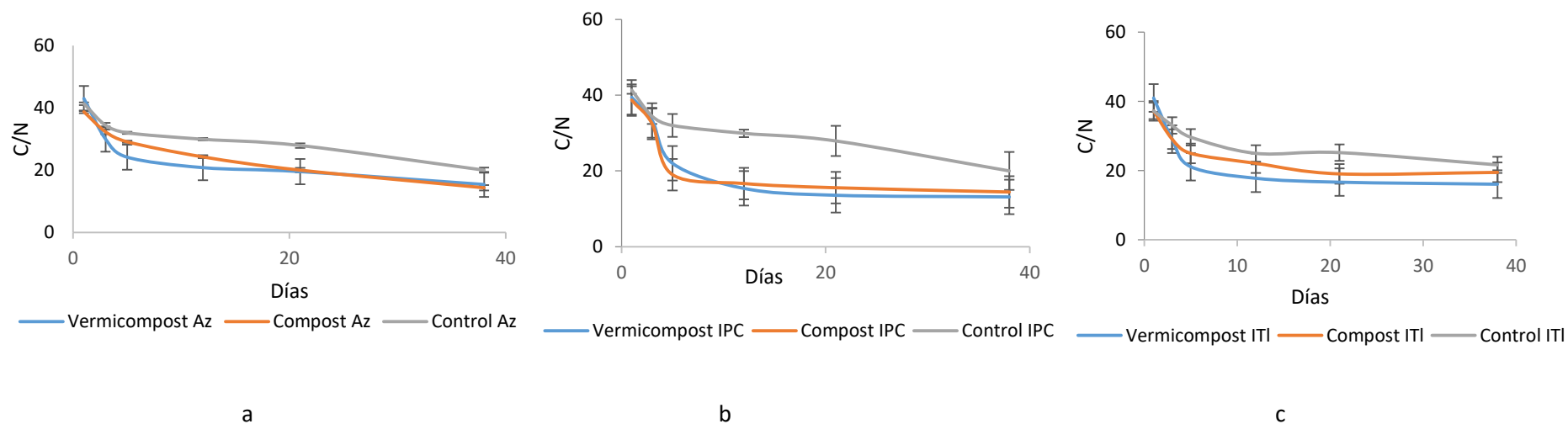


Figura 4.5.9. Evolución de la relación C/N durante los experimentos de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC) y c) irbesartán y telmisartán (ITI)

No obstante, los valores más altos se han obtenido en ambos casos para los controles indicando el efecto negativo de los medicamentos adicionados en ambos procesos sobre la actividad biológica y la fauna de los suelos responsables de la transformación de la materia orgánica de estos residuos. Wang *et al.*, (2017) y Huang *et al.*, (2019) estudiaron el papel de la mucosidad en el sistema de humus de lombriz durante la descomposición y humificación de desechos orgánicos, viendo que aceleraba la mineralización y las tasas de humificación de los componentes orgánicos. En dicha experiencia el carbono disuelto mostró un aumento entre 9,8 %-y 37,5 % en los tratamientos y estimuló significativamente la actividad microbiana.

Por otra parte, estudios realizados por Huerta *et al.*, (2015) observaron una fuerte correlación entre los factores de retardo de eliminación de carbamazepina, gemfibrozil e ibuprofeno y el contenido de carbono orgánico del sustrato, aumentando dicho retardo con el aumento del contenido de carbono orgánico.

En nuestro caso, los valores finales del contenido de N% en vermicompostaje y compostaje son bastante similares, encontrándose todos ellos en rangos que van desde 1,2 a 1,5 g.kg⁻¹ (Figuras 4.5.6; 4.5.7 y 4.5.8) indicando pocas diferencias en general, observando los valores más elevados para el vermicompost de IPC (1,5 ± 0,02) y para el compost de azitromicina. (1,5 ± 0,02), y los más bajos para el compost y vermicompost de ITL 1,2 g.kg⁻¹ en ambos casos, pero sin marcar diferencias claras en ambos procesos.

Los valores más elevados de N obtenidos para el vermicompostaje podrían ser debidos a que en el compostaje las elevaciones fuertes de temperatura pueden suponer pérdida de nitrógeno en formas volátiles, no obstante, autores como Villar *et al.*, (2016), indican que las lombrices de tierra producen cambios en la dinámica microbiana cambiando su estructura y actividad, reducen la biomasa a grupos determinados con mayor actividad en la degradación de N y P (Tognetti *et al.*, 2014, Iglesias *et al.*, 1991; Iglesias *et al.*, 1992), pero estos efectos no son notables en los resultados de nuestras muestras, aunque si el efecto de la temperatura mencionado con anterioridad.

Por otra parte, Kotzerke *et al.*, (2010) demostraron, a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que la aplicación de estiércol contaminado con medicamentos como sulfadiazina produce un impacto negativo sobre las enzimas nitrato reductasas de los microorganismos desnitrificantes que colonizaron el tracto digestivo de *E. foetida*, indicando que este efecto reduce significativamente la liberación de nitrógeno asimilable al medio. No obstante, Chen *et al.*, (2020) describen la inhibición producida por los antibióticos en el proceso de nitrificación y el aumento de la emisión de NH₃ durante el compostaje, este hecho no se observó en nuestra experiencia, aunque sería interesante desarrollar estudios en esta dirección para aclarar su efecto en el compostaje y vermicompostaje.

Según el Real Decreto 506/2013, de 28 de junio, sobre productos fertilizantes, la relación C/N para enmiendas orgánicas de compost debe ser menor de 20 y si observamos la tabla 4.5.1 la relación C/N final obtenida cumplió con los requisitos establecidos en esta norma con valores entre 13 y 18, siendo en general menores en los vermicompost en todos los casos concretamente 14,3 (± 2), 14,4 (± 2) y 18,0 (± 2) para los compost de Az, IPC y ITL respectivamente, mientras que en los vermicompost los valores fueron de 15,4 (± 1), 13,1 (± 2) y 16,0 (± 2) para las muestras. La relación C/N influye en la velocidad del proceso y en la pérdida de amonio durante el mismo, por lo que el rango óptimo teórico establecido para relación C/N durante dichos procesos está entre 25 a 35. Si la relación C/N es superior a 40 la actividad biológica disminuye, ya que los microorganismos deben oxidar el exceso de carbono, con la consiguiente ralentización del proceso debido a la deficiente disponibilidad de N para la síntesis proteica. En el compostaje y vermicompostaje de lodo, paja de arroz y estiércol de conejo se observa en los valores finales una baja relación C/N indicando que ambos se realizaron con una elevada rapidez, por lo que el nitrógeno se desprende de forma amoniacal, y con esto se produce una pérdida de este elemento (Zhang, *et al.*, 2000; Zhu, 2006; Collado *et al.*, 2012; Cheng *et al.*, 2018b; Thian *et al.*, 2018, Thian *et al.*, 2019). Biruntha *et al.*, (2020) en un estudio realizado de compostaje y vermicompostaje revelaron que la calidad del vermicompost, el crecimiento del gusano y la reproducción dependen de la relación C/N. El carbono es fuente de energía para los microorganismos y el nitrógeno es necesario para la síntesis proteica. La relación adecuada de estos nutrientes, favorece el crecimiento y la reproducción de los microorganismos durante los procesos, por lo que, Poincelot (1975); Sztern y Pravia (2001); Liu *et al.*, (2018) y Liu *et al.*, (2019), coinciden que una relación C/N óptima favorece la transformación del material en los procesos de compostaje y vermicompostaje (Guo *et al.*, 2012).

Los contenidos de fósforo total finales determinados en las mezclas con azitromicina y con ITL en el compost y vermicompost se mantienen proporcionales respecto a los valores iniciales de los productos utilizados. Los valores finales son superiores en vermicompostaje con valores de 2,4 g.kg⁻¹ y 2,5 g.kg⁻¹ con valores bajos de desviación para compostaje y vermicompostaje respectivamente. En vermicompostaje los valores más elevados se obtienen con la mezcla adicionada de ITL con un valor de 2,9 g.kg⁻¹.

La disminución de la masa de carbono orgánico en la mezcla de residuos utilizada durante los procesos de biodegradación y estabilización estudiados provoca un moderado aumento en la cantidad de fósforo ya que las pérdidas de este elemento por volatilización o lixiviación son escasas, es esperable un ligero incremento en la concentración del mismo a lo largo de dichos procesos (Liu *et al.*, 2019). En el caso del vermicompostaje (Figura 4.5.8), se produjo un aumento mayor en comparación en todos los casos, este efecto puede atribuirse a

la fragmentación y división mecánica del material orgánico (sustrato) ocasionadas por las lombrices y la actividad microbiana que estos anélidos generan durante el vermicompostaje, así como a la estimulación de la actividad enzimática desarrollada dentro del tracto digestivo de las mismas (Subramanian *et al.*, 2010; Forján, *et al.*, 2017).

Los cambios observados en los parámetros indicados en el VC, implican que en este proceso se obtuvo un mayor grado de humificación de la materia orgánica (Roig *et al.*, 1998; Hafidi *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2019), así como un mayor nivel de mineralización. Asimismo, las propiedades químicas de los productos indicados en la figuras 4.5.8, en general coinciden con los valores observados en la literatura para residuos orgánicos estabilizados (Chen *et al.*, 1996; Vincelas y Loquet, 1997; Bernal *et al.*, 1998; Sainz *et al.*, 2000; Ignatowicz, 2017; De Figueiredo *et al.*, 2019) y cumplen con las especificaciones indicadas para abonos orgánicos.

En relación a los contenidos de metales, su concentración en los compost y vermicompost finales se eleva con respecto a las mezclas iniciales, lo que es debido a la concentración de la materia inorgánica, como consecuencia de la degradación de la materia orgánica durante el proceso de compostaje (Feng, 2016). En el caso de los compost, encontramos un aumento mayor de algunos microelementos como es el caso del zinc con valores de 110 mg.kg⁻¹ en los productos finales con Az 105 mg.kg⁻¹, con ITL y 122 mg.kg⁻¹ con adición de IPC, debido además de lo dicho anteriormente, a la mayor biodegradación de los materiales por la acción de las lombrices. Por el contrario el níquel, aumenta su concentración en los vermicompost 4,3 mg.kg⁻¹, con Az 3,9 mg.kg⁻¹ con ITL y 2,0 mg.kg⁻¹ con adición de IPC, quizás por su mayor adhesión por la materia orgánica. Con valores ligeramente inferiores en los compost finales 1,6 mg.kg⁻¹, con Az 2,0 mg.kg⁻¹ con ITL y 2,1 mg.kg⁻¹ con adición de IPC.

Para el cobre, no hay grandes diferencias entre el compost y vermicompost siendo ligeramente superior para los productos finales con ITL y IPC con concentraciones en los vermicompost de 438 mg.kg⁻¹, con Az 42 mg.kg⁻¹ con ITL y 40 mg.kg⁻¹ con adición de IPC. Con valores ligeramente inferiores en los compost finales 39 mg.kg⁻¹, con Az 39 mg.kg⁻¹ con ITL y 41 mg/kg con adición de IPC.

Para el cadmio, las diferencias más importantes son la mayor acumulación en las muestras con ITL frente al resto 0,8 mg.kg⁻¹ en compost y 0,9 mg.kg⁻¹ en vermicompost. El resto de valores son en todos los casos inferiores a 0,5 mg.kg⁻¹.

Los valores para los productos finales presentan concentraciones en los vermicompost de 0,2 mg.kg⁻¹, con Az 0,9 mg.kg⁻¹ con ITL y 0,1 mg.kg⁻¹ con adición de IPC. Con valores ligeramente inferiores en los compost finales 0,5 mg.kg⁻¹, con Az 1 mg.kg⁻¹ con ITL y 0,4 mg.kg⁻¹ con adición de IPC.

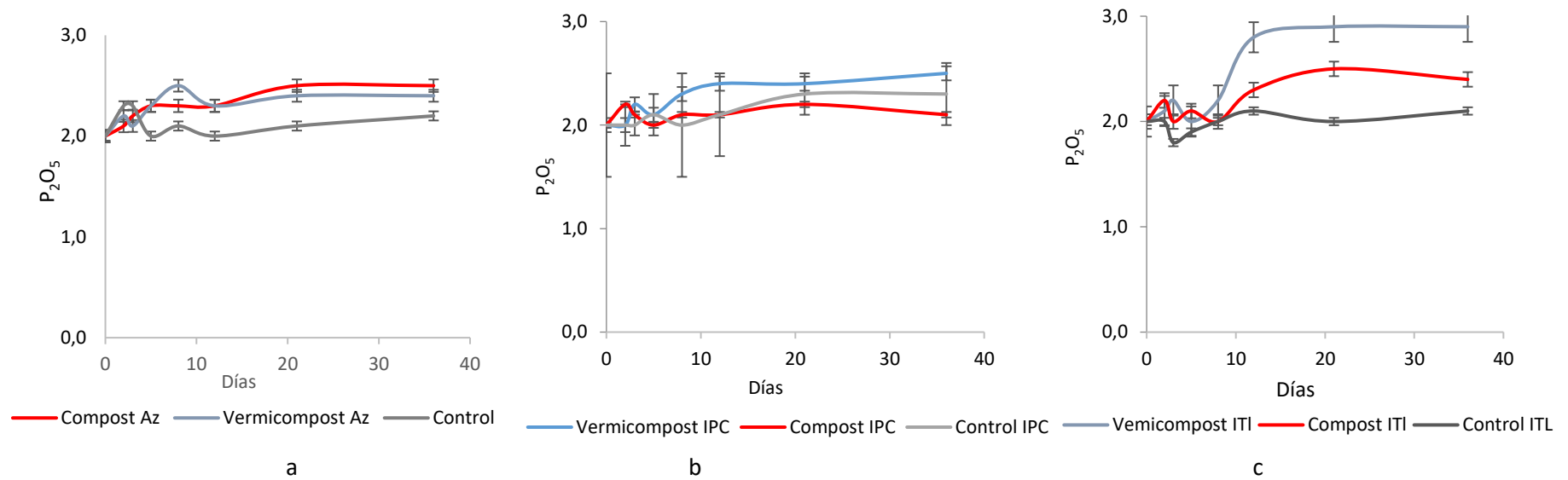


Figura 4.5.10. Evolución del P_2O_5 durante las experiencias de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína, c) ibesartán y telmisartán (ITI)

La concentración de los metales de los compost y vermicompost estudiados en este trabajo queda representada en las Figuras 4.5.11 y 4.5.12.

La legislación regula el límite máximo de metales pesados que pueden contener los productos fertilizantes elaborados con materias primas de origen animal o vegetal. Con los datos obtenidos, podemos clasificar los productos resultantes de este compostaje y vermicompostaje del tipo clase A, debido a que los valores del Cobre están por debajo de 70 mg.kg^{-1} y el contenido del níquel, se encuentra en valores inferiores a 25 mg.kg^{-1} con un ligero aumento en el caso de la concentración de Zn.

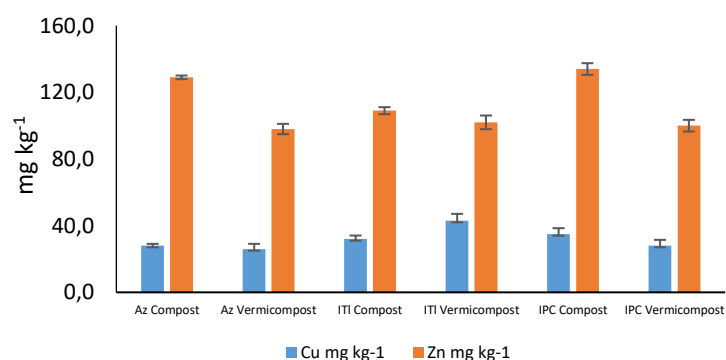


Figura 4.5.11. Contenido de los metales Cu y Zn en muestras finales del compostaje y vermicompostaje con los medicamentos

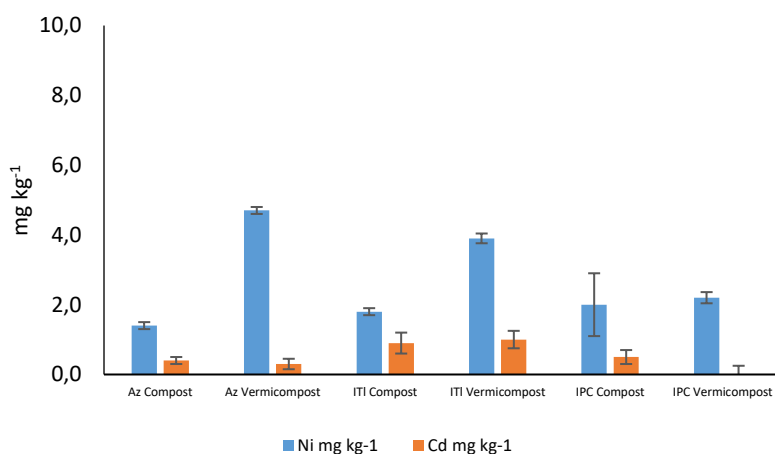


Figura 4.5.12. Contenido de los metales Ni y Cd en muestras finales del compostaje y vermicompostaje con los medicamentos

En el caso de metales como el Zn, en nuestras muestras, se observa el potencial de valorización de las lombrices y su capacidad para desintoxicar los metales en los desechos industriales (Elyamine *et al.*, 2019; Gogoi *et al.*, 2015), esto se debe al fuerte sistema metabólico que presentan y a la implicación de los microbios intestinales y las células chloragocyte de la

lombriz. Jiang *et al.*, (2018), indicaron que la aplicación de vermicompost podría aumentar notablemente la capacidad de sorción de los suelos aumentando el contenido de N, P y materia orgánica en el suelo.

Entre los indicadores de la maduración la relación entre sustancias húmicas/sustancias fúlvicas (Figuras 4.4.13a, 4.4.13b y 4.4.13c) y el índice de humificación (Figuras 4.4.14a, 4.4.14b y 4.4.14c) hacen referencia al grado de estabilidad de la materia orgánica, siendo índices de maduración del compost y vermicompost. El índice de humificación refleja el contenido de materia orgánica fácilmente biodegradable en los procesos y depende de la composición de los materiales utilizados en los procesos.

En los tres casos, los valores finales se muestran similares dentro de un rango que oscila de 3,5 a 4 con valores bajos de desviación. Los rangos más elevados se obtienen en los vermicompost y concretamente con los medicamentos Az e ITI. Los valores oscilan de 3,8 a 3,3 para el compost y vermicompost con azitromicina; 3,1 y 4 en el caso del compost y vermicompost con ITI 3,1 y 4; y de 3,4 y 3,7 para IPC.

En todos los experimentos tanto la relación ácidos húmicos/ácidos fúlvicos como el índice de humificación (Figura 4.5.14) siguen una tendencia ascendente a lo largo de todo el proceso posiblemente debido a la disminución por degradación de los productos orgánicos alifáticos fácilmente disponibles. Este hecho coincide con estudios previos (Plaza *et al.*, 2007, Jurado *et al.*, 2014, Kumar, 2018), donde ambos parámetros aumentan en relación a la disminución de la materia orgánica total a lo largo del proceso. Wu *et al.*, (2017) identificaron los factores que afectan a la formación de las sustancias húmicas, en las que interviene el aumento de la temperatura en la fase termófila, y que son polimerizadas en las fases de enfriamiento y maduración (Zhao *et al.*, 2017; Awasthi *et al.*, 2018; Zhangab *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2017).

Los valores iniciales de la relación ácidos húmicos/ácidos fúlvicos del compostaje y vermicompostaje presentan un aumento en los procesos en el orden Az, ITI y IPC con un aumento sucesivo desde el inicio del proceso en todos los casos. La muestra de vermicompost también presentó un aumento progresivo durante todo el proceso pero con unos valores más elevados; y con valores finales de 3,3; 3,7 y 4 de la relación ácidos húmicos/ácidos fúlvicos.

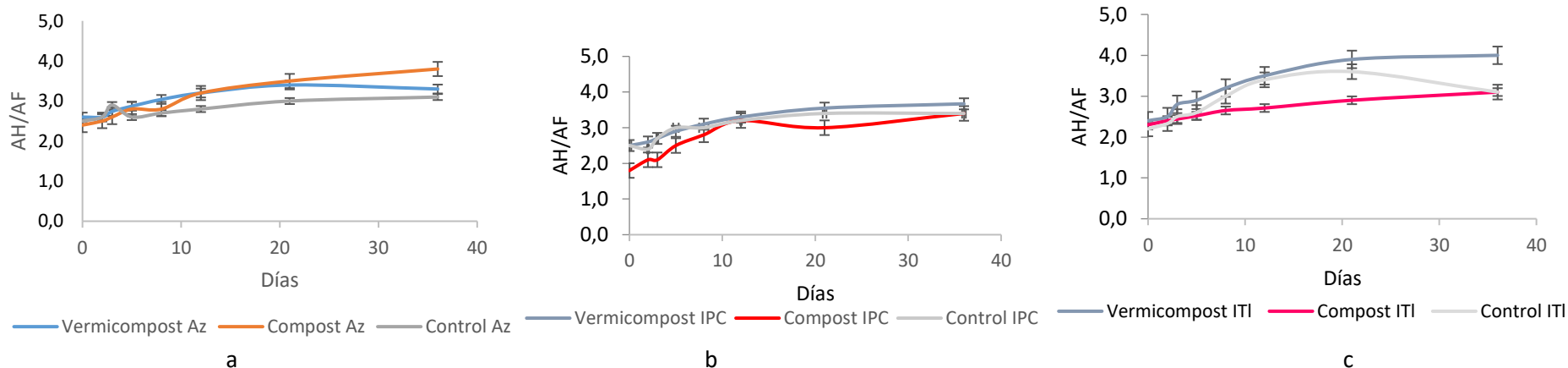


Figura 4.5.13. Evolución de la relación AH/AF durante las experiencias de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartán y telmisartán (ITI)

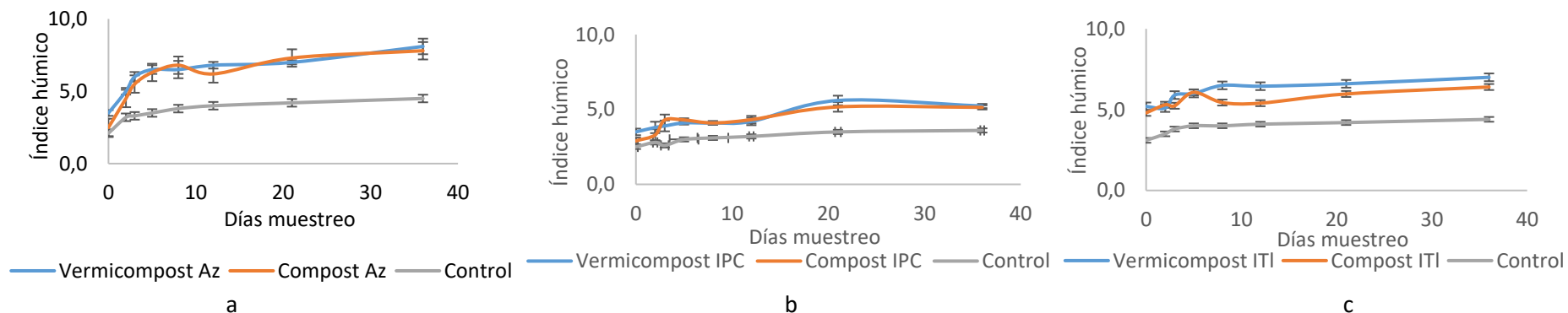


Figura 4.5.14. Evolución del índice húmico durante las experiencias de compostaje y vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora con a) azitromicina (Az), b) ibuprofeno, paracetamol y cafeína (IPC), c) irbesartán y telmisartán (ITI)

Los valores obtenidos para los índices húmicos corresponden para el compost con azitromicina a 6,8 y 7,1, en el caso de IPC 5,11 y 5,23, y 6,4 y 7,0 en el caso del compost y vermicompost adicionado con ITL, obteniéndose en el primer caso los valores más elevados. En todos los casos los valores aumentan a lo largo de los procesos. La mayoría de los estudios muestran que el humus de lombriz producido a partir de desechos orgánicos contiene mayores cantidades de sustancias húmicas, y que desempeña un papel importante en el crecimiento de las plantas (Kulikowska *et al.*, 2011; Kulikowska *et al.*, 2015; Lag-Brotons, 2016; Huang *et al.*, 2018).

El estudio de las características biológicas de las mezclas se fundamenta en que la actividad metabólica de los microorganismos desempeña un papel clave durante el proceso de descomposición y estabilización de la materia orgánica. Según Li *et al.*, (2017), las poblaciones microbianas varían a lo largo del compostaje y vermicompostaje, integrándose en un proceso dinámico que se caracteriza por la modificación progresiva de las características del material orgánico y las condiciones durante dicho proceso, lo que se relaciona con cambios en la actividad enzimática.

Los resultados obtenidos con el microtest de las tiras API-ZYM para evaluar la actividad enzimática, se muestran en la Tabla 4.5.3. En algunos casos se obtienen variaciones, y cambios en las actividades enzimáticas comparando los procesos, mientras que en otros casos la actividad apenas se modifica. En los compost con Az y IPC se obtienen los mayores resultados para los controles en las fosfatasas ácidas y alcalinas, siendo también elevados en las galactosidasas. Igualmente para los vermicompost adicionados de azitromicina es donde se obtienen valores elevados en las fosfatasas.

Los valores de las fosfatasas fueron elevados en los compost y vermicompost finales, mientras que valina arilamidasa, cistina arilamidasa, tripsina, quimotripsinas, α -manosidasas y α -fucosidasas presentaron siempre muy baja actividad. Las estererasas mostraron una actividad elevada para los compost y una baja en los vermicompost. Las lipasas se mantuvieron estables con una moderada actividad, mientras que las α -galactosidasas, β -galactosidasas, α -glucosidasas y β -glucosidasas no presentaron incremento de la actividad enzimática. Este hecho se relaciona con una disminución de la toxicidad de los residuos durante el proceso de compostaje. Los valores obtenidos fueron similares a los obtenidos por Tiquia (2002b), quien destaca que la alta actividad de estas enzimas se deba al alto contenido en materia orgánica que estimula el crecimiento de las bacterias aeróbicas y por tanto, la síntesis de enzimas (Nikaeen *et al.*, (2015). Acosta *et al.*, (2000) y Tiquia *et al.*, (2002) indican que la población de hongos y actinomicetos aumentan debido a microorganismos activos en la degradación de celulosa)

Tabla 4.5.3. Actividad enzimática de las muestras obtenidas por compostaje y vermicompostaje

Enzima testado	Sustrato	Día 38 Compost				Día 38 Vermicompost		
		Control	ITI	Az	ICP	ITI	Az	ICP
Fosfatasa alcalina	2-naftil fosfato	4	3	4	2	1	2	2
Fosfatasa ácida	2-naftil fosfato	4	4	4	2	3	5	3
Naftol-AS-BI-fosfohidro	Naftol-AS-BI-fosfato	2	1	2	1	2	1	1
Esterasa (C4)	2-naftil-butirato	3	4	1	2	2	2	3
Lipasa (C14)	2-naftil-miristato	2	2	2	1	0	0	2
Esterasa Lipasa (C8)	2-naftil-caprilato	2	4	1	3	1	2	3
Leucina arilamidasa	L-leucil-2-naftilamina	1	2	1	2	1	1	2
Valina arilamidasa	L-valil-2-naftilamida	1	1	2	1	1	1	1
Cistina arilamidasa	L-cistil-2-naftilamida	0	1	1	1	0	1	1
Tripsina	N-benzoil-DL-arginina-2-naftilamida	1	1	1	1	1	1	2
α -quimotripsina	N-glutaril-fenilalanina-2-naftilamida	1	1	1	1	1	1	1
α -galactosidasa	6-Br-2-naftil- α -D-galactopiranosido	3	2	2	2	2	2	4
β -galactosidasa	2-naftil- β -D-galactopiranosido	3	1	2	1	2	2	1
β -glucuronidasa	Naftol-AS-BI α -D-glucuronido	3	4	3	3	3	2	4
α -glucosidasa	2-naftil- α -D-glucopiranosido	2	1	1	2	2	1	1
β -glucosidasa	6-Br-2-naftil- β -D glucopiranosido	1	1	1	1	1	1	1
α -manosidasa	6-Br-2-naftil- α -D-mannopiranosido	1	1	1	1	1	1	1
α -fucosidasa	2-naftil- α -L-fucopiranosido	1	1	1	1	1	1	1

Reacciones de baja actividad (valor 1), actividad moderada (valores de 2-4), alta actividad (valor 5).
(Reacción negativa (valor 0), valores entre 1 y 2 (> 10 y > 20 η moles), valores 3 y 5 (> 20 y > 40 η moles))

positivamente con enzimas como esterasa, valina amino-peptidasa, α -galactosidasa, β -glucosidasa y lipasa.

Mientras que la β -galactosidasa (enzima implicada en la hidrólisis de lactosa) (Tiquia *et al.*, 2002), tuvo la correlación positiva más significativa con poblaciones microbianas, como heterótrofos aeróbicos totales, bacterias oxidantes de amonio y nitrito, bacterias desnitrificantes y coliformes fecales, pero la cistina amino peptidasa, la quimotripsina y la tripsina no mostraron evidencia de actividad durante todo el período de compostaje.

Para autores como Villar *et al.*, (2016), la presencia de lombrices reduce significativamente la biomasa microbiana y todos los grupos microbianos (bacterias Gram positivas, bacterias Gram negativas y hongos), así como actividades de fosfatasa alcalina y celulasa. En su caso, en una experiencia con un tratamiento combinado de compostaje y vermicompostaje mostró un menor desarrollo de lombrices, pero mayor biomasa bacteriana y fúngica que el tratamiento de vermicompostaje, y mayores diferencias, en comparación con el control sin lombrices de tierra, en celulasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina y ácida.

En nuestro caso, ambos tratamientos compostaje y vermicompostaje fueron adecuados para la estabilización de lodos y la eliminación de medicamentos, incluso algunos autores opinan que un tratamiento combinado de compostaje y vermicompostaje puede ser un proceso más viable para la maduración de lodos (Tiquia *et al.*, 2002a; Deeb, 2017; Kumar *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2019).

La finalidad del índice de respiración es conocer la madurez del compost o vermicompost. Según Chen *et al.*, (2019), los compost y vermicompost indican estabilidad si transcurridas 96 horas del inicio del proceso, los miligramos de oxígeno/gramos de muestra seca no supera el valor de 5 mg O₂/g materia seca. A la hora de la práctica se considera maduro y estable aquellos que se encuentren entorno a los 10 mg de oxígeno/g de materia seca (Platen y Wirtz, 1999; Roca-Pérez *et al.*, 2005; Roca-Pérez *et al.*, 2009).

En el caso del compost con azitromicina (Figura 4.5.15) se observa que el día 30 ya no se registró formación de CO₂ y que en el día 21 tanto el compost como el vermicompost ya podía considerarse maduro debido a que no superaba los 10 mg O₂/ g ms. Esto no sucedió en el compost con antihipertensivos pues el día 30 continuaba presentando formación de CO₂. Sin embargo, en el proceso de vermicompostaje tanto con azitromicina (Figura 4.4.15b) y antihipertensivos como con ibuprofeno, cafeína y paracetamol (Figura 4.4.16b) no se registró formación de CO₂ el día 30, aunque sí que se observaron diferencias respecto a la maduración, alcanzándose esta en el día 20 en el caso del vermicompost con azitromicina y el día 12 en el vermicompost con antihipertensivos y con el resto de medicamentos.

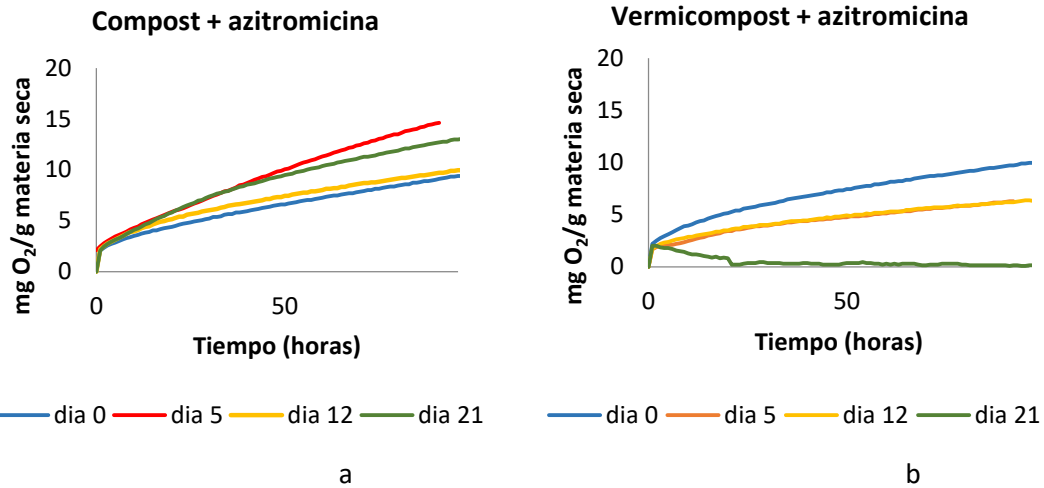


Figura 4.5.15. Evolución del índice de respiración en las muestras de a) compost y b) vermicompost con adición de azitromicina (Az)

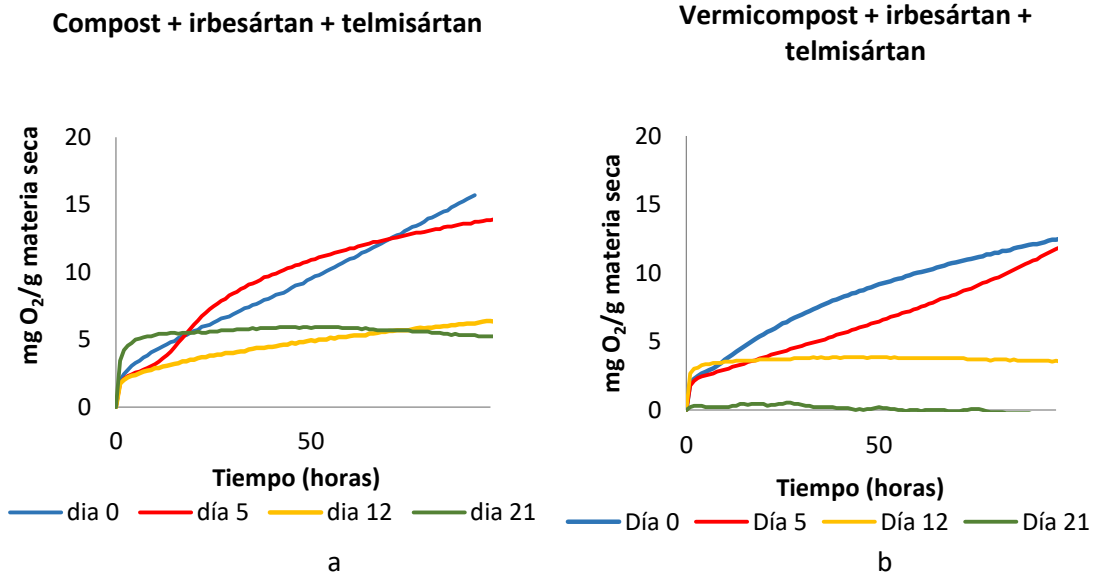


Figura 4.5.16. Evolución del índice de respiración en las muestras de a) compost y b) vermicompost con adición de irbesartán y telmisartán

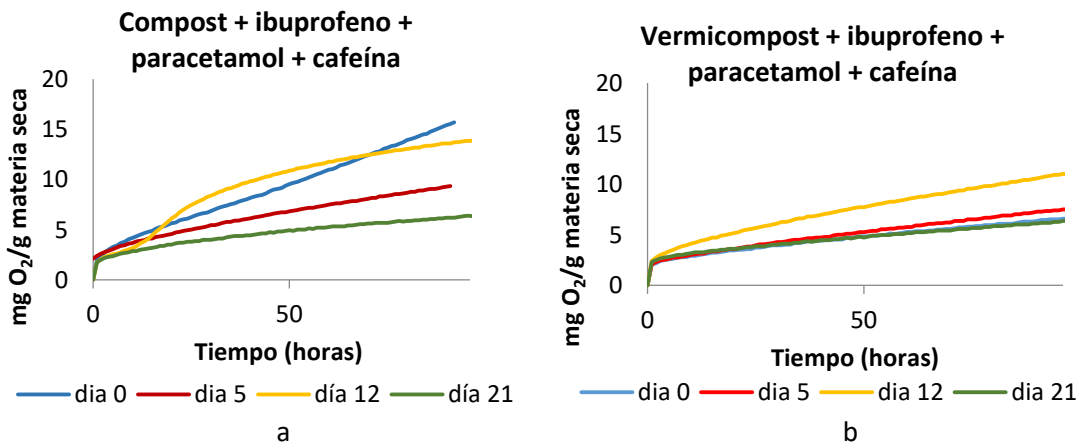


Figura 4.5.17. Evolución del índice de respiración en las muestras de a) compost y b) vermicompost con adición de ibuprofeno, paracetamol y cafeína

En compuestos biorresiduales se obtienen relaciones estadísticas entre el carbono orgánico total (en la fracción ácidos fúlvicos) y el nitrógeno soluble en agua (total y orgánico), siendo índices químicos que correlacionaron con la tasa de la respiración. La calidad del sustrato desempeña un papel importante en la regulación del flujo de carbono del suelo (Ilanoti *et al.*, 1993; Chen *et al.*, 2019).

4.5.2. Evolución de la eliminación de medicamentos durante los procesos de compostaje y vermicompostaje

El compostaje de lodos o estiércol es una tecnología de estabilización de materia orgánica conocida y utilizada, eficaz para reducir los niveles de medicamentos (Ezzariai *et al.*, 2018). Está comprobado que el compostaje de lodos o estiércol favorece entre el 17 y 100 % la eliminación de antibióticos u otros medicamentos, con una vida media calculada que oscila entre 1 y 105 días para la mayoría de estos productos, pero existen muy poca información sobre sus mecanismos de eliminación.

Son numerosos los autores entre ellos Kim *et al.*, (2012); Ramaswamy *et al.*, (2010); Wu *et al.*, (2011); Iranzo *et al.*, (2018); Chen *et al.*, (2019); Peltzer *et al.*, (2019), que han demostrado que la degradación de medicamentos mediante el proceso de compostaje y vermicompostaje resulta un método efectivo.

Nuestro estudio realizado sobre la eliminación de los medicamentos: azitromicina (Az), ibersartan y telmisaltan (ITL), ibuprofeno, cafeína y paracetamol (IPC) durante los procesos de compostaje y vermicompostaje, aporta resultados diferentes en función del tipo de medicamento y del proceso utilizado. La actividad antibacteriana de medicamentos macrólidos (grupo de antibióticos al que pertenece la azitromicina) son semejantes y se caracterizan por requerir una concentración mínima inhibitoria para conseguir un efecto bactericida, esta concentración debe mantenerse durante el tiempo suficiente para ser efectiva. En nuestra experiencia, la concentración de azitromicina en el día 38 del experimento se había reducido a un 90,97% en el compostaje y 98,85% en el vermicompostaje, alcanzando valores cercanos a cero el último día de muestreo. Esto indica que ambos procesos fueron óptimos para la eliminación de la azitromicina (Figuras 4.5.18a y b).

Respecto a la eliminación de los medicamentos antihipertensivos, se observó que la concentración de irbesartán disminuyó considerablemente a los 20 días del inicio del proceso, y que su degradación durante el vermicompostaje ($1,29 \text{ mg.kg}^{-1}$) fue ligeramente mayor que en el proceso de compostaje ($1,28 \text{ mg.kg}^{-1}$). Por el contrario en ambos procesos, la degradación de telmisartán no se realizó, apenas modificándose su concentración en el tiempo de estudio (Figuras 4.5.19 y 4.5.20).

La reducción de la concentración del irbesartán pudo ser debida a la degradación química, biológica y a la mineralización de la materia orgánica, no encontrándose razones obvias para que la degradación del irbesartán sea mayor que la del telmisartán. No obstante, los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren una menor susceptibilidad del telmisartán a la degradación química y/o biológica. Lo cual, podría deberse a la existencia de algún mecanismo de unión entre este antihipertensivo y los compuestos orgánicos de materiales utilizados para el proceso de compostaje, que provocasen la imposibilidad de que los microorganismos ataquen al telmisartán de igual forma que al irbesartán.

La concentración de ibuprofeno disminuye gradualmente en la mezcla compuesta por paja de arroz y lodo de depuradora a medida que evoluciona el proceso de compostaje y vermicompostaje. Comparado con el control, su degradación en el compost y vermicompost fue ligeramente superior. El día 38 se consiguió reducir en más de un 95 % su concentración, con valores de $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ para el vermicompostaje y $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ en compostaje (Figuras 4.5.21a y b). Según indican Ragugnetti *et al.*, (2011) el ibuprofeno es una de las sustancias tóxicas más abundantes en el medio acuático, lo que se justifica por la elevada vida media frente al resto de medicamentos estudiados. Se encuentra en las aguas de depuradora y su liberación al medio ambiente hace que acceda a todos los compartimentos de los ecosistemas (Chen *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2015; Fang *et al.*, 2017).

En la evolución del paracetamol se observó que la concentración inicial de 500 mg.kg^{-1} , desciende rápidamente a medida que avanzan los procesos de compostaje y vermicompostaje (Figura 4.5.22). Analizando los datos obtenidos se aprecia que el paracetamol se degrada con mucha rapidez, obteniéndose a partir del día 20 valores de concentración próximos a cero en ambos procesos, no obstante, las diferencias del contenido de este medicamento son notables, pues en el caso del vermicompostaje el día 1 su concentración ya se aproxima a cero, con una degradación del 100%.

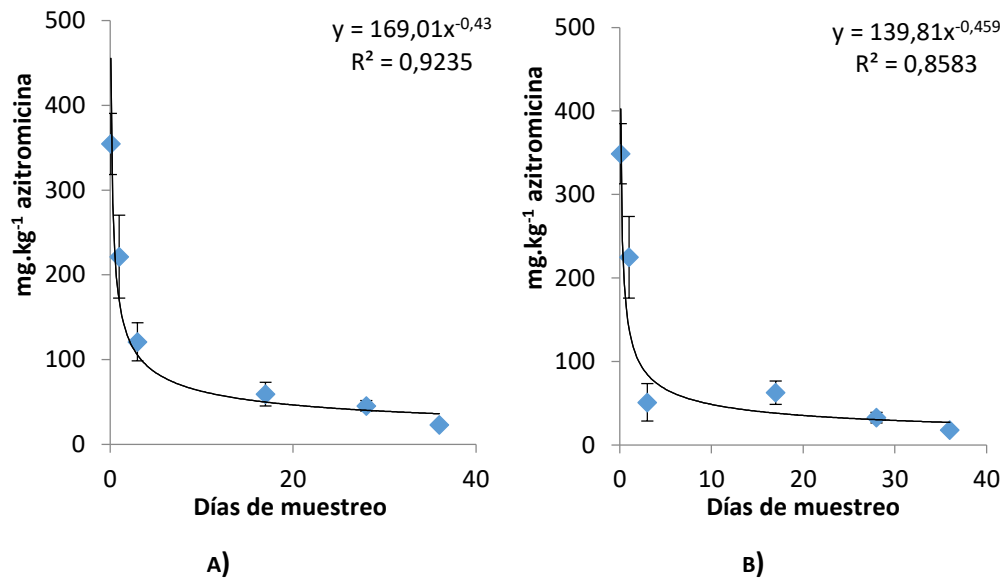


Figura 4.5.18. Evolución de la concentración de azitromicina durante los procesos de a) compostaje y b) vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora

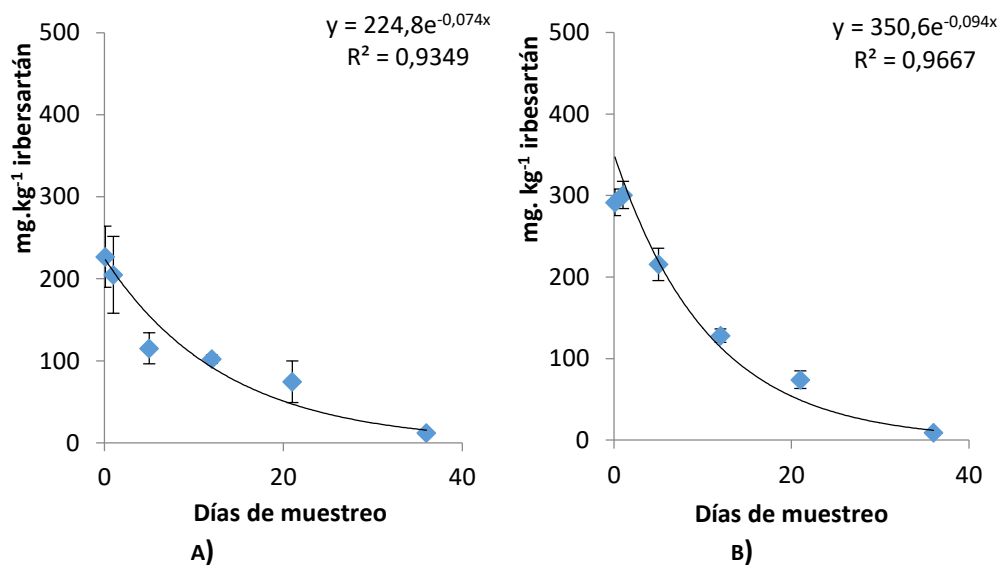


Figura 4.5.19. Evolución de la concentración de irbesartán durante los procesos de a) compostaje y b) vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora

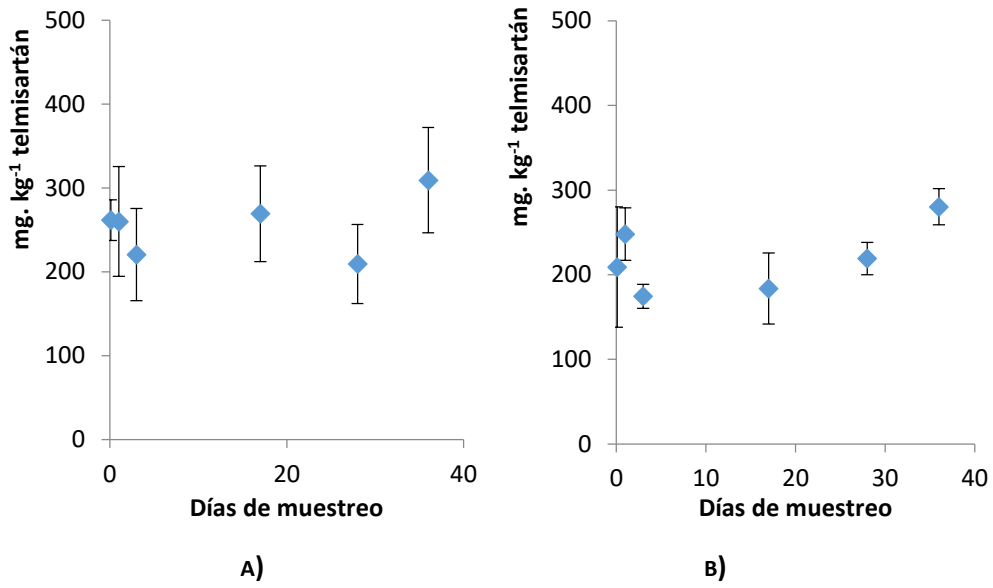


Figura 4.5.20. Evolución de la concentración de telmisartán durante los procesos de a) compostaje y b) vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora

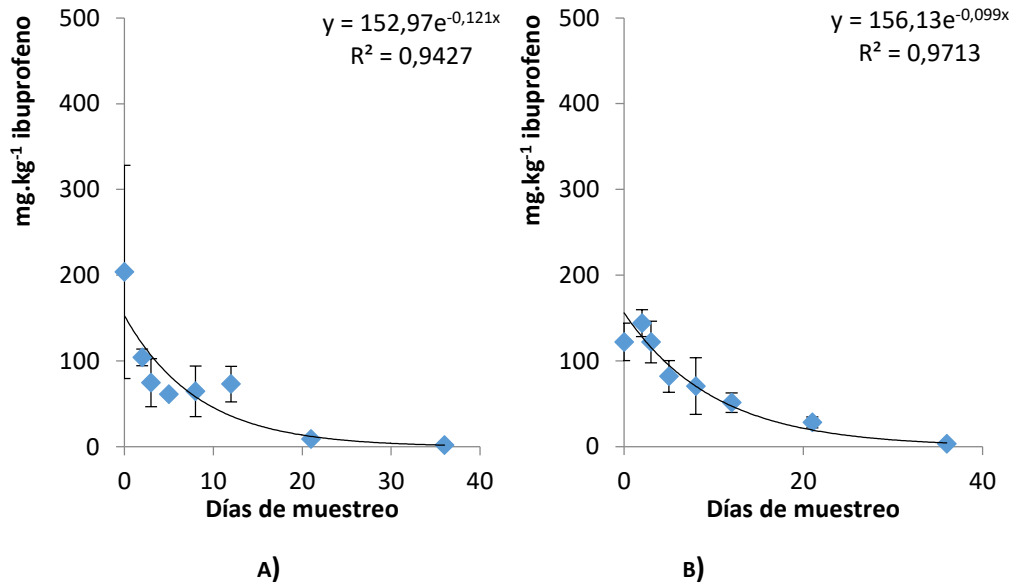


Figura 4.5.21. Evolución de la concentración de ibuprofeno del a) compost y b) vermicompost de paja de arroz, lodo de depuradora

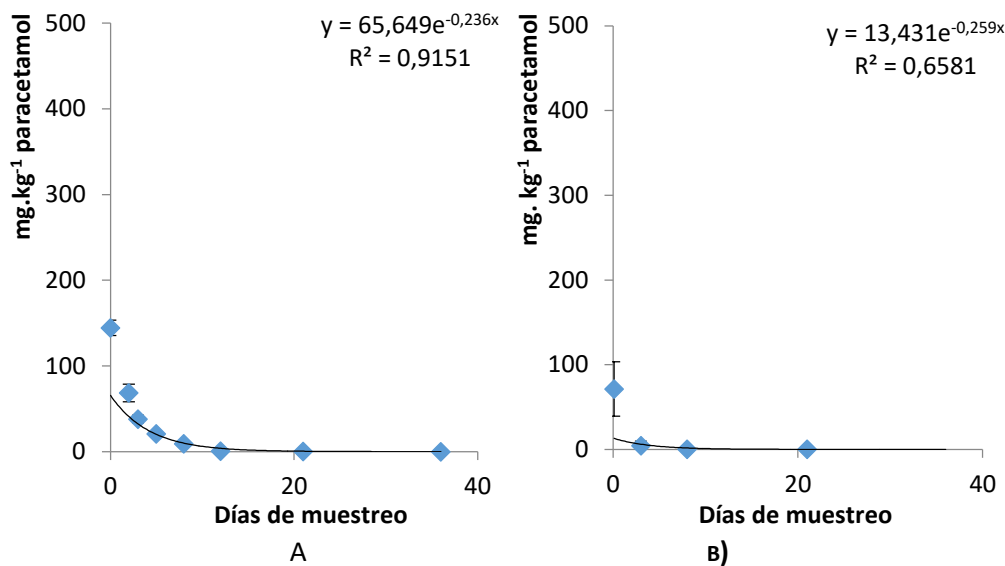


Figura 4.5.22. Evolución de la concentración de paracetamol a lo largo del muestreo en el a) compostaje y b) vermicompostaje de paja de arroz y lodo de depuradora

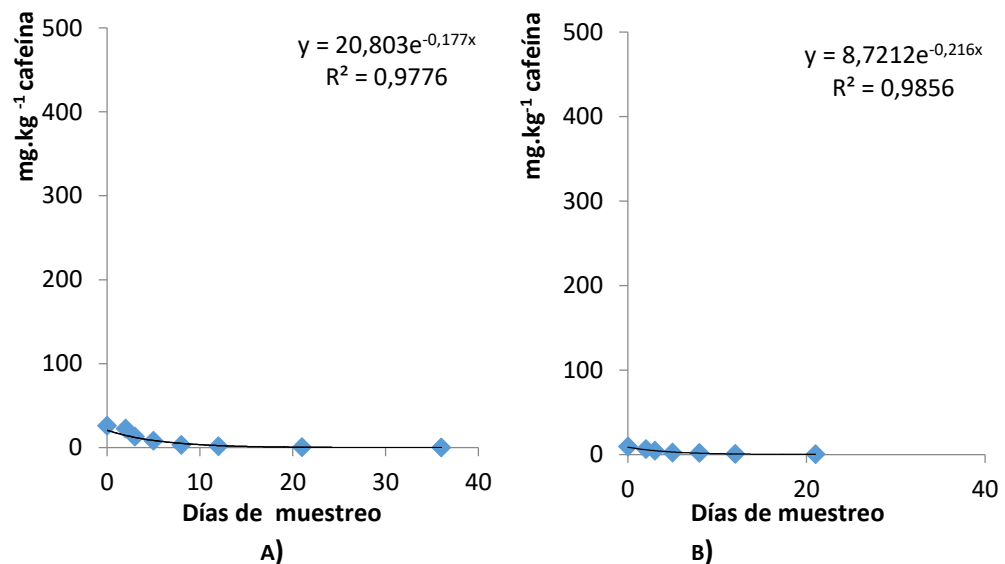


Figura 4.5.23. Evolución de la concentración de cafeína a lo largo del muestreo en a) compost y b) vermicompost de paja de arroz y lodo de depuradora

La eliminación de cafeína fue la más rápida y elevada de entre todos los medicamentos estudiados, su facilidad de disolución y degradación se manifiesta con una concentración prácticamente inexistente a las pocas horas de su aplicación (Figura 4.4.23a y b).

La Tabla 4.5.4 resume los valores de la cinética de las curvas que muestran la eliminación de cada uno de los medicamentos estudiados, a excepción del telmisartán, cuya eliminación no se realiza ni en las muestras compostadas ni vermicompostadas.

Si consideramos la vida media de eliminación de un medicamento como el tiempo necesario para eliminar 50 % del fármaco en el medio o a reducirse a la mitad de sus niveles iniciales, observamos que, el resto de medicamentos siguen una curva exponencial con valores

de vida media que van para los compuestos farmacéuticos estudiados desde 7 días para el caso del ibuprofeno hasta 0,26 días para el caso de la azitromicina.

Los valores más bajos se obtienen en general en las muestras vermicompostadas, destacando las diferencias en el caso de la eliminación de la azitromicina, ibuprofeno y cafeína, aunque en ocasiones las diferencias son pequeñas comparando ambos procesos, como ocurre con el paracetamol. No obstante, se han obtenido tendencias contrarias a este hecho como ocurre en el caso del compost de azitromicina con una $t_{1/2}$ 0,26 y de ibuprofeno (Tabla 4.5.4). El ibuprofeno es uno de los medicamentos más lentos en eliminarse de los estudiados, estando frecuentemente descrito en la bibliografía los efectos de su acumulación en animales (Binelli *et al.*, 2011; Rodríguez-Roda, 2012).

Tabla 4.5.4. Resumen de los resultados de la eliminación de medicamentos en los procesos

	Proceso	Co	K	R ²	$t_{1/2}$
Azitromicina	Compost	169,01	0,43	0,923	0,693/0,430=0,26
	Vermicompost	139,81	0,459	0,858	0,693/0,459=1,50
Irbesartán	Compost	224,80	0,074	0,934	0,693/0,074=9,36
	Vermicompost	350,60	0,094	0,966	0,693/0,094=7,36
Telmisartán	Compost				No se elimina
	Vermicompost				No se elimina
Ibuprofeno	Compost	152,97	0,121	0,943	0,693/0,121=5,73
	Vermicompost	156,13	0,099	0,971	0,693/0,099=7,0
Paracetamol	Compost	65,649	0,236	0,915	0,693/0,236=2,93
	Vermicompost	13,431	0,259	0,658	0,693/0,259=2,67
Cafeína	Compost	20,803	0,177	0,977	0,693/ 0,177=3,91
	Vermicompost	8,721	0,216	0,985	0,693/0,216=1,31

Como resumen de este capítulo podemos indicar que, los resultados obtenidos en el estudio de la degradación de las mezclas de paja de arroz y lodo de depuradora, tomadas durante los días 0, 2, 3, 5, 8, 12, 21 y 38 a través de compostaje y vermicompostaje, indican una favorable evolución de los procesos de transformación.

Durante ambos procesos, los valores de la temperatura han sido adecuados para favorecer los procesos de compostaje y vermicompostaje, y el contenido de humedad (entre el 40 y 60%) muestra un intervalo adecuado para la vida y desarrollo de las lombrices.

El pH es bastante similar en ambos procesos, y oscila en el caso del compostaje entre 7,1 y 7,6, y entre 7,1 y 7,7 en el vermicompostaje, con resultados muy próximos entre el vermicompost obtenido en la experiencia y el control.

Con respecto a la conductividad eléctrica, para los compost de lodo de depuradora y paja de arroz se obtienen valores de conductividad más altos que su respectivo control, mientras que en la muestra de vermicompost se han obtenido datos más similares al control.

El contenido de carbono orgánico oxidable, va disminuyendo a medida que evolucionan ambos procesos, con valores óptimos respecto a los nutrientes esenciales.

Finalmente, y dentro de nuestro objetivo respecto al estudio de la degradación de medicamentos mediante compostaje y vermicompostaje, se puede confirmar que ambos procesos resultaron ser métodos efectivos. En ningún caso en nuestro experimento las concentraciones utilizadas de los medicamentos: azitromicina, ibersartan y telmisaltan, ibuprofeno, cafeína y paracetamol afectaron al proceso de compostaje y vermicompostaje, degradándose los residuos farmacéuticos sin que estos afectaran negativamente, a las lombrices ni a su actividad.

El contenido de azitromicina se redujo en más de un 90%, siendo ambos procesos óptimos para su eliminación a nuestra escala de trabajo. Respecto al comportamiento de los antihipertensivos, se observó que la concentración de irbesartán disminuyó considerablemente a los 20 días, y que su degradación fue más elevada en el proceso de vermicompostaje que en el de compostaje. Aunque, en el día 30 se consiguió reducir su concentración más de un 90 % en ambos casos.

Los resultados muestran que la degradación del telmisartán no se produce, y en el caso del ibuprofeno se aprecia que es difícilmente biodegradable, y más lenta durante el vermicompostaje de los residuos, mientras que el paracetamol fue prácticamente biodegradado a partir del tercer día del experimento, y la cafeína a las pocas horas.

Recientemente, se han realizado muchos estudios sobre el origen y la frecuencia, así como sobre el destino de los productos farmacéuticos en todo el mundo, ofreciendo sugerencias

en la gestión de riesgos para su control (Li, 2014). Una revisión reciente sobre las fuentes, la frecuencia, el destino y los efectos de los productos farmacéuticos más comunes, indica que aunque la mayoría de las plantas de tratamiento de aguas residuales cumplen con los requisitos reglamentarios, todavía hay muchos productos farmacéuticos que se eliminan de forma incompleta y, por lo tanto, se descargan al medio ambiente. Los residuos farmacéuticos son una preocupación pública porque pueden causar efectos adversos en los organismos, incluso en los seres humanos.

En el estudio de nuevas metodologías para la eliminación de fármacos en el tratamiento de lodos de depuradora, autores como Aski *et al.*, (2020) investigaron la eficiencia de la eliminación de ibuprofeno, acetaminofeno y amoxicilina en lodos obteniendo valores de eliminación del 65%, 69% y 66%, e indicando la difícil eliminación de estos medicamentos.

Bueno *et al.*, (2012) estudiaron la ocurrencia y persistencia de contaminantes orgánicos emergentes en cinco plantas de tratamiento de aguas residuales de España, evaluando la aparición y persistencia de un grupo de 100 compuestos, entre ellos productos farmacéuticos, y estudiando la eficiencia de eliminación. Encontraron medicamentos como eritromicina y acetaminofeno en las muestras analizadas, identificando una gran cantidad de compuestos en concentraciones de rango medio entre 7 y 59,4 ng/L. Este estudio también identificó 20 compuestos persistentes detectados en su mayoría en las aguas residuales, de los cuales hidroclorotiazida, atenolol, gemfibrozilo, galaxolida y tres metabolitos (ácido fenofíbrico, 4-AAA y 4-FAA), presentaron los porcentajes de contribución promedio más altos, en relación a la carga total de contaminantes.

Fang *et al.*, 2017 observaron que la eficiencia de eliminación y la vida media de los compuestos analizados en vertidos de depuradoras tratados fueron entre 6,3-46,8% y de 3-18 días.

Estudios realizados con fármacos similares al ibuprofeno antiinflamatorio no esteroideo (Kwon *et al.*, 2011; Borg *et al.*, 2013; Buerge *et al.*, 2013; Butkovskiy *et al.*, 2013; Kui *et al.*, 2018) tal como el ketoprofeno detectado en efluentes de aguas residuales y aguas superficiales, indicaron que su degradación es dependiente del pH y la temperatura (Halling- Sorensen *et al.*, 2002; Hamajima *et al.*, 2011; Hamscher *et al.*, 2002; Haiba *et al.*, 2013b). La matriz de agua influyó significativamente en la degradación de este medicamento, al contrario que los aniones inorgánicos comunes presentes en las aguas naturales Cl^- , CO_2 , HCO_3^- y NO_3^- y la materia orgánica; mostrando un efecto inhibitorio sobre la degradación del ketoprofeno (Feng *et al.*, 2017).

Estudios de análisis microbiano realizados por Jia *et al.*, (2020) mostraron que la adición de Ibuprofeno cambió la estructura de la comunidad microbiana en sistemas de lodos

enriquecidos pero sin verse afectados parámetros como la DQO, nitrógeno y azufre en sistemas de lodos anaeróbicos. El análisis de regresión lineal múltiple del estudio realizado por Gravesen *et al.*, (2020) con azitromicina y ciprofloxacino en lodos de depuradora relacionó el comportamiento de sorción de azitromicina con el contenido total de Fe, probablemente debido a la predisposición de este medicamento a participar en reacciones con especies de Fe. Por otra parte, el comportamiento de ciprofloxacino se relacionó con el contenido de Al extraíble con oxalato y el contenido de fósforo total, lo que sugiere la unión de este medicamento con formas amorfas de Al y una posible relación con los procesos de producción de biosólidos. Martin *et al.*, (2015) muestran la afinidad de este antibiótico por la hematite en suelos, dando una nueva visión del destino de los contaminantes emergentes en el medio ambiente. No sólo son peligrosos los productos iniciales, sino que también sus productos de transformación, así Boix *et al.*, (2016) estudiaron la biotransformación de productos farmacéuticos en aguas superficiales identificando la presencia de productos de transformación durante el tratamiento de aguas residuales de medicamentos como venlafaxina, gemfibrozilo, ibuprofeno, irbesartán y ofloxacina e identifican 22 productos farmacéuticos de transformación, dando una comprensión más realista del impacto de dichos productos farmacéuticos sobre la calidad del agua (Guerin, 2001)

Gros *et al.*, (2010) realizaron un estudio de la eliminación de productos farmacéuticos durante el tratamiento de aguas residuales y evaluación de riesgos ambientales mediante los denominados *índices de peligro*, y al relacionar las tasas de eliminación con las vidas medias de 77 productos, sugirieron que los tratamientos convencionales de aguas residuales aplicados a siete EDARs no pudieron eliminar por completo la mayoría de los productos farmacéuticos.

Los altos valores de la vida media observados para la mayoría de los productos farmacéuticos sugieren que, para mejorar la degradación de los compuestos, se precisan tiempos más largos y que los productos farmacéuticos son muy abundantes en el medio ambiente acuático.

Huang *et al.*, 2020, mostraron que el ibuprofeno presente en lodos, pudo ser degradado durante 2-5 días, determinando que las vías de degradación son causadas por apertura del anillo aromático, que conduce a la formación de ácidos carboxílicos de bajo peso molecular producido por el filo de *Proteobacteria*. Observaron que las secuencias de algunas bacterias degradadoras de ibuprofeno conocidas como *Nocardia sp.*, *Sphingomonas sp.* y *Variovorax sp.*, sólo se encontraron en los lodos que mostraron capacidad para la biodegradación de ibuprofeno y que podían descomponer el ibuprofeno en moléculas más pequeñas.

Dalkmann *et al.*, (2014), llegaron a la conclusión de que la acumulación de materia orgánica en suelos o aguas residuales puede retrasar la disipación de medicamentos como

trimetoprima y carbamazepina. Sus resultados mostraron los valores de la vida media de disipación (DT50) de los medicamentos: diclofenaco (<0,1-1,4 días), bezafibrato (<0,1-4,8 días), sulfametoxazol (2-33 días), naproxeno (6-19 días), carbamazepina (355 -1624 días), y que la ciprofloxacina no se vio afectada por el riego de aguas residuales. La disipación de medicamentos como la trimetoprima fue aún más lenta en los suelos regados durante muchos años con aguas residuales (DT50: 45-72 días) frente a suelos no irrigados (DT50: 12-16 días), y se correlacionó negativamente con el contenido de materia orgánica del suelo. Un estudio de degradación de antibióticos como fluoroquinolona, ciprofloxacina y ácido oxolínico en muestras de agua de río, observaron que la ciprofloxacina se degradó completamente después de 3 meses, mientras que el 80% del ácido oxolínico permaneció inalterado después de cinco meses de almacenamiento. En este estudio también se identificaron cuatro nuevos productos de transformación de la ciprofloxacina, y se propusieron posibles vías de degradación para este antibiótico.

Karthikeyan *et al.*, (2006), estudiaron la ocurrencia de antibióticos en las instalaciones de tratamiento de aguas residuales en Wisconsin, detectando un total de seis tipos de antibióticos, incluidas dos sulfonamidas (sulfametazina, sulfametoxazol), una tetraciclina (tetraciclina), fluoroquinolona (ciprofloxacina), un macrólido (eritromicina) y trimetoprima. Pero solo se detectaron sulfametoxazol y tetraciclina en pozos de aguas subterráneas, indicando que son los únicos que por su solubilidad o por su abundancia se movilizan lo suficiente para pasar a estas profundidades. Carosini *et al.*, (2009) mostraron que los bioresiduos ricos en carbono orgánico disuelto puede unirse y mejorar el transporte de fármacos como ciprofloxacina en el medio ambiente. El pH, el carbono orgánico soluble, el nitrógeno y el calcio fueron variables relacionadas, y establecieron que estos parámetros fisicoquímicos probablemente influían en el transporte de antibióticos.

Estudios realizados por Sun *et al.*, (2017), mostraron 13 antibióticos comunes en suelos agrícolas con concentraciones entre 4,5 y 2,0 ng.g⁻¹. Incluyeron antibióticos como: quinolonas (48,8 ng.g⁻¹) > tetraciclinas (34,9 ng.g⁻¹) > sulfonamidas (2,3 ng.g⁻¹) en el orden de abundancia mencionado. La ciprofloxacina fue el compuesto predominante con una concentración media de 27,7 ng.g⁻¹, seguida de oxitetraciclina (18,9 ng.g⁻¹). Las concentraciones de antibióticos fueron elevadas en los sitios adyacentes a las granjas ganaderas y avícolas. Las fuentes potenciales de antibióticos en los suelos agrícolas fueron la aplicación del estiércol y la irrigación de aguas residuales. La evaluación de riesgo indicó que las tetraciclinas y las quinolonas tenían un riesgo potencial, y que la doxiciclina y la ciprofloxacina tenían un efecto ecológico más severo en los suelos agrícolas.

En la bibliografía mencionada se indica la dificultad para la eliminación de medicamentos en algunos compartimentos, razón además por la que, medicamentos como los estudiados en nuestro experimento: azitromicina, ibuprofeno, Irbesartán, telmisartán, paracetamol y cafeína pueden permanecer en el suelo o pasar a otros medios: aguas subterráneas, planta, etc., siendo estos lugares lanzaderas para avanzar hacia la población humana y animal.

4.5.3. Efecto de los compost y vermicompost sobre la degradación de medicamentos en el suelo y la absorción por la planta

Sobre los años 60 se iniciaron los estudios relativos a la detección de contaminantes emergentes y la identificación de sustancias químicas en los alimentos y el medio ambiente, así como sobre las propiedades químicas que tenían especial importancia en el desarrollo de sus efectos adversos; entre ellas, su liposolubilidad, su posible transformación y su potencial de bioacumulación. Posteriormente, autores como Clarke *et al.*, (2007) llevaron a cabo una revisión bibliográfica de los contaminantes emergentes en los biosólidos, identificando una serie de compuestos con efectos adversos, ambientalmente persistentes y potencialmente tóxicos y que están presentes en grandes concentraciones en lodos, siendo posible que se introduzcan en las cadenas alimentarias humanas y ecológicas a partir de suelos modificados por biosólidos.

Ciertos contaminantes emergentes se pueden encontrar en suelos que reciben materia orgánica exógena (Goulas *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2019), siendo necesario determinar los límites de concentración que presentan riesgos importantes para la salud humana y ecológica (Soto *et al.*, 2017).

En este capítulo se expone la experiencia de aplicación de medicamentos en un suelo adicionado o no, de un sustrato procedente del compostaje y vermicompostaje de paja de arroz con lodo de depuradora sobre plantas de lechuga y contaminado con medicamentos a las concentraciones citadas en el apartado de Material y métodos, y la posterior valoración de su acumulación en suelo, raíz y hoja de *L. sativa*.

Actualmente, y debido a las necesidades cada vez superiores de agua para el riego, se están utilizando aguas residuales tratadas para el riego de los cultivos. Estas aguas residuales llevan una carga importante de compuestos farmacéuticos y su utilización en el entorno agrícola, resulta preocupante dada su acumulación en los alimentos de utilización humana y animal, siendo necesario cuantificar la absorción de estos compuestos tanto en suelo como en las diferentes partes de las plantas, hojas y raíces principalmente.

4.5.3.1. Efecto de los compost y vermicompost sobre la degradación de medicamentos en el suelo

Los resultados de la aplicación de los productos farmacéuticos sobre el suelo a las dosis de 10 y 100 mg.kg⁻¹, tal como se describe en el apartado Materiales y métodos, muestran valores diferentes en función del medicamento y la dosis aplicada.

El ibuprofeno es uno de los medicamentos que mayoritariamente persisten en el suelo en el experimento realizado. A la dosis de 10 mg.kg⁻¹ apenas se aprecia durante el tiempo de estudio, pero a la dosis de 100 mg/kg la concentración de ibuprofeno se mantiene en el suelo en los dos tratamientos (SPMC₁₅ y SPMVC₁₅) con valores finales de 33 y 32 mg.kg⁻¹ respectivamente (Figura 4.5.24a). Notándose en el caso de los suelos enmendados una ligera elevación de ibuprofeno en la primera semana de la aplicación. No obstante hay que hacer notar en este caso, la elevada desviación de los datos obtenidos.

La elevada solubilidad de la cafeína parece ser la causa de la existencia sus bajos valores en el suelo, pero, a dosis altas encontramos concentraciones próximas a 10 mg.kg⁻¹ a la semana de su aplicación, tanto en el suelo sin adición de enmienda (SPM₁₅), como en los suelos enmendados con compost y vermicompost (SPMC₁₅ y SPMVC₁₅), y con un descenso muy acusado a las tres semanas de su aplicación (Figura 4.4.25a).

El paracetamol es un medicamento con escasa acumulación, los valores tras la semana de su aplicación en suelo sin enmienda SPM₁₅ fueron de 12 mg.kg⁻¹ descendiendo considerablemente a las tres semanas de su aplicación SPM₃₅ (Figura 4.5.26a).

El ácido acetilsalicílico y la benzocaína muestran resultados similares. En ambos casos las dosis más elevadas en suelo se producen a la semana de la aplicación de los medicamentos. Siendo su disminución muy acusada tras el paso del tiempo, con valores poco apreciables en suelo al final del experimento (Figura 4.4.27a y Figura 4.4.28a).

Se mantienen valores considerables en el caso de la fenitoína, bastante similares para el suelo y la raíz, aunque con elevada desviación en sus valores. Con la aplicación de la dosis de 10 mg.kg⁻¹ se obtuvo baja acumulación en suelo, con una disminución muy acusada a las tres semanas de su aplicación. Tras la aplicación de la dosis de 100 mg.kg⁻¹ mantiene sus valores elevados, con valores todavía alrededor de 10 mg.kg⁻¹ (Figura 4.4.29a). En concreto, la mayor acumulación se produce en los casos en que no hay adición de enmiendas, siendo en el caso de la aplicación de vermicompost cuando se obtiene mayor degradación del medicamento.

Los valores obtenidos tras la aplicación de quinolona son bastante diversos a los obtenidos con el medicamento anterior, encontrando en el suelo valores mucho más elevados que en hoja y raíz (Figura 4.4.30a). Tras la aplicación de la dosis de 100 mg.kg⁻¹ se produjo una

elevada acumulación en suelo a la semana de la aplicación, con un valor próximo a $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en el caso del suelo enmendado con vermicompost (SPMVC_{1s}), y una disminución muy acusada a las tres semanas de su aplicación (SPMVC_{3s}). En este caso, los suelos con enmienda también producen mayor degradación del medicamento que los no enmendados, observando una escasa disminución de la concentración de medicamento a las tres semanas de su aplicación en el suelo no enmendado.

4.5.3.2. Efecto de los compost y vermicompost sobre la degradación de medicamentos en la planta

Los productos farmacéuticos se acumularon en la planta de lechuga en función de la dosis y el tiempo de aplicación al igual que ocurría en suelo, el ibuprofeno sigue siendo uno de los medicamentos más persistentes. En la raíz, los rangos de este medicamento se mantienen elevados incluso a las tres semanas de su aplicación (30 y $27 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ para la raíz en SPM_{3s}) (21 y $16 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en la raíz en SPMC_{3s}) (20 y $18 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en la raíz con adición de vermicompost SPMC_{3s}) con valores más elevados que en suelos, indicando la dificultad en su eliminación. Notándose en el caso de los suelos enmendados una ligera elevación. Esto mismo, pero con valores inferiores se hace también patente en las hojas, con valores elevados de la concentración de medicamento en todos los tratamientos a la semana de su aplicación, indicando que el ibuprofeno pasa a la planta y desde allí se elimina lentamente. Es decir, que aún a dosis pequeñas este medicamento se mantiene durante el periodo de tiempo estudiado, lo cual no es tan despreciable considerando que la dosis a aplicar en humanos es de 600 mg tres veces al día.

La cafeína presenta una alta solubilidad, por lo que se obtiene una baja concentración en raíz (Figura 4.4.25). Para la raíz de la planta de lechuga, los valores se muestran bajos y similares a los del suelo a dosis bajas, pero se acumula a dosis elevadas de medicamentos en suelos sin adición de compost y vermicompost, no obstante en el caso de la hoja la cafeína se hace más patente, obteniendo valores elevados próximos a $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a la semana de su aplicación en los tres tratamientos, valores que disminuyen notablemente a las tres semanas de su aplicación SPMC_{3s} y SPMVC_{3s}.

El paracetamol es un medicamento que se acumula poco en raíz, comparado con el suelo y hoja. Los valores tras la semana de su aplicación en raíz en suelo sin enmienda (SPM_{1s}) son de $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, pero sin descenso acusado a las tres semanas de su aplicación. En la hoja los valores a la semana de su aplicación son considerablemente altos a la dosis de $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Figura 4.5.26b y c), con valores próximos a $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en el suelo sin enmienda (SPM_{1s}), y entre

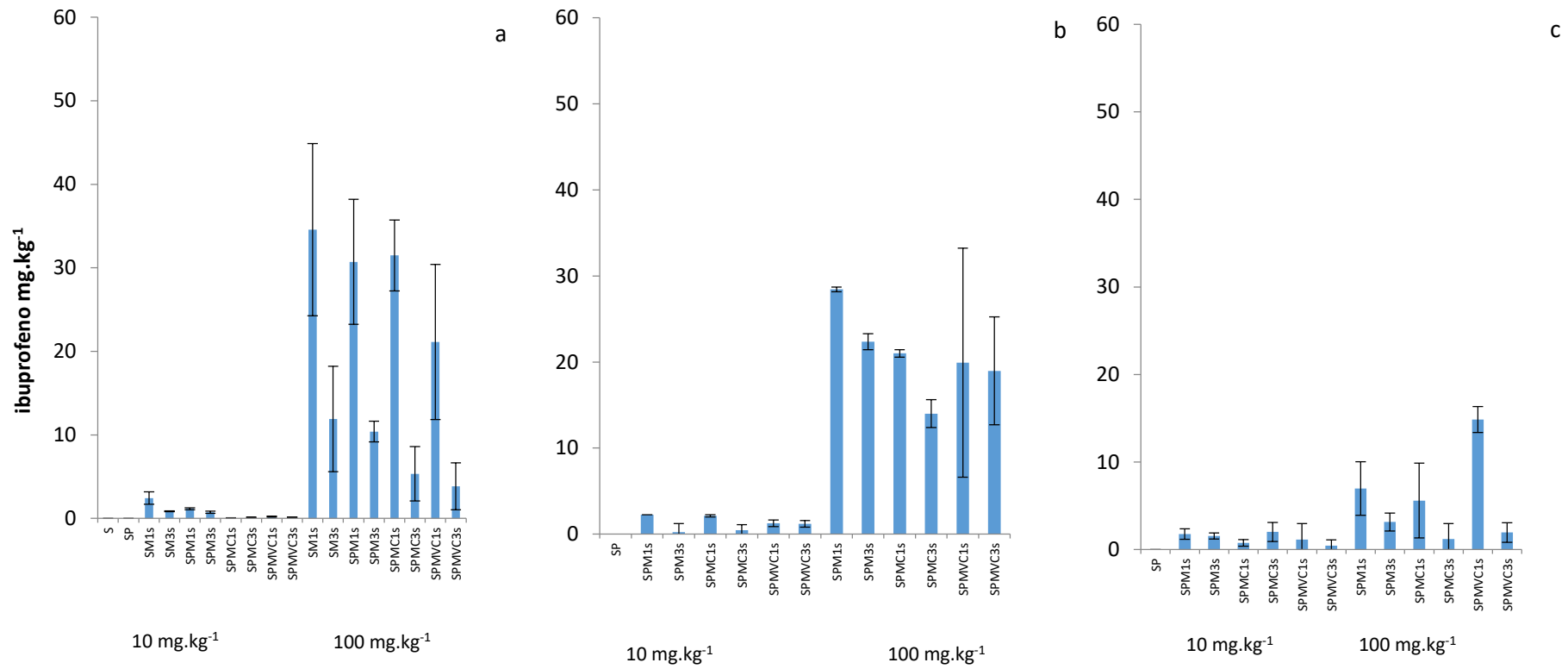


Figura 4.5.24. Evolución de la concentración de ibuprofeno (mg.kg⁻¹) a las dosis de 10 mg.kg⁻¹ y 100 mg.kg⁻¹ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En las muestras de S suelo, SP suelo planta, SM_{1s} y SM_{3s} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM_{1s} y SPM_{3s} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC_{1s} y SPMC_{3s} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMCV_{1s} y SPMCV_{3s} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas

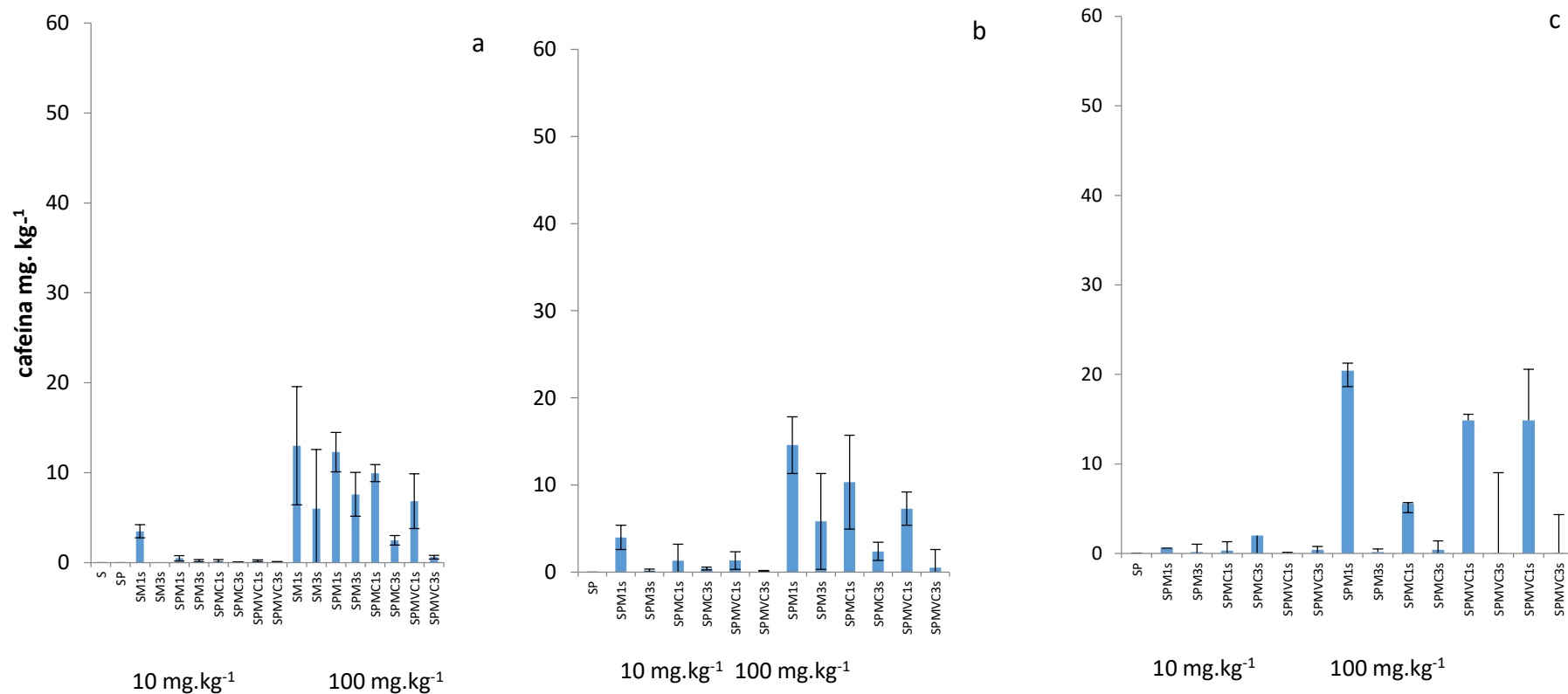


Figura 4.5.25. Evolución de la concentración de cafeína (mg.kg⁻¹) a las dosis de 10 mg.kg⁻¹ y 100 mg.kg⁻¹ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En las muestras de S suelo, SP suelo planta, SM_{1s} y SM_{3s} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM_{1s} y SPM_{3s} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC_{1s} y SPMC_{3s} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMCV_{1s} y SPMCV_{3s} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas

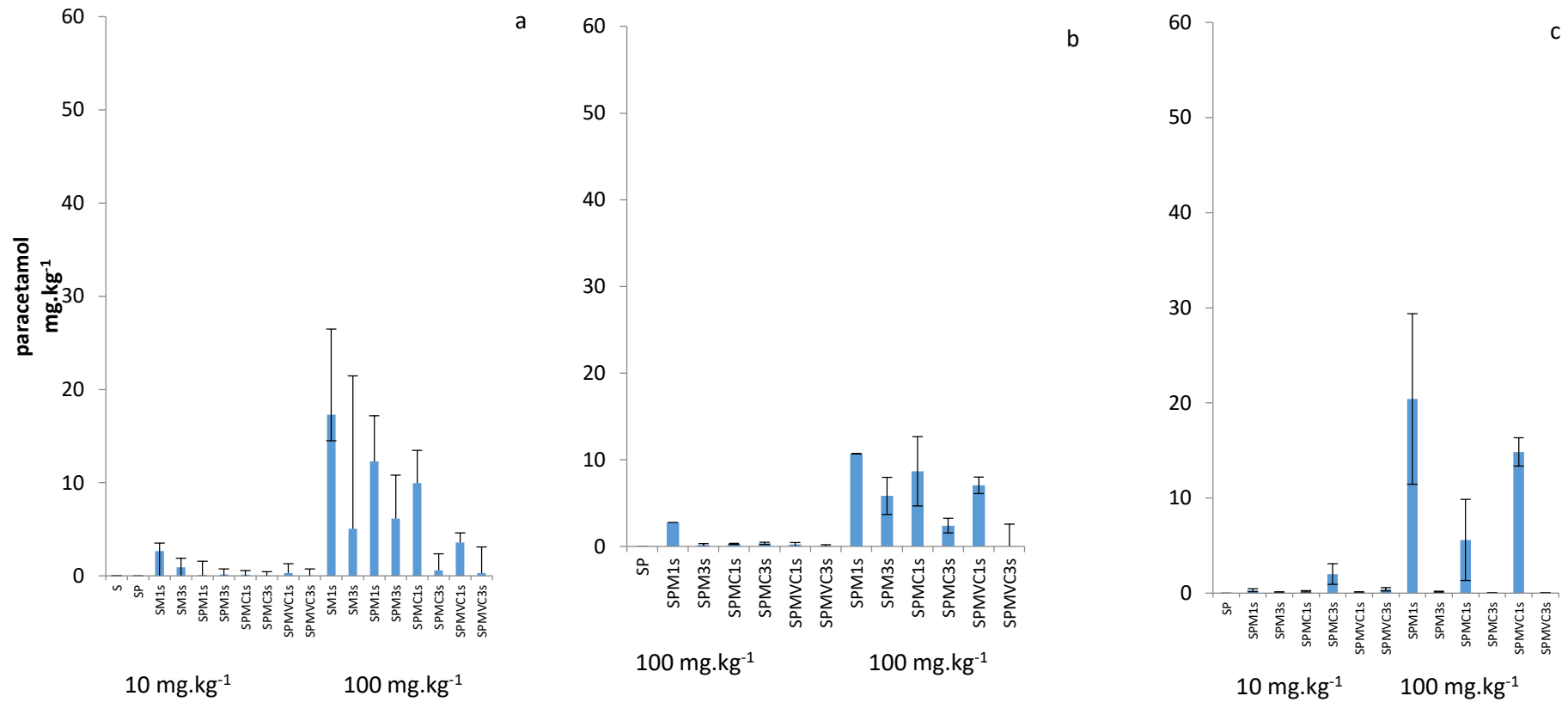


Figura 4.5.26. Evolución de la concentración de paracetamol (mg.kg⁻¹) a las dosis de 10 mg.kg⁻¹ y 100 mg.kg⁻¹ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En las muestras de S suelo, SP suelo planta, SM_{1s} y SM_{3s} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM_{1s} y SPM_{3s} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC_{1s} y SPMC_{3s} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMCV_{1s} y SPMCV_{3s} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas

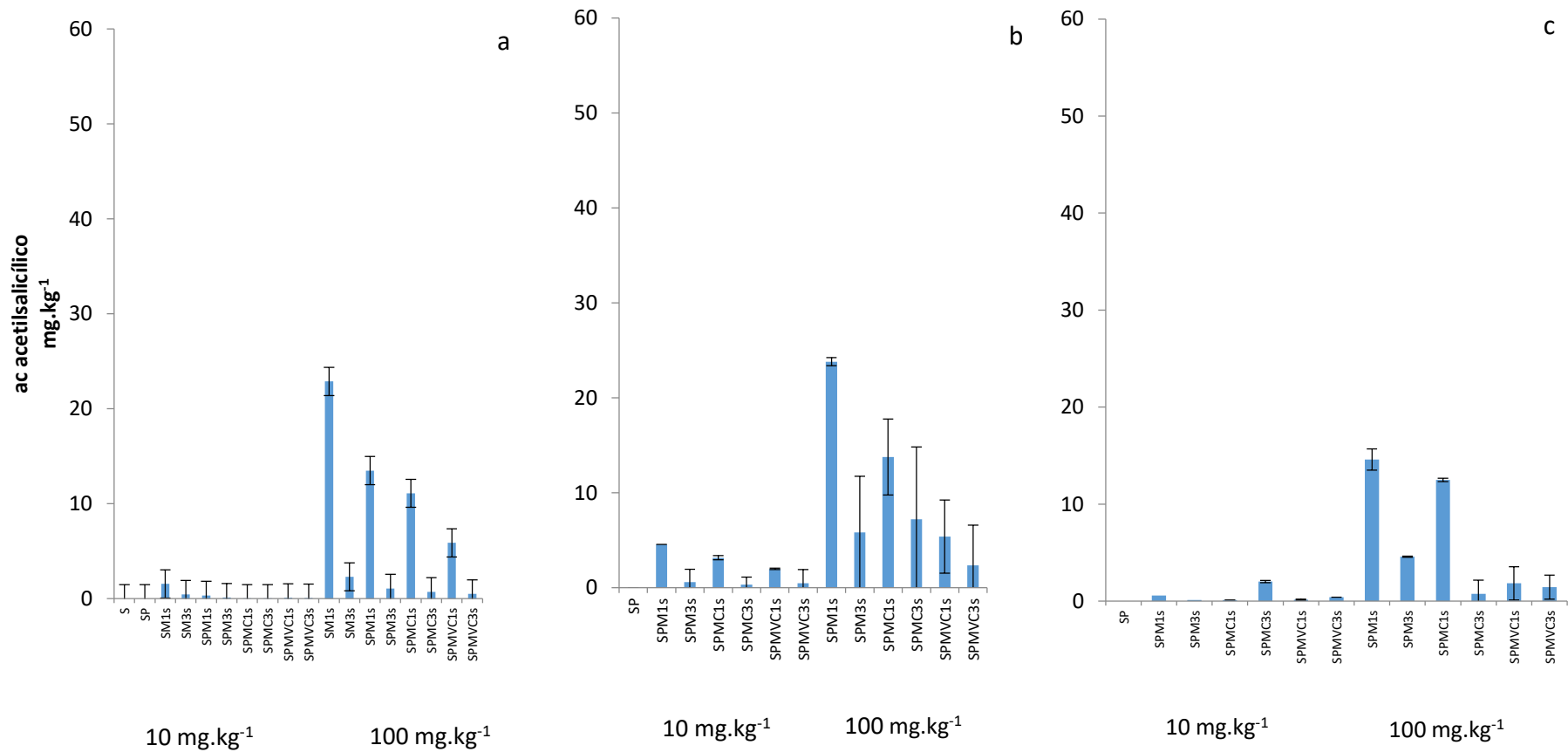


Figura 4.5.27. Evolución de la concentración de acetilsalicílico (mg.kg⁻¹) a las dosis de 10 mg.kg⁻¹ y 100 mg.kg⁻¹ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En las muestras de S suelo, SP suelo planta, SM_{1s} y SM_{3s} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM_{1s} y SPM_{3s} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC_{1s} y SPMC_{3s} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMCV_{1s} y SPMVC_{3s} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas

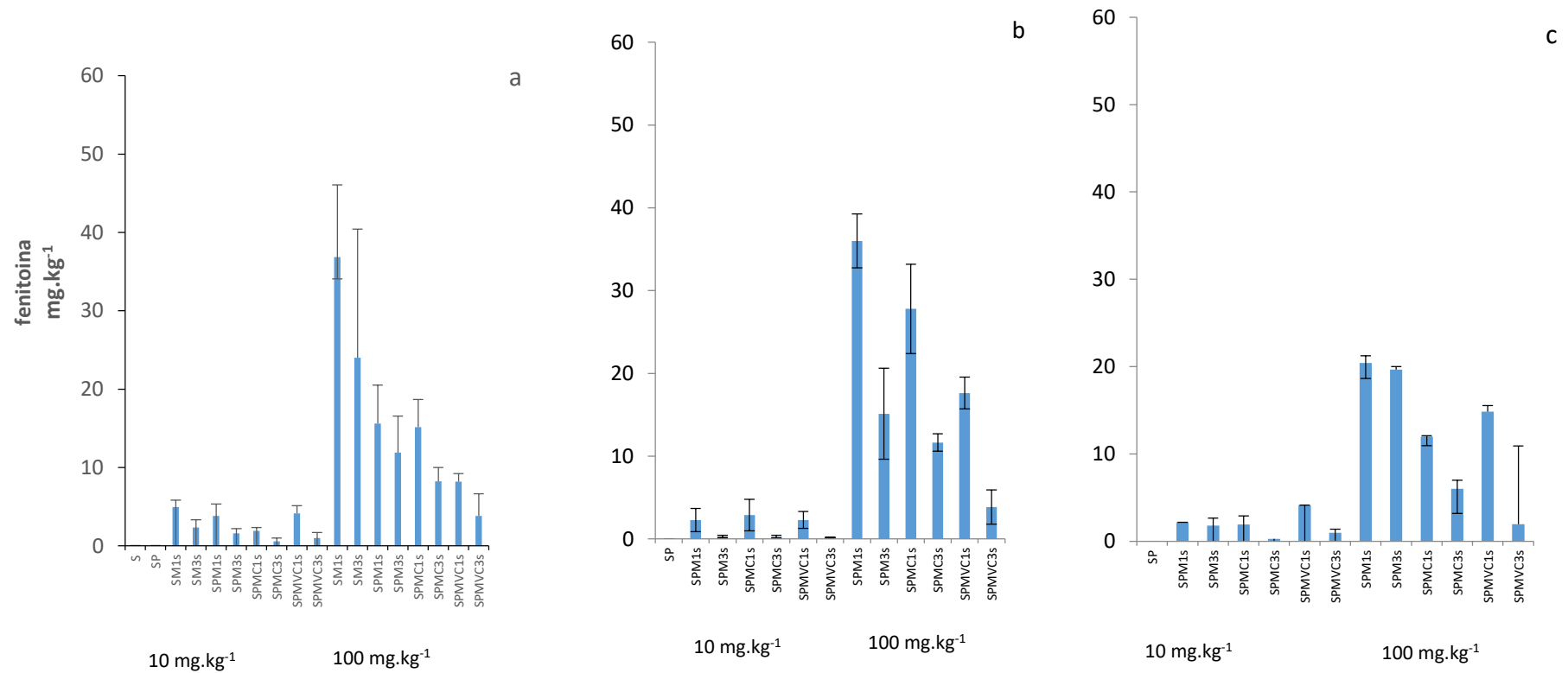


Figura 4.5.28. Evolución de la concentración de fenitoína (mg.kg⁻¹) a las dosis de 10 mg.kg⁻¹ y 100 mg.kg⁻¹ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En las muestras de S suelo, SP suelo planta, SM_{1s} y SM_{3s} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM_{1s} y SPM_{3s} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC_{1s} y SPMC_{3s} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMVC_{1s} y SPMVC_{3s} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas.

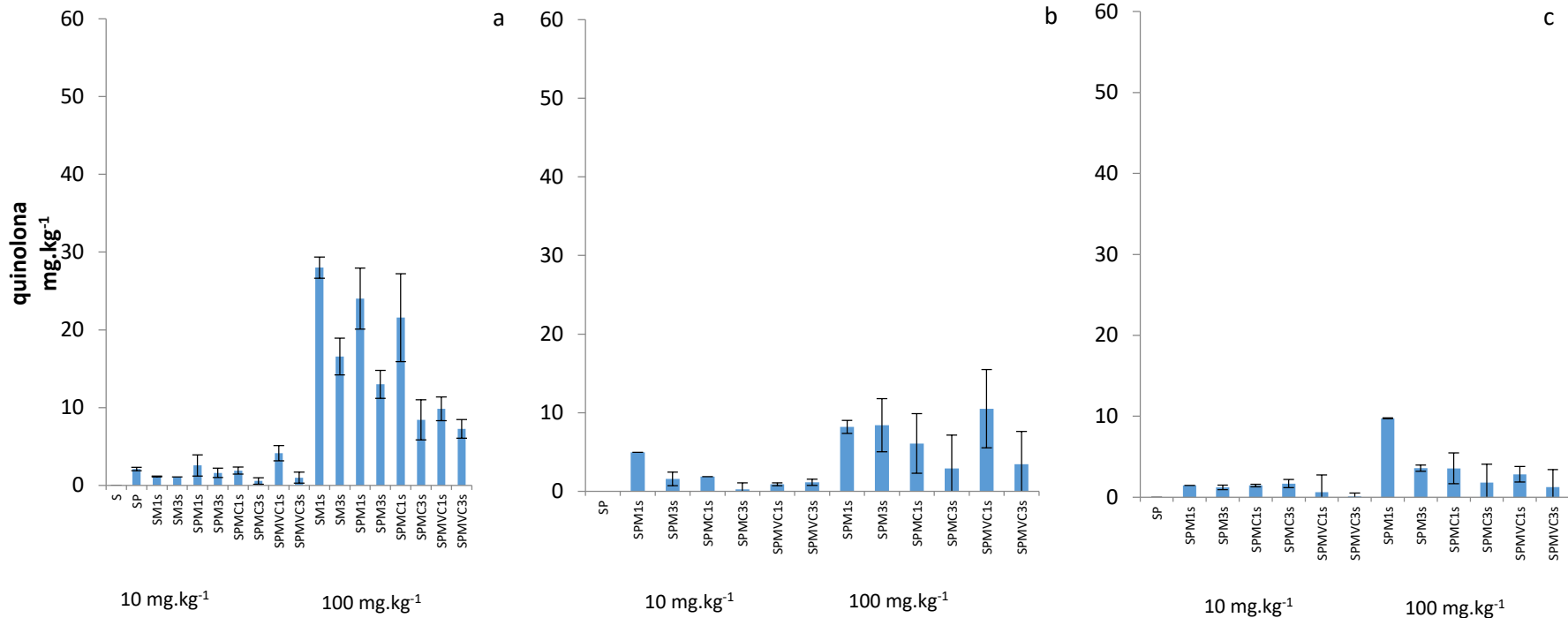


Figura 4.5.29. Evolución de la concentración de quinolona (mg.kg⁻¹) a las dosis de 10 mg.kg⁻¹ y 100 mg.kg⁻¹ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En las muestras de: S suelo, SP suelo planta, SM_{1s} y SM_{3s} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM_{1s} y SPM_{3s} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC_{1s} y SPMC_{3s} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMCV_{1s} y SPMVC_{3s} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas

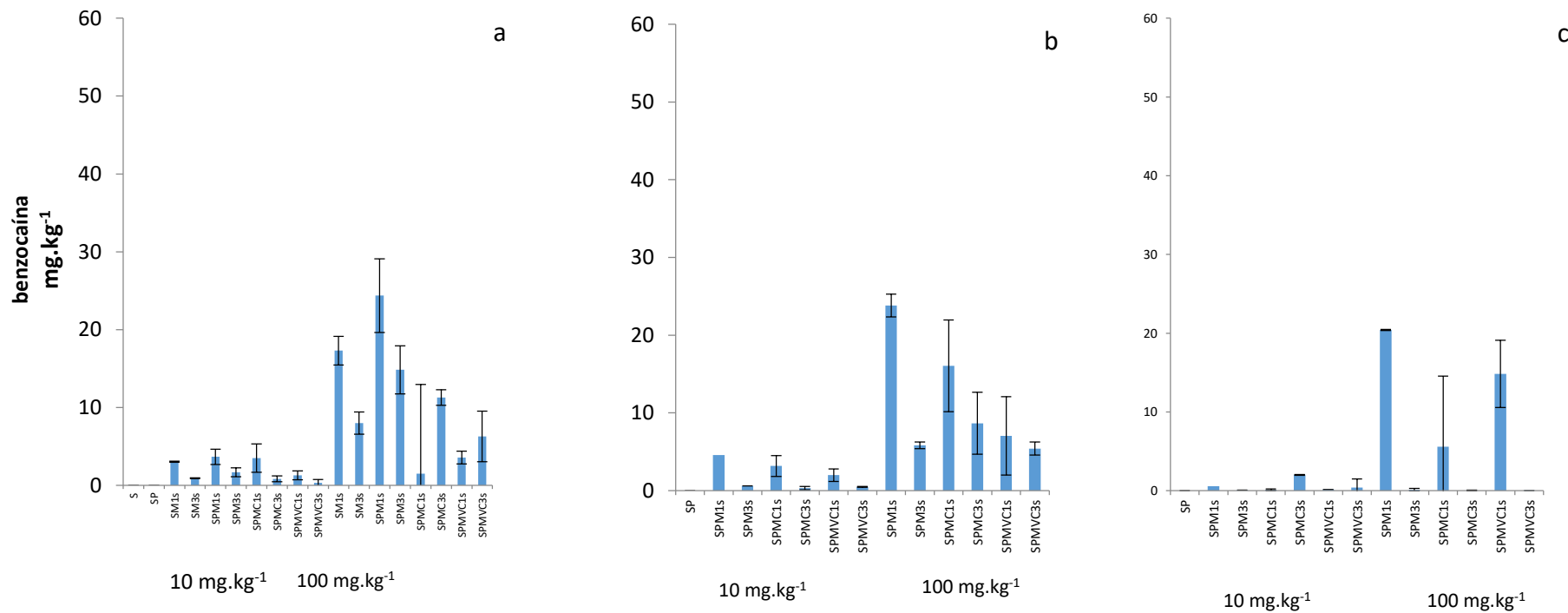


Figura 4.5.30. Evolución de la concentración de benzocaína (mg.kg⁻¹) a las dosis de 10 mg.kg⁻¹ y 100 mg.kg⁻¹ a la semana y a las tres semanas de su aplicación en a) suelo, b) raíz, c) hoja. En las muestras de S suelo, SP suelo planta, SM_{1s} y SM_{3s} suelo medicamento 1 y 3 semanas; SPM_{1s} y SPM_{3s} suelo, planta, medicamento 1 y 3 semanas; SPMC_{1s} y SPMC_{3s} suelo, planta, medicamento, compost 1 y 3 semanas; SPMVC_{1s} y SPMVC_{3s} suelo, planta, medicamento, vermicompost 1 y 3 semanas

12 y 6 mg.kg⁻¹ cuando se realiza la enmienda con compost (SPMC_{1s}) y vermicompost (SPMVC_{1s}) respectivamente. En este caso los descensos son muy acusados a las tres semanas de la aplicación de los compuestos farmacéuticos. Tanto el ácido acetilsalicílico como la benzocaína muestran a las dosis más elevadas valores altos en la raíz de lechuga a la semana de su aplicación, disminuyendo en ambos casos con la adición de enmiendas y en el tiempo (Figura 4.4.27b y c)(Figura 4.4.28b y c).

En el caso de la fenitoína los valores obtenidos en raíz del medicamento son bastante similares los obtenidos en el suelo. En la semana de su aplicación, en la raíz de lechuga es donde mayoritariamente se acumula el medicamento con valores bastante elevados, estos valores descienden cuando se realizan aportes de vermicompost (SPMVC) obteniendo concentraciones inferiores a los 20 mg.kg⁻¹. En el caso de la hoja los valores descienden considerablemente. En el caso de la hoja, la acumulación en la primera semana también es notable, aunque la disminución es muy acusada en el transcurso del tiempo.

Tras la aplicación de quinolona los valores son similares para la raíz y la hoja (Figura 4.4.29b y c), mientras que aumentaban en el suelo, pero todavía se mantienen próximos a los 10 mg.kg⁻¹ a la semana cuando se aplicaron dosis de 100 mg.kg⁻¹, pero en todos los casos desciende considerablemente a las tres semanas de su aplicación. La acumulación del medicamento en la hoja es muy pequeño a las tres semanas de su aplicación en todos los tratamientos llegando a obtenerse valores inapreciables tras este tiempo de estudio.

Existen estudios sobre la absorción de diferentes medicamentos en suelo y planta analizando riesgos para la salud humana. Los estudios de Lillenberg *et al.*, (2010a); Wu *et al.*, (2015), muestran cantidades detectables de residuos farmacéuticos en diferentes experimentos para estudiar la importancia de su captación en plantas del suelo y la posible acumulación de los fármacos estudiados tales como fluoroquinolonas y sulfonamidas en plantas alimenticias como: zanahoria, patata, lechuga, trigo, (Lillenberg *et al.*, 2010a y 2010b; Kipper *et al.*, 2010; Nei *et al.*, 2014) en todos los casos fue notable el paso de estas sustancias hacia la planta. E incluso se ha demostrado que debido a la baja adsorción de sulfonamidas en las partículas del suelo estas migran fácilmente a las plantas (Haiba *et al.*, 2013a). Resultados similares hemos obtenido en nuestra experiencia con medicamentos como la cafeína, que desaparece rápidamente del suelo acumulándose en la planta. Buerge *et al.*, (2013), evaluaron la idoneidad de la cafeína como marcador químico para la contaminación de las aguas superficiales por las aguas residuales, indicando una eliminación eficiente entre el 81-99,9%, pero a pesar de ello, la cafeína se encontró en lagos y ríos (6-250 ng/L). Seiler *et al.*, (1999), detectaron la presencia de cafeína y otros productos farmacéuticos humanos en aguas subterráneas con concentraciones de hasta 0,23 ng/L, junto a: clorpropamida, fensuximida y carbamazepina.

Se detectaron diferentes comportamientos en función del tipo de medicamento, siendo característica la acumulación en medicamentos del grupo de las fluoroquinolonas, en lodos de aguas residuales y partículas de suelo (Golet *et al.*, 2003), estos fármacos, posteriormente pasan a los cultivos regados con aguas contaminadas. Existe controversia respecto al papel de la textura del suelo, estudios realizados en diferentes tipos de suelos mostraron que el contenido de los fármacos fue ligeramente mayor en las plantas cultivados en suelos arenosos (Lillenberg, 2011). Mientras que en los suelos arcillosos las moléculas de sulfonamidas y fluoroquinolonas se unen a partículas de arcilla reduciendo su acumulación por las plantas. No obstante, se ha demostrado que medicamentos como fluoroquinolonas se encuentran en grandes cantidades en plantas de patata sin depender del tipo del suelo.

Es frecuente utilización de las aguas residuales tratadas por compuestos farmacéuticos y el destino de estos compuestos en el entorno agrícola (Arikan *et al.*, 2009). Malchi *et al.*, (2014) en un estudio de campo cuantificaron la absorción de productos farmacéuticos por las raíces de los cultivos tratados con aguas residuales (zanahorias y batatas) cultivados en lisímetros y evaluaron los riesgos potenciales. En ambos cultivos, los fármacos carbamazepina, cafeína y lamotrigina (no iónicos) se detectaron en concentraciones significativamente más altas que los iónicos (metoprolol, bezafibrato, ácido dofibrico, diclofenaco, gemfibrozilo, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno, sulfametoxazol y sildenafilaxazol) y sildenafilaxazol, y se encontraron en las hojas a concentraciones más altas que en las raíces. El riesgo para la salud asociado con el consumo de tubérculos irrigados con aguas residuales se estimó utilizando el enfoque del *umbral de preocupación toxicológica* (TTC), que según datos de Malchi *et al.*, (2014), el valor de este umbral en el compuesto lamotrigina se puede alcanzar para un niño con un consumo diario de media zanahoria (similar a 60 g). Igualmente, nuestro estudio destaca que ciertos productos farmacéuticos acumuladas en órganos comestibles a concentraciones superiores a este valor umbral, deben clasificarse como contaminantes de emergentes.

Zheng *et al.*, 2020 estudiaron la eliminación de triclosán, un desinfectante presente en las plantas de tratamiento de aguas residuales utilizándolo para el compostaje y estudiando su biodegradación, la concentración media de triclosán en los lodos de aguas residuales fue de 814,4 ng/g. con porcentajes de eliminación del 97,6%, observando que durante el compostaje aeróbico, este medicamento se degradó en el período mesofílico y en la etapa temprana del período de fase termofílica, con tasas de degradación del 59,5%.

Guerra *et al.*, (2014), estudiaron la eliminación de antibióticos, analgésicos, antiinflamatorios y antifúngicos en cinco procesos de tratamiento de aguas residuales, observando que el antibiótico sulfamethazia, el antihipertensivo metoprolol, y el antiepiléptico carbamazepina exhibieron eficiencias de eliminación por debajo del 30%. Estando en general la

eliminación de antibióticos entre un 11,2 y 69%. En el tratamiento primario (procesos fisicoquímicos), la eliminación de productos farmacéuticos fue insignificante (hasta un 28%) y la eliminación de la mayoría de los productos farmacéuticos (lincomicina, carbamazepina, atenolol, metoprolol y triclosán) se produjo durante el tratamiento secundario (procesos biológicos). Castiglioni *et al.*, (2006), estudiando la aparición de contaminantes emergentes en seis plantas de tratamiento de aguas residuales detectaron que ciprofloxacino, ofloxacina, sulfametoxazol (antibióticos), atenolol (fármaco cardiovascular), ibuprofeno (antiinflamatorio), furosemida, hidroclorotiazida (diuréticos), ranitidina (fármaco gastrointestinal) y befibrazato (regulador lipídico) fueron los fármacos residuales más abundantes, por lo tanto los de interés ambiental.

Golet *et al.*, (2003) evaluaron la exposición ambiental de fluoroquinolona procedente de aguas y en suelos agrícolas después de la aplicación de lodos, y sugieren que los lodos de aguas residuales son el principal reservorio de residuos de fluoroquinolona, siendo necesario realizar una estrategia para que la mayoría de los compuestos de este tipo excretados por el ser humano no entren en el medio ambiente. Los experimentos de campo de aplicación de lodos a tierras agrícolas confirmaron la persistencia a largo plazo de trazas de este medicamento en suelos tratados con lodos, e indicaron su movilidad limitada en el subsuelo (Galvachin *et al.*, 1994).

Nei *et al.*, (2019) estudiaron el compostaje de lodos de aguas residuales y productos farmacéuticos y Albero *et al.*, (2019) realizaron un análisis similar a nuestro experimento con antibióticos en plantas de lechuga para monitorear su ingesta de plantas.

Tian *et al.*, (2019) mostraron la eliminación total de los antibióticos tilosina, tetraciclina, clortetraciclina, doxiciclina, sulfametizina, sulfadiazina y sulfametoxazol a 600 °C, mientras que observaron que metales pesados como zinc, cobre, cromo, plomo, níquel, cadmio y arsénico quedaron inmovilizados en el estiércol (Hu *et al.*, 2011).

La aplicación del compost de lodos de depuradora como fertilizante incluso tras su compostaje o vemicompostaje pueden causar contaminación en los cultivos, dada la absorción de productos farmacéuticos por las plantas. Autores como Haiba *et al.*, (2013) tras la aplicación de 10 mg. Kg⁻¹ de algunos medicamentos, muestran valores de concentraciones medias en la planta de sustancias de farmaceuticas tales como ciclofloxacino, norfloxacino, sulfadimetoxina y sulfametoxazolona del orden de 437 µgr.Kg⁻¹ de ciclofloxacina, 633 µgr.Kg⁻¹ de norfloxacina, 403 y 3400 µgr.Kg⁻¹ de sulfadimetoxina y sulfametoxazola respectivamente, valores incluso superiores a los obtenidos en nuestro estudio.

La bibliografía confirma que la aplicación del compost de lodos de depuradora como fertilizante y la consiguiente toma de productos farmacéuticos por las plantas alimenticias,

pueden causar contaminación (Monteiro *et al.*, 2009; Motoyama *et al.*, 2011; Parolini *et al.*, 2011; Martín *et al.*, 2012; Michelini *et al.*, 2012; Ribera-Utrilla *et al.*, 2013; Mitchell *et al.*, 2015; Narumiya *et al.*, 2015; Whu *et al.*, 2015; Osorio *et al.*, 2016; Quian *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018), aunque en todos los casos será inferior al causado por la aplicación directa de los lodos sobre los cultivos. Por ello, las principales vías de entrada de antibióticos en el medio ambiente son la aplicación de residuos orgánicos para mejorar la calidad del suelo y el riego con agua reciclada. Una vez en el medio ambiente, los antibióticos se pueden introducir en la cadena alimentaria a través de los cultivos. Albero *et al.*, (2019), describen la determinación de siete antibióticos en lechugas cultivadas en macetas fertilizadas con estiércol de aves de corral contaminada con una mezcla de antibióticos, para alcanzar una concentración final de $2,5 \text{ ng.g}^{-1}$ en el suelo. Obtuvieron que en la lechuga cosechada después de 21, 36 y 55 días persistían cinco de los siete antibióticos estudiados. La mayor ingesta se encontró para la lincomicina (51 ng.g^{-1}), seguido de sulfametoxazol (44 ng.g^{-1}) y sulfametiazina (21 ng.g^{-1}) en la lechuga cosechada después de 21 días. Y se observó una disminución importante de sus niveles después de 36 días, pero estos niveles se mantuvieron similares después de 55 días. Y aunque dichos niveles en la lechuga fueron bajos, la presencia de antibióticos demostró la necesidad de evaluar los riesgos en los alimentos relacionados con el uso de enmiendas al suelo, o agua de riego contaminada con antibióticos.

Ahmed *et al.*, (2015) estudian la distribución y patrón acumulativo de tetraciclinas y sulfonamidas en verduras comestibles, producido por las excreciones de los animales, para ello utilizaron seis antibióticos (tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina, sulfametiazina, sulfametoxazol y sulfadimetoxina) a tres concentraciones ($5, 10$ y 20 mg.kg^{-1} en un suelo franco y con arena en macetas con tres tipos de plántulas vegetales, que incluyeron pepino (*Cucumis sativus*), tomate cherry (*Solanum lycopersicum*) y lechuga (*Lactuca sativa*), y que se cultivaron durante 45 días en el invernadero. Observaron que todos los antibióticos absorbidos por plantas mostraron efectos negativos sobre el crecimiento. Se detectaron niveles relativamente altos de tetraciclinas y sulfonamidas en las partes no comestibles, raíces y hojas de pepino y tomate, pero las raíces de pepino acumularon sulfonamidas en un 94,6% de la adición total (5 mg kg^{-1}), lo que nos indica la elevada peligrosidad de utilizar este tipo de compuestos.

Albero *et al.*, (2018) estudiaron la persistencia de ciertos antibióticos en suelos control y en suelos tratados con residuos ganaderos, sus resultados señalaron que la vía de entrada de antibióticos en el suelo fue a través del agua reciclada o el estiércol, puede tener alta disponibilidad en el suelo. Se estudiaron seis antibióticos veterinarios: (fluoroquinolona, tetraciclinas, sulfonamidas y lincosamida) y un metabolito activo (ciprofloxacino), realizando ensayos de incubación ($25 \text{ }^{\circ}\text{C}$) con diferentes regímenes de agua, con un contenido constante

de humedad (80% de la capacidad de retención de agua) y en ciclos de secado-rehumectación. Los resultados indicaron que los niveles más altos encontrados en la fase acuosa del suelo fueron para el sulfamethoxazol, seguido de la sulfametazina y la lincomicina, siendo muy bajos los niveles de clortetraciclina, doxiciclina, ciprofloxacino y enrofloxacina (< 1,8%). El estudio demostró una correlación positiva entre las concentraciones de antibióticos y el contenido del carbono orgánico disuelto en la fase acuosa del suelo con el tiempo de incubación. Se observó un aumento en los coeficientes aparentes de sorción de estos antibióticos, excepto la clortetraciclina y la lincomicina, cuando el suelo fue modificado con estiércol. A excepción de las fluoroquinolonas, y después de 90 días de incubación, se observó una rápida disipación de antibióticos durante el ensayo, con una vida media que oscila entre 8 a 27 días. Estos valores aumentaron entre el 6% y el 53% en el estiércol, sin embargo, la vida media fue corta (9 días y 27 días para la lincomicina y la sulfametazina, respectivamente). Se obtuvieron resultados similares con el suelo bajo ciclos de secado-rehumectación que muestran valores algo más bajos en la fase acuosa del suelo, y vida media ligeramente más corta en algunos casos.

Albero *et al.*, (2019), estudiaron el efecto de antibióticos de uso veterinario (sulfadiazina, sulfametiazina, sulfametoaxazol y tetraciclina) mezclado con estiércol para estudiar el comportamiento en función del tiempo, viendo que el Sulfamethoxazol presentaba una eliminación rápida y poca contaminación ambiental. Medicamentos como la sulfadiazina y sulfametina se comportan de manera similar en estiércol y suelos; mientras que la tetraciclina es más sorptiva. La mayoría de estos antibióticos se acumulan en el suelo o se transportan a sistemas de aguas superficiales a través de la erosión del suelo. Sus resultados indican que tras la incorporación al suelo, la sulfadiazina, sulfametiazina y tetraciclina quedan retenidos por las partículas de suelo por lo que persisten en ellos y se acumulan; y finalmente se transportan a las aguas superficiales por la erosión del suelo.

Goulas *et al.*, (2017) en un estudio experimental realizó la evaluación de la disponibilidad ambiental de sulfametoaxazol y su metabolito acetilado en suelos agrícolas modificados con compost y estiércol.

Dolliver *et al.*, (2008) estudiaron la degradación de antibióticos durante el compostaje de estiércol y cuantificaron la degradación de la clortetraciclina, la monensina, la sulfametizina y la tilosina durante el compostaje. Las concentraciones de clortetraciclina disminuyeron rápidamente durante el compostaje, mientras que las concentraciones de monensina y tracinina disminuyeron gradualmente. No hubo degradación de la sulfametizina en ninguno de los tratamientos. Al final del período de compostaje (22-35 días), hubo una reducción del 99% en la clortetraciclina, mientras que la reducción de monensina y tylosin osciló entre el 54 y el 76% en los tres tratamientos. Suponiendo la descomposición de primer orden, la vida media de la

clorotraciciclina, la monensina y la tricina fueron 1, 17 y 19 días, respectivamente. Y sugirieron que el almacenamiento del estiércol, después de un ajuste inicial del contenido de agua puede ser una opción práctica y económica para los productores de ganado en la reducción de los niveles de antibióticos en el estiércol antes de la aplicación de la tierra (Golet *et al.*, 2002; González- Martínez *et al.*, 2014)

Topp *et al.*, (2016) estudiaron los efectos de un medicamento antidiabes en plantas, su permanencia y translocación a partes comestibles de cereales, semillas, aceites, frijoles, tomate, calabaza, zanahorias y patatas en experimentos de invernadero y la translocación de metformina, en especies vegetales comestibles cultivadas en suelos agrícolas como las semillas aceitosas de colza. Los resultados fueron expresados como un factor de *bioconcentración promedio*; que en los granos de los cereales de trigo, cebada y avena estaban en el rango de 0,29-1,35 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, en futas y verduras, entre 0,0 y 0,06 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, calabaza y frijol entre 0,12 y 0,18 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ 0,88 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, siendo similares (para zanahoria, papa y forraje de hoja (1-4 $\mu\text{g.kg}^{-1}$). Guanylurea, un producto de degradación por microorganismos conocido de metformina en lodos activados, se encontró en granos de cebada, vainas de frijol y cáscara de patatas. Los mecanismos para el transporte de muchos medicamentos (ej: metformina y guanidina) en las plantas aún son desconocidos, mientras que los transportadores de cationes orgánicos en los mamíferos son conocidos por transportar activamente estos compuestos, y pueden mostrar el camino para una mayor comprensión de los mecanismos también en las plantas (Bartiková *et al.*, 2016).

En suelos de diferentes tipos texturales, la sorción de estrógenos, triclosán y cafeína fue estudiada por Karnjanapiboonwong *et al.*, (2010), obteniendo coeficientes de partición para el suelo del orden limoso > franco-arenoso> arenoso, al mismo tiempo que relacionó la capacidad de sorción directamente con el contenido de carbono orgánico. Los valores más altos de triclosan fueron en el suelo limoso, e indicaron que la cafeína tenía la mayor capacidad de desorción (>15%) en el suelo franco arenoso, mientras que el triclosán tenía la menor capacidad de desorción (<1%) en ambos tipos de suelo sin influencia textural.

Kinney *et al.*, (2008), evaluaron el potencial de transferencia de 77 biosólidos aplicados en el suelo con estiércol de ganado y lombrices de tierra. Los factores de bioacumulación medidos oscilaron entre 0,05 (galaxolido) y 27 (triclosán). Este estudio demuestra que cuando los medicamentos están presentes en materiales como los biosólidos y el estiércol, pueden transferirse a las lombrices de tierra (Garbono *et al.*, 2017).

Ma *et al.*, (2019) estudiaron los efectos de los residuos de la medicina tradicional china en el crecimiento de las plantas y las propiedades del suelo en un estudio realizado en un cultivo de maíz (*Zea mays L.*), considerando se trata de una estrategia eficaz no sólo para lograr la

eliminación de los residuos, sino también para la reutilización de estos recursos de desecho, que mejoran la fertilidad del suelo y el crecimiento de las plantas, no obstante no estudiaron la cantidad de estos residuos medicinales que pasan a la planta de maíz (Baran *et al.*, 2011; Behera *et al.*, 2006).

Para satisfacer las crecientes demandas de agua, las aguas residuales tratadas se han convertido en una importante fuente de riego. Por lo tanto, la contaminación de las aguas residuales tratadas por compuestos farmacéuticos y el destino de estos compuestos en el entorno agrícola son motivo de creciente preocupación. Este estudio de campo tuvo como objetivo cuantificar la absorción de compuestos farmacéuticos por los cultivos de raíces tratados con riego de aguas residuales (zanahorias y batatas), y cultivados en lisímetros para evaluar los riesgos potenciales. En ambos cultivos, los compuestos no iónicos (carbamazepina, cafeína y lamotrigina) se detectaron en concentraciones significativamente más altas que los compuestos iónicos (metoprolol, bezafibrato, ácido dofibrico, diclofenaco, gemfibrozilo, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno, sulfametoxazol y sildenafil) y sildenafil, influyendo pues la naturaleza de dichos medicamentos.

El paso de los medicamentos estudiados a los diferentes compartimentos suelo, raíz y hoja nuestro caso indica que, medicamentos como ibuprofeno y fenitoina presentan valores elevados tanto en suelo como raíz y hojas de la planta de lechuga al igual que en los controles, disminuyendo en todos los casos tras la aplicación de compost y vermicompost.

Los valores obtenidos tras la aplicación de quinolona son bastante similares para la raíz y la hoja y bastante superiores en el suelo. En la mayoría de los casos estudiados, los suelos con enmienda producen mayor degradación del medicamento que los no enmendados, observándose una menor disminución de la concentración de medicamentos en suelo a las tres semanas de su aplicación en el suelo no enmendado.

En el caso de la hoja parece que fármacos como el ibuprofeno se traslada desde el suelo más lentamente a la hoja, y que va aumentando ligeramente su concentración con el tiempo. Es decir, que aún a dosis pequeñas este medicamento se mantiene a dosis clínicas en nuestra experiencia, con valores poco despreciables considerando que la dosis a aplicar en humanos es de 600 mg tres veces al día.

La elevada solubilidad de la cafeína y su alta absorción parece ser la causa de la existencia de valores bajos de este medicamento en el suelo y raíz comparados con los que pasan a la hoja.

Por otra parte, el paracetamol es un medicamento que se acumula principalmente en suelo y hoja, aunque se disipa rápidamente en los tres casos estudiados.

El ácido acetilsalicílico y la benzocaína muestran resultados similares. En ambos casos las dosis más elevadas se producen a la semana de la aplicación de los medicamentos con valores más elevados en el caso de suelo y raíz. A excepción de la raíz la disminución es muy acusada tras el paso del tiempo en el estudio. Para la benzocaína tanto en el suelo como en la raíz se mantienen valores considerables, pero para la hoja su disminución a las tres semanas en todos los tratamientos es muy acusada, llegando a valores despreciables a las tres semanas de su aplicación.

Se observa que para cada medicamento el comportamiento de su acumulación se muestra ligeramente diferente, y aunque no se ha considerado la variable textural en nuestro estudio como realizó Ammari *et al.*, (2012), sí que se observa, que en general, el compostaje y vermicompostaje favorece su eliminación, aunque para medicamentos como el ibuprofeno podría ser retenido en las fracciones orgánicas aplicadas.

4.5.3.3. Resultados de la relación RCF (relación de la concentración de medicamentos entre la raíz y el suelo (Croot/Csoil))

El estudio la relación RCF (relación de la concentración de medicamentos entre la raíz y el suelo Croot/Csoil), para evaluar las diferentes relaciones respecto a la acumulación de concentraciones de medicamentos en raíz o suelo en los medicamentos utilizados en el estudio.

En la mayoría de los casos, se obtiene que esta relación disminuye intensamente a las tres semanas de estudio, frente a los datos obtenidos a la semana. Igualmente y en líneas generales, las relaciones son bastante inferiores en los suelos adicionados de vermicompost. Se observan casos en los que la relación de medicamento acumulado en la raíz frente a suelo tiende a descender en el sentido $SPM > SPMC > SPMVC$. Esto ocurre con medicamentos como paracetamol y benzocaína, aunque no obstante en ocasiones se obtienen relaciones elevadas para las muestras adicionadas con compost.

En algunos de los medicamentos, y en ambos periodos de estudio, los valores de la relación RCF en las muestras presentan una tendencia a mantenerse en ambas dosis, como ocurre con los suelos adicionados de quinolona, ácido acetil salicílico y cafeína. Mientras que en el caso de los suelos adicionados de ibuprofeno se observa claramente un aumento de esta relación a ambas dosis, indicando una acumulación en la raíz tanto para las concentraciones de 10 y 100 $mg \cdot kg^{-1}$.

Nuestros resultados muestran valores similares en la mayor parte de los casos, excepto en las muestras con adición de compost para las dosis bajas de medicamento (10 $mg \cdot kg^{-1}$), mientras que a dosis altas las concentraciones más elevadas en raíz se producen en los compost

y vermicompost frente a suelos sin enmienda, indicando que en estas muestras el ibuprofeno tienden a acumularse en las raíces.

Los resultados obtenidos tras la adición de ambas dosis de ibuprofeno indican claramente en algunos casos (SPMC_{1s}) una acumulación en la raíz de la planta (0,29 SPM_{1s}, 31,67 SPMC_{1s}, 5,56 SPMVC_{1s} y 1,95 SPM_{3s}, 3,66 SPMC_{3s}, 9,94 SPMVC_{3s}) aunque estas cantidades disminuyeron (0,22 mg.kg⁻¹, SPM_{1s}, 0,17 mg.kg⁻¹, SPMC_{1s}, 0,40 mg.kg⁻¹ SPMVC_{1s} y 2,14 mg.kg⁻¹ SPM_{3s}, 4,03 mg.kg⁻¹ SPMC_{3s}, 4,95 mg.kg⁻¹ SPMV_{3s}) a las tres semanas de su aplicación (Figura 4.5.31a y Figura 4.5.31b).

En la aplicación de la dosis de 10 mg.kg⁻¹ de paracetamol las relaciones obtenidas fueron disminuyendo en el tiempo a dosis bajas (1,35 SPM_{1s}, 1,93 SPMC_{1s}, 0,67 SPMVC_{1s} y 0,98 SPM_{3s}, 1,93 SPMC_{3s}, 1,52 SPMVC_{3s}), mientras que su acumulación elevada en un inicio en la raíz a la dosis de 100 mg.kg⁻¹ disminuye en el tiempo estudiado (121,40 mg.kg⁻¹ SPM_{1s}, 62,97 mg.kg⁻¹ SPMC_{1s}, 1,70 mg.kg⁻¹ SPMVC_{1s} y 36,55 mg.kg⁻¹ SPM_{3s}, 221,24 mg.kg⁻¹ SPMC_{3s} y 0,70 mg.kg⁻¹ SPMV_{3s}) principalmente en el suelo adicionado de vermicompost donde desciende considerablemente su concentración (Figura 4.5.31c y Figura 4.5.31d).

En el suelo adicionado de cafeína las relaciones RCF se mantienen en el tiempo con valores bajos (8,09 SPM_{1s}, 7,32 SPMC_{1s}, 0,22 SPMVC_{1s} y 1,98 SPM_{3s}, 7,35 SPMC_{3s}, 1,98 SPMVC_{3s}) disminuyendo en el tiempo tras aplicar la dosis de 100 mg.kg⁻¹ de este medicamento (1,19 mg.kg⁻¹ SPM_{1s}, 1,04 mg.kg⁻¹ SPMC_{1s}, 1,07 mg.kg⁻¹ SPMVC_{1s} y 0,75 mg.kg⁻¹ SPM_{3s}, 0,90 mg.kg⁻¹ SPMC_{3s}, 0,80 mg.kg⁻¹ SPMV_{3s})(Figura 4.5.31e y Figura 4.5.31f).

Para el suelo adicionado con quinolona a la dosis de 10 mg.kg⁻¹ las relaciones obtenidas fueron similares (1,93 SPM_{1s}, 0,97 SPMC_{1s}, 0,21 SPMVC_{1s} y 0,98 SPM_{3s}, 0,43 SPMC_{3s}, 1,15 SPMVC_{3s}) pero ligeramente superiores para SPMVC_{3s}, indicando en algunos casos, cierta acumulación en el tiempo en la raíz de la planta en ambas dosis (0,34 mg.kg⁻¹ SPM_{1s}, 0,46 mg.kg⁻¹ SPMC_{1s}, 1,06 mg.kg⁻¹ SPMVC_{1s} y 0,64 mg.kg⁻¹ SPM_{3s}, 0,34 mg.kg⁻¹ SPMC_{3s}, 0,47 mg.kg⁻¹ SPMV_{3s})(Figura 4.5.31g y Figura 4.5.31h) pero con escasas diferencias en el tiempo.

Tras aplicar al suelo 10 mg.kg⁻¹ de ácido acetil salicílico las relaciones obtenidas disminuyen con el tiempo (13,25 SPM_{1s}, 263,38 SPMC_{1s}, 19,54 SPMVC_{1s}, y 5,24 SPM_{3s}, 3,12 SPMC_{3s}, 15,06 SPMVC_{3s}), pero se mantienen a dosis altas, observando una baja disminución de su concentración en el tiempo para la raíz de la planta, excepto para SPMC_{1s}. A la dosis de 100 mg.kg⁻¹, las concentraciones disminuyen en el tiempo)(Figura 4.5.31i y Figura 4.5.31j) bastante elevadas para las muestras adicionadas con compost (5,38 mg.kg⁻¹ SPM_{1s}, 5,42 mg.kg⁻¹ SPMC_{1s}, 7,93 mg.kg⁻¹ SPMVC_{1s} y 0,76 mg.kg⁻¹ SPM_{3s}, 9,96 mg.kg⁻¹ SPMC_{3s} y 0,86 mg.kg⁻¹ SPMV_{3s}).

Para el suelo adicionado de benzocaína a la dosis de 10 mg.kg^{-1} las relaciones obtenidas a tiempos cortos fueron bajas (1,50 SPM_{1s}, 0,86 SPMC_{1s}, 0,56 SPMVC_{1s} y 0,67 SPM_{3s}, 0,19 SPMC_{3s}, 0,57 SPMVC_{3s}) disminuyendo levemente su acumulación a las tres semanas.

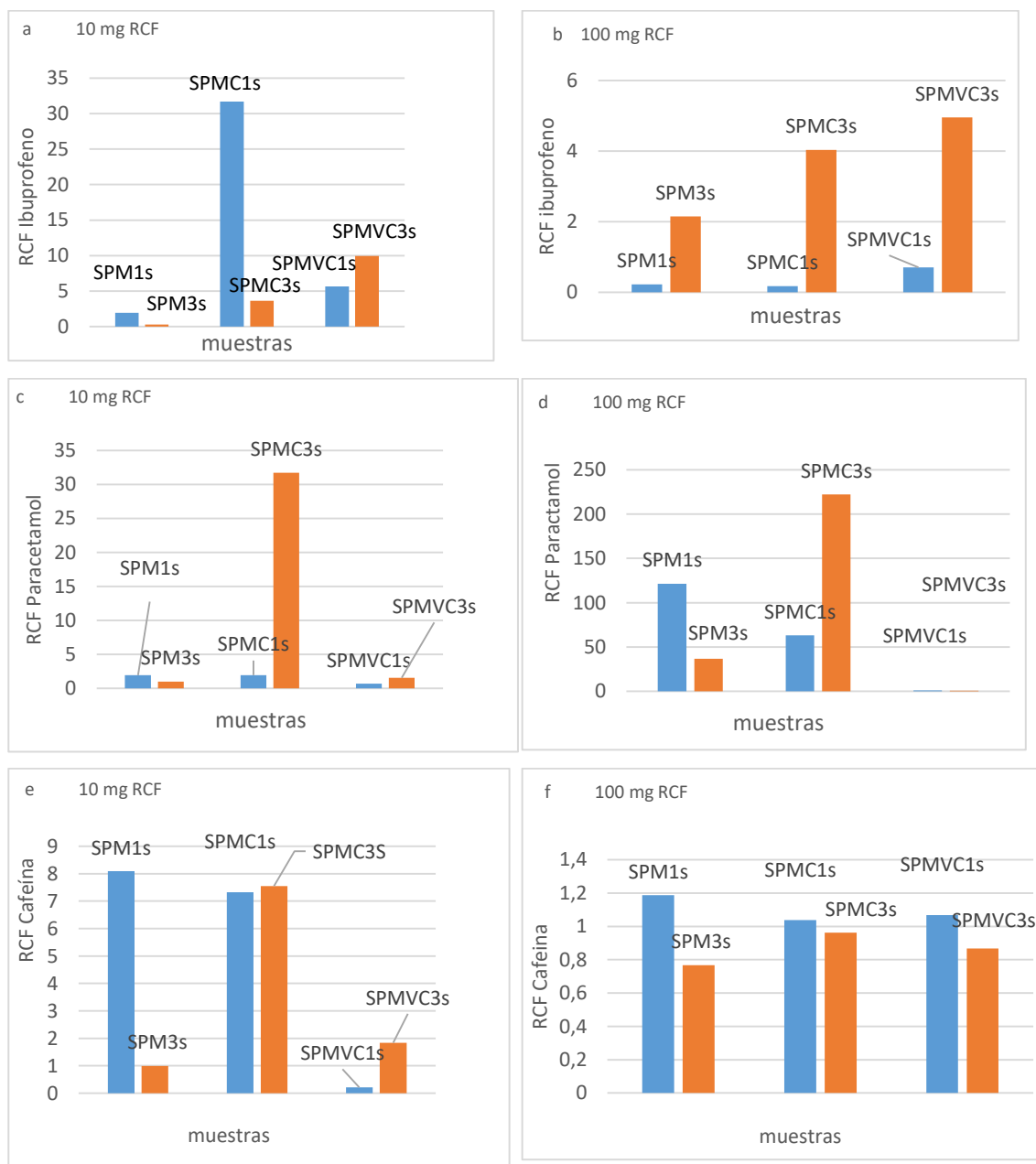


Figura 4.5.31. Relación RCF (concentración de medicamentos entre la raíz y el suelo) para los suelos adicionados con los medicamentos utilizados a) y b) ibuprofeno, c) y d) paracetamol, e) y f) cafeína, g) y h) quinolona, i) y j) ácido acetil salicílico y k) y l) benzocaína a las dosis de 10 y 100 mg.kg^{-1} sin o con adición de compost o vermicompost a la semana (SPM_{1s}, SPMC_{1s}, SPMVC_{1s}) y 3 semanas de aplicación (SPM_{3s}, SPMC_{3s}, SPMVC_{3s})

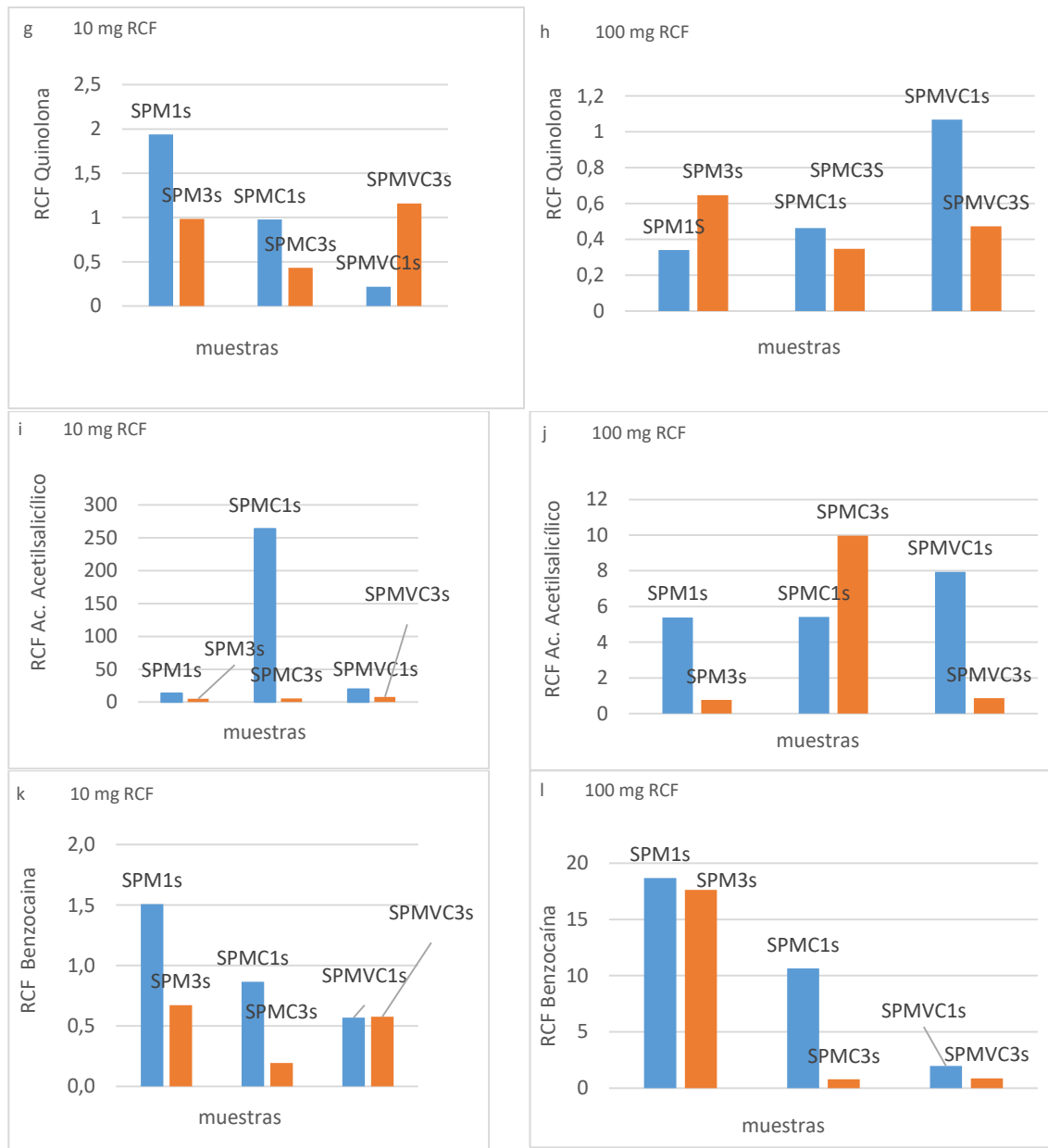


Figura 4.5.31 (Cont.). Relación RCF (concentración de medicamentos entre la raíz y el suelo) para los suelos adicionados con los medicamentos utilizados a) y b) ibuprofeno, c) y d) paracetamol, e) y f) cafeína, g) y h) quinolona, i) y j) ácido acetil salicílico y k) y l) benzocaína a las dosis de 10 y 100 mg.kg⁻¹ sin o con adición de compost o vermicompost a la semana (SPM_{1s}, SPMC_{1s}, SPMVC_{1s}) y 3 semanas de aplicación (SPM_{3s}, SPMC_{3s}, SPMVC_{3s})

Y a la dosis de 100 mg.kg⁻¹ los resultados indican una clara disminución de RCF en el tiempo (18,66 mg.kg⁻¹ SPM_{1s}, 10,64 mg.kg⁻¹ SPMC_{1s}, 1,96 mg.kg⁻¹ SPMVC_{1s} y 7,61 mg.kg⁻¹ SPM_{3s}, 0,76 mg.kg⁻¹ SPMC_{3s}, 0,85 mg.kg⁻¹ SPMV_{3s})(Figura 4.5.31k y Figura 4.5.31l).

Los resultados obtenidos muestran distintos comportamientos tras la aplicación de los diferentes contaminantes emergentes, y su acumulación en los distintos compartimentos suelo-planta.

La bibliografía consultada muestra estudios realizados por Walters *et al.*, (2010) estudiando en suelos la biodisponibilidad de metales y su relación con carbonatos y materia orgánica, determinó que la adsorción de las enmiendas orgánicas pueden movilizar metales y contaminantes emergentes que están inmovilizados, debido a la mejora de la carga superficial y la disponibilidad de estos compuestos (Carballa *et al.*, 2004; Clark *et al.*, 2007).

La exposición humana a posibles contaminantes tóxicos y el riesgo asociado para la salud es el centro de los estudios ambientales y médicos actuales. La transferencia y la partición de los contaminantes en los sistemas de cultivos/suelo es un problema clave para evaluar la ingesta de alimentos de los contaminantes. Se evaluaron dos modelos principales, el modelo ecológico de cultivos y el modelo químico ambiental del suelo. Estos modelos pueden ser valiosos para la investigación de la protección del medio ambiente agrícola y el desarrollo de directrices para la protección del suelo.

En una experiencia de bioremediación con plantas de soja observaron la acumulación de antibióticos desde el suelo salino contaminado preparado, pero no se observó la translocación en las raíces (Liu *et al.*, 2013). Dicho estudio sobre el contenido total de antibióticos en plantas siguió la secuencia de la distribución de todos los antibióticos tallo, raíz y hoja.

En general, para nuestro estudio la relación RCF tiende a descender en el sentido SPM>SPMC>SPMVC en medicamentos como paracetamol y benzocaína, mientras que los suelos adicionados de quinolona, ácido acetil salicílico y cafeína los valores de la relación RCF en las muestras presentan una tendencia a mantenerse en ambas dosis. En los suelos adicionados de ibuprofeno se observa claramente un aumento de esta relación, indicando su acumulación en la raíz. Bhalsod *et al.*, (2018) en estudios similares sobre la acumulación de productos farmacéuticos en lechugas de Invernadero utilizando agua de riego contaminada con productos farmacéuticos, compararon el riego a manta con el de aspersion, vieron que este último aumentó los residuos farmacéuticos acumulados en brotes de lechuga, persistiendo niveles elevados de residuos de trimetoprim, monensina sódica y tilosina, incluso después del lavado, indicando su fuerte sorción a los brotes. Las concentraciones postlavado en brotes frescos variaron de 0,05 a 0,04 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ para sulfadiazina, y hasta 345 a 139 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ para carbamazepina. Los factores de concentración en la raíz oscilaron entre 0,04 y 0,14 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ para la tilosina y 19,2 - 15,7 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ para el sulfametoxazol. Mostrando valores similares a los obtenidos en nuestro experimento para la cafeína (4,28 -3,01 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), y también para compuestos como el ácido acetil salicílico (8,15- 2,87 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$).

5. Conclusiones

Este trabajo muestra los resultados del estudio del compostaje y vermicompostaje de residuos agrícolas desde varios puntos de vista: evaluación de estos procesos como técnicas de tratamiento y de la calidad de los productos obtenidos, estimación de los compost y vermicompost como agentes de biocontrol y como sustratos de cultivo, efectividad de estas técnicas para la eliminación de fármacos presentes en lodos de depuradora, así como su efecto sobre la degradación de medicamentos en el suelo y la absorción por plantas de lechuga. Las principales conclusiones obtenidas son:

- 1) Las técnicas de compostaje y vermicompostaje, en las condiciones establecidas en este trabajo, son eficaces para el tratamiento y reciclado de residuos de cítrico, higuera y maíz con estiércol de conejo.
- 2) Los compost y vermicompost obtenidos fueron aptos para su utilización agrícola. No obstante, sobre la base de: el contenido de carbono y nutrientes, la relación C/N, actividades enzimáticas como fosfatasa, esterasa-lipasa y algunas glicosil-hidrolasas, índices quimiométricos (compuestos aromáticos y presencia de polisacáridos) e índices de maduración (demanda química de oxígeno, test de fitotoxicidad y capacidad de intercambio catiónico), la calidad de los vermicompost fue generalmente superior a la calidad de los compost.
- 3) De los seis productos obtenidos, el vermicompost elaborado con residuo de cítricos presentó la mejor calidad.
- 4) El análisis metagenómico demostró que la técnica de tratamiento y el tipo de residuo influyen en la composición de las comunidades bacterianas y fúngicas de los compost y vermicompost. Así, la mayor abundancia relativa en la composición de dichas comunidades, en función del proceso y el tipo de materiales de partida correspondió a los vermicompost de maíz y cítricos, mientras que en el compost de cítricos fue mucho menor. La humedad, la temperatura, el pH y la relación C/N, son los principales parámetros que se asociaron con cambios en las comunidades microbianas, siendo la temperatura en el compostaje y el contenido de carbono orgánico en el vermicompostaje, los más influyentes.
- 5) La especificidad y consistencia de las comunidades que habitan los materiales obtenidos de los residuos tratados sugieren que el análisis de la comunidad bacteriana es un indicador potencialmente útil para caracterizar la calidad de los compost y vermicompost. Las secuencias obtenidas indicaron mayoritariamente la presencia de los filos *Actinobacterias* y *Firmicutes*,

observándose diferencias significativas entre compost y vermicompost. Así, en los vermicompost predominaron bacterias relacionadas con los filos *Acidobacterias* y *Bacteroidetes* y con el género *Cloroflexis*. Los hongos más abundantes pertenecen al grupo taxonómico de los *Ascomicetos*, siendo el género *Microascus* el más frecuente; estos microorganismos fueron significativamente abundantes en los compost de los residuos de cítricos e higuera.

6) Los ensayos de biosupresividad demostraron que el compost de limonero, presentó un poder inhibitorio elevado sobre del desarrollo de *Fusarium* sp., mientras que los compost de higuera, arroz y naranjo presentaron un efecto moderado. Los extractos de vermicompost obtenidos a partir de plantas aromáticas de tomillo, lavanda y romero mostraron un elevado efecto supresivo, mientras que los vermicomposts de cítricos, maíz y arroz dieron un efecto moderado.

7) Los extractos de compost de residuo de arroz, cítricos y olivos mostraron un elevado efecto supresivo sobre *Xanthomonas campestris*, mientras que el de maíz fue moderado.

8) Respecto al efecto de los compost y vermicompost sobre el desarrollo de las plantas aromáticas de romero (*Rosmarinus officinalis*), lavanda (*Lavandula officinalis* L) y menta (*Mentha spicata*), se observó que, en general, mejoraron el desarrollo de la planta, siendo el vermicompost elaborado con residuo de cítricos el más efectivo. Estos productos incrementaron significativamente la altura y el diámetro del tallo, así como el peso de las plantas. Los parámetros más influyentes fueron: la capacidad de retención de agua y la biodisponibilidad de nutrientes de los vermicompost de cítrico, maíz e higuera.

9) Los ensayos para la evaluación del proceso de compostaje y vermicompostaje como técnicas de tratamiento de residuos, con la finalidad de eliminar medicamentos presentes en lodos de depuradora, demostraron la efectividad de estas técnicas para eliminar medicamentos como: el antibiótico azitromicina, el antihipertensivo ibersartán, los antiinflamatorios ibuprofeno y paracetamol y el estimulante cafeína, sin afectar significativamente al desarrollo de los procesos ni a las lombrices en el caso del vermicompostaje. Los tiempos de vida media en el caso del compostaje fueron: 0,3, 2,9, 3,9, 5,7 y 9,4 días para azitromicina, paracetamol, cafeína, ibuprofeno e irbesartán respectivamente, mientras que en el caso del vermicompostaje fueron: 1,3, 1,5, 2,7, 7,0 y 7,4 días para cafeína, azitromicina, paracetamol, ibuprofeno e irbesartán respectivamente. El antihipertensivo telmisartán se mostró, en ambos casos, extremadamente persistente.

10) Respecto a la influencia de los compost y vermicompost sobre la degradación de los medicamentos ibuprofeno, cafeína, paracetamol, ácido acetyl salicílico, fenitoína y quinolona, en el sistema suelo-planta, se observó que, en general, en los suelos enmendados con los productos obtenidos, se produjo mayor degradación y que este efecto se incrementó bajo la presencia de la planta de lechuga y del vermicompost. Tras tres semanas de aplicación, la

concentración de los medicamentos disminuyó de forma considerable. La cafeína y el paracetamol se degradaron más rápidamente mientras que el ibuprofeno y la fenitoína fueron los más persistentes.

11) Sorprendentemente, en todos los casos, hubo absorción y transferencia a la hoja de lechuga. La acumulación fue mayoritaria en el sistema radicular. El ibuprofeno, el ácido acetil salicílico y la fenitoína se acumularon mayoritariamente en la raíz, mientras que la cafeína, el paracetamol y la benzocaína se acumularon principalmente en la hoja. Después de tres semanas de incubación, la cafeína, el paracetamol y la benzocaína no se detectaron en la hoja y la concentración del resto de medicamentos experimentó una gran disminución.

12) Las dos conclusiones anteriores sugieren que la actividad biológica del suelo y el metabolismo de las plantas, juegan un papel muy importante en la degradación y el destino de estos medicamentos en el sistema suelo-planta.

Los resultados obtenidos en este trabajo contribuyen a favorecer el impulso de las técnicas de compostaje y vermicompostaje para el reciclado y valorización de los residuos agrícolas, y abren una puerta para mitigar el problema de los contaminantes emergentes que se encuentran en los lodos de depuradora, así como para estimular el estudio y la obtención de los microorganismos implicados en ambos procesos con fines a mejorar las técnicas de biorremediación. Además, es posible utilizar el sistema suelo-compost/vermicompost-planta como técnica de biorremediación de suelos contaminados con medicamentos. No obstante, son necesarios futuros estudios con otros tipos de residuos y medicamentos, así como la investigación de las posibilidades de biorremediación con diferentes tipos de suelos y con diferentes dosis de enmiendas orgánicas. También sería interesante estudiar la interacción de los fármacos, la sucesión de las comunidades microbianas a lo largo de los procesos, así como la formación de metabolitos. Por otro lado, nuestros resultados también ponen de manifiesto la necesidad de incrementar los estudios de absorción de los diferentes medicamentos debido al aumento en la utilización de aguas regeneradas y lodos de depuradora en los agrosistemas y la presencia de contaminantes emergentes en todos los compartimentos ambientales, con objeto de evitar riesgos para el medioambiente e incrementar la calidad del suelo y la seguridad alimentaria. Todos estos aspectos constituyen, en parte, las bases que marcan el camino hacia la sostenibilidad y contribuyen, en gran medida, a llevar a cabo de manera exitosa las directrices de la economía circular.

6. Bibliografía

- Aalok, A., Tripathi, A.K., Soni, P. 2008. Vermicomposting: A better option for organic solid waste management. *Journal of Human Ecology*, 24, 59-64.
- Abad, M., Fornes, F., García, D., Cegarra, J., Roig, A. 1991. Effects of humic substances from different sources on growth and nutrient content of cucumber plants. En: Allard, B., Borén, H. and Grimvall, A. (Eds.). *Lecture Notes in Earth Sciences. Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment*. Springer-Verlag, 33, 391-396.
- Abad, M., Martínez, P.F., Martínez, M.D., Martínez, J. 1992. Evaluación agronómica de los sustratos de cultivo. *Actas de Horticultura*, 23, 45-61.
- Abad, M., Noguera, P., Noguera, V., Roig, A., Cegarra, J., Paredes, C. 1997. Reciclado de residuos orgánicos y su aprovechamiento como sustratos de cultivo. *Actas de Horticultura*, 19, 92-109.
- Abad, M., Noguera, P., Burés, S. 2001. National inventory of organic wastes for use and growing media for ornamental potted plant production: case study in Spain. *Bioresource Technology*, 77, 197-200.
- Abad, M., Puchades, R. 2002. Compostaje de Residuos Orgánicos Generados en la Hoya de Buñol (Valencia) con Fines Hortícolas. Ed. Asociación para la Promoción Socio- Económica Interior Hoya de Buñol, Valencia.
- Abad, M., Carrión, C. 2006. Caracterización física, química y biológica de los sustratos de cultivo. En: Alarcón, A.L. (Coord.). *Cultivo Sin Suelo: Técnicas para hortalizas en Clima Mediterráneo*. Ediciones de Horticultura S.L., Reus. 43-52.
- Abad, M., Fornes, F., Mendoza-Hernández, D., García de la Fuente, R. 2009. Uso de compost como sustrato o componente de sustratos en viveros y semilleros. Tendencias futuras. *Actas de Horticultura*, 53, 17-31.
- Abaye, D.A., Lawlor, K., Hirsch, P.R., Brookes, P.C. 2005. Changes in the microbial community of an arable soil caused by long-term metal contamination. *European Journal of Soil Science*, 56, 1, 93-102. DOI: 10.1111/j.1365-2389.2004.00648.x
- Abbasi, S. A., Nayeem-S., M., Abbasi, T. 2015. Vermicomposting of phytomass: limitations of the past approaches and the emerging directions. *Journal of Cleaner Production*, 93, 103-114.
- Abou-Hussien, E.A., Elbaalawy, A.M., Hamad, M.M. 2019. Chemical Properties of compost in relation to calcareous soil properties and its productivity of wheat. *Egyptian Journal of Soil Science*, 59, 1, 85-99.
- Abou-Hussien, E.A., El-Koumey, B.Y., El-Shafiey, F.S. 2012. Effect of composted plant residues on newly reclaimed soils properties and its productivity. *Menoufia J. Agric. Res.*, 37, 231-245.
- Acosta, M. V., Tabatabai, M. A. 2000. Enzyme activities in a limited agricultural soil. *Biol. Fertil. Soils*, 31, 85-91.
- Adani, F., Ubbiali, C., Generini, P. 2006. The determination of biological stability of composts using the Dynamic Respiration Index: the results of experience after two years. *Waste Management*. New York, 26, 1, 41-48.
- Ahmad, R., Kookana, R.S., Alston, A. M., Skjemstad, J. O. 2001. The Nature of Soil Organic Matter Affects Sorption of Pesticide. 1. Relationships with Carbon Chemistry as Determined by ¹³C CPMAS NMR Spectroscopy. *Environmental Science and Technology*, 35, 878-884.

- Ahmed, M.B.M., Rajapaksha, A. U., Lim, J.E., Lim, J.E., Vu, N.T., Kim, I.S., King, H.M., Lee, S.S. 2015. Distribution and Accumulative Pattern of Tetracyclines and Sulfonamides in Edible Vegetables of Cucumber, Tomato, and Lettuce. *Journal of Agricultural and fod chemistry*, 63, 2, 398-405.
- Aira, M., Dominguez, J. 2010. Las lombrices de tierra y los microorganismos, desentrañando la caja negra del vermicompostaje. *Acta Zoológica Mexicana*, 2, 385-395.
- Aira, M, Monroy, F., Dominguez, J. 2007. Earthworms strongly modify microbial biomass and activity triggering enzymatic activities during vermicomposting independently of the application rates of pig slurry. *Science of Total Enviroment*, 385, 1-2, 252-261.
- Aira, M, Monroy, F., Dominguez, J., Mato, S. 2002. How earthworm density affects microbial biomass and activity in pig manure. *European Journal of Soil Biology*, 38, 7-10.
- Aira, M., Olcina, J., Pérez-Losada, M., Domínguez J. 2016. Characterization of the bacterial communities of casts from *Eisenia andrei*, fed with different substrates. *Appl Soil Ecol.*, 98, 103–111.
- Aira, M., Perez-Losada, M., Dominguez, J. 2018. Diversity, structure and sources of bacterial communities in earthworm cocoons. *Scientific Reports*, 8, 6632.
- Albanell, E., Plaixats, J., Cabrero, T. 1988. Chemical-Chages during vemicomposting (*Eisenia-Fetida*) of sheep manure mixedwith cotton industrial-wastes. *Biology and Fertility of Soils*, 6, 3, 266-269.
- Albiach, R., Canet, R., Montoya, T., Pérez, A., Quiñones, A., Rojo, P. 2018. Gestion integral de residuos orgánicos poniendo en marcha la economía circular en la sociedad. Ed: Red Española de Compostaje. Edita: Red Española de Compostaje. 570 pp.
- Albero, B., Tadeo, J.L., Delgado, M.D., Miguel, E., Perez, R.A. 2019. Analysis of Multiclass Antibiotics in Lettuce by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry to Monitor Their Plant Uptake. *Molecules*, 24, 22, DOI: 10.3390/molecules24224066
- Albero, B., Luis, T.J., Escario, M., Miguel, E., Perez, R. 2018. Persistence and availability of veterinary antibiotics in soil and soil-manure systems. *Science of the total environment*, 643, 562-1570.
- Albrecht, R., Joffre, R., Gros, R., Le Petit, J., Terrom, G., Perissol, C. 2008a. Efficiency of near-infrared reflectance spectroscopy to assess and predict the stage of transformation of organic matter in the composting process. *Bioresource Technology*, 99, 2, 448–455.
- Albrecht, R., Ziarelli, F., Alarcon-Gutierrez, E., Le Petit, J., Terrom, G., Perissol, C. 2008b. ¹³C solid-state NMR assessment of decomposition pattern during co-composting of sewage sludge and green wastes. *Eur. J. Soil Sci.*, 59, 3, 445–452.
- Albrecht, R., Perissol, C., Ruaudel, F., Le Petit, J., Terrom, G. 2010. Functional changes in culturable microbial communities during a co-composting process: carbon source utilization and co-metabolism. *Waste Manag.*, 30, 5, 764–770.
- Albrecht, R., Sebag, D., Verrecchia, E. 2015. Organic matter decomposition: bridging the gap between Rock-Eval pyrolysis and chemical characterization (CPMAS ¹³C NMR). *Biogeochemistry*, 122, 101–111.
- Albuquerque, C.C., Camara, T.R., Willadino, R.D.R., Ulises, Y.C. 2006. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49, 527-535.
- Albuquerque, J.A., González, J., Tortosa, G., Baddi, G.A., Cegarra, J. 2009. Evaluation of “alperujo” composting based on organic matter degradation, humification and compost quality. *Biodegradation*, 20, 2, 257-270.

- Aleman-Nava, GS., Meneses-Jacome, A., Cardenas-Chávez, D.L. 2015. Bioenergy in Mexico: Status and perspective. *Biofuels Bioproducts & Biorefining-Biofpr.*, 9, 1, 8-20.
- Allers, T., Mevarech, M. 2005. Archaeal genetics - the third way. *Nat. Rev. Genet.*, 6, 1, 58-73.
- Alexander, M. 1977. Introduction to soil microbiology. John Wiley & Sons, New York. 472 p.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., Blackwell, J.M.M. 1996. Introductory Mycology. John Wiley. New York: EE. UU. 321 pp.
- Al-Faiyz, S., Yasair, S. 2017. CPMAS C-¹³ NMR characterization of humic acids from composted agricultural Saudi waste. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, 1, S839-S853.
- Ali, M., Griffiths, A.J., Williams, K.P., Jones, D.L. 2007. Evaluating the growth characteristics of lettuce in vermicompost and green waste compost. *European journal of soil biology*, 43, 316-319.
- Ali, M., Bhatia, A., Kazmi, A.A., Ahmed, N. 2012. Characterization of high rate composting of vegetable market waste using Fourier transform-infrared (FT-IR) and thermal studies in three different seasons. *Biodegradation*, 23, 2, 231-242. DOI: 10.1007/s10532-011-9502-0.
- Alidadi, H., Hosseinzadeh, A., Najafpoor, A.A., Esmaili, H., Zanganeh, J., Takabi, M.D., Piranloo, F.G. 2016. Waste recycling by vermicomposting: Maturity and quality assessment via dehydrogenase enzyme activity, lignin, water soluble carbon, nitrogen, phosphorous and other indicators, *Journal of Environmental Management*, 182, 134-140. DOI: 10.1016/j.jenvman.2016.07.025.
- Alippi, A. 1992. Histopatología de hojas de tomate inoculadas con *Xanthomonas campestris pv vesicatoria*. *Agronomie, EDP Sciences*, 12, 1, 115-122.
- Almendros, G., Dorado, J., González-Vila, F.J., Blanco, M.J., Lanke, U. 2000. ¹³C NMR assessment of decomposition patterns during composting of forest and shrub biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 32, 793-804.
- Almendros, G., Gonzalez, F.J., Gonzales-Perez, J.A., Knicker, H., De la Rosa, M. 2010. Protocolos y técnicas analíticas instrumentales para evaluar el impacto del fuego sobre la materia orgánica del suelo. En A. Cerda, J. Jordan. Actualización de métodos y técnicas para el estudio de los suelos afectados por Incendios Forestales. Madrid. Catedra de Divulgacion de la Ciencia. Universidad de Valencia. 521 pp
- Almendros, A.L., Martín-Lara, M.A, Ronda, A., Pérez, A., Blázquez, G., Calero, M. 2015. Physico-chemical characterization of pine cone shell and its use as biosorbent and fuel. *Bioresource Technology*, 196, 406-412.
- Alpert, N. 1983. IR-Theory and Practice of Infrared Spectroscopy, Plenum/Roseta, New York.
- Allardice, R. P., Kapp, C., Botha, A., 2015. Optimizing Vermicompost Concentrations for the N Nutrition and Production of the *Legume Lupinus angustifolius*. *Compost Science and Utilization*, 23, 4, 217-236.
- Alvarenga, P., Mourinha, C., Farto, M., Santos, T., Palma, P., Sengo, J., Morais, M.C., Cunha-Queda, C. 2015. Sewage sludge, compost and other representative organic wastes as agricultural soil amendments: Benefits versus limiting factors. *Waste Management*, 40, 44-52. DOI: 10.1016/j.wasman.2015.01.027.
- Álvarez-Martín, A., Hilton, S.L., Bending, G.D., Rodríguez-Cruz, M.S., Sánchez-Martín, M.J. 2016. Changes in activity and structure of the soil microbial community after application of azoxystrobin or pirimicarb and an organic amendment to an agricultural soil. *App. Soil Microbiol. Ecol.*, 106, 47-57.

Alves, M.G.O., Riveira, P.F. 2013. Effects of non-steroidal estrogen diethylstilbestrol on pH and ion transport in the mantle epithelium of a bivalve *Anodonta cygnea*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 97, 230-235.

Amir, S., Hafidi, M., Merlina, G., Revel, J.C. 2005. Structural characterization of fulvic acids during composting of sewage sludge. *Process Biochemistry*, 40, 5, 1693-1700.

Anastasi, A., Varese, G.V., Marchisio, A. 2005a. Isolation and identification of fungal communities in compost and vermicompost. *Mycologia*, 97, 1, 149-157. DOI: 10.3852/mycologia.97.1.33.

Anastasi, A., Varese, G.C., Filipello, V. 2005b. Isolation and identification of fungal communities in compost and vermicompost. *Mycologia*, 97, 1, 33-44.

Andreu, O.E. 2008. Evaluación de riesgos ambientales del uso de plaguicidas empleados en el cultivo del arroz en el Parque Natural de la Albufera de Valencia. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de València.

Angenent, L.T., Karim, K., Al-Dahhan, M.H. 2004. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater, *Trends in Biotechnology*, 22, 9, 477-485.

Ansorena, J., Batalla, E., Merino, D. 2014. Evaluacion de la calidad y usos del compost como componente de sustratos enmiendas y abonos orgánicos. En [https://www.gipuzkoa.eus/eu/web/fraisoroFraisoroAtariaDoku/Evaluacion de la calidad y usos.pdf](https://www.gipuzkoa.eus/eu/web/fraisoroFraisoroAtariaDoku/Evaluacion%20de%20la%20calidad%20y%20usos.pdf).

Antil, R.S., Raj, D. 2012. Chemical and microbiological parameters for the characterization of maturity of composts made from farm and agro-industrial wastes. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 58, 8, 833-845. DOI: 10.1080/03650340.2011.554402.

Antoniolli, Z. I., Steffen, G.P.K., Steffen, R.B. 2009. Utilizacao de casca de arroz e esterco bovino como substrato para a multiplicacao de *Eisenia fetida* Savigny (1826). *Revista Ciencia e Agrotecnologia*, 33, 3, 824-830. URL: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542009000300022>.

AOAC Official Method. 2007:01. Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate., *J. AOAC Int.* 90, 485.

Ara, A. 1997. 100 Plantas medicinales escogidas. Ed EDAF, SA. Chile. 417 p.

Arai, T., Takaya, T., Ito, Y., Hayakawa, K., Tshima, S., Shibuya, C., Nomura, M. Yoshimi, N., Shibayama, M., Yasuda, Y. 1998. Bronchial asthma induced by rice. *Int. Med.*, 37, 1, 89-101.

Arancon, N.Q., Galvis, P., Edwards, C.A., Yardim, E. 2003. The trophic diversity of nematode communities in soils treated with vermicompost. *Pedobiologia*, 47, 736-740.

Arancon, N.Q., Galvis, P., Edwards, C.A. 2005a. Suppression of insect pest populations and damage to plants by vermicompost. *Bioresource Technology*, 96, 1137-1142.

Arancon, N.Q., Edwards, C.A., Bierman, P., Metzger, J.D., Lucht, C. 2005b. Effects of vermicomposts produced from cattle manure, food waste and paper waste on the growth and yield of papers in field. *Pedobiologia*, 49, 297-306.

Arancon, N. Q., Edwards, C., Dick, A.R., Dick, L. 2007a. Vermicompost tea production and plant growth impacts. *Biocycle*, 48, 51-52.

Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Yardim, E. N., Oliver, T. J., Byrne, R. J., Keeney, G. 2007b. Suppression of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*), mealy bug (*Pseudococcus* sp.) and aphid (*Myzus persicae*) populations and damage by vermicomposts. *Crop Protection*, 26, 29-39.

- Arikan, O., Mulbry, W., Rice, C. 2009. Managements of antibiotics residues from agricultural sources: Use of composting to reduce chlortetracycline residues in beef manure from treated animals. *Journal of Hazardous Material*, 164, 483-489.
- Armirante, F., De Falco, E., De Feo, V., De Martio, L., Mancii, E., Quaranta, E. 2006. Alleopathic activity of essential oils from Mediterranean Labitae. *Acta Horticulturae*, 723, 347-356.
- Arora, M., Kaur, A. 2019. Scanning electron microscopy for analysing maturity of compost/vermicompost from crop residue spiked with cattle dung, *Azolla pinnata* and *Aspergillus terreus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 2, 1761-1769. DOI: 10.1007/s11356-018-3673-8.
- Arumugam, K., Ganesan, S., Muthunarayanan, V. 2015. Potentiality of *Eisenia fetida* to degrade disposable paper cups—an ecofriendly solution to solid waste pollution. *Environ Sci Pollut Res* 22, 2868–2876. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3456-9>.
- Aryantha, I. P., Cross, R., Guest, D. I. 2000. Suppression of *Phytophthora cinnamomi* in potting mixes amended with uncomposted and composted animal manures. *Phytopathology*, 90, 775-782.
- Aski, A.L., Borghei, A., Zenouzi, A., Ashrafi, N., Taherzadeh, M.J. 2020. Steam Explosion Pretreatment of Sludge for Pharmaceutical Removal and Heavy Metal Release to Improve Biodegradability and Biogas Production. *Fermentation Basel*, 6, 1, 34. DOI: 10.3390/fermentation6010034.
- Aslam, A.M., Anamul, H.M., Pil Joo, K. 2013. Mitigating Global Warming Potentials of Methane and Nitrous Oxide Gases from Rice Paddies under different irrigation regimes. *Ambio.*, 42, 3, 357-368.
- Atiyeh, R.M., Subler, S., Edwards, C.A., Bachman, C., Metzger, I.D., Shuster, W. 2000. Effects of vermicompost and compost on plant growth in horticultural container media and soil. *Pedobiologia*, 44, 579–590.
- Atiyeh, R.M., Edwards, C.A., Subler, S., Metzger, J.D. 2001. Pig manure vermicompost as a component of a horticultural bedding plant medium: effects on physicochemical properties and plant growth. *Bioresource Technology*, 78, 1, 11-20. DOI: 10.1016/S0960-8524(00)00172-3.
- Atiyeh, R.M., Arancon, N.Q., Edwards, C.A., Metzger, J. 2002a. The influence of earthworm-processed pig manure on the growth and productivity of marigolds. *Bioresource Technology*, 81, 103-108.
- Atiyeh, R. M., Lee, S., Edwards, C.A., Arancon, N.Q., Metzger, J.D. 2002b. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. *Bioresource Technology*, 84, 7-14.
- Avilés, M., Avilla, C., Ordovás, J., Tello, J.C. 1999. Supresividad de los sustratos a base de compost sobre las enfermedades de origen edáfico: Una revisión bibliográfica. *Actas de Horticultura*, 26, 51-58.
- Avilés, M., Suárez-Estrella, F., Moreno, J. 2014. De residuo a recurso: el camino hacia la sostenibilidad. Ed. Mundi Prensa, Madrid. 124 pp.
- Avnimelech, Y., Bruner, M., Ezrony, I., Sela, R., Kochba, M. 1996. Stability Indexes for municipal solid waste compost. *Compost Sci & Util.*, 4, 13-20.

- Awasthi, M.K., Pandey, A.K., Khan, J., Bundela, P.S., Wong, J.W., Selvam, A. 2014. Evaluation of thermophilic fungal consortium for organic municipal solid waste composting. *Bioresour Technol.*, 168, 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.048> PMID: 24507579.
- Awasthi, M.K., Wang, Q., Chen, H., Awasthi, S.K., Zhang, Z. 2018, Beneficial effect of mixture of additives amendment on enzymatic activities, organic matter degradation and humification during biosolids co-composting. *Bioresour Technol.*, 247, 138-146.
- Awasthi, M.K., Chen, H.Y., Awasthi, S.K., Duan, Y.M., Liu, T., Pandey, A., Varjani, S., Zhang, Z.Q. 2019. Application of metagenomic analysis for detection of the reduction in the antibiotic resistance genes (ARGs) by the addition of clay during poultry manure composting. Conference: 4th International Conference on Contaminated Land, Ecological Assessment and Remediation (CLEAR) - Green and Sustainable Land Remediation, *Chemosphere*, 220, 137-145.
- Azim, K., Faissal, Y., Soudi, B., Perissol, C., Roussos, S., Alami, I.T. 2018. Elucidation of functional chemical groups responsible of compost phytotoxicity using solid-state C^{13} NMR spectroscopy under different initial C/N ratios. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 4, 3408-3422. DOI: 10.1007/s11356-017-0704-9.
- Backhouse, D., Burgess, L.W., Summerell, B.A. 2001. Biogeography of *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium (Summerell, B.A., Leslie, J.F., Backhouse, D., Bryden, W.L., Burgess, L.W. (Eds) APS Press, St Paul, MN, 122-137.
- Baddi, G., Hafidi, M., Cegarra, J., Albuquerque, J.A., Revel, J.C. 2004. Characterization of fulvic acids by elemental and spectroscopic (FTIR and ^{13}C -NMR) analyses during composting of olive mill wastes plus straw. *Bioresour Technol.*, 93, 3, 285-290.
- Baes, A. U., Bloom, P. R. 1989. Diffuse reflectance and transmission Fourier transform infrared (DRIFT) spectroscopy of humic and fulvic acids. *Soil Science Society of America Journal.*, 53: 695-700.
- Bailey, K.L., Lazarovits, G. 2003. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments. *Soil & Tillage Research*, 72, 169–180.
- Bailey, C., Spielmeier, A., Hamscher, G., Schuttrumpf, H., Frings, R.M. 2016. The veterinary antibiotic journey: comparing the behaviour of sulfadiazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole and tetracycline in cow excrement and two soils. *Journal of Soils and Sediments*, 16, 6, 1690-1704. DOI: 10.1007/s11368-016-1370-0.
- Bakkalia, F., Averbek, S., Averbek, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2, 446-475.
- Baker, G.C., Smith, J.J., Cowan, DA. 2003. Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *Journal of Microbiological Methods*, 55, 541-555.
- Ballesteros, B.J. 2001. Influencia de les aigües subterrànies a les zones humides litorals valencianes. *Genesi i interrelació*. Bracal, 24, 27-48.
- Baran, W., Adamek, E., Ziemiańska, J., Sobczak, A. 2011. Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. *Journal of Hazardous Materials*, 196, 1–15.
- Barns, S.M., Delwiche, C.F., Palmer, J.D., Pace, N.R. 1996. Perspectives on archaeal diversity, thermophily and monophyly from environmental rRNA sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 17, 9188-9193.
- Barraza-Garza, G., de la Rosa, L., Martínez-Martínez, A., Hiram Castillo-M., Cotte, M., Alvarez-Parrilla, E. 2013. La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. *Revista latinoamericana de química*, 41, 3, 125- 148.

- Barrena, R., Vázquez, F., Sánchez, A. 2006. The use of respiration indices in the composting process: A review. *Waste Management & Research*, 24, 37–47.
- Barrera, L., García, L. 2008. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium sp.* aislado de papaya (*Carica papaya*). *Revista Científica UDO Agrícola*, 8, 33-41.
- Barrera, L., Garduño, L., García-Barrera, L.J. 2009. In Vitro Antifungal Activity of Essential Oils and Their Compounds on Mycelial Growth of *Fusarium Oxysporum sp.* *Plant Pathology Journal*, 8, 1, 17-21.
- Barreto, L., De Oliveira, R., Ferreira, R., Neto, S., Da Silva-Negririos, J. 2010. Cultivo orgânico de coentro em plantio direto utilizando cobertura viva e morta adubado com composto *Rev. Ciênc. Agron.*, 41, 4.
- Barros, N., Salgado, J., Villanueva, M., Rodríguez-Añón, J., Proupin, J., Feijó, S., Martín-Pastor, M. 2011. Application of DSC–TG and NMR to study the soil organic matter. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 104, 1, 53–60.
- Bartiková, H., Podlipna, R., Skalova, L. 2016. Veterinary drugs in the environment and their toxicity to plants. *Chemosphere*, 144, 2290–2301.
- Bassaco, A. C., Antonioli, Z., I., Brum J., Berilo, S. 2015. Chemistry characterization from animal origin residues and *Eisenia andrei* behaviour. *Caracterizacao quimica de residuos de origen animal e comportamento de Eisenia andrei*. *Ciencia e Natura*, 37, 1, 45-51.
- Bear, M., Connors, B., Paradiso, M. 2016. *Neuroscience: Exploring the Brain*, 4th Edn. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer.
- Bedada, W., Karlun, E., Lemenih, M., Tolera, M. 2014. Long-term addition of compost and NP fertilizer increases crop yield and improves soil quality in experiments on smallholder farms. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 195, 193-201. DOI: 10.1016/j.agee.2014.06.017
- Behera, S.K., Kim, H. W., Oh, J.E., Park, H.S. 2011. Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea. *Science of the Total Environment*, 409, 20, 4351-4360. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2011.07.015.
- Behnam, S.M., Farzaneh, M., Almadzeh, L., Tehtani, A.S. 2006. Composition and antifungal activity of essential oils of *Mentha piperita* and *Lavandula angustifolia* on post-harvest phytopathogens. *Commun Agric. Applied Biol. Sci.*, 71, 1321 -1326.
- Benítez, E., Nogales, R., Elvira, C., Masciandaro, R., Ceccanti, B. 1999. Enzyme activities as indicators of the stabilization of sewage sludges composting with *Eisenia foetida*. *Bioresource Technology*, 67, 3, 297-303. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00117-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00117-5).
- Benítez, E., Sainz, H., Melgar, R., Nogales, R. 2002. Vermicomposting of a focusing of a lignocellulosic waste from olive oil industry: A pilot scale study. *Waste Management and Research* 20, 134-142.
- Benitez, E., Sainz, H., Nogales, R. 2005. Hydrolytic enzyme activities of extracted humic substances during the vermicomposting of a lignocellulosic olive waste. *Bioresource Technology*, 96, 7, 785-790.
- Benito, M., Masaguer, A., De Antonio, R., Mokiner, A. 2005. Use of pruning waste compost as a component in soilless growing media. *Bioresource Technology*, 96, 597-603.
- Benito, M., Masaguer, A., Moliner, A., Arrigo, N., Palma, R.M. 2003. Chemical and microbiological parameters for the characterisation of the stability and maturity of pruning waste compost. *Biology and Fertility of Soils*, 37, 184-189.

- Ben-Yephet, L., Nelson, E.B. 1999. Differential suppression of dam ping-off caused by *Pythium aphanidermatum*. *Plant Disease*, 83, 356–360.
- Bernal, M. P., Roig, A. 1993. Nitrogen transformations in calcareous soils amended with pig slurry under aerobic incubation. *J. Agric. Sci.*, 120, 89-97.
- Bernal, M.P, Paredes, C., Sánchez-Monedero, M.A., Cegarra, J. 1998. Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes. *Bioresource Technology*, 63, 1, 91-99.
- Bernal, P. 2011. Efecto de la aplicación del compost de residuos hortícolas sobre el sistema suelo-planta en invernadero. Trabajo Final de Carrera. Escuela Técnica Superior del Medio Rural y Enología. Universidad Politècnica de València. València.
- Berndtsson, J. C., Jinno, K. 2008. Sustainability of urban water system: examples from Fukuoka, Japan. *Water Policy*, 10, 5, 501-513.
- Bertanza, G., Canato, M., Heimersson, S. 2015. Techno-economic and environmental assessment of sewage sludge wet oxidation. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 10, 7327-7338.
- Bharathiraja, S., Suriya, J., Krishnan, M., Manivasagan, P., Kim, S.K. 2017. Production of Enzymes From Agricultural Wastes and Their Potential Industrial Applications. *Adv. Food Nutr. Res.*, 80 125–148.
- Bhat, S., Singh, A., Singh, J., Kumar, S., Vig, A. 2018, Bioremediation and detoxification of industrial wastes by earthworms: Vermicompost as powerful crop nutrient in sustainable agriculture, 252, 172-179. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.003>.
- Bhaskara, R.M.V., Angers, P., Gosselin, A., Arul, J. 1998. Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinérea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*, 47, 1515-1520.
- Bhalsod, G.D., Chuang, Y.H., Jeon, S., Gui, W.J., Li, H., Ryser, E.T., Guber, A.K., Zhang, W. 2018. Uptake and Accumulation of Pharmaceuticals in Overhead- and Surface-Irrigated Greenhouse Lettuce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 4, 822-830. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b04355
- Bian, B., Hu, X., Zhang, S., Hu, X.R., Zhang, S.P., Lv, C.X., Yang, Z., Yang, W.B., Zhang, L.M. 2019. Pilot-scale composting of typical multiple agricultural wastes: Parameter optimization and mechanisms. *Bioresource Technology*, 287, 12, 1482.
- Bidart, C., Froehling, M., Schultmann, F. 2014. Electricity and substitute natural gas generation from the conversion of wastewater treatment plant sludge. *Applied Energy*, 113, 404-413.
- Binelli, M.A., Provini, A. 2011. Chronic effects induced by ibuprofen on the freshwater bivalve *Dreissena polymorpha*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 74, 15 86–94.
- Birtrim, S.B., Donohue, T.J., Handelsman, J., Roberts, G.P., Goodman, R.M. 1997. Molecular phylogeny of *archaea* from soil. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 277-282.
- Biruntha, M., Karmegam, N., Archana, J., Selvi, BK., Paul, J.A.J., Balamuralikrishnan, B., Chang, SW., Ravindran, B. 2020. Vermiconversion of biowastes with low-to-high C/N ratio into value added vermicompost. *Bioresource Technology*, 297, 122398, DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122398.
- Bisht, G., Sourirajan, A., Baumler, D.J., Kamal, D. 2018. 16S rRNA Gene Amplicon Data Set-Based Bacterial Diversity in a Water-Soil Sample from Pangong Tso Lake, a High-Altitude Grassland Lake of the Northwest Himalayas. *Microbiology Resource Announcements*, 10.1128/MRA.01192-18, 7, 17.

- Bjornsson, L., Hugenholtz, P., Tyson, G.W., Blackall, L.L. 2002. Filamentous Chloroflexi (green non-sulfur bacteria) are abundant in wastewater treatment processes with biological nutrient removal. *Microbiology*, 148, 2309–2318. <https://doi.org/10.1099/00221287-148-8-2309> PMID: 12177325.
- Block, D. 1997. Disease suppression on the links. *BioCycle*, 38, 62–65.
- Blonskaja, V., Poldnurd, J., Loigu, E. 2014. Utilisation options for biodegradable kitchen waste in Estonia. SWOT analysis, Conference: 9th International Conference on Environmental Engineering (ICEE). Vilnius, Lithuania.
- Blouin, M., Barrere, J., Meyer, N., Lartigue, S., Barot, S., Mathieu, J. 2019. Vermicompost significantly affects plant growth. A meta-analysis. *Agronomy for Sustainable Development*, 39, 4, 34. DOI: 10.1007/s13593-019-0579-x.
- Bocken, N.M.P., Olivetti, E.A., Cullen, J.M., Potting, J., Lifset, R. 2017. Taking the Circularity to the Next Level: A Special Issue on the Circular Economy. *J. Ind. Ecol.*, 21, 476–482.
- BOE. 2010. Real Decreto 865/2010 de 2 julio sobre sustratos de cultivo. *Boletín Oficial del Estado*. 170, 1107-1015.
- BOE, 2013. Real Decreto 506/2013 de 28 de junio sobre productos fertilizantes. *Boletín Oficial del Estado*, 164, 51119- 51207.
- Boix, C., Ibanez, M., Sancho, J.V., Parsons, J.R., de Voogt, P., Hernandez, F. 2016. Biotransformation of pharmaceuticals in surface water and during waste water treatment: Identification and occurrence of transformation products. *Journal of Hazardous Materials*, 175-187. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.09.053.
- Boixadera, J. 2001. Aplicación agrícola de residuos orgánicos. Edicions de la Universitat de Lleida.
- Boluda, R., Romera, D., Sancenon, J., Gamon, M., Mormeneo, S., Irazo, M., Marimon, L., Atzeni, S. 2013). Determination of fungicides, pharmaceuticals and micotoxins in solid samples using liquid extraction followed by liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry. 9º Congreso Ibérico y 6º Iberoamericano de contaminación y toxicología ambiental. València. España.
- Boluda, R., Roca-Pérez, L., Irazo, M., Gil, C., Mormeneo, S. 2014. Determination of enzymatic activities using a miniaturized system as a rapid method to assess soil quality. *Eur. J. Soil. Sci.* 65, 286-29
- Boluda, R., Roca-Pérez, L., Soriano, M.D. 2018. Compostaje y uso agrícola del compost: beneficios e implicaciones para la economía circular y la producción de productos hortícolas. II Jornada de Investigación Universitaria sobre Cambio Climático ORGANIZA: Cátedra de Cambio Climático, UPV-GVA.
- Bonanomi, G., Antignani, V., Pane, C., Scala, F. 2007. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. *Journal of Plant Pathology*, 89, 3, 311-324.
- Bonifaz, A. 2012. *Micología Médica Básica*, Capítulo 5: Hongos contaminantes, 4 Edición, McGrawHill: México. 600 p.
- Bonito, G., Isikhuemhen, O S., Vilgalys, R. 2010. Identification of fungi associated with municipal compost using DNA-based techniques. *Bioresource Technology*, 101, 3, 1021-1027.
- Borella, J.R., Pastorini, R., Hernandez, L. 2009. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. *Biotemas*, Florianópolis, 22, 3, 67-75, 2175-7925.

- Borrero, C., J. Ordovás, M. I. Trillas, Aviles, M., 2006. Tomato *Fusarium* wilt suppressiveness. The relationship between the organic plant growth media and their microbial communities as characterised by Biolog. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 1631–1637.
- Borgman, O., Chefetz, B. 2013. Combined effects of biosolids application and irrigation with reclaimed wastewater on transport of pharmaceutical compounds in arable soils. *Water Research*, 47, 3431–3443.
- Boudjabi, S., Kribaa, M., Chenchouni, H. 2019. Sewage sludge fertilization alleviates drought stress and improves physiological adaptation and yield performances in Durum Wheat (*Triticum durum*): A double-edged sword. 31, 3, 336-344. DOI: 10.1016/j.jksus.2017.12.012.
- Boulter, J.I., Trevors, J.T., Boland, G.J. 2002a. Microbial studies of compost: bacterial identification, and their potential for turfgrass pathogen suppression. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 18, 661–671.
- Boulter, J.I., Boland, G.J., Trevors, J.T. 2002b. Assessment of compost for suppression of *Fusarium* patch (*Microdochium nivale*) and Typhula blight (*Typhula ishkarisensis*) snow molds of turfgrass. *Biological Control*, 25, 162–172.
- Bravo, L., Ferrer, I. 2011. Life Cycle Assessment of an intensive sewage treatment plant in Barcelona (Spain) with focus on energy aspects. *Water Science and Technology*, 64, 2, 440-447.
- Brennan, L., Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 14, 2, 557-577.
- Brown, K.H., Bach, E.M., Drijber, R.A., Hofmockel, K.S., Jeske, E.S., Sawyer, J.E. 2014. A long-term nitrogen fertilizer gradient has little effect on soil organic matter in a high-intensity maize production system. *Glob Chang Biol.*, 20, 1339–50.
- Buchanan, M. 2002. Compost maturity and nitrogen release characteristics in central coast vegetable production. Publication nº 442-02-015, California Environmental Protection Agency, Integrated Waste Management Board, Sacramento.
- Buckley, D.H., Schmidt, T.M. 2003. Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. *Environmental Microbiology*, 5, 441-52.
- Bueno, P., Tapias, R., López, F., Díaz, M.J. 2008. Optimizing composting parameters for nitrogen conservation in composting. *Biores. Technol.*, 99, 11, 5069 -5077.
- Bueno, P., Díaz, M.J., Cabrera, F. 2011. Factores que afectan al proceso de compostaje. En: *Compostaje* (Moreno, J. y Moral, R. Eds.), Mundi Prensa, Madrid. 111-140.
- Bueno, M.J.M., Gomez, M.J., Herrera, S., Hernando, M.D., Agüera, A., Fernández-Alba, A.R. 2012. Occurrence and persistence of organic emerging contaminants and priority pollutants in five sewage treatment plants of Spain: Two years pilot survey monitoring. *Environmental Pollution*, 164, 267-273. DOI: 10.1016/j.envpol.2012.01.038.
- Buerge, I.J., Poiger, T., Muller, M.D., Buser, H.R. 2003. Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters. *Environmental Science & Technology*, 37, 4, 691-700. DOI: 10.1021/es020125z.
- Buckley, D.H., Schmidt, T.M., Lansing, E. 2001. *Microbial ecology*, 11-21.
- Bueno, P., Díaz, M.J., Cabrera, F. 2008. Factores que afectan al proceso de compostaje. En: *Compostaje* (Moreno, J. y Moral, R. Eds.), Mundi Prensa: Madrid, 111-140.
- Bueno, M.J., Gomez, M.J., Herrera, S., Hernando, M.D., Agüera, A., Fernández-Alba, A.R. 2012. Occurrence and persistence of organic emerging contaminants and priority pollutants in five

- sewage treatment plants of Spain: Two years pilot survey monitoring. *Environmental Pollution*, 164, 267–273.
- Burt, S.A., Reinders, R.D. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against. *Applied microbiology*, 36, 3, 162–16.
- Bustamante, M.A, Paredes, C., Marhuenda-Egea, F.C., Pérez-Espinosa, A., Bernal, M.P., Moral, R. 2008. Co-composting of distillery wastes with animal manures: carbon and nitrogen transformations in the evaluation of compost stability. *Chemosphere*, 72, 4, 551-557,
- Bustamante, M.A., Paredes, C., Moral, R., Agullo, E., Pérez-Murcia, M.D., Abad, M. 2008. Compost from distillery waste as peat substitutes for transplant production. *Resources, Conservation and Recycling*, 52, 792-799.
- Bustamante, M.A., Albuquerque, J.A., Restrepo, A.P., de la Fuente, C., Paredes, C., Moral, R., Bernal, M.P. 2012. Co-composting of the solid fraction of anaerobic digestates, to obtain added-value materials for use in agricultura. *Biomass & Bioenergy*, 43, 26-35. DOI: 10.1016/j.biombioe.2012.04.010.
- Butkovskiy, A., Ni, G., Hernandez, Leal, L., Rijnaarts, H.H.M., Zeeman, G. 2016. Mitigation of micropollutants for black water application in agriculture via composting of anaerobic sludge. *Journal of Hazardous Materials*, 303, 41–47.
- Cabello, F.C. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*, 8, 7, 1137-1144.
- Cai, L., Gao, D., Chen, T., Liu, H., Zheng, G.D., Yang, Q.W. 2012. Moisture variation associated with water input and evaporation during sewage sludge bio-drying. *Bioresource Technology*, 117, 13-19. doi: 10.1016/j.biortech.2012.03.092.
- Cai, L., Gong, X., Sun, X., Li, S., Yu, X. 2018. Comparison of chemical and microbiological changes during the aerobic composting and vermicomposting of green waste. *PLoS One*, 13, 11, e0207494. doi: 10.1371/journal.pone.0207494.
- Calleja-Cervantes, M.E., Aparicio-Tejo, P.M., Villadas, P.J., Irigoyen, I., Irañeta, J., Fernández-González, A.J., Menéndez, S. 2016. Rational application of treated sewage sludge with urea increases GHG mitigation opportunities in Mediterranean soils. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 238, 114–127.
- Campitelli, P., Ceppi, S. 2008. Chemical, physical and biological compost and vermicompost characterization: A chemometric study. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, 90, 64-71.
- Cao, Y., Wang, J.D., Huang, H.Y., Sun, E.H., Butterfly, C., Xu, YD., He, H., Zhang, J., Chang, Z.Z. 2019. Spectroscopic evidence for hyperthermophilic pretreatment intensifying humification during pig manure and rice straw composting. *Bioresource Technology*, 294, 122131. doi 10.1016/j.biortech 122131.
- Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., Gonzalez-Pena, A., Goodrich, J.K., Gordon, J.I., Huttley, G.A., Kelley, S.T., Knights, D., Koenig, J.E., Ley, R.E., Lozupone, C.A., McDonald, D., Muegge, B.D., Pirrung, M., Reeder, J., Sevinsky, J.R., Turnbaugh, P.J., Walters, W.A., Widmann, J., Yatsunencko, T., Zaneveld, J., Knight, R. 2010. QIIME allows analysis of highthroughput community sequencing data *Nature. Methods*, doi:10.1038/nmeth.f.303.
- Carballa, M., Omil, F., Lema, J.M., Llompart, M., García-Jares, C., Rodríguez, I., Gómez, M., Ternes, T. 2004. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Research*, 38, 2918–2926.

- Carbonell, G., Miralles, R., Delgado, M., Rodriguez, J.A. 2011. Effects of municipal solids wastes compost and mineral fertilizer amendments on soil properties and heavy metals distribution in maize plants (*Zea mays L.*). *Chemosphere*, 85, 10, 1614-1616.
- Caricasole, P., Provenzano, M.R., Hatcher, P.G., Senesi, N. 2011. Evolution of organic matter during composting of different organic wastes assessed by CPMAS C¹³ NMR spectroscopy. *Waste Management*, 31, 3, 411-415.
- Carlson, J.C, Mabury, S.A. 2006. Dissipation kinetics and mobility of chlortetracycline, tylosin, and monensin in an agricultural soil in Northumberland County, Ontario, Canada. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 1, 1-10.
- Carmona, E., Moreno, M.T., Pajuelo, P., Martinez, M.D., Ordovas, J. 2009. Empleo del compostaje de orujo de vid como sustrato para semilleros de lechuga. *Actas de Horticultura*, 53: 121-125.
- Carmosini, N., Lee, L.S. 2009. Ciprofloxacin sorption by dissolved organic carbon from reference and bio-waste materials. *Chemosphere*, 77, 6, 813-820. DOI:10.1016/j.chemosphere.2009.08.003.
- Carneiro, R.B., Sabatini, C.A., Santos-Neto, A., Zaiat, L. M. 2019. Feasibility of anaerobic packed and structured-bed reactors for sulfamethoxazole and ciprofloxacin removal from domestic sewage. *Science of the total environment*, 678, 419-429. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.437.
- Castaldi, P., Alberti, G., Merella, R., Melis, P. 2005. Study the organic matter evolution during municipal solid waste composting aimed at identifying suitable parameters for the evaluation of compost maturity. *Waste Management*, 25, 209-213.
- Castellano, M.J., Mueller, K.E., Olk, D.C., Sawyer, J.E., Six, J. 2015. Integrating plant litter quality, soil organic matter stabilization, and the carbon saturation concept. *Global Change Biology*, 21, 9, 3200-3209.
- Castelle, C. J., Wrighton, K.C., Thomas, B. C., Hug, L. A., Brown, C.T., Wilkins, M.J., Taylor, R.C. 2015. Genomic expansion of domain *archaea* highlights roles for organisms from new phyla in anaerobic carbon cycling. *Current Biology*, 25, 6, 690-701.
- Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., Pomati, F., Calamari, D., Zuccato, E. 2006. Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy. *Environmental Science & Technology*, 40, 1, 357-363. DOI: 10.1021/es050991m.
- Cayuela, M.L., Mondini, C., Sánchez-Monedero, M.A, Roig, A. 2008. Chemical properties and hydrolytic enzyme activities for the characterisation of two-phase olive mill wastes composting. *Bioresource Technology*, 99, 10, 4255-4262.
- Celis-Hidalgo, J., Sandoval-Estrada, M., Briones-Luengo, M. 2007. Bioensayos de fitotoxicidad de residuos orgánicos en lechuga y ballica anual realizados en un suelo Alfisol degradado. *Rev. Cienc. Suelo Nutr. Veg.*, 7, 51-60.
- Chang, J.I., Chen, Y.J. 2010. Effects of bulking agents on food waste composting. *Bioresource Technology*, 101, 15, 5917-5924. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.02.042.
- Chang, R. 1971. *Basic principles of Spectroscopy*, Mc-Graw-Hill, New York. 213 p.
- Chang, R., Guo, Q., Chen, Q., Bernal, M.P., Li, Y. 2017. Effect of initial material bulk density and easily-degraded organic matter content on temperature changes during composting of cucumber stalk. *Journal of Environmental Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.10.004>.
- Chaoni, H.L, Zilbils, L.M, Ohno, T. 2003. Effects of Earthworm Casts and Compost on Soil Microbial Activity and Plant Nutrient Availability. *Soil Biol. and Biochem.*, 35, 295-302.

- Charlton, A., Sakrabani, R.T., Byrrel, S., Casado, M.R., McGrath, S.P., Crooks, B., Cooper, P., Campbell, C.D. 2016. Long-term impact of sewage sludge application on soil microbial biomass: An evaluation using meta-analysis. *Environmental Pollution*, 219, 1021-1035. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.07.050.
- Chen, W., Hoitink, H.A.J., Schmitthenner, A.F., Tuovinen, O.H. 1988. The role of microbial activity in suppression of damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology*, 78, 314–322.
- Chen, Y., Chefetz, B., Hadar, Y. 1996. Formation and properties of humic substance originating from composts. *The Science of Composting*, 1, 382-393.
- Chen, H., Gao, B., Li, H., Ma, L.Q. 2011. Effects of pH and ionic strength on sulfamethoxazole and ciprofloxacin transport in saturated porous media. *Journal of Contaminant Hydrology*, 126, 1-2, 29-36. DOI: 10.1016/j.jconhyd.2011.06.002.
- Chen, Y., Yu, G., Cao, Q., Zhang, H., Lin, Q., Hong, Y. 2013. Occurrence and environmental implications of pharmaceuticals in Chinese municipal sewage sludge. *Chemosphere*, 93, 1765–72.
- Chen, B., Liang, X., Nie, X., Huang, X.P., Zou, S.C., Li, X.D. 2015. The role of class I integrons in the dissemination of sulfonamide resistance genes in the Pearl River and Pearl River Estuary, South China. *Journal of Hazardous materials*, 282, 61-67.
- Chen, Y., Chang, S.K.C., Chen, J., Zhang, Q., Yu, H. 2018a. Characterization of microbial community succession during vermicomposting of medicinal herbal residues. *Bioresource Technology*, 249, 542-549.
- Cheng, D.M., Feng, Y., Liu, Y.W., Li, J.P., Xue, J.M., Li, Z.J. 2018b. Quantitative models for predicting adsorption of oxytetracycline, ciprofloxacin and sulfamerazine to swine manures with contrasting properties. *Science of the Total Environment*, 634, 1148-1156. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.114.
- Chen, C.Q., Ray, P., Knowlton, K.F., Pruden, A., Xia, K. 2018c. Effect of composting and soil type on dissipation of veterinary antibiotics in land-applied manures. *Chemosphere*, 196, 270-279. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.12.161.
- Chen, Z.Q., Xu, Y., Michael, J. 2019. Soil Respiration Components and their Temperature Sensitivity Under Chemical Fertilizer and Compost Application: The Role of Nitrogen Supply and Compost Substrate Quality, 124, 3, 556-571.
- Chen, C.Q., Pankow, C.A., Oh, M., Heath, L.S., Zhang, L.Q., Du, P., Xia, K., Pruden, A. 2019. Effect of antibiotic use and composting on antibiotic resistance gene abundance and resistome risks of soils receiving manure-derived amendments. *Environment International*, 128, 233-243. DOI: 10.1016/j.envint.2019.04.043.
- Chen, Z.M., Xu, Y.H., Castellano, M.J., Fontaine, S., Wang, W.J., Ding, W.X. 2019. Soil Respiration Components and their Temperature Sensitivity Under Chemical Fertilizer and Compost Application: The Role of Nitrogen Supply and Compost Substrate Quality. *Journal of Geophysical Research-Biogeosciences*, 124, 3, 556-571. DOI: 10.1029/2018JG004771.
- Chen, Z.Q., Wu, Y., Wen, Q.X., Bao, H.Y., Fu, Q.Q. 2020. Insight into the effects of sulfamethoxazole and norfloxacin on nitrogen transformation functional genes during swine manure composting *Bioresource Technology*, 297, DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122463.
- Chidthaisong, A., Cha-un, N., Rossopa, B. 2018. Evaluating the effects of alternate wetting and drying (AWD) on methane and nitrous oxide emissions from a paddy field in Thailand *Soil Science and Plant Nutrition*, 64, 1, 31-38.

- Chroni, C., Kyriacou, A., Manios, T., Lasaridi, C.E. 2009. Investigation of the microbial community structure and activity as indicators of compost stability and composting process evolution. *Bioresource Technology*, 100, 15, 3745-3750.
- Chu, J.J.H., Xang, P. 2017. SCR protein, kimore inhibition block assembly and maturation of dengese virus. *Proc Natt Acad Sci.*, 1004, 9, 3520-3523.
- Chu, G., Wang, Z., Zhang, H. 2015. Alternate wetting and moderate drying increases rice yield and reduces methane emission in paddy field with wheat straw residue incorporation. *Food and Energy Security*, 4, 3, 238-254.
- Ciancio, A., Colagiero, M., Pentimone, I., Rosso, L. 2016. Soil Microbial Communitities and their Potential for root knot nematodes Nematodes Management: A review *Environmental Engineering and Management Journal*, 15, 8, 1833-1839.
- Ciavatta, M., Govi, L., Pasotti, P., Sequi, P. 1993. Changes in organic matter during stabilization of compost from municipal solid wastes. *Bioresource Technology*, 43, 2, 141-145.
- Cizmas, L., Sharma, V., Gray, C.M., McDonald, T.J. 2015. Pharmaceuticals and personal care products in waters: occurrence, toxicity, and risk. *Environ. Chem. Lett.*, 13, 381-394.
- Clarke, W.P., Taylor, M., Cossins, R. 2007. Evaluation by respirometry of the loading capacity of a high rate vermicompost bed for treating sewage sludge *Bioresource Technology*, 98, 13, 2611-2618.
- Coates, J. 2000. Interpretation of infrared spectra a practical approach. *Enciclopedia Of Analytical Chemistry*. Ed RA Mayers, 10815- 10837.
- Coelho, S.T., Goldemberg, J. 2013. Energy access: Lessons learned in Brazil and perspectives for replication in other developing countries. *Energy Policy.*, 61, 6, 1088-1096.
- Cole, J.R., Wang, Q., Fish, J.A., Chai, B., McGarrell, D.M., Sun, Y., Brown, C.T., Porras-Alfaro, A., Kuske, C.R., Tiedje, J.M. 2014. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucl. Acids Res.* 42 (Database issue), D633-D642, doi: 10.1093/nar/gkt1244 [PMID: 24288368].
- Collado, N., Buttiglieri, G., Ferrando-Climent, L., Rodriguez-Mozaz, S., Barceló, D., Comas, J., Rodriguez-Roda, I. 2012. Removal of ibuprofen and its transformation products: Experimental and simulation studies. *Science of the Total Environment*, 433, 296–30.
- Corominas, Ll., Foley, J., Guest, J. S. 2013. Life cycle assessment applied to wastewater treatment: State of the art. *Water Research*, 47, 15, 5480-5492.
- Correia, A., Marcano, L. 2015. Presencia y eliminación de compuestos farmacéuticos en plantas de tratamientos de aguas residuales. Revisión a nivel mundial y perspectiva nacional. *Bol. Mal. Salud Amb.*, 55, 1-18.
- Cosentio, S., Tuberoso, C.I.G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., Palmas, F. 1999. In-vitro antimicrobial activity and composition of Sardinian **Thymus** essential oils. *Lett. Appl. Microbiol.*, 29, 2, 130-135.
- Courtois, S., Cappellano, C.M., Ball, M., Francou, F.X., Normand, P., Helynck, G., Martinez, A., Kolvek, S.J., Hopke, J., Osburne, M.S., August, P.R., Nalin, R., Guérineau, M., Jeannin, P., Simonet, P., Pernodet, J.L. 2003. Recombinant environmental libraries provide access to microbial diversity for drug discovery from natural products. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 49-55.
- Craft, C., Nelson, E. 1996. Microbial properties of composts that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 1550-1557.

- Crockett, E.L., Dougherty, B.E., McNamer, A.N. 2001. Effects of acclimation temperature on enzymatic capacities and mitochondrial membranes from the body wall of the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Comparative Biochemistry and Physiology and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 130, 3, 419-426. DOI: 10.1016/S1096-4959(01)00456-0.
- Cross, A. 1969. *Practical infrared spectroscopy*, 3a edición, Butterworths, Londres.
- Crowe, M., Nolan, K., Collins, C., Carty, G., Donlon, G., Donlon, B., Kristoffersen, M. 2002. Biodegradable municipal waste management in Europe. European Environment Agency. Brussels.
- Cruz, J. 2009. Valoración agronómica de compost y vermicompost de alperujos mezclados con otros residuos agrícolas, efecto como enmiendas sólidas y líquidas. Tesis Doctoral. UPV. 212 p.
- Cruz, R., Gomes, T., Cheewaphongphan, P., Garivait, S., Pongpullponsak, A. 2011. Influencing of rice residue management method on GHG emission from rice cultivation. *Int. J. Biol. Biomol. Agric. Food Biotechnol. Eng.*, 5, 578-585.
- Cruz, J., Aguirre, L. 2015. Uso alternativo de residuos orgánicos para la elaboración de biofertilizantes y bebidas probióticas por fermentación láctica. *Acta Agrícola y pecuaria*, 4, 2, 44-53.
- Dabbah, R., Edwards, S.V.M., Motas, W.A. 1970. Antimicrobial Activity of Some Citrus Fruits Oils on Selected Food- Borne Bacteria. *Appl. Microbiology*, 1, 1, 27-31.
- Dalkmann, P., Siebe, C., Amelung, W., Schloter, M., Siemens, J. 2014. Does Long-Term Irrigation with Untreated Wastewater Accelerate the Dissipation of Pharmaceuticals in Soil?. *Environmental Science and Technology*, 48, 9, 4963-4970. DOI: 10.1021/es501180x
- Dambolena, J.S., López, A.G., Meriles, J.M., Rubinstein, H.R., Zydalga, J.A. 2012. Inhibitory effect of 10 natural phenolic compounds on *Fusarium verticilloides*. A structure-property-activity relationship study. *Food control*, 28, 163-17
- Daniel, R. 2005. The metagenomics of soil. *Nature Review Microbiology*, 3, 470-478.
- Danon, M., Zmora-Nahum, S., Chen, Y., Hadar, Y. 2007. Prolonged compost curing reduces suppression of *Sclerotium rolfsii*. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 1936-1946.
- Cui, EP., Wu, Y., Zuo, Y.R., Chen, H. 2016. Effect of different biochars on antibiotic resistance genes and bacterial community during chicken manure composting. *Bioresource Technology*, 203, 11-17. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.12.030
- Danon, M., Franke-Whittle, I.H., Insam, H., Chen, Y., Hadar, Y. 2008. Molecular analysis of bacterial community succession during prolonged compost curing. *FEMS Microbiol Ecol.*, 65: 133-144. 10.1111/j.1574-6941.2008.00506.x.
- Das, S., Hussain, N., Gogoi, B., Buragohain, A.K., Bhattacharya, S.S. 2017. Vermicompost and farmyard manure improves food quality, antioxidant and antibacterial potential of *Cajanus cajan* (L. Mill sp.) leaves. *J Sci Food Agric.*, 97, 3, 956-966.
- Datta, A., Ullah, H., Ferdous, Z. 2017. *Water management in rice. Rice Production Worldwide*, Springer, Dordrecht, the Netherlands, 255-277.
- Dauface, C. 1975. *La Albufera de Valencia: un estudio piloto. Monografías Icona*. Madrid. Ministerio de Agricultura. 75 p.
- Dávila, J., Machuca, F., Marrianga, N. 2009. Reducción de demanda química de oxígeno, carbono orgánico total y sólidos totales en vinazas mediante electro-flotación/oxidación. *Revista Ingeniería e investigación*, 29, 1, 35-37.

- De Corato, U., Viola, E., Arcieri, G., Valerio, V., Zimbardi, F. 2016. Use of composted agro-energy co-products and agricultural residues against soil-borne pathogens in horticultural soil-less systems *Scientia Horticultura*, 210, 166-179 DOI: 10.1016/j.scienta.2016.07.027
- Deeb, M., Desjardins, T., Podwojewski, P., Pando, A., Lerch, T.Z. 2017. Interactive effects of *compost*, plants and earthworms on the aggregations of constructed Technosols. *Geoderma*, 305, 305-313.
- Dees, P.M., Ghiorse, W.C. 2001. Microbial diversity in hot synthetic compost as revealed by PCR-amplified rRNA sequences from cultivated isolates and extracted DNA. *FEMS Microbiol Ecol.*, 35: 207–216. PMID: 11295460.
- Defrieri, R. L., Jimenez, M. P., Effron D., Palma, M. 2005. Utilization of chemical and microbiological parameters as maturity criteria during the composting process. *Agriscientia XXII* 1, 25-31.
- Delgado, A., García-Morales, J.L., Solera del Rio, R., Sales, D. 2002. Stability and maturity indexes of compost. *Waste Management and the Environment (First International Conference)*, Cadiz, Spain. WIT Press, 263–268.
- De Figueiredo, C.C., Chagas, J.K.M., da Silva, J., Paz-Ferreiro, J. 2019. Short-term effects of a sewage sludge biochar amendment on total and available heavy metal content of a tropical soil. *Geoderma*, 344, 31-39. DOI: 10.1016/j.geoderma.2019.01.052.
- Desalme, D., Binet, P., Chiapusio, G. 2013. Challenges in Tracing the Fate and Effects of Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbon deposition in vascular plants. *Environmental Science & Technology*, 47, 9, 3967-3981. DOI: 10.1021/es304964b.
- Desantis, T.Z., Hugenholtz, P., Laren, N., Rojas, M., Brodie, E.L., Keller, K., Huber, T., Dalevi, D., Hu, P., Andresen, G.L. 2006. Greengener a chimera-checked 16S rRNA Gene Database and Workbench Compatible with ARB. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72, 5069 – 5072.
- De Vuyst, J., Leroy, F. 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: Production, purification and food applications. *J Mol Microbiol Biotechnol.*, 7, 13, 4, 194-199.
- Di Vaio, C., Graziani, G., Gaspari, A., Scagliones, G., Nocerino, S., Ritieni, A. 2010. Essential oils content and antioxidant properties of peel ethanol e extract in 18 lemon cultivars. *Sci Hortic.* 126, 50-5. 25.
- Doan, T., Ngo, P., Rumpel, C., Nguyene, B., Jouquet, P. 2013. Interactions between compost, vermicompost and earthworms influence plant growth and yield: A one-year greenhouse experiment. *Scientia Horticulturae*, 160, 148-154.
- Dolliver, H., Gupta, S., Noll, S. 2008. Antibiotic degradation during manure composting. *Journal of Environmental Quality*, 37, 3, 1245-1253- DOI: 10.2134/jeq2007.0399.
- Domínguez, J., Edwards, C.A., Sublers, S. 1997a. A comparison of vermicomposting and composting. *Biocycle* 38, 4, 57-59.
- Domínguez, J., Velando, A., Aira, M., Monroy, F. 2003. Uniparental reproduction of *Eisenia foetida* and *Eisenia Andrei* (Oliochaeta: Lumbricidae): evidence of self-insemination: The 7th International simposium on earthworm ecology Cardiff Wales 2002. *Pedobiologia*, 47, 530-534.
- Dominguez, J., Gómez-Brandón, M., Lazcan, C. 2010. Propiedades bioplaguicidas del vermicompost- *Acta Zoológica Mexicana (n.s.) Número Especial* 2, 373- 383.
- Dominguez, J., Aira, M., Kolbe, A.R., Gómez-Brandon, M., Perez-Losadaz, M. 2019. Changes in the composition and function of bacterial communities during vermicomposting may explain

beneficial properties of vermicompost. Scientific Reports, 9, 9657. DOI: 10.1038/s41598-019-46018-w.

Dorival-García, N., Labajo-Recio, C., Zafra-Gómez, A., Juárez-Jiménez, B., Vílchez, J.L. 2015. Improved sample treatment for the determination of 17 strong sorbed quinolone antibiotics from compost by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Talanta, 138, 247–257.

Doublet, J., Francou, C., Poitrenaud, M. 2011. Influence of bulking agents on organic matter evolution during sewage sludge composting; consequences on compost organic matter stability and N availability. Bioresource Technology, 102, 2, 1298-1307.

Eastman, B.R., Kane, P.N., Edwards, C.A., Trytek, L., Guandi, B., Stermenr, A.L., Mobley, J.R. 2001. The effectiveness of vermiculture in human pathogen reduction for USEPA biosolids Stabilization. Compost Sci. Util., 1, 38–49.

Ebrahimi, E., Werren, D., von Fragstein, P., Niemsdorff, R. 2018. Suppressive effect of composts from residual biomass on *Pythium ultimum*. Journal of Plant diseases and protection, 125, 5, 443-449. DOI: 10.1007/s41348-018-0163-7.

Ebrahimi, E., Ghorbani, R., von Fragstein, P., Niemsdorff, J. 2020. Effects of vermicompost placement on nutrient use efficiency and yield of tomato (*Lycopersicon esculentum*). Biological Agriculture & Horticultura, 36, 1, 44-52. DOI: 0.1080/01448765.2019.1671220.

Edwards, C.A., Burrows, I. 1988. The potential of earthworm composts and plant growth media. In: C.A., Edwards and Neuhauser, I.P. (Eds.). Earthworms in Waste and Environmental Management, SPB Academic. The Hague, 211-217.

EEA-European Environmental Agency. 2007. The road from landfilling to recycling: common destination, different routes. Office for Official Publications of the European Communities. Luxembourg. URL: www.eea.europa.eu/publications/brochure_2007_4 /at download/file (1/1/2013).

Ellila, S., Bromann, P., Nyyssonen, M., Itavaara, M., Koivula, A., Paulin, L., Kruus, K. 2019. Cloning of novel bacterial xylanases from lignocellulose-enriched compost metagenomic libraries. Amb. Express, 9, 124, DOI: 10.1186/s13568-019-0847-9.

Ellis, D. 2016. *Acremonium Link ex Fries*, de University of Adelaide, en línea en: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_\(hyaline\)/Acremonium/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Acremonium/).

El Felds, L., Zamama, M., Al Asli, A. 2014. Assessment of biotransformation of organic matter during co-composting of sewage sludge-lignocellulosic waste by chemical, FTIR analysis, and phytotoxicity test. International Biodeterioration & Biodegradation, 87, 128-137.

Elvira, C., Sampedro, L., Benítez, E., Nogales, R. 1998. Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*. Pilot-scale study. Bioresource Technology, 63, 205-211.

El-Tayeh, NA., Salama, FM., Loutfy, N., Abou, A., Mona, F. 2019. Effect of Sandy Soil Amendment with Filter Mud Cake on Growth and Some EcoPhysiological Parameters of *Daucus carota* and *Beta vulgaris* Plants. Catrina the International Journal of Environmental Sciences, 18, 1, 97-104.

El Ouaquoudi, F.Z., El Fels, L., Lemee, L., Ambles, A., Hafidi, M. 2015. Evaluation of lignocellulose compost stability and maturity using spectroscopic (FTIR) and thermal (TGA/TDA) analysis. Ecological Engineering, 75, 217-222.

Elyamine, A.M., Moussa, M.G., Ismael, M.A., Wei, J., Zhao, Y.Y., Wu, Y.P., Hu, C.X. 2018. Earthworms, rice straw, and Plant Interactions Change the Organic Connections in soil and

promote the decontamination of Cadmium in soil. *International Journal of Environmental Research Public Health*, 15, 11, DOI: 10.3390/ijerph15112398 7.

EPA (Environmental Protection Agency). 2012. Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCP). Available at: <http://www.epa.gov/ppcp/>. Fecha consulta 21-07-18.

EPSAR (Entidad Pública de Saneamiento de Aguas Residuales de la Comunidad Valenciana). 2018. Disponible en: <http://www.epsar.gva.es/>.

Eslami, A., Amini, M.M., Yazdanbakhsh, A.R., Rastkari, N., MohseniBandpei, A., Nasseri, S., Piroti, E., Asadi, A. 2015. Occurrence of non-steroidal anti-inflammatory drugs in Tehran source water, municipal and hospital wastewaters, and their ecotoxicological risk assessment. *Environ. Monit. Assess.*, 187, 1-15.

Ezzari, A., Hafidi, M., Khadra, A., Aemig, Q., El Felsa, L., Barret, M., Merlina, G., Patureau, D., Pinelli, E. 2018. Human and veterinary antibiotics during composting of sludge or manure: Global perspectives on persistence, degradation, and resistance genes. *Journal of Hazardous Materials*, 359, 465-481. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2018.07.092.

Fang, T.H., Nan, F.H., Chin, T.S., Feng, H.M. 2012. The occurrence and distribution of pharmaceutical compounds in the effluents of a major sewage treatment plant in Northern Taiwan and the receiving coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, 64, 7, 1435-1444. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2012.04.008.

Fang, H.S., Zhang, Q., Nie, X.P., Chen, B.W., Xiao, Y.D., Zhou, Q.B., Liao, W., Liang, X.M. 2017. Occurrence and elimination of antibiotic resistance genes in a long-term operation integrated surface flow constructed wetland. *Chemosphere*, 173, 99-106.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2015. FAOSTAT database. <http://faostat.fao.org>. (15.12.2018)

Federici, E., Pepi, M., Esposito, A., Scargetta, S., Fidati, L., Gasperini, S., Cenci, G., Altieri, R. 2011. Two-phase olive mill waste composting: Community dynamics and functional role of the resident microbiota. *Bioresource Technology*, 102, 23, 10965-10972.

Feng, Y., Song, Q., Wenying, L., Liu, G. 2017. Degradation of ketoprofen by sulfate radical-based advanced oxidation processes: Kinetics, mechanisms, and effects of natural water matrices. *Chemosphere*, 189, 643-651.

Feng, S., Huang, Y., Ge, Y., Su, Y., Xu, X., Wang, Y., He, X. 2016. Variations in the patterns of soil organic carbon mineralization and microbial communities in response to exogenous application of rice straw and calcium carbonate. *Sci. Total. Environ.*, 571, 615-623.

Feng, Y., Song, Q., Wenying, L., Liu, G. 2017. Degradation of ketoprofen by sulfate radical-based advanced oxidation processes: Kinetics, mechanisms, and effects of natural water matrices. *Chemosphere*, 189, 643-651.

Fernández-Gómez, M.J., Romero, E., Nogales, T. 2010. Feasibility of vermicomposting for vegetable greenhouse waste recycling. *Bioresource Technology*, 101, 9654-9660.

Fernández-Gómez, M., Nogales, R., Insam, H., Romero, E., B., Goberna, M. 2011. Role of vermicompost chemical composition, microbial functional diversity, and fungal community structure in their microbial respiratory response to three pesticides. 2011. *Bioresource Technology*, 102, 20, 9638-9645.

Ferruzzi, C. 2007. *Manual de Lombricultura*, Editorial Mundiprensa. 138 p.

Fialho, L.L., da Silva, W.T.L., Milori, D.M.B.P., Simões, M.L., Martin-Neto, L. 2010. Characterization of organic matter from composting of different residues by physicochemical and spectroscopic methods. *Bioresource Technology*, 101, 1927-1934.

- Fierer, N., Bradford, M.A., Jackson, R.B. 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 88, 1354–1364.
- Fisher, K.Y., Phillips, C. A. 2006. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *Journal of Applied Microbiology*, 101, 6, 1232–1240.
- Fogler, K., Guron, G.K., Wind, L.L., Keenum, I.M., Hession, W.C., Krometis, L.A., Strawn, L.K., Ponder, M.A., Pruden, A. 2019. Microbiota and antibiotic resistome of lettuce leaves and radishes grown in soils receiving manure-based amendments derived from antibiotic-treated cows. *Front. Sustain. Food Syst.*, 3, 220-221.
- Fornés, F., Mendoza-Hernandez, D., Garcia-de-la-Fuente, R., Abad, M., Belda, R.M. 2012. Composting versus vermicomposting: a comparative study of organic matter evolution through straight and combined processes. *Bioresour Technol.*, 118, 296–305. 10.1016/j.biortech.2012.05.028.
- Fornés, F., Mendoza-Hernandez, D., Belda, R. M. 2013. Compost versus vermicompost as substrate constituents for rooting shrub cuttings. *Spanish journal of agricultural research*. 11, 2, 518-528.
- Forján, R., Rodríguez-Vila, A., Cerqueira, B., Covelo, E.F. 2017. Comparison of the effects of compost versus compost and biochar on the recovery of a mine soil by improving the nutrient content *Journal of Geochemical Exploration*, 183, Part A, 46-57.
- Foster, J., Zech, W. Würdinger, E. 1992. Comparison of chemical and microbiological methods for the characterization of the maturity of composts from contrasting sources. *Biol. Fertil. Soils* 16, 93-99.
- Fracchia, L., Dohrmann, A., Martinotti, M.G., Tebbe, C. 2006. Bacterial diversity in a finished compost and vermicompost: differences revealed by cultivation-independent analyses of PCR-amplified 16S rRNA genes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71, 942–952.
- Fu, X., Huang, K., Cui, G., Cui, G.Y., Chen, X.M., Li, F.S. 2015. Dynamics of bacterial and eukaryotic community associated with stability during vermicomposting of pelletized dewatered sludge. *Int Biodeter Biodegr.*, 104, 452–459.
- Fukasawa, Y., Ando, Y., Song, Z. 2017. Comparison of fungal communities associated with spruce seedling roots and bryophyte carpets on logs in an old-growth subalpine coniferous forest in Japan, *Fungal Ecology*, 30, 122.
- Fulthorpe, R. R., Roesch, L.F., Riva, A., Triplett, E.W. 2008. Distantly sampled soils carry few species in common. *Isme j.* 2, 901–910. 34.
- Upchurch, R. Differences in the composition and diversity of bacterial communities from agricultural and forest soils. *Soil Biol. Biochem.*, 40, 1294–1305.
- Gallardo-Lara, F., Nogales, R. 1987. Effect of the application of town refuse compost on the soil-plant system: A review. *Biological Wastes*, 19, 35-62.
- Garbono, A., Sutrisno, A., Sunoko, H.E. 2017. Downtime Test of Environmental Pollution by Using Oxytetracycline from Feces and Wasted Feed on Barramundi (*Latescalcarifer Bloch*) Farming. *Advanced Science Letters*, 23, 3, 2465-2467.
- García-Gómez, A., Bernal, M.P., Roig, A. 2002. Growth of ornamental plants in two composts prepared from agroindustrial wastes, 83, 2, 81-87. DOI: 10.1016/S0960-8524(01)00211-5.

- García-Guzmán, O.M., Garibay-Orijel, R., Hernández, E., Arellano-Torres, E., Oyama, K., 2017. Word-wide meta-analysis of *Quercus* forests ectomycorrhizal fungal diversity reveals southwestern Mexico as a hotspot, *Mycorrhiza*, 27, 8, 811.
- Garg, V.K., Gupta, R., Yadav, A. 2008. Potential of vermicomposting technology in solid waste management. En: Pandey A., Socol, C.R., Larroche, C. (Eds.) *Current Developments in Solid-state Fermentation*. Springer. New York, 468-511.
- Gariglio, N.F., Buyatte, M.A., Pilatti, R.A., González, M.R., Acosta, M. 2002. Use of a germination bioassay to test compost maturity of willow. *Salix* sp., New Zeelan, *Crop and Horticultural, Sci*, 30, 2, 135-139.
- Garrett, R.A., Klenk, H.P. 2007. *Archaea: evolution, physiology and molecular biology*. Blackwell Publishing. 388. pp
- Gavalchin, J., Katz, S.E. 1994. The persistence of fecal born antibiotics in soil. *The Journal of AOAC International*, 77, 481-485.
- Geissdoerfer, M., Savaget, P. Bocken, N.M.P., Hultink, E.J. 2017. The circular economy—A new sustainability paradigm? *J. Clean. Prod.*, 143, 757-768.
- Ghini, R., Perondi, N. L., Navas-Cortés, J. A., Silva, C. A., Bettiol, W. 2016. Combined Effects of Soil Biotic and Abiotic Factors, Influenced by Sewage Sludge Incorporation, on the Incidence of Corn Stalk Rot. *PloS One*, 11, 5, e0155536.
- Ghisellini, P., Cialani, C., Ulgiati, S. 2016. A review on circular economy: the expected transition to a balanced interplay of environmental and economic systems. *Journal of Cleaner Production*, 114, 11-32.
- Giannakis, G.V., Kourgialas, N.N., Paranychianakis, N.V., Nikolaidis, N.P., Kalogerakis, N. 2014. Effects of Municipal Solid Waste Compost on Soil Properties and Vegetables Growth. *Compost Sci Util.* 22, 3, 116-131.
- Gigliotti, G., Proietti, P., Said-Pullicino, D., Nasini, L., Pezzolla, D., Rosati, L., Porceddu, P.R. 2012. Co-composting of olive husks with high moisture contents: organic matter dynamics and compost quality *Int. Biodeter. Biodegr.*, 67, 8-14.
- Gill, S.R., Pop, M., DeBoy, R.T., Eckburg, P.B., Turnbaugh, P.J., Samuel, BS., Gordon, JL., Relman, DA., Fraser-Liggett, CM., Nelson, K.E. 2006. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, 312, 1355-1359.
- Gimeno, E., Andreu, V., Boluda, R. 2001. Impacto de la actividad agrícola sobre el aporte de metales pesados en suelos del Parque Natural de l'Albufera de València. *Dossier Agraria*, nº 7. *Sols Contaminats*. Barcelona. Institut d'Estudis Catalans.
- Ginolhac, A., Jarrin, C., Gillet, B., Robe, P., Pujic, P., Tiphile, K., Bertrand, H., Vogel, T.M., Perrière, G., Simonet P., Nalin, R. 2004. Phylogenetic analysis of polyketide synthase domains from soil metagenomic libraries allows selection of promising clones. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 5522-5527.
- Ginolhac, A., Rasmussen, M., Gilbert, T. M., Willerslev, E., Orlando, L. 2011. Map Damage: testing for damage patterns in ancient DNA sequences. *Bioinformatics*, 27, 2153-2155.
- Girardi, C., Greveb, J., Lamshöft, M., Fetzerd, I., Miltnera, A., Schäffere, A., Kästner, M. 2011. Biodegradation of ciprofloxacin in water and soil and its effects on the microbial communities. *Journal of Hazardous Materials*, 198, 22-30.
- Giuntini, E.B., Marco, J., Castaldini, M. 2006. Genetic diversity of dinitrogen-fixing bacterial communities in soil amended with olive husks. *Annals of Microbiology*, 56, 2, 83-88.

- Gong, X., Li, S., Sun, X., Wang, L., Cai, L.L., Zhang, J.D., Wei, L. 2018. Green waste compost and vermicompost as peat substitutes in growing media for geranium (*Pelargonium zonale* L.) and calendula (*Calendula officinalis* L.). *Scientia Horticulturae*, 236, 186-191. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.03.051.
- Gogoi, A., Biswas, S., Bora, J., Bhattacharya, S.S., Kumar, M. 2015. Effect of vermicomposting on copper and zinc removal in activated sludge with special emphasis on temporal variation *Ecohydrology & Hydrobiology*, 15, 2, 101-107. DOI: 10.1016/j.ecohyd.2015.01.001.
- Golet, E.M., Strehler, A., Alder, A.C., Giger, W. 2002. Determination of fluoroquinolone antibacterial agents in sewage sludge and sludge-treated soil using accelerated solvent extraction followed by solid-phase extraction. *Analytical Chemistry*, 74, 5455–5462.
- Golet, E.M., Xifra, I., Siegrist, H., Alder, A.C., Giger, W. 2003. Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil. *Environmental Science & Technology*, 37, 15, 3243-3249. DOI: 10.1021/es0264448.
- Gomez-Brandon, M., Aira, M., Lores, M., Dominguez, J. 2010. Changes in microbial community structure and function during vermicomposting of pig slurry. *Bioresource Technology*, 102, 5, 4171-4178. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.12.057
- Gomez-Brandon, M., Aira, M., Lores, M. 2011. Epigeic Earthworms Exert a Bottleneck Effect on Microbial Communities through Gut Associated Processes. *PLOS ONE*, 6, 9, e24786.
- Gomez-Brandon, M., Lores, M., Dominguez, J. 2012. Species-Specific Effects of Epigeic Earthworms on Microbial Community Structure during First Stages of Decomposition of Organic Matter. *Plos One*, 7, 2, e31895.
- Gómez-Brandón, M., Dominguez, J. 2013. Changes in chemical and microbiological properties of rabbit manure in a continuous-feeding vermicomposting system. *Bioresource Technology*, 128, 310-316.
- Goyal, S., Dhull, S.K., Kapoor, K.K. 2005. Chemical and biological changes during composting of different organic wastes and assessment of compost maturity. *Bioresource Technology*, 96, 14, 1584-1591.
- Gong, X., Li, S., Sun, X., Wang, L., Cai, L.L., Zhang, J.D., Wei, L. 2018. Green waste compost and vermicompost as peat substitutes in growing media for geranium (*Pelargonium zonale* L.) and calendula (*Calendula officinalis* L.). *Scientia Horticulturae*, 236, 186-191. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.03.051.
- Gonzalez-Martinez, A., Rodríguez-Sánchez, A., Martínez-Toledo, M.V., García-Ruiz, M.J., Hontoria, E., Osorio-Robles, F., Gonzalez-Lopez, J. 2014. Effect of ciprofloxacin antibiotic on the partial-nitrification process and bacterial community structure of a submerged biofilter. *Science of the Total Environment*, 476–477, 276–287.
- González-Teuber, M., Vilo, C., Bascuñán-Godoy, L. 2017. Molecular characterization of endophytic fungi associated with the roots of *Chenopodium quinoa* inhabiting the Atacama Desert, Chile, *Genomics*, 11, 109.
- Gopal, M., Bhute, S.S., Gupta, A., Prabhu, S.R., Thomas, G.V., Whitman, W.B. 2017. Changes in structure and function of bacterial communities during coconut leaf vermicomposting. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1–17. 10.1007/s10482-016-0766-6. *PLOS ONE*, 6, 9, e24786.
- Goulas, A., Nicolas, S., Garnier, P. 2017. Assessing the environmental availability of sulfamethoxazole and its acetylated metabolite in agricultural soils amended with compost and manure: an experimental and modeling study. *Geophys. Res.*, 19.

- Gravesen, C., Judy, J.D. 2020. Effect of biosolids characteristics on retention and release behavior of azithromycin and ciprofloxacin. *Environmental Research*, 184, 109333. DOI: 10.1016/j.envres.2020.109333.
- Gregg, J. S., Smith, S. J. 2010. Global and regional potential for bioenergy from agricultural and forestry residue biomass. *Mitigation and Adaptation Strategies For Global Change*, 15, 3. 241-262.
- Grobe, M., Lin, J., Loe, P., Kokorewicha, S., 2006. Evaluation of sewage sludge based compost by FTIR spectroscopy. *Geoderma*, 130, 325-333.
- Gros, M., Petrovic, M., Ginebreda, A., Barcelo, D. 2010. Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environment International*, 36, 1, 15-26. DOI: 10.1016/j.envint.2009.09.002.
- Grosser, T., Smyth, E., FitzGerald, G. A. 2011. Anti-inflammatory, antipyretic, and analgesic agents; pharmacotherapy of gout. *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*, 12, 959-1004.
- Guerin T, 2001. Co-composting of pharmaceutical wastes in soil. *Letters in applied microbiology*, 33, 256-263.
- Guerra, P., Kim, M., Shah, A., Alaei, M., Smyth, S.A., Smyth, S. A. 2014. Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes. *Science of the total Environment*, 473, 235-243. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.12.008.
- Guo, R., Li, G., Jiang, T., Schuchardt, F., Chen, T., Zhao, Y., Yujun, Y. 2012. Effect of aeration rate, C/N ratio and moisture content on the stability and maturity of compost. *Bioresource Technol.*, 112, 171-178.
- Guo, J.Y., Jiang, S.L., Pang, Y.J. 2018. Rice straw biochar modified by aluminum chloride enhances the dewatering of the sludge from municipal sewage treatment plant, *Science of the total environment*, 654, 338-344. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.429.
- Hafidi, M., Ait Baddi, G., Gilard, V., Ramos, V., Alimi, K., Revel, J. C. 2005. Characterization of fulvic acids during olive mill waste composting (Elemental, Thermal and fluorescence analyses). *Chemistry and Ecology*, 21, 4, 313-324.
- Hagemann, N., Subdiaga, E., Orsetti, S., de la Rosa, J.M., Knicker, H., Schmidt, P., Kappler, A., Behrens, S. 2018. Effect of biochar amendment on compost organic matter composition following aerobic composting of manure. *Science and de total Enviroment*, 613-614, 20-29.
- Haiba, E., Lillenberg, M., Kipper, K., Astover, A., Herodes, K., Ivask, M., Kuu, A., Litvin, S.V., Nei, L. 2013a. Fluoroquinolones and sulfonamides in sewage sludge compost and their uptake from soil into food plants. *African Journal of Agricultural Research*, 8, 3000–3006.
- Haiba, E., Nei, L., Lillenberg, M., Kipper, K., Herodes, K. 2013b. Degradation of some pharmaceuticals during sewage sludge composting. *Global Journal on Advances Pure and Applied Sciences*, 1st Global Conference on Environmental Studies (CENVISU-2013), Belek, Antalya, Turkey, 1, 857–862.
- Haiba, E., Ivask, M., Olle, L., Peda, J., Kuu, A., Kutti, S., Nei, L. 2014. Transformation of nutrients and organic matter in vermicomposting of sewage sludge and kitchen wastes. *Journal of Agricultural Science*, 6, 114–118.
- Haiba, E. 2019. Sewage sludge, pharmaceuticals and composting. *Journal of Biothecnology*, 305, S33-S33, S. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2019.05.120.

- Halling-Sorensen, B., Sengelov, G., Tjornelund, J. 2002. Toxicity of tetracyclines and tetracycline degradation products to environmentally relevant bacteria, including selected tetracycline resistant bacteria. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42, 263–271.
- Hamscher, G., Sczesny, S., Höper, H., Nau, H. 2002. Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 74, 1509– 1518.
- Han, C., Zhong, W., Shen, W, Cai, Z., Liu, B. 2013. Transgenic Bt rice has adverse impacts on CH₄ flux and rhizospheric methanogenic archaeal and methanotrophic bacterial communities. *Plant Soil* 369, 297–316. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1522-y>.
- Hanajima, D., Fukumoto, Y., Yasuda, T., Suzuki, K., Maeda, K., Morioka, R. 2011. Bacterial community dynamics in aerated cow manure slurry at different aeration intensities. *Journal of Applied Microbiology*, 111, 6, 1416–1425.
- Hanc, A., Dreslova, M. 2016. Effect of composting and vermicomposting on properties of particle size fractions *Bioresource Technology* 217, 186-189. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.02.058.
- Hara, K., Mino, T. 2008. Environmental assessment of sewage sludge recycling options and treatment processes in Tokyo. *Waste Management*, 28, 2645–2652.
- Harada, Y., Inoko, A. 1980a. Relationship between cation-exchange capacity and degree of maturity of city refuse composts. *Soil of Plant Nutrition*, 26, 353-362.
- Harada, Y., Inoko, A. 1980b. The measurement of the cation-exchange capacity of composts for the estimation of the degree of maturity. *Soil Science and Plant Nutrition*, 26, 127-134.
- Hashem, M., Moharam, A.M., Zaied, A.A., Saleh, F.E.M. 2010. Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by *Fusarium* spp. *Crop Protection*, 29, 10, 1111-1117.
- Hassan, M.U., Chattha, M.U., Khan, I., Chattha, M.B., Aamer, M., Nawaz, M., Ali, A., Khan, M.A.U., Khan, T.A. 2019. Nickel toxicity in plants: reasons, toxic effects, tolerance mechanisms, and remediation possibilities a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 13, 12673-12688. DOI: 10.1007/s11356-019-04892-x.
- He, Y., Xie, K., Xu, P., Huang, X., Gu, W., Zhang, F., Tang, S. 2013. Evolution of microbial community diversity and enzymatic activity during composting *Research in Microbiology*, 164, 2, 189-198.
- He, X., Zhang, Y.X., Shen, M.C., Zeng, G.M., Zhou, M.C., Li, M.R. 2016. Effect of vermicomposting on concentration and speciation of heavy metals in sewage sludge with additive materials. *Bioresource Technology*, 218, 867-873. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.07.045.
- Hedrich, S., Schlomann, M., Johnson, D.B. 2011. The iron-oxidizing proteobacteria. *Microbiology* 157, 1551–1564.
- Herberg, G. 1975. *Infrared and Raman spectra*, Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Hernández, S., Pérez, J., Masaguer, A., Eymar, E. 2009. Caracterización físico-química de residuos orgánicos compostados, evaluación de su potencial nutritivo y aprovechamiento agrícola III Jornadas del Grupo de Fertilización de la SECH, Almería, 165-171.
- Hernández, A., Castillo, H., Ojeda, D., Aarras, A., López, J., Sánchez, E. 2010. Effect of vermicompost and compost on lettuce production. *Chilean journal of agricultural research*, 70: 4, 583-589.
- Hernando, M.D., Mezcuca, M., Fernández-Alba, A.R., Barceló, D. 2006. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*, 69, 3, 34–42.

- Hoitink, H.A.J., Stone, A.G., Hand, D.Y. 1997. Supresión de enfermedades mediante compost. *Agronomía Costarricense* 21, 25-33.
- Hoitink, H.A.J., Krause, M.S., Han, D.Y. 2001. Spectrum and mechanisms of plant disease control with composts In: Stofella PJ, Kahn BA, editors. *Compost Utilization in Horticultural Cropping Systems* Boca Raton USA Lewis Publishers, 263–274.
- Hong, S.W., Lee, J.S. 2011. Effect of enzyme producing microorganisms on the biomass of epigeic earthworms (*eisenia fetida*) in vermicompost. *Bioresource Technology*, 102, 10, 6344-6347.
- Horisawa, S., Yoshida, M., Umezawa, K., Wada, T., Abe, H., Doi, S., Samejima, M., Momohara, I. 2017. Diversity and community structure of wood-inhabiting fungi found in Japanese wooden houses analyzed by the next-generation sequencing, *Journal of Wood Science*, 63, 4, 369.
- Hossain, M.K., Strezov, V., Chan, K.Y. 2010. Agronomic properties of wastewater sludge biochar and bioavailability of metals in production of cherry tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Chemosphere*, 78, 9, 1167-1171.
- Hsu, H., Lo, L. 1999. Recycling of separated pig manure: Characterization of maturity and chemical fractionation of elements during composting. *Water Science and Technology*, 40, 1, 121-127 [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(99\)00372-8](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00372-8).
- Hsuan, H.M., Latiffah, Z., Baharudding, S. 2010. Characterization of *Fusarium* isolates from rice, sugarcane and maize using RFLP-IGS. *Journal of Plant Protection Research*, 50, 409-415.
- Hu, Z., Liu, Y., Chen, G., Gui, X., Chen T., Zhan, X. 2011. Characterization of organic matter degradation during composting of manure-straw mixtures spiked with tetracyclines. *Bioresource Technology*, 102, 15, 7329-7334.
- Huang K., Li, F.S., Wei, Y.F., Fu, X.Y., Chen, X.M. 2014. Effects of earthworms on physicochemical properties and microbial profiles during vermicomposting of fresh fruit and vegetable wastes. *Bioresour Technol.*, 170, 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.058> PMID: 25118152.
- Huang, K., Xia, H. 2018. Role of earthworms' mucus in vermicomposting system: Biodegradation tests based on humification and microbial activity. *Science of The Total Environment*, 610–611, 1, 703-708.
- Huang, X.F., Ye, G.Y., Yi, N.K., Lu, L.J., Zhang, L., Yang, L.Y., Xiao, L, Liu, J. 2019. Effect of plant physiological characteristics on the removal of conventional and emerging from aquaculture wastewater by constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 135, 45-53. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2019.05.017.
- Huang, Y., Pan, H., Wang, Q., Ge, Y., Liu, W., Christie, P. 2019. Enrichment of the soil microbial community in the bioremediation of a petroleum-contaminated soil amended with rice straw or sawdust. *Chemosphere*, 224, 265-271.
- Huang, C.Y., Fu, L.H., Sung, M.H., Huang, C.F., Wu, J.P., Kuo, H.W. 2020. Ibuprofen biodegradation by hospital, municipal, and distillery activated sludges. *Environmental Technology*, 41, 2, 171-180. DOI: 10.1080/09593330.2018.1493146.
- Huber, J.A., Butterfield D.A., Baross, J.A. 2002. Temporal changes in archaeal diversity and chemistry in a mid-ocean ridge seafloor habitat. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 1585-1594.
- Huerta, E., Cruz, J., Aguirre, L., Caballero, R., Pérez-Hidalgo, L. 2015. Organic fertilizer toxicity estimated by a lettuce germination bioassay. *Terra Latinoamericana*, 33, 179-185.

- Hugenholtz, P., Pace, N.R. 1996. Identifying microbial diversity in the natural environment: a molecular phylogenetic approach. *Trends in Biotechnology*, 14, 190-197.
- Hussain, S., Sharif, M., Ahmad, W., Khan, F., Nihar, H. 2018. Soil and plants nutrient status and wheat growth after mycorrhiza inoculation with and without vermicompost. *Journal of Plant Nutrition*, 41, 12, 1534-1546. DOI: 10.1080/01904167.2018.1459687.
- Ianotti, D.A., Pang, T., Toth, B.L., Elwell, D.L., Keener, H.M., Hoitink, H.A.J. 1993. A quantitative respirometric method for monitoring compost stability. *Compost Science & Utilization*, 1, 3, 52-65 .
- Idrovo-Novillo, J., Gavilanes-Teran, I., Bustamante, M.A., Paredes, C. 2018. Composting as a method to recycle renewable plant resources back to the ornamental plant industry: Agronomic and economic assessment of composts. *Process Safety and Environmental Protection*, 116, 388-395. DOI: 10.1016/j.psep.2018.03.012
- Idrovo-Novillo, J., Gavilanes-Teran, I., Veloz-Mayorga, N., Erazo-Arrieta, R., Paredes, C. 2019. Closing the cycle for the cut rose industry by the reuse of its organic wastes: A case study in Ecuador. *Journal of Cleaner Production*, 220, 910-918. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.02.121
- Iglesias, E., Pérez, V. 1991. Composting of domestic refuse and sewage sludge. I. Evolution of temperature, pH, C/N ratio, and cation exchange capacity. *Resources, Conservation and Recycling*, 6, 1, 45-60.
- Iglesias-Jimenez, E., Pérez-García, V. 1992a. Determination of maturity indices for city refuse composts. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 38, 331-343.
- Iglesias-Jimenez, E., Pérez-García, V. 1992b. Composting of domestic refuse and sewage. II. Evolution of carbon and come "humification" indexes. *Resources, Conservation and Recycling* 6, 243-257.
- Iglesias-Jimenez, E., Barral, M., Marhuenda, F. 2008. Indicadores de la madurez y estabilidad del compost. En: Moreno, J., Moral, R. (Eds). *Compostaje*. 243-284. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Ignatowicz, K. 2017. The impact of sewage sludge treatment on the content of selected heavy metals and their fractions. *Environmental Research*, 156, 19-22.
- Iital, A., Kloga, M., Pihlak, M., Pachel, K., Zahharov, A., Loigu, E. 2014. Nitrogen content and trends in agricultural catchments in Estonia. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 198, 44-53.
- Inbar, Y., Chen, Y., Hadar, Y. 1989. Solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance and infrared spectroscopy of composted organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53, 1695-1701.
- Inbar, Y., Chen, Y., Hadar, Y., Hoitink, H.A.J. 1990. New approaches to compost maturity. *BioCycle*, 31, 12, 64-69.
- Iranzo, M., Canizares, J.V., Roca-Perez, L., Sainz-Pardo, I., Mormeneo, S., Boluda, R. 2004. Characteristics of rice straw and sewage sludge as composting materials in Valencia (Spain). *Bioresource Technology*. 95, 1, 107-112. DOI: 10.1016/j.biortech.2004.01.013.
- Iranzo, M., Gamon, M., Boluda, R., Mormeneo, S. 2018. Analysis of pharmaceutical biodegradation of WWTP sludge using composting and identification of certain microorganisms involved in the process. *Science of the Total Environment.*, 640, 840-848. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.05.366.
- Ivask, M, Olle, L., Nei, L. 2013. Domestic organic waste treatment through vermitechnology. *Waste Management and Research*, 31, 878.

- Jain, N., Bhatia, A., Pathak, H. 2014. Emission of Air Pollutants from Crop Residue Burning in India. *Aerosol and air Quality Research*, 14, 1, 422-430. doi: 10.4209/aaqr.2013.01.0031.
- Jacas, J., Marza, J., Florensa, P., Soliva, M. 1987. Cation exchange capacity variation during the composting of different materials. *In Compost: Production, Quality, and Use. Edited by M. DeBertoldi, M. P. Ferranti, P. L'Hermite, and F. Zucconi.* Elsevier Applied Science, London, UK, 309–320.
- Jaskulak, M., Grobelak, A., Grosser, A., Vandenbulcke, F.J. 2019. Gene expression, DNA damage and other stress markers in *Sinapis alba* L. exposed to heavy metals with special reference to sewage sludge application on contaminated sites. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 181, 508-517.
- Jelic, A., Gros, M., Ginebreda, A., Cespedes-Sánchez, R., Ventura, F., Petrovic, M., Barcelo, D. 2011. Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. *Water Research*, 45, 1165–1176.
- Jemai, I., Aissa, N. B., Gallali, T. 2013. Effects of municipal reclaimed wastewater irrigation on organic and inorganic composition of soil and groundwater in Souhil Wadi Area (Nabeul, Tunisia). *Hydrology: Current Research*, 4, 4,160.
- Jia, Y.Y., Yin, L.W., Khanal, S.K., Zhang, H., Oberoi, A.S., Lu, H. 2020. Biotransformation of ibuprofen in biological sludge systems: Investigation of performance and mechanisms. *Water Research*, 170, 115303. DOI: 10.1016/j.watres.2019.115303
- Joergensen, R.G., Wichern, F. 2008. Quantitative assessment of the fungal contribution to microbial tissue in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 40, 2977–2991.
- Jorge-Mardomingo, I., Jiménez-Hernández, M.E., Moreno, L., de la Losa, A., de la Cruz, M.T., Casermeiro, M.A. 2015. Application of high doses of organic amendments in Mediterranean agricultural soil: An approach for assessing the risk of groundwater contamination. *Catena* 131, 74-83.
- Jouquet, E.P., Bloquel, E., Doan, T., Ricoy, M., Orange, D., Rumpet, C., Duc, T. 2011. Do compost and vermicompost improve macronutrient retention and plant growth in degraded tropical soils? *Compost science and utilization*, 19, 1, 15-24.
- Jouraiphy, A., Amir, S., El Gharous, M., Revel, J.C., Hafidi, M. 2005. Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformation during composting of sewage sludge and green plant waste. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 56, 2, 101-108.
- Jouraiphy, A., Amir, S., Winterton, P., El Gharous, M., Revel, J.C., Hafidi, M. 2008. Structural study of the fulvic fraction during composting of activated sludge–plant matter: Elemental analysis, FTIR and ¹³C NMR. *Bioresource Technology*, 99, 1066 – 1072.
- Jurado, M., López, J., Suárez-Estrella, M.F., Vargas-García, C., López-González, J.A., Moreno, J. 2014. Exploiting composting biodiversity: Study of the persistent and biotechnologically relevant microorganisms from lignocellulose-based composting. *Bioresource Technology*, 162, 283-293.
- Kalantari, S., Asdalan, M.M., Alikhani, H.A., Shorafa, M. 2011. Comparison of compost and vermicompost of yard leaf manure and inorganic fertilizer on yield of corn. *Communications in soil science and plant analysis*, 42, 2, 123-131.
- Karadag, D., Özkaya, B., Ölmez, E., Nissilä, M.E., Çakmakçı, M., Yıldız, S., Puhakka, J.A. 2013. Profiling of bacterial community in a full-scale aerobic composting plant. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 77, 85-90.

- Karnjanapiboonwong, A., Morse, A.N., Maul, J.D., Anderson, T.A. 2010. Sorption of estrogens, triclosan, and caffeine in a sandy loam and a silt loam soil. *Journal of Soils and Sediments*, 10, 7, 1300-1307. DOI: 10.1007/s11368-010-0223-5.
- Karthikeyan, K.G., Meyer, M.T. 2006. Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA. *Science of the Total Environment*, 361, 1-3, 196-207. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2005.06.030.
- Kazarian, S.G., Chan, K.L. 2013. ATR-FTIR spectroscopic imaging: recent advances and applications to biological systems. *The Analyst*, 138, 8, 1940–1951.
- Keiluweit, M., Kleber, M. 2009. Molecular-Level Interactions in Soils and Sediments: The Role of Aromatic pi-Systems. *Environmental Science and Technology*, 43, 10, 3421-3429.
- Khan, M.A.I., Ueno, K., Horimoto, S., Komai, F., Tanaka, K., Ono, Y. 2009. Physiochemical, including spectroscopic, and biological analyses during composting of green tea waste and rice bran. *Biology and Fertility of Soils*, 45, 3, 305-313.
- Khan, S., Chao, C., Waqas, M., Arp, H.P.H., Zhu, Y.G. 2013. Sewage Sludge Biochar Influence upon Rice (*Oryza sativa* L) Yield, Metal Bioaccumulation and Greenhouse Gas Emissions from Acidic Paddy. *Soil. Environmental Science & Technology*, 47, 15, 8624-8632. DOI: 10.1021/es400554x.
- Khan, Z. I., Ugulu, I., Ahmad, K. 2018. Assessment of Trace Metal and Metalloid Accumulation and Human Health Risk from Vegetables Consumption through Spinach and Coriander Specimens Irrigated with Wastewater. Conference: 15th International Conference on Environmental Science and Technology (CEST) Global Network Environm Sci & Technol, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 101, 6, 787-795.
- Khan, M.B., Cui, X., Jilani, G., Lazzat, U., Zehra, A., Hamid, Y., Hussain, B., Tang, L., Yang, X., He, Z. 2019. *Eisenia fetida* and biochar synergistically alleviate the heavy metals content during valorization of biosolids via enhancing vermicompost quality. *The Science of the Total Environment*, 684, 597-609. DOI:10.1016/j.
- Khan, M.A.I., Ueno, K., Horimoto, S., Komai, F., Tanaka, K., Ono, Y. 2009. Physiochemical, including spectroscopic, and biological analyses during composting of green tea waste and rice bran. *Biology and Fertility of Soils*, 45, 3, 305-313.
- Kim, G.Y., Gutierrez, J., Jeong, H.CH. 2014. Effect of intermittent drainage on methane and nitrous oxide emissions under different fertilization in a temperate paddy soil during rice cultivation. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 57, 2, 229-236.
- Kinney, D., Chad, A., Furlong, E.T., Kolpin, D. W., Burkhardt, M.R., Zaugg, S.D., Werner, S.L., Bossio, J.P., Benotti, M.J. 2008. Bioaccumulation of pharmaceuticals and other anthropogenic waste indicators in earthworms from agricultural soil amended with biosolid or swine manure. *Environmental Science & Technology*, 42, 6, 1863-1870. DOI: 10.1021/es702304c.
- King, A.E., Congreves, K.A., Deen, B., Dunfield, K.E., Voroney, P., Wagner-Riddle, C. 2019. Quantifying the relationships between soil fraction mass, fraction carbon, and total soil carbon to assess mechanisms of physical protection, *Soil Biology and Biochemistry*, 10.1016/j.soilbio.2019.04.019.
- Kim, K.R., Owens, G., Ok, Y.S., Park, W.K., Lee, D.B., Kwon, S.I. 2012. Decline in extractable antibiotics in manure-based composts during composting. *Waste Management*, 32, 110–116.
- Kipper, K., Herodes, K., Lillenberg, M., Nei, L., Haiba, E., Litvin, S.V. 2010. Plant Uptake of some Pharmaceuticals Commonly Present in Sewage Sludge Compost. Conference: 2 nd International conference on Chemical, Biological and Environmental Engineering, 261–264.

- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C. 2013. Evaluation of a general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res*, 41, 51.
- Ko, H.J., Kim, K.Y., Kim, H.T., Kim, C.N., Umeda, M. 2008. Evaluation of maturity parameters and heavy metal contents in composts made from animal manure. *Waste Management (New York)*, 28, 5, 813-820.
- Koo, Molin, T., Saski, C., Jiang, J., Putta, K., Jugulam, M., Friebe, B., Gill, B.S. 2018. Extrachromosomal circular DNA-based amplification and transmission of herbicide resistance in crop weed *Amaranthus palmeri*. Edited by Ronald L. Phillips, University of Minnesota, 115 (13), 3332-3337. <https://doi.org/10.1073/pnas.1719354115>.
- Kolecka, K., Gajewska, M., Stepnowski, P., Caban, M. 2019. Spatial distribution of pharmaceuticals in conventional wastewater treatment plant with sludge Treatment Reed Beds technology. *Science of the Total Environment*, 647, 149-157. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.07.439.
- Kononova, M.M. 1982. *Materia orgánica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. Oikos-Tau, S.A. Ediciones, Barcelona, 365 p.
- Kotzerke, A., Sharma, S., Schauss, K., Heuer, H., Thiele-Bruhn, S., Smalla, K., Wilke, B-M, Schloter, M. 2008. Alterations in soil microbial activity and N-transformation processes due to sulfadiazine loads in pig-manure. *Environ.Pollut.*, 153, 315–322.
- Kotzerke, A., Klemer, S., Kleineidam, K., Horn, M., Drake, H.L., Schloter, M., Wilke, B.M. 2010. Manure contaminated with the antibiotic sulfadiazine impairs the abundance of nirK and nirS-type denitrifiers in the gut of the earthworm *Eisenia fetida*. *Biology and Fertility of Soils*, 46, 415–418.
- Krucker, M., Hummet, RL. Cogger, C. 2010. Chrysanthemum production in composed and notcomposed organic wasted substrates fertilized with nitrogen at two rates using Surface and subirrigation. *HortScience*, 45, 11, 1695-1701.
- Kukul, S., Saha, D. 2012. Water retention characteristics of soil bio-amendments used as growing media in pot culture. *J. Appl. Hortc*, 14, 2, 92-97.
- Kui, H., K., Xia, H., Wu, Y., Chen, J., Wu, N. 2018. Effects of earthworms on the fate of tetracycline and fluoroquinolone resistance genes of sewage sludge during vermicomposting. *Bioresource Technology*, 259, 32-39
- Kui, H., Hui X., Ying, Wu., Chen, J., Jingyang, J., Wu, N. 2018. Effects of earthworms on the fate of tetracycline and fluoroquinolone resistance genes of sewage sludge during vermicomposting. *Bioresource Technology*, 259, 32-39.
- Kulikowska, D., Gusiatin, Z.M., 2015. Sewage sludge composting in a twostage system: carbon and nitrogen transformations and potential ecological risk assessment. *Waste Manag.*, 38, 312-320.
- Kulikowska, D., Klimuiuk, E. 2011. Organic matter transformations and kinetics during sewage sludge composting in a two-stage system. *Bioresource Technology*, 102, 10951–10958.
- Kumar, K., Gupta, S.C., Chander, Y., Singh, A.K. 2005. Antibiotic use in agriculture and its impact on the terrestrial environment. *Adv Agron*, 87, 1–54.
- Kumar, M., Ou, Y.L., Lin, J.G. 2010. Co-composting of green waste and food waste at low C/N ratio. *Waste Management*, 30, 4, 602-609.
- Kumar, S., Chaudhuri, S., Maiti, S.K. 2013. Soil Dehydrogenase Enzyme Activity in Natural and Mine Soil - A Review. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 13, 7, 898-906.

- Kumar, D.S., Kumar, P.S., Rajendran, N.M., Kumar, V.U., Anbuganapathi, G. 2014. Evaluation of Vermicompost Maturity Using Scanning Electron Microscopy and Paper Chromatography Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 13, 2738-2741.
- Kumar, S., Prasad, S., Yadav, K.K., Krishna, K., Shrivastava, M., Gupta, N., Nagar, S., Bach, Q.V., Kamyab, H., Khan, S.A., Yadav, S., 2019. Hazardous heavy metals contamination of vegetables and food chain: Role of sustainable remediation approaches - A review. *Environmental Research*. 179, 108792. DOI: 10.1016/j.envres.2019.108792.
- Kwon, S., Owens, G., Ok, Y., Lee, D., Jeon, W., Kim, J., Kim, K. 2011. Applicability of the Charm II system for monitoring antibiotic residues in manure-based compost. *Waste Management*, 31, 39-44.
- Labrador, J. 1996. La materia orgánica de los agrosistemas suelo. Ministerio de Agricultura. 176 p.
- Lacey, J., Magan, N. 1991. Fungi in cereal grains: their occurrence, water and temperature relationships. In: *Cereal grain. Micotoxins, fungi and quality in drying and storage*. Ed. Elsevier, Amsterdam.
- Lacovidou, E., Velis, C.A., Purnell, P., Zwirner, O., Brown, A., Hahladakis, J.N., Millward Hopkins, J., Williams, P.T. 2017a. Metrics for optimising the multi-dimensional value of resources recovered from waste in a circular economy: a critical review. *J. Clean. Prod.*, 166, 910–938.
- Lacovidou, E., Millward-Hopkins, J., Busch, J., Purnell, P., Velis, C.A., Hahladakis, J.N., Zwirner, O., Brown, A. 2017b. A pathway to circular economy: Developing a conceptual framework for complex value assessment of resources recovered from waste. *J. Clean. Prod.*, 168, 1279-1288.
- Lag-Brotons, A. J., Gomez, I., Navarro-Pedrenno, J. 2016. Sewage sludge use in bionergy production. A case study of its effects on soil properties under *Cynara cardunculus* L. cultivation. *Span. J. Agric. Res.*, 13, 1, e11-e1101.
- Langarica- Fuentes, A., Zafar, U., Heyworth, A., Brown, T., Fox, G., Robson, G.D. 2014. Fungal succession an in-vessel composting system characterized using 454 pyrosequencing FEMS. *Microbiol. Ecol.*, 88, 296 – 308.
- Larone, D. 2011. *Medically Important Fungi: A Guide To Identification*, Capitulo Hyaline Hyphomycetes, ASM Press: Washington, Dc. 304, 485 p.
- Lax, A., Roig, A., Costa, F. 1986. A method for determining the cation Exchange capacity of organic materials. *Plant and Soil*, 94, 349-355.
- Lazcano, C., Arnold, J., Tato, A., Zaller, J.G., Dominguez, J. 2009. Compost and vermicompost as nursery pot components: effects on tomato plant growth and morphology. *Spanish journal of agriculture and research*, 7, 4, 944-951.
- Lazcano, C., Dominguez, J. 2010. Effects of vermicompost as a potting amendment of two commercially grown ornamental plant species. *Span. J. Agric. Res.*, 8, 4, 1260-1270.
- Lebeau, T. 2016. Protective effect of organic substrates against soil-borne pathogens in soilless cucumber crops. *Scientia Horticulturae*, 206, 62-70.
- Legaz, F., Serna, M.D., Ferrer, P., Cebolla, V., Primo-Millo, E. 1995. Análisis de hojas, suelos y aguas para el diagnóstico nutricional de plantaciones de cítricos. Procedimiento de toma de muestras. *Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació. Generalitat Valenciana*. 26 p.
- Lee, S.W., Won, K., Lim, H.K., Kim, J.C., Choi, G.J., Cho, K.Y. 2004. Screening for novel lipolytic enzymes from uncultured soil microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65, 720-726.

- Lee, H., Lee, J., Lee, I., Moon, H., Chang, Y., Jacobs, D., Lee, D.H., 2011. Associations among Organochlorine Pesticides, Methanobacteriales, and Obesity in Korean Women Raul M. Luque, Editor. PLoS One, 6, 11, e27773. doi: 10.1371.
- Leege, P.B. Thompson, W.H. 1997. Test Methods for the Examination of Composting and Compost. First Edition. US Composting Council. Maryland, USA.
- Lehninger, A.L. 1975. Principios de Bioquímica. Ed. Omega. 6ª ed., 1328 p.
- Li, Y., Zhu, G., Jern, Ng, W., Tan, S.K. 2014. A review on removing pharmaceutical contaminants from waste water by constructed wetlands: Design, performance and mechanism. Science of the Total Environment, 468–469, 908–932.
- Li, W.C. 2014. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. Environmental Pollution, 187, 193–201. DOI: 10.1016/j.envpol.2014.01.015.
- Li, S., Li, D., Li, J., Li, G., Zhanga, G. 2017. Evaluation of humic substances during co-composting of sewage sludge and corn stalk under different aeration rates, Bioresource Technology, 245, 1299–1302.
- Lillenberg, M., Yurchenko, S., Kipper, K., Herodes, K., Pihl, V., Sepp, K., Lõhmus, R., Nei, L. 2009. Simultaneous determination of fluoroquinolones, sulfonamides and tetracyclines in sewage sludge by pressurized liquid extraction and liquid chromatography electrospray ionization-mass spectrometry. Journal of Chromatography, A 1216, 5949–5954.
- Lillenberg, M., Litvin, S.V., Nei, L., Roasto, M., Sepp, K. 2010. Enrofloxacin and Ciprofloxacin Uptake by Plants from Soil. Agronomy Research, 8, 807–814.
- Lillenberg, M. 2011. PhD thesis, Residues of some pharmaceuticals in sewage sludge in Estonia, their stability in the environment and accumulation into food plants via fertilizing. (Estonian University of Life Sciences), 217 p.
- Lim, S.L., Lee, L. H., Wu, T. Y. 2016. Sustainability of using composting and vermicomposting technologies for organic solid waste biotransformation: recent overview, greenhouse gases emissions and economic analysis. Journal of Cleaner Production, 111, 262–278. DOI: 10.1016/j.jclepro.2015.08.083.
- Lital, A., Kloga, M., Pihlak, M., Pachel, K., Zahharov, A., Loigu, E. 2014. Nitrogen content and trends in agricultural catchments in Estonia. Agriculture Ecosystems & Environment, 198, 44–53.
- Litterick, A. M., Harrier, P., Wallace, C., Watson, A., Wood, M. 2004. The role of uncomposted materials, composts, manures, and compost extracts in reducing pest and disease incidence and severity in sustainable temperate agricultural and horticultural crop production. A review. Crit. Rev. Plant. Sci., 23, 453–479.
- Liu, X., Chen, Q., Wang, Z., Xie, L., Xu, Z. 2008. Allelopathic effects of essential oil from *eucalyptus grandis*, *e. urophylla* on pathogenic fungi and pest insects. Frontiers of forestry in china, 21, 1, 25–33.
- Liu, J., Schulz, H., Brandl, S., Miehtke, H., Huwe, B., Glaser, H. 2012. Short-term effect of biochar and compost on soil fertility and water status of a Dystric Cambisol in NE Germany under field conditions. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. <https://doi.org/10.1002/jpln.201100172>.
- Liu, L., Chen, T., Wang, Z. 2013. Combination of site-specific nitrogen management and alternate wetting and drying irrigation increases grain yield and nitrogen and water use efficiency in super rice. Field Crops Research, 154, 226–235.
- Liu, Y., Mckeever, L., Malik, N. 2017. Assessment of the Antimicrobial Activity of Olive Leaf Extract Against. Foodborne Bacterial Pathogens, 8, 113.

- Liu, X., Rashti, M., Dougall, A., Esfandbod, M., Van Zwieten, L., Chen, C.R. 2018. Subsoil application of compost improved sugarcane yield through enhanced supply and cycling of soil labile organic carbon and nitrogen in an acidic soil at tropical Australia. *Soil & Tillage Research*, 180, 73-81. DOI: 10.1016/j.still.2018.02.013.
- Liu, X., Shen, F., Qi, X. 2019. Adsorption recovery of phosphate from aqueous solution by CaO-biochar composites prepared from eggshell and rice Straw. *Science of the total environment*, 666, 694-702.
- Lobo, M.C., Martínez-Iñigo, M.J., Pérez-Sanz, A., Cabezas, J.G., Plaza, A., Vicente, M.A., Sastre-Conde, I. 2012. Evaluation of the biological activity in a gypsiferous soil co-amended with Residues. In: Trasar, C. Hernández, T., García, C., González-Carcedo S. (Eds.). *Soil Enzymology in the Recycling of Organic Wastes and Environmental Restoration*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 195-210.
- Lodha, S., Sharma, S.K., Aggarwal, R.K. 2002. Inactivation of *Macrophomina phaseolina* propagules during composting and effect of composts on dry root rot severity and on seed yield of clusterbean. *European Journal of Plant Pathology*, 108, 253–261.
- Loizia, P., Neofytou, N., Zorpas, A.A. 2019. The concept of circular economy strategy in food waste management for the optimization of energy production through anaerobic digestion. *Environmental Science and Pollution Research.*, 26, 15, 14766-14773.
- López, M., Boluda, R. 2008. *Residuos Agrícolas* En: Moreno, J. y Moral, R. (Eds). Compostaje. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 489-518.
- López, M., Huerta, O., Pujol, F., Martínez-Farré, X., Soliva, M. 2010. Approaching compost stability from Klason lignin modified method: Chemical stability degree for OM and N quality assessment. *Resources, Conservation and Recycling*, 55, 2, 171-181.
- López, M.J., Masaguer, A., Paredes, C., Roca, L., Ros, M., Salas, M.C., Boluda, R. 2015a. III Recursos orgánicos: Aspectos agronómicos y medioambientales. 1 Residuos orgánicos y agricultura intensiva. En: Moreno J., Moral, JL, García- Morales, Pascual, J.A., Bernal, M.P. de Residuo a recurso a recurso. El camino hacia la sostenibilidad. Ed. Mundi- Prensa, Madrid. 313 p.
- López, M.J., Masaguer, A., Paredes, C., Roca, L., Ros, M., Salas, M. Boluda, R., 2015b. De Residuo a recurso. El camino hacia la sostenibilidad. III. 1. Residuos orgánicos y agricultura intensiva. Ed. Mundi-Prensa. 41-67, 313 p.
- López-González, J.A., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M.C., López, M.J., Jurado, M.M., Moreno, J. 2015a. Dynamics of bacterial microbiota during lignocellulosic waste composting: Studies upon its structure, functionality and biodiversity. *Bioresource Technology*, 175, 406-416.
- López-González, J.A., Vargas-García, M.D.C., López, M.J., Suárez-Estrella, F., Jurado, M.D.M., Moreno, J. 2015b. Biodiversity and succession of mycobiota associated to agricultural lignocellulosic waste-based composting. *Bioresource Technology*, 187, 305-313.
- Lores, M., Gómez-Brandón, M., Pérez-Díaz, D., Dominguez, J. 2006. Using FAME profiles for the characterization of animal wastes and vermicomposts. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 2993-2996.
- Lorenzo, P., Gonzalez, L. 2010. Allelopathy: an ecophysiological trait that favors the invasive ability of plant species. *Ecosistemas*, 19, 1, 79-91.
- Lu, Q., He, Z. L., Stoffella, P. J. 2012. Land application of biosolids in the USA: A Review. *Applied and Environmental Soil Science*. ID 201462, 11 pp. <https://doi.org/10.1155/2012/201462>.

- Lu, H., Lashari, M.S., Liu, X., Ji, H., Li, L., Zheng, J., Kibue, G.W., Joseph, S., Pan, G. 2015. Changes in soil microbial community structure and enzyme activity with amendment of biochar-manure compost and pyroligneous solution in a saline soil from Central China. *Eur. J. Soil Biol.* 70, 67-76.
- Lu, Z.H., Yan, X., Wei, Z.Q., Wu, J.F. 2019. Co-Amendment of S and Si Alleviates Cu Toxicity in Rice (*Oryza Sativa L.*) Grown on Cu-Contaminated Paddy Soil. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16, 1, 57. DOI: 10.3390/ijerph16010057
- Lu, Z., Smyth, S., De Silva, A.O. 2019. Distribution and fate of synthetic phenolic antioxidants in various wastewater treatment processes in Canada. *Chemosphere*, 219, 826-835.
- Lv, B., Xing, M., Yang, J., Zhang, L. 2015. Pyrosequencing reveals bacterial community differences in composting and vermicomposting on the stabilization of mixed sewage sludge and cattle dung. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 99, 24,10703-12.
- Ma, J.F., Chen, Y.P., Zhao, Y., Chen, D., Wang, H. 2019. Effects of traditional Chinese medicine residue on plant growth and soil properties: a case study with maize (*Zea mays L.*). *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 32, 32880-32890. DOI: 10.1007/s11356-019-06322-4.
- Maallink, A. 2002. On the question of paradigm in the science of allelopathy. 289-297. In: Reigosa, M. & Pedrol, N. *Allelopathy: from molecules to ecosystems*. Enfield, Science Publishers.
- Macías, F.A., Castellano, D., Molinillo, J.M. 2000. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2512-2521.
- Macías, F. A., Galindo, J. C. G., Molinillo, J. M. G., Cutler, H. G. 2004. *Allelopathy chemistry and mode of actions of allelochemicals*. CRC Press, 372 p.
- Macías, F. A., Molinillo, J. M., Varela, R. M., Galindo, J. C. 2007. Allelopathy a natural alternative for weed control. *Pest Management Science*, 63, 327-348.
- Maghnia, F., Abbas, Y., Mahé, F., Kerdouh, B., Tournier, E., Ouadji, M., Tisseyre, P., Prin, Y., El Ghachtouli, H., Bakkali Yakhlef, S.E., Duponnois, R., Sanguin, H., Aroca, R. 2017. Habitat- and soil-related drivers of the root-associated fungal community of *Quercus suber* in the Northern Moroccan forest, *Plos One*, 12, 11.
- MAGRAMA, 2012. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Disponible en: <http://www.magrama.gob.es/es/calidad-y-evaluacionambiental/temas/prevencion-y-gestion-residuos/flujos/lodosdepuradora/>. Actualizado en 2017.
- MAGRAMA. 2016. Plan Estatal Marco de Residuos (PEMAR)(2016-2020). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/planes-y-estrategias/pemaraprobado6noviembrecondae_tcm30-170428.pdf (consultado 2018).
- Maguna, F., Romero, A., Oscar, A., Nora, B. 2006. Actividad antimicrobiana de un grupo de Terpenoides. Universidad Nacional del nordeste. *Comunicaciones científicas y Tecnológicas*.
- Mahuku, G.S., Jara, C., Henriquez, M.A., Castellanos, G., Cuasquer, J. 2006. Genotypic characterization of the common bean bacterial blight pathogens, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* by rep-PCR and PCR-RFLP of the ribosomal genes. *Journal of Phytopathology*, 154, 35–44.
- Malandraki, I., Tjamos, S.E., Pantelides, I.S., Paplomatas, E.J. 2008. Thermal inactivation of compost suppressiveness implicates possible biological factors in disease management. *Biological Control*, 44, 180-187.

- Malchi, T., Maor, Y., Tadmor, G.; Shenker, M., Chefetz, B. 2014. Irrigation of Root Vegetables with Treated Wastewater: Evaluating Uptake of Pharmaceuticals and the Associated Human Health Risks. *Environmental Science & Technology*, 48, 16, 9325-9333.
- Maneepitak, S., Ullah, H., Datta, A., Shrestha, RP., Shrestha, S., Kachenchart, B. 2019. Effects of water and rice straw management practices on water savings and greenhouse gas emissions from a double-rice paddy field in the Central Plain of Thailand. *European Journal of Agronomy*, 107, 18-29. DOI: 10.1016/j.eja.2019.04.002.
- Manners, J.G. 1993. *Introducción a la fitopatología*. Ed Limusa. México. DF. 295 p.
- Manoel, D.D., Ferrari, T., Ferreira, G. 2009. Atividade alelopática de extratos frescos e seco de folhas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) (Coville) e pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de tomate. *Seminarios Ciencias Agrárias*, 30, 1, 63-70.
- MAPA. 1994. *Métodos oficiales de análisis* Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid, 3, 205-324.
- MAPAMA. 2018. *España Circular 2030. Estrategia española de economía circular*. Borrador para información pública.
- Marques-Calvo, MS., Codony, F., Agusti, G., Lahera, C. 2017. Visible light enhances the antimicrobial effect of some essential oils. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 17, 180.
- Margallo, M., Cobo, S., Laso, J., Fernandez, A., Munoz, E., Santos, E., Aldaco, R., Irabien, A. 2019. Environmental performance of alternatives to treat fly ash from a waste to energy plant, 231, 1016-1026. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.05.279.
- Marimón, L. 2017. *Estudio del compostaje como técnica para la eliminación de contaminantes emergentes*. Tesis Doctoral. Universitat de Valencia.
- Markakis, E.A., Fountoulakis, M.S., Daskaiakis, G.C., Kokkinis, M., Ligoixigakis, E.K. 2015. The suppressive effect of compost amendments on *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis-cucumerinum* in cucumber and *Verticillium dahliae* in eggplant. *Crop Protection*, 70- 79, DOI: 10.1016/j.cropro.2015.10.015.
- Marschner, P., Umar, S., Baumann, K. 2011. The microbial community composition changes rapidly in the early stages of decomposition of wheat residue. *Soil Biol Biochem.*, 43, 445–451.
- Martín-Cuadrado, A.B., López-García, J.C., Alba, D., Moreira, L., Monticelli, A., Strittmatter, G., Gottschalk, F., Rodríguez-Valera, C. 2007. Metagenomics of the deep Mediterranean, a warm bathypelagic hábitat, *PLoS One* 2:e914.
- Martín, J., Camacho-Muñoz, M.D., Santos, J.L., Aparicio, I., Alonso, E. 2012. Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants: Removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. *Journal of Hazardous Materials*, 239–240, 40–47.
- Martin, J., Luis Santos, J., Aparicio, I., Alonso, E. 2015. Pharmaceutically active compounds in sludge stabilization treatments: Anaerobic and aerobic digestion, waste water stabilization ponds and composting. *Science of the Total Environment*, 503, 97–104.
- Martínez-Sabater, E., Bustamante, M. A., Marhuenda-Egea, F. C., El-Khattabi, M., Moral, R., Lorenzo, E., Paredes, C., Gálvez, L.N., Jordá, D. 2009. Study of the Evolution of Organic Matter during Composting of Winery and Distillery Residues by Classical and Chemometric Analysis, *J. Agric. Food Chem.*, 57, 9613-9623.

- Marzi, M., Shahbazi, K., Kharazi, N., Rezaei, M. 2019. The Influence of Organic Amendment Source on Carbon and Nitrogen Mineralization in Different Soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20, 177-191 DOI: 10.1007/s42729-019-00116-w.
- Mastouri F., Hassandokht M. R., Padasht-Dehkaei, M.N. 2005. The Effect of Application of Agricultural Waste Compost on Growing Media and Greenhouse Lettuce Yield. *Acta Horticulturae*, 697, 153-158.
- Mayans, B., Perez-Esteban, J., Escolastico, C., Eymar, E., Masaguer, A. 2019. Evaluation of Commercial Humic Substances and Other Organic Amendments for the Immobilization of Copper Through ¹³C CPMAS NMR, FT-IR, and DSC Analyses *Agronomy* Basel, 9, 11, 762. DOI:10.3390/agronomy 9110762.
- Mazueloa, P. Mazuela, P., Salas, M.C., Urreztarazu, M. 2005. Vegetable waste composts as substrate for melon. *Commun. Soil Science and Plant Analysis*, 36, 1557-1572.
- Mendoza-Hernández, D., Fornes, F., Belda, R.M. 2014. Compost and vermicompost of horticultural waste as substrates for cutting rooting and growth of Rosemary. *Scientia Horticulturae*, 178, 23,192-202.
- Meneses-Jacome, A., Diaz-Chavez, R., Velasquez-Arredondo, H. I. 2016. Sustainable Energy from agro-industrial wastewaters in Latin-America. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 56, 1249-1262.
- Meissl, K., Smidt, E., Schwanninger, M. 2007. Prediction of humic acid content and respiration activity of biogenic waste by means of Fourier transform infrared (FTIR) spectra and partial least squares regression (PLS-R) models. *Talanta*, 72, 2, 791-799.
- Michelini, L., Reichel, R., Werner, W., Ghisi, R., Thiele-Bruhn, S. 2012. Sulfadiazine Uptake and Effects on *Salix fragilis* L. and *Zea mays* L. *Plants. Water, Air & Soil Pollution*, 223, 5243–5257.
- Misra, P., Maji, D., Awasthi, A., Pandey, S.S., Yadav, A., Pandey, A., Saikia, D., Babu, C.S.V., Kalra, A. 2019. Vulnerability of Soil Microbiome to Monocropping of Medicinal and Aromatic Plants and Its Restoration Through Intercropping and Organic Amendments. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2604. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02604.
- Mitchell, S.M., Ullman, J.L., Bary, A., Cogger, C.G., Teel, A.L., Watts, R.J. 2015. Antibiotic degradation during thermophilic composting water *Air Soil Pollut.*, 226, 1-12.
- Mockel, L., Vogel, H., Felder, M., Groth, M., Grutzmann, K., Kaltenpoth, M., Mogavero, S., Muller, S., Scherlach, K., Shelest, E. 2015. Genome analysis of the human pathogenic fungus *Conidiobolus coronatus* (*Entomophthoromycota*, *Zygomycota*). *Mycoses*, 58, 3, 53-53.
- MMA (Ministerio del Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 2009. Perfil ambiental de España. Informe básico de indicadores. URL: <http://www.mma.es/portal/secciones/calidad-contaminacion/indicadores-ambientales/perfil-ambiental-2006/> (1/1/2013).
- Momeni, S., Alimohammadi, M., Naddafi, K., Nabizadeh, R., Changani, F., Zarei, A., Rahmatinia, M. 2019. Study of sludge from the largest wastewater treatment plant in the Middle East (Southern Tehran, Iran) based on chemical and microbiological parameters for use in agriculture. *Desalination and water Treatment*, 160, 153-160.
- Montesano, F.F., Parente, A., Grassi, F., Santamaria, P. 2014. *Posidonia* based compost as a growing médium for the soilless cultivation of tomato. *Acta Horti*, 1034, 277-281.
- Monteiro, S.C., Boxall, A.B.A. 2009. Factors affecting the degradation of pharmaceuticals in agricultural soils. *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 2546-2554. Moreira
- Moreno, J., Moral, R. 2008. *Compostaje*. Edit: Mundi-Prensa. Madrid.

- Moreno, J., Mormeneo, S. 2008. Microbiología y bioquímica del proceso de compostaje. 111-140.
- Mori, T., Misuza, S., Suenaga, H., Miyazaki, K. 2008. Metagenomic screening for bleomycin resistance genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 6803-6805.
- Mosquera-Losada, M.R., Muñoz-Ferreiro, N., Rigueiro-Rodríguez, A. 2010. Agronomic characterization of different types of sewage sludge: policy implications. *Waste Management*, 30, 492-503.
- Motoyama, M., Nakagawa, S., Tanoue, R., Sato, Y., Nomiya, K., Shinohara, R. 2011. Residues of pharmaceutical products in recycled organic manure produced from sewage sludge and solid waste from livestock and relationship to their fermentation level. *Chemosphere*, 84, 432-438.
- Moya, B., Parker, A., Sakrabani, R. 2019. Challenges to the use of fertilisers derived from human excreta: The case of vegetable exports from Kenya to Europe and influence of certification systems. *Food Policy*, 85, 72-78.
- Mucciarelli, M., Camusso, W., Berteà, C.M., Maffei, M. 2001. Effect of (+)- pulegone and other oil components of *Mentha piperita* on cucumber respiration. *Phytochemistry*, 58, 5, 703-707.
- Murray, A., Skene, K., Haynes, K. 2017. The circular economy: An interdisciplinary exploration of the concept and application in a global context. *J. Bus. Ethics*, 140, 369-380.
- Mylotte, R., Sutrisno, A., Farooq, H., Masoom, H., Soong, R., Hayes, M.H.B. 2016. Insights into the composition of recalcitrant organic matter from estuarine sediments using NMR spectroscopy. *Organic Geochemistry*, 98: 155-165.
- Nakamura, S., Hongo, M., Sugimoto, S., Matsuda, H., Yoshikawa, M. 2008. Steroidal saponins and pseudoalkaloid oligoglycoside from Brazilian natural medicine, "fruta do lobo" (fruit of *Solanum lycocarpum*). *Phytochemistry*, 69, 1565-1572.
- Nakamura, E., Tanaka, E., Tanaka, C., Takeuchi-Kaneko, Y. 2017. Localization of helotialean fungi on ectomycorrhizae of *Castanopsis cuspidata* visualized by in situ hybridization, *Mycorrhiza*, 8, 17-2.
- Nakanishi, K., Solomon, P.H. 1998. *Infrared Absorption Spectroscopy*. 2nd Ed. Holden-Day Inc.
- Nakasaki, K., Hirai, H. 2017. Temperature control strategy to enhance the activity of yeast inoculated into *compost* raw material for accelerated *composting*. *Waste Management*, 65, 29-36.
- Nannipieri, P., Ceccanti, B., Cervelli, S., Matarese, E. 1980. Extraction of phosphatase, urease, protease, organic carbon and nitrogen from soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44, 1011-1016.
- Nannipieri, P., Ceccanti, B., Grego, S. 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. In: J.-M. Bollag and G. Stotzky, Editors, *Soil Biochemistry*. Dekker, New York. 6, 293-355.
- Nannipieri, P. 1994. The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R., Grace, P. R. (Eds.). *Soil biota. Management in sustainable farming systems*. CSIRO. Australia. 238-244.
- Narumiya, M., Nakada, N., Yamashita, N., Tanaka, H. 2013. Phase distribution and removal of pharmaceuticals and personal care products during anaerobic sludge digestion. *Journal of Hazardous Materials*, 260, 305-312.
- Nayak, A.K., Kalamdhad, A.S. 2014. Feasibility of Composting Combinations of Sewage Sludge, Cattle Manure, and Sawdust in a Rotary Drum Reactor. *Environmental Engineering Research*, 19, 1-11.

- Nawaz, T., Iqbal, M., Zulfiqar, S., Sarwar, M. 2019. Trimellitic acid functionalized magnetite nanoparticles for the efficient removal of Pb (II) and Cr(VI) from wastewater streams. *Korean J. Chem. Eng.* 36, 860–868. <https://doi.org/10.1007/s11814-019-0265-3>
- Negro, M.J., Villa, F., Ainar, J., Alarcon, R., Ciria, P. 2000. Producción y gestión del compost. Informaciones técnicas del departamento de agricultura de la dirección general de tecnología agraria. Gobierno de Aragón. Nº 88.
- Nei, L., Haiba, E., Kutti, S., Kipper, K., Herodes, K., Lillenberg, M. 2014. Sewage sludge compost, microbial activity and pharmaceuticals. *Global Journal on Advances in Pure & Applied Sciences*, 3, 30–37.
- Nei, L., Haiba, E., Kutti, S., Lillenberg, M., Ivask, M., Peda, J., Kuu, A. 2015. Pharmaceuticals and the quality of sewage sludge compost. *Abstracts Book: 2015 International Composting Conference*. Beijing, China, 14.
- Nei, L., Haiba, E. 2019. Sewage sludge, pharmaceuticals and composting. *Journal of Biothecnology*, 305, S33-S33, S. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2019.05.120.
- Niemeyer, J., Chen, J., Bollag, J. M. 1992. Characterization of humic acids, compost and peat by diffuse reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal.*, 56, 135-140.
- Nikaeen, M., Nafez, A. H., Bina, B., Nabavi, B. F., Hassanzadeh, A. 2015. Respiration and enzymatic activities as indicators of stabilization of sewage sludge composting. *Waste Manag.* 39, 104-110.
- Noble, R., Coventry, E. 2005. Suppression of soil-borne plant diseases with composts: A review. *Biocontrol Science and Technology*, 15,3-20.
- Nogales, R., Cifuentes, C., Benitez, E. 2005. Vermicomposting of winery wastes: a laboratory study. *Journal Environment Sci. Health*, 40, 659-673.
- Nogales, V. M. R. 2005. Gestión de residuos de la industria agroalimentaria. En *Tecnologías aplicables a la reutilización de los residuos orgánicos, agrícolas o alimentarios*. Navarro, G. M y Bustillos, N. J. M. (coordinadores). Cursos de verano 2005. Universidad de Burgos, 101 –114.
- Nogales, R., Dominguez, J., Mato, S. 2008. Vermicompostaje. En: Moreno, J. y Moral, R. (Eds). *Compostaje*. 187-207. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Nunoura, T., Nishizawa, M., Hirai, M., Shimamura, S., Harnvoravongchai, P., Koide, O., Morono, Y., Fukui, T., Inagaki, F., Miyazaki, J., Takaki, Y., Takai, K. 2018. Microbial Diversity in Sediments from the Bottom of the Challenger Deep, the Mariana Trench, *Microbes and Environments*, 10.1264/jsme2.ME17194, 33, 2, 186-194.
- Odude, V.O., Adesina, A.J., Oyetunde, O.O., Adeyemi, O.O., Ishola, N.B., Etim, A.O., Betiku, E. 2019. Application of Agricultural Waste-Based Catalysts to Transesterification of Esterified Palm Kernel Oil into Biodiesel: A Case of Banana Fruit Peel Versus Cocoa Pod Husk. *Waste and biomass valorization*. 10, 4, 877-888.
- Oliveira, S.C., Ferreira, A.G., Borghetti, F. 2004. Effect of *Solanum lycocarpum* fruit extract on sesame seed germination and seedling growth. *Allelopathy Journal*, 13, 2, 201-210.
- Ollivier, J., Schacht, D., Kindler, R., Groeneweg, J., Engel, M, Wilke, BM., Kleineidam, K., Schloter, M. 2014. Effects of repeated application of sulfadiazine-contaminated pig manure on the abundance and diversity of ammonia and nitrite oxidizers in the root-rhizosphere complex of pasture plants under field conditions. *Frontiers in Microbiology*, 4, 22. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00022.

- Orlikowski, L.B. 1999. Vermicompost extract in the control of some soil borne pathogens. Proceedings of the 51st International Symposium on Crop Protection. Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, 64, 405-410.
- Ortega, A.M., López, M. 1990. Identificación de *Xanthomonas campestris pv. campestris* (Pammel). Proceedings of the V Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología, 199-204.
- Ortiz-Alvarez, R., Casamayor, E. 2016. High occurrence of Pacearchaeota and Woesearchaeota (Archaea superphylum DPANN) in the surface waters of oligotrophic high-altitude lakes. Environ Microbiol, 8, 2, 210-7. doi: 10.1111/1758-2229.12370.
- Osorio, V., Larrañaga, A., Aceña, J., Pérez, S., Barceló, D. 2016. Concentration and risk of pharmaceuticals in freshwater systems are related to the population density and the livestock units in Iberian Rivers. Sci. Total Environ., 540, 267-277.
- Oviedo, E., Marmolejo, L.F., Torres, P. 2014. Influencia de la frecuencia de volteo para el control de la humedad de los sustratos en el compostaje de biorresiduos de origen municipal Rev. Int. Contam. Ambiental, 30, 1, 91-100.
- Oviedo-Ocaña, E. R., Torres-Lozada, P., Marmolejo-Rebellon, L.F., Hoyos, L.V., Gonzales, S., Barrena, R., Komilis, D., Sanchez, A. 2015. Stability and maturity of biowaste composts derived by small municipalities: correlation among physical, chemical and biological indices. Waste Manag., 44, 63-71.
- Oyarzabal, A., Backert, S., Nagaraj, M., Miller, R., Hussain, S., Oyazarbal, E. 2007. Efficacy of supplemented buffered peptone water for the isolation of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* from broiler retail products. Journal of Microbiological Methods, 69, 1, 129-36.
- Pace, N.R., Stahl, D.A., Lane, D.J., Olsen, G.J. 1986. The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences. Advances in Microbial Ecology, 9, 1-55.
- Panesar, P.S., Kaur, R., Singla, G., Sangwan, R.S. 2016. Bio-processing of Agro-industrial Wastes for Production of Food-grade Enzymes: Progress and Prospects. 3, 4, 208-227.
- Paredes, C., Roig, A., Bernal, M.P., Sánchez-Monedero, M.A., Cegarra, J. 2000. Evolution of organic matter and nitrogen during co-composting of olive mill wastewater with solid organic wastes. Boil. Fertil. Soils, 32, 222-227.
- Paredes, C., Bernal, M.P., Cegarra, J., Roig, A. 2002. Bio-degradation of olive mill wastewater sludge by its co-composting with agricultural wastes. Bioresource Technology, 85, 1-8.
- Paredes, C., Cegarra, J., Bernal, M. P., Roig, A. 2005. Influence of olive mill wastewater in composting and impact of the compost on a Swiss chard crop and soil properties. Environmental Internacional. 32, 305-312.
- Parolini, M., Binelli, A., Provini, A. 2011. Chronic effects induced by ibuprofen on the freshwater bivalve *Dreissena polymorpha*. Ecotoxicol Environ Saf., 74,15 86–94.
- Pascual, J.A., Morales, A.B., Ayuso, L.M., Segura, P., Ros, M. 2018. Characterisation of sludge produced by the agri-food industry and recycling options for its agricultural uses in a typical Mediterranean area, the Segura River basin (Spain). Waste Management, 82, 118-128. DOI: 10.1016/j.wasman.2018.10.020
- Pasqualoto, L., de Araujo, G., Marcos, V., Alpande, A. 1999. Aplicación de la espectroscopía RMN la espectroscopía RMN de ¹³C en la caracterización de la materia orgánica del suelo. Revistas UNAM. Educación en química, 10, 2, 114-119.
- Pergola, M., Persiani, A., Palese, A.M., Di Meo, V., Celano, G. 2017. Composting: The way for a sustainable agriculture. Applied Soil Ecology, In Press. On line.

- Peltzer, P.M., Lajmanovich, R.C., Martinuzzi, C., Attademo, A.M., Curi, L.M., Sandoval, M.T. 2019. Biototoxicity of diclofenac on two larval amphibians: Assessment of development, growth, cardiac function and rhythm, behavior and antioxidant system. *Science of the total Environment*, 683, 624-637. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.05.275.
- Pérez-Gimeno, A., Navarro-Pedreno, J., Almendro-Candel, B., Gomez, I., Zorpas, A.A. 2019. The use of wastes (organic and inorganic) in land restoration in relation to their characteristics and cost. *Waste Management & Research*, 37, 5, 502-507. DOI: 10.1177/0734242X19828171
- Plan Estatal Marco de Gestión de Residuos (PEMAR) 2016-2022. 2015. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Disponible on line en: http://www.mapama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/planes_y_estrategias/pemaraprobado6noviembrecondae_tcm7-401704.pdf.
- Plaza, C., Senesi, N., Brunetti, G., Mondelli, D. 2007. Evolution of the fúlvic acid fractions during co-composting of olive oil mill wastewater sludge and tree cuttings. *Bioresource Technology*, 98, 1964 – 1971.
- Platen, H., Witz, A. 1999. Application of analysis no 1: Measurement of the respiration activity of soils using the OxiTop® Control measuring system. Basic principles and process characteristic quantities. Wissenschaftlich- Technische Werkstätten GmbH & Co. Germany.
- Pérez-Brocal, V., Gil, R., Ramos, S., Lamelas, A., Postigo, M., Michelena, J.M., Silva, F.S., Moya, A., Latorre, A. 2006. A small microbial genome: the end of a long symbiotic relationship? *Science*. 314, 312-313.
- Pérez-Losada, M., Eiroa, J., Mato, S., Domínguez, J. 2005. Phylogenetic Species delimitation of the earthworms *Eisenia foetida*. *Pedobiologia*, 49, 317-324.
- Pergola, M., Persiani, A., Palese, A.M., Di Meo, V., Celano, G. 2017. Composting: The way for a sustainable agriculture. *Applied Soil Ecology*, In Press. On line.
- Pino, M. R., Val, J., Mainar, A.M., Zuriaga, E., Español, C., Langa, E., 2015. Acute toxicological effects on the earthworm *Eisenia fetida* of 18 common pharmaceuticals in artificial soil. *Sci. Total Environ.*, 518-519, 225-237.
- Poinar, H.N., Schwarz, C., Ji Qi, B., Shapiro, R.D.E., MacPhee, B., Buigues, A., Tikhonov, D.H., Huson, L.P., Tomsho, A., Auch, M., Rampp, W., Miller, S.C., Schuster, C. 2006. Metagenomics to paleogenomics: large-scale sequencing of mammoth DNA. *Science*, 311, 392-394.
- Poincelot, R.P. 1974. A scientific examination of the principles and practice of composting. *Compost Sci.*, 15, 24–31.
- Poffenbarger, H.J., Barker, D.W., Helmers, M.J., Miguez, F.E., Olk, D.C., Sawyer, J. E., Six, J., Castellano, M.J. 2017. Maximum soil organic carbon storage in Midwest U.S. cropping systems when crops are optimally nitrogen-fertilized. *Plos one*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172293>.
- Porta, J., López-Acevedo, Rodríguez, R. 1989. Técnicas y experimentos en edafología. Lleida. Universitat Politècnica de Catalunya. Escola Tècnica Superior d' Enginyers Agrònoms. 289 p.
- Porta, J., López-Acevedo, Rodríguez, R. 2003. Edafología para la Agricultura y el medio ambiente. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa, 929 p.
- Qian, X., Zhang, R. 2016. Reducing antibiotic resistance genes, integrons, and pathogens in dairy manure by continuous thermophilic composting, *Bioresource Technology*, 220, 425-432.
- Qian, X., Sun, W., Gu, J., Wang, X., Sun, J.J., Yin, Y.N., Duan, M., L. 2016. Variable effects of oxytetracycline on antibiotic resistance gene abundance and the bacterial community during aerobic composting of cow manure. *Journal of Hazardous Materials*, 315, 5, 61-69.

Qin, Y., Pan, X., Kubicek, C., Druzhinina, I., Chenthamara, K., Labbé, J., Yuan, J., Diverse. 2017. Plant-Associated Pleosporalean Fungi from Saline Areas: Ecological Tolerance and Nitrogen-Status Dependent Effects on Plant Growth, *Frontiers in Microbiology*, 8.

Qiuguo Fu, T., Malchi, L., Carter, J., Hui, L., Jay, G., Benny, C. 2019. Pharmaceutical and Personal Care Products: From Wastewater Treatment into Agro-Food Systems. *Environ. Sci. Technol.*, 53, 14083 – 14090.

Raghavendra, A K.H., Bissett, AB., Thrall, PH., Morin, LS., Tracey V., Galea, VJ., Goulter, KC., van Klinken, RD. 2017. Characterisation of above-ground endophytic and soil fungal communities associated with dieback-affected and healthy plants in five exotic invasive species, *Fungal Ecology*, 26, 114.

Ragugnetti M., Adams M., Guimarães A.B., Sponchiado G., Vasconcelos E., Oliveira C. 2011. Ibuprofen genotoxicity in aquatic environment: an experimental model using *Oreochromis niloticus*. *Water Air Soil Pollut.*, 218, 361–4.

Raj, D., Antil, R.S. 2011. Evaluation of maturity and stability parameters of composts prepared from agro-industrial wastes. *Bioresource Technology*, 102, 3, 2868-2873. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.10.077.

Ramaswamy, J., Barrington, SF. 2010. The effect of composting on the degradation of a veterinary pharmaceutical. *Bioresource Technology*, 101, 7, 2294-2299.

Ramaswamy, J., Prasher, S., Patel, R., Hussain, S., Barrington, F. 2010. The effect of composting on the degradation of a veterinary pharmaceutical. *Bioresource technology*, 101, 2294-2299.

Rangaraj, T., Somasundaram, E., Amanullah, M. M. 2007. Effect of agro-industrial wastes on soil properties and yield of irrigated finger millet (*Eleusine coracana* L. Gaertn) in coastal soil. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3, 3, 153-156.

Rashad, F.M., Saleh, W.D., Moselhy, M.A. 2010. Bioconversion of rice straw and certain agro-industrial wastes to amendments for organic farming systems: 1. Composting, quality, stability and maturity indices. *Bioresource Thechnology*, 101, 5952-5960.

Rasooli, I., Rezaei, M.B., Allameh, A. 2006. Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. *International journal of infectious diseases*, 10, 3, 236-241.

Reichel, R., Rosendahl, I., Peeters, E.T.H.M., Focks, A., Groeneweg, J., Bierl, R., Schlichting, A., Amelung, W., Thiele-Bruhn, S. 2013. Effects of slurry from sulfadiazine (SDZ) and difloxacin (DIF) medicated pigs on the structural diversity of microorganisms in bulk and rhizosphere soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 62, 82–91.

Rekasi, M., Mazsu, N., Draskovits, E., Bernhardt, B., Szabo, A., Rivier, P.A., Farkas, C., Borsanyi, B., Pirko, B., Molnar, S. 2019. Comparing the agrochemical properties of compost and vermicomposts produced from municipal sewage sludge digestate. *Bioresource Technology*, 291, 121861, DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121861.

Reuveni, R., Raviv, M., Krasnovsky, A., Freiman, L., Medina, S., Bar, A., Orion, D. 2002. Compost induces protection against *Fusarium oxysporum* in sweet basil. *Crop Protection*, 21, 7, 583-587. PII S0261-2194(01)00149-1. DOI: 10.1016/S0261-2194(01)00149-1.

Ribeiro, J., Sonay, S., Garrigues, S., Guardia, M. 2001. FITRT entative characterization of humic acids extracted from organic materials. *Spectroscopy Letters*. 34, 179-190.

Richard, D, Zimmerman, R. 1995. Respiration rate–reheating potential: a comparison of measures of compost stability. *Compost Science & Utilization*, 3, 2, 74-79.

- Richard, T. L., Hamelers, H.V.M., Veeken, A., Silva, T. 2013. Moisture Relationships in Composting Processes. *Compost Science & Utilization*, 10, Iss. 4, 286-302.
- Richardson, M.L., Bowron, J.M. 1985. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment a review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 37, 1–12.
- Richter, J.L., Koppejan, R. 2016. Extended producer responsibility for lamps in Nordic countries: best practices and challenges in closing material loops. *J. Clean. Prod.* 123, 167–179.
- Riesenfeld, C.S., Schloss, P.D., Handelsman J. 2004. Metagenomics: Genomic Analysis of Microbial Communities. *Annual Review of Genetics*, 38, 525-552.
- Rigueiro-Rodríguez, A., Amador-García, N., Ferreiro-Domínguez, C., Muñoz-Ferreiro, N., Santiago-Freijanes, J.J., Mosquera-Losada, M.R. 2018. Proposing policy changes for sewage sludge applications based on zinc within a circular economy perspective *Land Use Policy* 76, 839–846.
- Rivera-Utrilla, J., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M.A., Prados-Joya, G., Ocampo-Pérez, R. 2013. Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere*, 93, 1268–1287.
- Rjendran, K., Ranganathan, K. 1996. Biological control of onion basal rot (*Fusarium oxysporum f.sp. cepae*) by combined application of fungal and bacterial antagonists. *Journal of Biological Control*, 10, 1-2, 97-102.
- Roca-Pérez, L., Arévalo, J., Boluda, R. 2005. The influence of C/N ratio, moisture and pH on the aerobic microbial activity of rice straw and sewage sludge blends 2, 247-249.
- Roca-Pérez, L., Martínez, C., Marcilla, P., Boluda, R. 2009. Composting rice straw with sewage sludge and compost effects on the soil–plant system, *Chemosphere*, 75, 781 – 787.
- Roca-Pérez, L., Soriano, MD., Boluda, R. 2018. Aplicación de un compost de residuos hortícolas. Efectos sobre las características de un xerofluvent y el cultivo de lechuga. *Actas de la Reunión del Grupo de Compostaje*.
- Rodríguez, E. 2001. Compostaje, tecnología, perspectivas y tendencias. I Encuentro Internacional. *Gestión de Residuos Orgánicos en el ámbito rural mediterráneo*. Pamplona.
- Rodríguez-Roda, I. 2012. Removal of ibuprofen and its transformation products: Experimental and simulation studies. *Science of the Total Environment*, 433, 296–301.
- Rodríguez-Rodríguez, C.E., Barón, E., Gago-Ferrero, P., Jelic, A., Llorca, M., Farré, M., Díaz-Cruz, M.S., Eljarrat, E., Petrovic, M., Caminal, G., Barceló, D., Vicent, T. 2012. Removal of pharmaceuticals, polybrominated flame retardants and UV-filters from sludge by the fungus *Trametes versicolor* in bioslurry reactor. *Journal of Hazardous Materials*, 233–234.
- Rodríguez, J., Velandia, J., Viteri, S. 2010. Evaluación de Microorganismos aislados de gallinaza por su potencial para el biocontrol de *Fusarium (F. oxysporum)* en plántulas de Uchuva (*Physalis peruviana*). *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*, 63, 2, 5499-5509.
- Romero-Figueroa, J.C., Sánchez-Escudero, J., Rodríguez-Mendoza, M. N., Gutiérrez-Castorena, MC. 2015. Producción de vermicompost a base de rastrojo de maíz (*Zea mays* L.) y estiércol de bovino lechero. *APAgro*, 52-59.
- Romero-Figueroa, C., Rodríguez, J., Mendoza, M., Gutiérrez-Castorena, M. C., Sánchez-Escudero, P. 2013. Vermicompost as a substrate in the production of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Agricultural Science*, 4, 889-899.
- Roig, A., Lax, A., Cegarra, J., Costa, F., Hernández, M.T. 1998. Cation exchange capacity as a parameter for measuring the humification degree of manures. *Soil Science*, 146, 311-316.

- Rojas, A., Orellano, R., Sotomayor, E., Varnero, M.T. 2005. Fitotoxicidad de extractos de residuos orgánicos y su efecto sobre el índice de germinación de rabanito y pepino. *Rev. Cienc. Suelo Nutr. Veg.*, 5, 61-66.
- Ros, M. S., Klammer, B., Knapp, K., Aichberger, M. Insam, H. 2006. Long-term effects of compost amendment of soil on functional and structural diversity and microbial activity. *Soil Use Management*, 22, 209-218.
- Rosenfeld, A. y Kak, A.C. 1982. *Digital Picture Processing Vol. I*. Academic Press. New York.
- Ruiz-Uriguen, M., Shuai, W., Jaffe, P. 2018. Electrode Colonization by the Feammox Bacterium Acidimicrobiaceae sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 84, 24.
- Rynk, R., Van De Kamp, M., Willson, G.B., Singley, M.E., Richard, T.L., Kolega, J.J., Gouin, F.R., Laliberty, L., Kay, D., Murphy, D.W., Hoitink, H.A.J., Brinton, W.F. 1992. *On-Farm composting handbook*. (ed). R. Rynk. 6:13, 106-113. Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Ithaca, N.Y.
- Rynk, R. 2000. Contained composting systems. Part I. *BioCycle* 41, 30-36.
- Rynk, R. 2003. The art in the science of compost maturity. *Compost Science & Utilization* 11, 2, 94-95.
- Saavedra, M. 2007. Biodegradación del alperujo utilizando hongos del género *Pleurotus* y anélidos de la especie *Eisenia foetida*. Tesis Doctoral. Granada.
- Saba, S., Zara, G., Bianco, A., Garau, M., Bononi, M., Deroma, M., Pais, A., Budroni, M. 2019. Comparative analysis of vermicompost quality produced from brewers' spent grain and cow manure by the red earthworm *Eisenia fétida*. *Bioresource Thechnology*, 293, 122019. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122019.
- Sahni S., Sarma B.K., Singh D.P., Singh H.B., Singh K.P. 2007. Vermicompost enhances performance of plant growth-promoting rhizobacteria in *Cicer arietinum* rhizosphere against *Sclerotium rolfsii*. *Crop Protection*, 27, 369-376.
- Said-Pullicino, D., Erriquens, F.G., Gigliotti, G. 2007. Changes in the chemical characteristics of water-extractable organic matter during composting and their influence on compost stability and maturity. *Bioresource Technology*, 98, 9, 1822-1831.
- Sainz, H, Benítez, E, Melgar R, Álvarez, R, Gómez, M, Nogales, R. 2000. Biotransformación y valorización agrícola de subproductos del olivar, orujos secos y extractados mediante vermicompostaje. *Edafología*, 7, 2, 103111.
- Sakariyau, A.M., Obuotor, A.O., Kolawole, A., Sakariyau, O. 2017. Evaluation of the Phytotoxicity of Compost Produced From Market Waste and Cow Dung. Available from: *Advances in Biological Research*, 11, 2, 89-95.
- Sallen, B., Rajoharison, A., Desvarenne, S., Quinn, F., Mabilat, C. 1996. Comparative analysis of 16S and 23S rRNA sequences of *Listeria* species. *International Journal of systematic bacteriology*, 46, 3, 669-674.
- Sanchez-Monedero, M.A., Bernal, M.P., Noguera, P. 1997. Utilizacion de composts como sustratos para semilleros de plantas hortícolas en cepellón. *Butlletí Oficial del Parlament de les Illes Balears*, 458-468.
- Sanchez-Monedero, M.A., Roig, A., Paredes, C. 2001. Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, EC and maturity of the composting mixtures. *Bioresource Technology*, 78, 3, 301-308.

- Sanchís, J.E. 2015. Efecto de la relación C/N del material de partida sobre el proceso de compostaje y la evolución de la materia orgánica: caso de la paja de arroz y los fangos de depuradora. Trabajo Final de Master. Universidad de Valencia.
- Santamarina, M.P., Gimenez, S., Roselló, J. 2012. Estudio de la actividad antifúngica del aceite esencial de Canela (*Cinnamomun zeylanicum Blume*) frente a *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Saccardo. *Phytoma España*, 243, 82-84.
- Saña, J., Moré, J.C. 1987. La gestión de la fertilidad de los suelos. Mapa. Madrid. 123 p.
- Saña, J., Soliva, M., Cucurull, D., Lumbreras, F. 1987. El compostatge: procés, sistemes i aplicacions". *Quaderns d'ecologia aplicada*, núm. 11. Diputació de Barcelona, Servei del Medi Ambient, Barcelona.
- Sarker, T.C., Incerti, G., Spaccini, R., Piccolo, A., Mazzoleni, S., Bonanomi, G. 2018. Linking organic matter chemistry with soil aggregate stability: Insight from C¹³ NMR spectroscopy. *Soil Biology & Biochemistry*, 117, 175-184. DOI: 10.1016/j.soilbio.2017.11.011.
- Satchell, J.E., Martin, K. 1984. Phosphatase activity in earthworm faeces. *Soil Biol. Biochem.*, 16, 191-4.
- Sathiparan, N., De Zoysa, H.T.S.M. 2018. The effects of using agricultural waste as partial substitute for sand in cement blocks. *Journal of Building Engeniering*, 19, 2016-227. doi.org/10.1016/j.job.2018.04.023.
- Schubert, R.N., Morselli, T.B.G.A., Tonietto, S.M., Henriquez, J.M.O., Trecha, R.D., Eid, R.P., Rodriguez, D.P., Piesanti, S.R., Maciel, M.R.S., Lima, A.P.F. 2019. Edaphic macrofauna in degradation of animal and vegetable residues. *Brazilian Journal of Biology*, 79, 4, 589-593. DOI: 10.1590/1519-6984.184765.
- Scoma, A., Rebecchi, S., Bertin, L., Fava, F. 2016. High impact biowastes from South European agro-industries as feedstock for second-generation biorefineries. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36, 1, 175-189. DOI: 10.3109/07388551.2014.947238.
- Schlusener, M.P., Hardenbicker, P., Nilson, E., Schulz, M., Viergutz, C., Ternes, T.A., 2015. Occurrence of venlafaxine, other antidepressants and selected metabolites in the Rhine catchment in the face of climate change. *Environ. Pollut.*, 196, 247-256.
- Seiler, R.L., Zaugg, S.D., Thomas, J.M., Howcroft, D.L. 1999. Caffeine and pharmaceuticals as indicators of waste water contamination in Wells. *Ground Water*, 37, 3, 405-410. DOI: 10.1111/j.1745-6584.1999.tb01118.x.
- Seremesic, S., Ćirić, V., Milošev, D., Vasin, J., Djalovic, I. 2017. Changes in soil carbon stock under the wheat-based cropping systems at Vojvodina province of Serbia, *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63, 3, 388.
- Sevik, F., Tosun, I., Ekinci, K., 2016. Composting of olive processing wastes and tomato stalks together with sewage sludge or dairy manure. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, 13, 1207-1218.
- Shama, K., Garg, V.K. 2018. Comparative analysis of vermicompost quality produced from rice straw and paper waste employing earthworm *Eisenia fetida* (Sav.) *Bioresource Technology*, 250, 708-715.
- Shao, Y.Q., Yang, K., Jia, R.C., Tian, C., Zhu, Y. 2018. Degradation of Triclosan and Carbamazepine in two agricultural and garden soils with different Textures Amended with composted sewage sludge. *International Journal of Environmental Research and public health*, 15, 11, 2557. DOI: 10.3390/ijerph15112557.

- Shober, A.L., Wiese, C., Denny, G.C., Stanley, C.D., Harbaugh, B.K. 2011. Plant performance and nutrient losses during containerized landscape shrub production using composted dairy manure solids as a peat substitute in substrate. *Horttechnology*, 21, 2, 240-245.
- Singh, G., Sumitra, M., Delampasona, M.P., Catalan, A., Cesar, A.N. 2007. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 1650-1666.
- Singh, D., Suthar, S. 2012. Vermicomposting of herbal pharmaceutical industry waste: Earthworm growth, plant-available nutrient and microbial quality of end materials. *Bioresource Technology*, 112, 179-185.
- Smidt, E., Lechner, P., Schwanninger, M., Haberauter, G., Gerzabak, M.H. 2003. Characterization of waste organic matter by FTIR spectroscopy. Application in waste science. *Appl. Spectroscopy*, 8, 1170-1175.
- Smidt, E., Meissl, K. 2007. The applicability of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy in waste management. *Waste Management*, 27, 2, 268-276.
- Smith, S. R. 2009. Organic contaminants in sewage sludge (biosolids) and their significance for agricultural recycling. *Philosophical Transactions of the Royal Society A-Mathematical Physical and Engineering Sciences*, 367, 1904, 4005-4041.
- Soliva, M. 2001. Compostatge y gestió de residus orgànics. *Estudis i Monografies 21*. Diputació de Barcelona, Àrea de MediAmbient, Barcelona.
- Soobhany, N., Mohee, R., Kumar, V. G. 2017. Inactivation of bacterial pathogenic load in *compost* against vermicompost of organic solid waste aiming to achieve sanitation goals: A review *Waste Management*, 64, 51-62.
- Soobhany, N., Gunasee, S., Rago, Y.P., Joyram, H., Raghoo, P., Mohee, R., Garg, V.K. 2017. Spectroscopic, thermogravimetric and structural characterization analyses for comparing Municipal Solid Waste composts and vermicomposts stability and maturity. *Bioresource Technology*, 236, 11-19. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.03.161.
- Soobhany, N. 2019. Insight into the recovery of nutrients from organic solid waste through biochemical conversion processes for fertilizer production: A review. *Journal of Cleaner. Journal of Cleaner Production*, 241, 118413, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118413>.
- Soto, J., Torres, P., Barba, L.E., Fernando Marmolejo, L., Torres, W.A., Guzmán, M.A., Perea, L. M. 2017. Efecto del oxígeno disuelto sobre la biodegradabilidad de biorresiduos, *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 18,2. En: <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/179> (5 febrero 2019).
- Spain, A.M., Krumholz, L.R., Elshahed, M.S. 2009. Abundance, composition, diversity and novelty of soil *Proteobacteria*. *Isme j.*, 3, 992–1000.
- Spadaro, D., Gullino, M.L. 2005. Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens, en *Crop Protection*, 24, 601-613.
- Speir, T.W., Ross, D.J., 2002. Hydrolytic Enzyme Activities to Assess Soil Degradation and Recovery. En: Burns, R.G., Dick, R.P. (Eds.), *Enzymes in the Environment. Activity, Ecology, and Applications*. Marcel Dekker, New York, 407-431 pp.
- SPSS. 2016. para Windows Versión 16. UPV.
- Steinberg, C. 2006. Soil suppressiveness to plant diseases. En: J.D. van Elsas et al., (eds.) *Modern Soil Microbiology II*. 455-478.

- Stevenson, F.J. 1994. Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions. Wiley-Interscience, New York. 236 p.
- Storey, S., Chualain, DN., Doyle, O., Clipson, N., Doyle, E. 2015. Comparison of bacterial succession in green waste composts amended with inorganic fertiliser and wastewater treatment plant sludge *Bioresource Technology*, 179, 71-77.
- Stryer. L. 2013. Bioquímica. Ed. Reverte, 7ª ed. Reverte. 706 pp.
- Suárez-Estrella, F., Vargas-García, C., López, M.J., Capel, C., Moreno, J. 2007. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum f.sp.melonis*. *Crop Protection*, 26, 46-53.
- Suárez-Estrella, F., Ros, M., Vargas García, M., López, M., Moreno, J. 2014. Control of *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* using agroindustrial waste-based compost. *J. Plant Pathol.*, 96, 243-248.
- Subramaniam, V., Choo, Y.M., Muhammad, H., Hashim, Z., Tan, Y.A., Puah, C.W. 2010. Life cycle assessment of the production of crude palm oil (part 3). *J. Oil Palm Res.* 22, 895-903.
- Sumalan, R.M., Alexa, E., Poiana, M.A. 2013. Assessment of inhibitory potential of essential oils on natural mycoflora and *Fusarium* mycotoxins production in wheat. *Chemistry Central Journal*, 7, 32, 1-12.
- Sun, J., Zeng, Q., Tsang, D.C.W., Zhu, L.C., Li, C. 2017. Antibiotics in the agricultural soils from the Yangtze River Delta, China. *Chemosphere*, 189, 301-308.
- Swagemakers, P., Dominguez-Garcia, M.D., Onafa-Torres, A., Oostindie, H., Groot, J.C.J. 2017. A values-based approach to exploring synergies between livestock farming and landscape conservation in Galicia (Spain). *Sustainability*, 11. <https://doi.org/10.3390/su9111987.9>.
- Szczeczek, M. 1999. Suppressiveness of vermicompost against *Fusarium* wilt of tomato. *Journal of Phytopathology*, 147, 155-161.
- Szczeczek, M., Smolinska, U. 2001. Comparison of suppressiveness of vermicomposts produced from animal manures and sewage sludge against *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan var. *nicotianae*. *Journal of Phytopathology*, 149, 77-82.
- Sztern, D., Pravia, M. 2001. Manual para la elaboración de compost. Bases conceptuales y procedimientos. <http://www.bvsops.org.uy/pdf/compost.pdf>.
- Tan, K.H. 2014. Humic matter in soil and the environment: Principles and controversies. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press.
- Tasca, A. L., Puccini, M., Gori, R., Corsi, I., Galletti, A., Raspoll, M., Vitolo, S. 2019. Hydrothermal carbonization of sewage sludge: A critical analysis of process severity, hydrochar properties and environmental implications. *Waste management (New York)*. 93, 1-13. DOI:10.1016/j.wasman.2019.05.027.
- Tashiro, Y., Tabata, H., Itahara, A., Shimizu, N., Tashiro, K., Sakai, K. 2016. Unique hyper-thermal composting process in Kagoshima City forms distinct bacterial community structures. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 122, 5, 606-612.
- Taylor, J. D., Conway, J., Roberts, S. J., Astley, D., Vicente, J. G. 2002. Sources and origin of resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in *Brassica* genomes. *Phytopathology*, 92, 105–111.

- Taylor, J., Masona, M., Carcamo, R., Ho, T., Schöpke, C., Fauquet, C. 2001. Production of embryogenic tissues and regeneration of transgenic plants in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Euphytica*, 120, 1, 25–34.
- Taylor, L., Sinsabaugh, R. 2001. The Soil Fungi: Occurrence, Phylogeny, and Ecology. Chapter 4 The Soil Fungi: Occurrence, Phylogeny, and Ecology. Department of Biology, University of New Mexico, Albuquerque, NM, USA. https://www.researchgate.net/publication/282595618_The_Soil_Fungi [accessed May 29 2019].
- Tedesco, D., Doriana, E.A., Conti, C., Biazzi, E., Bacenetti, J. 2019. Bioconversion of fruit and vegetable waste into earthworms as a new protein source: The environmental impact of earthworm meal production. *Science of the Total Environment*, 683, 690-698.
- Termorshuizen, A.J., Van Rijn, E., Van Der, D.J., Alabouvette, C., Chen, Y., Lagerlof, J., Malandrakis, A., Paplomatas, E.J., Ramert, B., Ryckeboe, J., Steinberg, C., Nahum, S.Z. 2006. Suppressiveness of 18 composts against 7 pathosystems: Variability in pathogen response. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 8, 2461-2477.
- Tejada, M., Benitez, C. 2011. Organic amendment based on vermicompost and compost: differences on soil properties and maize yield. *Waste management and research*, 29, 11, 1185-1196.
- Theodore, M., Toribio, J.A. 1995. Suppression of *Phythium aphanidermatum* in compost prepared from sugar cane factory residues. *Plant and Soil*, 177, 219-223.
- Tian, W., Sun, Q., Dabing Xu, Zhang, Z., Chen, D., Li, CH., Shen, Q., Shen, B. 2013. Succession of bacterial communities during composting process as detected by 16S rRNA clone libraries analysis. *International. Biodeterioration & Biodegradation*, 78, 58-66.
- Tian X., Yang T., He J., Chu Q., Jia X., Huang, J. 2017. Fungal community and cellulose-degrading genes in the composting process of Chinese medicinal herbal residues. *Bioresour. Technol.*, 241, 374–383.
- Tian, X.M., Fan, H., Zhang, F.H., Wang, K.Y., Ippolito, J.A., Li, J.H., Jiao, Z. W., Li, Y., Li, Y. Y., Su, JX. 2018. Soil Carbon and Nitrogen Transformations under Soybean as Influenced by Organic Farming. *Agronomy Journal* 110, 5, 1883-1892. DOI: 10.2134/agronj2017.12.0687.
- Tian, R.Q., Li, C.X., Xie, S.Y., You, F.T., Cao, Z.H., Xu, Z.H., Yu, G.W., Wang, Y. 2019. Preparation of biochar via pyrolysis at laboratory and pilot scales to remove antibiotics and immobilize heavy metals in livestock feces. *Journal of Soils and Sediments*, 19, 7, 2891-2902. DOI: 10.1007/s11368-019-02350-2.
- Tilston, E. L., Pitt, D., Groenhof, A. C. 2002. Composted recycled organic matter suppresses soilborne diseases on field crops. *New Phytologist*, 154, 731-740.
- Tiquia, S.M., Tam, N.F.Y., Hodgkiss, I.J. 1996. Microbial activities during composting of spent pig-manure sawdust litter at different moisture contents. *Bioresource Technology*, 55, 3, 201-206.
- Tiquia, S.M., Tam, N.F.Y., Hodgkiss, I.J. 1997. Composting of spent pig litter at different seasonal temperatures in subtropical climate. *Environmental Pollution*, 98, 1, 97-104.
- Tiquia, S.M., Tam, N.F.Y. 2000. Fate nitrogen during composting of chicken litter. *Environmental Pollution*, 110, 53-541.
- Tiquia, SM, Tam, N.F.Y. 2002. Characterization and composting of poultry litter in forced-aeration piles. *Process Biochemistry*, 37, 8, 869-880.
- Tiquia, S.M., Judy, H.C., Wan Nora, F.Y., Tam, N. 2001. Extracellular enzyme profiles Turing co-composting of poultry manure and yard trimmings. *Process biochemistry* 36: 813-820.

- Tiquia, S.M. 2002a. Evolution of extracellular enzyme activities during manure composting, *The Society for Applied Microbiology*, 92, 764-775. Oak Ridge National Laboratory, TN, USA.
- Tiquia, S.M., Wan, J.H.C., Tam, N.F.Y. 2002b. Dynamics of yard trimmings composting as determined by dehydrogenase activity, ATP content, arginine ammonification, and nitrification potential. *Process Biochemistry*, 37, 10, 1057-1065.
- Tiquia, S.M., Wan, J.H.C., Tam, N.F.Y. 2002c. Microbial population dynamics and enzyme activities during composting. *Compost Sci. and Util.*, 10, 150–161.
- Tiquia, S.M. 2005. Microbiological parameters as indicators of compost maturity. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 4, 816-828.
- Tognetti, C. 2014. Composting vs. Vermicomposting: A Comparison of End Product Quality. *Compost Science & Utilization*, 6-14.
- Toju, H., Tanabe, A.S., Yamamoto, S., Sato, H. 2012. High-conserved ITS primers for the DNA-based identification of Ascomycetes and Basidiomycetes in environmental samples. *PLoS One*. 7:e40863. doi10.1371/journal.pone.0040863.
- Tomas, U.G. 2013. Sustainable Management of Waste Coconut Shells as Aggregates in Concrete Mixture. *Journal of Engineering Science and Technology Review* 6, 5, 7-14
- Tomati, U., Madejon, E., Galli, E., Capitani, D., Segre, A.L. 2001. Structural Changes of Humic Acids During Olive Mill Pomace Composting. *Compost Science & Utilization*, 9, 2, 134-142.
- Tomati, U., Madejon, E., Galli, E. 2013. Evolution of humic Acid Molecular Weight as an Index of compost stability. *Compost Science & Utilization*, 108-115.
- Topp, E., Renaud, J., Sumarah, M., Sabourin, L. 2016. Reduced persistence of the macrolide antibiotics erythromycin, clarithromycin and azithromycin in agricultural soil following several years of exposure in the field. *Sci. Total Environ.* 562, 136-144.
- Torres-Climent, A., Gomis, P., Martin-Mata, J., Bustamante, M.A., Marhuenda-Egea, F.C., Perez-Murcia, M.D., Perez-Espinosa, A., Paredes, C., Moral, R. 2015. Chemical, Thermal and Spectroscopic Methods to Assess Biodegradation of Winery-Distillery Wastes during Composting. *PLOS ONE.*, 10, 9. Article Number: e0138925. DOI: 10.1371/journal.pone.0138925.
- Torigoe, K., Hasegawa, S., Numata, O., Yazaki, S., Matsumaga, M., Boku, N., Hiura, M., Ino, H. 2000. Influence of emission from rice straw burning on bronchial asthma in children. *Pediatr. Int.* 42, 2, 143-150.
- Tortosa, G., Albuquerque, J.A., Ait-Baddi, G., Cegarra, J. 2012. The production of commercial organic amendments and fertilisers by composting of two-phase olive mill waste alperujo. *J. Clean. Prod.*, 26, 48-55.
- Tortosa, G., Castellano-Hinojosa, A., Correa-Galeote, D., Bedmar, E.J. 2017. Evolution of bacterial diversity during two-phase olive mill waste alperujo composting by 16S rRNA gene pyrosequencing. *Bioresour. Technol.*, 224, 101-111.
- Toxnet. 2014. Environmental Health Toxicology. National Library of Medicine National Institutes of Health.
- Toxnet.nlm.nih.gov. 2017. TOXNET. [online] Available at: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+470-90-6> [Acceso 18 Abr. 2018].
- Trillas-Gay, M., Hoiting, H., Madden, V. 1986. Natura of suppression of *Fusarium* wirh of radish in container medium amended with composed hardwood bark. *Plant Disease*, 70, 1023-1027.

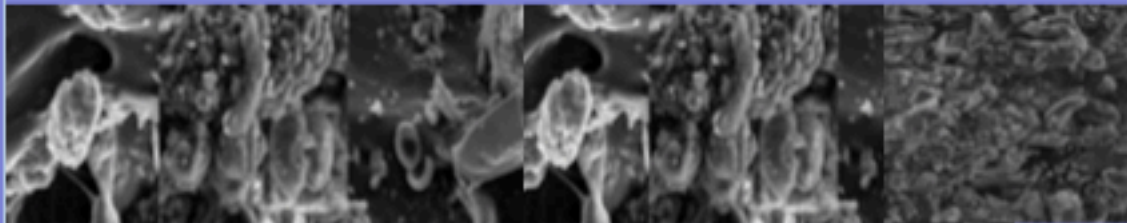
- Tsai, Y.L., Olson, B.H. 1992. Rapid method for separation of bacterial DNA from humic substances in sediments for polymerase chain reaction. *Applied and Environmental Microbiology*, 58, 2292-2295.
- Tyson, G.W., Chapman, J., Hugenholtz, P., Allen, E.E., Ram, R.J., Richardson, P.M., Solovyev, V.V., Rubin, E.M., Rokhsar, D.S., Banfield, J.F. 2004. Community structure. *Nature*, 428, 37-43.
- Unión Europea. Dirección General de Medio Ambiente Rue de la Loi. 2000. B 1049 Bruselas Belgica. www.europa.eu.int/comm/environment/index_es.htm.
- Urra, J., Alkorta, I., Mijangos, I., Epelde, L., Garbisu, C. 2018. Application of sewage sludge to agricultural soil increases the abundance of antibiotic resistance genes without altering the composition of prokaryotic communities. *Science of the Total Environment*, 647, 1410-1420. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.092.
- Valenzuela-Gonzalez, L., Casillas-Hernandez, E., Villalpando, L., Vargas -Albores, L. 2015. El gen ARNr 16S en el estudio de comunidades microbianas marinas. *Ciencias marinas*, 41, 4.
- Van der Giessen, J., Van der Zeijst, B. 1994. Comparison of the 23S ribosomal RNA genes and the spacer region between the 16S and 23S rRNA genes of the closely related *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium paratuberculosis* and the fast-growing *Mycobacterium phlei*. *Microbiology* 140, 1103-1108, doi: 10.1099/13500872-140-5-1103.
- Van Elsas, J.D., Costa, R., Jansson, J., Sjöling, S., Bailey, M., Nalin, R., Vogel, T.M., van Overbeek, L. 2008. The metagenomics of disease-suppressive soils experiences from the Metacontrol project. *Trends in Biotechnology*, 26, 591-601.
- Van Elsas, J.D. 2010. A review of molecular methods to study the microbiota of soil and the mycosphere- *European Journal of Soil Biology*, 47, 2, 77-87.
- Van Os, G.J., Van Ginkel, J.H. 2001. Suppression of Pythium root rot in bulbous iris in relation to biomass and activity of the soil microflora. *Soil Biology & Biochemistry*, 33, 1447-1454.
- Vane, C.H., Drage, T.C., Snape, C.E. 2006. Bark decay by the white rot fungus *Lentinula edodes*: polysaccharide loss, lignin resistance and the unmasking of suberin. *Inter. Biodeter. Biodegr.*, 57, 14-23.
- Varnero, M.T., Rojas, C., Orellana, R. 2007. Índices de fitotoxicidad de residuos orgánicos durante el compostaje, *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, 7, 1, 28-37.
- Vasek, H., De Giori, R., Fusco, E. 2005. Resistencia fágica de lactococos autóctonos de Corrientes. Universidad Nacional del Nordeste. *Comunicaciones científicas y Tecnológicas*.
- Vasilyev, A.V., Bykov, D.E., Pimenov, A.A. 2015. Methods and results of environmental monitoring of soil pollution by oily waste. *Heritage and Technology: Mind Knowledge Experience. Fabbrica della Conoscenza*, 56, 85-89.
- Vasskog, T., Bergensen, O., Anderssen, T., Jensen, E., Eggen, T. 2009. Depletion of selective serotonin reuptake inhibitors during sewage sludge composting. *Waste management*, 29, 2808-2815.
- Veal, E.B., Romeoa, D., Thomsena, M. 2018. Biowaste valorisation in a future circular bioeconomy 25th CIRP Life Cycle Engineering (LCE) Conference Denmark.
- Vecchietti, L., De Lucia, B., Russo, G., Rea, E., Leone, A., 2013. Environmental and agronomic evaluation of containerized substrates developed from sewage sludge copost for ornamental plant production. *Acta Horticult.*, 1013, 431-439.
- Velarde, S.E., de León O.M.E., Cuéllar A.I.A., Villegas, D.R. 2004. Producción y aplicación de compost. Primera Edición. Producciones gráficas del Minrex. La Habana, Cuba. 1323 p.

- Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A.J., Egido, J., Marin, S. 2003. Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumosin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *J. Food Microbiol.*, 89, 2-3, 145-154.
- Venter, J.C., Remington, K., Heidelberg, J.F., Halern, A.L., Rusch, D., Eisen, J.A., Wu, D., Paulsen, I., Nelson, E., Nelson, W., Fouts, D.E., Levy, S., Knap, A.H., Lomas, A.D., Nealson, K., White, O., Peterson, J., Hoffman, J., Parsons, H., Baden-Tilson, H., Pfannkoch, C., Rogers, Y., Smith, H.O. 2004. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, 304, 66-74.
- Vergis, J., Gokulakrishanan, P., Agarwal, R.K., Kumar, A. 2015. Essential oils as natural food antimicrobial agents: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 55,10, 1320-3.
- Villamil, M.B., Little, J., Nafziger, E.D. 2015. Corn residue, tillage, and nitrogen rate effects on soil properties. *Soil and Tillage Research*, 151, 61-66.
- Villar, I., Alves, D., Pérez-Díaz, D., Mato, S. 2016. Changes in microbial dynamics during vermicomposting of fresh and composted sewage sludge. *Waste Management*, 48, 409-417.
- Vinceslas-Akpa, M., Loquet, M. 1997. Organic matter transformations in lignocellulosic waste products composted or vermicomposted (*Eisenia fetida* Andrei): chemical analysis and ¹³C CP/MAS NMR spectroscopy. *Soil Biology and Biochemistry*, 29, 751-758.
- Virkutyte, J., Rajender S., Veeriah, J. 2010. Treatment of Micropollutants in Water and Wastewater. IWA Publishing. <http://library.oapen.org/handle/20.500.12657/25913>
- Vivas, A., Moreno, B., García-Rodríguez, S., Benítez, E. 2009. Assessing the impact of composting and vermicomposting on bacterial community size and structure, and microbial functional diversity of an olive-mill waste. *Bioresour Technol.* 100, 1319–1326. DOI:10.1016/j.biortech.2008.08.014.
- Vivero-Pol, J.L. 2017. Food as commons or commodity? Exploring the links between normative valuations and agency in food transition. *Sustainability*, 9, 442.
- Vystavna, Y., Schmidt, S.I., Diadin, D., Rossi, P.M., Vergeles, Y., Erostate, M., Yermakovych, I., Yakovlev, V., Knoller, K., Vadillo, I. 2018. Multi-tracing of recharge seasonality and contamination in groundwater: A tool for urban water resource management. *Water research*, 161, 413-422. DOI:10.1016/j.watres.2019.06.028
- Walters, E., McClellan, K., Halden, R.U. 2010. Occurrence and loss over three years of 72 pharmaceuticals and personal care products from biosolids-soil mixtures in outdoor mesocosms. *Water Research*, 44, 6011–6020.
- Walkley, A., Black, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Sci.* 63, 251–263.
- Wang, G.Y., Graziani, E., Waters, B., Pan, W., Li, X., McDermott, J., Meurer, G., Saxena, G., Andersen, R.J., Davies, J. 2000. Novel natural products from soil DNA libraries in a streptomycete host. *Organic Letters*, 2, 2401-2404.
- Wang, H., Fan, B., Hu, Q., Yin, Z. 2011. Effect of inoculation with *Penicillium expansum* on the microbial community and maturity of compost. *Bioresour. Technol.*, 102, 11189–11193.
- Wang, C., Tu, Q.P., Dong, D., Strong, P.J., Wang, H.L., Sun, B., Wu, W. 2014. Spectroscopic evidence for biochar amendment promoting humic acid synthesis and intensifying humification during composting. *Journal of Hazardous Materials*, 280, 409-416. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.08.030.

- Wang, X., Cui, H., Shi, H., Zhao, X., Zhao, Y., Wei, Z. 2015. Relationship between bacterial diversity and environmental parameters during composting of different raw materials. *Bioresource Technology*, 198, 395-402.
- Wang, Q., Awasthi, M.K., Ren, X., Zhao, J., Zhang, Z. 2017. Comparison of biochar, zeolite and their mixture amendment for aiding organic matter transformation and nitrogen conservation during pig manure composting. *Bioresource Tecnology*, 245, 300-308.
- Wang, K., Yin, X., Mao, H., Chu, C., Tian. Y. 2018. Changes in structure and function of fungal community in cow manure composting. *Bioresour. Technol.* 255, 123–130.
- Wang, H., Han, H., Liu, T., Tian, X., Xu, M., Wu, Y., Gu, Y., Liu, Y., Zuo, T., 2018. "Internet +" recyclable resources: a new recycling mode in China. *Resour. Conserv. Recycl.* 134, 44–47.
- Wang, B., Shen, X., Chen, S., Bai, Y., Yang, G., Zhu, J. 2018. Distribution characteristics, resource utilization and popularizing demonstration of crop straw in southwest China: A comprehensive evaluation. *Ecological indicator*, 93, 998-1004.
- Wang, L.L., Huang, Q., Wang, S.L., Li, G.X., Yang, X.Y. 2019. Relationships Among Raw Materials, Grinding Ratios, and Moisture Content During the Composting Process. *Polish Journal of Environmental Studies*, 28, 1, 343-348. DOI: 10.15244/pjoes/81294.
- Wei, Z., Wang, X., Zhao, X., Xi, B., Wei, Y., Zhang, X. 2016. Fluorescence characteristics of molecular weight fractions of dissolved organic matter derived from composts. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 113, 187–194.
- White, T.J., T. Bruns, S., Lee, Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322 In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, eds. Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White. Academic Press, Inc., New York.
- Winker, S., Woese, C. R. 1991. A definition of the domains Archaea, Bacteria and Eucarya in terms of small subunit ribosomal RNA characteristics. *Systematic and Applied Microbiology*, 14, 4, 305-310.
- Woese, C.R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiological Reviews*, 51, 221-271.
- Woese, C.R., Fox, G.E. 1977. The concept of cellular evolution. *Journal of Molecular Evolution* 10, 1-6.
- Wu, X., Wei, Y., Zheng, J., Zhao, X., Zhong, W. 2011. The behaviour of tetracyclines and their degradation products during swine manure composting. *Bioresource technology*, 102, 5924-5931.
- Wu, M., Xiang, J., Que, C., Chen, F., Xu, G., 2015. Occurrence and fate of psychiatric pharmaceuticals in the urban water system of Shanghai, China. *Chemosphere*, 138, 486-493.
- Wu, X., Dodgen, L.K., Conkle, J.L., Gan, J. 2015. Plant uptake of pharmaceutical and personal care products from recycled water and biosolids: a review. *Science of ehe Total Environment*, 536, 655–666.
- Wu, J., Zhao, Y., Qi, H., Zhao, X., Wei, Z. 2017. Identifying the key factors that affect the formation of humic substance during different materials composting. *Bioresource Technology*, 244, Part 1, 1193-1196.
- Xia, H., Wu, Y., Chen, X.M., Huang, K., Chen, J.Y. 2019. Effects of antibiotic residuals in dewatered sludge on the behavior of ammonia oxidizers during vermicomposting maturation process. *Chemosphere*, 218, 810-817. DOI: 10.1016/j.chemosphere.11.167.

- Xiao, Y., Zeng, G.M., Yang, Z., Ma, Y., Huang, C., Xu, Z.Y., Huang, J., Fan, C.F. 2011. Changes in the actinomycetal communities during continuous thermophilic composting as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative PCR. *Bioresource Technology*, 102, 2, 1383-1388.
- Xiao, W., Feng, S., Liu, Z., Su, Y., Zhang, Y., He, X. 2017. Interactions of soil particulate organic matter chemistry and microbial community composition mediating carbon mineralization in karst soils. *Soil Biol Biochem*, 107, 85–93.
- Xue, G., Jiang, M., Chen, H., Sun, M., Liu, Y.F., Li, X., Gao, P. 2019. Critical review of ARGs reduction behavior in various sludge and sewage treatment processes in wastewater treatment plants. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 49, 18, 623-1674. DOI: 10.1080/10643389.2019.1579629.
- Yadav, M.K., Short, M.D., Gerber, C., Awad, J., van den Akker, B., Saint, CP. 2019. Removal of emerging drugs of addiction by wastewater treatment and water recycling processes and impacts on effluent-associated environmental risk. *Science of the total Environment*, 68, 13-22.
- Yardin, E. N., Arancon, N. A., Edwards, C.A., Oliver, T.J., Byrne, R. J. 2006. Suppression of tomato hornworm (*Manduca quinquemaculata*) and cucumber beetles (*Acalymma vittatum* and *Diabrotica undecimpunctata*) populations and damage by vermicomposts. *Pedobiologia*, 50, 23-29.
- Yasir, M., Aslam, Z., Won Kim, S., Lee, S., Chung, Y.R. 2008. Bacterial community composition and chitinase gene diversity of vermicompost with antifungal activity. *Bioresource Technology*, 100, 19, 4396-4403.
- Yuan, H., Ge, T., Ping, Z., Shoulong, L., Roberts, P., Zhu, H., Ziyang Z., Cheng-li, T., Wu, J. 2013. Soil microbial biomass and bacterial and fungal community structures responses to long-term fertilization in paddy soils. *J. Soils Sediment*, 13, 877–886.
- Yuan, Y., Xia, B., He, B., Tan, W., Gao, R., Zhang, H., Yang, C., Zhao, C., Huan, C., Li, D. 2017. Compost-derived humic acids as regulators for reductive degradation of nitrobenzene. *Journal of Hazardous Materials*, 5, 378-384.
- Yue, Z., Wei, Y., Zhang, Y., Wen, X., Xi, B., Zhao, X. 2017. Roles of composts in soil based on the assessment of humification degree of fulvic acids. *Ecological Indicator*, 72, 473–480.
- Zhang, B., Li, G., Shen, T. Wang, J. Sun, Z. 2000. Changes in microbial biomass C, N, and P and enzyme activities in soil incubated with the earthworms *Metaphire guillelmi* or *Eisenia fetida*. *Soil Biol., Biochem.*, 32, 2055–2062.
- Zhang, Y., Geißen, S.U., Gal, C. 2008. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Review. Chemosphere*, 73, 1151–1161.
- Zhang, J., Wang, J., An, T., Wei, D., Chi, F., Zhou, B. 2017. Effects of long-term fertilization on soil humic acid composition and structure in Black Soil. *PLoS ONE*, 12, 11:e0186918. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186918>.
- Zhang, J.J., Dou, S., Zhu, P., Gao, H., Song, X., Wang, L. 2014. Effects of long-term application of organic fertilizer on structural characteristics of Humin in black soils- a solid-state ¹³C NMR study. *Chinese Agricultural Science*, 42, 2223–2228.
- Zhang, L., Zhang, H., Wang, Z., Chen, G., Wang, L. 2016. Dynamic changes of the dominant functioning microbial community in the compost of a 90-m³ aerobic solid state fermentor revealed by integrated meta-omics. *Bioresource Technology*, 203, 1-10.

- Zhang, Z.L., Lebleu, M., Osprey, M., Kerr, C., Courtot, E. 2018. Risk estimation and annual fluxes of emerging contaminants from a Scottish priority catchment to the estuary and North Sea. *Environmental Geochemistry and Health*, 40, 5, 1987-2005 DOI: 10.1007/s10653-017-0002-y.
- Zhang, Y., Hou, D.H., Xiong, G.N., Duan, J.H., Cai, C.Y., Wang, X., Li, J.Y., Tao, S., Liu, W.X. 2018. Structural equation modeling of PAHs in ambient air, dust fall, soil, and cabbage in vegetable bases of Northern China. *Environmental Pollution*, 239, 13-20. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.03.084.
- Zhang, L., Sun, X.Y. 2018. Effects of waste lime and Chinese medicinal herbal residue amendments on physical, chemical, and microbial properties during green waste composting, *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 31, 31381-31395. DOI: 10.1007/s11356-018-3085-9.
- Zhangab, S., Yuana, L., Lia, W., Lina, Z., Lia, Y., Hub, S., Zhaoa, B. 2017. Characterization of pH-fractionated humic acids derived from Chinese weathered coal. *Chemosphere*, 166, 334-342.
- Zhao, Y.J., Qi, H., Zhao, X., Yang, T., Du, Y., Zhang, H., Wei, Z. 2017. Identifying the key factors that affect the formation of humic substance during different materials composting. *Bioresource Technology*, 244, 1, 1193-1196.
- Zhao, Y., Wei, Y., Zhang, Y., Wen, X., Xi, B., Zhao, X. 2017. Roles of composts in soil based on the assessment of humification degree of fulvic acids. *Ecological Indicator*, 72, 473-480.
- Zheng, G.D., Yu, B., Wang, Y.W., Ma, C., Chen, T.B. 2020. Removal of triclosan during wastewater treatment process and sewage sludge composting-A case study in the middle reaches of the Yellow River. *Environment International*, 134, UNSP 105300, DOI: 10.1016/j.envint.2019.105300.
- Zhu, N. 2006. Composting of high moisture content swine manure with corncob in a pilot-scale aerated static bin system. *Bioresource Technology*, 97, 1870-1875.
- Zhu, N. 2007. Effect of low initial C/N ratio on aerobic composting of swine manure with rice straw. *Bioresource Technology*, 98, 9-13.
- Zhu, X.F., Yuan, W.Y., Lang, M.Q., Zhen, G.Y., Zhang, X.D., Lu, X.Q. 2019. Novel methods of sewage sludge utilization for photocatalytic degradation of tetracycline-containing wastewater. Conference: 3rd International Conference on Alternative Fuels, Energy and Environment - Future and Challenges (ICAFEE), 252, 148-156.
- Zhong, W., Gu, T., Wang, W., Wang, W., Zhang, B., Lin, X., Huang, Q., Shrn, W. 2010. The effects of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity. *Plant Soil* 326, 523. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0099-6>.
- Zittel, Z., Domingues, P., Seremeta, D., De Campo, R. 2018. Composting of smuggled cigarettes tobacco and industrial sewage sludge in reactors: Physicochemical, phytotoxic and spectroscopic study. *Waste Management*, 79, 537-544.
- Zubillaga, M.S., Lavado, R. S. 2006. Phytotoxicity of biosolids compost at different degrees of maturity compared to biosolids and animal manures. *Compost Sci. Util*, 14, 267-270.
- Zucconi, F., Pera, A., Forte, M., Bertoli, M. 1981a. Evaluations toxicity in immature compost. *BioCycle*, 22, 54-57.
- Zucconi, F., Monaco, A., Forte, M., De Bertoldi, M. 1981b. Biological evaluation of compost maturity. *BioCycle*, 22, 27-29.
- Zucconi, F., De Bertoldi, M. 1986. Compost specifications for the production and characterization of compost from municipal solid waste. In: de Bertoldi, M., Ferranti, M.P., L' Hermite, P. and Zucconi, F. (Eds.). *Compost: Production, Quality and Use*. Elsevier Applied Science, London.



Con la colaboración de:



MINISTERIO
DE CIENCIA, INNOVACION
Y TURISMO
FEDERACION DE UNIVERSIDADES



GENERALITAT
VALENCIANA
Conselleria d'Innovació,
Investigació, Cultura i Esport