



ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
DPTO. AGROQUÍMICA Y MEDIO AMBIENTE

**VIABILIDAD DEL USO COMBINADO DE LA ESPECTROSCOPIA
NIRS, LA ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (FT-IR) Y
RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) EN LA
EVALUACIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS FRESCOS Y
COMPOSTADOS**

Luis Nazario Gálvez Sola

2010

Dr. Ignacio Gómez Lucas, Director del Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

CERTIFICA

Que la memoria adjunta, con título “Viabilidad del uso combinado de la espectroscopía NIRS, espectroscopía de infrarrojo FT-IR y Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en la evaluación de residuos orgánicos frescos y compostados”, presentada por D. Luis Nazario Gálvez Sola, ha sido realizada en el Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

El presente ejemplar ha sido revisado por el profesor que certifica

Fdo. Dr. Ignacio Gómez Lucas
Profesor Titular de Edafología y Química Agrícola
Elche, Octubre de 2010.

Esta memoria ha sido presentada por D. Luis Nazario Gálvez Sola, Licenciado en Ciencias Ambientales, para aspirar al grado de Doctor.

Fdo. Luis Nazario Gálvez Sola

Esta Tesis Doctoral ha sido dirigida por los profesores abajo firmantes, el Dr. Raúl Moral Herrero y la Dra. Concepción Paredes Gil, ambos pertenecientes al Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente de la Universidad Miguel Hernández de Elche, y por la Dra. María de los Ángeles Bustamante Muñoz, Investigadora Juan de la Cierva en el Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, CEBAS-CSIC.

Dr. Raúl Moral Herrero

Profesor Titular de Edafología
y Química Agrícola de la
Universidad Miguel Hernández
de Elche

Dra. Concepción Paredes Gil

Profesora Titular de Edafología y
Química Agrícola de la
Universidad Miguel Hernández
de Elche

Dra. María de los Ángeles Bustamante Muñoz

Investigadora Juan de la Cierva del
CEBAS-CSIC

Elche, Octubre de 2010.

Dra. María Dolores Pérez Murcia, Tutora del alumno de tercer ciclo D. Luis Nazario Gálvez Sola, en el Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

CERTIFICA

Que una vez revisado el texto, así como la labor desarrollada por el doctorando a lo largo de su formación en el programa de doctorado del Master Universitario en Gestión, Tratamiento y Valorización de Residuos Orgánicos en el Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente de la Universidad Miguel Hernández de Elche, autoriza a la presentación de esta memoria para que pueda ser juzgada por el correspondiente tribunal.

Fdo. Dra. María Dolores Pérez Murcia

Profesora Titular de Escuela Universitaria de
Edafología y Química Agrícola
Elche, octubre de 2010.

En primer lugar, quisiera agradecer a mis directores de tesis, Raúl Moral, Concepción Paredes y M^a Ángeles Bustamante, toda su dedicación, esfuerzo y el gran trabajo aportado, de principio a fin. Sin duda, es mucho lo que he aprendido de ellos y a buen seguro que todo lo aprendido me servirá en un futuro.

También quisiera dar las gracias a los profesores y profesoras del Departamento, Joaquín Moreno, M^a Dolores Pérez y Aurelia Pérez, porque siempre he podido contar con su ayuda cuando la he necesitado. Y por supuesto, a todos los compañeros del laboratorio, tanto los que están como los que estuvieron, José Antonio, Enrique, Belén, Eva, Adriana, Carmen, Adam y Carlo, con los que he trabajado codo con codo y he compartido tantos momentos que se quedarán en la memoria, tanto dentro como fuera del laboratorio.

A Frutos Marhuenda, Encarnación Martínez, Juana Jordá y a todos los colaboradores de la Universidad de Alicante, por toda la labor desarrollada en los análisis de RMN.

A Carmen Ballester y Antonio Zafra de los Servicios Técnicos de Investigación de la Universidad, por estar siempre ahí cada vez que necesitaba el NIR y por la ayuda ofrecida.

Tampoco me puedo olvidar en este momento de los profesores Jorge Mataix y Cesar Guerrero, que me dieron la primera oportunidad de trabajar en este mundillo de la investigación. Y por supuesto, a Ana Pérez, que tanto y tanto me enseñó durante la realización del Practicum al final de la carrera. En aquel momento se plantó la semilla.

Y que sería del mundo sin amigos. A ellos también tengo que agradecerles, además de su amistad, su apoyo y los grandísimos momentos que hemos pasado a lo largo de tantos años, y lo que nos queda. Sois muchos, así que no os puedo nombrar a todos, pero sabéis quien sois. Los compañeros de Ciencias Ambientales, siempre interesados por como ha ido esta tesis y que tantos ánimos me habéis dado. A los miembros de la MUGRE-KVF, con los que tanto he compartido durante años y años y lo que nos queda. A los de Pasico a Pasico, y a todos los muchísimos que formáis parte de mi vida, por ahora y por siempre. Me alegro de que esta lista sea muy larga.

Y en último lugar, y como se dice en estos casos, no por ello menos importante, a mi familia, mi hermana y en especial a mis padres. Ellos se han esforzado por darme la oportunidad que no tuvieron en su día, me han apoyado, ayudado y trabajado mucho por mí a lo largo de toda mi vida. Este trabajo también es vuestro. Unas líneas de agradecimiento en esta tesis es poco para agradecer todo lo que habéis hecho por vuestro hijo.



*Dedicado a mi familia,
con un recuerdo especial
a los que nos dejaron*

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Residuos orgánicos y compost	2
1.1.1. Naturaleza y tipología	2
1.1.1.1. Lodos de depuradora	2
1.1.1.2. Compost	8
1.1.2. Problemática asociada a la gestión y valorización de los residuos orgánicos	15
1.1.3. Aspectos agronómicos y ambientales del uso agrícola de enmiendas orgánicas	18
1.2. Valorización de residuos: el proceso de compostaje	22
1.3. Técnicas instrumentales avanzadas y su utilidad en el ámbito de los residuos orgánicos y los composts	30
1.3.1. La espectroscopía de infrarrojo mediante transformada de Fourier (FT-IR)	30
1.3.2. La espectroscopía en el infrarrojo cercano (NIRS)	33
1.3.3. La espectroscopía de resonancia magnética nuclear	43
2. OBJETIVOS	47
3. PUBLICACIONES	50
3.1. <i>Effectiveness of near infrared reflectance spectroscopy in the quick evaluation of nitrogen content in sewage sludge.</i> Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2009	51
3.2. <i>The potential of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the estimation of agroindustrial compost quality.</i> Science of the Total Environment, 2010	62
3.3. <i>Estimation of phosphorus content and dynamics during composting: Use of near infrared spectroscopy.</i> Chemosphere, 2010	71
3.4. <i>Study of the evolution of organic matter during composting of winery and distillery residues by classical and chemometric analysis.</i> Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009	81
4. RESUMEN DE RESULTADOS, DISCUSIONES Y CONCLUSIONES	93
5. BIBLIOGRAFIA	112



1. Introducción

1.1 RESIDUOS ORGÁNICOS Y COMPOST

La valorización de los materiales residuales de naturaleza orgánica en agricultura es una necesidad insoslayable en la realidad actual de escasez de recursos, contaminación creciente del medio natural e incremento del coste energético y económico de los fertilizantes de síntesis. En ese entorno, es necesario conocer en profundidad la naturaleza y tipología de estos flujos residuales, que se pueden utilizar en fresco o estabilizados. En este sentido nos centraremos en un residuo orgánico fresco como son los lodos de depuradora y en los materiales estabilizados resultantes del proceso de compostaje, denominados composts.

1.1.1. NATURALEZA Y TIPOLOGÍA

1.1.1.1. Lodos de depuradora

Los lodos de depuradora se obtienen durante los procesos de depuración de las aguas residuales. Dichos procesos tienen como finalidad la eliminación de sólidos, componentes orgánicos e inorgánicos y de patógenos de los efluentes urbanos e industriales. Los procesos de depuración más utilizados son los procesos biológicos, pudiendo intervenir procesos físico-químicos que mejoren la efectividad de las etapas de depuración. En todos los casos y tipos de tratamiento se generan unos fangos más o menos pastosos con un contenido en sólidos variable, entre un 0,25 y un 12% en peso, denominados lodos de depuradora. Se trata de un material semisólido, heterogéneo, cuya composición es muy variable y está determinada por las características del agua residual a tratar, por los procesos de depuración empleados y por el tratamiento al que es sometido el lodo.

Los lodos, debido a su origen, poseen un elevado contenido en agua, una alta capacidad de fermentación y una elevada carga patógena por lo que deben ser tratados a fin

de poder manejarlos más fácilmente y de evitar problemas en su utilización o eliminación posterior. En el tratamiento de los lodos ha de tenerse en cuenta el posible destino de éstos, ya que dicho tratamiento condiciona las características del producto final obtenido.

Los procesos de depuración de las aguas residuales dependen de las características de los vertidos, del volumen de vertido y de su variación diaria y estacional. Procesos diferentes dan origen a distintos tipos de lodos. Por otro lado, el tratamiento del lodo, así como su eliminación o reutilización estará condicionado por la normativa existente, considerando los aspectos sanitarios sobre el hombre, sobre los cultivos y sobre el medio ambiente.

Debido al aumento del número y capacidad de las EDAR, cada año en España se produce mayor cantidad de lodos. En el año 2008 se produjeron 1.177 miles de toneladas en materia seca de lodos (dato provisional), lo que supone un aumento de aproximadamente un 38% en el periodo 2000-2008 (Perfil Ambiental de España, 2009). Así, este residuo constituye, tanto por su volumen como por su composición, uno de los principales problemas en la gestión de residuos en España, tanto para las administraciones como para las empresas. La siguiente figura muestra la evolución en la producción de lodos en el periodo 1997-2008.



Figura 1.1. Evolución de la producción de lodos en el periodo 1997-2008. (Perfil Ambiental de España, 2009).

El destino final de los lodos de las estaciones depuradoras de aguas residuales ha sido y sigue siendo muy diverso, según las regiones, situación geográfica, población y facilidades de reutilización y vertido. La aplicación agrícola al suelo es la vía principal para un uso beneficioso del lodo mediante el reciclaje de nutrientes y materia orgánica al suelo. Las opciones actuales para la gestión del lodo son la aplicación agrícola, el compostaje, la digestión anaerobia, la deshidratación y secado térmico, la estabilización química, la estabilización aerobia (con o sin compostaje), la incineración o el depósito en vertedero (PNIR, 2008). En el año 2008, el 68,8% de los lodos fueron destinados a uso agrícola, una parte de ellos compostados. El 14,4% fue destinado a depósito en vertedero y el 3,7% a incineración, con o sin recuperación de energía. En la siguiente figura se puede ver la grafica de evolución de los tres destinos mayoritarios en el periodo 1997-2008:



Figura 1.2. Destino de los lodos durante el periodo 1997-2008. (Perfil Ambiental de España, 2009).

Según lo comentado anteriormente, gracias al elevado contenido de materia orgánica que poseen los lodos, alrededor del 50 % sobre peso seco, y a las considerables cantidades de macronutrientes, especialmente nitrógeno y fósforo, es conveniente la utilización de éstos como fertilizantes órgano-minerales. Esto supone un ahorro doble de energía: por una parte, la que se emplea para eliminar los lodos, y por otra parte, la

necesaria para obtener fertilizantes de síntesis, cuyo coste se ha incrementado en los últimos años (Pérez Murcia, 1999).

Los lodos pueden utilizarse como acondicionadores de suelos, lo cual permitirá a largo plazo mejorar las propiedades físicas de los suelos, contribuyendo a reducir su erosión, así como a la recuperación de zonas marginales improductivas. Otra posibilidad es su utilización como sustrato para la producción de plantas ornamentales y hortícolas. Para ello se requiere mejorar las características físicas del lodo, lo que se consigue mediante la técnica del compostaje (Pérez Murcia, 1999).

Los lodos de depuradora tienen la peculiaridad respecto a otro tipo de residuos de que su uso está regulado por la Directiva 86/278/CEE (DOCE, 1986) relativa a la protección del medio ambiente y, en particular de los suelos, en la utilización de los lodos con fines agrícolas. Según dicha Directiva, se permite la utilización en suelos agrícolas de los lodos de depuración cuando la concentración de metales pesados de los lodos y de los suelos receptores no supere ciertos límites y además, se controle la acumulación de metales pesados en las parcelas receptoras. En esta Directiva se establecen, entre otros, los siguientes requisitos:

- Proceso de tratamiento de los lodos.
- Frecuencia de controles de calidad de los lodos y suelos.
- Contenido máximo de metales pesados en los lodos.
- Contenido máximo de metales pesados en suelos.
- Cantidades máximas de lodos aplicables al suelo por hectárea y año en función del contenido en metales pesados de los suelos y de los lodos a aplicar, basándose en una media de diez años.
- Plazos de aplicación de lodos en distintos cultivos y aprovechamiento.

La Directiva prohíbe la aplicación de los lodos de depuradora sin tratar y también prohíbe de manera explícita la aplicación de lodos tratados a determinados cultivos y establece plazos para su aplicación en los cultivos autorizados. También indica que la aplicación de lodos debe de hacerse teniendo en cuenta las necesidades de nutrientes de las plantas. Esta Directiva se incorporó a la legislación española mediante el Real Decreto 1310/1990, de 29 de Octubre (BOE, 1990). También se establecen una serie de controles por parte de las Comunidades Autónomas para el seguimiento de la utilización de los lodos de depuradora en la actividad agraria y se crea el Registro Nacional de Lodos adscrito al Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Para el desarrollo y cumplimiento de lo establecido en el Real Decreto 1310/1990, el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación dicta la Orden de 26 de octubre de 1993 sobre utilización de lodos de depuración en el sector agrario. De esta forma se normaliza la información y se establecen los cauces para su recopilación final, de modo que pueda cumplirse con el mandato de la Comisión de elaborar un informe de síntesis sobre el empleo de los lodos en agricultura, precisando las cantidades utilizadas, los criterios seguidos y las dificultades encontradas. Por otra parte, en el citado Real Decreto también se indican los parámetros que, como mínimo, deben ser analizados en los lodos, tales como materia seca, materia orgánica, nitrógeno y fósforo, y en suelos y lodos, como el pH y el contenido en metales pesados.

En España, en los últimos años, se han establecido varios planes nacionales de lodos de depuradoras de aguas residuales. Con el I Plan Nacional de Lodos de Depuradora (2001-2006) (BOE, 2001), se realizó un gran esfuerzo en la prevención y reducción de la contaminación en origen, proporcionando información a los ayuntamientos y CCAA sobre el tipo de contaminantes originados en las actividades industriales, facilitando su identificación y puesta en marcha de posibles medidas. Se realizó la caracterización de los suelos receptores, para la confección de un mapa de materia orgánica, fósforo y metales pesados para delimitar áreas que requieran políticas específicas de protección del suelo y

establecer estrategias de reciclaje de residuos orgánicos como los lodos de depuradora, se realizó la caracterización de los lodos de depuradora, analizando parámetros agronómicos, metales pesados, compuestos orgánicos y microbiológicos de 66 depuradoras representativas de diversas condiciones y tipos. Hay que destacar que la mitad de los suelos españoles son muy pobres en materia orgánica, contienen menos del 1% en carbono orgánico total, y sus contenidos en metales son relativamente bajos, lo que permitiría el reciclaje de una parte importante de los lodos. También se ha realizado un estudio analítico de los composts fabricados con lodos y con RSU de recogida mixta, llegándose a la conclusión de que los composts de lodos poseen más nutrientes, principalmente N y P y tienen una menor relación C/N y menor contenido en metales pesados que los composts de RSU.

En el II Plan Nacional de Lodos de Depuradora (2008-2015) (PNIR, 2008), se establecen como objetivos ecológicos de obligado cumplimiento el asegurar la correcta gestión ambiental de los lodos y promover la valorización agrícola de los lodos cuando se den ciertas condiciones ecológicas y tecnológicas. Otros objetivos para el año 2015 son:

- Aplicación del 67% de los lodos en suelos agrícolas.
- Valorización del 18% de los lodos en otros suelos u otros tipos de valorización.
- Depósito en vertedero no superior al 12% de los lodos.
- Incineración no superior al 3% de los lodos.
- Correcta gestión ambiental del 100% de las cenizas de incineración.

En la siguiente tabla se muestran los valores medios de parámetros físicos y químicos de lodos de 82 depuradoras diferentes del sureste español. Además, incluye los valores de desviación estándar y el rango de variación correspondientes a un total de 337 muestras analizadas durante el periodo 2001-2006 (Pérez-Murcia y Moreno-Caselles, 2008):

Tabla 1.1. Composición media de los lodos de depuradora del sureste español (valores sobre materia seca) (Pérez-Murcia y Moreno-Caselles, 2008).

Parámetro	Unidad	Valor medio	Desviación estándar	Rango de variación
pH extracto 1:10	--	6,54	0,45	3,92-7,73
CE extracto 1:10	dS m ⁻¹	2,37	1,75	0,50-12,1
Materia orgánica total	%	53,0	10,59	14,0-74,8
Nitrógeno	%	4,74	1,42	1,16-8,40
Carbono orgánico total	%	33,0	6,12	12,0-46,2
Relación C/N	--	5,80	2,33	1,90-20,40
Fósforo	%	0,94	0,32	0,24-2,35
Potasio	%	0,33	0,18	0,08-1,27
Calcio	%	7,60	3,71	1,01-25,40
Magnesio	%	0,79	0,65	0,01-5,17
Sodio	%	0,26	0,39	0,02-4,66
Hierro	mg kg ⁻¹	12914	24068	14-150549
Cobre	mg kg ⁻¹	427	467	26-4912
Manganeso	mg kg ⁻¹	129	90,7	29-836
Cinc	mg kg ⁻¹	941	1429	152-24634
Cadmio	mg kg ⁻¹	8,12	16,1	1,0-189
Níquel	mg kg ⁻¹	50,5	121	2,0-1500
Plomo	mg kg ⁻¹	137	109	4,0-1119
Cromo	mg kg ⁻¹	544	3139	2,0-32662
Mercurio	mg kg ⁻¹	0,92	0,95	0,1-7,0

1.1.1.2. Compost

Podemos definir el compost como el producto que resulta del proceso de compostaje y maduración, constituido por una materia orgánica estabilizada semejante al humus, y con pocas similitudes a la materia orgánica original, puesto que se habrá degradado dando lugar a partículas más finas y oscuras. Será un producto inocuo y libre de sustancias fitotóxicas, cuya aplicación al suelo no provocará daños a las plantas, y que permitirá su almacenamiento sin posteriores tratamientos ni alteraciones (Costa y col., 1991).

El Real Decreto 824/2005 (BOE, 2005), modificado por la Orden APA/863/2008 (BOE, 2008), en su Anexo I, incluye al compost dentro del Grupo 6: Enmiendas Orgánicas, y se define como “producto higienizado y estabilizado, obtenido mediante descomposición biológica aeróbica, (incluyendo fase termofílica) bajo condiciones controladas, de materiales orgánicos biodegradables, contenidos en los epígrafes de la Lista Europea de Residuos, recogidos en el anexo IV, bajo condiciones controladas”. En ese mismo grupo quedan recogidas otras enmiendas (compost vegetal, compost de estiércol y vermicompost) producidas a partir de otros materiales orgánicos que han sido sometidos igualmente a un proceso de higienización y estabilización controlados.

Según estas definiciones, para considerar un material orgánico con el nombre de “compost”, se han de cumplir una serie de requisitos, tales como:

- Debe ser un producto estabilizado, por lo que la estabilización es un requisito previo a su empleo agrícola y debe conseguirse mediante procesos biológicos.
- Debe ser un producto inocuo. La destrucción de organismos patógenos se consigue con el efecto continuado de la alta temperatura, el tiempo y la competencia de la población microbiana no patógena con la patógena, condiciones que se dan principalmente en la etapa termófila del proceso de compostaje.
- Debe haberse sometido a una etapa inicial de descomposición, con lo que se debe excluir a todos los productos obtenidos por otros procesos diferentes al del compostaje. La degradación ocurre durante la primera fase del compostaje, porque para iniciar la estabilización ha de finalizar primero esta fase, donde la presencia de compuestos orgánicos solubles y catabolitos orgánicos estará en un nivel muy bajo.

- Será el resultado de un proceso de humificación, ya que durante la fase de estabilización del producto, o fase de maduración, se produce una humificación, acompañada de un lento proceso de mineralización.

Por otra parte, la aplicación agrícola de los composts empleados sin un adecuado grado de madurez puede ocasionar efectos negativos graves, por ejemplo, disminución del contenido de oxígeno a nivel de las raíces, bloqueo del nitrógeno del suelo, aumento excesivo de la temperatura del suelo, acumulación de sustancias fitotóxicas o contaminación del medio receptor con microorganismos patógenos (Costa y col., 1991). Por todo ello, se hace necesario evaluar la madurez del compost, llevando a cabo diversas determinaciones físicas, químicas, físico-químicas y microbiológicas, siendo recomendado realizar un seguimiento completo del desarrollo del proceso de compostaje, ya que de esta forma se puede obtener una idea más clara y segura de la madurez o estabilidad del producto, de la eficacia del proceso de compostaje, y por tanto, de su aplicabilidad. La madurez del compost alude a la idoneidad para el crecimiento de las plantas, relacionada con el grado de descomposición de los compuestos fitotóxicos y a la producción de sustancias de tipo húmico (Wu y col., 2000).

El compostaje proporciona una población microbiana residente compuesta por una gran variedad de microorganismos mesofílicos, termotolerantes y termofílicos. Esta diversidad microbiana es incluso un requisito para un proceso de compostaje satisfactorio ya que la presencia de ciertos microorganismos puede reflejar la calidad del compost maduro (Beffa y col., 1996; Takaku y col., 2006). A pesar de todo, la estabilidad y/o madurez del compost es difícil de determinar con un solo parámetro, principalmente debido a la gran variedad de materias primas y procesos de compostaje.

Numerosos parámetros han sido propuestos por diversos autores para evaluar el proceso de compostaje y el grado de madurez y estabilidad del compost (Bernal y col.,

1998), como la capacidad de intercambio catiónico y su relación con el carbono orgánico total (Harada e Inoko, 1980; Iglesias-Jiménez y Pérez- García, 1992a), diferentes índices de humificación (Iglesias-Jiménez y Pérez- García, 1992b), la relación C/N, el contenido en carbono hidrosoluble y su relación con el N orgánico, la relación $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ (Bernal y col., 1998; Hue y Liu, 1995; Zmora-Nahum y col., 2005), el contenido en $\text{NH}_4^+\text{-N}$, el índice de germinación (Zucconi y col., 1981), la determinación de índices de respiración (Gomez y col., 2006) y el contenido en ATP o reacciones enzimáticas (Tiquia, 2002).

En Europa, la producción y comercialización de los composts se regula por la Comisión Europea. El Reglamento (CE) 2003/2003 (DOUE, 2003) sobre abonos y el 2º borrador Europeo sobre Tratamiento Biológico de Bio-residuos (European Commission, 2001) son los dos documentos legales europeos existentes para establecer los requisitos mínimos exigidos para denominar compost a un producto tratado para uso agrícola. El 2º borrador Europeo sobre Tratamiento Biológico de Bio-residuos del 2001 es un documento de trabajo que todavía no está aprobado ni publicado en el Diario Oficial de la Unión Europea, pero que indica los posibles futuros criterios para el establecimiento de un producto como compost. En este documento de trabajo se indica un listado de los bio-residuos adecuados para que se traten biológicamente, los períodos de tiempo durante los cuales las pilas de residuos a compostar deben de estar a una temperatura determinada, los volteos a realizar dependiendo del sistema de compostaje empleado, los criterios establecidos para considerar un producto como compost y la frecuencia de muestreos y los parámetros a determinar dependiendo de la producción de compost de la planta de compostaje.

En la legislación española, concretamente en el anexo I de la Orden APA/863/2008 (BOE, 2008), se dan ciertos requisitos a cumplir por todas las enmiendas orgánicas denominadas como “compost”, tales como:

- Contenido mínimo en nutrientes (% en masa), información sobre la evaluación de los nutrientes y otros requisitos:
 - Materia orgánica total: >35%
 - Humedad máxima: 40%
 - C/N < 20.
 - Las piedras y gravas eventualmente presentes de diámetro superior a 5mm no superarán el 5%. Las impurezas (metales, vidrios y plásticos) eventualmente presentes de diámetro superior a 2 mm no superarán el 3%. El 90% de las partículas pasarán por la malla de 25 mm.
- Otras informaciones sobre la denominación del tipo o del etiquetado:
 - pH.
 - Conductividad eléctrica.
 - Relación C/N.
 - Humedad mínima y máxima.
 - Materias primas utilizadas.
 - Tratamiento o proceso de elaboración.
- Contenido en nutrientes que deben declararse y garantizarse, formas y solubilidad de los nutrientes y otros criterios:
 - Materia orgánica total.
 - Carbono orgánico.
 - Nitrógeno total (si supera el 1%).
 - Nitrógeno orgánico (si supera el 1%).
 - Nitrógeno amoniacal (si supera el 1%).
 - P₂O₅ total (si supera el 1%).
 - K₂O total (si supera el 1%).
 - Ácidos húmicos.
 - Granulometría.

Tabla 1.2. Principales características de diferentes tipos de composts (datos referidos a materia seca).

Parámetro	Compost residuos vegetales			Compost residuos ganaderos			Compost residuos agroindustriales			Compost residuos urbanos		
	CRPC	CRVM	CRVM	CEA	CFSPC	CEV	CRIL	CRV	CRIO	CRU	CLD	CRM
pH	8,4	7,9	8,1	5,6-8,5	6,7	7,6	8,5	7,4	8,5-9,0	7,0-8,1	6,8-7,8	7,5
CE (dS/m)	1,59	2,30	-	2,40-3,97	4,01	-	-	2,82	2,96-4,81	1,80-4,50	2,04-7,40	3,07
MOT (%)	53,1	38,7	-	-	64,1	71,1	-	82,0	79,3-91,2	22,9-32,0-	58,3-64,8	-
COT (%)	16,1	-	21,1	31,3-50,0	35,8	41,5	43,6	45,1	-	8,6-12,0	-	11,3
NT (%)	1,27	-	1,40	0,87-5,11	2,85	3,70	1,76	2,91	2,17-2,63	0,91-1,10	2,83-4,05	0,63
C/N	12,7	-	15,1	6,0-32,0	12,6	11,2	25,1	15,5	16,6-22,7	9,1-13,2	9,0-12,3	16,4
P (%)	0,20	-	-	0,39-1,77	0,29	-	-	0,54	0,14-019	0,33-1,21	2,33-2,89	0,16
K (%)	1,13	-	-	0,68-3,40	0,82	-	-	1,90	2,49-4,27	0,41-0,80	0,28-0,42	0,46
Fe (mg/kg)	-	-	-	-	4216	-	-	1355	525-1468	9534	3600-21400	-
Cu (mg/kg)	-	63	80	18-585	116	-	-	36	21-36	149	26-338	198
Mn (mg/kg)	-	-	-	-	584	-	-	129	38-98	454	104-184	-
Zn (mg/kg)	-	369	220	100-646	1047	-	-	140	38-138	671	164-1087	252
Ni (mg/kg)	-	20	55	-	-	-	-	10	-	649	8-54	-
Cr (mg/kg)	-	-	61	-	-	-	-	9	-	177	10-95	-
Cd (mg/kg)	-	1,3	-	-	-	-	-	<1	-	4	0,8-1,5	-
Pb (mg/kg)	-	198	-	-	-	-	-	16	-	200	16-110	-
Referencia	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)

(1): Ros y col. (2005); (2): Farrell y Jones (2009); (3): Doelsch y col. (2010); (4): Tiquia y Tam (2002); (5): Manios (2004); (6): Green y col. (2004); (7): Wang y col. (2004); (8): Bustamante y col. (2008); (9): Cegarra y Paredes (2008); (10): Pascual y col. (1997); (11): Pérez-Murcia y Moreno-Caselles (2008); (12): Saha y col. (2010)

CRPC: compost de restos de poda y residuo de café; CRVM: compost de residuos vegetales municipales (constituido por residuos de parques y jardines); CEA: composts de diferentes estiércoles de animales; CFSPC: compost de la fracción sólida de purín de cerdo; CEV: compost de estiércol vacuno; CRIL: compost de residuos de la industria láctea; CRV: compost de residuos vitivinícolas; CRIO: composts de residuos de la industria oleícola; CRU: composts de residuos sólidos municipales y de lodos de depuración de aguas residuales urbanas; CLD: composts de lodos de depuración de aguas residuales urbanas; CRM: compost de residuos sólidos municipales; -: no determinado.

En la tabla 1.2 se muestran algunas características de diferentes tipos de composts. En la mayoría de los casos los valores de pH estuvieron dentro del intervalo compatible con el crecimiento de las plantas (5,5-8,0) (Zucconi y de Bertoldi, 1987). Todos los composts, excepto los elaborados a base de lodos de depuración de aguas residuales urbanas, presentaron valores de conductividad eléctrica no excesivamente elevados, lo que permite suponer que la aplicación al suelo de estos materiales no debería contribuir a su salinización.

Por otra parte, en todos los composts los contenidos de materia orgánica estuvieron por encima del valor mínimo exigido por la legislación para considerar a un material como compost (materia orgánica > 35%) (BOE, 2005), excepto en el caso de los composts de residuos sólidos municipales con lodos de depuración de aguas residuales urbanas. También, en la mayoría de los composts la materia orgánica presentó un grado aceptable de estabilidad, teniendo en cuenta que el valor de la relación C/N fue <20, tal y como indica la legislación (BOE, 2005). Respecto al valor fertilizante de éstos, los composts que presentaron mayor contenido de nitrógeno fueron los que contenían lodo de depuración de aguas residuales o estiércol de animales, mientras que los composts con mayor riqueza fosfórica fueron los elaborados con lodo de depuración de aguas. Los composts de origen oleícola presentaron mayor concentración de potasio.

Finalmente, en relación a la concentración de metales pesados, los composts que presentaron los contenidos más bajos de estos elementos fueron los de origen agroindustrial, mientras que los composts de origen urbano tuvieron los mayores contenidos de elementos potencialmente tóxicos. Este contenido alto de metales pesados en los composts de origen urbano hizo que se clasificaran dentro de la clase C, limitándose así su empleo agrícola (BOE, 2005).

Los usos del compost pueden ser variados. Destacan su empleo como abono orgánico en agricultura y/o jardinería (Nogales y col., 1995; Paredes y col., 2005), como enmendante en la recuperación de suelos degradados o en casos de biorremediación (Chen y col., 2000; Walker y col., 2003; Mendez y col., 2007) y como sustrato, solo o mezclado con otros materiales (Vavrina, 1994; Abad y col., 2009). A la hora de utilizar un compost con fines agrícolas se debe considerar su capacidad para aportar nutrientes, fundamentalmente nitrógeno, ya que los composts, al tratarse de materiales que han sufrido un proceso de estabilización, presentan una mineralización más lenta, de modo que a corto plazo presentan una baja disponibilidad de nitrógeno aportado al suelo. Por esta razón, son considerados como fertilizantes de liberación lenta, siendo esta característica importante desde el punto de vista de la prevención de la contaminación por exceso de nutrientes. El empleo agrícola ha sido recomendado por diversos autores, debido a que tras la aplicación del compost al suelo se mejoran sus propiedades físicas, como el balance hídrico (Nogales y col., 1995), propiedades químicas, como la capacidad de intercambio catiónico (Saña y Soliva, 1987; Gallardo-Lara y Nogales, 1987), y las propiedades biológicas del suelo, como el aumento de las actividades enzimáticas (García-Gil y col., 2000; Crecchio y col., 2004).

Por todo esto, el uso agrícola del compost contribuye a la reutilización de la materia orgánica procedentes de la recogida y tratamiento de residuos.

1.1.2. PROBLEMÁTICA ASOCIADA A LA GESTIÓN Y VALORIZACIÓN DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS

La creciente producción de residuos orgánicos hace que su correcta gestión sea de vital importancia para que no se produzcan incidencias negativas para el medio ambiente en general y para el sistema suelo-planta en particular. Es importante considerar que sin

un adecuado control y optimización de su uso en función de criterios científicos, estos residuos pueden constituir un vector de contaminación y degradación de los sistemas agrícolas, así como de otros compartimentos medioambientales. En general, la contaminación no puede considerarse como un proceso degradativo aislado de un compartimento biogeoquímico en particular, pues todos ellos están conectados entre sí: biosfera (biomasa terrestre, biomasa marina y hombre), litosfera (corteza, suelo y sedimentos), hidrosfera (agua dulce, agua de mar) y la atmósfera. Esta interrelación puede minimizar el efecto de la contaminación, ser origen de ella, e incluso, ser un medio eficaz de propagación. El suelo como compartimento donde se incorpora el residuo, es un sistema abierto y dinámico que tiende a permanecer en condiciones de equilibrio. Además puede considerarse como un sistema amortiguador y/o depurador al ser capaz de minimizar alteraciones de algunas de sus propiedades, así como degradar o inmovilizar contaminantes.

Todas las tendencias legislativas en el ámbito de la gestión de residuos se basan en la gestión integral de éstos, lo que implica abordar el ciclo en su totalidad, desde la minimización en origen hasta el uso final de los productos obtenidos. Las estrategias de tratamiento han de dar respuesta a la siguiente pregunta: ¿Qué hacer para obtener un producto con una calidad que cumpla unas especificaciones a partir de una materia prima de una calidad determinada, con el mínimo impacto ambiental, utilizando tecnologías disponibles en el mercado y con un coste económico viable para el usuario? Lo anterior corresponde a la definición de mejor tecnología disponible (MTD) según la directiva IPPC (Directiva 2008/1/CE) (DOUE, 2008a) relativa a la prevención y control integrados de la contaminación.

A pesar de que las directivas y reglamentos europeos posibilitan una evolución pareja en Europa, en la implantación de tecnologías de transformación de residuos orgánicos, las diferentes condiciones de contorno imperantes en cada país explican

diferencias sustanciales en el grado de implantación. Estas condiciones comprenden los costes y precios de la energía, la intensidad y densidad de producción de residuos (que afecta a los costes de transporte), la demanda de fertilizantes o enmiendas, la posibilidad de tratamiento colectivo o co-tratamiento y la aceptación por parte de la población (EEA, 2002).

En la actualidad, se da mucha importancia a la minimización de materia orgánica biodegradable que entra a vertedero, siendo éste el primer punto a cumplir dentro de la gestión de residuos. La Directiva 1999/31/CE (DOCE, 1999) relativa al vertido de residuos es muy explícita en este sentido y programa la reducción gradual y obligatoria de residuos biodegradables que entra en vertederos, con valores de reducción del 75% a los 5 años, 50% a los 8 años y 35% a los 15 años a partir de la transposición de la Directiva a las legislaciones estatales (en España, mediante el Real Decreto 1481/2001 (BOE, 2002)) y respecto a los residuos biodegradables generados en el año 1995. Para hacer posibles estos objetivos son posibles 3 grupos de estrategias genéricas: 1) transformación para mejorar la calidad y reciclaje en sistemas agrarios (digestión anaerobia y compostaje); 2) transformación para reducir materia orgánica y aislamiento en vertedero (tratamiento mecánico-biológico); 3) incineración y aislamiento de cenizas. Los costes económicos dependen de un equilibrio entre el diseño tecnológico y los aspectos de la gestión y recogida. Los procesos con la finalidad de reducir la materia orgánica biodegradable en cualquier tipología de residuo orgánico, de forma genérica son (European Commission, 2000; 2001):

- Compostaje.
- Digestión anaerobia (mesofílica o termofílica).
- Combinación de digestión anaerobia y compostaje del digestado.
- Digestión aerobia.
- Desnitrificación.

El reciclaje está priorizado por encima de la valorización energética y las prácticas de eliminación o aislamiento, según la Directiva 2008/98/CE (DOUE, 2008b), relativa a residuos, y cuya transposición a la normativa española deberá de realizarse antes del 12 de Diciembre del 2010. En este sentido, se debe priorizar la obtención de productos con la calidad necesaria para poder sustituir materias primas y reciclarse en las cadenas productivas o en proyectos de mejora ambiental.

1.1.3. ASPECTOS AGRONÓMICOS Y AMBIENTALES DEL USO AGRÍCOLA DE ENMIENDAS ORGÁNICAS

El suelo es un recurso no renovable, debido al largo tiempo que se necesita para generarse a partir de la roca madre. Actualmente, el suelo está sometido a procesos de degradación, desertización o desertificación. La degradación del suelo está relacionada con un descenso del contenido en materia orgánica de éste. Algunas consecuencias de esta disminución en la materia orgánica son:

- Pérdida de la estructura del suelo.
- Menor retención de agua y nutrientes.
- Pobreza biológica.
- Pérdida de fertilidad
- Incremento de los riesgos de erosión.

En los últimos años, se ha incrementado la producción de residuos orgánicos debido, entre otros, a factores como la aglomeración de la población, la concentración y/o intensificación de la agricultura y la ganadería, el desarrollo de la industria, especialmente la agroalimentaria, etc.

Por lo tanto, hay un mayor aumento en la producción de residuos orgánicos (en España > 45 millones de toneladas/año) (INE, 2009; Perfil Ambiental de España, 2009), y una disminución de la fase orgánica del suelo. Por ello, se deben buscar nuevas fuentes para el mantenimiento sostenible de la materia orgánica del suelo, y para tal fin podemos convertir los residuos en recursos orgánicos.

Se han realizado muchos estudios en todo el mundo sobre la adición de materia orgánica en el suelo, y los buenos resultados obtenidos en cuanto al aumento de la resistencia a la erosión, el aumento de la fertilidad, mejora de la infiltración, de la retención hídrica, reducción de la compactación, contaminación, etc. y de cómo se pueden paliar problemas derivados del uso de plaguicidas, la lixiviación de nutrientes y la emisión de gases a la atmósfera. En cuanto a los estudios realizados sobre agricultura orgánica, biológica o ecológica, los resultados obtenidos conducen a una mejora en la calidad del suelo y en su actividad biológica, si los comparamos con los métodos de agricultura convencional. Estos estudios demuestran que la aplicación de materia orgánica en agricultura ecológica, conduce a buenas condiciones de pH, y mejora los valores del carbono y nitrógeno orgánico, de la mineralización del nitrógeno, de la capacidad de intercambio catiónico, biomasa microbiana y su actividad, etc. (Kirchmann y Thorvaldsson, 2000). Por tanto, la materia orgánica contribuye a preservar las propiedades físicas, biológicas y químicas del suelo.

Los principales beneficios de la aplicación de materia orgánica al suelo son los siguientes (Labrador Moreno, 1996):

- **Propiedades físicas:** un contenido adecuado en materia orgánica mantiene la estructura del suelo en buenas condiciones y la estabilidad de dicha estructura. Contribuye a la formación de complejos arcillo-húmicos y órgano-minerales (microagregados) y a la unión de partículas formando macroagregados,

resultando una porosidad adecuada que permita una mejora de la infiltración, de la capacidad de retención hídrica, evitando en lo posible la compactación, etc.

- **Propiedades químicas:** la adición de materia orgánica al suelo produce un aumento del contenido de carbono y nitrógeno orgánicos y del fósforo asimilable por las plantas. La materia orgánica favorece la capacidad tampón a los cambios de pH. El pH del suelo alcanza valores medios, adecuados para la movilización de nutrientes. Otro aspecto derivado de la adición de materia orgánica es la formación de complejos con la arcilla, resultando en un aumento en la capacidad de intercambio catiónico.
- **Propiedades biológicas:** la actividad biológica y enzimática está relacionada con la predisposición degradativa de los suelos y el reciclado de nutrientes, es decir, una actividad biológica baja o escasa predispone al suelo a una menor resistencia a la degradación. La materia orgánica sirve de sustrato para el crecimiento y desarrollo de los microorganismos, por lo que en presencia de esta materia orgánica, la biomasa microbiana aumentará, aumentando también su actividad. La transformación de la materia orgánica por parte de los microorganismos tiene repercusión en el resto de propiedades del suelo y lo induce a la colonización vegetal, lo que a su vez revierte en dichas propiedades, pudiendo llegar a una situación de aumento en la humedad y la retención de agua, formación de agregados estables, aumento de las tasas de infiltración, disminución de densidad aparente, etc. Pero el aumento de materia orgánica no solo sirve de sustrato para los microorganismos. La edafofauna también se ve beneficiada por este aporte de materia orgánica, pudiendo incrementarse su población, revertiendo de nuevo en las propiedades indicadas, gracias a su actividad.

Cada propiedad del suelo afecta o tiene relación con una o varias funciones de éste, tal y como se puede ver en la Tabla 1.3, donde se muestran los efectos más destacados de la materia orgánica humificada sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Labrador Moreno, 1996):

Tabla 1.3. Efectos más destacados de la materia orgánica en el suelo (Labrador Moreno, 1996).

PROPIEDADES DEL SUELO	EFFECTOS DE LA MATERIA ORGÁNICA HUMIFICADA
Físicas	Aumenta la capacidad calorífica Suelos más calientes en primavera Reduce las oscilaciones térmicas Agrega las partículas elementales Aligera suelos arcillosos y cohesiona los arenosos Aumenta la estabilidad estructural Aumenta la permeabilidad hídrica y gaseosa Facilita el drenaje y las labores Reduce la erosión Aumenta la capacidad de retención hídrica Reduce la evaporación Mejora el balance hídrico
Químicas	Aumento del poder tampón Regula el pH Aumenta la capacidad de cambio catiónico Mantiene los cationes en forma asimilable Forma quelatos y fosfohumatos Mantiene las reservas de nitrógeno
Biológicas	Favorece la respiración radicular Favorece la germinación de semillas Favorece el estado sanitario de organismos subterráneos Regula la actividad microbiana Fuente de energía para microorganismos heterótrofos El CO ₂ desprendido favorece la solubilización mineral Contrarresta el efecto de algunas toxinas Modifica la actividad enzimática Activa la rizogénesis Fuente de energía para microorganismos heterótrofos

El contenido en carbono orgánico es uno de los indicadores de calidad del suelo más importantes. Cuando se realizan estudios de monitorización o seguimiento de la calidad del suelo, el análisis del contenido en carbono orgánico es esencial y uno de los más importantes, tanto es así, que en los estudios de agricultura y medio ambiente de la *European Environment Agency* (Agencia Europea del Medio Ambiente), el principal indicador que se tiene en cuenta para evaluar la calidad del suelo es el contenido en carbono orgánico, como se puede comprobar en su informe sobre indicadores IRENA (*Indicator Reporting on the Integration of Environmental Concerns into Agriculture Policy*) (EEA, 2005).

1.2. VALORIZACIÓN DE RESIDUOS: EL PROCESO DE COMPOSTAJE

El compostaje es un proceso bio-oxidativo controlado, en el que intervienen numerosos y variados microorganismos, que requiere una humedad adecuada y sustratos orgánicos heterogéneos en estado sólido. Implica el paso por una etapa termofílica y una producción temporal de fitotoxinas, dando al final como productos de los procesos de degradación, dióxido de carbono, agua y minerales, así como una materia orgánica estabilizada, libre de fitotoxinas y dispuesta para su empleo en agricultura sin que provoque fenómenos adversos (Costa y col., 1991).

La conversión de la materia orgánica inicial, biodegradable, al estado de materia orgánica humificada (humus), realizada durante el compostaje, es un proceso microbiológico influido por la naturaleza de los organismos presentes, como bacterias, hongos y actinomicetos, fundamentalmente. Durante el proceso de compostaje tiene lugar una sucesión de predominio de diferentes microorganismos; en función de la influencia de determinados factores, como la naturaleza química del sustrato que está siendo degradado con mayor intensidad, el contenido de humedad, la disponibilidad de

oxígeno, la temperatura, la relación C/N y el pH, ciertos microorganismos se multiplican más rápidamente que otros, predominando en el medio de degradación de la materia orgánica.

Durante el proceso de compostaje se observan dos fases fundamentales:

- a) La fase biooxidativa del compostaje, durante la cual, la actividad de los microorganismos que intervienen en el proceso es máxima como consecuencia de tener a su alcance gran cantidad de compuestos fácilmente biodegradables, procedentes de los materiales de partida. Durante esta fase la mineralización de la materia orgánica es el proceso más importante.
- b) La fase de maduración o humificación, momento en que la actividad de los microorganismos está ralentizada, ya que disponen de poco material biodegradable, descompuesto durante la fase anterior; en esta segunda etapa predominan los procesos de humificación con reacciones de policondensación, dando lugar a la formación de un producto similar al humus, que se conoce con el nombre de compost (García y col, 1990).

La siguiente figura muestra las etapas del proceso de compostaje aerobio, como el utilizado para la elaboración de los composts utilizados en este estudio:

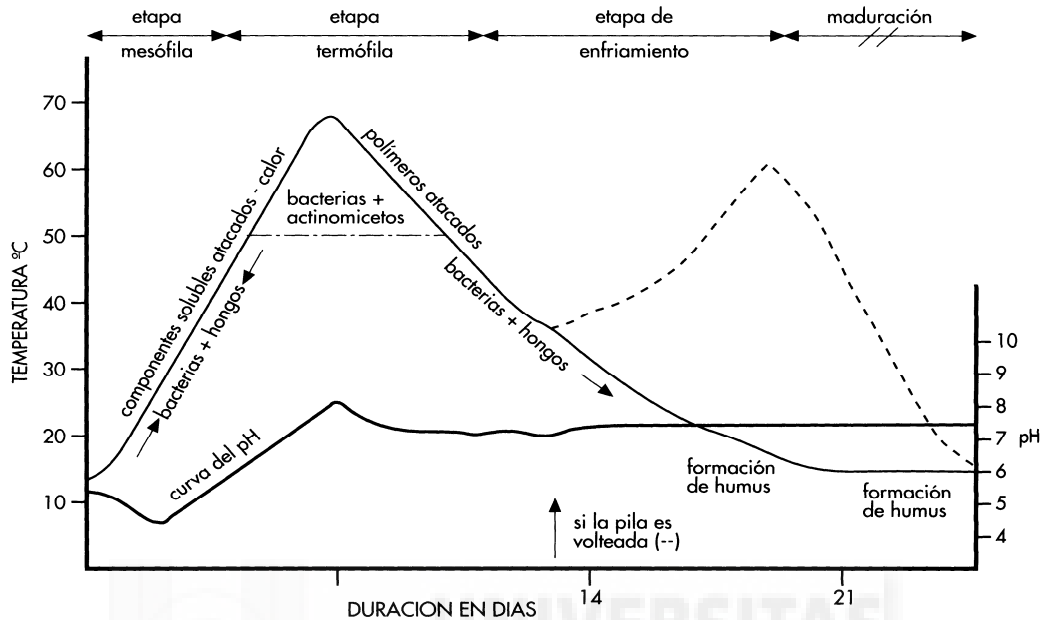


Figura 1.3. Etapas del proceso de compostaje aerobio (Costa y col., 1991).

La evolución de la temperatura durante el proceso de compostaje marca las diferentes etapas que nos determinan el grado evolutivo del material compostado. Las etapas que componen este proceso en condiciones aerobias y el tipo de microorganismos que actúan son las siguientes (Chen e Inbar, 1993):

- Etapa mesófila. Al comienzo del proceso, la masa está a temperatura ambiente. A medida que la población indígena se multiplica, la temperatura aumenta rápidamente. Es una etapa de marcado carácter mesófilo, en la cual, entre los productos que se forman, destacan los ácidos orgánicos de cadena corta. La acidificación lleva consigo el descenso del valor de pH. La temperatura se eleva hasta alcanzar los 40°C.

- Etapa termófila. Alcanzados los 40°C, la actividad mesofílica cesa y se entra en una segunda etapa, la etapa termófila, en la que se distinguen dos fases: Una fase inicial, en la cual la temperatura se eleva progresivamente. La acidez del medio evoluciona, apreciándose un aumento del pH, consecuencia directa de la presencia del ión amonio como producto de la degradación. Hay una destrucción de huevos y larvas de insectos, lombrices y semillas. Comienza también la destrucción de bacterias patógenas. En la segunda fase, más lenta, hay un incremento mayor de la temperatura, pudiéndose alcanzar la cota superior alrededor de los 75°C. Destrucción de bacterias patógenas (paratífus), salmonelas y bacilos intestinales. Desaparición de hongos y bacterias termofílicas. El aumento de la temperatura puede provocar pérdidas de nitrógeno en forma amoniacal. El pH desciende ligeramente.
- Etapa de enfriamiento. La masa se comienza a enfriar debido a que los materiales fácilmente degradables se han consumido, la reacción se ralentiza y el calor generado es menor que el que se pierde. En esta fase la temperatura desciende y se recuperan las condiciones térmicas precedentes. La liberación de calor es suave y la temperatura desciende hasta alcanzar la del ambiente. El pH no sufre modificación apreciable.
- Etapa de maduración. Tiene lugar a temperatura ambiente. En esta etapa se producen complejas reacciones secundarias de condensación y de polimerización, las cuales dan lugar al humus como producto final. La etapa de maduración precisa de un período de tiempo más extenso que las etapas anteriores. Se detecta la presencia de sustancias dotadas de actividad antibiótica y la desaparición de gérmenes patógenos. La pérdida de masa y la emisión de calor son escasas.

La naturaleza del sustrato sobre el que actúan los microorganismos es otro factor relevante. Los principales residuos que se destinan a la producción de compost son de origen agrícola, ganadero, urbano (basuras y lodos), industrial y forestal. Las características físicas y químicas de cada uno de ellos dependen de su procedencia. Las principales características físicas, físico-químicas y químicas del sustrato que influyen en el compostaje son:

- a) El tamaño de las partículas, pues cuanto mayor sea la superficie expuesta al ataque microbiano, más rápida y completa será la reacción (mayor actividad química por unidad de masa). Por tanto, el desmenuzamiento del material facilitará el ataque por parte de los microorganismos e influirá sobre la velocidad del proceso, pudiendo hasta duplicarla si se muele el material. Las dimensiones de partícula ideales deberían ser las microscópicas; sin embargo, las limitaciones como el consumo energético y costes, además de la necesidad de que exista una determinada porosidad en la masa para que se produzca el intercambio gaseoso, marcan tamaños mínimos que distan mucho del molecular. La experiencia demuestra que el tamaño ha de situarse entre 1 y 5 cm de diámetro (Biddlestone y Gray, 1991).
- b) La porosidad del sustrato: en el caso de sustratos poco porosos, como lodos, purines, etc., es conveniente mezclarlos con otros materiales que confieran estructura apropiada para la aireación y la capacidad de retención hídrica, y que además serán preferentemente inertes desde el punto de vista químico, con el fin de que no presenten reacciones simultáneas (Costa y col., 1991).
- c) La relación superficie/volumen de las partículas tiene una influencia directa en la forma y velocidad de la degradación. La relación aire/agua en los intersticios de las partículas es igualmente importante; agua y oxígeno son indispensables para

la actividad microbiológica y cuando la proporción es menor del nivel crítico, el metabolismo microbiano y la respiración disminuyen y se paralizan (Costa y col., 1991).

- d) Relación C/N: debido a que los microorganismos utilizan generalmente treinta partes de carbono por cada una de nitrógeno, en teoría, esta relación debe considerarse como óptima en los materiales que se vayan a compostar. Los valores más recomendables de esta relación para un rápido y eficiente compostaje están comprendidos entre 25 y 35 (Saña y Soliva, 1987; Costa y col., 1991). Si esta relación tiene valores menores se producen pérdidas de nitrógeno en forma de amonio y si por el contrario, la relación inicial es elevada, el proceso se prolonga siendo necesaria la adición de nitrógeno para rebajarla.
- e) Contenido de nutrientes: la utilidad de los residuos que se emplean en el compostaje está en función de la disponibilidad de elementos nutritivos que posean. Los microorganismos del proceso de compostaje precisan elementos esenciales para su nutrición, desarrollo y reproducción. Entre éstos están algunos micronutrientes (boro, manganeso, cinc, cobre, hierro, molibdeno y cobalto) aunque en poca cantidad, pues pueden llegar a ser tóxicos a concentraciones altas. Estos elementos desempeñan un importante papel en la síntesis de enzimas, en el metabolismo de los microorganismos y en los mecanismos de transporte intra y extracelular (Biddlestone y Gray, 1991).
- f) pH: en general, se pueden compostar materiales dentro de un amplio rango de valores de pH (3-11). No obstante, los comprendidos entre 5,5 y 8 son los que se consideran óptimos, ya que en general los hongos toleran un amplio margen de pH (5-8) mientras que, las bacterias tienen un margen más estrecho (pH 6-7,5) (Costa y col., 1991).

Condiciones ambientales: en este apartado se consideran aquellos parámetros cuya correcta evolución es necesaria para que se desarrolle adecuadamente el proceso de compostaje.

- a) Temperatura: este parámetro varía durante el proceso de compostaje marcando las diferentes etapas que nos determinan el grado evolutivo del material compostado. Desde un punto de vista termodinámico, la biodegradación se desarrolla a través de un proceso global exoenergético, constituido por diferentes etapas (mesófila, termófila, de enfriamiento y de maduración). Se consideran óptimas las temperaturas del intervalo 35-55 °C, ya que a temperaturas más altas, los microorganismos más interesantes para el proceso mueren o se desactivan por encontrarse esporulados. Por otra parte, la generación de temperaturas demasiado altas implica una mayor mineralización que conduce a la obtención de productos finales menos ricos en materia orgánica (Saña y Soliva, 1987).
- b) pH: La acidez inicial es la propia de los residuos a compostar y posteriormente desciende, para a continuación alcanzarse y superarse la neutralidad. En la etapa inicial del compostaje los microorganismos actúan sobre la materia orgánica más lábil, produciéndose una liberación de ácidos orgánicos que provoca un descenso en el pH inicial. Posteriormente, debido a un aumento en la concentración del ión amonio el pH aumenta. Conviene tener en cuenta que aumentos grandes de pH acompañados de elevaciones fuertes de temperatura pueden suponer pérdidas de nitrógeno en forma de amoniaco (Costa y col., 1991).
- c) Aireación: es imprescindible asegurar la presencia de oxígeno para el desarrollo del proceso de compostaje, pero siempre dentro de unos límites, ya que un exceso de aireación podría provocar el enfriamiento de la masa con la

consiguiente disminución de la actividad microbiana. El nivel de oxígeno óptimo está dentro del intervalo 10-18% (Biddlestone y Gray, 1991). El oxígeno no sólo es necesario para la respiración de los microorganismos y el metabolismo aerobio, sino también para oxidar algunas moléculas orgánicas presentes en la masa a compostar.

- d) Humedad: los microorganismos necesitan cierta cantidad de agua para su metabolismo; ésta constituye también un medio de transporte de los nutrientes solubles y de los productos de reacción. El nivel óptimo de humedad está situado entre un 40 y un 60%. La actividad microbiana se reduce considerablemente cuando el contenido de humedad cae por debajo del 30%. Por debajo del 12% cesa, prácticamente, toda la actividad biológica, siendo el proceso extremadamente lento (Saña y Soliva, 1987).

De forma resumida, las ventajas e inconvenientes del compostaje son (Flotats y Solé, 2008):

Tabla 1.4. Ventajas e inconvenientes del compostaje.

VENTAJAS ↑	INCONVENIENTES ↓
<ul style="list-style-type: none">● Posibilidad de tecnología simple, barata y robusta.● Recuperación del 50% de la masa (peso) y nutrientes.● Producción de sustancias húmicas, microorganismos beneficiosos y nitrógeno de liberación lenta.● Elimina semillas y patógenos.● Posibilidad de buenas oportunidades para el control del proceso.	<ul style="list-style-type: none">● Requiere separación en origen.● Se necesita desarrollar y mantener un mercado para el compost.● Emisión periódica de olores, especialmente en el caso de residuos sólidos urbanos.● Pérdidas de 20-40% de nitrógeno en forma de amoníaco, y de 40-60% de carbono en forma de dióxido de carbono.

1.3. TÉCNICAS INSTRUMENTALES AVANZADAS Y SU UTILIDAD EN EL ÁMBITO DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS Y LOS COMPOSTS

1.3.1. LA ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO MEDIANTE TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR)

La absorción en la región infrarroja se debe a movimientos de vibración y rotación de grupos moleculares y enlaces químicos. Básicamente, existen dos tipos de vibraciones fundamentales:

- Tensión: se da cuando los átomos permanecen en el mismo eje de enlace pero la distancia entre los átomos aumenta o disminuye.
- Flexión: se da cuando las posiciones de los átomos cambian en relación al eje de enlace original.

Cuando la luz infrarroja incide sobre la muestra, si ésta tiene la misma frecuencia que alguna de las vibraciones, la energía es absorbida y la amplitud de esa vibración se ve incrementada. Debido a la absorción de energía a la frecuencia de resonancia, el detector del espectrómetro infrarrojo registra un pico de absorción para esa longitud de onda. Para obtener un espectro de infrarrojos, la muestra se irradia con luz infrarroja de longitudes de onda sucesivas desde 0,8 a 2000 μm ($12500\text{-}5\text{ cm}^{-1}$) y la cantidad de luz transmitida por la muestra es medida en un registro, el cual procesa el porcentaje de luz transmitida a cada longitud de onda, obteniéndose en un periodo de tiempo relativamente corto (5-20 min) una curva de transmitancia frente a la longitud de onda o la frecuencia (Stevenson, 1994).

El coste es relativamente bajo y la preparación de la muestra es muy sencilla. Gracias también a su fácil accesibilidad, esta técnica presenta varias ventajas en comparación con otros métodos analíticos o espectroscópicos más sofisticados. Tampoco se requiere de un tratamiento químico previo, con lo que evitamos cualquier reacción secundaria. Otra ventaja es que todos los parámetros o componentes presentes se pueden medir de manera simultánea, simplificando así el análisis. Por otra parte, este método revela la estructura de los datos espectrales y refleja semejanzas y diferencias entre distintas muestras y por otro lado revela la correlación entre parámetros químicos y regiones espectrales específicas (Smidt y Parravicini, 2009).

Dentro de los tipos de espectrofotómetros de infrarrojo están los espectrofotómetros con transformada de Fourier (FT-IR), los cuales se basan en el interferómetro de Michelson (modula cada frecuencia del infrarrojo) y para el tratamiento de datos se utiliza la transformada de Fourier, de manera que se transforma la señal de dominio del tiempo al dominio de la frecuencia.

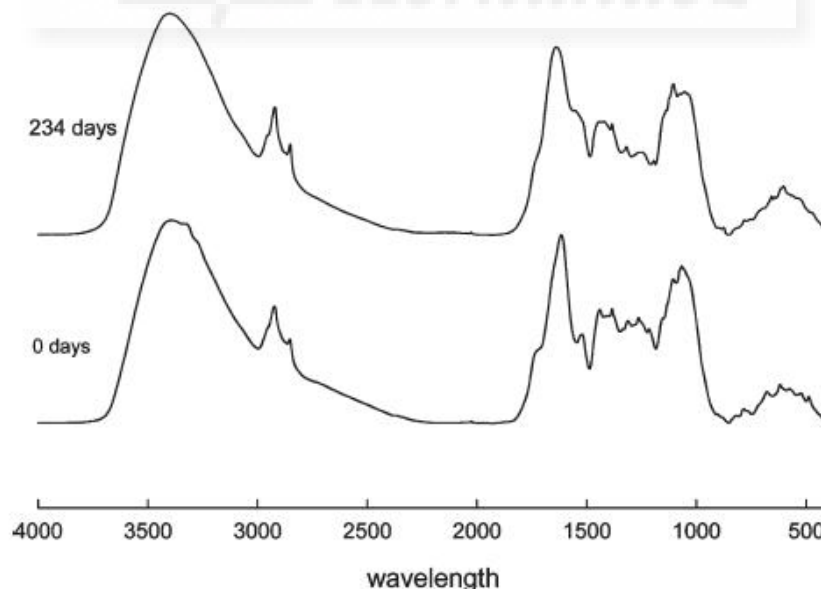


Figura 1.4. Diferencia entre los espectros FT-IR de un mismo compost en su etapa inicial y madura (Martínez-Sabater y col., 2009).

Esta técnica es muy sensible a los diferentes grupos funcionales químicos presentes en las moléculas. La espectroscopía FT-IR se ha convertido en una importante aplicación para caracterizar de forma cualitativa y no destructiva las principales clases de grupos químicos que forman parte de la materia orgánica (Chefetz, y coll, 1998, Inbar y col., 1990, Smidt y col., 2002). Si consideramos que el espectro infrarrojo refleja la composición química de los componentes de una muestra, es necesario realizar estudios preliminares de la muestra para seleccionar los criterios que indican los procesos de descomposición de la materia orgánica (Grube y col., 2006). Los espectros de infrarrojo de sustancias húmicas o de compost contienen una variedad de bandas que son características de estructuras específicas de las moléculas que la componen (Figura 1.4), tal y como se muestra en la Tabla 1.5:

Tabla 1.5. Principales bandas de absorción en el infrarrojo de sustancias húmicas (Stevenson, 1994).

Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación
3400-3300	Vibración O-H, Vibración N-H
2940-2900	Vibración C-H alifático
1725-1720	Vibración C=O de COOH y cetonas
1660-1630	Vibración C=O de grupos amida (banda de amidas primarias), quinonas y/o C=O de cetonas
1620-1600	C=C Aromático, C=O de cetonas conjugadas
1590-1517	Vibración simétrica COO ⁻ , deformación N-H + vibración C=N (banda de amida secundaria)
1460-1450	C-H Alifático
1400-1390	Deformación OH y vibración C-O de OH fenólico, deformación C-H de grupos CH ₂ y CH ₃ , vibración antisimétrica COO ⁻
1384	Banda de nitrato
1280-1200	Vibración C-O y deformación OH de COOH, vibración C-O de éteres arílicos
1170-950	Vibración C-O de polisacáridos o sustancias tipo polisacárido, Si-O de impurezas de silicatos

La espectroscopía infrarroja se considera valiosa en investigaciones con materia orgánica por las siguientes razones:

- Proporciona información clave referente a la naturaleza, reactividad, y disposición estructural de grupos funcionales que contienen oxígeno.
- Se pueden determinar constituyentes como proteínas y carbohidratos pueden ser establecidos.
- La presencia o ausencia de impurezas de tipo inorgánico (iones metálicos, arcillas) en fracciones húmicas aisladas puede ser establecida.
- La técnica es apropiada para establecer un análisis cuantitativo.

Por ello, esta técnica espectroscópica nos puede dar información muy importante sobre el proceso de transformación y maduración de la materia orgánica durante el proceso de compostaje. Si se examinan cuidadosamente las transformaciones durante este proceso mediante el análisis de espectros FT-IR, se pueden establecer algunos parámetros analíticos para estimar el grado de madurez del compost u otros materiales orgánicos, tal y como demuestran numerosos estudios como los de Castaldi y col. (2005), Smidt y Meissl (2007), Smidt y Parravicini (2009) o Campitelli y Ceppi (2008), entre otros.

1.3.2. LA ESPECTROSCOPIA EN EL INFRARROJO CERCANO (NIRS)

La espectroscopía en el infrarrojo cercano o NIRS (del inglés *Near Infrared Reflectance Spectroscopy*) es una herramienta ampliamente usada, desde hace unos 30 años, para la rápida determinación de componentes orgánicos en forrajes, granos de cereales, productos lecheros u otros materiales orgánicos. Esta técnica es bien conocida por su capacidad para analizar sustancias orgánicas de una forma muy rápida (1 ó 2

minutos aproximadamente), no siendo necesario el uso de reactivos químicos, sin destrucción de la muestra analizada, no genera contaminantes, ya que no se usan reactivos químicos o tóxicos y es barata. Tan sólo requiere la inversión inicial en el espectrofotómetro. Esta aplicación no requiere tratamiento previo de la muestra, salvo el secado, triturado y mezclado en el caso de que la matriz a analizar sea sólida. Las muestras también se pueden escanear en fresco, como se puede apreciar en el trabajo de Huang G. y col. (2008). Todo esto hace que esta técnica presente varias ventajas en comparación con otros métodos espectroscópicos o analíticos más sofisticados.

El principio de funcionamiento de la técnica NIRS se basa en que la energía absorbida en la región del infrarrojo cercano por una muestra produce que los enlaces covalentes entre C-H, O-H y N-H, principales componentes de las sustancias orgánicas, vibren en distintas formas (Burns y Ciurzak, 1992). Esta fracción del infrarrojo comprende las longitudes de onda entre 780 y 2500 nm ($12500-4000\text{ cm}^{-1}$, expresados como número de onda) (Figura 1.5).

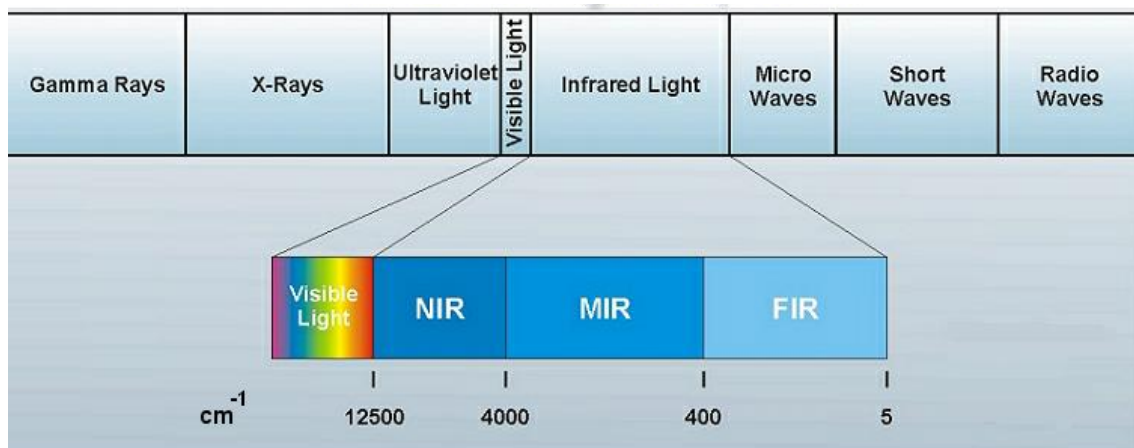


Figura 1.5. El espectro electromagnético (Software Opus 6.0 Bruker Optik).

Existe una relación entre la composición química, tanto a nivel cuantitativo como cualitativo, y el espectro registrado en la zona del infrarrojo cercano. Puede establecerse por tanto, que muestras que tengan composiciones orgánicas diferentes tendrán espectros en el infrarrojo diferentes. Pero la interpretación de los espectros es algo tremendamente complejo, a pesar de que las características espectrales de cada compuesto son únicas, ya que éstas a veces aparecen solapadas por su amplitud (Figura 1.6).

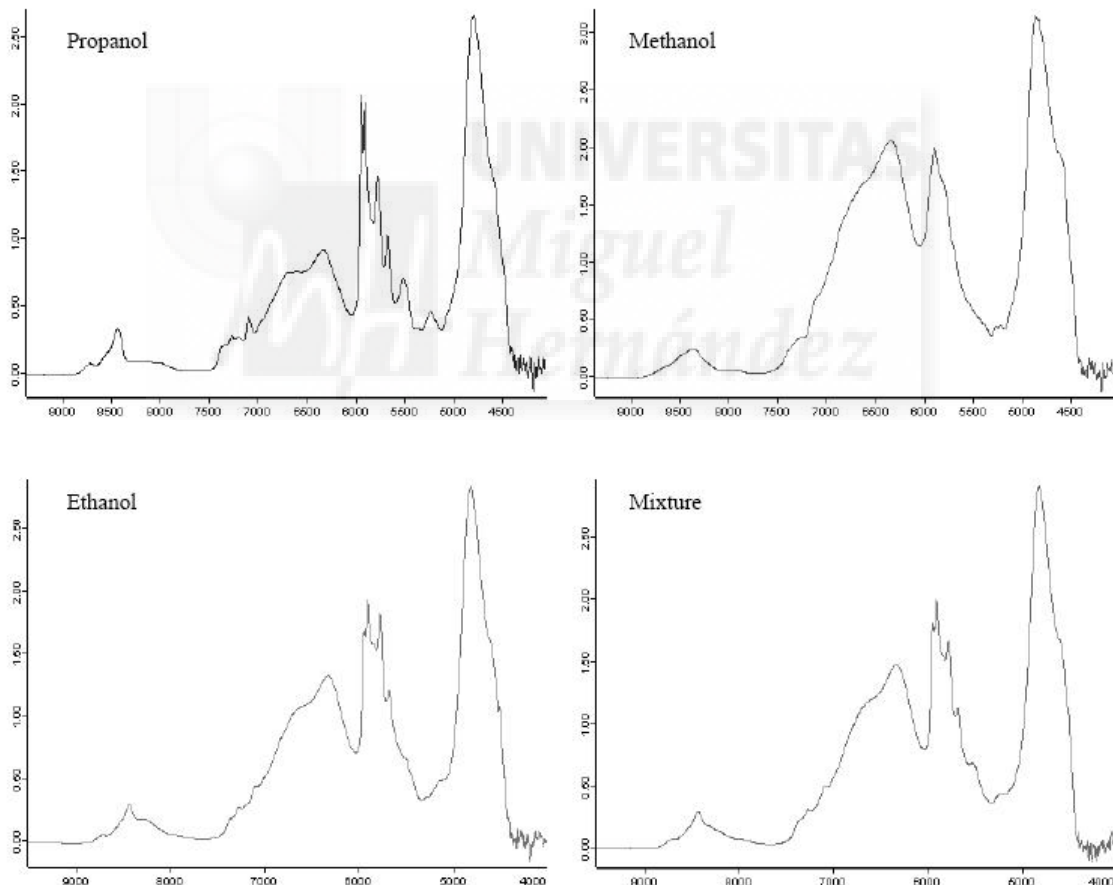


Figura 1.6. Espectros NIRS de propanol, metanol y etanol, así como la mezcla todos ellos. (Software Opus 6.0 Bruker Optik).

En la siguiente tabla se presentan las señales de absorbanza en el infrarrojo cercano para los principales grupos químicos en la materia orgánica (Conzen, 2006):

Tabla 1.6. Señales de absorbanza en el infrarrojo cercano correspondientes a los principales grupos químicos en la materia orgánica (Conzen, 2006).

GRUPO	RANGO FRECUENCIA (cm ⁻¹)
Hidrocarburos alifáticos	9100-7800 7700-6900 6300-5500 5000-4100
Hidrocarburos aromáticos	aprox. 9000 7300-6900 aprox. 6000 4700-4000
Ácidos carboxílicos	aprox. 6900 aprox. 5250 4900-4600
Aminas	7000-6500 5200-4500
Agua	7500-6400 5400-4900

Antes de que el espectro de absorbanza de una muestra pueda ser usado para la determinación de un compuesto o elemento concreto debe desarrollarse una calibración para este compuesto o elemento, según sea el caso. En un espectro NIRS, los diferentes constituyentes de la muestra poseen unos picos superpuestos (Figura 1.7), por lo tanto las medidas realizadas con NIRS deben de ser calibradas con muestras de composición química conocida para así poder extraer la información deseada con NIRS (Gislum y col.,

2004). Con este objetivo, deben escanearse con NIRS numerosas muestras con diferentes valores de referencia para el compuesto o compuestos orgánicos de nuestro interés obtenidos por métodos tradicionales de análisis. Cuanto mayor es el número de muestras analizadas por métodos estandarizados, las calibraciones que se consiguen son más representativas. La selección de muestras que se usarán para la calibración no será absolutamente aleatoria, porque debe de tratarse de un grupo de muestras que estén dentro de un rango de valores similares al de muestras que serán usadas para la validación, y ambas deben tener una distribución normal. Es importante que el rango de calibración y validación abarque los valores de los parámetros de las muestras que posteriormente serán estimadas por NIRS, y así no tener zonas donde la incertidumbre sea alta y los errores puedan ser significativos.

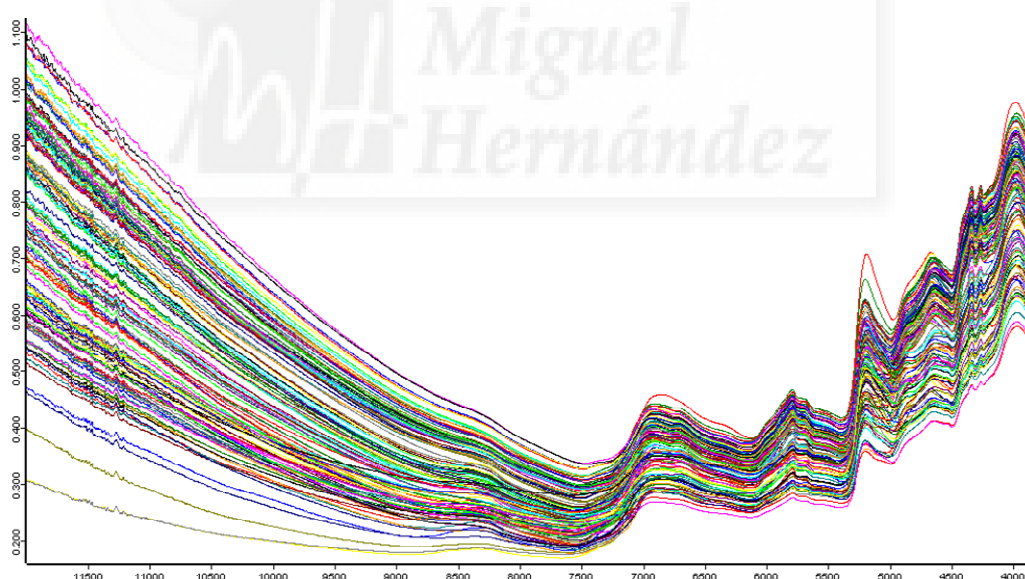


Figura 1.7. Espectros de muestras de composts (unidades de absorbancia en ordenada y números de onda en abcisa).

Esta técnica ha sido aplicada en numerosos campos de estudio, tales como agricultura, tecnología de alimentos, ciencia médica o sectores como el petroquímico o el

farmacéutico. Hoy en día, la espectroscopía en el infrarrojo cercano está siendo muy utilizada en el terreno de los análisis ambientales, por ejemplo, en la medida de la materia orgánica en suelo (Cozzolino y Morón, 2006; Ludwig y col., 2002), medida del carbono en suelos (Reeves y col., 2006), estudio de ácidos húmicos y fúlvicos en lodos de depuradora (Hernández y col., 1993; Polak y col., 2005), caracterización de residuos orgánicos (Grube y col., 2006; Malley y col., 2002), contenidos minerales en plantas (Halgerson y col., 2004), etc.

En la tabla 1.7 se muestran algunas referencias de trabajos en los que el NIRS se ha usado para predecir diferentes parámetros o elementos en diferentes matrices orgánicas.



Tabla 1.7. Resultados de calibraciones con NIRS obtenidos por diferentes autores.

Referencia	Matriz	Parámetro	Coef. correlación	Error estándar estimación
Vergnoux y col. (2009)	Compost industrial (lodos)	pH	0,90	0,30
		Carbono orgánico (%)	0,99	6,23
		C/N	0,98	0,12
		Ácidos húmicos (%)	0,94	0,28
Huang y col. (2008)	Compost de diversos estiércoles animales	Potasio (g kg ⁻¹)	0,76	5,91
		Calcio (g kg ⁻¹)	0,88	11,99
		Magnesio (g kg ⁻¹)	0,92	0,99
		Hierro (g kg ⁻¹)	0,92	1,18
		Zinc (mg kg ⁻¹)	0,45	93,20
Fujiwara y Murakami (2007)	Compost a base de gallinaza	Nitrógeno total (mg g ⁻¹)	0,92	4,74
		Nitrógeno en ác. úrico (mg g ⁻¹)	0,96	4,32
Malley y col. (2005)	Compost de estiércol vacuno	Carbono orgánico (mg g ⁻¹)	0,91	22,6
		Nitrógeno total (mg g ⁻¹)	0,74	1,2
		C/N	0,87	1,59
		Potasio (mg g ⁻¹)	0,83	2,9
		Azufre (mg g ⁻¹)	0,73	0,44
		Fósforo (mg g ⁻¹)	0,61	0,70
		pH	0,89	0,29
Albrecht y col. (2008)	Compost a base de lodos y residuos vegetales	Carbono total (%)	0,95	0,69
		Nitrógeno total (%)	0,96	0,058
		C/N	0,96	0,38
		Edad del compost (días)	0,96	12,6
Ko y col. (2004)	Compost a base de estiércol	Cromo (ppm)	0,82	3,13
		Arsénico (ppm)	0,71	3,74
		Cadmio (ppm)	0,76	0,26
		Cobre (ppm)	0,88	26,47
		Zinc (ppm)	0,84	52,84
		Plomo (ppm)	0,60	2,85
Galvez-Sola y col. (2009b)	Compost a base de residuos vitivinícolas y agroindustriales	Hierro (mg kg ⁻¹)	0,90	554
		Cobre (mg kg ⁻¹)	0,77	5,24
		Manganeso (mg kg ⁻¹)	0,87	14,7
		Zinc (mg kg ⁻¹)	0,83	20,9
Suehara y col. (1999)	Compost a base de residuos de tofu	Humedad (%)	0,98	1,30
Moral y col. (2007)	Lodos de depuradora	Cadmio (mg kg ⁻¹)	0,75	10,5
		Cromo (mg kg ⁻¹)	0,95	999
		Cobre (mg kg ⁻¹)	0,64	372
		Zinc (mg kg ⁻¹)	0,51	1275
		Plomo (mg kg ⁻¹)	0,90	90,63
		Níquel (mg kg ⁻¹)	0,63	96
		Mercurio (mg kg ⁻¹)	0,54	0,77

Como se ha comentado anteriormente, la técnica consiste en el establecimiento de ecuaciones de calibración empleadas para predecir diversos parámetros usando datos químicos procedentes de métodos convencionales y datos espectrales de las muestras escaneadas con NIRS. Por lo general, se necesitan análisis de regresión para extraer la información espectral más relacionada para el analito considerado. Este resultado, en forma de ecuación de calibración, puede ser usado en nuevos espectros para estimar los valores del analito en cuestión en muestras de composición desconocida sin la necesidad de usar las típicas determinaciones en el laboratorio (Siebielec y col., 2004). Los análisis de regresión a utilizar pueden ser: la regresión lineal múltiple (*multiple linear regression*, MLR), regresión por componentes principales (*principal components regression*, PCR) y por mínimos cuadrados parciales (*partial least square regression*, PLSR), siendo esta última la más comúnmente usada. Además, la señal obtenida del NIRS puede ser previamente tratada para mejorar el proceso de calibración mediante normalización vectorial, corrección de dispersión multiplicativa, primera o segunda derivada o substracción de línea recta, entre otros pretratamientos posibles.

Una vez finalizado el proceso de calibración para cada parámetro, se obtienen el coeficiente de correlación múltiple y el error estándar de estimación (RMSEE, *Root mean square error of estimation*). El primero es una medida de la concordancia entre los valores reales o de referencia y los valores estimados con NIRS, es decir, es la medida de la correlación entre los valores de absorbancia en las longitudes de onda elegidas con los valores reales o de referencia. El valor máximo es 1, lo que indicaría una correlación perfecta. Por lo normal, un valor de 0,75 puede indicar una correlación aceptable. El error estándar de estimación es un parámetro estadístico que indica la precisión teórica con la que se puede contar cuando la calibración se usa para predecir o estimar valores del parámetro calibrado en un espectro desconocido. Su cálculo parte de los espectros de calibración, comparando los valores estimados con los reales, haciendo un promedio de

las diferencias entre esos valores estimados y los medidos por métodos clásicos. Su cálculo se obtiene a partir de la siguiente fórmula:

$$RMSEE = \sqrt{\frac{1}{M-R-1}SSE}$$

donde M es el número de muestras del conjunto de calibración, R es el número de componentes principales (factores) y el SSE es la suma al cuadrado de las diferencias entre los valores reales y estimados. Un valor bajo de RMSEE indica una calibración óptima. Este parámetro es importante porque da una idea del error que puede cometerse cuando se usa cierto modelo de calibración en una posterior predicción. Es preferible comparar este tipo de error con el error que se puede producir con los métodos tradicionales de análisis y decidir si el error es aceptable para su uso rutinario.

Para llevar a cabo una simulación de una estimación con cada modelo de calibración, se lleva a cabo un proceso de validación cruzada. En dicha validación cruzada, se eliminan los espectros de una de las muestras empleadas para la calibración y se vuelve a calibrar sin esa muestra. Después, el parámetro de interés que se intenta calibrar, es estimado para esa muestra que se ha eliminado del conjunto de calibración. Este proceso se realiza sobre cada una de las muestras empleadas para la calibración. Posteriormente a este proceso se obtiene un error de validación cruzada (RMSECV, *Root mean square error of cross validation*) que nos permite evaluar la calibración obtenida, siendo este error el que más ha de tenerse en cuenta en la evaluación de la calibración. Para su cálculo, se tiene en cuenta el número de muestras del conjunto y las diferencias entre los valores estimados y los obtenidos por métodos clásicos de análisis, según la siguiente fórmula:

$$RMSECV = \sqrt{\frac{1}{M} \cdot \sum_{i=1}^M (Differ_i)^2}$$

siendo M el número de muestras del conjunto de calibración.

EL RPD es otro parámetro estadístico a considerar a la hora de evaluar las estimaciones obtenidas. Se calcula como la desviación típica dividida por el error estándar en la estimación. Un RPD mayor o igual a 2,25 nos indica una calibración válida. Malley y col. (2004) aportaron una guía para evaluar las calibraciones con muestras de tipo ambiental, basándose en el R^2 y en el RPD, tal y como se describe a continuación: calibraciones excelentes $R^2 > 0,95$ y $RPD > 4$; calibraciones buenas $R^2 = 0,9-0,95$ y $RPD = 3-4$; calibraciones moderadamente buenas $R^2 = 0,8-0,9$ y $RPD = 2,25-3$; calibraciones moderadamente útiles $R^2 = 0,7-0,8$ y $RPD = 1,75-2,25$. Algunas calibraciones con $R^2 < 0,75$ pueden ser útiles con objetivos de monitorización. Gracias a esta guía podemos comprobar que hay unos límites para estos parámetros estadísticos que cuantifican el grado óptimo de la calibración.

Además, se lleva a cabo un proceso de detección de espectros que no son conformes con las características del resto de espectros del conjunto de calibración, que son conocidos como espectros *outlier*. Para estos espectros, los resultados obtenidos en la calibración no son fiables. Con el ánimo de obtener la mejor calibración posible, una vez terminada la calibración y sabiendo que espectros cumplen con la condición de ser *outlier*, se puede volver a programar una nueva calibración sin estos espectros, pudiendo mejorar la calibración un poco más.

Resumiendo, esta técnica espectroscópica nos puede dar información valiosa sobre el proceso de transformación y maduración de la materia orgánica durante el proceso de compostaje, ya que teniendo una calibración adecuada previamente,

podemos realizar un análisis predictivo del compost en muy poco tiempo, pudiendo monitorizar el proceso de compostaje mediante estimaciones incluso a diario. A su vez, esta técnica aporta información útil de forma rápida en otras matrices orgánicas, como los lodos de depuradora, cuantificando parámetros de interés sin necesidad de recurrir a las técnicas clásicas de laboratorio.

1.3.3. LA ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) es una de las más poderosas técnicas de análisis para proporcionar información directa de las características estructurales y conformacionales en estudios con materia orgánica (Wilson, 1987). Debido a su relevancia en el estudio de muestras voluminosas tales como suelos y sedimentos, esta técnica es aplicada a química del suelo y geoquímica principalmente, a pesar de los problemas debido a la presencia de impurezas de carácter paramagnético y la baja concentración de materia orgánica. Pero si trabajamos con muestras de compost tenemos la ventaja de que el contenido en materia orgánica es más elevado y la presencia de impurezas paramagnéticas suele ser menor. En RMN los núcleos más estudiados son el carbono y el hidrógeno, aunque también hay estudios con otros núcleos tales como el fósforo (Wilson, 1987). La RMN fue también aplicada con éxito para describir la composición de sustancias húmicas y comprender mejor su génesis, transformación y descomposición (Conte y col., 2004; Cook, 2004; Preston, 1996).

Los núcleos tienen carga, éste es el fundamento de la espectroscopía de RMN. Cuando una carga gira, crea un campo magnético, como ocurre con los núcleos de ^{13}C y ^1H , generando un dipolo magnético a lo largo del eje nuclear. Bajo la influencia de un campo magnético externo (B_0), el núcleo realiza un movimiento de precesión alrededor del eje de ese campo. La precesión es el giro de momento magnético nuclear alrededor

de la dirección en la que se aplica el campo magnético principal. El número de spin, I , especifica el número de orientaciones que un núcleo puede adoptar en un campo magnético externo, de acuerdo con la fórmula $2I + 1$. Para ^{13}C , ^{31}P y ^1H , el valor de I es $1/2$, con lo que tenemos dos orientaciones posibles del spin nuclear: una paralela al campo magnético externo ($I = +1/2$) y otra antiparalela ($I = -1/2$).

La espectroscopía de RMN se basa en que hay una pequeña diferencia de poblaciones de los núcleos entre ambas orientaciones en el equilibrio. Cuando se perturba el sistema, hay un cambio en las poblaciones. La perturbación se consigue aplicando una radiación electromagnética durante un tiempo corto (en la amplitud de las radiofrecuencias), de tal forma que el campo magnético asociado (B_1) interactúa con los núcleos de las moléculas de la muestra cuando la frecuencia de la radiación electromagnética es igual a la frecuencia de precesión; entonces se dice que el núcleo resuena, e induce un voltaje cuando retorna al equilibrio (señal de resonancia), que puede ser detectado por una bobina, amplificado, y la señal se muestra como una FID (*free induction decay*). La relación entre la frecuencia de la radiación electromagnética, ν , y la fuerza del campo magnético, B_0 , viene dada por la siguiente ecuación, donde la razón giromagnética (γ), es una constante particular de cada núcleo:

$$\nu = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (1)$$

Un espectro de RMN de una disolución proporciona señales muy estrechas y bien resueltas que contienen información molecular. Sin embargo, un experimento con un sólido produce señales muy anchas, que pueden llegar a ser de varios kHz o incluso MHz, producidas por las denominadas interacciones anisótropas que son: acoplamiento dipolar heteronuclear y homonuclear, anisotropía de desplazamiento químico e interacciones cuadrupolares (Painter y Duer, 2002). El acoplamiento dipolar heteronuclear puede ser eliminado por irradiación de protones (el núcleo más abundante) mientras los carbonos

son observados. Esta técnica, conocida como desacoplamiento de protón, no puede eliminar ni el acoplamiento dipolar homonuclear ni la anisotropía de desplazamiento químico (Conte y col., 2004). Éstos, en cambio, pueden ser eliminados girando la muestra sólida suficientemente rápido alrededor de un eje que forma un ángulo de $54^{\circ}44'$ con la dirección principal del campo magnético externo (B_0), denominado ángulo mágico. Esta técnica es referida también como MAS (del inglés “*magic angle spinning*”). La combinación del MAS con un método de transferencia de polarización conocido como polarización cruzada (CP del inglés “*cross polarization*”) permite la obtención de espectros de ^{13}C de alta resolución en abundancia natural en muestras sólidas. Mediante CP se perturba el núcleo más abundante (^1H) para que la magnetización se transfiera a un núcleo poco abundante como es el ^{13}C , aproximadamente el 1% del carbono presente (Conte y col., 2004). La técnica de CP permite un aumento en la polarización en núcleos poco abundantes y con una constante giromagnética (γ) pequeña, tal como es el caso del ^{13}C , aprovechando una mayor polarización asociada a núcleos más abundantes y con mayores valores de γ , tales como el ^1H (en el argot de la resonancia, se denomina “protones” a los núcleos de ^1H).

Por último, una vez que tenemos los datos de la FID, es necesario aplicar la transformada de Fourier a los datos, así como otros ajustes de fase de la línea base para aumentar la relación señal/ruido.

A modo de ejemplo, en la figura 1.8 se muestran 2 espectros de CP-MAS ^{13}C -NMR durante un proceso de compostaje de residuos de origen vegetal junto con estiércol de vaca correspondientes a una fase inicial (0 días) y final (192 días). El espectro se divide en diferentes regiones, en base al desplazamiento químico (ppm): (A) carbono alifático, 0–47 ppm; (B) grupos metoxilos, 47-60 ppm; (C) O-alquilo, 60-95 ppm; (D) di-O-alquilo, 95-110 ppm; (E) carbono aromático (sin oxígeno unido), 110-140 ppm; (F) carbono fenólico (carbono aromático con oxígeno unido), 140-165 ppm; (G) grupos carboxilos, 165-190 ppm; (H) grupos carbonilo, 190-215 ppm. Podemos observar la evolución, aparición o



2. Objetivos

2. OBJETIVOS

Esta Tesis Doctoral por conjunto de publicaciones pretende estimar la viabilidad de nuevas técnicas espectroscópicas en el campo del análisis de residuos y composts destinados a la agricultura y comparar estas técnicas con los métodos clásicos de análisis de laboratorio. Las técnicas espectroscópicas empleadas en esta investigación son la espectroscopía de absorción en el infrarrojo con transformada de Fourier y la espectroscopía de resonancia magnética, con las cuales se pretende evaluar la calidad y aplicabilidad de residuos orgánicos frescos y compostados, ayudando de esta manera a la compleja gestión de estos residuos aprovechables en agricultura.

Para ello, se han propuesto cuatro estudios mostrados en los cuatro artículos que se utilizarán para la defensa de esta Tesis Doctoral. Los objetivos de cada uno de ellos han sido:

- Evaluar la efectividad de la espectroscopia de absorción en el infrarrojo cercano (NIRS) para estimar el contenido en nitrógeno en lodos de depuradora.
- Obtener mediante NIRS correlaciones suficientemente buenas para estimar parámetros asociados al proceso de compostaje como el pH, la conductividad eléctrica, materia orgánica total, carbono total y la relación C/N, y el contenido en macronutrientes (nitrógeno total, fósforo y potasio) y elementos potencialmente tóxicos tales como, hierro, cobre, manganeso y zinc, en muestras de compost con residuos procedentes de la actividad vinícola y alcoholera

- Estudiar la viabilidad de la espectroscopía NIRS y la resonancia magnética nuclear en el estudio de la dinámica del fósforo durante el proceso de compostaje, diferenciando las distintas formas de fósforo presentes y su estimación.
- Evaluar los cambios de la materia orgánica durante el compostaje de residuos frescos procedentes de la actividad vinícola y alcoholera mediante la espectroscopía de resonancia magnética nuclear y la espectroscopia de absorción en el infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR), estudiándose la degradación del carbono y la aparición de otros compuestos derivados, además de determinar cuando es estable la materia orgánica en una pila durante el proceso de compostaje, empleando diferentes herramientas quimiométricas aplicadas a los datos espectrales, con el fin de localizar la región o regiones espectrales que muestran una correlación con el tiempo de compostaje.



3. Publicaciones



Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

Communications in Soil Science and Plant Analysis, 40: 726–735, 2009
Copyright © Taylor & Francis Group, LLC
ISSN 0010-3624 print/1532-2416 online
DOI: 10.1080/00103620802695024

**3.1. Effectiveness of near infrared reflectance spectroscopy in the
quick evaluation of nitrogen content in sewage sludge.
Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2009**

Communications in Soil Science and Plant Analysis, 40: 726–735, 2009

Copyright © Taylor & Francis Group, LLC

ISSN 0010-3624 print/1532-2416 online

DOI: 10.1080/00103620802695024

Effectiveness of Near Infrared Reflectance Spectroscopy in the Quick Evaluation of Nitrogen Content in Sewage Sludge

**Luis Galvez-Sola, Raul Moral, Joaquin Moreno-Caselles, Maria Dolores
Perez-Murcia, Aurelia Perez-Espinosa, Maria Angeles Bustamante, and
Concepcion Paredes**

Department of Agrochemistry and Environment, Miguel Hernandez University,
Orihuela, Spain

Abstract: One of the main uses of sewage sludge is the incorporation into agricultural soils, the application dose being based on the specific composition of the waste according to the established normative. However, a full analytical characterization of sewage sludge is time-consuming and expensive. Thus, many times, sewage sludge is applied to soils without this information. Therefore, the use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to estimate nitrogen (N) contents in sewage sludge could be interesting because this technique is quick and a sample treatment is not required. In this study, more than 300 sewage sludge samples were used to calibrate and validate the estimation of total N in these residues using NIRS. The NIRS analysis was performed using a monochromator spectrometer (InfraAlyser 500, Bran+Luebbe GmbH, Norderstedt, Germany) in the range from 1100 to 2500nm with a step of 2nm. Elemental nitrogen (TN) (TruSpec, LECO, St. Joseph, Mich.) and Kjeldahl nitrogen (TKN) were used for this estimation. The results showed that NIRS can be used to estimate the content of total N in sewage-sludge samples, with the best estimation obtained with multiple linear regression calibration using the absorbance signal removing the outliers' spectra from the calibration set ($R = 0.97$, $SEE = 0.34$, and $RMSEP = 0.72$).

Address correspondence to Raul Moral, Department of Agrochemistry and Environment, UMH, EPS-Orihuela03312, Orihuela (Alicante), Spain. E-mail: raul.moral@umh.es

Nitrogen Content in Sewage Sludge

727

Keywords: NIRS, sewage sludge, nitrogen content, multiple lineal regression, principal component analysis

INTRODUCTION

Sewage-sludge production in Europe is about 9.4 million tons per year. According to the European Environmental Agency, 54% of this amount is used with agricultural purposes. The best strategy to decide the application rate should be based on the specific composition of the biosolids in each area to verify the maximum sewage-sludge application [less than 210 kg nitrogen (N)/ha in nonsensitive areas]. However, in many cases, sewage sludge is applied to soils without this information because of the expenses and time taken for full characterization. In addition, great variability in the total content of nitrogen (N) of sewage sludge has been reported to be associated with the influent nature, season, sewerage treatment fluctuations, and so on for individual treatment plants. A promising alternative could be the estimation of N content in sewage sludge based on the use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS), a nondestructive analytical technique that is pollution-free, cost-effective, and capable of analyzing organic substances rapidly (<2 min).

NIRS is frequently applied in environmental analyses including soil organic matter (Cozzolino and Morón 2006; Ludwig et al. 2002), soil carbon (Reeves et al. 2006), humic and fulvic acids (Hernandez, Moreno, and Costa 1993; Polak et al. 2005), organic wastes (Grube et al. 2006; Malley et al. 2002; Malley et al. 2005), nutritional quality of forage samples (Alomar, Fuchslocher, and de Pablo 2003), mineral concentration in plants (Halgerson et al. 2004), and small compounds present in animal cells, such as ammonium, glucose, or lactate (Riley and Crider 2000). The NIRS analysis requires no sample treatment except for drying, grinding, and mixing for solid samples. The principle of NIRS is to determinate the absorbance of a sample in the near infrared wavelength region, which is caused by the vibration of the chemical bonds in the sample. Prior to the use of the reflectance spectra of a sample to determine a specific compound, a calibration has to be developed for this compound. To obtain robust NIRS calibrations, a large and variable set of samples with a complete characterization determined by standardized methodologies is required.

Nitrogen in sewage sludge mainly appears in organic forms. In several studies, estimations of organic carbon and nitrogen were obtained with coefficients of correlations higher than 0.9 and compared to the results obtained using the classic analytical methods, such as Shepherd et al. (2003), that reported good estimations for this element for a rapid characterization of organic resources. Also, Malley et al. (2005) studied the total nitrogen contents in manure during composting, and Fujiwara

and Murakami (2007) used NIRS to develop calibration equations for total nitrogen and uric acid nitrogen in poultry manure compost. On the other hand, Ludwig et al. (2002) obtained good predictions for Kjeldahl nitrogen in forest soil using NIRS. Chang et al. (2001) studied different soil properties, including total nitrogen, using NIRS, and Gislum, Micklander, and Nielson (2004) quantified the nitrogen concentration in perennial ryegrass and red fescue using NIRS with sufficient precision and accuracy for practical use in routine analysis, replacing other classical methods. So, the purpose of this study is to establish the effectiveness of NIRS in the quick evaluation of nitrogen content in sewage sludge and to optimize the calibration model and spectra transformation for this objective.

MATERIALS AND METHODS

Three hundred thirty-three sewage-sludge samples were collected from 80 different wastewater treatment plants in southern Spain, during the period 2001–2006; the accumulated equivalent population of the samples is more than 400,000 inhabitants. The treated volume of wastewater per year was about 200 hm³, with a sludge production of 80,000 tons, approximately. The sludge samples were in all cases first treated by aerobic treatments (72.5% by prolonged aeration, 20% by active sludge, 2.5% from percolator filters, 2.5% from biocylinders, and 2.5% from biodisks). All samples were dried, ground, dried again at 105 °C, and stored prior to their analysis. Total nitrogen (TN) was analyzed by dry combustion using elemental analyzer (TruSpec CN, Leco, St. Joseph, Mich.), and total Kjeldahl nitrogen (TKN) was analyzed by Kjeldahl method (Bremmer and Breitenbeck 1983).

The NIRS analysis was performed using a monochromator spectrometer (InfraAlyser 500, Bran+Luebbe GmbH, Norderstedt, Germany) in the range from 1100 to 2500nm with a step of 2 nm. Each sample was scanned, in a rotating sample cup, three times using Sesame software (version 3.01, Bran+Luebbe, Norderstedt, Germany), recording absorbance, as $\log 1/R$, where R is reflectance, for a total 701 absorbance values for each sample. The three spectra of each sample of each wavelength were averaged, using this average for calibration and validation (Figure 1).

Multiple linear regression (MLR), partial least square regression (PLSR), and principal components regression (PCR) were used to establish the best model for calibration. In addition, three transformations [absorbance (Abs), normalization (Norm), and first derivative (1st-der)] of the NIR spectra were used in each calibration model. Multiple correlation coefficient (R) and standard error of estimate (SEE) were obtained in each calibration scenario, as well as standard error of prediction over all cross-validation calibrations (SEPCV) for PLSR and

Nitrogen Content in Sewage Sludge

729

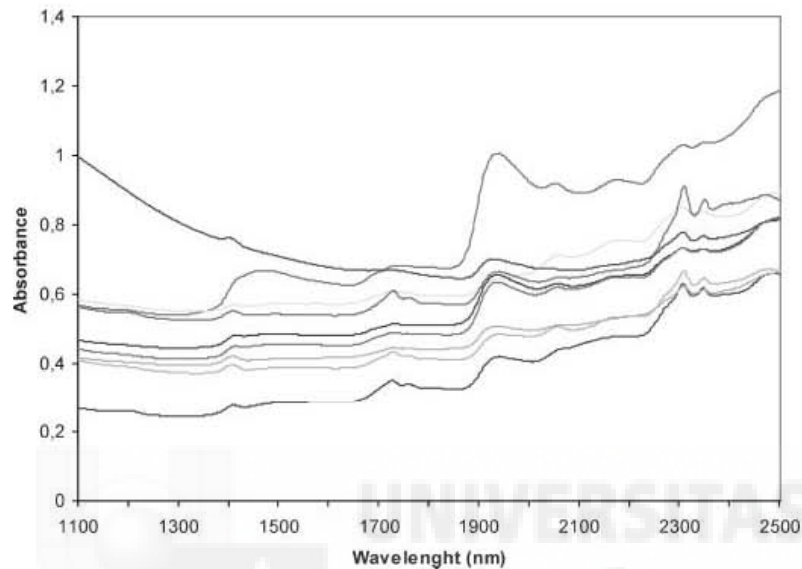


Figure 1. NIR spectra of some sewage sludge samples.

PCR calibrations. During the calibration process, outlier detection was developed. The outlier detection tries to find spectra that do not conform to the characteristics to the rest of the spectra in the calibration set. For these spectra, the analysis results may not be reliable. With the aim of finding the best calibration, a new calibration was performed without this spectra considered as outliers. No more than 30 spectra were removed for a second calibration without outliers. For the evaluation of the different calibration models and NIR spectra transformation, a validation protocol was used by means of a set of 50 new sewage-sludge samples selected randomly. The root mean square error of prediction (RMSEP) was calculated from the difference between the actual and the predicted values over all selected spectra.

RESULTS AND DISCUSSION

Nitrogen Characterization

Table 1 shows the range of the nitrogen contents in the sewage sludges, depending on the wastewater treatment system used. TKN varied in a wide range in the samples. However, the lowest values were higher than the usual values obtained in manures coming from the studied area (1.6-2.2 g N/kg dry weight), as reported by Moreno-Caselles et al. (2002).

Table 1. Nitrogen range in the studied sewage sludge samples, with the mean value and standard error

Biological treatment	TN range (%)	Mean value (%)	TKN range (%)	Mean value (%)
Prolongated aeration	1.16–8.41	4.45 ± 1.45	1.31–7.65	4.75 ± 1.35
Active sludge	2.20–7.88	4.95 ± 1.20	2.07–7.86	4.95 ± 1.17
Biocylinders	2.56–5.08	3.50 ± 1.37	2.62–4.93	2.71 ± 0.08
Biodisks	2.50–5.69	3.34 ± 0.95	2.35–4.31	3.56 ± 1.09
Total sewage sludge samples	1.16–8.41	4.82 ± 1.40	1.31–7.86	4.85 ± 1.32

TKN seemed to be quite similar to the total nitrogen determined by dry combustion. The type of wastewater system affected the nitrogen content in sewage sludge probably associated not only with the treatment but also with the influent wastewater, biocylinders, and biodisks, mainly used in low-scale treatment plants usually with lower N contents.

NIRS Calibration Results

The results obtained in each calibration and spectra transformation are shown in Table 2. Very good results were obtained for both TN and TKN. The best option for TN, in calibrations within outliers, is the MLR using absorbance signal transformation (Figure 2). This calibration has the highest R and the lowest SEE for the TN calibrations with the outliers spectra (R = 0.96, SEE = 0.42%). Without outliers is also the best calibration for TN. The most important result of the elimination of outliers in the calibrations is the reduction of the error of estimation (SEE = 0.34%). However, all calibrations showed good predictions. A similar result for TKN was obtained. The best option is the MLR-Abs calibration (R = 0.95, SEE = 0.51%), if using the normal calibration. After eliminating the outliers' spectra, the calibration improves, dropping the SEE to 0.43%, producing the best calibration. Other models of calibration were also good. Fujiwara and Murakami (2007) used a second derivative signal transformation and MLR calibration for the estimation of N in poultry manure compost.

After comparing the three methods of calibration (MLR, PLSR, and PCR), we found that the calibrations using the MLR method showed the best results, because they display the highest R and the lowest SEE. Also, in general, the signal transformation showed the best results using the absorbance or normalization. In each calibration, the number of outlier spectra was around 25–30 spectra. Around 15 spectra were classified as

Nitrogen Content in Sewage Sludge

731

Table 2. NIR calibrations and validations for TN and TKN, depending on the calibration model and spectra transformation

Element	Calibrations with outliers					Calibrations without outliers					
	Calibr	Transform	R	SEE	RMSEP	Element	Calibr	Transform	R	SEE	RMSEP
TN	MLR	Abs	0.96	0.42	0.60	TN	MLR	Abs	0.97	0.34	0.72
		Norm	0.95	0.45	0.80			Norm	0.97	0.34	0.95
		1st-der	0.94	0.49	0.83			1st-der	0.96	0.39	0.77
	PLSR	Abs	0.92	0.55	0.77	TKN	PLSR	Abs	0.94	0.48	0.75
		Norm	0.94	0.49	0.72			Norm	0.96	0.37	0.73
		1st-der	0.93	0.52	0.79			1st-der	0.95	0.46	1.04
	PCR	Abs	0.88	0.68	0.95	TKN	PCR	Abs	0.92	0.56	0.92
		Norm	0.90	0.63	1.02			Norm	0.87	0.68	0.90
		1st-der	0.87	0.70	1.26			1st-der	0.88	0.66	1.30
TKN	MLR	Abs	0.93	0.51	0.85	TKN	MLR	Abs	0.95	0.43	0.71
		Norm	0.91	0.58	0.56			Norm	0.94	0.46	0.68
		1st-der	0.91	0.56	0.67			1st-der	0.94	0.45	0.58
	PLSR	Abs	0.92	0.55	0.44	TKN	PLSR	Abs	0.92	0.52	0.54
		Norm	0.90	0.60	0.48			Norm	0.89	0.58	0.60
		1st-der	0.89	0.61	0.56			1st-der	0.92	0.52	0.58
	PCR	Abs	0.88	0.65	0.51	TKN	PCR	Abs	0.87	0.65	0.60
		Norm	0.87	0.68	0.57			Norm	0.90	0.57	0.66
		1st-der	0.88	0.66	0.56			1st-der	0.89	0.59	0.69

Calibr: Calibration; Transform: Signal Transformation; TN: total nitrogen; TKN: total Kjeldahl nitrogen; MLR: multiple linear regression; PLSR: partial least square regression; PCR: principal components regression; Abs: absorbance; Norm: normalization; 1st-der: first derivate; R: coefficient of correlation; SEE: standard error of estimation; RMSEP: root mean square error of prediction.

732

L. Galvez-Sola et al.

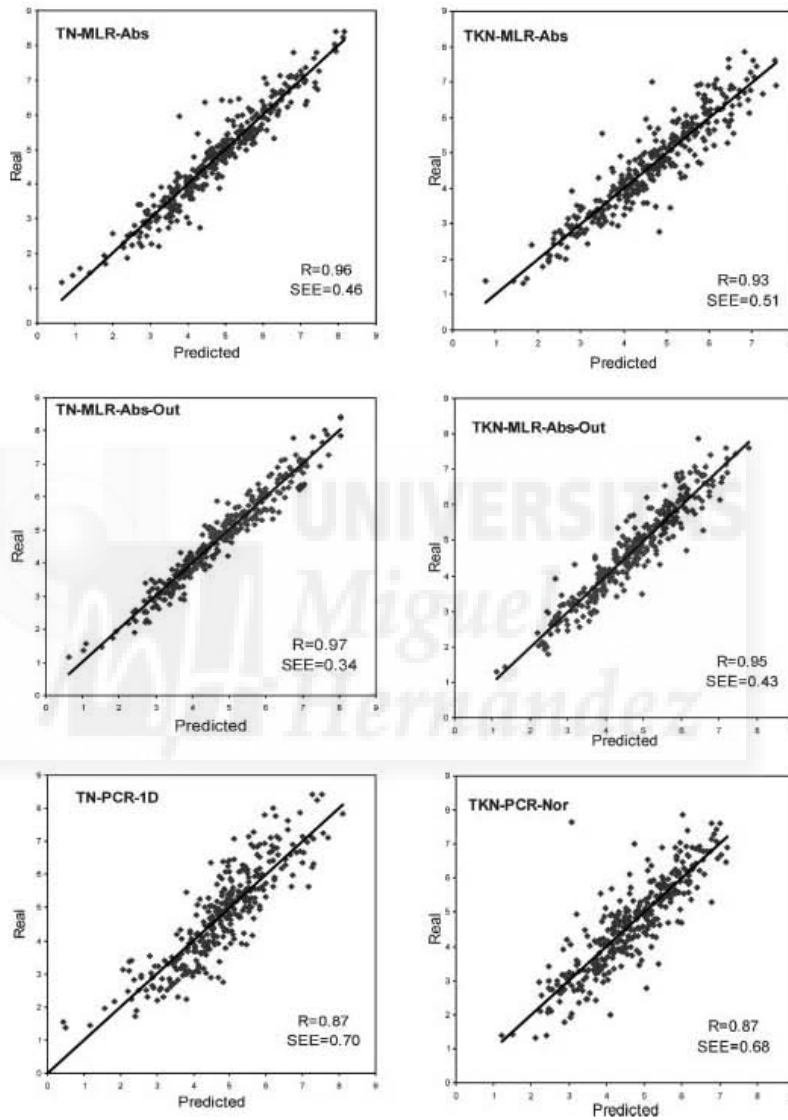


Figure 2. Some calibrations obtained for TN and TKN in sewage sludge (Calibration model: Multiple linear regression (MLR), and principal components regression (PCR); Signal transformation: absorbance (Abs), normalization (Norm), and first derivative (1D); without outliers: -Out).

Nitrogen Content in Sewage Sludge

733

outliers in all calibrations developed belonging to these spectra sludge samples from all types of biological treatment. Other 10 spectra were classified as outliers depending on the calibration type and the signal transformation.

NIRS Validation Results

Once the different calibrations were obtained, a validation test was performed with 50 sewage-sludge samples not used in the calibrations. These new samples serve to carry out a first prediction with different samples to the calibration samples. The RMSEP was used to estimate the error of this prediction. The RMSEP is shown in Table 2. For TN, the best calibrations obtained using the MLR-Abs with and without outliers

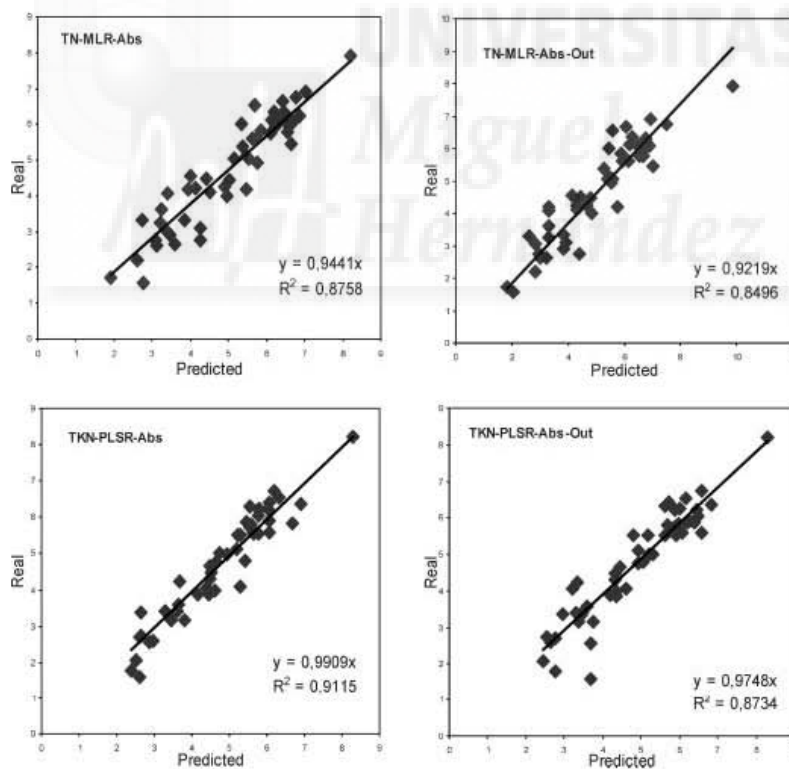


Figure 3. Validation results obtained for TN and TKN (n=50) (Calibration model: Multiple linear regression (MLR), and partial least square regression (PLSR); Signal transformation: absorbance (Abs); without outliers: -Out).

calibrations also showed the lowest RMSEP. However, this behavior was not observed for the TKN calibrations, because the best calibrations did not show the lowest RMSEP. The lowest RMSEP was obtained with the PLSR-Abs calibrations both with and without outliers (Figure 3). In general, the RMSEP obtained from the calibrations with outliers were better than the calibrations without outliers. This situation indicates that in a prediction the results obtained using calibrations with outliers are better than the prediction without them, despite of the more precision (best R) and minor errors of estimation of the calibrations without outliers.

CONCLUSIONS

The results showed that NIRS can be used to estimate the content of TN in sewage-sludge samples with a high accuracy, supporting a quick predictive analysis in our study, with low errors of prediction. The best option for this estimation was obtained using a multiple linear regression (MLR) calibration, without signal transformation removing the outliers' spectra from the calibration set.

REFERENCES

- Alomar, D., R. Fuchslocher, and M. de Pablo. 2003. Effect of preparation on composition and NIR spectra of forage samples. *Animal Feed Science and Technology* 107:191–200.
- Bremner, J. M., and G. A. Breitenbeck. 1983. A simple method for determination of ammonium in semimicro-Kjeldahl analysis of soils and plant materials using a block digester. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 14 (10):905–913.
- Chang, C. W., D. A. Laird, M. J. Mausbach, and C. R. Hurburgh Jr. 2001. Near-infrared reflectance spectroscopy-principal component regression analyses of soil properties. *Soil Science Society of America Journal* 65:480–490.
- Cozzolino, D., and A. Morón. 2006. Potential of near-infrared reflectance spectroscopy and chemometrics to predict soil organic carbon fractions. *Soil and Tillage Research* 85:78–85.
- Fujiwara, T., and K. Murakami. 2007. Application of near infrared reflectance spectroscopy for estimating available nitrogen in poultry manure compost. *Soil Science and Plant Nutrition* 53:102–107.
- Gislum, R., E. Micklander, and J. P. Nielsen. 2004. Quantification of nitrogen concentration in perennial ryegrass and red fescue using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) and chemometrics. *Field Crops Research* 88:269–277.
- Grube, M., J. G. Lin, P. H. Lee, and S. Kokorevicha. 2006. Evaluation of sewage sludge-based compost by FT-IR spectroscopy. *Geoderma* 130:324–333.

Nitrogen Content in Sewage Sludge

735

- Halgerson, J. L., C. C. Sheaffer, N. P. Martin, P. R. Peterson, and S. J. Weston. 2004. Near-infrared reflectance spectroscopy prediction of leaf and mineral concentrations in alfalfa. *Agronomy Journal* 96:344–351.
- Hernandez, T., J. I. Moreno, and F. Costa. 1993. Infrared spectroscopy characterization of sewage sludge humic acids: Evidence of sludge organic matter-metal interactions. *Agrochimica* 37:13–17.
- Ludwig, B., P. K. Khanna, J. Bauhus, and P. Hopmans. 2002. Near infrared spectroscopy of forest soils to determine chemical and biological properties related to soil sustainability. *Forest Ecology and Management* 171:121–132.
- Malley, D. F., C. McClure, P. D. Martin, K. Buckley, and W. P. McCaughey. 2005. Compositional analysis of cattle manure during composting using a field-portable near-infrared spectrometer. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 36:455–475.
- Malley, D. F., L. Yesmin, and R. G. Eilers. 2002. Rapid analysis of hog manure and manure-amended soils using near-infrared spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal* 66:1677–1686.
- Moreno-Caselles, J., R. Moral, M. D. Perez-Murcia, A. Perez-Espinosa, and B. Rufete. 2002. Nutrient value of animal manures in front of environmental hazards. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 33:3023–3032.
- Polak, J., W. W. Sulkowski, M. Bartoszek, and W. Papiez. 2005. Spectroscopic studies of the progress of humification processes in humic acid extracted from sewage sludge. *Journal of Molecular Structure* 744–747:983–989.
- Reeves, J. B. III, R. F. Follet, W. C. McCarty, and J. M. Kimble. 2006. Can near or mid reflectance spectroscopy be used to determine soil carbon pools? *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 37:2307–2325.
- Riley, M. R., H. M. Crider. 2000. The effect of analyte concentration range on measurement error obtained by NIR spectroscopy. *Talanta* 52:473–484.
- Shepherd, K. D., C. A. Palm, C. N. Gachengo, and B. Vanlauwe. 2003. Rapid characterization of organic resources quality for soil and livestock management in tropical agroecosystems using near-infrared spectroscopy. *Agronomy Journal* 95:1314–1322.



3.2. *The potential of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the estimation of agroindustrial compost quality. Science of the Total Environment, 2010*

Science of the Total Environment 408 (2010) 1414–1421



Contents lists available at ScienceDirect

Science of the Total Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv



The potential of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the estimation of agroindustrial compost quality

L. Galvez-Sola^a, R. Moral^a, M.D. Perez-Murcia^a, A. Perez-Espinosa^a, M.A. Bustamante^a,
E. Martinez-Sabater^b, C. Paredes^{a,*}

^a Department of Agrochemistry and Environment, Miguel Hernandez University, EPS- Orihuela, Ctra. Beniel km. 3.2, 03312-Orihuela (Alicante), Spain
^b Department of Agrochemistry and Biochemistry, University of Alicante, PO box 99, E-03080 Alicante, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 September 2009
Received in revised form 17 November 2009
Accepted 22 November 2009
Available online 12 January 2010

Keywords:

Agroindustrial wastes
Composting
Near infrared spectroscopy (NIRS)
Physico-chemical parameters
Macronutrients and potentially pollutant elements

ABSTRACT

Composting is an environmentally friendly alternative for the recycling of organic wastes and its use is increasing in recent years. An exhaustive monitoring of the composting process and of the final compost characteristics is necessary to certify that the values of compost characteristics are within the limits established by the legislation in order to obtain a safe and marketable product. The analysis of these parameters on each composting batch in the commercial composting plant is time-consuming and expensive. So, their estimation in the composting facilities based on the use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) could be an interesting approach in order to monitor compost quality. In this study, more than 300 samples from 20 different composting procedures were used to calibrate and validate the NIRS estimation of compost properties (pH, electrical conductivity (EC), total organic matter (TOM), total organic carbon (TOC), total nitrogen (TN) and C/N ratio, macronutrient contents (N, P, K) and potentially pollutant element concentrations (Fe, Cu, Mn and Zn)). The composts used were elaborated using different organic wastes from agroindustrial activities (GS: grape stalk; EGM: exhausted grape marc; GM: grape marc; V: vinasse; CJW: citrus juice waste; Alpeorajo: olive-oil waste; AS: almond skin; EP: exhausted peat; TSW: tomato soup waste; SMS: spent mushroom substrate) co-composted with manures (CM: cattle manure; PM: poultry manure) or urban wastes (SS: sewage sludge). The estimation results showed that the NIRS technique needs to be fitted to each element and property, using specific spectrum transformations, in order to achieve an acceptable accuracy in the prediction. However, excellent prediction results were obtained for TOM and TOC, successful calibrations for pH, EC, Fe and Mn, and moderately successful estimations for TN, C/N ratio, P, K, Cu and Zn.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

In the last decades, a rapid development of the industry has been observed and, especially, in the agroindustrial sector. This fact is mainly noticeable in several agro-food industries in the EU-25, such as in the sectors of the pork–poultry–cattle production or the horticultural crop transformation, the wine industry (EU-25 produces about 70% of the world wine production; OIV, 2009), the olive-oil industry (EU-25 represents about 74% of the world olive-oil production; IOC, 2007) and the citrus industry (EU-25 is one of the main exporters with 48% of the world total exports; FAO, 2009). Therefore, this increase in the agroindustrial production generates considerable amounts of wastes, about 222×10^6 t/year (Eurostat, 2005).

The increasing waste production from agroindustrial activities and the lack of an optimised management of these residues have led to an

increase of the composting facilities, as a feasible option for waste management, coupled or not with biogas production facilities. Nowadays, the European environmental legislation includes composting as a recovery operation for organic waste (Council of the European Communities, 2008). Composting is defined as a process of aerobic thermophilic microbial degradation of wastes by populations of the indigenous microorganism which leads to a stabilised, mature, deodorised, hygienic product, free of pathogens and plants seeds, rich in humic substances, easy to store and marketable as organic amendment or fertiliser (Haug, 1993).

Composts can be used to improve soil structure, increase soil organic matter, provide some plant nutrients and enhance plant growth (Paredes et al., 2005). However, the use of immature compost can produce adverse effects in the environment, as a consequence of the production of phytotoxic compounds (Tang et al., 2006), dispersion of potentially pathogenic microorganisms (Hassen et al., 2001; Bustamante et al., 2008), nitrogen immobilisation (Kotaro et al., 2005), especially in the case of immature compost with high value of C/N ratio, and deficiency of oxygen concentrations (Chikae et al., 2007). In addition, the composting of organic wastes with notable

* Corresponding author.

E-mail address: c.paredes@umh.es (C. Paredes).

contents of potentially toxic elements can limit the agricultural use of the composts obtained (Perez-Murcia et al., 2006). So, the European and the Spanish Government Departments have elaborated different laws and regulations to limit the pollutant dispersion from the compost application into the soil (European Commission, 2001; BOE, 2008). These legislations establish the limit of organic matter and heavy metal contents, pathogenic microorganism levels and C/N ratio values for composts. Moreover, in the Spanish legislation related to fertilisers, the nutrient content of compost must be declared, in order to fit the correct application dose to each crop and thus, avoiding contamination of watersheds by nutrient-surplus (BOE, 2008).

The determination of all parameters established by the legislation for marketable composts is time-consuming and expensive. Consequently, a more convenient and reliable method is necessary for the management and the traceability of the composting process, as well as to evaluate the different requirements demanded by the legislation for compost.

Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) is an emerging tool for environmental analyses. NIRS is a non-destructive technique, with an easy sample preparation and management (no reagents are required), rapid (1 min per spectrum) and inexpensive. Near infrared radiation (700–2500 nm) is absorbed by various bonds, such as C–H, C–C, C=C, C–N, and O–H, characteristics of organic matter (Ludwig and Khanna, 2001). In NIR spectra the different constituents have broad overlapping bands and therefore, NIRS measurements have to be calibrated against samples with known chemical composition in order to extract the desired information (Gislum et al., 2004). Mineral composition in an organic matrix can be measured by NIRS owing to the association between the mineral concentrations and spectral features, this being due to the association between minerals and organic functional groups or the organic matrix (Huang et al., 2008).

Several studies of compost or organic wastes using NIRS have shown that NIRS could be an effective management method. For example, NIRS technology has been used to determinate physico-chemical parameters and nutrient metal contents in animal manure compost (Malley et al., 2005; Huang et al., 2008), carbon and nitrogen contents in sewage sludge and green waste compost (Albrecht et al., 2008), nitrogen content in poultry manure compost (Fujiwara and Murakami, 2007), physico-chemical parameters, organic matter, total organic carbon and concentrations of different nitrogen forms and cell wall fractions of sewage sludge compost (Vergnoux et al., 2009), heavy metal contents in sewage sludge (Moral et al., 2007) and compost (Galvez-Sola et al., 2009a), nitrogen content in sewage sludge (Gálvez-Sola et al., 2009b), humic acid from sewage sludge (Polak et al., 2005), mushroom compost (Sharma et al., 2000), nutrient composition of layer manure (Xing et al., 2008) and fattening pig manure (Yang et al., 2006). However, very little is known about the use of the NIRS for the management and the traceability of the composting process of agroindustrial composts.

Therefore, the main purpose of this study was to explore the feasibility of analyzing parameters limited by the legislation for compost (pH, EC, TOM, TOC, C/N ratio and macronutrient and potentially toxic element contents) on a wide survey of agroindustrial composts using near infrared spectroscopy (NIRS).

2. Materials and methods

2.1. Compost samples

Three hundred and five different samples were used in this study from 20 different composting piles elaborated using several residues, but including in all the cases wastes from the winery and distillery industry (Table 1). Twelve piles were made using the turning composting system (LS, low scale) (500 L commercial composters, with natural aeration), and the rest was composted in a semi-industrial scale (HS, high scale) (5000 kg) by the Rutgers static pile composting system with temperature control and forced aeration. In all the

scenarios, the bio-oxidative phase of composting was considered finished when the temperature of the pile was stable and near to that of the surrounding atmosphere and then, the piles were allowed to mature for two months. The moisture of the piles was controlled weekly by adding the necessary amount of water to obtain a moisture content not less than 40%. Samples were obtained by mixing subsamples coming from seven different zones of the piles and they were collected every week. The number of samples used in each composting pile is shown in Table 1.

2.2. Analytical methods

All samples were ground, dried at 105 °C and stored prior to their analysis. The electrical conductivity (EC) and pH of the compost samples were determined in a 1:10 (w/v) water extract; total organic matter content (TOM) was determined by loss on ignition at 430 °C for 24 h (Navarro et al., 1993). Total organic carbon (TOC) and total nitrogen (TN) were determined by dry combustion at 950 °C using a Leco TruSpec C-N Elemental Analyzer (Leco Corp., St. Joseph, MI, USA) according to Navarro et al. (1991) and Paredes et al. (1996). After HNO₃/HClO₄ digestion, P was assessed colorimetrically as molybdovanadate phosphoric acid (Kitson and Mellon, 1944), K was determined by flame photometry (Jenway PFP7 Flame Photometer, Jenway Ltd., Felsted, Dunmow, Essex, UK) and Fe, Cu, Mn and Zn by atomic absorption (Varian 220FS Atomic Absorption Spectrometer, Varian Inc., Melbourne, Australia). All analytical determinations were done in quadruplicate.

2.3. NIRS analysis

NIRS analyses were performed using a FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker Optik GmbH, Germany) in the range of wave number from 12,000 to 3800 cm⁻¹ (830–2600 nm) with a step of 8 cm⁻¹. Each sample was scanned three times using Opus software (version 6, ©Bruker Optik), recording absorbance, as log 1/R, where R is reflectance, for a total of 64 scans per sample. The three spectra of each sample were averaged. Fig. 1 shows the NIRS spectra of the compost samples.

The validation step was carried out using the full cross-validation method, following the leave-one-out procedure. This method was used to ensure the predictive ability and to avoid over-fitting of the data (Martens and Naes, 1989). With cross-validation, the same samples are used both for the calibration and the validation step and the outlier samples were not omitted. A sample is removed from the calibration data set and the model is calibrated on the remaining data points. The value for the removed sample is predicted and the prediction residual is computed. The process is repeated with another sample of the calibration set, and so on until every object has been removed once; then all prediction residuals are combined to compute the validation residual variance and root mean square error of cross validation (RMSECV).

Analytical data of the samples are shown in Table 2. Partial least square regression (PLSR) was used for calibration. To ensure a good correlation between the spectral data and the concentration values, different spectra pre-treatments were tested:

- Vector Normalization (VN): normalizes a spectrum by an initial calculation of the average intensity value and subsequent subtraction of this value from the spectrum. Then, the addition of the squared intensities is calculated and the spectrum is divided by the square root of this addition.
- Multiplicative Scatter Correction (MSC): performs a linear transformation of each spectrum for it to best match the mean spectrum of the whole set.
- First Derivative (FD): calculates the first derivative of the spectrum. This method emphasises steep edges of a peak. It is used to emphasise pronounced, but small features over a broad background. Spectral noise is also enhanced.

Table 1
Characteristics of the composting heaps and number of samples used of each pile.

Scale ^a	Piles																			
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
Samples (n)	15	15	18	20	10	10	10	12	22	14	9	17	11	11	12	29	16	15	21	18
Waste ^b	Waste proportions ^c (%)																			
GS	44	51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EGM	22	25	80	79	76	-	71	60	60	60	60	60	60	58	60	60	60	60	60	50
GM	13	15	-	-	-	72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CM	-	-	20	-	24	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-
PM	-	-	-	21	-	29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	25
SS	13	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-
CJW	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-	-	-	-	-	40	40	-	-	-	-
Alpeorujo	-	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TSW	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	-	40	-	-	40	-	-	-
SMS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	39	-	-	-	-	-	-

^a HS: high scale, LS: low scale.
^b GS: grape stalk; EGM: exhausted grape marc; GM: grape marc; CM: cattle manure; PM: poultry manure; SM: sheep manure; SS: sewage sludge; V: vinasse; CJW: citrus juice waste; Alpeorujo: olive-oil waste; AS: almond skin; EP: exhausted peat; TSW: tomato soup waste; SMS: spent mushroom substrate.
^c Data expressed as percentage on a dry weight basis.

- Second Derivative (SED): similar to the first derivative, but with a more drastic result.
 - Straight Line Subtraction (SLS): fits a straight line to the spectrum and subtracts it. This accounts for a tilt in the recorded spectrum.
- To evaluate the estimation, several statistical parameters were performed:

- R^2 : coefficient of determination for calibration.
- RMSEE: root mean square error of estimation.
- RPD: calculated as the standard deviation divided by the standard error of prediction.
- F: number of factors.
- r^2 : coefficient of determination for validation.
- RMSECV: root mean square error of cross validation.
- Bias: is the difference between the mean real value and the mean estimated value for the validation set samples.

Malley et al. (2005) suggested a guideline for describing the performance of calibrations for environmental samples, as follows: excellent calibrations $R^2 > 0.95$, RPD > 4; successful, $R^2 = 0.9-0.95$, RPD 3-4; moderately successful, $R^2 = 0.8-0.9$, RPD 2.25-3; and moderately useful, $R^2 = 0.7-0.8$, RPD 1.75-2.25. Some calibrations with $R^2 < 0.7$ may be useful for screening purposes. This guideline was used to evaluate the calibrations in this research.

3. Results and discussion

3.1. NIRs calibrations for parameters associated to the composting process (pH, EC, TOM, TOC, C/N ratio)

In the pH calibration, very good results were obtained ($R^2 = 0.90$, RMSEE = 0.209) (Table 3), as well as a good validation, since RMSECV was low and useful. However, a better calibration was obtained for EC,

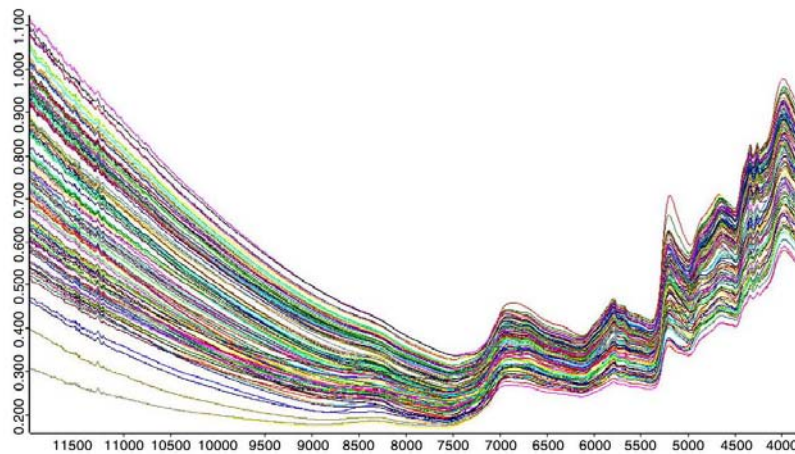


Fig. 1. NIR spectra of compost samples (wave number (cm⁻¹) in abscissa and absorbance in ordinate).

Table 2
Range and mean values of the studied parameters in the compost samples, expressed on dry matter basis.

Parameter ^a	Range	Mean	SD ^b
pH	4.36–8.17	7.09	0.64
EC (dS m ⁻¹)	1.35–6.78	3.17	1.15
TOM (%)	59.70–95.49	82.86	8.89
TOC (%)	35.50–59.90	46.59	5.33
TN (%)	1.29–4.12	2.67	0.43
C/N	10.48–37.41	17.89	3.54
P (g kg ⁻¹)	0.13–10.76	4.25	1.75
K (g kg ⁻¹)	8.45–48.28	21.65	7.52
Fe (mg kg ⁻¹)	210–9486	1905	969.79
Cu (mg kg ⁻¹)	9.5–77.8	29.1	10.98
Mn (mg kg ⁻¹)	8.7–174	66.3	40.06
Zn (mg kg ⁻¹)	11.6–249	91.9	50.27

^a EC: electrical conductivity; TOM: total organic matter; TOC: total organic carbon; TN: total nitrogen.
^b SD: standard deviation.

with a $R^2=0.92$ and errors for calibration and validation that were acceptable. TOM and TOC obtained the best calibrations, with $R^2=0.95$ for both parameters and low error of estimation. Validations for these parameters were also really good, since their RMSECV values were low. C/N had quite good R^2 , although RMSEE and RMSECV obtained were low. Calibration plots between predicted values and measured values for parameters associated to the composting process (pH, EC, TOM, TOC, C/N ratio) are shown in Figs. 2 and 3, where the excellent accuracy can be observed.

Pre-treatment of spectral data is very important in order to eliminate fully or partly the systematic error that can be caused by various factors. Table 3 shows the pre-treatment methods. First derivative was the most used. For the calibrations, lower RMSEE and higher R^2 are considered better and more accurate (Windham et al., 1987). Moreover, lower RMSECV, higher r^2 and RPD values indicate the validation precision of the calibration model. In addition, the spectral range considered in the calibrations for parameters associated to the composting process is similar for all parameters, mainly from 7502 cm⁻¹ to 4247 cm⁻¹, but the spectral range can change depending on the pre-treatment used in each parameter.

Several authors have obtained good calibrations in compost samples. Albrecht et al. (2008) obtained $r^2=0.95$ and $r^2=0.96$ for carbon and C/N ratio, respectively, in sewage sludge and green wastes based compost and Malley et al. (2005) developed calibrations using PCA and PLS regressions for pH ($r^2=0.89$; RPD=2.98), organic carbon ($r^2=0.91$; RPD=3.30) and C/N ratio ($r^2=0.87$; RPD=2.91) in cattle manure compost using a field-portable NIR spectrometer. Vergnoux et al. (2009) obtained excellent calibrations in sewage

sludge compost for pH ($R^2=0.9$), organic carbon ($R^2=0.99$) and C/N ratio ($R^2=0.98$) using the PLS regression method.

3.2. NIRS calibrations for macronutrients and potentially toxic elements (N, P, K, Fe, Cu, Mn and Zn)

The results obtained in each calibration, validation and spectrum transformation (pre-treatments) are shown in Table 4. TN had quite good R^2 , although the RMSEE and RMSECV obtained were 0.173 and 0.192, low for calibration and validation. The same situation was observed for P and K, with $R^2=0.89$ and $R^2=0.83$, respectively. Calibrations and validations for potentially toxic elements showed very good results, as in the case of Fe and Zn, which showed values of $R^2>0.9$. On the other hand, the R^2 for Cu and Mn were 0.86 and 0.88, respectively. The RMSEE and RMSECV were successful, considering that the obtaining of good correlations for metals with NIRS is usually difficult. The vector normalization was the main pre-treatment chosen for these parameters, and the spectral range was similar to the parameters associated to the composting process, from 7502 cm⁻¹ to 4247 cm⁻¹. Figs. 4 and 5 show the calibration plots for these parameters.

In other studies, Malley et al. (2005) developed calibrations using PCA and PLS regressions for TN ($r^2=0.74$; RPD=2.14) in cattle manure compost using a field-portable NIR spectrometer. Vergnoux et al. (2009) obtained calibration for TN in sewage sludge compost ($R^2=0.94$) using the PLS regression method. Albrecht et al. (2008) obtained $r^2=0.96$, for nitrogen and Fujiiwara and Murakami (2007) obtained $R=0.925$ for TN in poultry manure compost using NIRS. Results for Fe were better than the estimation reported in manure composts by Huang et al. (2008) ($r^2=0.55$). This author also studied the influence of fresh or dried conditions of organic wastes scanned by NIRS. Dried analysis of compost could be a time-consuming preparation procedure, but the reliability of estimation could be higher. Usually in fresh samples of organic matrices, two peaks that were observed at the wave numbers of about 6900 cm⁻¹ (first overtone with O–H stretching) and 5150 cm⁻¹ (combination band of O–H stretching and O–H deformation) in the spectra, are mainly due to the bands absorbed by water. Huang et al. (2008) observed a higher efficiency in Fe and Zn estimation when the bands absorbed by water in fresh manure samples are eliminated. Malley and Williams (1997) obtained in fresh water sediments R^2 values between NIR-predicted and chemically-analyzed metal concentrations of 0.91 for Cu. Moral et al. (2007) obtained on sewage sludge, using the multiple linear regression calibration without pre-treatment, a R^2 value of 0.64, significantly lower than presented in this study, probably due to the significantly higher percentage of Cu in inorganic form. Siebielec et al. (2004) obtained R^2 values of about 0.67 for Zn using the PLSR model in soil samples. Chodak et al. (2002) in experiments on polluted soils reported that NIRS tended to underestimate Zn and Pb, suggesting

Table 3
NIRS calibration and validation results for parameters associated to the composting process.

Parameter ^a	Calibration ^b		Validation ^c				Factors	Spectrum region (cm ⁻¹)	Pre-treatment ^d	
	R^2	RMSEE	RPD	r^2	RMSECV	RPD				Bias
pH	0.90	0.21	3.16	0.85	0.25	2.54	-0.003	16	7502–4598	FD
EC (dS m ⁻¹)	0.92	0.34	3.52	0.88	0.40	2.86	0.001	18	7502–4247	FD+VN
TOM (%)	0.95	2.03	4.48	0.93	2.35	3.78	0.001	13	7502–4247	SED
TOC (%)	0.95	1.28	4.3	0.92	1.5	3.55	0.002	18	7502–4247	FD+SLS
C/N	0.86	1.36	2.64	0.81	1.53	2.31	0.012	11	7502–5446	FD+MSC
									4602–4424	

^a EC: electrical conductivity; TOM: total organic matter; TOC: total organic carbon.
^b R^2 : coefficient of determination for calibration; RMSEE: root mean square error of estimation; RPD: calculated as the standard deviation divided by the standard error of prediction.
^c r^2 : coefficient of determination for validation; RMSECV: root mean square error of cross validation; Bias: is the difference between the mean real value and the mean estimated value for the validation set samples.
^d Pre-treatments: VN: Vector Normalization; MSC: Multiplicative Scatter Correction; FD: First Derivative; SED: Second Derivative; SLS: Straight Line Subtraction.

1418

L. Gálvez-Sola et al. / Science of the Total Environment 408 (2010) 1414–1421

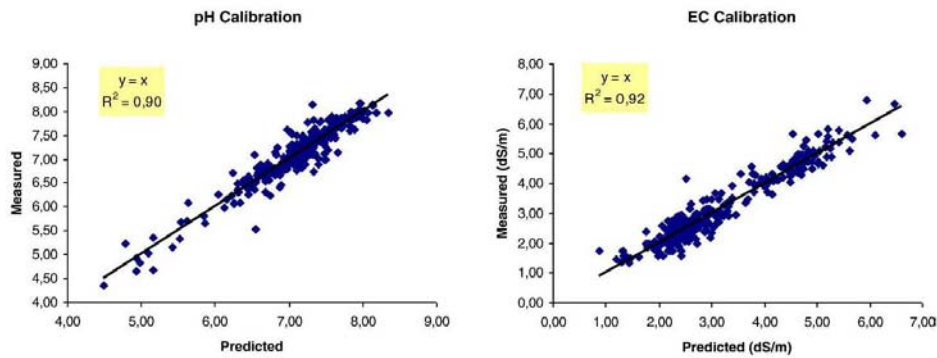


Fig. 2. NIRs calibration plots between predicted values and measured values for pH and electrical conductivity (EC).

that parts of these metals were not adsorbed by organic compounds. In similar experiments with sewage sludge, estimation values for Zn were lower than 0.50, in any calibration and spectra pre-treatment approach (Moral et al., 2007).

Although the results in our study were quite good and able to estimate those parameters in winery and distillery composts, the calibrations could be improved. As a consequence of the wide variability in the ingredients used in the elaboration of the composting heaps,

obtaining good correlations was more complicated than in other experiments that used as sample an only type of compost. The high factor observed in each calibration (number of principal components) showed this situation, but the sample size of an only type of compost was not enough for carrying out a properly and more accurate calibration. However, the calibrations obtained were able to predict several properties in winery–distillery composts whose principal ingredient is exhausted grape marc.

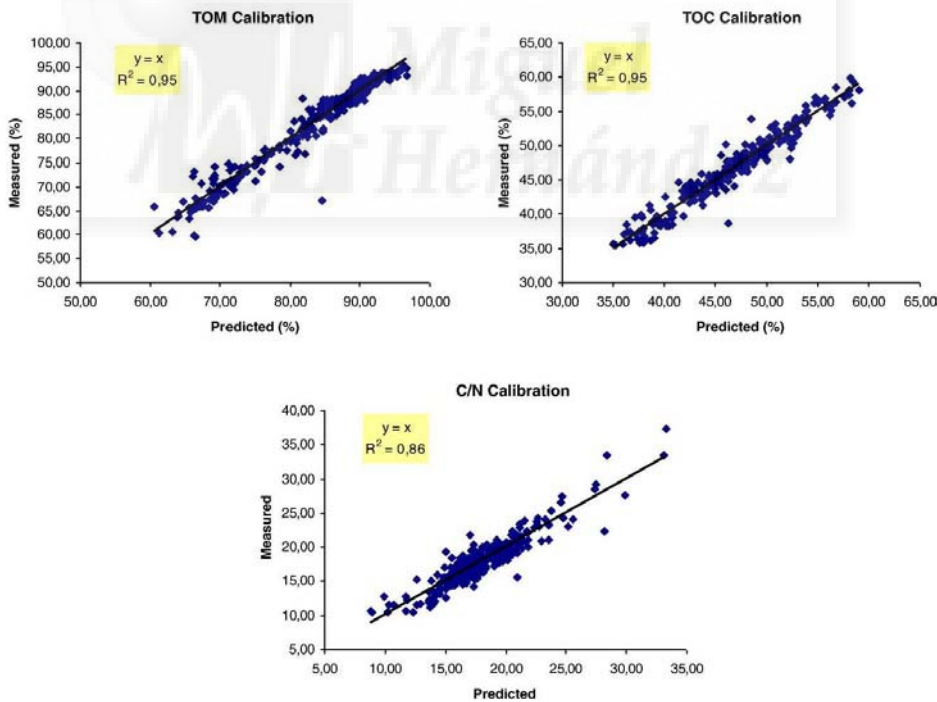


Fig. 3. NIRs calibration plots between predicted values and measured values for total organic matter (TOM), total organic carbon (TOC) and C/N ratio.

Table 4
NIRS calibration and validation results for macronutrients and potentially toxic elements.

Parameter ^a	Calibration ^b			Validation ^c				Factors	Spectrum region (cm ⁻¹)	Pre-treatment ^d
	R ²	RMSEE	RPD	r ²	RMSECV	RPD	Bias			
TN (%)	0.85	0.17	2.56	0.80	0.19	2.22	0.001	15	7502–4247	FD+VN
P (g kg ⁻¹)	0.89	0.60	3.00	0.85	0.69	2.56	-0.001	16	7502–6098 4602–4424	VN
K (g kg ⁻¹)	0.83	3.15	2.42	0.71	3.98	1.86	0.017	16	7502–4598	SED
Fe (mg kg ⁻¹)	0.91	551	3.25	0.87	636	2.73	-1.110	17	7502–5446	VN
Cu (mg kg ⁻¹)	0.86	4.22	2.67	0.81	4.79	2.29	0.008	17	7502–6098 5450–4247	MSC
Mn (mg kg ⁻¹)	0.90	12.9	3.19	0.86	14.8	2.71	0.051	17	7502–5446 4602–4424	FD+VN
Zn (mg kg ⁻¹)	0.88	17.7	2.93	0.84	20.1	2.49	-0.131	18	7502–4247	VN

^a TN: total nitrogen.
^b R²: coefficient of determination for calibration; RMSEE: root mean square error of estimation; RPD: calculated as the standard deviation divided by the standard error of prediction.
^c r²: coefficient of determination for validation; RMSECV: root mean square error of cross validation; Bias: is the difference between the mean real value and the mean estimated value for the validation set samples.
^d Pre-treatments: VN: Vector Normalization; MSC: Multiplicative Scatter Correction; FD: First Derivative; SED: Second Derivative.

According to the guideline suggested by Malley et al. (2004), calibrations for TOM and TOC could be classified as excellent calibrations, for pH, EC, Fe and Mn as successful calibrations and for TN, C/N ratio, P, K, Cu and Zn as moderately successful calibrations.

4. Conclusions

The results showed that NIRS can constitute a feasible technique to quantify several essential parameters in agroindustrial waste com-

posts, such as pH, EC, TOM, TOC, C/N ratio, TN, P, K, Fe, Cu, Mn and Zn, using PLSR, with values of coefficient of determination for calibration (R²) higher than 90 for pH, EC, TOM, TOC, Fe and Mn. In addition, the use of specific pre-treatments in each scenario to optimise the spectrum data significantly increased the efficiency of the technique.

In conclusion, NIRS could be a potential method to estimate several parameters limited by the legislation for compost, including parameters associated to the composting process, macronutrients and potentially toxic elements in agroindustrial composts, this aspect

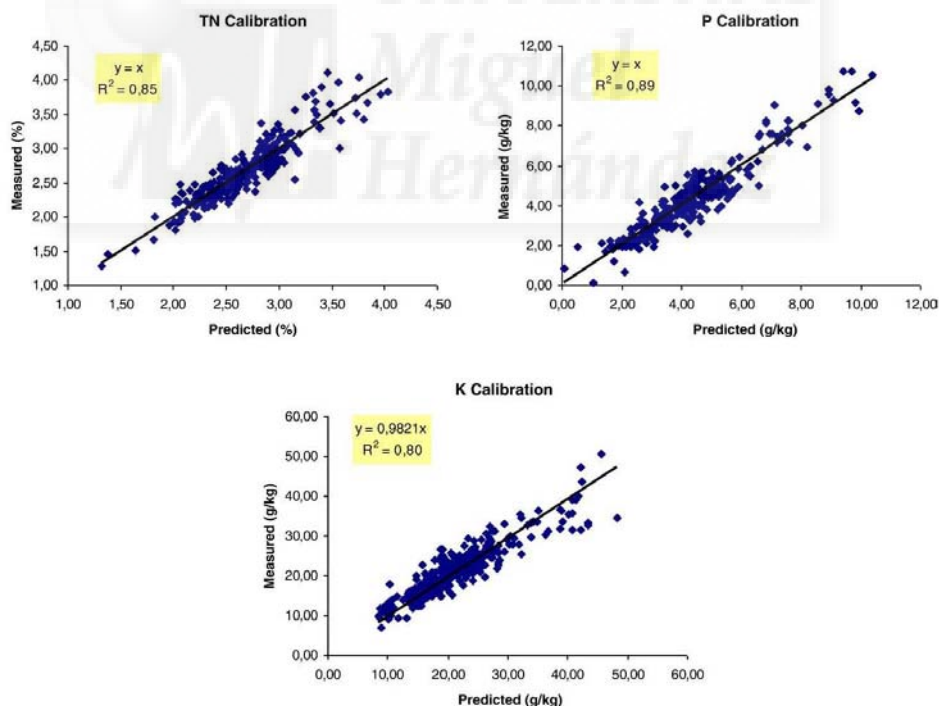


Fig. 4. NIRS calibration plots between predicted values and measured values for total nitrogen (TN), P and K.

1420

L. Gálvez-Sola et al. / Science of the Total Environment 408 (2010) 1414–1421

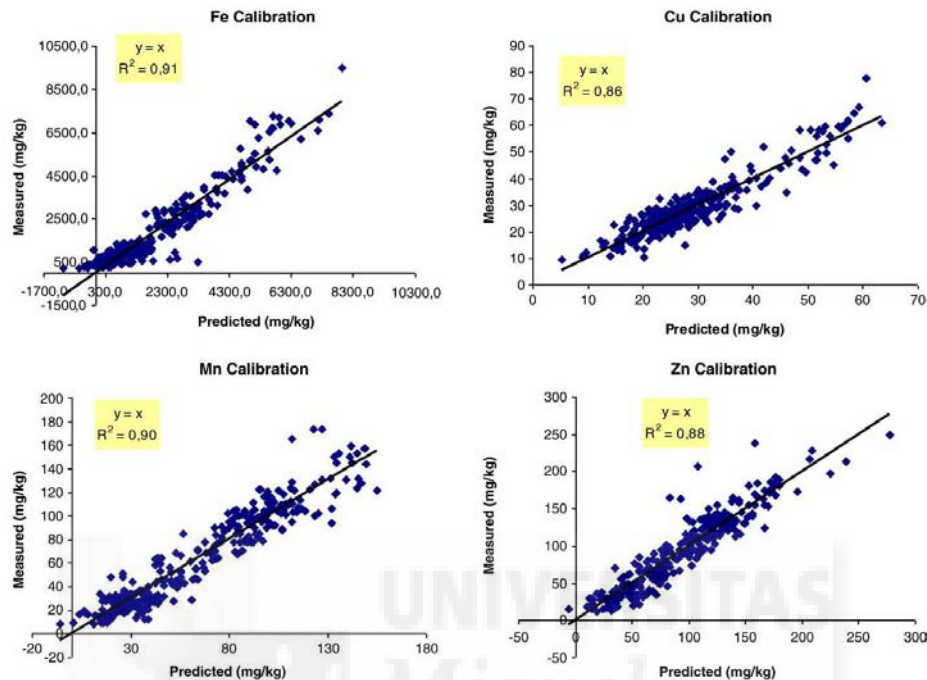


Fig. 5. NIRS calibration plots between predicted values and measured values for Fe, Cu, Mn and Zn.

being very interesting for composting facilities, since the NIRS technique could constitute an environmental and economic alternative to monitor the composting process and to characterise the final compost in a rapid and efficient way.

Acknowledgment

This work has been supported by the Spanish Ministerio de Educación y Ciencia of Spain (CICYT CTM2006-01363/TECNO).

References

Albrecht R, Joffre R, Gros R, Le Petit J, Terrom G, Périssol C. Efficiency of near-infrared reflectance spectroscopy to assess and predict the stage of transformation of organic matter in the composting process. *Bioresour Technol* 2008;99:448–55.

BOE. Orden APA/863/2008, de 25, por la que se modifican los anexos I, II, III, y VI del Real Decreto 824/2005, de 8 de julio, sobre productos fertilizantes y afines. *BoI Of Estado* 2008;79:18145–80.

Bustamante MA, Moral R, Paredes C, Vargas-García MC, Suárez-Estrella F, Moreno J. Evolution of the pathogen content during co-composting of winery and distillery wastes. *Bioresour Technol* 2008;99:7299–306.

Chikae M, Kerman K, Nagatani N, Takamura Y, Tamiya E. An electrochemical on-field sensor system for the detection of compost maturity. *Anal Chim Acta* 2007;581:364–9.

Chodak M, Ludwig B, Khanna P, Beese F. Use of near infrared spectroscopy to determine biological and chemical characteristics of organic layers under spruce and beech stands. *J Plant Nutr Soil Sci* 2002;165:27–33.

Council of the European Communities. Council directive on waste and repealing certain Directives. *Off J Eur Communities* 2008;L 312:3–30.

European Commission. Working Document. Biological treatment of Biowaste. 2nd draft 2001. Available in: http://europa.eu.int/comm/environment/waste/facts_en.htm.

Eurostat. Waste Generated and Treated in Europe. Luxembourg: European Communities; 2005. 131 pp.

FAO. FAOSTAT database; 2009. Available on: www.fao.org.

Fujiwara T, Murakami K. Application of near infrared spectroscopy for estimating available nitrogen in poultry manure compost. *Soil Sci Plant Nutr* 2007;53:102–7.

Gálvez-Sola L, Moral R, Moreno-Caselles J, Pérez-Murcia MD, Pérez-Espinoza A, Bustamante MA, et al. Effectiveness of near infrared reflectance spectroscopy in the quick evaluation of nitrogen content in sewage sludge. *Commun Soil Sci Plant Anal* 2009a;40:726–35.

Gálvez-Sola L, Moral R, Moreno-Caselles J, Pérez-Murcia MD, Pérez-Espinoza A, Bustamante MA, et al. Evaluation of effectiveness of near infrared reflectance spectroscopy on Fe, Cu, Mn and Zn estimation in compost. In: Shengcai L, Yajun W, Fengxia C, Ping H, Yao Z, editors. *Progress in Environmental Science and Technology*, vol. II. Beijing: Science Press; 2009b. p. 643–8.

Gislum R, Micklander E, Nielsen JP. Quantification of nitrogen concentration in perennial ryegrass and red fescue using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) and chemometrics. *Field Crop Res* 2004;88:269–77.

Hassen A, Belguith K, Jedidi N, Cherif A, Chenif M, Boudabous A. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresour Technol* 2001;80:217–25.

Haug RT. *The Practical Handbook of Compost Engineering*. Florida: Lewis Publishers; 1993. 717 pp.

Huang G, Han L, Yang Z, Wang X. Evaluation of the nutrient metal content in Chinese animal manure compost using near infrared spectroscopy (NIRS). *Bioresour Technol* 2008;99:8164–9.

IOC. Statistics on olive oil production; 2007. Available from <http://www.internationaloliveoil.org>.

Kitson RE, Mellon MG. Colorimetric determination of P as molybdovanadate phosphoric acid. *Ind Eng Chem Anal Ed* 1944;16:379–83.

Kotaro K, Nobuaki M, Hiroyasu T, Ichio N. Evaluation of maturity of poultry manure compost by phospholipid fatty acids analysis. *Biol Fertil Soils* 2005;41:399–410.

Ludwig B, Khanna PK. Use of near infrared spectroscopy to determine inorganic and organic carbon fractions in soil and litter. In: Lal R, Kimble JM, Follett RF, Stewart BA, editors. *Assessment Methods for Soil Carbon*. Boca Raton, FL: CRC/Lewis Publishers; 2001. p. 361–70.

Malley DF, Williams PC. Use of near-infrared reflectance spectroscopy in prediction of heavy metals in freshwater sediment by their association with organic matter. *Environ Sci Technol* 1997;31:3461–7.

Malley DF, Ben-Dor E, Martin PD. Application in analysis of soils. In: Robert C, Workman J, Reeves JB, editors. *Near Infrared Spectroscopy in Agriculture*. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America and Crop Science Society of America, Madison, WI; 2004. p. 729–84.

Malley DF, McClure C, Martin PD, Buckley K, McCaughey WP. Compositional analysis of cattle manure during composting using a field-portable near-infrared spectrometer. *Commun Soil Sci Plant Anal* 2005;36:455–75.

L. Gálvez-Sola et al. / Science of the Total Environment 408 (2010) 1414–1421

1421

- Martens H, Næs T. Multivariate Calibration. New York: Wiley & Sons; 1989. 419 pp.
- Moral R, Gálvez-Sola L, Moreno-Caselles J, Pérez-Murcia MD, Pérez-Espinosa A, Paredes C. Can Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) predict heavy metals in sewage sludge? In: Kungolos A, Aravossis K, Karagiannidis A, Samaras P, editors. First Conference on Environmental Management, Engineering, Planning and Economics, 24–28 June 2007, Skiathos island, Greece; 2007. p. 1683–8.
- Navarro AF, Cegarra J, Roig A, Bernal MP. An automatic microanalysis method for the determination of organic carbon in wastes. *Commun Soil Sci Plant Anal* 1991;22: 2137–44.
- Navarro AF, Cegarra J, Roig A, Garcia D. Relationships between organic matter and carbon contents of organic wastes. *Bioresour Technol* 1993;44:203–7.
- OIV. Situation and statistics of the world vitiviculture sector in 2007. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin 2009. Available from <http://www.oiv.int>.
- Paredes C, Bernal MP, Roig A, Cegarra J, Sánchez-Monedero MA. Influence of the bulking agent on the degradation of olive-mill wastewater sludge during composting. *Int. Biodeterior Biodegrad* 1996;38:205–10.
- Paredes C, Cegarra J, Bernal MP, Roig A. Influence of olive mill wastewater in composting and impact of the compost on a Swiss chard crop and soil properties. *Environ Int* 2005;31:305–12.
- Pérez-Murcia MD, Moral R, Moreno-Caselles J, Pérez-Espinosa A, Paredes C. Use of composted sewage sludge in growth media for broccoli. *Bioresour Technol* 2006;97: 123–30.
- Polak J, Sulkowski WW, Bartoszek M, Papież W. Spectroscopic studies of the progress of humification processes in humic acid extracted from sewage sludge. *J Mol Struct* 2005;744:983–9.
- Sharma HSS, Kilpatrick M, Burns L. Determination of phase II mushroom (*Agaricus bisporus*) compost quality by near infrared spectroscopy. *J Near Infrared Spectrosc* 2000;8:11–9.
- Siebielec G, McCarty GW, Stuczynski TI, Reeves JB. Near- and mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy for measuring soil metal content. *J Environ Qual* 2004;33: 2056–69.
- Tang JC, Maie N, Tada Y, Katayama A. Characterization of the maturing process of cattle manure compost. *Process Biochem* 2006;41:380–9.
- Vergnoux A, Guiliano M, Le Dréau Y, Kister J, Dupuy N, Doumenq P. Monitoring of the evolution of an industrial compost and prediction of some compost properties by NIR spectroscopy. *Sci Total Environ* 2009;407:2390–403.
- Windham WR, Robertson JA, Leffler RG. A comparison among methods of moisture determination of forage for NIRS calibration and validation. *Crop Sci* 1987;27:777–83.
- Xing L, Chen LJ, Han IJ. Rapid analysis of layer manure using near-infrared reflectance spectroscopy. *Poult Sci* 2008;87:1281–6.
- Yang ZL, Han IJ, Fan X. Rapidly estimating nutrient contents of fattening pig manure from floor scrapings by near infrared reflectance spectroscopy. *J Near Infrared Spectrosc* 2006;14:261–8.



Chemosphere 78 (2010) 13–21



Contents lists available at ScienceDirect

Chemosphere

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chemosphere



**3.3. Estimation of phosphorus content and dynamics during
composting: Use of near infrared spectroscopy. Chemosphere,
2010**

Chemosphere 78 (2010) 13–21

Contents lists available at ScienceDirect



Chemosphere

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chemosphere



Estimation of phosphorus content and dynamics during composting: Use of near infrared spectroscopy

L. Galvez-Sola ^a, J. Morales ^b, A.M. Mayoral ^b, F.C. Marhuenda-Egea ^c, E. Martinez-Sabater ^c, M.D. Perez-Murcia ^a, M.A. Bustamante ^a, C. Paredes ^a, R. Moral ^{a,*}

^aDepartment of Agrochemistry and Environment, Miguel Hernandez University, EPS-Orihuela, Orihuela (Alicante), Spain

^bApplied Statistical Unit, Operations Research Center, Miguel Hernandez University, Elche (Alicante), Spain

^cDepartment of Agrochemistry and Biochemistry, University of Alicante, Alicante, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 June 2009

Received in revised form 24 September 2009

2009

Accepted 24 September 2009

Available online 28 October 2009

Keywords:

Compost

P forms

³¹P NMR spectroscopy

NIR spectroscopy

Multivariate calibration

ABSTRACT

The content and chemical forms of P in compost are essential variables for its proper management with an agricultural purpose, especially considering the increasing P over-fertilization in agrosystems. In this study, the estimation of P content and dynamics in different composting scenarios was developed using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) coupled with a statistical tool for calibration, a penalized signal regression. Samples were analyzed on total P and partitioned using NaOH-solution ³¹P NMR spectroscopy quantifying pyrophosphate, orthophosphate, orthophosphate diesters, phospholipids, and orthophosphate monoesters pools. According to the results obtained, total P content ($r^2 = 0.99$ and root mean square error of cross-validation = 0.53) and P forms can be estimated during composting using NIRS, as well as in the mature product, orthophosphate and orthophosphate monoesters being the most abundant P forms throughout the experiment. Penalized signal regression allows detecting the significant wavenumbers in each composting period, and also with the different P pools in the composting pile depending on time.

© 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Build-up of P in excessively fertilized soils has become an environmental concern, since accumulation of P in surface soil can result in a transfer of P to groundwater producing concentrations that exceed groundwater quality standards. Thus, several countries have implemented protective measures in order to prevent an excessive P input. Amlinger et al. (2004) recommended a maximum application per year between 50 and 68 kg P₂O₅ equivalent ha⁻¹. The main input of P in agriculture came from fertilizers, but also from manures and organic amendments. Knowledge of P partitioning, solubility and, ultimately, bioavailability are essential to consider in balancing the use of compost as a fertilizer while protecting the environment (Toor et al., 2006). The use of only nitrogen based criterion to establish the organic application dose to soils could lead to an over-fertilization of nutrients such as P and K, especially when composts with very low mineralization rates are considered. As Shober and Sims (2003) reported, 24 states of the USA have regulations or guidelines related to the restriction of land application of biosolids based on the P criterion. However, in the future, P supply could be reduced, because

mining phosphorus for fertilizer is consuming the mineral faster than geologic cycles can replenish it (Déry and Anderson, 2007). In this future scenario, organic wastes and, especially compost, could constitute a strategic resource to cover P fertilization in an environmentally friendly management.

On the other hand, the organic wastes used to elaborate compost are also affected by a high variability in their composition. In Spain, variations of 25% for N and 19% for P contents in sewage sludge, respectively, were detected during the 2001–2003 period. For this reason, a complete characterization of P during composting, including content and speciation, could be useful to understand the P dynamics and thus, its bioavailability in the amended soils. Nevertheless, most of the studies about compost only include P total contents or increments between initial and final total P concentrations, without consideration of the chemical speciation of P and how it changes with time. Chemical analysis is the usual way of studying the P speciation in organic materials, NaOH–EDTA being the main extractant for organic P in compost samples according to Bowman and Moir (1993) and Turner et al. (2005). However, other instrumental techniques, such as NMR could be also used for these purposes (Toor et al., 2006). Using solution ³¹P NMR spectroscopy, multiple P compounds can be quantified simultaneously in compost extracts with minimal sample preparation and handling (Condon et al., 1997).

* Corresponding author. Tel.: +34 966749652; fax: +34 966749711.
E-mail address: raul.moral@umh.es (R. Moral).

Recent advances in methodology for solution ^{31}P NMR spectroscopy of alkaline soil extracts include improvements in signal identification (Makarov et al., 2002; Turner et al., 2003; Turner and Richardson, 2004) and the development of a quantitative extraction procedure (Cade-Menun and Preston, 1996). In this speciation, inorganic forms of P, such as pyrophosphate or orthophosphate, and organic P forms, such as orthophosphate diesters, phospholipids, orthophosphate monoesters could be elucidated. Therefore, organic P can be now quantified and partitioned more accurately than using the classical analytical methods. However, chemical speciation coupled with NMR analyses is time-consuming and expensive. A promising alternative could be the estimation of the P content in compost based on the use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS), a non-destructive analytical technique that is pollution-free and cost-effective, capable of analyzing organic substances rapidly (<1 min). NIRS is frequently applied in environmental analyses including soil organic matter (Ludwig et al., 2002; Cozzolino and Morón, 2006); soil carbon (Reeves et al., 2006); humic and fulvic acids (Polak et al., 2005); organic wastes (Malley et al., 2005; Grube et al., 2006); mineral concentration in plants (Halgerson et al., 2004) and small compounds present in animal cells, such as ammonium, glucose, or lactate (Riley and Crider, 2000). In several studies, estimations of the total content of P in an organic matrix were obtained with more or less accuracy. Malley et al. (2005) obtained a coefficient of correlation of 0.71 and a standard error of prediction of 0.70 mg g^{-1} in manure compost, useful for screening, while Halgerson et al. (2004) observed a coefficient of determination of 0.91 and a standard error of cross-validation of 175 mg kg^{-1} in alfalfa leaves. However, other authors have reported the use of NIRS in the estimation of P in soil with different results, as Chang et al. (2001) that obtained a regression coefficient of 0.40 and a root mean standard error of cross-validation of 32.28 mg kg^{-1} and He et al. (2007), which showed a correlation coefficient between measured and predicted P of 0.47, values not suitable to use this technique for P estimation.

Several mathematical approaches have been used for modeling the signal obtained from NIRS and optimizing the output of information, such as the use of multivariate calibration. Some of the challenges posed in this framework are non-trivial and include the following aspects: (a) the number of regressors (p wavenumbers) may greatly exceed training observations (n); (b) the regressors are highly correlated, so we have a very ill-conditioned statistical problem (Frank and Friedman, 1993). Two general approaches have been used to solve these issues: (1) reduction of the regression bases, including partial least squares, principal components, or projection onto bases of splines (Marx and Eilers, 1999) and (2) penalized regression, like ridge regression or penalized signal regression (Eilers and Marx, 2003). With smooth spectra, penalized signal regression is a very promising approach because it forces the vector of regressor coefficients to vary smoothly with wavenumber.

Therefore, the main objectives of this study were to establish the effectiveness and accuracy of NIRS in the evaluation of the P total content and P forms during composting of winery and distillery residues. For this purpose, the development of a modern mathematical approach through penalized signal regression and the use of solution ^{31}P NMR spectroscopy procedure were also used and validated.

2. Materials and methods

2.1. Compost samples

Two hundred and four samples were used in this study from four different composting piles elaborated using several residues,

but including in all the cases wastes from the winery and distillery industry. Four different piles (P1, P2, P3 and P4) were prepared with mixtures of grape stalk (GS), grape marc (GM), exhausted grape marc (EGM), sewage sludge (SS), cow manure (CM) and poultry manure (PM), using the Rutgers static pile composting system. The composition of the composting piles and the characteristics of the raw materials used are detailed in previous works (Bustamante et al., 2007, 2008b, 2009). In P1 and P2, GS, GM, EGM and SS were used. Initially, GS, GM and EGM were mixed in both piles and after 17 d, SS was added to both piles as a source of nitrogen and microorganisms. On the other hand, P3 and P4 were elaborated by mixing EGM and two different animal manures, CM and PM, respectively. The moisture of the piles was controlled weekly by adding the necessary amount of water to obtain a moisture content not less than 40%. In P1, fresh collected vinasse (V) was used for watering; 0.4 L V kg^{-1} was added on the first day, and the remaining volume, up to 0.95 L kg^{-1} , was added gradually up to 25 d of composting. The mixtures (about 1700 kg each for P1 and P2 and 1800 kg each for P3 and P4) were composted in a pilot plant, in trapezoidal piles (1.5 m high with a $2 \times 3 \text{ m}$ base) with temperature control and supplied with forced aeration. The timer was set for 30 s ventilation every 30 min, and the ceiling temperature for continuous air blowing was $55 \text{ }^\circ\text{C}$. Forced aeration was used during the bio-oxidative phase, which lasted 130 d for P1 and P2, respectively, 134 d for P3 and 157 for P4. The maximum temperature values reached by the composting piles throughout the thermophilic phase were 47 and $42 \text{ }^\circ\text{C}$ for P1 and P2, and 54 and $50 \text{ }^\circ\text{C}$ for P3 and P4, respectively (the temperature evolution of the piles is described in detail by Bustamante et al. (2007) and Bustamante et al. (2008b)). The bio-oxidative phase of composting was considered finished when the temperature of the pile was stable and near to that of the surrounding atmosphere. Then, the piles were allowed to mature for two months. Samples were obtained by mixing seven sub-samples coming from seven different zones of the piles, from the whole profile (from the top to the bottom of the pile) and they were collected approximately every 2 weeks.

2.2. Sample preparation and solution NMR spectroscopy

Total P content was measured colorimetrically after $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ digestion (Kitson and Mellon, 1944) in all the samples. For P speciation, P was extracted by shaking 1 g of air-dried compost samples with 20 mL of a solution containing 0.25 M NaOH and 0.05 M Na_2EDTA for 16 h at $22 \text{ }^\circ\text{C}$ (Cade-Menun and Preston, 1996). It is assumed that NaOH-EDTA quantitatively recovers organic P from compost samples (Bowman and Moir, 1993; Turner et al., 2005), although there is no direct method that confirms this. Extracts were centrifuged at $10\,000\text{g}$ for 30 min and an aliquot was taken for determination of total P. The remaining solution was concentrated with speedvac Eppendorf Concentrator 5301. Each concentrate was re-dissolved in 0.1 mL of deuterium oxide and 0.9 mL of a solution containing 1.0 M NaOH and 0.1 M EDTA, and then transferred to a 5 mm NMR tube. Solution ^{31}P NMR spectra were obtained using a Bruker Avance DRX 400 MHz spectrometer operating at 121.5 MHz for ^{31}P . Samples were analyzed using a $6.5 \mu\text{s}$ pulse (30°), a delay time of 2.0 s, an acquisition time of 0.67 s, and broadband proton decoupling. The delay time used here allows sufficient spin-lattice relaxation between scans for P compounds in NaOH-EDTA (Cade-Menun et al., 2002). Approximately 512 scans were acquired for all samples. Chemical shifts of signals were determined in ppm relative to an external standard of 85% H_3PO_4 . The values can vary slightly among spectra due to slight differences in pH, viscosity, and ionic strength, although this is minimized by analyzing samples at a strongly alkaline pH (>13). Signals were assigned to P compounds or functional groups based on literature reports (Turner et al., 2003) and signal areas calcu-

lated by integration. Sample analyses were carried out in triplicate and the error of the NMR method determined for each constituent was lower than 5%. Spectra were plotted with a line broadening of 1 Hz to preserve resolution in the phosphate monoester region.

2.3. NIRS analysis

NIRS analysis was performed using a FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker Optik GmbH, Germany) in the range of wavenumber from 12 000 to 3800 cm^{-1} (equivalent to wavelength 830–2630 nm) with a step of 8 cm^{-1} . Compost samples were dried at 105 °C, grinded ($\phi < 1$ mm) and dried again after storing. Samples were divided in two sets (2/3 for the calibration and 1/3 for the validation), the mean, range, and standard deviation of these two sample sets being very similar. About 20 g of dried sample were scanned in a glass plate. Individual sample were remixed and re-scanned three times, being averaged after using Opus software (version 6, © Bruker Optik), recording absorbance, as $\log 1/R$, where R is reflectance, for a total of 64 scans per spectrum. No outliers were found.

2.4. Mathematical model for P total content

A penalized signal regression procedure was used to establish a prediction model for the P concentration from the information given by the spectra, measured at different time points in four similar compost piles, similar to that proposed by Eilers and Marx (2003):

Notation of the model:

Y_i , $i = 1, \dots, n$, the P concentration as measured by the analytic procedure, in every sample. Each measure is related to certain time point during the observation period.

$X = [x_{ij}]$, $i = 1, \dots, n$ and $j = 1, \dots, p$ is the absorbance matrix observed from the spectra, where p denotes the number of wavelengths considered and n the number of time points measured.

Then, the model can be formulated in terms of the expected P concentration, as:

$$E(Y_i) = \alpha_0 + \sum_{j=1}^p x_{ij} \alpha_j, \quad (1)$$

where α_0 represents intercept and α_j gives the weight of the wavenumber w_j to predict P at time point t_i . However, this formulation encounters a conditioning problem as the number of observations n is quite fewer than the number of predictors p . In fact, they propose to project α onto a known basis of smooth functions, so making use of the ordered feature of the wavenumbers.

The number of initial predictors p given by the number of wavelengths considered was reduced to the number of nodes established on the range of wavenumbers, v_m , and throughout the observed period of time, v_t . These numbers must be small enough to make viable the estimation problem, but large enough to capture the spectrum behaviour, especially on ranges where it varies a lot. The proposed modelization states that the coefficients α of the prediction model (1) can be written in terms of a B-spline basis conformed from wavenumbers and the time points as:

$$\alpha = \sum_{m=1}^{v_t} \sum_{l=1}^{v_m} B_{ml} B_{l'}^T \gamma_{ml}, = \mathbf{B}\Gamma, \quad (2)$$

where $\Gamma = [\gamma_{ml}]$ is the matrix of unknown tensor product B-spline coefficients, $\gamma = \text{vec}(\Gamma)$ and $\mathbf{B} = (\mathbf{B} \otimes \mathbf{1}_{v_t}) \odot (\mathbf{1}_{v_t} \otimes \mathbf{B}')$. The symbols \otimes and \odot denote, respectively, Kronecker product and element-wise multiplication of matrices. Then, it can be rewritten (1) as:

$$E(Y_i) = \alpha_0 + \mathbf{X}\mathbf{B}\alpha = \alpha_0 + \mathbf{U}\gamma, \quad (3)$$

with $\mathbf{U} = (\mathbf{X}\mathbf{B} \otimes \mathbf{1}_{v_t}) \odot (\mathbf{1}_{v_t} \otimes \mathbf{B}')$ and $\dim \mathbf{U} = n \times v_t v_t$. If v_k and v_l take small values (generally less than 60) the estimation problem reduces to a multiple linear regression one, where the number of observations n is greater than the number of coefficients to estimate, $1 + v_t v_t$.

Finally, an optimal solution for v_k and v_l was obtained by the predictive cross-validation criteria given by Eilers and Marx (2003). It consists of dividing the sample into two subsets, one used to validate the model and the other one to study its capability for prediction, always comparing the observed values to the estimated ones (in our case, P concentration).

2.5. Mathematical model for P forms

When considering the organic P pools in compost (P forms), measures for everyday under study were not available, but just quantified at four different time periods. So, the model proposed above it was not valid here, as data cannot be fitted by the day of analysis. Then, an individual analysis was performed at each period and for each P form.

The proposed model was quite similar to the previous one, but here the coefficients related to the absorbances were just modelled in terms of the wavenumber. Then, for every P form and time period, the model was given by:

$$E(Y_i) = \alpha_0 + \sum_{j=1}^p x_{ij} \alpha_j,$$

with

$$\alpha = \sum_{m=1}^{v_t} B_m \gamma_m = \mathbf{B}\Gamma,$$

where $\Gamma = [\gamma_m]$ is the vector of unknown of B-spline coefficients and v_k is giving the same value that the optimum reached at the model fitted above for the P, in order to preserve a similar structure in the modelling process. So, we can write:

$$E(Y_i) = \alpha_0 + \mathbf{X}\mathbf{B}\alpha = \alpha_0 + \mathbf{U}\gamma,$$

with $\mathbf{U} = \mathbf{X}\mathbf{B}$, where \mathbf{B} is a univariate (cubic) B-spline basis presented along the axis defined by the wavenumber.

The analysis has been resolved with the R package, version 2.7.0 (R Development Core Team, 2008). The functions used were programmed by Brian D. Marx and are available at <http://www.stat.lsu.edu/bmarxj>.

3. Results

3.1. Total P content and P partition according to ^{31}P NMR

Total P analysis is shown in Table 1, with the range and mean value of total P contents during the composting process. A significant increase in total P concentration during the process was observed in all the piles. Compost elaborated with PM reached the

Table 1
Total P contents in all compost piles (dry weight basis).

Compost pile	P range (g kg ⁻¹ d.m.)	Mean value \pm SD (g kg ⁻¹ d.m.)
P1	0.86–5.67	4.16 \pm 1.41
P2	0.13–5.72	4.29 \pm 1.70
P3	3.19–5.81	4.39 \pm 0.72
P4	5.38–10.76	8.28 \pm 1.57

P1 [grape stalk + grape marc + exhausted grape marc + sewage sludge + vinasse]; P2 [grape stalk + grape marc + exhausted grape marc + sewage sludge]; P3 [exhausted grape marc + cattle manure]; P4 [exhausted grape marc + poultry manure].

highest value (more than 10 g kg^{-1} dry weight basis); SS and CM ingredients induced similar P concentration in mature compost. Ferrer et al. (2001) obtained total contents of P in winery composts around 7 g kg^{-1} dry weight basis, especially when manures are used as co-composting material. The total P contents in the winery-distillery wastes show significant differences, wine lee and winery sludge being the wastes that showed the greatest values compared to grape stalk and grape pomace or marc (Bustamante et al., 2008a). Solution ^{31}P NMR spectra of compost sample extracts from the piles 2, 3 and 4 are shown in Fig. 1. Pile 1 spectrum is not included due to the high similarity with pile 2 spectrum, since the only difference between these piles was the addition of vinasse in pile 1. Orthophosphate monoesters appeared as an envelope be-

tween 4.0 and 6.0 ppm, with major signals at 5.89, 5.19, 4.93, 4.86, 4.71, 4.45 and 4.14 ppm. Well-resolved signals in this region of the spectra allowed the obtaining of detailed information on individual compounds. The latter signal probably represented *scyllo*-inositol hexakisphosphate (Turner and Richardson, 2004). *Myo*-inositol hexakisphosphate appeared as a signal at 5.89, originating from the C-2 phosphate on the inositol ring. Strong signals at 5.19 and 4.86 ppm almost certainly represented phosphatidic acid and β -glycerophosphate, respectively. These compounds are originated from the degradation of phosphatidyl choline in alkaline solution (Turner et al., 2003), so they are probably artifacts of the analytical procedure rather than being present in significant quantities in compost samples.

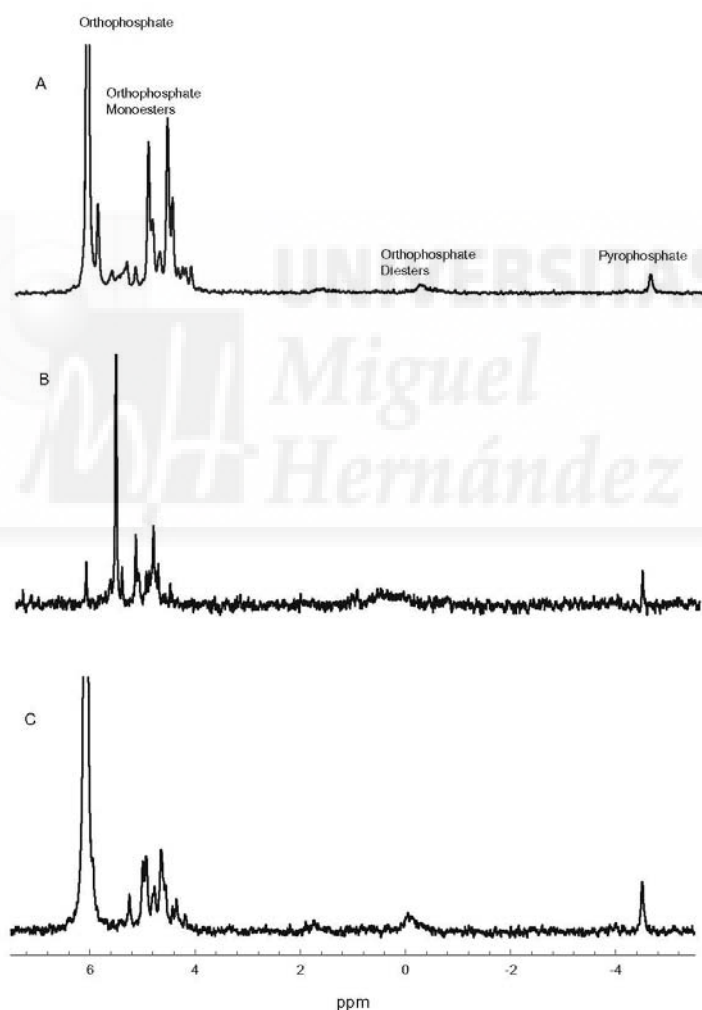


Fig. 1. Solution ^{31}P NMR spectra of NaOH-EDTA extracts of compost samples: (A) pile 4 (exhausted grape marc + poultry manure); (B) pile 2 (grape stalk + grape marc + exhausted grape marc) at 0 d; (C) pile 2 (grape stalk + grape marc + exhausted grape marc + sewage sludge) after 17 d.

Signals from inorganic orthophosphate appeared at approximately 6.08 ppm in the extracts of all compost samples. The inorganic orthophosphate was present in only small amounts, since the signal at 6.08 was weak in the spectra (Fig. 1). Pyrophosphate signals appeared at -4.46 ppm. Signals around -20 ppm, from penultimate and mid-chain polyphosphate groups from organic condensed phosphates (e.g. ADP or ATP), were absent in the spectra.

Clear signals from DNA appeared in compost sample extracts at approximately -0.2 ppm, with other signal at 1.7 ppm corresponding to phospholipids from microbes (phosphatidyl ethanolamine). As it was previously commented, the presence of strong signals in the orthophosphate monoester region from degradation products of phosphatidyl choline suggests that the phospholipids were considerably under-estimated in most of the extracts.

Table 2 shows the evolution of the P composition determined in NaOH-EDTA extracts of compost samples by solution ^{31}P NMR spectroscopy. In all the composting procedures, inorganic P forms were dominant in mature compost. On the other hand, only in the composts with SS (piles 1 and 2), the proportion of pyrophosphate (a short chained inorganic polyphosphate) was significant in relation to the total amount of inorganic P at the beginning of the composting process. However, the proportion of pyrophosphate represented less than 1% of the total P in mature compost. Net transformation of organic P to inorganic P was observed during all the composting process. This fact was noticeable in the first stages of the thermophilic period (2–3 first week), especially for the SS and PM derived compost. In addition, a change in the ratio organic P vs. inorganic P from 9.4; 0.78 and 1.4 at the beginning of composting to 0.09; 0.18 and 0.25 at the end of maturing period was observed for pile 2, 3 and 4 respectively. About organic P form evolution, orthophosphate monoesters presented higher contents compared to orthophosphate diesters and phospholipids, the latest being the most labile in the organic pool, with negligible presence in mature compost. However, orthophosphate diesters still represents around 3% of the total organic P in matured compost elaborated with manure.

3.2. Mathematical model for P content

To fit the model proposed in the Section 2, 136 samples (66.6%) were used for estimation and 68 (33.3%) for predictive validation. All point times (d) used at the experiment were included in the estimation data. The range of values considered for v_k was 20–60, and 5–20 for v_l . Optimal values obtained were $v_2 = 40$ and $v_1 = 14$.

Table 2
The chemical speciation of phosphorus over time determined in NaOH-EDTA.

Composting time (d)	Pyrophosphate	Orthophosphate diesters	Phospholipids	Orthophosphate monoesters	Orthophosphate
<i>Pile 2: grape stalk + grape marc + exhausted grape marc + sewage sludge</i>					
0	2.1	16.3	5.1	47.5	3.4
16	2.4	2.6	0.3	22.7	77.1
86	1.1	1.2	0.1	11.9	87.7
234	0.5	>0.1	0.4	8.2	92.5
<i>Pile 3: exhausted grape marc + cow manure</i>					
0	3.8	2.8	0.8	39.7	50.1
29	1.4	2.7	1.2	25.9	56.5
91	1.6	2.0	2.0	21.9	63.4
192	0.8	0.6	>0.1	14.5	87.1
<i>Pile 4: exhausted grape marc + poultry manure</i>					
0	1.5	2.2	1.1	54.6	39.1
28	0.5	1.7	0.3	26.8	69.6
90	0.2	0.3	>0.1	21.9	84.8
140	0.5	1.0	>0.1	19.1	80.3
212	0.4	0.4	0.2	15.3	86.6

Through the confidence interval estimated of the γ_{ml} coefficients, it can be concluded on which wavenumbers are significantly related to prediction of P: those that did not contain zero. Fig. 2 shows the point estimates of these coefficients (continuous line) and their 95% confidence intervals (dotted lines). Those ranges where all lines stay above or below the zero, do actually resemble ranges of wavenumbers that significantly contribute to predict P concentration. It can be also appreciated the effect of time on these estimates. For the early phase of the experiment, confidence intervals resulted thinner than those for last phases because the observed variability on the P concentration increased with time. The model actually captures this behaviour.

The use of a penalized statistical model could be used as the best way to estimate P using NIRS due to the high significance obtained in all the time points (data not shown), because this approach can incorporate the variation in the contribution of each wavenumber range during the composting process. This fact could be also in concordance with the P forms variation detected in the previous section. Fig. 3 shows the prediction results. On the left, the predicted values of total P for the validation sample versus the point time at which measurements were made. On the right, observed values of P versus predicted ones with the model for the validation sample. Predicted and observed values are quite similar (in fact a diagonal line is appreciated) along all the time range, even at the last time points, when the variability of P increases. The correlation coefficient for observed and predicted values is 0.9937, much better than any other result published so far.

3.3. Mathematical model for P forms

In Figs. 4 and 5 are shown the results obtained for the different P forms. These figures also include the correlation coefficients between observed and predicted values, which are always greater or equal to 0.99, so implying that the fitted model is quite efficient for prediction. Right graphs show the wavenumber ranges that result significant at each period. We can observe clear differences on the significant ranges for the different P forms at each period, so giving support to the individualized modelling. In Table 3, partial linear square regression (PLS) modeling was compared with the proposed penalized signal regression procedure for total P and P forms in compost samples. With penalized signal regression procedure, we obtained a nearly perfect adjustment in total and the rest of P pools, and only for the Orthophosphate form, the value of the root mean square error of cross-validation was relatively high compared with the other forms. However, PLS adjustment was lower in all the parameters, especially for the P forms in compost.

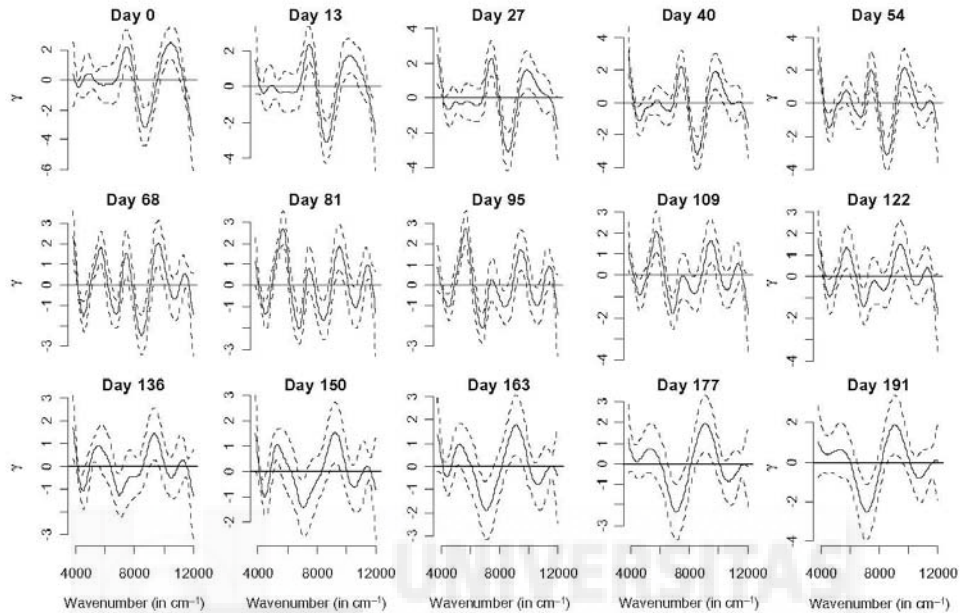


Fig. 2. Estimation coefficients evolution (continuous line) and 95% confidence intervals (dotted lines).

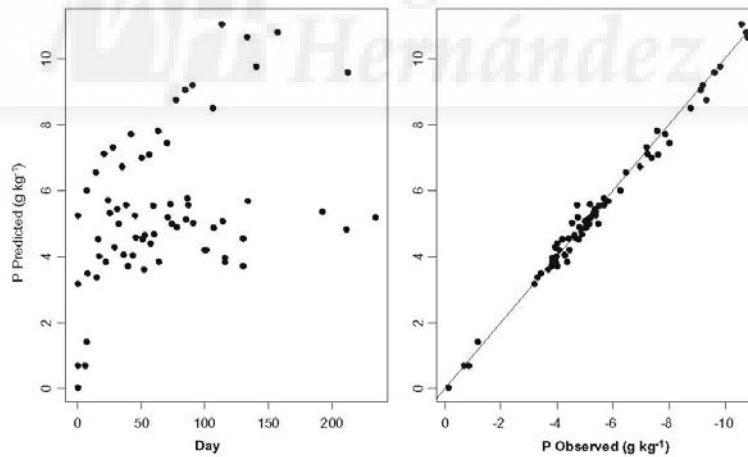


Fig. 3. Prediction results using penalized signal regression. On the left, the predicted values of phosphorus for the validation sample versus the point in time at which measurements were made. On the right, the observed values of P versus predicted ones with the model for the validation sample.

4. Discussion

P content and dynamics in compost mainly depends on the ingredient composition of the pile and the biotic degradation of or-

ganic matter. Shober and Sims (2007) reported that P solubility in organic sources can be influenced by several aspects, such as animal diet, biological treatment, composting or storage practices. Due to the nature of the P forms and their transformation into

L. Galvez-Sola et al. / Chemosphere 78 (2010) 13–21

19

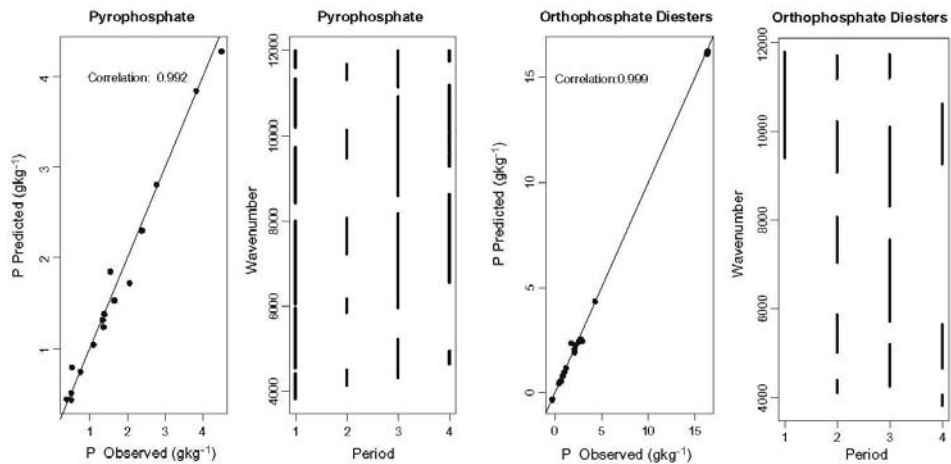


Fig. 4. Prediction results using penalized signal regression. Predicted values for the validation sample versus the observed values and the significant region of NIR spectra for each period for pyrophosphate (on the left) and for orthophosphate diesters (on the right).

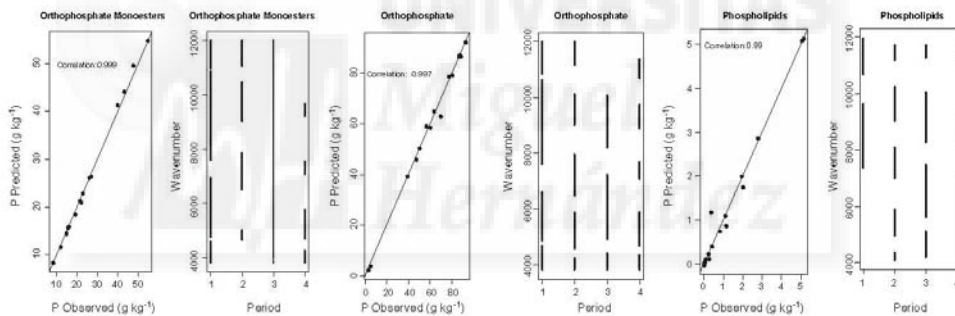


Fig. 5. Prediction results using penalized signal regression. Predicted values for the validation sample versus the observed values and the significant region of NIR spectra for each period for orthophosphate monoesters, orthophosphate and for phospholipids.

Table 3
NIRS validation results for total P and P forms in compost samples.

Parameter	Penalized signal regression		Partial linear square regression	
	r ²	RMSECV	r ²	RMSECV
P (g kg ⁻¹)	0.99	0.53	0.93	0.59
Pyrophosphate	0.98	0.02	0.79	0.45
Orthophosphate diesters	0.99	0.04	0.98	0.54
Phospholipids	0.99	0.06	0.82	0.59
Orthophosphate monoesters	0.99	0.62	0.88	4.75
Orthophosphate	0.99	3.97	0.93	6.47

P: phosphorus; r²: coefficient of determination for validation; RMSECV: root mean square error of cross-validation.

the composting process, a significant increase in P total concentration during the process is usually observed (Cooperbrand and Middleton, 1996; Felton et al., 2004). The use of SS or manures,

especially CM and PM could increase significantly the P content in piles based on agricultural crop wastes with relatively low values of this element compared to N and K, obtaining a balanced compost (Moral et al., 2009).

However, there are some difficulties in the interpretation of solution ³¹P NMR (Ajiboye et al., 2007), since this technique give us direct information about molecular and structural characterization of inorganic and organic P in NaOH extracts. It is possible to distinguish more labile organic species e.g. phospholipids from the less labile, such as phytic acid, the major orthophosphate monoester (Makarov et al., 2002). In this experiment, the most important feature was the increase of the inorganic orthophosphate from organic P forms during the compost process, ranging the inorganic P from 80% to 91.5% of the total P. Ajiboye et al. (2007) reported values of inorganic orthophosphate in biosolids and hog manure NaOH extracts around 95% and 79%, respectively. The differential behaviour of P in compost elaborated with SS or manure could be associated to the wastewater treatment and the

role of chemicals added in the treatment plants. Hinedi et al. (1989) reported that total P in anaerobically digested municipal biosolids was almost entirely orthophosphate. Huang et al. (2008) reported a different fractionation pattern of P in biosolids depending on the use of ferrous sulphate, calcium oxide and aluminium sulphate. So, the chemical forms of P in organic amendments are essential variables that must be considered prior to the use of these amendments in agriculture in order to carry out a suitable management of these materials. Ajiboye et al. (2007) observed that most of the total P analyzed in organic amendments in the sequential extracts of organic amendments was orthophosphate from readily soluble calcium and some aluminium phosphates, except in poultry samples, which was dominated by organic P.

Total P estimation using commercial NIRS mathematical approaches obtained low accuracy, especially in compost samples (Shepherd et al., 2003; Malley et al., 2005). In the majority of experiments, time evolution is not considered in the mathematical model. In this experiment, total P estimation and P form evolution throughout the compost process were very well described using penalized signal regression. In our study, penalized signal regression was more powerful in identifying significant NIR region for P estimation compared with PLS procedure. Dao et al. (2001) observed significant changes in P availability in composting procedures by addition of aluminium- and iron by-products, with a decrease of dissolved reactive P. Due to the heterogeneous nature of the wastes used in commercial composting, the proposed quick estimation could contribute to a better understanding of P dynamics in composting and therefore, improve the managing of P fertilization due to the different availability of P pools in amended soils. In addition, the monitoring of the transformation of organic P forms to orthophosphate during the composting could be a quality parameter for this biotic process.

5. Conclusions

The proposed combination between NIR analysis and penalized signal regression for estimate total contents and the changes in P forms during this process is a promising and easy way to improve the management of P input with agricultural purposes, especially in industrialized composting plants in order to achieve availability partners of P in organic materials. P speciation using a standardized NaOH–EDTA extraction and solution ^{31}P NMR spectroscopy procedure increased significantly the output capabilities of prediction of the NIR-penalized signal regression.

Acknowledgments

This work has been supported by the Ministerio de Educación y Ciencia of Spain (CICYT CTM2006-01363/TECNO and MTM2007-61554 Projects), University of Alicante (UAUSTI07-02), and Generalitat Valenciana (GVPRE/2008/208).

References

Ajiboye, B., Akinremi, A.O., Hu, Y., Flaten, D.N., 2007. Phosphorus speciation of sequential extracts of organic amendments using nuclear magnetic resonance and X-ray absorption near-edge structure spectroscopies. *J. Environ. Qual.* 36, 1563–1576.

Amlinger, F., Pollak, M., Favoino, E., 2004. Heavy Metals and Organic Compounds from Wastes Used as Organic Fertilizers. EU Report ENV.A.2/etu/2001/0024, Brussels, Belgium.

Bowman, R.A., Moir, J.O., 1993. Basic EDTA as an extractant for soil organic phosphorus. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57, 1516–1518.

Bustamante, M.A., Moral, R., Paredes, C., Pérez-Espinoza, A., Moreno-Caselles, J., Pérez-Murcia, M.D., 2008a. Agrochemical characterisation of the solid by-products and residues from the winery and distillery industry. *Waste Manage.* 28, 372–380.

Bustamante, M.A., Paredes, C., Marhuenda-Egea, F.C., Pérez-Espinoza, A., Bernal, M.P., Moral, R., 2008b. Co-composting distillery wastes with animal manure: carbon and nitrogen transformations and evaluation of compost stability. *Chemosphere* 72, 551–557.

Bustamante, M.A., Paredes, C., Moral, R., Moreno-Caselles, J., Pérez-Murcia, M.D., Pérez-Espinoza, A., Bernal, M.P., 2007. Co-composting of distillery and winery wastes with sewage sludge. *Water Sci. Technol.* 56 (2), 187–192.

Bustamante, M.A., Paredes, C., Morales, J., Mayoral, A.M., Moral, R., 2009. Study of the composting process of winery and distillery wastes using multivariate techniques. *Bioresour. Technol.* 100, 4766–4772.

Cade-Menun, B.J., Liu, C.W., Nunlist, R., McColl, J.G., 2002. Soil and litter phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy: extractants, metals, and phosphorus relaxation times. *J. Environ. Qual.* 31, 457–465.

Cade-Menun, B.J., Preston, C.M., 1996. A comparison of soil extraction procedures for ^{31}P NMR spectroscopy. *Soil Sci.* 161, 770–785.

Chang, C.W., Laird, D.A., Mausbach, M.J., Hurburgh Jr., C.R., 2001. Near-infrared reflectance spectroscopy-principal component regression analyses of soil properties. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 480–490.

Condron, L.M., Frossard, E., Newman, R.H., Tekely, P., Morel, J.L., 1997. Use of ^{31}P NMR in the study of soils and the environment. In: Nanny, M.A., Minear, R.A., Leenheer, J.A. (Eds.), *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Environmental Chemistry*. Oxford University Press, Oxford.

Cooperbrand, L.R., Middleton, L.H., 1996. Changes in chemical, physical and biological properties of passively-aerated co-composted poultry litter and municipal solid waste compost. *Compost Sci. Util.* 4, 24–34.

Cozzolino, D., Morón, A., 2006. Potential of near-infrared reflectance spectroscopy and chemometrics to predict soil organic carbon fractions. *Soil Till. Res.* 85, 78–85.

Dao, T.H., Sikora, L.J., Hamazaki, A., Chaney, R.L., 2001. Manure phosphorus extractability as affected by aluminium- and iron by-products and aerobic composting. *J. Environ. Qual.* 30, 1693–1698.

Déry, P., Anderson, B., 2007. Peak phosphorus. *Energy Bull.* <http://energybulletin.net/node/33164>.

Eilers, P.H.C., Marx, B.D., 2003. Multivariate calibration with temperature interaction using two-dimensional penalized signal regression. *Chemometr. Intell. Lab. Syst.* 66, 159–174.

Felton, G.K., Carr, L.E., Frigge, C.E., Bouwkamp, J.C., 2004. Nitrogen and phosphorus dynamics in co-composted yard trimmings and broiler litter. *Compost Sci. Util.* 12, 349–355.

Ferrer, J., Paéz, G., Mármol, Z., Ramones, E., Chandler, C., Marín, M., Ferrer, A., 2001. Agronomic use of biotechnologically processed grape wastes. *Bioresour. Technol.* 76, 39–44.

Frank, I.E., Friedman, J.H., 1993. A statistical view of some chemometric regression tools. *Technometrics* 35, 109–148.

Grube, M., Lin, J.G., Lee, P.H., Kokorevicha, S., 2006. Evaluation of sewage sludge-based compost by FT-IR spectroscopy. *Geoderma* 130, 324–333.

Halgeron, J.L., Sheaffer, C.C., Martin, N.P., Peterson, P.R., Weston, S.J., 2004. Near-infrared reflectance spectroscopy prediction of leaf and mineral concentrations in alfalfa. *Agron. J.* 96, 344–351.

He, Y., Huang, M., Garcia, A., Hernández, A., Song, H., 2007. Prediction of soil macronutrients content using near-infrared spectroscopy. *Comput. Electron. Agr.* 58, 144–153.

Hinedi, Z.R., Chang, A.C., Lee, R.W.K., 1989. Characterization of phosphorus in sludge extracts using phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Environ. Qual.* 18, 323–329.

Huang, X.L., Chen, Y., Shenker, M., 2008. Chemical fractionation of phosphorus in stabilized biosolids. *J. Environ. Qual.* 37, 1949–1958.

Kitson, R.E., Mellon, M.G., 1944. Colorimetric determination of P as molybdovanadate phosphoric acid. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* 16, 379–383.

Ludwig, B., Khanna, P.K., Bauhus, J., Hopmans, P., 2002. Near infrared spectroscopy of forest soils to determine chemical and biological properties related to soil sustainability. *Forest Ecol. Manage.* 171, 121–132.

Makarov, M.I., Haumaier, L., Zech, W., 2002. The nature and origins of diester phosphates in soils: a P-31-NMR study. *Biol. Fert. Soils* 35, 136–146.

Malley, D.F., McClure, C., Martin, P.D., Buckley, K., McCaughy, W.P., 2005. Compositional analysis of cattle manure during composting using a field-portable near-infrared spectrometer. *Commun. Soil Sci. Plant* 36, 455–475.

Marx, B.D., Eilers, P.H.C., 1999. Generalized linear regression on sampled signals and curves: a P-spline approach. *Technometrics* 41, 1–13.

Moral, R., Paredes, C., Bustamante, M.A., Marhuenda-Egea, F., Bernal, M.P., 2009. Utilisation of manure composts by high-value crops: safety and environmental challenges. *Bioresour. Technol.* 100, 5454–5460.

Polak, J., Sulkowski, W.W., Bartoszek, M., Papiez, W., 2005. Spectroscopic studies of the progress of humification processes in humic acid extracted from sewage sludge. *J. Mol. Struct.* 744–747, 983–989.

R Development Core Team, 2008. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>.

Reeves III, J.B., Follet, R.F., McCarty, W.C., Kimble, J.M., 2006. Can near or mid reflectance spectroscopy be used to determine soil carbon pools? *Commun. Soil Sci. Plant* 37, 2307–2325.

Riley, M.R., Crider, H.M., 2000. The effect of analyte concentration range on measurement error obtained by NIR spectroscopy. *Talanta* 52, 473–484.

Shepherd, K.D., Palm, C.A., Gachengo, C.N., Vanlauwe, B., 2003. Rapid characterization of organic resources quality for soil and livestock

L. Gálvez-Sola et al. / *Chemosphere* 78 (2010) 13–21

21

- management in tropical agroecosystems using near-infrared spectroscopy. *Agron. J.* 95, 1314–1322.
- Shober, A.L., Sims, J.T., 2003. Phosphorus restrictions for land application of biosolids: current status and future trends. *J. Environ. Qual.* 32, 1955–1964.
- Shober, A.L., Sims, J.T., 2007. Integrating phosphorus source and soil properties into risk assessments for phosphorus loss. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 71, 551–560.
- Toor, G.S., Hunger, S., Peak, J.D., Sims, J.T., Sparks, D.L., 2006. Advances in the characterization of phosphorus in organic wastes: environmental and agronomic applications. *Adv. Agron.* 89, 1–72.
- Turner, B.L., Cade-Menun, B.J., Condon, L.M., Newman, S., 2005. Extraction of soil organic phosphorus. *Talanta* 66, 294–306.
- Turner, B.L., Mahieu, N., Condon, L.M., 2003. Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectral assignments of phosphorus compounds in soil NaOH-EDTA extracts. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 497–510.
- Turner, B.L., Richardson, A.E., 2004. Identification of scyllo-inositol phosphates in soil by solution phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68, 802–808.





JOURNAL OF
AGRICULTURAL AND
FOOD CHEMISTRY

**3.4. Study of the evolution of organic matter during composting
of winery and distillery residues by classical and chemometric
analysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009**

Study of the Evolution of Organic Matter during Composting of Winery and Distillery Residues by Classical and Chemometric Analysis[†]

ENCARNACIÓN MARTÍNEZ-SABATER,[§] MARÍA A. BUSTAMANTE,[#]
FRUTOS C. MARHUENDA-EGEA,^{*,§} MOUNIR EL-KHATTABI,[§] RAÚL MORAL,[#]
EMILIO LORENZO,[‡] CONCEPCIÓN PAREDES,[#] LUIS N. GÁLVEZ,[#] AND JUANA D. JORDÁ[§]

[§]Department of Agrochemistry and Biochemistry, University of Alicante, Apartado 99, E-03080 Alicante, Spain, [#]Department of Agrochemistry and Environment, Miguel Hernandez University, EPS Orihuela, Ctra Beniel Km 3.2, 03312 Orihuela (Alicante), Spain, and [‡]Research Technical Services, Alicante University, Spain

The aim of the present paper is to evaluate the changes of organic matter during the composting process of fresh winery and distillery residues (WDR) by means of classical and chemometric analysis of ¹³C cross-polarization magic angle spinning (CPMAS) NMR and Fourier transform infrared (FT-IR) spectra. ¹³C NMR spectroscopy displayed a preferential biodegradation of carbohydrates as well as an accumulation of aliphatic chains (cutin- and suberin-like substances). This preferential biodegradation of the organic fractions reduces the landfill emission potential. Although the composition of the input mixture strongly affects the shape of the infrared (IR) spectra, typical bands of components can be selected and used to follow the composting process; that is, changes in the relative absorbances of the band of nitrate (at 1384 cm⁻¹) and in the band of carbohydrates (at 1037 cm⁻¹) have been observed. In addition, different chemometric tools, such as partial least-squares (PLS), interval PLS (iPLS), backward iPLS (biPLS), and genetic algorithm (GA), have been used to find the most relevant spectral region during the composting process. Chemometric analysis based on the combined and sequential use of iPLS and GA has been revealed as a very powerful tool for the detection in samples of the most relevant spectral region related to the composting process. From the obtained results, it can be concluded that CPMAS ¹³C NMR supported by FT-IR could provide information about the evolution and characteristics of the organic matter during the composting process in order to avoid contamination problems after its use as amendment in agriculture or after landfilling.

KEYWORDS: Compost; organic matter; biodegradation; ¹³C NMR; FT-IR; partial least-squares; genetic algorithm

INTRODUCTION

Wine production in the European Union represents about 70% of the entire worldwide production (approximately 266.9 × 10⁶ hL), Italy, together with France and Spain, being the major producers (1). The winemaking process results in an increasing amount of solid and liquid residues, such as grape stalk (1.907 × 10³ t/year), grape marc (5.335 × 10³ t/year), wine lees (2.285 × 10³ t/year), and winery wastewater and vinasse (162 × 10⁶ m³/year) (1). Composting can constitute a friendly environmental and economical alternative for treating solid organic wastes, such as winery and distillery residues. Composting is defined as a process of aerobic thermophilic microbial degradation, or an exothermic biological oxidation of various wastes, by many

populations of indigenous microorganisms, which leads to a stabilized, mature, deodorized, hygienic product, free of pathogens and plant seeds, and rich in humic substances that is easy to store and marketable as organic amendment or fertilizer (2–5). The composting process is a useful method of producing a stabilized material that can be used as a source of nutrients and soil conditioner in the field (6). The nature and properties of the initial mixture are important for the management and understanding of the composting process (7). In addition, the composting process involves changes in the physicochemical and chemical characteristics of the composting mixture. For this reason, it is possible to follow the composting process by spectral methods (5, 8, 9).

Chemometric methods such as partial least-squares regression (PLS) and principal component regression (PCA) have been usually used for the analysis of the NIR and FT-IR spectra (10, 11). However, these methods work with strict orthogonal decomposition, and this decomposition is not realistic, in the

[†]In memoriam: Jesús Caracuel, Ph.D. (1966–2008), Professor of Geology, Alicante University.

*Author to whom correspondence should be addressed (telephone 965903400, ext. 2063; fax 965903880; e-mail frutos@ua.es).

9614 *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 57, No. 20, 2009

Martínez-Sabater et al.

sense that the variables or intervals of variables in the original variable space are not interpretable chromophores, fluorophores, or vibrophores (12). It would be more interesting to work with methods that select variables or intervals of variables in the original variable space, that is, selecting an interval of the spectrum. This selection in the original spectrum can be interpreted as a chemical species. The spectroscopic information is optimally preserved with iPLS, biPLS, and GA methods (12–15). iPLS and biPLS methods are new graphically oriented approaches for local regression modeling of spectral data, and GA is a very powerful tool for the variable selection for a PLS model (GA-PLS) (16). Making a good selection of the spectral regions and good models, it is possible to improve the predictive ability and, thus, increase the possibilities for the development of new instruments for online monitoring of the process, such as the organic matter evolution during the composting process.

Solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy with cross-polarization and magic angle spinning (CPMAS NMR) allows information to be obtained directly and in a nondestructive way on the carbon components of the entire sample without any chemical or physical fractionation, and it is well suited to the characterization of natural organic matter (17–19). This technique can be used to detect, and even to quantify, the presence of carbohydrates and alkyl, aromatic, or carboxyl carbons for diverse solid samples such as compost (5, 6, 17–27). Infrared spectroscopy is based on the interaction of infrared light with matter, and it is sensitive to the chemical functional groups present in the sample (28, 29). FT-IR spectroscopy has contributed substantially to the knowledge of the chemistry of soil organic matter (SOM) (25, 30–33). The simple sample preparation, the relatively low cost, and the easy accessibility of FT-IR spectroscopy give FT-IR some advantages, such as the possibility of avoiding the potential presence of secondary reactions during sample preparation and that of determining all of the chemical species present in the sample using a unique analysis (8). Different composts can be distinguished by their fingerprint region (1500–900 cm^{-1}) (8), revealing also in this region fresh and undecomposed materials.

CP-MAS NMR and FT-IR spectroscopies have been used as tools in the study of the composting process (7–9, 21–23, 27, 33). The integration of the CP-MAS spectra of the compost samples showed that the carbon distribution and the modification of these carbon distributions are related to the transformation of the organic matter during the composting process (33), that is, the decrease of the carbon distribution in the carbohydrate region (60–110 ppm) during the composting process (21, 27, 33). With FT-IR spectra, the relative intensity of the typical bands of components can be selected and used to follow the composting process, monitoring the transformation of the organic and inorganic materials (7–9, 21). The selection of the regions in CP-MAS spectra or the bands in FT-IR spectra is based on a visual inspection of the spectra. Using multivariate analysis of the spectra we try to find a good correlation between the spectral regions or bands and the composting process. Therefore, the main objective of the present research was to study organic matter transformation during the composting process of fresh winery and distillery residues (WDR), coupling the use of spectral techniques, such as CP-MAS and FT-IR, and chemometric tools (iPLS, biPLS, and GA-PLS).

MATERIALS AND METHODS

Composting Procedure. Three different piles were prepared by the Rutgers static pile composting system, using in all cases wastes from the winery and distillery industry. Pile 1 was prepared with mixtures of grape

Table 1. Characteristics of the Composting Heaps

waste ^a	pile 1		pile 2	pile 3
	initially	after 17 days		
	Composition ^b			
GS	63 (56)	44 (51)		
EGM	25 (28)	18 (25)	70 (80)	70 (79)
GM	12 (16)	9 (15)		
CM			30 (20)	
PM				30 (21)
SS		29 (9)		
	Turning (Days)			
	18–53–86		92	144

^aGS, grape stalk; EGM, exhausted grape marc; GM, grape marc; CM, cow manure; PM, poultry manure; SS, sewage sludge. ^bData are expressed as percentage on a fresh weight basis (dry weight basis in parentheses).

stalk (GS), grape marc (GM), exhausted grape marc (EGM), and sewage sludge (SS), whereas piles 2 and 3 were elaborated using EGM, cow manure (CM), and poultry manure (PM), respectively (35–37) (Table 1). Sewage sludge came from a treatment plant of municipal wastewater located in Torrevieja (Alicante, Spain). Cow manure was collected from a cattle farm located in Santomera (Murcia, Spain) with a productivity of 35000 heads per year. Poultry manure was collected from a poultry farm with 30000–40000 laying hens located in Orihuela (Alicante, Spain). Grape stalk and GM were collected from a winery located in Jumilla (Murcia, Spain), and EGM was from an alcohol distillery located in Villarrobledo (Albacete, Spain).

The mixtures (about 1800 kg each) were composted in a pilot plant, in trapezoidal piles (1.5 m high with a 2 × 3 m base). The Rutgers static pile composting system was used (34), with air supplied by forced aeration, conducted through three basal PVC tubes (3 m length and 12 cm diameter). The aeration system imposed was 30 s every 30 min, with 55 °C as ceiling temperature for continuous ventilation. Compost piles were turned over, when necessary, to improve both homogeneity and the fermentation process (Table 1). Forced aeration was used during the bio-oxidative phase, which lasted for 130 days for pile 1, 134 days for pile 2, and 157 days for pile 3. The bio-oxidative phase of composting was considered to be finished when the temperature was close to the external value and reheating did not occur (see Figure S1, Supporting Information). The air blowing was then stopped to allow the composts to mature over a period of approximately 2 months for piles 2 and 3 and 3 months for pile 1. The moisture of the piles was controlled weekly by adding the necessary amount of water to obtain a moisture content of not less than 40%. Excess water, leached from the piles, was collected and added again to the piles. The piles were sampled approximately every 2 weeks during the bio-oxidative phase and after the maturation period. Samples were taken by mixing seven subsamples from seven sites of the pile, from the whole profile (from the top to the bottom of the pile). Each sample was air-dried.

Sample Preparation and Chemical Analysis. Samples were air-dried, ground in an agate mill, then sieved through a 0.125 mm mesh, and milled again with an agate mortar. Total nitrogen (N_T) and total organic carbon (TOC) were determined by automatic microanalysis (35) (Table 2). The main characteristics of the mixtures at the different sampling times are shown in Table 3.

Solid-State ^{13}C NMR and FT-IR Spectroscopy. CPMAS ^{13}C NMR experiments were performed on a Bruker Avance DRX500 operating at 125.75 MHz for ^{13}C . Samples were packed into a 4 mm diameter cylindrical zirconia rotor with Kel-F end-caps and spun at 10000 ± 100 Hz. A conventional CPMAS pulse sequence (17) was used with a 1.0 ms contact time. Between 2000 and 5000 scans were accumulated with a pulse delay of 1.5 s. Line broadening was adjusted to 50 Hz. Dipolar dephasing (DD) spectra were generated with a decoupling delay of 45 μs between cross-polarization and data acquisition (36). Spectral distributions (the distribution of total signal intensity among various chemical shift ranges) were calculated by integrating the signal intensity in seven

Article

J. Agric. Food Chem., Vol. 57, No. 20, 2009 9615

Table 2. Elemental Composition, Total Organic Carbon (TOC), and Total Nitrogen (N_T) of Winery and Distillery Residue Samples Obtained during Composting

treatment time (days)	TOC	N _T	TOC/N _T
Pile 1: Grape Stalk + Grape Marc + Exhausted Grape Marc + Sewage Sludge			
0	48.5	1.3	37.4
17	47.6	2.2	20.9
24	48.6	2.4	20.7
38	48.3	2.2	22.9
52	49.0	2.1	22.9
73	48.0	2.3	21.2
100	47.7	2.2	21.7
234	44.9	2.4	18.8
Pile 2: Exhausted Grape Marc + Cow Manure			
0	49.8	2.4	20.2
15	47.6	2.6	18.5
29	47.3	2.6	18.6
43	47.1	2.7	17.7
50	46.4	2.5	18.7
57	47.4	2.6	18.6
71	47.1	2.6	18.4
85	47.8	2.8	17.1
91	48.1	2.5	19.5
107	45.7	2.7	16.7
114	46.5	2.8	16.9
134	45.2	3.0	15.0
192	46.7	2.9	15.5
Pile 3: Exhausted Grape Marc + Poultry Manure			
0	43.6	3.3	13.1
14	44.5	3.6	12.3
28	42.8	3.7	11.6
42	43.5	3.7	11.9
63	43.7	3.5	12.7
70	43.3	3.2	13.6
90	43.4	3.4	12.8
106	40.3	3.8	10.5
113	40.5	3.8	10.7
133	42.4	3.7	11.5
140	41.9	4.0	10.7
212	42.8	4.1	10.5

chemical shift regions: carbonyl (210–165 ppm), O-aromatic (165–145 ppm), aromatic (145–110 ppm), O₂-alkyl (110–95 ppm), O-alkyl (95–60 ppm), N-alkyl/methoxy (60–45 ppm), and alkyl (45 to –10 ppm) (37). The labels indicate only major types of C found in each region.

Spin counting calculation was performed using the method of Smernik and Oades (38). Glycine (analytical reagent grade; Sigma) was used as an external intensity standard. The T_{1ρ}H and T₂H values were determined as described in Smernik and Oades (38). These parameters are very important to avoid signal loss in the CPMAS spectra, because we can choose the best conditions of the CPMAS pulse sequence (these experimental conditions are described above). The percentage of potential ¹³C NMR signal, which was actually observed (C_{obs}), was in the range of 60–66% for the CPMAS technique (38). The main source of error was uncertainty in the integrated NMR intensities. Two replicate measurements were carried out for all samples.

The FT-IR spectra were collected on a Bruker IFS 66 spectrometer. The resolution was set to 4 cm⁻¹, and the operating range was 400–4000 cm⁻¹. Samples (7–10 mg) were mixed with 100 mg of dried KBr, and then the mixture was pressed into pellets. In all cases, 20 scans per sample were recorded, averaged for each spectrum, and corrected against the spectrum with ambient air as background.

Chemometric Analysis. The iPLS, biPLS, and GA-PLS analyses, especially useful for wavelength selection, have been used. These algorithms have been already described (12–16), and the reader is referred to these papers for more details. To reach the best model with the lowest

Table 3. Evolution of the Main Parameters during the Composting Process (Dry Weight Basis)^a

composting time (days)	pH	EC (dS m ⁻¹)	OM (%)	C _{org} (g kg ⁻¹)	N _T (g kg ⁻¹)	C _{HA} (%)	C _{FA} (%)
Pile 1: Grape Stalk + Grape Marc + Exhausted Grape Marc + Sewage Sludge							
0	4.67	4.21	91.7	485	12.9	8.0	5.4
16	7.42	1.93	89.0	476	22.3	2.4	3.6
24	7.36	1.86	87.9	486	23.6	3.2	3.3
38	7.34	1.72	88.2	483	21.6	2.4	3.6
52	7.49	2.07	88.5	490	21.3	3.0	3.4
59	7.39	1.92	87.2	483	22.7	2.4	3.6
73	7.23	1.77	86.6	480	22.6	2.6	4.0
86	7.35	1.94	84.9	475	22.4	2.7	3.6
100	6.99	2.08	86.5	477	22.1	1.3	3.4
116	7.12	1.74	86.9	501	23.0	1.9	3.6
130	7.06	1.94	84.8	538	26.5	1.6	3.8
234	7.01	2.75	84.3	449	24.0	1.3	2.7
Pile 2: Exhausted Grape Marc + Cow Manure							
0	7.08	1.96	88.5	498	23.6	3.6	1.9
15	7.28	2.26	87.6	476	25.7	6.2	1.8
29	7.14	2.57	87.0	473	25.9	4.2	1.7
43	7.12	2.67	87.1	471	26.6	4.2	1.6
50	6.79	2.95	86.4	464	24.8	3.9	1.6
57	6.87	2.41	87.2	474	25.7	3.3	1.5
71	6.95	2.71	86.1	471	26.0	2.7	1.5
85	6.94	2.74	84.8	478	28.0	3.6	1.5
91	6.95	2.59	85.6	481	25.1	2.6	1.5
107	7.16	2.92	83.1	457	27.4	3.1	1.3
114	7.20	2.92	84.2	465	27.8	2.8	1.3
134	7.03	2.75	81.5	452	29.8	2.6	1.4
192	7.38	2.82	82.0	467	29.1	2.7	1.4
Pile 3: Exhausted Grape Marc + Poultry Manure							
0	7.48	2.12	82.3	436	33.0	3.3	2.0
14	7.13	3.01	81.6	445	36.5	4.6	1.7
28	7.05	3.09	80.3	428	36.8	2.3	1.6
42	7.03	2.66	79.1	435	36.9	2.4	1.6
63	6.89	2.87	79.3	438	34.9	2.9	1.3
70	6.85	2.82	79.3	433	32.1	2.2	1.3
90	6.86	3.12	74.6	434	34.3	2.2	1.4
106	7.12	3.09	75.4	403	38.3	3.1	1.4
113	7.17	2.94	74.0	405	37.9	2.8	1.3
133	7.21	2.86	74.1	424	37.4	2.8	1.4
140	7.31	2.48	73.6	419	39.8	2.4	1.3
212	8.14	2.34	73.9	428	41.2	2.1	1.2

^aEC, electrical conductivity; OM, organic matter; C_{org}, total organic C; N_T, total N; C_{HA}, humic acid-like C; C_{FA}, fulvic acid-like C.

cross-validated error, the models and preprocessing methods (none, scaling, multiplicative scatter correction (MSC), and extended multiplicative signal correction (EMSC)) (39) were tested.

Software. MATLAB version 6.5 from MathWorks was used for the calculations, and iToolbox (including methods for iPLS, biPLS, and dynamic biPLS), EMSC Toolbox (for preprocessing methods), and GA-PLS Toolbox are available at <http://www.models.kvl.dk>.

RESULTS AND DISCUSSION

Solid-State CPMAS ¹³C NMR Spectroscopy. The NMR observable carbon content (C_{obs}) can be measured in the samples using the spin counting methodology (38). Using this methodology, C_{obs} was around 60–66% in our WDR compost samples. These values indicate that some signal is being under-detected; however, this situation does not represent a problem, provided that all of the undetected carbon is equally representative across all carbon forms (38, 40). The problem appears when there is









9620 *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 57, No. 20, 2009

Martínez-Sabater et al.

Table 4. Fully Cross-Validated PLS, iPLS, biPLS, and GA-PLS Models for Prediction of Composting Time from ^{13}C NMR and FT-IR Spectra by Piles 2 and 3

method	preprocessing	components	intervals	RMSECV	r
CPMAS ^{13}C NMR Pile 2					
PLS	EMSC	6	0–200 ^b	7.79	0.981
iPLS ^a	EMSC	5	140–150 ^b	8.85	0.974
biPLS ^a	EMSC	6	20–30 ^b , 30–40 ^b , 100–110 ^b , 140–150 ^b	7.41	0.983
FT-IR Pile 2					
PLS	MSC	5	4000–600 ^c	12.59	0.956
iPLS ^a	MSC	4	1569.8–1432.9 ^c	10.35	0.965
biPLS ^a	MSC	3	3577.3–3438.5 ^c , 3295.8–3156.9 ^c , 3155.0–3018.1 ^c , 1569.8–1432.9 ^c	9.93	0.967
GA-PLS			1569.8–1556.3 ^c , 1517.7–1508.1 ^c , 1496.5–1483.0 ^c	3.72	
CPMAS ^{13}C NMR Pile 3					
PLS	EMSC	4	0–200 ^b	16.04	0.935
iPLS ^a	EMSC	2	50–60 ^b	20.91	0.880
biPLS ^a	EMSC	6	10–20 ^b , 40–50 ^b , 50–60 ^b , 170–180 ^b	9.84	0.975
FT-IR Pile 3					
PLS	MSC	4	4000–600 ^c	20.34	0.879
iPLS ^a	MSC	4	2973.7–2805.9 ^c	15.72	0.931
biPLS ^a	MSC	4	2973.7–2805.9 ^c , 1616.1–1448.3 ^c , 1106.9–939.2 ^c	18.25	0.906
GA-PLS		13	2962.1–2954.4 ^c , 2906.2–2904.3 ^c , 2879.2–2871.5 ^c , 2867.6–2865.7 ^c , 2840.6–2836.8 ^c	4.80	

^a In this model, the spectra were divided in 20 intervals. ^b NMR intervals in ppm. ^c FT-IR intervals in cm^{-1} .

Figure 6 shows full cross-validated prediction errors for the 20 interval biPLS models (bars) for ^{13}C NMR for piles 2 and 3. The biPLS models for piles 2 and 3 using four intervals performed better than the full spectrum model or the iPLS model (Table 4). The biPLS model for ^{13}C NMR for piles 2 and 3 showed the intervals correlated with the composting time (Figure 6). For pile 2, the intervals are in the alkyl region (45 to –10 ppm), in the O₂-alkyl region (110–95 ppm), and in the O-aromatic region (165–145 ppm) (Table 4). As shown with a more classical analysis of the spectroscopy data (see above), the content of aliphatic or aromatic molecules is very important in the composting process of pile 2. For pile 3, the intervals are in the alkyl region (45 to –10 ppm), in the N-alkyl/methoxy region (60–45 ppm), and in the carbonyl region (210–165 ppm) (Table 4).

The iPLS models for FT-IR displayed good values of RMSECV by piles 2 and 3, only with an interval (Table 4). The improvement working with more intervals (biPLS models) was not high with the FT-IR data; it was better than the iPLS model for pile 3. For pile 2, the interval was 1432.9–1569.8 cm^{-1} , and in these regions we can find the components of lignins and aromatic C=C binding. For pile 3, the interval was 2805.9–2973.7 cm^{-1} , this region being the alkyl region. By applying genetic algorithms (GA-PLS) in these regions, it is possible to improve the models for a better prediction capacity (Table 4). In other words, we can determine the wavelength interval more correlated with the composting process. The spectra for the final samples of the composting process (192 days for pile 2 and 212 days for pile 3) were not considered in the calculations. The air blowing was then stopped to allow the composts to mature over a period of approximately 2 months. In the two maturation months the alterations of the organic matter were very small and there was no correlation with the composting time. Probably, between the two final samples, the organic material in the compost piles did not undergo alterations, and it can be considered that the organic material was stable.

With the intervals selected by iPLS method, the GA-PLS method can be applied for wavelength selection (16). We have worked only with the FT-IR spectra for piles 2 and 3. We tried to carry out the GA-PLS method with NMR spectra, but the low signal/noise ratio did not allow this chemometric approach. GA-PLS applied on the interval selected by iPLS method in the FT-IR spectra from pile 2 produced a RMSECV of 3.72% (selecting 3 regions and 7 components) (Table 4). For pile 3, the same strategy produced a RMSECV of 4.80% (selecting 5 regions and 13 components) (Table 4). This approach using sequentially iPLS and GA-PLS improved significantly the predictive ability, as shown by the decrease in the RMSECV values (Table 4). In a classical study of the spectroscopic data, the usual strategy is to work with the peaks, but after the chemometric approach it can be seen that the wavelengths selected are not always the highest peaks (Table 4).

In conclusion, the classical analysis of the spectroscopic data from ^{13}C NMR and from FT-IR techniques allows one to follow and evaluate organic matter evolution during the composting process of fresh winery and distillery residues. In this process, the initial composition of the compost piles was very important for the understanding of the preferential degradation of the different biomolecules. However, the more common situation was a preferential degradation of the carbohydrates and an increase of the aliphatic material (probably by a concentration effect in the compost pile).

On the other hand, with the chemometric approach it is possible to go more in depth into the knowledge of the composting process. It was possible to model the composting process with good RMSECV values by sequential application of iPLS and GA-PLS. Interval PLS removes the noninformative intervals, and the genetic algorithm can work with a significantly lower number of variables. With this strategy, it is possible to select a few wavelengths in the FT-IR spectra with a high correlation with the composting process to determine when the organic matter is stable in a composting pile.

Article

J. Agric. Food Chem., Vol. 57, No. 20, 2009 9621

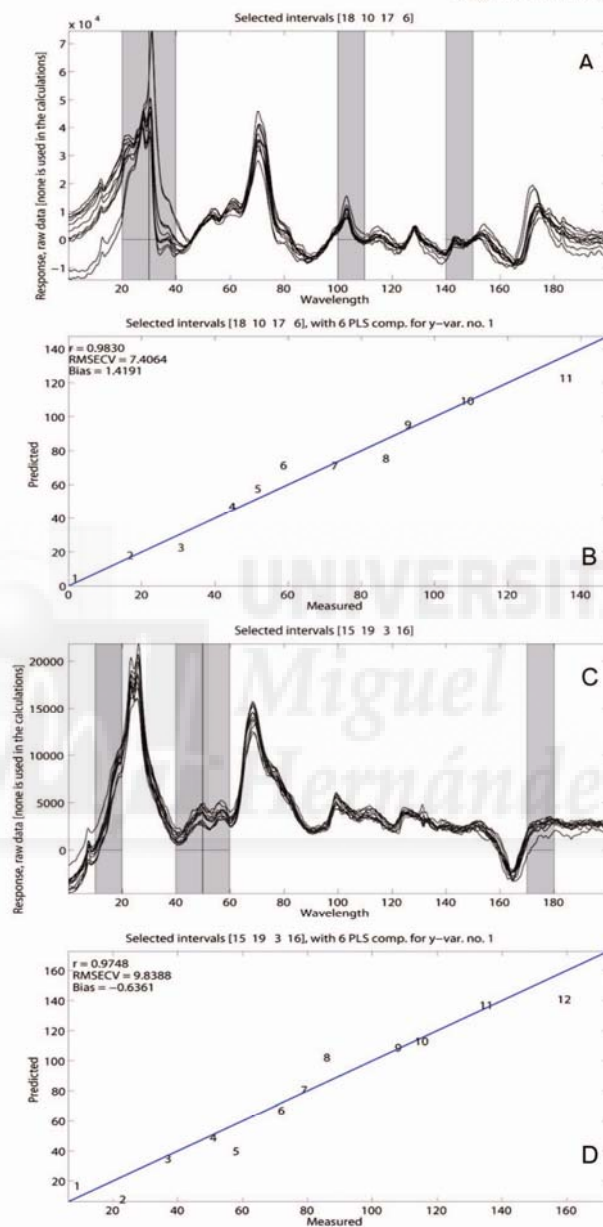


Figure 6. (A) Four intervals included in the optimal PLS model of ^{13}C NMR data by pile 2: 20–30, 30–40, 100–110, and 140–150 ppm. (B) Predicted versus measured composting time for this model by pile 2. (C) Four intervals included in the optimal PLS model of ^{13}C NMR data by pile 3: 10–20, 40–50, 50–60, and 170–180 ppm. (D) Predicted versus measured composting time for this model by pile 3.

Supporting Information Available: Table S1 and Figures S1 and S4. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

LITERATURE CITED

(1) OIV. State of the Vitiviculture World Market; *Organisation Internationale de la Vigne et du Vin*, 2009; available at <http://www.oiv.int>.

9622 *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 57, No. 20, 2009

Martínez-Sabater et al.

- (2) Stevenson, F. J.; He, X. T. Nitrogenin humic substances as related to soil fertility. In *Humic Substances in Soil and Crop Sciences*; MacCarthy, P., Clapp, C. E., Malcolm, R. L., Bloom, P. R., Eds.; Selected Readings; Soil Science Society of America and American Society of Agronomy: Madison, WI, 1990; pp 91–109.
- (3) Haug, R. T. *The Practical Handbook of Compost Engineering*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1993; p 2.
- (4) Ouattmane, A.; Provenzano, M. R.; Hafidi, M.; Senesi, N. Compost maturity assessment using calorimetry, spectroscopy and chemical analysis. *Compost Sci. Util.* **2000**, *8*, 124–134.
- (5) Pichler, M.; Knicker, H.; Kogel-Knabner, I. Changes in the chemical structure of municipal solid waste during composting as studied by solid-state dipolar dephasing and PSRE ^{13}C NMR and solid-state ^{15}N NMR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* **2000**, *34*, 4034–4038.
- (6) Castaldi, P.; Alberti, G.; Merella, R.; Melis, P. Study of the organic matter evolution during municipal solid waste composting aimed at identifying suitable parameters for the evaluation of compost maturity. *Waste Manag.* **2005**, *25*, 209–213.
- (7) Inbar, Y.; Chen, Y.; Hadar, Y. Carbon-13 CPMAS NMR and FTIR spectroscopic analysis of organic matter transformations during composting of solid wastes from wineries. *Soil Sci.* **1991**, *152*, 272–282.
- (8) Grube, M.; Lin, J. G.; Lee, P. H.; Kokorevicha, S. Evaluation of sewage sludge-based compost by FT-IR spectroscopy. *Geoderma* **2006**, *130*, 324–333.
- (9) Smidt, E.; Eckhardt, K.; Lechner, P.; Schulten, H.; Leinweber, P. Characterization of different decomposition stages of biowaste using FT-IR spectroscopy and pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Biodegradation* **2005**, *16*, 67–79.
- (10) Martens, H.; Jensen, S. A. Partial least squares regression: a new two stage NIR calibration method. In *Cereal Chemistry and Technology*; Holas, J., Kratochvil, J., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 1983.
- (11) Norris, K. H. *Near Infrared Technology in Agricultural and Food Industries*; American Association of Cereal Chemist: St. Paul, MN, 1987.
- (12) Norgaard, L.; Saudland, A.; Wagner, J.; Nielsen, J. P.; Munck, L.; Engelsen, S. B. Interval partial least-squares regression (iPLS): a comparative chemometric study with an example from near-infrared spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* **2000**, *54*, 413–419.
- (13) Winning, H.; Viereck, N.; Norgaard, L.; Larsen, J.; Engelsen, S. B. Quantification of the degree of blockiness in pectins using ^1H NMR spectroscopy and chemometrics. *Food Hydrocolloids* **2007**, *21*, 256–266.
- (14) Norgaard, L.; Hahn, M. T.; Knudsen, L. B.; Farhat, I. A.; Engelsen, S. B. Multivariate near-infrared and Raman spectroscopy quantifications of the crystallinity of lactose in whey permeate powder. *Int. Dairy J.* **2005**, *15*, 1261–1270.
- (15) Leardi, R.; Lupiáñez González, A. Genetic algorithms applied to feature selection in PLS regression: how and when to use them. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **1998**, *41*, 195–207.
- (16) Leardi, R.; Norgaard, L. Sequential application of backward interval partial least squares and genetic algorithms for the selection of relevant spectral regions. *J. Chemom.* **2004**, *18*, 486–497.
- (17) Wilson, M. A. *NMR Techniques and Applications in Geochemistry and Soil Chemistry*; Pergamon Press: Oxford, U.K., 1987.
- (18) Preston, C. Applications of NMR to soil organic matter analysis: history and prospects. *Soil Sci.* **1996**, *161*, 144–166.
- (19) Preston, C. M.; Trofymow, J. A.; Niu, J.; Fyfe, C. A. ^{13}C CPMAS-NMR spectroscopy and chemical analysis of coarse woody debris in coastal forests of Vancouver Island. *For. Ecol. Manag.* **1998**, *111*, 51–68.
- (20) Baldock, A.; Oades, J. M.; Nelson, P. N.; Skene, T. M.; Golchin, A.; Clarke, P. Assessing the extent of decomposition of natural organic materials using solid-state C-13 NMR spectroscopy. *Aust. J. Soil Res.* **1997**, *35*, 1061–1083.
- (21) Chen, Y. N. Nuclear magnetic resonance, infra-red and pyrolysis: application of spectroscopic methodologies to maturity determination of composts. *Compost Sci. Util.* **2003**, *11*, 152–168.
- (22) Tang, J.-C.; Maie, N.; Tada, Y.; Katayama, A. Characterization of the maturing process of cattle manure compost. *Process Biochem.* **2006**, *41*, 380–389.
- (23) Gómez, X.; Díaz, M. C.; Cooper, M.; Blanco, D.; Morán, A.; Snape, C. E. Study of biological stabilization processes of cattle and poultry manure by thermogravimetric analysis and C-13 NMR. *Chemosphere* **2007**, *68*, 1889–1897.
- (24) Kogel-Knabner, I.; Hatcher, P. G. Characterization of alkyl carbon in forest soils by CPMAS ^{13}C NMR spectroscopy and dipolar dephasing. *Sci. Total Environ.* **1989**, *81/82*, 169–177.
- (25) Stevenson, F. J. Extraction, fractionation and general chemical composition of soil organic matter. In *Humus Chemistry*; Stevenson, F. J., Ed.; Genesis, Composition, Reactions; Wiley: New York, 1982.
- (26) Nip, M.; Tegelaar, E. W.; de Leeuw, J. W.; Schenck, P. A.; Holloway, P. J. A new non-saponifiable highly aliphatic and resistant biopolymer in plant cuticles. *Naturwissenschaften* **1986**, *73*, 579–585.
- (27) Almendros, G.; Dorado, J.; González-Vila, F. J.; Blanco, M. J.; Lankes, U. ^{13}C NMR assessment of decomposition patterns during composting of forest and shrub biomass. *Soil Biol. Biochem.* **2000**, *32*, 793–804.
- (28) Hesse, M.; Meier, H.; Zehe, B. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, Germany, 1995.
- (29) Smith B. *Infrared Spectral Interpretation*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1999.
- (30) Schnitzer M.; Khan, S. U. *Humic Substances in the Environment*; Dekker, New York, 1972.
- (31) MacCarthy, P.; Rice, J. A. Spectroscopic methods (other than NMR) for determining functionality in humic substances. In *Humic Substances in Soil Sediment, and Water*; Aiken, G. R., McKnight, D. M., Wershaw, R. L., MacCarthy, P., Eds.; Wiley: New York, 1985.
- (32) Gerasimowicz, W. V.; Byler, D. M. Carbon-13 CPMAS NMR and FTIR spectroscopic studies of humic acids. *Soil Sci.* **1985**, *139*, 270–278.
- (33) Inbar, Y.; Chen, Y.; Hadar, Y. Solid state carbon 13 nuclear magnetic resonance and infrared spectroscopy of composted organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1989**, *53*, 1695–1701.
- (34) Finstein, M. S.; Miller, F. C.; Mac Gregor, S. T.; Psariamos, K. M. *The Rutgers Strategy for Composting: Process Design and Control*; EPA Project Summary (EPA 600/82-85/059); U.S. Environmental Protection Agency: Washington, DC, 1985.
- (35) Navarro, A. F.; Cegarra, J.; Roig, A.; Bernal, M. P. An automatic microanalysis method for the determination of organic carbon in wastes. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1991**, *22*, 2137–2144.
- (36) Preston, C. M. Carbon-13 solid-state NMR of soil organic matter-using the technique effectively. *Can. J. Soil Sci.* **2001**, *81*, 255–270.
- (37) Baldock, J. A.; Smernik, R. J. Chemical composition and bioavailability of thermally, altered *Pinus resinosa* (red pine) wood. *Org. Geochem.* **2002**, *33*, 1093–1109.
- (38) Smernik, R. J.; Oades, J. M. The use of spin counting for determining quantitation in solid state ^{13}C NMR spectra of natural organic matter. 2. HF-treated soil fractions. *Geoderma* **2000**, *96*, 159–171.
- (39) Martens, H.; Nielsen, J. P.; Engelsen, S. B. Light scattering and light absorbance separated by extended multiplicative signal correction. Application to near-infrared transmission analysis of powder mixtures. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 394–404.
- (40) Patti, A. F.; Issa, J.; Wilkinson, K. *What are putting on the ground? Characterisation of grape marc and other composts used in the Yarra Valley*; Grape and Wine Research and Development Corporation, Australia Government: 2004.
- (41) Vane, C. H.; Drage, T. C.; Snape, C. E. Bark decay by the white-rot fungus *Lentinula edodes*: polysaccharide loss, lignin resistance and the unmasking of suberin. *Inter. Biodeter. Biodegr.* **2006**, *57*, 14–23.
- (42) Mathers, N. J.; Xu, Z.; Blumfield, T. J.; Berners-Price, S. J.; Saffigna, P. G. Composition and quality of harvest residues and soil organic matter under windrow residue management in young hoop pine plantations as revealed by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. *For. Ecol. Manag.* **2003**, *175*, 467–488.
- (43) Veeken, A. H. M.; Adani, F.; Nierop, K. G. J.; de Jager, P. A.; Hamelers, H. V. M. Degradation of biomacromolecules during high-rate composting of wheat straw-amended feces. *J. Environ. Qual.* **2001**, *30*, 1675–1684.

Artículo

- (44) Kögel-Knabner, I. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.* **2002**, *34*, 139–162.
- (45) Keeler, C.; Kelly, E. F.; Maciel, G. E. Chemical–structural information from solid-state ^{13}C NMR studies of a suite of humic materials from a lower montane forest soil, Colorado, USA. *Geoderma* **2006**, *130*, 124–140.
- (46) Nelson, P. N.; Baldock, J. A.; Oades, J. M.; Churchman, G. J. Dispersed clay and organic matter in soil: their nature and associations. *Aust. J. Soil Res.* **1999**, *37*, 289–315.
- (47) Nelson, P. N.; Baldock, J. A. Estimating the molecular composition of a diverse range of natural organic materials from solid-state ^{13}C NMR and elemental analyses. *Biogeochemistry* **2005**, *72*, 1–34.
- (48) Provenzano, M. R.; de Oliveira, S. C.; Silva, M. R. S.; Senesi, N. Assessment of maturity degree of composts from domestic solid wastes by fluorescence and Fourier transform infrared spectroscopies. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 5874–5879.
- (49) Réveillé, V.; Mancuy, L.; Jardé, E.; Garnier-Sillan, E. Characterisation of sewage sludge derived organic matter: lipids and humic acids. *Org. Geochem.* **2003**, *34*, 615–627.
- (50) Smidt, E.; Meissl, K. The applicability of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy in waste management. *Waste Manag.* **2007**, *27*, 268–276.
- (51) Smidt, E.; Lechner, P.; Schwanninger, M.; Haberhauer, G.; Gerzabek, M. H. Characterization of waste organic matter by FT-IR spectroscopy—application in waste science. *Appl. Spectrosc.* **2002**, *56*, 1170–1175.
- J. Agric. Food Chem.*, Vol. 57, No. 20, 2009 **9623**
- (52) Ait Baddi, G.; Hafidi, M.; Cegarra, J.; Albuquerque, J. A.; González, J.; Gilard, V.; Revel, J.-C. Characterization of fulvic acids by elemental and spectroscopic (FTIR and ^{13}C -NMR) analyses during composting of olive mill wastes plus straw. *Bioresour. Technol.* **2004**, *93*, 217–323.
- (53) Bower, D. I.; Maddams, W. F. *Vibrational Spectroscopy of Polymers*; Cambridge University Press: Cambridge, UK., 1989.
- (54) Haberhauer, G.; Rafferty, B.; Strebl, F.; Gerzabek, M. H. Comparison of the composition of forest soil litter derived from three different sites at various decompositional stages using FTIR spectroscopy. *Geoderma* **1998**, *83*, 331–342.
- (55) Koivula, N.; Hanninen, K. Concentrations of monosaccharides in humic substances in the early stages of humification. *Chemosphere* **2001**, *44*, 271–279.
- (56) Hsu, J. H.; Lo, S. L. Chemical and spectroscopic analysis of inorganic matter transformations during composting of pig manure. *Environ. Pollut.* **1999**, *104*, 189–196.

Received September 16, 2008. Revised manuscript received September 15, 2009. Accepted September 16, 2009. This work has been supported by grants from the Ministerio de Educación y Ciencia of Spain and has been financed by the CICYT (AGL2002-00296) Project, from the Generalitat Valenciana (GVPRE/2008/208) Project, and from the University of Alicante (GRJ0508) and (UAUST107-02) Projects.





4. Resumen de Resultados, Discusiones y Conclusiones

4. Resumen de Resultados, Discusiones y Conclusiones

**EFFECTIVENESS OF NEAR INFRARED REFLECTANCE SPECTROSCOPY IN THE QUICK
EVALUATION OF NITROGEN CONTENT IN SEWAGE SLUDGE**

***EFFECTIVIDAD DE LA ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO (NIRS) PARA LA
EVALUACION RAPIDA DEL CONTENIDO EN NITROGENO EN LODOS DE DEPURADORA***

***Galvez-Sola, L. y col. Communications in Soil Science and Plant Analysis (2009)
40: 726-735***

El objetivo de este estudio es comprobar la efectividad de la espectroscopía NIRS en la evaluación rápida del contenido en nitrógeno en lodos de depuradora y optimizar el modelo de calibración y la transformación de la señal para este fin.

Para ello, se analizaron trescientas treinta y tres muestras de lodos procedentes de 80 depuradoras de la provincia de Alicante, recogidas entre los años 2001 y 2006. Se analizó el nitrógeno total (NT) mediante combustión seca, empleando un analizador elemental C/N, y el nitrógeno total Kjeldahl (NTK) por dicho método. En cuanto al análisis NIRS, se realizó en el rango espectral de 1100 a 2500 nm, registrando el valor de absorbancia cada 2 nm. Cada muestra se escaneó tres veces, promediando dichos espectros en uno, el cual fue usado para calibración y validación. Se probaron tres modelos de calibración distintos, el MLR (*multiple linear regression*), PLSR (*partial least square regression*) y PCR (*principal components regression*). Además, la señal obtenida fue transformada para cada modelo de calibración, usando la absorbancia, la normalización de la señal y la primera derivada de ésta. Para evaluar las calibraciones obtenidas se estudiaron los parámetros estadísticos resultantes, tales como el coeficiente de correlación múltiple (R) y el error estándar de estimación (SEE). Para evaluar la validación se usó el RMSEP (*root mean square error of prediction*). Por otra parte, se llevó a cabo un proceso de detección de muestras *outlier* durante la calibración.

Caracterización del nitrógeno

El contenido de nitrógeno total Kjeldahl (NTK) varió ampliamente en las muestras de lodo analizadas. No obstante, los valores más bajos fueron superiores a los valores obtenidos por Moreno-Caselles y col. (2002), entre 1,6 y 2,2 g N/kg en peso seco en estiércoles habitualmente empleados como enmiendas orgánicas procedentes del área de estudio. El nitrógeno total Kjeldahl fue similar al contenido en nitrógeno total (NT) determinado por combustión seca. El tipo de sistema de depuración afectó al contenido en nitrógeno de los lodos de depuradora, probablemente no sólo por el tratamiento, sino también por el agua de entrada a la planta, siendo los lodos procedentes de tratamientos con biocilindros y biodiscos los que presentaron los contenidos en N más bajos.

Resultados de las calibraciones NIRS

Se obtuvieron muy buenos resultados en los procesos de calibración, tanto para NT como para NTK. La mejor opción para estimar el NT, teniendo en cuenta dentro de la calibración los espectros *outliers*, fue la de tipo MLR usando los espectros de la absorbancia. Esta calibración tuvo el R más alto y el más bajo SEE de todas las calibraciones para NT con los espectros *outliers* ($R=0,96$, $SEE=0,42\%$). Además, todas las calibraciones sin *outliers* hechas para NT también mostraron buenos resultados. La reducción del error de estimación ($SEE=0,34\%$) destaca como el aspecto más importante que se consiguió al eliminar estos espectros. No obstante, todas las calibraciones reflejaron buenos resultados. Los resultados obtenidos para el NTK fueron similares. La mejor opción fue la calibración MLR usando la absorbancia ($R=0,95$, $SEE=0,51\%$), teniendo en cuenta la calibración con todo el conjunto de muestras. Después de la eliminación de los espectros *outliers*, la calibración mejoró, reduciendo el SEE al 0,43%, produciéndose de este modo la mejor calibración para este parámetro. Los otros modelos de calibración fueron también válidos. En otros estudios similares, Fujiwara y Murakami (2007) usaron la

segunda derivada como transformación de señal y la calibración MLR para la estimación de nitrógeno total y otras formas de nitrógeno en compost a base de gallinaza.

Comparando los tres métodos de calibración (MLR, PLSR y PCR), las calibraciones bajo el modelo MLR mostraron mejores resultados, ya que dieron lugar a los mayores R y menores SEE. Además, en general, con el empleo de la absorbancia o la normalización como transformación de señal, se obtuvieron también mejores resultados en este estudio. En cada calibración, el número de espectros *outliers* estuvieron entre 25 y 30. Alrededor de 15 de ellos aparecieron en todas las calibraciones, perteneciendo estos espectros a muestras de lodos de todos los tipos de tratamiento biológico. Otros 10 espectros fueron clasificados como *outliers* dependiendo del modelo de calibración y la transformación de la señal.

Resultados de la validación NIRS

Una vez obtenidas las diferentes calibraciones, se llevó a cabo un test de validación del método con 50 muestras de lodo de depuradora no usadas en las calibraciones. Estas nuevas muestras sirvieron para llevar a cabo una primera predicción con muestras diferentes a las del conjunto de calibración. El RMSEP se usó para estimar el error en esta predicción. Para el NT, las calibraciones obtenidas usando el modelo MLR con la absorbancia como señal (con y sin *outliers*), consideradas como las que mejores resultados daban como se ha comentado anteriormente, mostraron también los más bajos RMSEP. Sin embargo, este comportamiento no fue observado en las calibraciones para el NTK, porque las mejores calibraciones no mostraron los más bajos RMSEP. El RMSEP más bajo se obtuvo con el modelo de calibración PLSR siendo la absorbancia la señal utilizada, considerando o no los espectros *outliers*. En general, los RMSEP obtenidos de las calibraciones con *outliers* fueron más bajos que los conseguidos en las calibraciones

sin ellos, a pesar de la mayor precisión (mayor R) y menores errores de estimación de las calibraciones sin *outliers*.

Conclusiones

A modo de conclusión, los resultados señalan que la técnica NIRS puede ser usada para estimar el contenido de NT en muestras de lodos de depuradora con gran precisión, aportando un análisis de predicción rápido, con bajos errores de estimación. La mejor opción para esta estimación fue obtenida usando el modelo de calibración por regresión lineal múltiple (MLR), utilizando la absorbancia como señal y eliminando los espectros *outliers* del conjunto de calibración.



**THE POTENTIAL OF NEAR INFRARED REFLECTANCE SPECTROSCOPY (NIRS) FOR THE
ESTIMATION OF AGROINDUSTRIAL COMPOST QUALITY**

**EL POTENCIAL DE LA ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL INFRARROJO CERCANO
PARA LA ESTIMACIÓN DE LA CALIDAD EN COMPOST AGROINDUSTRIAL**

**Galvez-Sola, L. y col. *Science of the Total Environment* (2010)
408: 1414-1421**

El objetivo de este estudio fue evaluar la viabilidad de la espectroscopía en el infrarrojo cercano para analizar determinados parámetros asociados al proceso de compostaje (pH, conductividad eléctrica, contenido en materia orgánica total y carbono orgánico total y la relación C/N) y el contenido en macronutrientes (N, P y K) y elementos potencialmente tóxicos (Fe, Cu, Mn y Zn), parámetros deben de declararse o que su valor está limitado por la legislación para composts. De este modo, se obtuvieron calibraciones de estos parámetros en muestras de composts elaborados con mezclas de residuos agroindustriales y residuos agrícolas, urbanos o ganaderos.

Para ello, se escanearon 305 muestras analizándose previamente todos los parámetros anteriores por técnicas clásicas estandarizadas. Estas muestras se tomaron de 20 composts distintos, 12 de ellos realizados a pequeña escala en composteras comerciales, con aireación pasiva y por volteos, y el resto mediante el sistema de compostaje Rutgers de pila estática, con ventilación forzada y control de temperatura, a escala semi-industrial.

Los análisis realizados con NIRS se llevaron a cabo en el rango espectral comprendido entre los 12000 y los 3800 cm^{-1} , registrándose la absorbancia cada 8 cm^{-1} . Cada muestra se escaneó tres veces, promediando dichos espectros en uno, que fue el

que se usó para la calibración y validación. Con el fin de obtener los mejores resultados, las calibraciones se realizaron usando los parámetros analíticos y los espectros, pre-tratados previamente mediante diversos métodos, entre ellos, la normalización vectorial, primera y segunda derivada, corrección de dispersión multiplicativa, sustracción de línea recta o varios de ellos a la vez. El modelo de regresión usado fue el de mínimos cuadrados parciales (PLSR). Por otro lado, también se estudiaron los diversos parámetros estadísticos, entre los que se encuentran el R^2 (coeficiente de determinación), el RMSEE (*Root Mean Square Error of Estimation*), el RMSECV (*Root Mean Square Error of Cross Validation*), el RPD (desviación típica/error estándar de predicción), etc. Estos parámetros estadísticos se obtuvieron mediante el software OPUS 6.0 para clasificar la calidad y validez de las calibraciones obtenidas, comparando los resultados de este trabajo con los de otros autores.

Calibraciones NIRS para parámetros asociados al proceso de compostaje.

Los resultados obtenidos en la calibración del pH fueron muy buenos, con $R^2=0,90$ y RMSEE= 0,209, al igual que se obtuvo una buena validación, ya que el RMSECV fue bajo. No obstante, se obtuvo una calibración mejor para la conductividad eléctrica, con $R^2=0,92$ y errores medios de calibración y validación aceptables. A pesar de ello, los parámetros asociados al proceso de compostaje que obtuvieron las mejores calibraciones fueron para el contenido en materia orgánica total y carbono orgánico total, con $R^2=0,95$ para ambos y bajos errores de estimación. Las validaciones para estos parámetros fueron también muy buenas, ya que sus valores de RMSECV fueron bajos. En cuanto a la relación C/N, tuvo un R^2 más bajo que los anteriores parámetros pero bueno igualmente, aunque los errores de calibración y validación fueron bastante bajos.

Durante el proceso de calibración, el pre-tratamiento más utilizado fue la primera derivada de la señal. En cuanto a la zona del espectro que más se ha utilizado para la

predicción de estos parámetros, comentar que ha sido muy similar en los distintos parámetros, principalmente el rango 7502-4247 cm^{-1} .

Calibraciones NIRS para macronutrientes y elementos potencialmente tóxicos.

En lo concerniente al nitrógeno total, la calibración que se obtuvo fue buena, con mejores errores de estimación y de validación de lo que a priori el $R^2=0,85$ podría indicar. En cuanto a las calibraciones del fósforo y potasio ocurrió algo similar, con $R^2=0,89$ y $R^2=0,83$, respectivamente. Las calibraciones observadas para elementos potencialmente tóxicos resultaron muy buenas, sobre todo para hierro y manganeso, con $R^2 \geq 0,90$. Los errores RMSEE y RMSECV fueron aceptables, sobre todo si tenemos en cuenta la dificultad de esta técnica para obtener buenos resultados respecto a la estimación de metales (normalmente es difícil obtener buenos resultados). El pre-tratamiento más utilizado fue la normalización vectorial y el rango espectral que más se consideró para estas calibraciones fue el mismo que en las anteriores, relacionadas con los parámetros asociados al proceso de compostaje.

Aunque los resultados que se obtuvieron en este estudio fueron muy buenos, aun podrían mejorarse. Como consecuencia de la amplia diversidad existente en los ingredientes utilizados para la elaboración de las pilas de compostaje, la obtención de buenas correlaciones fue más difícil que en el caso de usar solamente un solo tipo de compost, es decir, con los mismos ingredientes, tal y como han hecho otros autores. Este hecho se observó en el alto número de factores (número de componentes principales) de cada calibración, situación que fue debida principalmente a que no se disponía de un número suficiente de muestras de un solo tipo de compost para llevar a cabo las calibraciones con un amplio conjunto de muestras. A pesar de ello, las calibraciones obtenidas pudieron considerarse como buenas para estimar diversos parámetros o propiedades en los composts agroindustriales estudiados.

Conclusiones

Como conclusión a este trabajo se puede comentar que la espectroscopía en el infrarrojo cercano puede llegar a ser una herramienta muy útil para cuantificar diversos parámetros en composts elaborados mayoritariamente con ingredientes de origen agroindustrial, usando modelos de regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR), con coeficientes de determinación superiores a 0,90 para pH, conductividad eléctrica, materia orgánica total, carbono orgánico total, hierro y manganeso. Además, el uso de pre-tratamientos de la señal durante el proceso de calibración hace más eficiente esta técnica. De este modo, la técnica NIRS puede ser un método potencialmente bueno para estimar diversos parámetros contemplados en la normativa para composts en muestras de composts agroindustriales, incluyendo algunos relacionados con el proceso de compostaje, macronutrientes y elementos potencialmente tóxicos. Este es un aspecto muy interesante para las plantas de compostaje, ya que la técnica NIRS puede constituir una alternativa económica y ambientalmente respetuosa para monitorizar el proceso de compostaje y caracterizar el producto final de forma rápida y eficiente.

**ESTIMATION OF PHOSPHORUS CONTENT AND DYNAMICS DURING COMPOSTING: USE
OF NEAR INFRARED SPECTROSCOPY**

**ESTIMACIÓN DEL CONTENIDO EN FÓSFORO Y SU DINÁMICA DURANTE EL COMPOSTAJE:
USO DE LA ESPECTROSCOPÍA EN EL INFRARROJO CERCANO.**

***Galvez-Sola, L. y col. / Chemosphere (2010)
78: 13-21***

El objetivo de este estudio fue establecer la efectividad y precisión de la espectroscopía en el infrarrojo cercano para la evaluación del contenido en fósforo total y sus diferentes formas durante el proceso de compostaje de residuos procedentes de las industrias vinícola y alcoholera. Con este fin, se desarrolló un modelo matemático a través de la regresión de señal penalizada, apoyándose también en la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) en disolución de ^{31}P , junto con los espectros obtenidos con el NIRS.

Se usaron 204 muestras de cuatro pilas diferentes de compost elaboradas con diferentes residuos, pero conteniendo en todas las pilas residuos procedentes de las industrias vinícola y alcoholera:

Pila 1: raspón + orujo de uva + orujo de uva desalcoholizado + lodo de depuradora + vinaza.

Pila 2: raspón + orujo de uva + orujo de uva desalcoholizado + lodo de depuradora.

Pila 3: orujo de uva desalcoholizado + estiércol de vaca.

Pila 4: orujo de uva desalcoholizado + gallinaza.

Todas las pilas se compostaron mediante el sistema de compostaje Rutgers, de pila estática, con aireación forzada y control de la temperatura.

El análisis del fósforo total se realizó por colorimetría, después de la digestión nítrico-perclórica de las muestras de composts. Las distintas formas en las que el fósforo se presenta (pirofosfato, monoésteres y diésteres ortofosfato, fosfolípidos y ortofosfato) se determinaron mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear en disolución de ^{31}P , después de la extracción correspondiente mediante una disolución NaOH-EDTA. La radiación de radiofrecuencia empleada fue de 121,5 MHz, la cual se irradió en impulsos de 6,5 μs . La señal registrada se expresó en ppm de frecuencia relativa a un patrón externo de H_3PO_4 (85%). Cada muestra se analizó por triplicado y el error del método de RMN fue menor del 5%. Por otra parte, el análisis NIRS se realizó en el rango de número de onda 12000 a 3800 cm^{-1} , midiendo la absorbancia cada 8 cm^{-1} . Cada muestra fue escaneada un total de 3 veces, siendo promediados estos 3 espectros en uno único para cada muestra. Dos tercios de las muestras se usaron para el proceso de calibración y el tercio restante para la validación del proceso. Una vez obtenidos los espectros se llevó a cabo el procedimiento matemático de regresión de señal penalizada para establecer un modelo de predicción del contenido en fósforo total y sus diferentes formas, mediante los datos de absorbancia medida de los espectros NIRS y el contenido en fósforo que se obtuvo de los análisis de laboratorio. También se tuvo en cuenta el tiempo de compostaje, dividiéndolo en 4 periodos de tiempo ante la imposibilidad de hacer un análisis diario.

Contenido en fósforo total y sus formas según la ^{31}P RMN.

El contenido en fósforo, así como su dinámica, dependen de la composición inicial de la pila y de la degradación biótica de la materia orgánica. El uso de lodos de depuradora o estiércoles pueden incrementar significativamente las cantidades de

fósforo en pilas con otros residuos deficitarios en este elemento. Los análisis realizados mostraron un incremento importante en el P total a lo largo del proceso de compostaje. El compost que contenía gallinaza en su composición alcanzó los valores más altos de este elemento. En cuanto a las formas de fósforo estudiadas mediante RMN, los monoésteres ortofosfato aparecieron en la zona de 4 y 6 ppm, con mayores señales en 5,89, 5,19, 4,93, 5,86, 4,41, 4,45 y 4,14 ppm. Las señales que indican la presencia de ortofosfato inorgánico aparecieron en torno a las 6,08 ppm y la señal del pirofosfato a -4,46 ppm. La señal referente a fosfolípidos proveniente de microorganismos apareció a 1,7 ppm, siendo esta forma de fósforo infraestimada en la mayoría de los extractos, como consecuencia de que su señal apareció en la zona donde se encontraban las señales más altas correspondientes a la región de los monoésteres ortofosfato. En cuanto a la dinámica del P durante el compostaje, las formas inorgánicas fueron predominantes en el compost maduro. Por otro lado, sólo en los composts que contenían lodo de depuradora (pilas 1 y 2) la proporción de pirofosfato fue significativa en relación con el contenido total de fósforo inorgánico al principio del compostaje. Sin embargo, esta forma de fósforo representó menos del 1% del fósforo total en el compost maduro. Por otra parte, se observó una transformación neta del P orgánico a inorgánico durante el proceso de compostaje. Este hecho fue notable en las primeras etapas del periodo termófilico, durante las primeras 2-3 semanas, especialmente en los composts con lodo de depuradora (pilas 1 y 2) y gallinaza (pila 4). Además, la relación P orgánico / P inorgánico disminuyó a lo largo del compostaje, siendo esta reducción desde valores de 9,4, 0,78 y 1,4 a 0,09, 0,18 y 0,25 para las pilas 2, 3 y 4, respectivamente. En cuanto a las formas orgánicas de fósforo, los contenidos en monoésteres ortofosfato fueron mayores que el de diésteres ortofosfato y el de fosfolípidos, siendo estos últimos los más lábiles, y por tanto, los que aparecieron en menor concentración en la mayoría de los composts. Sin embargo, los diésteres ortofosfato representaron alrededor del 3% del fósforo orgánico total en los composts maduros elaborados con estiércol.

En este experimento, la característica más importante fue el incremento del ortofosfato inorgánico proveniente de las formas orgánicas de fósforo durante el compostaje, incrementándose el contenido de éste del 80% al 91,5% del fósforo total.

Modelo matemático para el contenido en fósforo.

Para ajustar el modelo propuesto, se usaron 136 muestras (66.6%) para la estimación y 68 muestras (33.3%) para la validación predictiva. La estimación tuvo en cuenta el tiempo (días) de compostaje. En los datos obtenidos del ajuste del modelo matemático a los valores experimentales de fósforo se pudo observar que el uso del modelo estadístico penalizado podría emplearse como la mejor vía para estimar el contenido en fósforo usando la señal del NIRS, debido a la alta significancia obtenida en todos los puntos referidos al tiempo, porque esta herramienta puede incorporar la variación de la contribución de cada rango de números de onda durante el proceso de compostaje. Los resultados de la estimación del contenido en fósforo total fueron notablemente mejores que otros aportados por diversos autores, teniendo el coeficiente de correlación el valor de 0,9937.

Modelo matemático para las diversas formas de fósforo.

Los coeficientes de correlación para la estimación de las formas de fósforo estudiadas fueron siempre iguales o superiores a 0,99, lo que indica que el modelo matemático propuesto es muy eficaz en dicha predicción. Además, se observaron claras diferencias en la significancia de los rangos de números de onda para las diferentes formas de fósforo en cada periodo de tiempo, apoyando la modelización individualizada. Si se comparan los coeficientes de correlación y errores en la estimación del modelo PLSR (*partial least square regression*), comúnmente usado a la hora de establecer calibraciones con el NIRS, y el modelo matemático propuesto con regresión de señal penalizada, éste

último obtuvo mejores resultados, sobre todo en las estimaciones de las diferentes formas en las que el fósforo se presentó durante el compostaje.

En la mayoría de experimentos, la evolución en el tiempo no se tiene en cuenta a la hora de realizar estimaciones usando el NIRS. Pero en este estudio, gracias a la regresión de señal penalizada, tanto la estimación del fósforo total como su evolución durante el proceso de compostaje han sido descritas perfectamente. Debido a la heterogeneidad de los residuos utilizados en compostaje, la estimación propuesta puede contribuir a un mejor entendimiento de la dinámica del fósforo durante el compostaje, y por tanto, mejorar la gestión de la fertilización fosfórica, teniendo en cuenta la fracción de P disponible cuando los composts son adicionados al suelo. Además, la monitorización de la transformación del fósforo orgánico en ortofosfato durante el compostaje puede ser un parámetro de calidad del proceso biótico.

Conclusiones

La combinación propuesta entre la espectroscopía en el infrarrojo cercano y la regresión de señal penalizada para estimar el contenido total de fósforo y sus cambios durante el compostaje, es una prometedora y sencilla herramienta para mejorar la gestión del fósforo con propósitos agrícolas, especialmente en plantas de compostaje industriales, con el fin de conocer la fracción disponible de fósforo en materiales orgánicos. La especiación del fósforo usando la extracción estandarizada con NaOH-EDTA y la espectroscopía de resonancia magnética nuclear en disolución de ^{31}P , incrementan significativamente las capacidades de predicción del conjunto NIR-regresión de señal penalizada.

**STUDY OF THE EVOLUTION OF ORGANIC MATTER DURING COMPOSTING OF WINERY
AND DISTILLERY RESIDUES BY CLASSICAL AND CHEMOMETRIC ANALYSIS**

**ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA DURANTE EL COMPOSTAJE DE
RESIDUOS DE LAS INDUSTRIAS VINÍCOLA Y ALCOHOLERA MEDIANTE ANÁLISIS CLÁSICOS
Y QUIMIOMÉTRICOS**

***Martinez-Sabater, E. y col. / Journal of Agricultural and Food Chemistry (2009)
57: 9613-9623***

El objetivo de este estudio fue evaluar los cambios que se producen en la materia orgánica de residuos vinícolas y de destilerías durante el proceso de compostaje, empleando para ello técnicas clásicas y diferentes herramientas quimiométricas aplicadas a la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de sólidos de ^{13}C (RMN ^{13}C) y a la espectroscopía de absorción en el infrarrojo (FT-IR).

Para llevar a cabo este estudio, se emplearon muestras tomadas a lo largo del proceso de compostaje de tres pilas elaboradas con los siguientes residuos:

Pila 1: raspón de uva + orujo de uva + orujo de uva desalcoholizado + lodo de depuradora.

Pila 2: orujo de uva desalcoholizado + estiércol de vaca.

Pila 3: orujo de uva desalcoholizado + gallinaza.

Estas pilas se compostaron en una planta piloto, empleando el sistema de compostaje de pila estática Rutgers, con ventilación forzada y control de temperatura.

Los análisis con el equipo de resonancia magnética nuclear de sólidos de ^{13}C se realizaron irradiando la muestra con una radiación de radiofrecuencia de 125,75 MHz. Se realizó la técnica de transferencia de polarización al C mediante giro al ángulo mágico (CPMAS) para medir de forma óptima la señal de ^{13}C , irradiando la muestra con radiación de radiofrecuencias durante 1 ms y dejando un tiempo de relajación de 1,5 s. Los espectros de desacoplamiento bipolar se generaron con un tiempo de relajación de desacople de 45 μs entre la polarización cruzada y la adquisición de datos. Los espectros se dividieron en siete regiones, en las cuales se midieron las áreas de las señales: grupos carbonilo (210-165 ppm), O-aromático (165-145 ppm), carbono aromático (145-110 ppm), di-O-alkilo (110-95 ppm), O-alkilo (95-60 ppm), N-alkilo/metoxilo (60-45 ppm) y carbono alifático (45-10 ppm). La glicina se empleó como patrón estándar externo y el porcentaje de señal de RMN ^{13}C observada fue de 60-66% para la técnica de CPMAS. Todas las muestras se analizaron por duplicado.

Los análisis con el espectrómetro de absorción en el infrarrojo se realizaron en la región espectral comprendida entre 400 y 4000 cm^{-1} , con medida de la absorbancia cada 4 cm^{-1} . Además, se han utilizado diferentes herramientas quimiométricas tales como PLS (*partial least square*), iPLS (*interval partial least square*), biPLS (*backward interval partial least square*) y GA (*genetic algorithm*), con diferentes métodos de pre-procesamiento, con el fin de encontrar la región espectral en el infrarrojo más relevante relacionada con el proceso de compostaje.

Resultados

Los resultados obtenidos mediante RMN de sólidos indican un aumento de proteínas y de estructuras alifáticas conforme avanza el proceso de compostaje en las tres pilas. El enriquecimiento microbiano que tiene lugar conforme avanza el proceso podría ser la causa del aumento del material proteico, mientras que la acumulación de los

compuestos alifáticos podría deberse a un efecto de concentración por una degradación preferencial de los azúcares. La degradación de los carbohidratos se produce por la rotura de los enlaces C-O. Además, la resonancia magnética nuclear demuestra que la pila 1 ha alcanzado un buen grado de estabilización, no detectable a priori con otras técnicas.

Con la técnica FT-IR, el proceso de compostaje se puede seguir basándonos en los cambios de la intensidad relativa de bandas típicas de determinados componentes. También se puede evaluar el grado de degradación y, por tanto, determinar su madurez. De este modo, se emplearon siete bandas para calcular las absorbancias relativas: 2927, 2854, 1640, 1548, 1420, 1384, 1037 y 875 cm^{-1} . El estudio de las absorbancias relativas en cada una de las bandas de absorbancia reflejó el proceso de descomposición ocurrido. Se observó una disminución en la intensidad relativa de la banda a 1037 cm^{-1} , característica de los carbohidratos, a lo largo del proceso de compostaje. Se observó también un aumento de la intensidad relativa de la banda a 1548 cm^{-1} , que puede estar relacionado con el aumento en el contenido de proteínas durante el proceso por el enriquecimiento microbiano. La intensidad relativa de la banda correspondiente a nitratos, a 1384 cm^{-1} , aumentó al principio del proceso y después disminuyó, probablemente porque el nitrógeno fue utilizado por los microorganismos presentes en la pila de compostaje.

Con el objetivo de localizar la región o regiones espectrales que muestran una correlación con el tiempo de compostaje, se llevó a cabo un estudio quimiométrico de los datos espectrales, diferenciando 4 conjuntos de muestras distintos. El modelo bi-PLS aplicado a los datos de RMN para la pila 2 mostró que las regiones que más estaban relacionadas con el tiempo de compostaje eran la región del carbono alifático, la de los grupos di-O-alquilo y la región O-aromática. En la pila 3 fueron la región del carbono alifático, la de los grupos N-alquilo/metoxilo y la región correspondiente a los grupos carbonilo. Efectivamente, este tipo de compuestos juegan un papel importante en el proceso de compostaje. El modelo i-PLS se aplicó a los datos de los espectros de IR y los

resultados mostraron que, para la pila 2, la región que más se correlacionó con el tiempo de compostaje fue la correspondiente al intervalo 1432,9-1569,8 cm^{-1} , estando en esta región los componentes correspondientes a los componentes de la lignina lignina y los enlaces C=C aromático. En el caso de la pila 3, la región más correlacionada con el tiempo fue la del intervalo 2805,9-2973,3 cm^{-1} , correspondiendo esta región a los componentes/grupos alifáticos. Aplicando algoritmos genéticos (GA-PLS) a estas regiones es posible especificar más aún el/los intervalos que están más correlacionados con el tiempo de compostaje. Aplicando este método a los datos de los espectros FT-IR correspondientes a la pila 2, se obtuvo un RMSECV de 3,72% (seleccionando 3 regiones y 7 componentes). Para la pila 3, el RMSECV fue de 4,80% (seleccionando 5 regiones y 13 componentes). Usando estas herramientas quimiométricas, se vio además que la información que contienen los espectros no siempre corresponden a los picos más altos, como suele ser la estrategia usual.

Conclusiones

La utilización de las técnicas espectroscópicas RMN ^{13}C y FT-IR permitió seguir y evaluar la evolución de la materia orgánica durante el proceso de compostaje de los residuos de la industria vinícola y de destilerías. En general, los resultados obtenidos en el estudio de estas pilas indicaron una degradación preferencial de los carbohidratos y una acumulación de material alifático (probablemente por el efecto concentración en las pilas de compostaje) conforme iba avanzando el proceso de compostaje. Además, la utilización de técnicas quimiométricas permitió obtener información cuantitativa óptima a partir de los datos espectroscópicos. Mediante iPLS se eliminaron los intervalos espectrales que no contenían información y de esta forma el algoritmo genético (GA) pudo trabajar con un número significativamente más bajo de variables. Esta estrategia permitió seleccionar un intervalo pequeño de longitud de onda en los espectros FT-IR con una alta correlación con

el proceso de compostaje, determinándose así cuando era estable la materia orgánica en una pila durante el proceso de compostaje.





5. Bibliografía

5. BIBLIOGRAFIA

- 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.
- Ait Baddi, G., Hafidi, M., Cegarra, J., Albuquerque, J.A., González, J., Gilard, V., Revel, J.C. 2004. Characterization of fulvic acids by elemental and spectroscopic (FTIR and ¹³C-NMR) analyses during composting of olive mill wastes plus straw. *Bioresource Technology*, 93: 217-323.
- Ajiboye, B., Akinremi, A.O., Hu, Y., Flaten, D.N. 2007. Phosphorus speciation of sequential extracts of organic amendments using nuclear magnetic resonance and X-ray absorption near-edge structure spectroscopies. *Journal of Environmental Quality*, 36: 1563-1576.
- Albrecht, R., Joffre, R., Gros, R., Le Petit, J., Terrom, G., Périsol, C. 2008. Efficiency of near-infrared reflectance spectroscopy to assess and predict the stage of transformation of organic matter in the composting process. *Bioresource Technology*, 99: 448-455.
- Almendros, G., Dorado, J., González-Vila, F.J., Blanco, M.J., Lankes, U. 2000. ¹³C NMR assessment of decomposition patterns during composting of forest and shrub biomass. *Soil Biology & Biochemistry*, 32: 793-804.
- Alomar, D., Fuchslocher, R., de Pablo, M. 2003. Effect of preparation on composition and NIR spectra of forage samples. *Animal Feed Science and Technology*, 107: 191-200.
- Amlinger, F., Pollak, M., Favoino, E. 2004. Heavy metals and organic compounds from wastes used as organic fertilizers. EU Report ENV.A.2/etu/2001/0024, Brussels, Belgium.
- Baldock, J.A., Oades, J.M., Nelson, P.N., Skene, T.M., Golchin, A., Clarke, P. 1997. Assessing the extent of decomposition of natural organic materials using solid-state C-13 NMR spectroscopy. *Australian Journal of Soil Research*, 35: 1061-1083.
- Baldock, J.A., Smernik, R.J. 2002. Chemical composition and bioavailability of thermally, altered Pinus resinosa (red pine) wood. *Organic Geochemistry*, 33: 1093-1109.
- Beffa, T., Blanc, M., Lyon, P.F., Vogt, G., Marchiani, M., Fischer, J.L., Arango, M. 1996. Isolation of Thermus strains from hot compost (60 to 80 °C). *Applied and Environmental Microbiology*, 62: 1723-1727.
- Bernal, M.P., Pareces, C., Sánchez-Monedero, M.A., Cegarra, J. 1998. Maturity and stability parameters of compost maturing assessment. A review. *Bioresource Technology*, 100: 5444-5453.
- Biddlestone, A.J., Gray, K.R. 1991. Aerobic processing of solid organic wastes for the production of a peat alternative: a review. *Process Biochemistry*, 26: 275-279.
- BOE. 1990. Real Decreto 1310/1990, de 29 de Octubre, por el que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario. *Boletín Oficial del Estado*, 262: 32339-32340.
- BOE. 2001. Resolución de 14 de junio de 2001, de la Secretaría General de Medio Ambiente, por la que se dispone la publicación del Acuerdo de Consejo de Ministros, de 1 de junio de 2001, por el que se aprueba el Plan Nacional de Lodos de Depuradoras de Aguas Residuales 2001-2006. *Boletín Oficial del Estado*, 166: 25297-25304.
- BOE. 2002. Real Decreto 1481/2001, de 27 de Diciembre, por el que se regula la eliminación de residuos mediante depósito en vertedero. *Boletín Oficial del Estado*, 25: 3507-3521.
- BOE. 2005. Real Decreto 824/2005, de 8 de Julio sobre fertilizantes y afines. *Boletín Oficial del Estado*, 171: 25592-25669.
- BOE. 2008. Orden APA/863/2008, de 25 de Marzo, por la que se modifican los anexos I, II, III, y VI del Real Decreto 824/2005, de 8 de julio, sobre productos fertilizantes y afines. *Boletín Oficial del Estado*, 79: 18145-18180.

- Bower, D.I., Maddams, W.F. 1989. *Vibrational Spectroscopy of Polymers*. Ed: Cambridge University Press. Cambridge. U.K.
- Bowman, R.A., Moir, J.O. 1993. Basic EDTA as an extractant for soil organic phosphorus. *Soil Science Society of America Journal*, 57: 1516-1518.
- Bremmer, J.M., Breitenbeck, G.A. 1983. A simple method for determination of ammonium in semimicro-Kjeldahl analysis of soils and plant materials using a block digester. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 14 (10): 905-913.
- Burns, D.A. y Ciurczak, E.W. 1992. *Handbook of near-infrared analysis*. Volume 13 in *Practical Spectroscopy Series*. Marcel Dekker. Inc., New Cork.
- Bustamante, M.A., Moral, R., Paredes, C., Pérez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J., Pérez-Murcia, M.D. 2008a. Agrochemical characterisation of the solid byproducts and residues from the winery and distillery industry. *Waste Management*, 28: 372-380.
- Bustamante, M.A., Moral, R., Paredes, C., Vargas-García, M.C., Suárez-Estrella, F., Moreno, J. 2008. Evolution of the pathogen content during co-composting of winery and distillery wastes. *Bioresource Technology*, 99: 7299-7306.
- Bustamante, M.A., Paredes, C., Marhuenda-Egea, F.C., Pérez-Espinosa, A., Bernal, M.P., Moral, R. 2008b. Co-composting distillery wastes with animal manure: carbon and nitrogen transformations and evaluation of compost stability. *Chemosphere*, 72: 551-557.
- Bustamante, M.A., Paredes, C., Moral, R., Moreno-Caselles, J., Pérez-Murcia, M.D., Pérez-Espinosa, A., Bernal, M.P. 2007. Co-composting of distillery and winery wastes with sewage sludge. *Water Science and Technology*, 56 (2): 187-192.
- Bustamante, M.A., Paredes, C., Morales, J., Mayoral, A.M., Moral, R. 2009. Study of the composting process of winery and distillery wastes using multivariate techniques. *Bioresource Technology*, 100: 4766-4772.
- Cade-Menun, B.J., Liu, C.W., Nunlist, R., McColl, J.G. 2002. Soil and litter phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy: extractants, metals, and phosphorus relaxation times. *Journal of Environmental Quality*, 31: 457-465.
- Cade-Menun, B.J., Preston, C.M. 1996. A comparison of soil extraction procedures for ³¹P NMR spectroscopy. *Soil Science*, 161: 770-785.
- Campitelli, P., Ceppi, S. 2008. Effects of composting technologies on the chemical and physicochemical properties of humic acids. *Geoderma*, 144: 325-333.
- Castaldi, P., Alberti, G., Merella, R., Mellis, P. 2005. Study of 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.
- Cegarra J., Paredes C. 2008. Residuos agroindustriales. En: Moreno, J., Moral, R. (editores). *Compostaje*. Ed: Mundi-Prensa. Madrid. España. pp. 519-552.
- Chang, C.W., Laird, D.A., Mausbach, M.J., Hurburgh Jr., C.R. 2001. Near-infrared reflectance spectroscopy-principal component regression analyses of soil properties. *Soil Science Society of America Journal*, 65: 480-490.
- Chefetz, B., Hadar, Y., Chen, Y. 1998. Dissolved organic carbon fractions formed during composting of municipal solid waste: properties and significance. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 26 (3): 172-179.
- Chen, Y., Inbar, Y. 1993. Chemical and spectroscopical analyses of organic matter transformations during composting in relation to compost maturity. En: Hoitink, H.A.J., Keener, H.M. *Science and engineering of composting: design, environmental, microbiological and utilization aspects*. Ed.: Renaissance Publications. Ohio. USA. pp. 551-600.

- Chen, Y.N. 2003. Nuclear magnetic resonance, infra-red and pyrolysis: application of spectroscopic methodologies to maturity determination of composts. *Compost Science & Utilization*, 11: 152-168.
- Chen, Z.S., Lee, G.J., Liu, J.C. 2000. The effects of Chemicals remediation treatments on the extractability and speciation of cadmium and lead in contaminated soils. *Chemosphere*, 41: 235-242.
- Chikae, M., Kerman, K., Nagatani, N., Takamura, Y., Tamiya, E. 2007. An electrochemical on-field sensor system for the detection of compost maturity. *Analytica Chimica Acta*, 581: 364-369.
- Chodak, M., Ludwig, B., Khanna, P., Beese, F. 2002. Use of near infrared spectroscopy to determine biological and chemical characteristics of organic layers under spruce and beech stands. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 165: 27-33.
- Condon, L.M., Frossard, E., Newman, R.H., Tekely, P., Morel, J.L. 1997. Use of ³¹P NMR in the study of soils and the environment. En: Nanny, M.A., Minear, R.A., Leenheer, J.A. (editores). *Nuclear magnetic resonance spectroscopy in environmental chemistry*. Oxford University Press, Oxford.
- Conte, P., Spaccini, R., Piccolo, A. 2004. Distribution of a C-13-labelled hydrophobic tracer over humic fractions of different size and composition. *Fresenius Environmental Bulletin*, 13: 238-243.
- Conzen, J.P. 2006. *Multivariate calibration. A practical guide for developing methods in the quantitative analytical chemistry*. Ed: Bruker Optik GmbH, Germany.
- Cook, R.L. 2004. Coupling NMR to NOM. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378: 1484-1503.
- Cooperbrand, L.R., Middleton, L.H. 1996. Changes in chemical, physical and biological properties of passively-aerated co-composted poultry litter and municipal solid waste compost. *Compost Science & Utilization*, 4: 24-34.
- Costa, F., García, C., Hernández, T., Polo, A. 1991. *Residuos Orgánicos Urbanos. Manejo y Utilización*. Ed.: CSIC-CEBAS. Murcia.
- Council of the European Communities. 2008. Council directive on waste and repealing certain Directives. *Off. J. Eur. Communities*, L 312: 3-30.
- Cozzolino, D., Morón, A. 2006. Potential of near-infrared reflectance spectroscopy and chemometrics to predict soil organic carbon fractions. *Soil and Tillage Research*, 85: 78-85.
- Crecchio, C., Curci, M., Pizzigallo, M.D.R., Ricciuti, P., Ruggiero, P. 2004. Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity. *Soil Biology & Biochemistry*, 36: 1595-1605.
- Dao, T.H., Sikora, L.J., Hamasaki, A., Chaney, R.L. 2001. Manure phosphorus extractability as affected by aluminium- and iron by-products and aerobic composting. *Journal of Environmental Quality*, 30: 1693-1698.
- Déry, P., Anderson, B. 2007. Peak phosphorus. *Energy Bulletin*. Disponible en: <http://energybulletin.net/node/33164>.
- DOCE. 1986. Directiva 1986/278/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. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, L-181: 0006-0012.
- DOCE. 1999. Directiva 1999/31/CE del Consejo, de 26 de Abril de 1999, relativa al vertido de residuos. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, L-182: 1-19.
- Doelsch, E., Masion, A., Moussard, G., Chevassus-Rosset, C., Wojciechowicz, O. 2010. Impact of pig slurry and green waste compost application on heavy metal exchangeable fractions in tropical soils. *Geoderma*, 155: 390-400.
- DOUE. 2003. Reglamento (CE) 2003/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 13 de Octubre de 2003, relativo a los abonos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L-304: 1-194.

- DOUE. 2008a. Directiva 2008/1/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de Enero de 2008, relativa a la prevención y control integrados de la contaminación. Diario Oficial de la Unión Europea, L-24: 8-29.
- DOUE. 2008b. Directiva 2008/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 19 de Noviembre de 2008, sobre los residuos y por la que se derogan determinadas Directivas. Diario Oficial de la Unión Europea, L-312: 3-30.
- EEA (European Environment Agency). 2002. Biodegradable waste management in Europe. EEA, Copenhagen.
- EEA (European Environment Agency). 2005. Agriculture and environment in EU-15. The IRENA indicator report. EEA Report Nº 6/2005.
- Eilers, P.H.C., Marx, B.D. 2003. Multivariate calibration with temperature interaction using two-dimensional penalized signal regression. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 66: 159-174.
- European Commission. 2000. Working Document on Sludge, 3rd Draft. Brussels, 27 April 2000. DG ENV.E.3/LM/biowaste/2nd draft. Disponible en: http://ec.europa.eu/environment/waste/sludge/pdf/sludge_en.pdf
- European Commission. 2001. Working Document. Biological treatment of Biowaste. 2nd draft 2001. Disponible en: http://europa.eu.int/comm/environment/waste/facts_en.htm.
- Eurostat. 2005. Waste Generated and Treated in Europe. European Communities. Luxembourg. 131 pp.
- FAO. 2009. FAOSTAT database. Disponible en: www.fao.org.
- Farrell, M., Jones, D.L. 2009. Heavy metal contamination of a mixed waste compost: Metal speciation and fate. *Bioresource Technology*, 100: 4423-4432.
- Felton, G.K., Carr, L.E., Prigge, C.E., Bouwkamp, J.C. 2004. Nitrogen and phosphorus dynamics in co-composted yard trimmings and broiler litter. *Compost Science & Utilization*, 12: 349-355.
- Ferrer, J., Paéz, G., Mármol, Z., Ramones, E., Chandler, C., Marín, M., Ferrer, A. 2001. Agronomic use of biotechnologically processed grape wastes. *Bioresource Technology*, 76: 39-44.
- Finstein, M. S., Miller, F.C., Mac Gregor, S.T., Psarimos, K.M. 1985. The Rutgers strategy for composting: process design and control. EPA Project Summary (EPA 600/S2-85/059). U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC. USA.
- Flotats, X., Solé, F. 2008. Situación actual en el tratamiento de los residuos orgánicos: aspectos científicos, económicos y legislativos. En: Moreno, J., Moral, R. (editores). *Compostaje*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España.
- Frank, I.E., Friedman, J.H. 1993. A statistical view of some chemometric regression tools. *Technometrics*, 35: 109-148.
- Fujiwara, T., Murakami, K. 2007. Application of near infrared reflectance spectroscopy for estimating available nitrogen in poultry manure compost. *Soil Science and Plant Nutrition*, 53: 102-107.
- Gallardo-Lara, F., Nogales, R. 1987. Effect of the application of town refuse compost on the soilplant system: a review. *Biological Wastes*, 19: 35-61.
- Galvez-Sola, L., Moral, R., Moreno-Caselles, J., Perez-Murcia, M.D., Perez-Espinosa, A., Bustamante, M.A., Paredes, C. 2009a. Effectiveness of near infrared reflectance spectroscopy in the quick evaluation of nitrogen content in sewage sludge. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 40: 726-735.
- Galvez-Sola, L., Moral, R., Moreno-Caselles, J., Perez-Murcia, M.D., Perez-Espinosa, A., Bustamante, M.A., Said-Pullicino, D., Pareces, C. 2009b. Evaluation of effectiveness of near infrared reflectance spectroscopy on Fe, Cu, Mn and Zn estimation in compost. En: Shengcai, L., Yajun, W., Fengxia, C., Ping, H., Yao, Z. (editores). *Progress in Environmental Science and Technology*, vol. II. Beijing. Ed: Science Press. pp 643-648.

Luis Nazario Gálvez Sola

- García, C. Hernández, T., Costa, F. 1990. The influence of composting and maturation processes on the heavy-metal extractability from some organic wastes. *Biological Wastes*, 31: 291-301.
- García-Gil, J.C., Plaza, C., Soler-Rovira, P., Polo, A. 2000. Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass. *Soil Biology & Biochemistry*, 32: 1907-1913.
- Gerasimowicz, W.V., Byler, D.M. 1985. Carbon-13 CPMAS NMR and FTIR spectroscopic studies of humic acids. *Soil Science*, 139: 270-278.
- Gislum, R., Micklander, E., Nielsen, J.P. 2004. Quantification of nitrogen concentration in perennial ryegrass and red fescue using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) and chemometrics. *Field Crops Research*, 88: 269-277.
- Gomez, R.B., Lima, F.V., Ferrer, A.S. 2006. The use of respiration indices in the composting process: a review. *Waste Management & Research*, 24: 37-47.
- Gómez, X., Diaz, M.C., Cooper, M., Blanco, D., Morán, A., Snape, C.E. 2007. Study of biological stabilization processes of cattle and poultry manure by thermogravimetric analysis and C-13 NMR. *Chemosphere*, 68: 1889-1897.
- González-Vila, F.J., Martín, F. 1985. Chemical structural characteristics of humic acids extracted from composted municipal refuse. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 14: 267-278.
- Green, S.J., Michel, F.C. Jr., Hadar, Y., Minz, D. 2004. Similarity of bacterial communities in sawdust- and straw-amended cow manure compost. *FEMS Microbiology Letters*, 233: 115-123.
- Grube, M., Lin, J. G., Lee, P. H., Kokorevicha, S. 2006. Evaluation of sewage sludge-based compost by FT-IR spectroscopy. *Geoderma*, 130: 324-333.
- Haberhauer, G., Rafferty, B., Strebl, F., Gerzabek, M.H. 1998. Comparison of the composition of forest soil litter derived from three different sites at various decompositional stages using FTIR spectroscopy. *Geoderma*, 83: 331-342.
- Halgerson, J.L., Sheaffer, C.C., Martin, N.P., Peterson, P.R., Weston, S.J. 2004. Near-infrared reflectance spectroscopy prediction of leaf and mineral concentrations in alfalfa. *Agronomy Journal*, 96: 344-351.
- Harada, Y., Inoko, A. 1980. The measurement of the cation-exchange capacity of compost for estimation of degree of maturity. *Soil Science and Plant Nutrition*, 26: 127-134.
- Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N., Cherif, A., Cherif, M., Boudabous, A. 2001. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresource Technology*, 80: 217-225.
- Haug, R.T. 1993. *The Practical Handbook of Compost Engineering*. Ed: CRC Press. Boca Raton, Florida. USA. p 2.
- He, Y., Huang, M., Garcia, A., Hernández, A., Song, H. 2007. Prediction of soil macronutrients content using near-infrared spectroscopy. *Computers and Electronics in Agriculture*, 58: 144-153.
- Hernandez, T., Moreno, J.I., Costa, F. 1993. Infrared spectroscopy characterization of sewage sludge humic acids: Evidence of sludge organic matter-metal interactions. *Agrochimica*, 37: 13-17.
- Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B. 1995. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*. Georg Thieme Verlag . Stuttgart. Germany.
- Hinedi, Z.R., Chang, A.C., Lee, R.W.K. 1989. Characterization of phosphorus in sludge extracts using phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Environmental Quality*, 18: 323-329.
- Hsu, J.H., Lo, S.L. 1999. Chemical and spectroscopic analysis of inorganic matter transformations during composting of pig manure. *Environmental Pollution*, 104: 189-196.
- Huang, G., Han, L., Yang, Z., Wang, X. 2008. Evaluation of the nutrient metal content in Chinese animal manure compost using near infrared spectroscopy (NIRS). *Bioresource Technology*, 99: 8164-8169.

Luis Nazario Gálvez Sola

- Huang, X.L., Chen, Y., Shenker, M. 2008. Chemical fractionation of phosphorus in stabilized biosolids. *Journal of Environmental Quality*, 37, 1949-1958.
- Hue, N.V., Liu, J. 1995. Predicting compost stability. *Compost Science and Utilization*, 3 (2): 8-15.
- Iglesias Jiménez, E., Pérez García, V. 1992a. Composting of domestic refuse and sewage sludge. II. Evolution of carbon and some "humification" indexes. *Resources, Conservation and Recycling*, 6: 243-257.
- Iglesias Jiménez, E., Pérez García, V. 1992b. Determination of maturity indexes for city refuse composts. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 38: 331-343.
- Inbar, Y., Chen, Y., Hadar, Y. 1989. Solid state carbon 13 nuclear magnetic resonance and infrared spectroscopy of composted organic matter. *Soil Science Society of America Journal*, 53: 1695-1701.
- Inbar, Y., Chen, Y., Hadar, Y. 1991. Carbon-13 CPMAS NMR and FTIR spectroscopic analysis of organic matter transformations during composting of solid wastes from wineries. *Soil Science*, 152: 272-282.
- Inbar, Y., Chen, Y., Hadar, Y., Hoitnik, H.A.J. 1990. New approaches to compost maturity. *Biocycle*, 31: 64-69.
- INE. 2009. Disponible en: <http://www.ine.es/jaxi/menu.do?type=pcaxis&path=%2Ft26%2Fe068%2Fp01&file=inebase&L=>
- IOC. 2007. Statistics on olive oil production. Disponible en: <http://www.internationaloliveoil.org>.
- Keeler, C., Kelly, E.F., Maciel, G.E. 2006. Chemical-structural information from solid-state ¹³C NMR studies of a suite of humic materials from a lowermontane forest soil, Colorado, USA. *Geoderma*, 130: 124-140.
- Kirchmann, H., Thorvaldsson, G. 2000. Challenging targets for future agriculture. *European Journal of Agronomy*, 12 (3-4): 145-161.
- Kitson, R.E., Mellon, M.G. 1944. Colorimetric determination of P as molybdovanadate phosphoric acid. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 16: 379-383.
- Ko, H.J., Choi, H.L., Park, H.S., Lee, H.W. 2004. Prediction of heavy metal content in compost using near-infrared reflectance spectroscopy. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 17: 1736-1740
- Kögel-Knabner, I. 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology & Biochemistry*, 34: 139-162.
- Kögel-Knabner, I., Hatcher, P.G. 1989. Characterization of alkyl carbon in forest soils by CPMAS ¹³C NMR spectroscopy and dipolar dephasing. *Science of the Total Environment*, 81/82: 169-177.
- Koivula, N., Hanninen, K. 2001. Concentrations of monosaccharides in humic substances in the early stages of humification. *Chemosphere*, 44: 271-279.
- Kotaro, K., Nobuaki, M., Hiroyasu, T., Ichio, N. 2005. Evaluation of maturity of poultry manure compost by phospholipid fatty acids analysis. *Biology and Fertility of Soils*, 41: 399-410.
- Labrador Moreno, J. 1996. La materia orgánica en los agrosistemas. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Ed: Mundi- Prensa. Madrid.
- Leardi, R., Lupiáñez González, A. 1998. Genetic algorithms applied to feature selection in PLS regresion: how and when to use them. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 41: 195-207.
- Leardi, R., Norgaard, L. 2004. Sequential application of backward interval partial least squares and genetic algorithms for the selection of relevant spectral regions. *Journal of Chemometrics*, 18: 486-497.
- Ludwig, B., Khanna, P.K. 2001. Use of near infrared spectroscopy to determine inorganic and organic carbon fractions in soil and litter. En: Lal, R., Kimble, J.M., Follett, R.F., Stewart, B.A. (editores). *Assessment Methods for Soil Carbon*. Boca Raton, FL: CRC/Lewis Publishers; p. 361-370.
- Ludwig, B., Khanna, P.K., Bauhus, J., Hopmans, P. 2002. Near infrared spectroscopy of forest soils to determine chemical and biological properties related to soil sustainability. *Forest Ecology and Management*, 171: 121-132.

- MacCarthy, P., Rice, J.A. 1985. Spectroscopic methods (other than NMR) for determining functionality in humic substances. En: Aiken, G.R., McKnight, D.M., Wershaw, R.L., MacCarthy, P. (editores). *Humic Substances in Soil Sediment, and Water*. Ed: Wiley. New York. USA.
- Makarov, M.I., Haumaier, L., Zech, W. 2002. The nature and origins of diester phosphates in soils: a P-31-NMR study. *Biology and Fertility of Soils*, 35: 136-146.
- Malley, D.F., Ben-Dor, E., Martin, P.D. 2004. Application in analysis of soils. En: Robert, C., Workman, J., Reeves, J.B. (editores). *Near Infrared Spectroscopy in Agriculture*. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America and Crop Science Society of America, Madison, WI; p. 729-784.
- Malley, D.F., McClure, C., Martin, P.D., Buckley, K., McCaughey, W.P. 2005. Compositional analysis of cattle manure during composting using a fieldportable near-infrared spectrometer. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 36: 455-475.
- Malley, D.F., Williams, P.C. 1997. Use of near-infrared reflectance spectroscopy in prediction of heavy metals in freshwater sediment by their association with organic matter. *Environmental Science and Technology*, 31: 3461-3467.
- Malley, D.F., Yesmin, L., Eilers, R.G. 2002. Rapid analysis of hog manure and manure-amended soils using near-infrared spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal*, 66: 1677-1686.
- Manios, T. 2004. The composting potential of different organic solid wastes: experience from the island of Crete. *Environment International*, 29: 1079-1089.
- Martens, H., Jensen, S.A. 1983. Partial least squares regression: a new two stage NIR calibration method. En: Holas, J., Kratochvil, J. (editores). *Cereal Chemistry and Technology*. Elsevier. Amsterdam. The Netherlands.
- Martens, H., Næs, T. 1989. *Multivariate Calibration*. Ed: Wiley & Sons. New York. USA. 419 pp.
- Martens, H., Nielsen, J.P., Engelsen, S.B. 2003. Light scattering and light absorbance separated by extended multiplicative signal correction. Application to near-infrared transmission analysis of powder mixtures. *Analytical Chemistry*, 75: 394-404.
- Martínez-Sabater, E., Bustamante, M.A., Marhuenda-Egea, F.C., El-Khattabi, M., Moral, R., Lorenzo, E., Paredes, C., Gálvez, L.N., Jordá, J.D. 2009. Study of the evolution of organic matter during composting of winery and distillery residues by classical and chemometric analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 9613-9623.
- Marx, B.D., Eilers, P.H.C., 1999. Generalized linear regression on sampled signals and curves: a P-spline approach. *Technometrics* 41: 1-13.
- Mathers, N.J., Xu, Z., Blumfield, T.J., Berners-Price, S.J., Saffigna, P.G. 2003. Composition and quality of harvest residues and soil organic matter under windrow residue management in young hoop pine plantations as revealed by solid-state ¹³C NMR spectroscopy. *Forest Ecology and Management*, 175: 467-488.
- Mendez, M.O., Glenn, E.P., Maier R.M. 2007. Phytostabilization potential of quailbush for mine tailings: Growth, metal accumulation and microbial community changes. *Journal of Environmental Quality*, 36: 245-253.
- Moral, R., Galvez-Sola, L., Moreno-Caselles, J., Perez-Murcia, M.D., Perez-Espinosa, A., Paredes, C. 2007. Can Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) predict heavy metals in sewage sludge? En: Kungolos, A., Aravossis, K., Karagiannidis, A., Samaras, P. (editors). *First Conference on Environmental Management, Engineering, Planning and Economics*, 24-28 June 2007, Skiathos island, Greece; p. 1683-1688.
- Moral, R., Paredes, C., Bustamante, M.A., Marhuenda-Egea, F., Bernal, M.P. 2009. Utilisation of manure composts by high-value crops: safety and environmental challenges. *Bioresource Technology*, 100: 5454-5460.

- Moreno-Caselles, J., Moral, R., Perez-Murcia, M.D., Perez-Espinosa, A., Rufete, B. 2002. Nutrient value of animal manures in front of environmental hazards. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33: 3023–3032.
- Navarro, A. F., Cegarra, J., Roig, A., Bernal, M.P. 1991. An automatic microanalysis method for the determination of organic carbon in wastes. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 22: 2137-2144.
- Navarro, A.F., Cegarra, J., Roig, A., Garcia, D. 1993. Relationships between organic matter and carbon contents of organic wastes. *Bioresources Technology*, 44: 203-207.
- Nelson, P.N., Baldock, J.A. 2005. Estimating the molecular composition of a diverse range of natural organic materials from solid-state ¹³C NMR and elemental analyses. *Biogeochemistry*, 72: 1-34.
- Nelson, P.N., Baldock, J.A., Oades, J.M., Churchman, G.J. 1999. Dispersed clay and organic matter in soil: their nature and associations. *Australian Journal of Soil Research*, 37: 289-315.
- Nip, M., Tegelaar, E.W., de Leeuw, J.W., Schenck, P.A., Holloway, P.J. 1986. A new non-saponifiable highly aliphatic and resistant biopolymer in plant cuticles. *Naturwissenschaften*, 73: 579-585.
- Nogales, R., Elvira, C., Benítez, E., Gallardo-Lara, F. 1995. Uso agrícola de los composts y vermicomposts de basuras urbanas (II): Efectos sobre las propiedades físicas del suelo. *Residuos*, Año V, 27: 78-81.
- Norgaard, L., Hahn, M.T., Knudsen, L.B., Farhat, I.A., Engelsen, S.B. 2005. Multivariate near-infrared and Raman spectroscopy quantifications of the crystallinity of lactose in whey permeate powder. *International Dairy Journal*, 15: 1261-1270.
- Norgaard, L., Saudland, A., Wagner, J., Nielsen, J.P., Munck, L., Engelsen, S.B. 2000. Interval partial least-squares regression (iPLS): a comparative chemometric study with an example from near-infrared spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 54: 413-419.
- Norris, K.H. 1987. *Near Infrared Technology in Agricultural and Food Industries*. American Association of Cereal Chemist. St. Paul, MN.
- OIV. 2009. Situation and statistics of the world vitiviniculture sector in 2007. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin. Disponible en: <http://www.oiv.int>.
- Ouatmane, A., Provenzano, M.R., Hafidi, M., Senesi, N. 2000. Compost maturity assessment using calorimetry, spectroscopy and chemical analysis. *Compost Science & Utilization*, 8:124-34.
- Painter, A.J., Duer, M.J. 2002. Double-quantum-filtered nuclear magnetic resonance spectroscopy applied to quadrupolar nuclei in solids. *Journal of Chemical Physics*, 116: 710-722.
- Paredes, C., Bernal, M.P., Roig, A., Cegarra, J., Sánchez-Monedero, M.A. 1996. Influence of the bulking agent on the degradation of olive-mill wastewater sludge during composting. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38: 205-210.
- Paredes, C., Cegarra, J., Roig, A., Sánchez-Monedero, M.A., Bernal, M.P. 2005. Influence of olive mill wastewater in composting and impact of the compost on a Swiss chard crop and soil properties. *Environmental International*, 31 (2): 305-312.
- Pascual, J.A., Ayuso, M., García, C., Hernández, M.T. 1997. Characterization of urban wastes according to fertility and phytotoxicity parameters. *Waste Management & Research*, 15: 103-112.
- Patti, A.F., Issa, J., Wilkinson, K. 2004. What are putting on the ground? Characterisation of grape marc and other composts used in the Yarra Valley. Grape and Wine Research and Development Corporation. Australia Government. Australia.
- Pérez Murcia, M.D. 1999. Utilización integral de lodos de depuradora en Agricultura. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante.
- Pérez-Murcia M.D., Moreno-Caselles J. 2008. Residuos urbanos. En: Moreno, J., Moral, R. (editores). *Compostaje*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España. pp. 467-488.

- Perez-Murcia, M.D., Moral, R., Moreno-Caselles, J., Perez-Espinosa, A., Paredes, C. 2006. Use of composted sewage sludge in growth media for broccoli. *Bioresource Technology*, 97: 123-130.
- Perfil Ambiental de España. 2009. Ministerio de Medio Ambiente, Rural y Marino. Disponible en: http://www.mma.es/portal/secciones/calidad_contaminacion/indicadores_ambientales/perfil_ambiental_2009/index.htm.
- Pichler, M., Knicker, H., Kogel-Knabner, I. 2000. Changes in the chemical structure of municipal solid waste during composting as studied by solid-state dipolar dephasing and PSRE ^{13}C NMR and solid-state ^{15}N NMR spectroscopy. *Environmental Science & Technology*, 34: 4034-4038.
- PNIR. 2008. Plan Nacional Integrado de Residuos. Disponible en la página WEB: [http://www.mma.es/secciones/calidad_contaminacion/pdf/PNIR_22_12_2008_\(con_tablas_y_planes\).pdf](http://www.mma.es/secciones/calidad_contaminacion/pdf/PNIR_22_12_2008_(con_tablas_y_planes).pdf)
- Polak, J., Sulkowski, W.W., Bartoszek, M., Papież, W. 2005. Spectroscopic studies of the progress of humification processes in humic acid extracted from sewage sludge. *Journal of Molecular Structure*, 744: 983-989.
- Preston, C. 1996. Applications of NMR to soil organic matter analysis: history and prospects. *Soil Science*, 161: 144-166.
- Preston, C.M. 2001. Carbon-13 solid-state NMR of soil organic matter-using the technique effectively. *Canadian Journal of Soil Science*, 81: 255-270.
- Preston, C.M., Trofymow, J.A., Niu, J., Fyfe, C.A. 1998. $^{13}\text{CPMAS}$.NMR spectroscopy and chemical analysis of coarse woody debris in coastal forests of Vancouver Island. *Forest Ecology and Management*, 111: 51-68.
- Provenzano, M.R., de Oliveira, S.C., Silva, M.R.S., Senesi, N. 2001. Assessment of maturity degree of composts from domestic solid wastes by fluorescence and Fourier transform infrared spectroscopies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5874-5879.
- R Development Core Team. 2008. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en: <http://www.R-project.org>.
- Reeves, J.B.III, Follet, R.F., McCarty, W.C., Kimble, J.M. 2006. Can near or mid reflectance spectroscopy be used to determine soil carbon pools? *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 37: 2307-2325.
- Réveillé, V., Mancuy, L., Jardé, E., Garnier-Sillan, E. 2003. Characterisation of sewage sludge derived organic matter: lipids and humic acids. *Organic Geochemistry*, 34: 615-627.
- Riley, M.R., Crider, H.M. 2000. The effect of analyte concentration range on measurement error obtained by NIR spectroscopy. *Talanta*, 52: 473-484.
- Ros, M., Hernandez, M.T., Garcia, C., Bernal, A., Pascual, J.A. 2005. Biopesticide effect of green compost against fusarium wilt on melon plants. *Journal of Applied Microbiology*, 98: 845-854.
- Saha, J.K., Panwar, N., Singh, M.V. 2010. An assessment of municipal solid waste compost quality produced in different cities of India in the perspective of developing quality control indices. *Waste Management*, 30: 192-201.
- Saña, J., Soliva, M. 1987. El Compostatge. Procés, Sistemes i Aplicacions. Ed.: Diputació de Barcelona. Servei del Medi Ambient. Barcelona.
- Schnitzer M., Khan, S.U. 1972. Humic Substances in the Environment. Ed: Dekker New York, USA.
- Sharma, H.S.S., Kilpatrickb, M., Burns, L. 2000. Determination of phase II mushroom (*Agaricus bisporus*) compost quality by near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 8: 11-19.
- Shepherd, K.D., Palm, C.A., Gachengo, C.N., Vanlauwe, B. 2003. Rapid characterization of organic resources quality for soil and livestock management in tropical agroecosystems using near-infrared spectroscopy. *Agronomy Journal*, 95: 1314-1322.

- Shober, A.L., Sims, J.T. 2003. Phosphorus restrictions for land application of biosolids: current status and future trends. *Journal of Environmental Quality*, 32: 1955-1964.
- Shober, A.L., Sims, J.T. 2007. Integrating phosphorus source and soil properties into risk assessments for phosphorus loss. *Soil Science Society of America Journal*, 71: 551-560.
- Siebielec, G., McCarty, G.W., Stuczynski, T.I., Reeves, J.B. 2004. Near- and mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy for measuring soil metal content. *Journal of Environmental Quality*, 33: 2056-2069.
- Smernick, R.J., Oades, J.M. 2000. The use of spin counting for determining quantitation in solid state ^{13}C NMR spectra of natural organic matter. 2. HF-treated soil fractions. *Geoderma*, 96: 159-171.
- Smidt, E., Eckhardt, K., Lechner, P., Schulten, H., Leinweber, P. 2005. Characterization of different decomposition stages of biowaste using FT-IR spectroscopy and pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Biodegradation*, 16: 67-79.
- Smidt, E., Lechner, P., Schwanninger, M., Haberhauer, G., Gerzabek, M.H. 2002. Characterization of waste organic matter by FT-IR spectroscopy: application in waste science, *Applied Spectroscopy* ,56 (9):1170–1175.
- Smidt, E., Meissl, K. 2007. The applicability of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy in waste management. *Waste Management*, 27: 268-276.
- Smidt, E., Parravicini, V. 2009. Effect of sewage sludge treatment and additional aerobic post-stabilization revealed by infrared spectroscopy and multivariate data analysis. *Bioresource Technology*, 100: 1775-1780.
- Smith, B. 1999. *Infrared Spectral Interpretation*. Ed: CRC Press. Boca Raton, FL. USA.
- Software Opus 6.0. 2006. Bruker Optik. Alemania.
- Stevenson, F.J. 1982. Extraction, fractionation and general chemical composition of soil organic matter. En: Stevenson, F.J. (editor). *Humus Chemistry; Genesis, Composition, Reactions*. Ed: Wiley. New York. USA.
- Stevenson, F.J. 1994. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. Ed: Wiley-Interscience, New York.
- Stevenson, F.J., He, X.T. 1990. Nitrogenin humic substances as related to soil fertility. En: MacCarthy, P., Clapp, C.E., Malcolm, R.L., Bloom, P.R. (editores). *Humic Substances in Soil and Crop Sciences. Selected Readings*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy. Madison, WI. pp 91-109.
- Suehara, K., Ohta, Y., Nakano, Y., Yano, T. 1999. Rapid measurement and control of the moisture content of compost using near-infrared spectroscopy. *Journal of Bioscience & Bioengineering*. 87: 769-774.
- Takaku, H., Kodaira, S., Kimoto, A., Nashimoto, M., Takagi, M. 2006. Microbial communities in the garbage composting with rice hull as an amendment revealed by culture-dependent and -independent approaches. *Journal of Bioscience & Bioengineering*, 101: 42-50.
- Tang, J.C., Maie, N., Tada, Y., Katayama, A. 2006. Characterization of the maturing process of cattle manure compost. *Process Biochemistry*, 41: 380-389.
- Tiquia S.M., Tam N.F.Y. 2002. Characterization and composting of poultry litter in forced-aeration piles. *Process Biochemistry*, 37: 869-880.
- Tiquia, S.M. 2002. Evolution of extracellular enzyme activities during manure composting. *Journal of Applied Microbiology*, 92: 764-775.
- Toor, G.S., Hunger, S., Peak, J.D., Sims, J.T., Sparks, D.L. 2006. Advances in the characterization of phosphorus in organic wastes: environmental and agronomic applications. *Advances in Agronomy*, 89: 1-72.
- Turner, B.L., Cade-Menun, B.J., Condrón, L.M., Newman, S. 2005. Extraction of soil organic phosphorus. *Talanta*, 66: 294-306.

Luis Nazario Gálvez Sola

- Turner, B.L., Mahieu, N., Condon, L.M. 2003. Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectral assignments of phosphorus compounds in soil NaOH-EDTA extracts. *Soil Science Society of America Journal*, 67: 497-510.
- Turner, B.L., Richardson, A.E., 2004. Identification of scyllo-inositol phosphates in soil by solution phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal*, 68: 802-808.
- 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. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 57: 14-23.
- Vavrina, C.S. 1994. Municipal solid waste materials as soilless media for tomato transplant production. *Proceedings of the Florida State Horticulture Society*, 107: 118-120.
- Veeken, A.H.M., Adani, F., Nierop, K.G.J., de Jager, P.A., Hamelers, H.V.M. 2001. Degradation of biomacromolecules during highrate composting of wheat straw-amended feces. *Journal of Environmental Quality*, 30: 1675-1684.
- Vergnoux, A., Guiliano, M., Le Dréau, Y., Kister, J., Dupuy, N., Doumenq, P. 2009. Monitoring of the evolution of an industrial compost and prediction of some compost properties by NIR spectroscopy. *Science of the Total Environment*, 407: 2390-2403.
- Walker, D.J., Clemente, R., Roig, A., Bernal, M.P. 2003. The effects of soil amendments on heavy metal bioavailability in two contaminated Mediterranean soils. *Environmental Pollution*, 122: 303-312.
- Wang, P., Changa, C.M., Watson, M.E., Dick, W.A., Chen, Y., Hoitink, H.A.J. 2004. Matyrity indices for composted dairy and pig manures. *Soil Biology & Biochemistry*, 36: 767-776.
- Wilson, M.A. 1987. *NMR Techniques and Applications in Geochemistry and Soil Chemistry*. Ed: Pergamon Press. Oxford. U.K.
- Windham, W.R., Robertson, J.A., Leffler, R.G. 1987. A comparison among methods of moisture determination of forage for NIRS calibration and validation. *Crop Science*, 27: 777-783.
- Winning, H., Viereck, N., Norgaard, L., Larsen, J., Engelsen, S.B. 2007. Quantification of the degree of blockiness in pectins using ^1H NMR spectroscopy and chemometrics. *Food Hydrocolloids*, 21: 256-266.
- Wu, L., Ma, L.Q., Martínez, G.A. 2000. Comparison of methods for evaluating stability and maturity of biosolids compost. *Journal of Environmental Quality*, 29: 424-429.
- Xing, L., Chen, L.J., Han, L.J. 2008. Rapid analysis of layer manure using near-infrared reflectance spectroscopy. *Poultry Science*, 87: 1281-1286.
- Yang, Z.L., Han, L.J., Fan, X. 2006. Rapidly estimating nutrient contents of fattening pigmanure from floor scrapings by near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 14: 261-268.
- Zmora-Nahum, S., Markovitch, O, Tarchitzky, J., Chen, Y. 2005. Dissolved organic carbon (DOC) as a parameter of compost maturity. *Soil Biology & Biochemistry*, 37: 2109-2116.
- Zucconi, F., de Bertoldi, M. 1987. Specifications for solid-waste compost. *Biocycle*, 28: 56-61.
- Zucconi, F., Pera, A., Forte, M., de Bertoldi, M. 1981. Evaluating toxicity of immature compost. *Biocycle*, 22: 54-57.