



Estudio de un proceso de compostaje de estiércol de conejo mediante técnicas espectroscópicas y análisis de ácidos húmicos y fúlvicos

María Soto-Herranz¹, Mercedes Sánchez-Báscones¹, Juan Manuel Antolín-Rodríguez¹,
Diego Conde-Cid¹

¹ E.T.S.I.A. Universidad de Valladolid, Avenida de Madrid, 44. Palencia, 34004, España;
m.sotoh16@gmail.com

Resumen: El crecimiento de la población humana ha provocado un aumento de la demanda de productos agroganaderos, fomentándose prácticas agrícolas y ganaderas intensivas. El incremento de la producción, ha conllevado un aumento del volumen de residuos ganaderos, lo que implica la necesidad de medidas para gestionarlos adecuadamente. Un método de manejo del estiércol y enmienda del suelo de bajo costo es el compostaje, que permite poder emplear el compost como abono en sustitución a fertilizantes químicos. En este trabajo se realiza un estudio del proceso de humificación de la materia orgánica durante el compostaje de residuos de conejo en pila dinámica, mediante técnicas espectroscópicas. Las mezclas consistieron en estiércol cunícola (3160 kg) y distintos tipos de materiales estructurantes. La composición de las pilas, fue: pila 1 [estiércol + 200 kg cama (viruta + orina + pelo)], pila 2 [estiércol + 52 kg paja cebada], pila 3 [estiércol + 52 kg paja cebada]. Los análisis mediante espectroscopía FTIR y UV-Vis, revelaron una transformación de compuestos sencillos a complejos y resistentes, propios de la formación de humus. Esto concuerda con los resultados obtenidos por el análisis de ácidos húmicos y fúlvicos, que reflejaron un predominio de compuestos de cadena alifática al inicio del proceso, así como de compuestos aromáticos hacia el final.

Palabras clave: estiércol cunícola, FTIR, UV-VIS, E4/E6

1. Introducción

El rápido crecimiento de la población conlleva un incremento de la práctica de la agricultura intensiva y la cría de animales. Esto supone una elevada producción de estiércol, que induce un grave problema de gestión de residuos. Por ello, es importante adoptar medidas de manejo efectivas para este tipo de desechos. Un método de manejo del estiércol y enmienda del suelo de bajo costo lo constituye, entre otros, el compostaje. Sin embargo, si el estiércol no se trata adecuadamente, puede liberar patógenos, metales pesados y elementos eutróficos como N y P, poniendo en riesgo la salud humana y el medio ambiente [1].

El compostaje es un proceso que consiste en conseguir un producto más estable (sustancias húmicas) por medio de transformaciones de la materia orgánica bajo condiciones termofílicas producidas por la actividad biológica [2]. Esto se conoce como proceso de humificación. Las sustancias húmicas asocian moléculas pequeñas y otros polímeros heterogéneos a través de interacciones hidrofóbicas como las fuerzas de van der Waals, π - π y CH- π y/o enlaces de hidrógeno [3]. La lignina y sus productos de degradación, incluidos los fenoles y las quinonas, son los principales precursores en la formación de HS por polimerización y condensación con compuestos como proteínas, aminoácidos y ácidos nucleicos [4]. Las sustancias húmicas se

componen de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas. Su formación dependerá de factores como: el tipo de materia prima, los aditivos del compost, la actividad microbiana, la temperatura, el pH, el contenido de humedad de la relación C/N, el contenido de oxígeno y el tamaño de las partículas [5, 6].

El producto final del compostaje aerobio debiera poder emplearse como fertilizante orgánico y enmienda del suelo [7]. Además, las sustancias húmicas son útiles como pesticidas naturales porque pueden suprimir algunos fitopatógenos transmitidos por el suelo y minimizar la toxicidad de los productos químicos [8]. Estos beneficios se atribuyen a varios grupos funcionales presentes en los ácidos húmicos: carboxílico, fenólico, hidroxílico y quinonilo [9].

La calidad agronómica del compost, depende fundamentalmente de la estabilidad y grado de madurez de la materia orgánica, por lo que su estudio es imprescindible antes de su aplicación. Un compost inmaduro podría afectar a la germinación de las semillas, reducir el crecimiento de las plantas y dañar los cultivos [1, 10]. Entre los parámetros indicadores del grado de estabilidad del compost, están: carbono soluble en agua (CSA), la relación C/ N, el grado de humificación de la materia orgánica, la concentración de lignina y la respiración microbiana [11].

En este trabajo se presenta un estudio del proceso de humificación de compost cunícola mediante dos técnicas espectroscópicas, FTIR y UV-Vis, así como mediante el análisis de sustancias húmicas. Entre los diferentes parámetros derivados de las mediciones UV-Vis, se determinó la relación E4/E6 [12].

2. Materiales y métodos

2.1. Configuración de las pilas de compostaje

En el presente experimento se muestra el proceso de compostaje de estiércol procedente de una explotación cunícola con diferentes tipos de materiales estructurantes. Se establecieron tres pilas dinámicas con aireación natural: pila 1: 3160 kg estiércol + 200 kg cama (viruta + orina + pelo), pila 2: 3160 kg estiércol + 52 kg paja cebada, pila 3: 3160 kg estiércol + 52 kg paja cebada.

Se tomó una muestra semanal durante la fase activa del proceso de compostaje que duró diez semanas y una muestra mensual durante la fase de maduración, que se desarrolló a lo largo cinco meses.

Además de los parámetros básicos de seguimiento del proceso (temperatura, humedad, pH, CE, C/N, etc.) no mostrados en este trabajo, se estudiaron las transformaciones que sufría la materia orgánica durante el tiempo de compostaje mediante métodos espectroscópicos como: infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), espectrofotometría de absorción UV-Vis y análisis de sustancias húmicas.

2.2. Caracterización de muestras de estiércol cunícola a lo largo de distintos estadios del proceso de compostaje mediante FTIR y UV-VIS

2.2.1. Análisis del proceso de compostaje mediante espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

Los espectros FTIR del compost cunícola en 3 etapas del proceso se obtuvieron en un rango de longitudes de onda de entre 400 a 4000 cm^{-1} empleando un espectrómetro de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR) Nicolet iS50 ThermoScientific (Waltham, MA, EE. UU.). Las muestras de compost se secaron en estufa durante 3 días a 105°C y, se molieron con molino de cuchillas y de bolas. Se pesaron 2,4 mg del material y se mezclaron con 100 mg de KBr para posteriormente prensarlo y obtenerlo en forma de pastilla (Hsu y Lo, 1999). Los espectros FTIR se consiguieron tras someter cada muestra a 64 exploraciones, recogiendo los principales picos mediante el software OMNIC (Nicolet Instruments Corp.).

2.2.2. Análisis del proceso de compostaje mediante espectrofotometría ultravioleta visible (UV-VIS).

El carbono soluble en agua se obtuvo agitando durante 2 h una mezcla de 1 g de muestra de compost cunícola (0 d, 49 d y 214 d) fresca con 10 ml de agua desionizada (1:10 p/v). Los extractos se centrifugaron a 10000 rpm durante 15 min y se filtraron con un filtro de 0,45 µm (Whatman, nº3). De los extractos filtrados se tomaron alícuotas de 20 µl y se mezclaron con 180 µl de agua desionizada. A continuación, se realizaron medidas de absorbancia a 465 y 665 nm con un espectrofotómetro UV-Vis (Shimadzu UV-2450). Se calculó la relación de absorbancias E4/E6 (465 y 665 nm).

2.3. Evolución del proceso de humificación mediante el análisis de ácidos húmicos y fúlvicos. Relación de humificación (RI), tasa de humificación (RH) e índice de polimerización (PI).

Para el análisis de ácidos húmicos y fúlvicos, se pesaron 3 g de muestra fresca del inicio (0 d) del proceso de compostaje, proceso activo (49 d) y final de la etapa de maduración (214 d). Se mezcló con 60 ml de pirofosfato de sodio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$) y se agitó durante 4 h. A continuación, se centrifugaron a 10000 r.p.m durante 15 min y se filtraron (Whatman, nº3). Los extractos filtrados se dividieron en dos partes iguales. En una de ellas, se añadieron gotas de H_2SO_4 al 96-98% hasta $\text{pH} < 2$ y se retiró el precipitado. Todas las muestras se preservaron en nevera a 4°C hasta su medición. Se realizaron medidas de carbono orgánico total y de carbono de ácidos fúlvicos mediante un analizador de Carbono Orgánico Total (Shimadzu, modelo TOC 5000 182). La diferencia entre ambos, se consideró como el carbono de ácidos húmicos.

3. Resultados y discusión

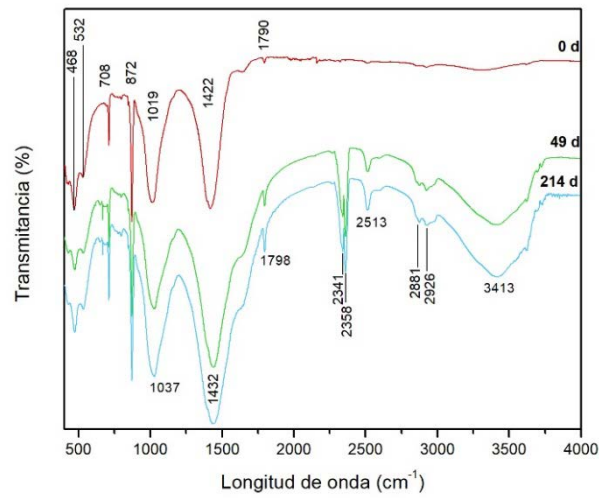
3.1. Caracterización de muestras de estiércol cunícola a lo largo de distintos estadios del proceso de compostaje mediante FTIR y UV-VIS.

3.1.1. Análisis del proceso de compostaje mediante espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

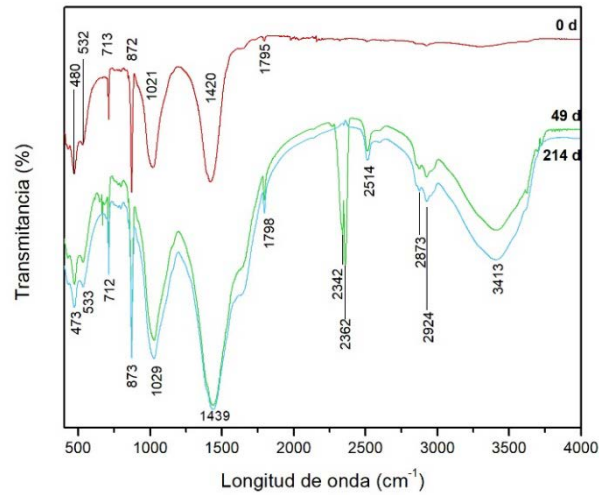
La espectroscopia infrarroja se emplea como método de caracterización de sustancias orgánicas formadas durante el proceso de humificación. Permite explorar las características y actividad de la materia orgánica mediante el estudio de los grupos funcionales presentes en las muestras.

Los espectros FTIR de compost cunícola de tres pilas de compostaje a lo largo de diferentes fases del proceso de compostaje, se muestran en la figura 1. Los espectros FTIR muestran diferencias en el proceso de compostaje, siendo similar entre pilas.

A



B



C

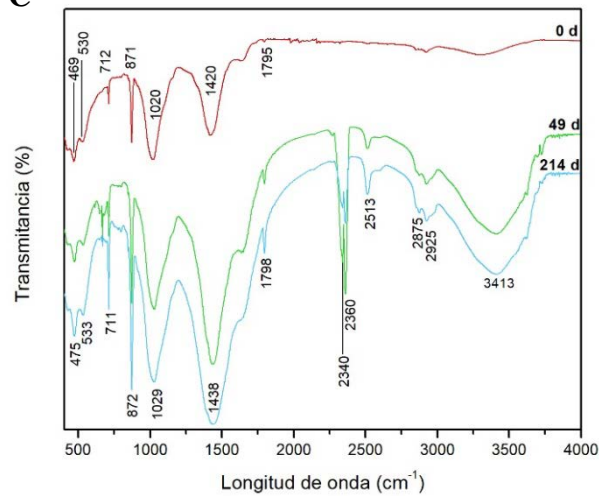


Figura 1. Espectro FTIR del proceso de compostaje de residuos cunícolas en la pila 1 (A), pila 2 (B) y pila 3 (C). Modo de medición por transmitancia. Se representan los espectros infrarrojos de los días 0, 49 (proceso activo) y 214 (maduración).

Al comienzo del proceso en cada pila se observó el predominio de las bandas en torno a 1420 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$ insaturados y aromáticos), que durante el proceso incrementan su intensidad reflejando el progreso del proceso de humificación. Otras bandas observadas durante todo el proceso en todas las pilas (1020 , 872 y 712 cm^{-1}), responden a la presencia de SiO_2 y carbonato cálcico. Al haberse realizado el compostaje sobre el suelo en pila abierta, es razonable encontrar este tipo de bandas.

A partir del día 49, comienzan a observarse diferencias entre espectros. Aparecen nuevos picos en torno a 3413 , 2925 , 2875 y 1795 cm^{-1} y se produce un crecimiento en la intensidad de la banda de 1420 cm^{-1} .

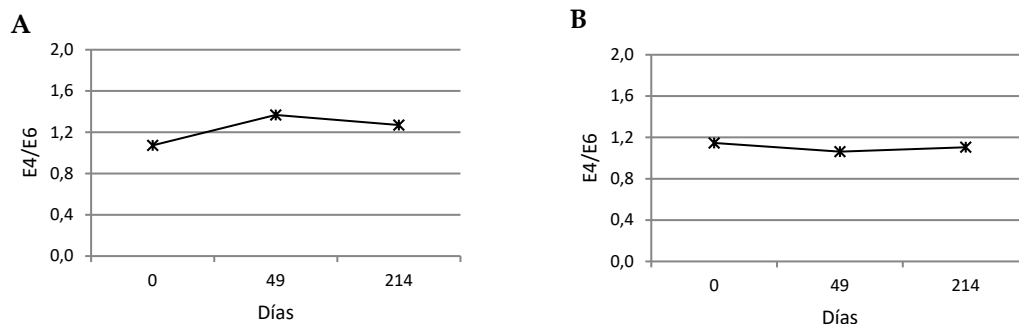
La banda ancha a 3413 cm^{-1} puede atribuirse a vibraciones de tensión de grupos hidroxilos ($-\text{OH}$) con alta interacción con enlaces de hidrógeno. Las bandas comprendidas a 2925 y 2875 cm^{-1} , se corresponden a $\nu_{\text{C-H}}$ de grupos alifáticos ($-\text{CH}_2$ y $-\text{CH}_3$) [13]. Las diferencias de intensidad de algunas bandas se vinculan a la desaparición de los componentes que se degradan más fácilmente, como al aumento de derivados de lignina que participan en el proceso de humificación [14]. El pico en torno a 1795 cm^{-1} se atribuye a la vibración de tensión de alquenos ($\text{C}=\text{C}$) de grupos carboxílicos en ácidos y cetonas. El aumento de intensidad de la banda 1420 cm^{-1} , indica una mejora de los carbonos aromáticos en relación a los alifáticos, lo que podría estar relacionado con la estabilidad y la madurez de compost y su transformación en sustrato altamente humificado [15, 16].

La aparición de nuevos picos y el aumento de intensidad de otros, podría indicar un mayor grado de descomposición a lo largo del proceso de compostaje. En las etapas iniciales se destruye la materia orgánica fácilmente biodegradable como polisacáridos, cadenas alifáticas, alcoholes y proteínas. Mientras que, en las etapas finales de maduración, tienden a abundar compuestos estables como las estructuras aromáticas [17].

3.1.2. Análisis del proceso de compostaje mediante espectrofotometría ultravioleta visible (UV-VIS).

Una medida simple para la caracterización de las sustancias húmicas consiste en el estudio del índice E4/E6 , basado en la estimación del grado de aromaticidad de los compuestos orgánicos.

La relación de absorbancia E4/E6 de las sustancias húmicas se representa en la Figura 2. Es un parámetro útil para estimar el grado de humificación del compost [18] y se emplea como índice del nivel de agregación de partículas o macromoléculas [12]. Además, se considera como un índice inverso al peso molecular y a la aromaticidad [19] mientras que se correlaciona positivamente con el número de grupos de ácido carboxílico [12].



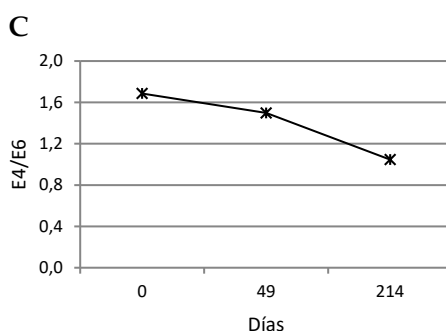


Figura 2. Variación de absorptividad ($E4/E6$) correspondiente a 465 y 665 nm frente a días de proceso de compostaje en tres pilas de compostaje. La pila 1 (A) compuesta de 790 kg estiércol cunicola + 9 kg paja cebada + 200 kg viruta; pilas 2 (B) y 3 (C) compuestas de 790 kg estiércol cunicola + 52 kg paja cebada.

En general, se observa que los valores de $E4/E6$ alcanzados el día 214 son similares o más bajos que al inicio (0 d) y a la mitad del proceso de compostaje (49 d).

Durante la fase activa del proceso de compostaje, los valores de la relación $E4/E6$ son más altos, lo que se asocia a la presencia de moléculas orgánicas de menor tamaño o a la presencia abundante de estructuras alifáticas y contenido de grupos funcionales, que implican un menor grado de condensación del núcleo aromático del humus [12]. Valores bajos alcanzados en las últimas etapas del proceso están de acuerdo con las observaciones de otros autores [20]. Se ha alcanzado un grado de madurez y estabilidad favorables, debido probablemente a la mineralización de los carbohidratos y las quinonas, así como a la oxidación de compuestos fenólicos.

3.2. Evolución del proceso de humificación mediante el análisis de ácidos húmicos y fúlvicos. Relación de humificación (RI), tasa de humificación (RH) e índice de polimerización (PI).

El estudio de las fracciones húmicas del compost constituye un criterio importante para establecer el grado de evolución de la materia orgánica.

En la figura 3 se representa la evolución de los ácidos húmicos y fúlvicos en extractos de compost a lo largo del proceso de compostaje. El porcentaje de carbono total extraíble (C Tot) disminuyó durante el compostaje debido a la mineralización, siendo más evidente en la pila 3. El porcentaje de ácidos húmicos (HA) aumentó durante el proceso de compostaje, mientras que la fracción de ácidos fúlvicos (FA) disminuyó. En los primeros estadios del proceso de compostaje, abundan compuestos de cadena alifática sobre los compuestos aromáticos. En cambio, a medida que avanza la humificación, se favorece la polimerización y, por tanto, abundan más los compuestos aromáticos. Esta evolución indica que el compost fresco inicial que está presente al inicio del proceso, contiene niveles bajos de HA y niveles más altos de FA en comparación con el compost maduro [21]. Esta misma tendencia está de acuerdo con los resultados obtenidos por algunos autores en compostaje de excretas animales [22].

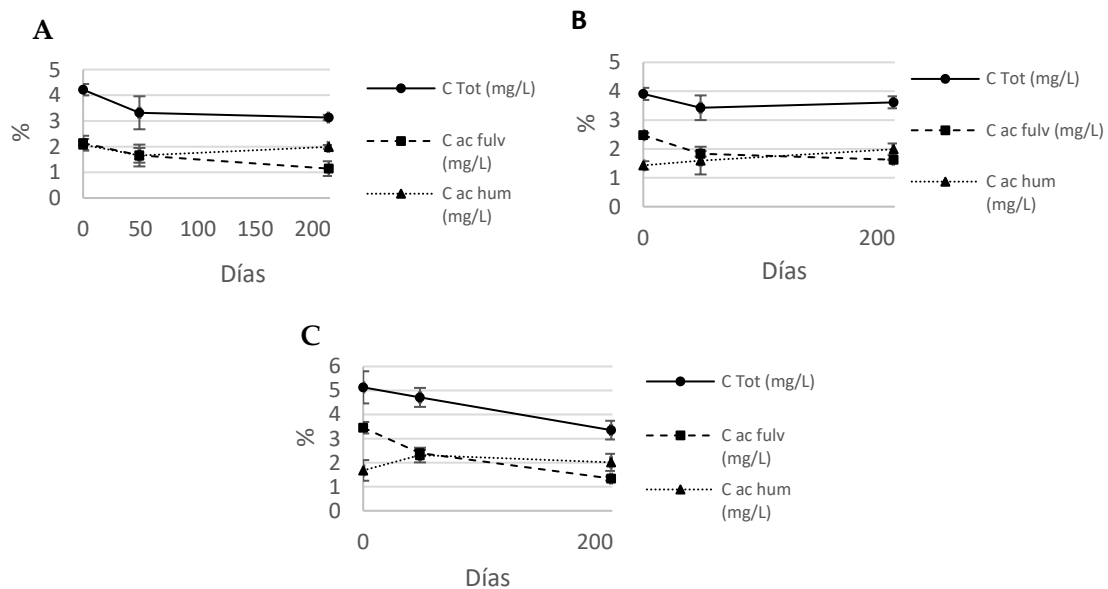


Figura 3. Evolución del porcentaje de carbono total extraíble (CTot), ácidos fúlvicos (C ac fulv) y húmicos (C achum) durante el proceso de compostaje en cada una de las pilas (pila 1: A, pila 2: B y pila 3: C).

Para evaluar el progreso de la humificación de la materia orgánica durante el compostaje, se calcularon varios indicadores como: índice de humificación (HI), tasa de humificación (HR), porcentaje de ácidos húmicos (PHA) y el grado de polimerización (DP), representados en la Tabla 1. Sin embargo, la composición de la materia prima empleada como enmienda podría afectar a la temperatura y degradación de la materia orgánica y, por tanto, a la formación de sustancias húmicas por lo que sería un factor clave en el progreso de la humificación (tasa de humificación y proporción de HA y FA).

Tabla 1. Relaciones de humificación para cada una de las pilas de compostaje.

Día	PILA 1				PILA 2				PILA 3			
	HR	HI	PHA	PI	HR	HI	PHA	PI	HR	HI	PHA	PI
0	1,28	1,82	0,49	0,97	1,33	3,17	0,37	0,58	1,19	2,10	0,32	0,48
49	1,40	2,47	0,49	0,98	1,35	2,46	0,46	0,88	1,25	1,71	0,49	0,97
214	1,64	2,60	0,63	1,74	1,41	<u>2,14</u>	0,55	1,22	1,54	2,70	0,60	1,50

En general, para todos los índices calculados, los valores se incrementaron con el tiempo de compostaje, a excepción del HI en la pila 2, donde disminuyeron los valores al final del proceso respecto de los valores iniciales. En la pila 2, hubo problemas para alcanzar una temperatura óptima para favorecer la descomposición de la materia orgánica, pudiendo ser un factor influyente en el proceso de polimerización y formación de ácidos húmicos (HA). Jouraiphy et al. (2005) también observaron un aumento de todos los índices a medida que avanzaba el tiempo de compostaje de una mezcla de lodos de aguas residuales y residuos verdes.

El incremento de HI a lo largo del proceso de compostaje, se podría relacionar con la pérdida de carbono orgánico total durante ese tiempo. El aumento del índice PHA, indica que el proceso de compostaje estuvo marcado por una alta disponibilidad de ácidos húmicos en detrimento de los fúlvicos. Y, el aumento del grado de polimerización durante el proceso refleja la formación de moléculas complejas a partir de otras más simples [23]. Autores como [24] sugirieron que una

relación CHA/CFA mayor de 1.6 indica un buen grado de madurez alcanzado por la materia orgánica.

4. Conclusiones

Este trabajo demuestra que es factible el uso de cualquiera de estas tres técnicas (FTIR, UV-Vis o análisis de ácidos húmicos y fúlvicos) para realizar el seguimiento de un proceso de compostaje. En etapas iniciales del proceso de compostaje, se produce una predominancia de compuestos de cadena corta y bajo peso molecular, fáciles de degradar. En cambio, a medida que avanza el tiempo, la actividad bacteriana desencadena procesos de mineralización y polimerización, favoreciendo la presencia de estructuras de cadena larga, más estables.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación de la Unión Europea en el marco del “Ammonia Trapping” (LIFE15-ENV / ES / 000284) “Desarrollo de dispositivos de membrana para reducir las emisiones de amoníaco generadas por el estiércol en granjas avícolas y porcinas”. La mención de nombres comerciales o productos comerciales en este artículo tiene el único propósito de proporcionar información específica y no implica recomendación ni aprobación por parte de los autores.

Referencias

1. Zucconi, F., Pera, A., Forte, M., De Bertoldi, M. Evaluating toxicity of immature compost maturity. *Biocycle*. 1981, 22, 54–57.
2. Iyengar, S.R., Bhawe, P. P. In-vessel composting of house hold wastes. *Waste Management*. 2006, 26, 1070–1080.
3. Piccolo, A. The supramolecular structure of humic substances. A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Adv. Agron.* 2002, 75, 57–134.
4. Sánchez-Monedero, M.A., Roig, A., Cegarra, J., Bernal, M.P. Relationships between water-soluble carbohydrate and phenol fractions and the humification indices of different organic wastes during composting. *Bioresource Technology*. 1999, 70 (2): 193-201.
5. Petric, I., Helić, A., Avdić, E.A. Evolution of process parameters and determination of kinetics for co-composting of organic fraction of municipal solid waste with poultry manure. *Bioresour. Technol.* 2012, 117, 107–116.
6. Epstein, E. 1997. The Science of Composting. CRC Press, Boca Raton, FL.
7. Jurado, M.M., Suárez-Estrella, F., López, M.J., Vargas-García, M.C., López-González, J.A., Moreno, J. Enhanced turn over of organic matter fractions by microbial stimulation during lignocellulosic waste composting. *Bioresour. Technol.* 2015, 186, 15–24.
8. Hoitink, H.A.J., Fahy, P.C. Basis for the control of soil-borne plant pathogens with composts. *Annu. Rev. Phytopathol.* 1986, 24, 93–114
9. Stevenson, F.J., 1994. Humic Substances Chemistry: Genesis, Composition and Reactions, 2nd ed. Wiley, New York.
10. Cooperband, L.R., Stone, A.G., Fryda, M.R., Ravet, J.L. Relating compost measures of stability and maturity to plant growth. *Compost Sci. Util.* 2003, 11, 113–124.
11. Bernal, M.P., Paredes, C., Sánchez-Monedero, M.A. Cegarra, J. Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes. *Bioresource Technology*. 1998, 63 (1): 91-99.
12. Chen, Y., N. Senesi, and M. Schnitzer. Information Provided on Humic Substances by E4/E6 Ratios. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1977, 41:352-358.
13. El Fels, L., Zamama, M., El Asli, A., Hafidi, M. Assessment of biotransformation of organic matter during co-composting of sewage sludge-lignocellulosic waste by chemical, FTIR analyses, and phytotoxicity tests. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2014, 87: 128-137.

X CONGRESO IBÉRICO DE AGROINGENIERÍA
X CONGRESSO IBÉRICO DE AGROENGENHARIA
3 – 6 septiembre 2019, Huesca - España

14. Asses, N., Farhat, A., Cherif, S., Hamdi, M., Bouallagui, H. Comparative study of sewage sludge co-composting with olive mill wastes or green residues: Process monitoring and agriculture value of the resulting composts. *Process Safety and Environmental Protection*. 2018, 114: 25-35.
15. Jouraiphy, A., Amir, S., El Gharous, M., Revel, J.-C., Hafidi, M. Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformation during composting of sewage sludge and green plant waste. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2005, (56): 2,101-108.
16. Jouraiphy, A., Amir, S., Winterton, P., El Gharous, M., Revel, J.-C., Hafidi, M. Structural study of the fulvic fraction during composting of activated sludge–plant matter: Elemental analysis, FTIR and ¹³C NMR. *Bioresource Technology*. 2008, (99): 5, 1066-1072.
17. Hsu, J.-H., Lo, S.-L. Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformations during composting of pig manure. *Environmental Pollution*. 1999, 104(2): 189-196.
18. Senesi, N. Composted materials as organic fertilizers. *Sci. Total Env.* 1989, 81/82, 521–542.
19. Lguirati A., G. AitBaddi, A. El Mousadik, V. Gilard, J.-C. Revel., Hafidi. M. Analysis of humic acids from aerated and non-aerated urban landfill composts. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2005, 56: 8 - 16.
20. Sellami, F., Hachicha, S., Chtourou, M., Medhioub, K., Ammar, E. Maturity assessment of composted olive mill wastes using UV spectra and humification parameters. *Bioresource Technology*. 2008, 99(15): 6900-6907.
21. Chefetz, B., P. G. Hatcher, Y. Hadar., Chen. Y. Chemical and Biological Characterization of Organic Matter during Composting of Municipal Solid Waste. *J. Environ. Qual.* 1996, 25: 776-785. doi:10.2134/jeq1996.00472425002500040018x
22. Ko, Han J., Kim, Ki Y., Kim, Hyeon T., Kim, Chi N., Umeda, M. Evaluation of maturity parameters and heavy metal contents in composts made from animal manure. *Waste Management*. 2008, (28): 5, 813-820.
23. Kulikowska, D., Sindrewicz, S. Effect of barley straw and coniferous bark on humification process during sewage sludge composting. *Waste Management*. 2018, (79), 207-213.
24. Iglesias-Jiménez, E., Pérez-García, V. Determination of maturity indices for city refuse composts. *Agriculture Ecosystems & Environment*. 1992, (38): 4, 331-343.