



Programa de Doctorado en Recursos y Tecnologías agrarias,  
Agroambientales y Alimentarias

# **Desarrollo y optimización de procesos de compostaje de alpechín para la obtención de productos fertilizantes**

**D. Miguel Ángel Mira Urios**

Director/a de la tesis

**Dr. D. Francisco Javier Andreu Rodríguez**

Codirector/a de la tesis

**Dr. D. José Antonio Sáez Tovar**

---

Universidad Miguel Hernández de Elche

-2025 -





La presente Tesis Doctoral, titulada “*Desarrollo y optimización de procesos de compostaje de alpechín para la obtención de productos fertilizantes*”, se presenta bajo la modalidad de **tesis por compendio** de las siguientes **publicaciones**:

- **Composting of Olive Mill Wastewater Sludge Using a Combination of Multiple Strategies.** 2025. Miguel Ángel Mira-Urios, José A. Sáez, Luciano Orden, Frutos C. Marhuenda-Egea, Francisco Javier Andreu-Rodríguez, Ana J. Toribio, Enrique Agulló, María J. López, Raúl Moral. *Agronomy* (Q1, 3.8, *Agronomy, Plant Sciences* (JCR 2024)) 15(4), 808.  
<http://doi.org/10.3390/agronomy15040808>
- **Agronomic Assessment of Olive Mill Wastewater Sludge Derived Composts on *Lactuca sativa* and *Zea mays*: Fertilizing Efficiency and Potential Toxic Effect on Seed Germination and Seedling Growth.** 2025. Miguel Ángel Mira-Urios, José A. Sáez-Tovar, F. Javier Andreu-Rodríguez, Silvia Sánchez-Méndez, Luciano Orden, Lucía Valverde-Vozmediano, María Dolores Pérez-Murcia, Raúl Moral. *Agronomy* (Q1, 3.8, *Agronomy, Plant Sciences* (JCR 2024)) 15(10), 2391.  
<https://doi.org/10.3390/agronomy15102391>





La siguiente publicación forma parte de la tesis doctoral:

- **Combined effect of assisted Bioaugmentation and Biochar incorporation on Olive Mill Wastewater sludge composting.** Miguel Ángel Mira-Urios, M.R. Martínez-Gallardo, José A. Sáez, Francisco Javier Andreu-Rodríguez, Luciano Orden, A.J. Toribio, Z.E. Blesa-Marco, Encarnación Martínez-Sabater, María Dolores Pérez-Murcia, F. Suárez-Estrella, Raúl Moral. En revisión en la revista *Environmental Pollution* (Q1, 8.1, Environmental Sciences (JCR 2024)) en octubre de 2025.







El Dr. D. *Francisco Javier Andreu Rodríguez*, director, y el Dr. D. *José Antonio Sáez Tovar*, codirector de la tesis doctoral titulada “*Desarrollo y optimización de procesos de compostaje de alpechín para la obtención de productos fertilizantes*”

**INFORMAN:**

Que D. *Miguel Ángel Mira Urios* ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado “*Desarrollo y optimización de procesos de compostaje de alpechín para la obtención de productos fertilizantes*” conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmamos para los efectos oportunos, en Orihuela a ..... de ..... de 2025

Director/a de la tesis

Dr. D. Francisco Javier Andreu Rodríguez

Codirector/a de la tesis

Dr. D. José Antonio Sáez Tovar





La Dra. Dña. *Antonio Fabián Guillén Arco*, Coordinador/a del Programa de Doctorado en Recursos y Tecnologías Agrarias, Agroambientales y Alimentarias (ReTosAAA) de la Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH)

**INFORMA:**

Que D. *Miguel Ángel Mira Urios* ha realizado bajo la supervisión de nuestro Programa de Doctorado el trabajo titulado “*Desarrollo y optimización de procesos de compostaje de alpechín para la obtención de productos fertilizantes*” conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmo para los efectos oportunos, en ..... a ..... de ..... de 2025

Prof. Dr. D. / Profa. Dra. Dña. *Antonio Fabián Guillén Arco*

Coordinador/a del Programa de Doctorado en Recursos y Tecnologías Agrarias, Agroambientales y Alimentarias





## FINANCIACIÓN:

Esta investigación se ha realizado en el marco del proyecto de investigación **OLIVE-RELIFE** (Ref. TED2021-129932B-C21) financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por la “Unión Europea NextGenerationEU/PRTR”.





## **Agradecimientos:**

Estas cosas siempre se me han dado mal. He reescrito esto tantas veces que las palabras perdieron el sentido. He cambiado partes, movido trozos y tratado de recordar a toda la gente que ha hecho posible, de una forma u otra, este trabajo. He tratado de hacer de esto algo muy personal, una forma de autoexpresión que no dejara nada en el tintero y tuviera en cuenta, una a una, a las personas a las que quería expresar mi más sincera gratitud. No quería sentir que dejaba a alguien fuera. Pero la realidad es que estas palabras no son para mí, son para vosotros. No necesitan citas bonitas ni referencias rebuscadas. No hace falta que cuenten una historia o demuestren una prosa que me haga sentir orgulloso. Solo necesitan llegaros.

Esta tesis existe gracias al aporte de mucha gente. A veces no fue solo trabajo, a veces fueron solo unas palabras, una conversación, algo de apoyo en los momentos más complicados o interés genuino en que el proyecto llegara a buen puerto. La realidad es que estoy aquí porque mucha gente ha creído en mí. Os lo agradezco a cada una de las personas del GIAAMA; me habéis aportado más de lo que creéis. Debo este momento, este logro y este reto a todo el equipo y Raúl por esta oportunidad que me ofreció. Sin la paciencia de Jose no habría terminado solo artículo; sin el apoyo de Encarni y Marisol, sobre todo cuando entré hace ya años al máster, no me habría sentido seguro en el laboratorio; y Javier Andreu se ha preocupado siempre de que las cosas saliesen bien. Y al final, si no hubiera sido por mis compañeros predoc, mis hermanas y hermanos en este viaje, no sé si habría soportado la presión y la incertidumbre. Siento que he estado rodeado de gente maravillosa e increíble. Jamás olvidaré el primer recibimiento de Silvia, las tertulias de media tarde con Lucía ni la energía e ímpetu de Cristina. No sé qué habría hecho sin las charlas y piques entre balanzas con Natalia, sin la perspectiva de Lucas durante las tardes más largas, sin las charlas sobre el futuro con Javier o sin la actitud de Cata. Y creo que no hace falta que diga lo importantes que han sido las horas de Gasera al sol con Emil (muchacha suerte, Chip). Por todo esto, y por hacerme sentir parte de este laboratorio, os lo agradezco profundamente.

Por descontado, Roma no se construyó en un día y una tesis lleva su tiempo. Ha sido una carrera de fondo y mi gente ha sido un apoyo fundamental para mí. Tengo mucha suerte de tener tan buenos amigos a mi lado y en especial a Laura, Josema, Luis, Ana, Alba, Jorge, Sayari, Herni y Carlos. Gracias por ser mi ancla de normalidad y darme el apoyo y espacio que necesitaba para sentirme bien, recuperar energías y ver las cosas desde fuera. Ha sido una ayuda increíble tener a alguien como Andy que me entendiera y me recordara que esto no es el final del viaje, y a Rosa, Jorge (Lara), Manu y Aarón que me recuerdan que el camino no es recto y todo es más ameno con buena compañía.

No me olvido de toda la gente que tengo en casa, que igual seguís sin terminar de saber de qué va esto, pero aprecio vuestro empeño. Gracias por intentar entender mi trabajo y buscar vuestra manera de apoyar por pequeña que sea. Gracias a vosotras, abuela, mamá, por vuestras llamadas inoportunas, la comida caliente los viernes y vuestra paciencia y comprensión infinita. Os lo debo todo.

Por último, Maria, gracias por estar ahí a pesar de las tardanzas, los horarios raros y las tardes cansadas. Gracias por buscar siempre un hueco para mí, por tu comprensión y por pararme los pies cuando mi cabeza va más rápido que mi corazón. Gracias por celebrar conmigo las pequeñas victorias, que sabes lo mucho que me cuesta. Te quiero.



A mi madre y mi abuela



El paso más importante que alguien puede dar. No es el primero, ¿verdad? Es el próximo.

Brandon Sanderson



## Resumen:

El desarrollo global y el creciente requerimiento en producción han llevado a la sociedad actual a demandar nuevos modelos de gestión de recursos que permitan reutilizar materiales dentro del sistema. La aplicación de estos modelos de economía circular al sector agrícola consiste en la recirculación de los nutrientes de los subproductos y desechos de la actividad agrícola y la industria agroalimentaria de vuelta a los suelos de cultivo. El tamaño e importancia del sector oleícola español conllevan la necesidad de ajustar estos modelos de economía circular a sus actividades, empezando por la gestión de sus residuos de mayor impacto y problemática. En concreto, el alpechín supone un problema de gestión y, desde hace décadas, el método de gestión más comúnmente usado ha sido su almacenaje en balsas de secado, el cual se ha mostrado como un método de gestión ineficaz, ya que no consigue reducir el volumen del residuo y además, estas balsas suponen un potencial foco de contaminación ambiental. Aunque con los años se han planteado diversas estrategias de gestión para este material, la heterogeneidad, producción descentralizada y recalcitrancia de sus compuestos han llevado a la propuesta de técnicas de bajo coste y aplicación sencilla como el compostaje. A causa de la naturaleza fitotóxica y antimicrobiana de los alpechines, debida principalmente a su alto contenido en compuestos fenólicos, los sistemas de compostaje han de adaptarse a este reto para poder acondicionar el residuo y hacer un uso agronómicamente sostenible del mismo. Un método de tratamiento optimizado y ambientalmente seguro permitiría aprovechar el alpechín como una fuente de nutrientes, en especial potasio y materia orgánica para la restauración de suelos. De esta forma, se han planteado técnicas avanzadas como la bioaumentación de las pilas con microorganismos resistentes a los compuestos antimicrobianos del alpechín y capaces de degradar las sustancias más recalcitrantes.

En este contexto, se plantea el objetivo principal de esta tesis, que ha sido el desarrollo y validación de procesos biotecnológicos basados en compostaje avanzado para la gestión y el tratamiento de alpechín de balsas abandonadas, teniendo en cuenta el valor agronómico del producto y tratando de mitigar el impacto ambiental de los gases de efecto invernadero (GEI) producidos, utilizando diversos enfoques en la optimización del proceso como son la aplicación de aditivos como el Biochar, el uso de técnicas de manejo alternativas y el uso de consorcios microbianos.

Para llevarlo a cabo, se realizó un ensayo de compostaje en pilas con un 50% en peso fresco de alpechín mezclado con distintas fuentes de nitrógeno y carbono. A su vez, dichas pilas se aditaron con Biochar y aditivos Bio-minerales y aplicó un sistema de cubiertas geotextiles con el objetivo de mitigar las emisiones de GEI. El alpechín causó problemas al inicio del proceso de compostaje, ya que las pilas tardaron en aumentar de temperatura, pero el compost resultante tuvo menor contenido en compuestos fitotóxicos de los que se observaban en el material original. Aun así, no se mitigaron todos los problemas del material. Se llevó a cabo un segundo ensayo de compostaje, con dos concentraciones distintas de alpechín, 30% y

50%, y utilizando las fuentes de nitrógeno y carbono más efectivas del primer ensayo, estiércol vacuno y poda de viña. Estas pilas fueron aditivadas con Biochar, inoculadas con un consorcio microbiano aportado por la Universidad de Almería y tratadas con una combinación de ambas técnicas. El resultado mostró que los microorganismos causaron el aumento de la nitrificación y de las temperaturas de las pilas, mientras que el Biochar redujo las emisiones GEI. Por último, los compost fueron validados en un ensayo de macetas de lechuga bajo condiciones controladas y se evaluó la fitotoxicidad en un ensayo con maíz. Los compost mostraron validez como enmiendas orgánicas, no mostraron efectos fitotóxicos y se comportaron como otros fertilizantes orgánicos similares. Las características del suelo mejoraron, incrementando el stock de carbono, y el ensayo en maíz mostró efectos fitoestimulantes en proporciones al 30% en sustrato.



**Abstract:**

The global development and increasing demands in production have led the modern society to demand new resource management models that enable the recirculation of materials within the system. The application of these new circular economy models in the agronomic sector consists in the recirculation of nutrients from by-products and waste derived from agricultural and agro-industrial activities back into cultivated soils. The size and relevance of the Spanish olive oil industry require the adaptation of circular economy models to manage its most environmentally harmful and problematic wastes. Specifically, the olive mill wastewater sludge (OMW) presents several management problems. For decades, the most widely used method has been accumulation in drying ponds, which has been proved ineffective, as it is not able to reduce the waste volume and the ponds themselves are a potential source of environmental pollution. Although several management strategies have been proposed over the years, the heterogeneity of the materials, their decentralized production, and the recalcitrancy of their compounds have led to low-cost, easy-to-apply proposals such as composting. Due to the phytotoxic and antimicrobial nature of OMW, mainly caused by its high phenolic content, composting systems require adaptation to address this challenge and be able to treat this waste and make an agronomically sustainable use of it. An optimized and environmentally safe treatment method may allow the use of OMW as a nutrient source, especially potassium and organic matter for soil restoration. Accordingly, several advanced techniques have been proposed, such as the bioaugmentation of composting piles with microorganisms resistant to OMW's antimicrobial compounds, which may also be capable of decomposing the most recalcitrant substances. In this context, the main objective of this thesis is proposed: developing and validating advanced compost-based biotechnological processes for the management and treatment of OMW from abandoned drying ponds, considering the agronomic value of the product and trying to mitigate the environmental impact of greenhouse gases (GHG) emitted, proposing several alternatives to optimize the process, such as the use of additives like Biochar, different handling techniques, or the use of microbial consortia.

To achieve this goal, a composting experiment was carried out, with piles composed of 50% OMW (fresh weight) mixed with different sources of nitrogen and carbon. Additionally, Biochar and Bio-mineral additives were applied to the piles and a system of geotextile covers was used in order to reduce GHG emissions. OMW caused some issues at the beginning of the composting process, as the piles struggled to raise their heat, but the resulting compost had a lower content of phytotoxic compounds compared with the source material. However, not all issues of the source material were mitigated. A second composting experiment was carried out, using two different concentrations of OMW, 30% and 50%, and the most effective nitrogen and carbon sources from the first experiment, cattle manure and grapevine pruning. The piles were treated with a Biochar addition, the inoculation of a microbial consortium from the University of Almería, and a combination of both techniques. The results showed that the microorganisms enhanced nitrification and increased temperature in the piles, and Biochar reduced GHG

emissions. Lastly, the composts were tested in a pot experiment using lettuce under controlled conditions, and their phytotoxicity was evaluated in a test using maize. The results indicated that the composts can be used as organic amends, showed no phytotoxic effects, and performed similarly to other organic fertilizers. Soil characteristics improved, as the composts increased their carbon stock, and the maize test showed phytostimulant effects when applied in the substrate in proportions below 30%.



# ÍNDICE

1.	Introducción .....	1
1.1.	Economía circular .....	1
1.1.1.	Flujos residuales y oportunidades.....	1
1.1.2.	Normativa europea.....	2
1.1.3.	Recuperación de nutrientes y materia orgánica.....	3
1.1.4.	Agricultura sostenible.....	4
1.2.	Sector oleícola .....	5
1.2.1.	Dimensión del sector y oportunidades de economía circular.....	5
1.2.2.	Flujos residuales generados .....	6
1.3.	Alpechines.....	8
1.3.1.	Producción .....	9
1.3.2.	Composición.....	10
1.3.3.	Gestión.....	11
1.4.	Compostaje .....	13
1.4.1.	Definición y fases del compostaje.....	13
1.4.2.	Seguimiento del proceso de compostaje .....	15
1.4.3.	Calidad del compost.....	16
1.5.	Bioaumentación .....	19
1.5.1.	Microbioma del compostaje.....	19
1.5.2.	Usos biotecnológicos de microbioma orientados a residuos oleícolas .....	20
1.6.	Biofertilizantes derivados de la industria oleícola .....	20
1.6.1.	Compostaje de alperujos.....	21
1.6.2.	Compostaje de alpechines: factores limitantes .....	22
2.	Objetivos.....	25
3.	Resumen de Materiales y Métodos .....	29
4.	Resumen de Resultados y Discusión.....	39
5.	Conclusiones.....	63
6.	Perspectivas de Futuro.....	67
7.	Referencias .....	71
8.	Anexos.....	91
8.1.	Publicación 1: Composting of Olive Mill Wastewater Sludge Using a Combination of Multiple Strategies: Assessment of Improvement in Biodegradability, GHG Emissions, and Characteristics of the End Product. 2025.....	93
8.2.	Publicación 2: Combined effect of assisted Bioaugmentation and Biochar incorporation on Olive Mill Wastewater sludge composting. 2025.....	127
8.3.	Publicación 3: Agronomic assessment of olive mill wastewater sludge derived composts on <i>Lactuca sativa</i> and <i>Zea mays</i> : fertilizing efficiency and potential toxic effect on seed germination and seedling growth.2025. ....	153



# 1. INTRODUCCIÓN





## 1.1. Economía circular

Durante las últimas décadas, la sostenibilidad ambiental ha sido una preocupación social creciente, demandando nuevos modelos económicos más conscientes de las necesidades ambientales.

Contraria al concepto de economía lineal, basado en el consumo de recursos, producción y desecho del producto usado, nace la economía circular, que toma conceptos como los ciclos cerrados de suministros, la ecología industrial, la eficiencia de recursos y la sostenibilidad y los integra en un sistema holístico (Geisendorf y Pietrulla, 2018). El Parlamento de la Unión Europea define la economía circular como “un modelo de producción y consumo que implica compartir, alquilar, reutilizar, reparar, renovar y reciclar materiales y productos existentes todas las veces que sea posible para crear un valor añadido, de forma que el ciclo de vida de los productos se extienda” (Parlamento Europeo, 2023). Más cercano a una definición holística, Geisendorf y Pietrulla (2018) definen la economía circular como un sistema en el cual el valor de los productos y los materiales se mantiene, el residuo se evita y los recursos se conservan dentro del sistema económico cuando el producto llega al final de su ciclo de vida.

A nivel social, la economía circular requiere cambios en la forma de pensar y los sistemas de organización apoyados por cambios educativos y de sensibilidad. Los esfuerzos legislativos que se han aplicado han demostrado tener una influencia significativa sobre la adopción de este sistema en organizaciones y a nivel económico (Mies y Gold, 2021).

### 1.1.1. Flujos residuales y oportunidades

Los residuos pueden definirse según su procedencia, ya sean urbanos, si proceden de actividades diarias propias de las ciudades y pueblos, incluyendo negocios, vivienda y servicios públicos como gestión de parques y jardines; industriales, en caso de proceder de actividades industriales varias ya sean químicos, metales, subproductos o similares; sanitarios, si proceden de hospitales, clínicas y centros de salud; mineros, si proceden de actividades de extracción y procesamiento de minerales; agrícolas, provenientes de actividades del sector agrario y ganadero, como restos de podas, purines y estiércoles; y restos de la industria de la construcción, como escombros y otros materiales.

A su vez, estos residuos se pueden clasificar como biodegradables o no biodegradables, siendo los biodegradables el principal foco de este trabajo.

En un sistema de economía circular, los residuos de un proceso se contemplan como materias primas para otros sistemas o el mismo. Por ejemplo, la industria farmacéutica obtiene materiales a partir de los flujos residuales de otras industrias como la química o la agroindustrial. Estos residuos se convierten en recursos mediante sistemas de gestión que permitan mitigar o eliminar sus características más problemáticas, ya causen dificultades para la gestión o impidan

su uso por cualquier motivo. De este modo, el concepto de subproducto aparece como alternativa al concepto de residuo, de modo que es un producto de menor valor que se obtiene durante un proceso industrial que tiene como finalidad otro producto, el principal.

A nivel global, la búsqueda de residuos y su recolección para su uso como recursos secundarios ha demostrado el potencial para convertirse en un negocio multimillonario. Las estimaciones ponen la industria del reciclaje global en valores cercanos a los 500 mil millones de dólares anuales, con más puestos de empleo potenciales que cualquier otro sector excluyendo la agricultura (Gregson y Crang, 2015). Esto demuestra gran potencial económico a nivel local, pudiendo convertirse en una fuente muy lucrativa de ingresos que a su vez permita la optimización holística de los recursos en distintos sectores industriales.

### 1.1.2. Normativa europea

La Unión Europea promulga la Directiva 2008/98/CE el 19 de noviembre de 2008 con el objetivo de crear un marco legislativo para la manipulación de residuos, derogando Directivas anteriores. La Directiva 2006/12/CE del Parlamento Europeo y del Consejo definió conceptos clave como “residuos”, “valorización” o “eliminación” y estableció los requisitos para la gestión de residuos y la obligación de las entidades y empresas que gestionen residuos a estar registradas, la obligación de los Estados a tener un plan de gestión de residuos, y principios como la manipulación de residuos de manera que no cause impacto negativo ambiental o a la salud, la jerarquía de residuos y la conformidad del principio “quien contamina paga”, que se refiere a que los costes de la eliminación de residuos o mitigación de impacto recaen sobre el poseedor de los residuos, el anterior poseedor o el primer productor. La Directiva 2008/98/CE, en el artículo 22, establece que los Estados miembro deberán adoptar medidas para impulsar la recogida separada de biorresiduos con vistas al compostaje y la digestión, tratar los biorresiduos de manera que se alcance alto grado de protección del medio ambiente y se utilicen los materiales ambientalmente seguros que se obtengan a partir de dichos biorresiduos.

En España, la ley 7/2022, de 8 de abril, de residuos y suelos contaminados para una economía circular tiene como objeto regular el régimen jurídico aplicable a la puesta en el mercado de productos en relación con el impacto en la gestión de sus residuos, así como el régimen jurídico de prevención, producción y gestión de residuos, incluyendo el establecimiento de instrumentos económicos aplicables en este ámbito, y el régimen jurídico aplicable a los suelos contaminados. También tiene por finalidad la prevención y la reducción de la generación de residuos y de los impactos adversos de su generación y gestión, reducción del impacto global del uso de recursos y la mejora de la eficiencia de dicho uso para proteger el medio ambiente, la salud humana y efectuar la transición a una economía circular y baja en carbono con modelos empresariales sostenibles que garanticen el funcionamiento eficiente del mercado interior y la competitividad de España a largo plazo.

Bajo este marco legal, la economía circular se desarrolla dentro de las limitaciones y bajo las exigencias impuestas legalmente, de modo que todas las actuaciones que tengan que ver con la recirculación de nutrientes, reutilización de materias primas y reaprovechamiento de recursos necesitan ajustarse a los parámetros mencionados.

En el caso del compost, una estrategia de recirculación de nutrientes para el sector agrario, el Real Decreto 506/2013 establece límites claros en los materiales compostados que se pueden comercializar, qué es y qué no es un fertilizante orgánico, las limitaciones de uso establecidas y las normas de etiquetado.

### 1.1.3. Recuperación de nutrientes y materia orgánica

La productividad en la industria agrícola ha aumentado a lo largo de los años mediante el uso de fertilizantes de procedencia mineral, aumentando la demanda global de nitrógeno, fósforo y potasio (FAO, 2019). Los nutrientes extraídos de los suelos en los sistemas agrícolas se expresan en forma de productos vegetales, de los cuales un porcentaje no se observa como producción directa ya que acaba en las partes no productivas de las plantas. El sistema agroindustrial utiliza los materiales obtenidos para la producción de otros bienes de consumo, ya sean para alimentación humana o animal, generando una fracción no aprovechable de forma inevitable. Así, pues, la reutilización de los nutrientes presentes en estas fracciones no aprovechables se lleva a cabo mediante distintas formas de fertilización orgánica y estrategias de valorización de residuos que permiten la recirculación de los nutrientes de vuelta al suelo.

Los fertilizantes orgánicos han mejorado la sostenibilidad de la agricultura reduciendo el uso de recursos no renovables (Y. Wang y col., 2018). Estos fertilizantes orgánicos se producen a partir de residuos de la industria ganadera, agroalimentaria y agrícola y se convierten en recursos para la industria agrícola tras una transformación que se puede llevar a cabo mediante diferentes tecnologías. Una de estas tecnologías, el compostaje, permite la recirculación de nutrientes tales como nitrógeno, fósforo y potasio al suelo, optimizando el proceso de manera que se maximicen los nutrientes disponibles, aumentando la materia orgánica y mejorando la estructura de los suelos. Son sistemas de bajo coste y que pueden ser aumentados mediante diversas técnicas como la inoculación con microorganismos o Vermicompostaje dependiendo de los requerimientos y características de los materiales iniciales. A su vez, son un paso intermedio que permite la producción de otros recursos como el té de compost o fertilizantes combinados de distintas fuentes, dotando al sistema de gran versatilidad. A nivel ambiental, estas tecnologías reducen el impacto de los cultivos sobre los suelos. A su vez, al minimizar los residuos biodegradables de los sistemas agroindustriales al tiempo que se restaura la capacidad de secuestro de carbono de los suelos, disminuye la huella de carbono total del sistema (Diacono y col., 2019; Hermann y col., 2011; Kutos y col., 2023; Persiani y col., 2021).

### 1.1.4. Agricultura sostenible

Para alcanzar una agricultura sostenible se requiere un equilibrio entre la producción, la minimización del impacto ambiental. La combinación de métodos tradicionales de conservación junto a tecnologías modernas puede reducir la dependencia de los productores agrarios en químicos externos que pueden ser peligrosos, beneficiando al medio y financieramente a los actores (Reganold y col., 1990).

Debido al necesario aumento de producción, las técnicas de producción deben modernizarse y optimizarse mediante nuevas tecnologías. Para poder alcanzar la sostenibilidad en el sector agroalimentario es esencial reducir la dependencia en los fertilizantes químicos. El uso de sistemas microbiológicos como biofertilizantes se ha considerado como una alternativa, ya que se han observado ciertos microorganismos como bacterias, cianobacterias y ciertos hongos que promueven el desarrollo vegetal de un modo similar a una sustancia fertilizante al tiempo que ayudan a prevenir la aparición de diferentes patógenos de plantas (Mahanty y col., 2016). Las estrategias en las que se utilizan estos microorganismos normalmente incluyen fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fósforo y potasio, rizobacterias que promueven el crecimiento y hongos ecto y endo micorrízicos; todos ellos organismos que forman parte en los ecosistemas del suelo. De este modo, los biofertilizantes fomentan la producción al tiempo que fomentan un ecosistema saludable (Itelima y col., 2018).

El uso de compost como fertilizante promueve la aparición de rizobacterias y aporta beneficios similares a los discutidos previamente en los biofertilizantes mediante mecanismos que involucran a los mismos tipos de microorganismos, al tiempo que aportan una fertilización orgánica de NPK (Yu y col., 2019).

La aplicación directa de microorganismos requiere producción avanzada y tecnologías de almacenamiento y aplicación. Además, la aplicación no muestra resultados rápidos y pueden ser afectados por patógenos oportunistas. Por otro lado, la aplicación de compost puede aportar, además de la presencia de estos microorganismos, mejoras en las características físicas y químicas del suelo, así como facilitar la proliferación de los microorganismos de los biofertilizantes gracias a las mejoras en la fertilidad biológica. Estos efectos dependen en gran medida del origen del compost, sus materiales y las condiciones del proceso de producción. A su vez, también se acarrearán otros problemas en la gestión como la necesidad de volúmenes grandes de compost, la producción de lixiviados o la potencial producción de amoníaco. Estas técnicas, combinadas, pueden ayudar a minimizar sus problemas individuales y reciclar los materiales orgánicos dentro del propio sistema (Seneviratne y col., 2011).

## 1.2. Sector oleícola

El aceite de oliva es un producto agroindustrial clave en muchos países del Mediterráneo, suponiendo cerca del 90% de la producción mundial (Galliou y col., 2018). Como líder en producción de aceite de oliva, España alberga 2.827.147 ha de olivares (MAPA, 2024). Su producción depende fuertemente de la estacionalidad del cultivo de oliva y su distribución territorial está vinculada a la presencia de almazaras, que suelen ser propiedad de consorcios o privadas en el caso de las fincas productoras más grandes.

El sector es el responsable no solo de una de las principales exportaciones de España, sino también de proveer uno de los ingredientes más importantes en la dieta mediterránea, causando que esté fuertemente vinculado a nivel social y político con la cultura española. En lo que respecta a la producción, la mayor parte de la problemática ambiental proviene de los cultivos y la dificultad de recircular los materiales de vuelta al campo. La recirculación puede tener impacto sobre el suelo, el agua y el aire debido a las características de los residuos y subproductos de la industria oleícola. El uso de la maquinaria consume importantes recursos energéticos y causa severas emisiones. Además, los residuos producidos por la industria oleícola, unidos a su elevado consumo en agua para la extracción, conllevan una problemática ambiental significativa (Bañas y col., 2017).

### 1.2.1. Dimensión del sector y oportunidades de economía circular

España lidera a nivel mundial en producción de aceite de oliva (Figura 1), superficie de cultivo y comercio exterior, suponiendo el 70% de la producción de la Unión Europea y el 45% de la mundial. La mayor región productora es Andalucía, con 1,67 millones de ha, concentradas fundamentalmente en Jaén (MAPA, 2025a). La producción del cultivo de olivar se caracteriza por su carácter vecero (alternancia entre una campaña de gran producción y otra de baja producción), suponiendo cambios bruscos en la generación de residuos.

La comercialización de aceite de oliva español supone en torno al 65% de la comercialización mundial, siendo el tercer producto agroalimentario más exportado del país, suponiendo 273.172 toneladas en la campaña 2024/2025 (MAPA, 2025b). Su producción se centra principalmente en Andalucía, con un 80% del total nacional, que en el caso de Jaén supone el 37% del total nacional (Vidal Giménez y col., 2025).

La producción de aceite de oliva se realiza actualmente mediante sistemas de extracción de dos fases, que consisten en un lavado en frío con una posterior molienda y batido, que continúa con una centrifugación en un decantador de dos fases del cual se extrae alperujo en una proporción de aproximadamente el 80% del peso de la materia prima y una fracción de aceite

que se lava con agua y extrae un 20% del peso de la materia prima en forma de aceite de oliva, así como agua de lavado. Sin embargo, hasta 2005 todavía hay registros del uso del obsoleto sistema de tres fases. En el sistema de tres fases, tras el lavado inicial, la molienda y el batido, la centrifugación se realiza en un decantador de tres fases del cual se obtiene orujo (55% del peso de la materia prima), y la fracción útil se lava para obtener la fracción de aceite, produciendo como residuo adicional el alpechín (Roig y col., 2006).

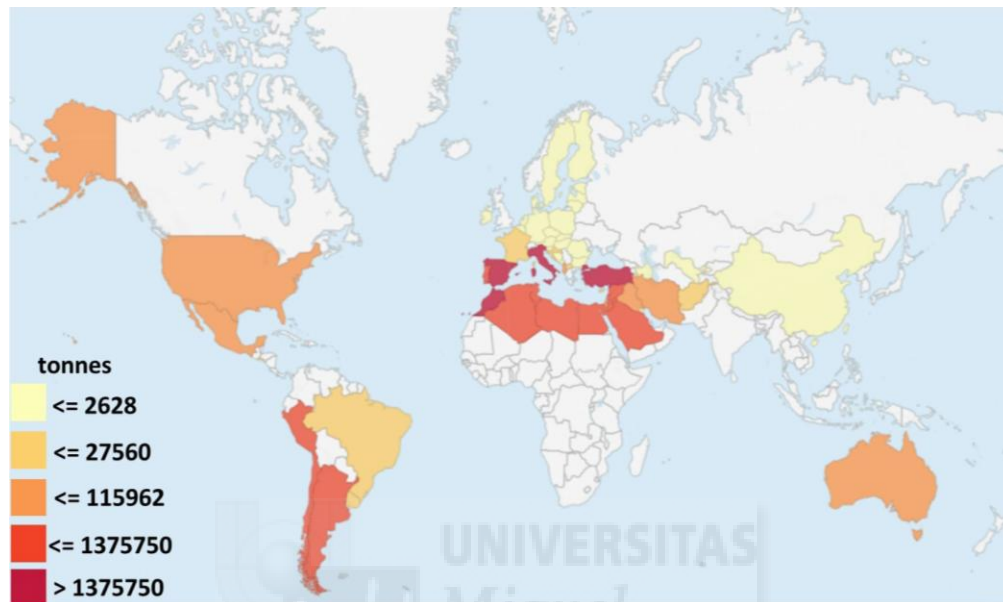


Figura 1. Producción de aceituna en toneladas a nivel mundial en 2020 (Cardoni y Mercado-Blanco, 2023).

## 1.2.2. Flujos residuales generados

El volumen de material generado por la industria oleícola depende en gran medida de las cantidades de aceite que se producen en la almazara anualmente. Además, debido a la estacionalidad de la producción de aceituna, la cual se denomina “vecera” porque su producción varía fuertemente, con años “buenos” y años “malos”, el flujo de producción de los residuos no es constante, lo que conlleva su almacenamiento entre temporadas (Figura 2).

Dependiendo del sistema de extracción utilizado, los residuos generados varían. El sistema de extracción en tres fases genera tres fracciones al final del proceso: una sólida, el orujo; y dos líquidas, alpechín y aceite. La extracción en dos fases genera tan solo dos fases: un residuo seco, alperujo; y un producto líquido, aceite; además de un agua de lavado (Tabla 1). A partir de los datos del ESYRCE, se estima que la producción media en España de sólidos en residuos derivados del aceite de oliva es de 4.004,2 miles de toneladas anuales. Uno de los residuos generados por cualquiera de los métodos es la hojuela, principalmente durante la fase de recolección y las podas. Se estima que los restos de hojuela durante la cosecha se encuentran

entre el 25% del peso seco, con estimaciones de recolección en España de ~750.000 toneladas anuales (Manzanares y col., 2017). La composición de este tipo de residuos se puede dividir a grandes rasgos entre lignocelulósicos y extractos de hoja de olivo. Estos últimos se pueden revalorizar para usos farmacéuticos y alimentarios, mientras que los lignocelulósicos se gestionan, debido a su gran volumen de producción, mediante combustión, gasificación, o pirólisis; tratamientos bioquímicos, como el compostaje, la digestión anaerobia o la producción de bioetanol; métodos de secado; métodos de extracción; y otros métodos que permitan condensar sus componentes activos en formas de extractos de hoja (Espeso y col., 2021).

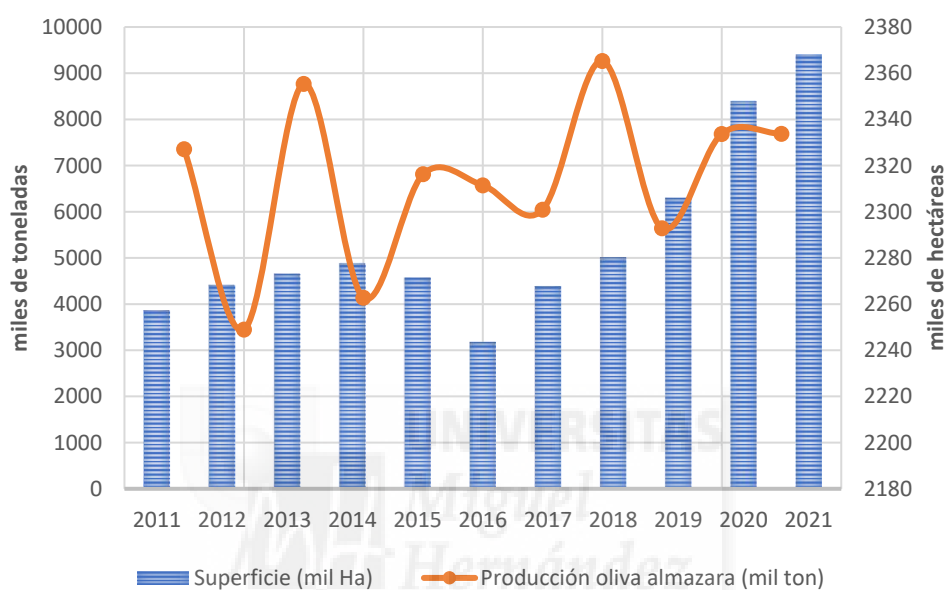


Figura 2. Evolución de la producción de oliva para almazara y superficie productiva. Fuente: elaboración propia a partir de los datos de la Encuesta Sobre Superficies y Rendimientos de Cultivos (MAPA, 2024).

La gestión del alpechín se ha realizado tradicionalmente mediante balsas de secado o mediante métodos ilegales como desecharlos en campos o cerca de ríos, lo cual ha supuesto problemas ambientales severos debido a la fitotoxicidad del residuo y a su alta carga de materia orgánica. Debido a que este material, al igual que el alperujo, no puede convertirse fácilmente en un producto utilizable, se han planteado diferentes métodos para su gestión. En el caso del alperujo, los residuos más sólidos se pueden utilizar como combustible debido a sus altos valor calorífico, contenido orgánico, bajo contenido en azufre y alta densidad. Las estrategias de peletización se plantean para aumentar la densidad, al igual que la carbonización hidrotermal. En cualquiera de los dos materiales, el compostaje aparece como una alternativa de bajo impacto y que cubre un amplio rango de escenarios posibles (Duman y col., 2020).

Tabla 1. Flujos aproximados de entrada y salida en procesos de extracción de aceite de oliva (Azbar y col., 2004; Caputo y col., 2003).

Proceso productivo	Material de entrada	Flujo de entrada	Salida	Flujo de salida (kg)
Sistema tradicional (Prensado)	Oliva	1 t	Aceite	~200
	Agua	0,1 - 0,12 m <sup>3</sup>	Orujo	~400
			Agua residual	~600
Sistema de tres fases	Oliva	1 t	Aceite	200
	Agua	~1 m <sup>3</sup>	Orujo	500-600
			Alpechín	1000 - 1200
Sistema de dos fases	Oliva	1 t	Aceite	200
	Agua	0,1 - 0,12 m <sup>3</sup>	Alperujo	800 - 950

Aunque una de las estrategias mayoritarias para la gestión de este tipo de residuos es el compostaje, algunos residuos como el alpechín conllevan una serie de problemas de gestión, dificultan el proceso y causan cambios negativos en el material final. Aunque su alta concentración en nutrientes (especialmente potasio) plantea potencial como fertilizante, su contenido salino, su pH y su carga en compuestos fenólicos y fitotóxicos plantean dificultades para el compostaje. La consistencia de algunos de los residuos, como el alpechín o el alperujo, requiere grandes cantidades de estructurante para regular la humedad; mientras que otros materiales como la hojuela tienen contenidos lignocelulósicos altos que plantean su uso como estructurante (Arvanitoyannis y Kassaveti, 2007).

### 1.3. Alpechines

El alpechín es producto de la extracción del aceite en las almazaras de tres fases que presenta grandes problemas de gestión y de impacto ambiental. El alpechín es alto en materia orgánica y compuestos fitotóxicos como los compuestos fenólicos tiene un olor intenso y puede causar un severo impacto sobre el suelo y el agua si no se maneja de forma correcta (Babić y col., 2019).

Este residuo se ha gestionado tradicionalmente mediante balsas de secado, en las que permanece durante periodos de años en los cuales no siempre se alcanza un estado aceptable del material. Este método supone grandes emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) debido a la duración del tratamiento y su lenta degradación (Alkhalidi y col., 2023). De este modo, los métodos de gestión tradicionales se muestran insuficientes e insostenibles, mostrando una demanda por nuevas soluciones innovadoras capaces de gestionar el alpechín.

### 1.3.1. Producción

Los alpechines se producen en las almazaras de sistema de tres fases que, a diferencia de los sistemas de dos fases, producen un aceite de menor calidad y separa el aceite del agua de la planta y combina este último con el agua del proceso produciendo grandes cantidades de alpechín y de residuos sólidos, siendo estos algunos de los motivos para el cambio generalizado a las almazaras de dos fases (Figura 3) (Cayuela y col., 2007).

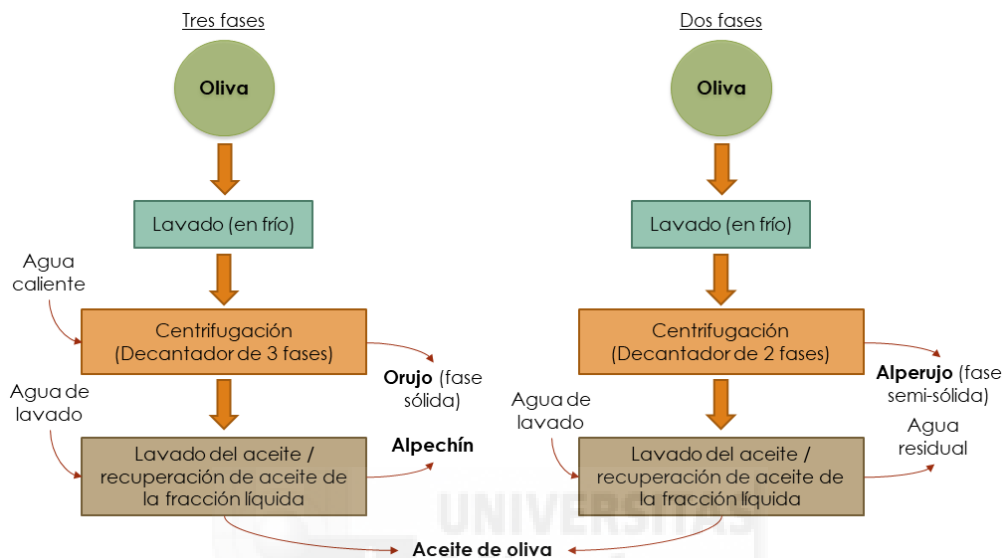


Figura 3. Sistemas de extracción continuos de dos fases y tres fases. Figura adaptada de Albuquerque y col. (2004).

En España, esta problemática comienza con la introducción de las almazaras de tres fases en la década de 1970, causando grandes problemas de contaminación de aguas superficiales. En 1981 se adoptaron medidas legales que prohibieron el vertido de alpechines en los ríos y causó la construcción de más de 1.000 balsas de secado con el objetivo de desecar el residuo (Kapellakis y col., 2008). Posteriormente, en la década de 1990 se produce el cambio del sistema de tres fases al de dos fases, finalizando la producción de alpechín en más del 90% de las almazaras (Doula y col., 2017). El alpechín actualmente presente en la península procede de la acumulación de residuos en balsas de secado durante los años de mayor producción.

Se estima que aproximadamente el 90% del volumen de aceitunas total procesado por almazaras de tres fases se convierte en alpechín (Enaime y col., 2020). En las últimas décadas previas a los 2000 se convirtió en un problema de contaminación y degradación ambiental debido a la industrialización de la agricultura, con el subsecuente aumento en la producción de aceite de oliva; el lento cambio al uso de las tecnologías de almazara de dos fases; la distribución y dispersión de las almazaras por el territorio, que expandió el número y distribución de las fuentes

de contaminación; y la falta de implicación y exclusión del personal de las almazaras en la toma de decisiones políticas y sociales.

La naturaleza y complejidad del material es muy variable, con múltiples propuestas de métodos de tratamiento en la bibliografía, todas ellas tratando de ajustarse a los materiales de la zona (Kapellakis y col., 2006).

### 1.3.2. Composición

El alpechín consiste en una sustancia espesa y lodosa que contiene altas concentraciones de compuestos recalcitrantes como ligninas y taninos que le confieren su característico color oscuro, así como compuestos fenólicos y ácidos grasos de cadena larga que son tóxicos para los microorganismos y las plantas. Estos compuestos fenólicos pueden ser fenoles simples y flavonoides o polifenoles resultantes de la polimerización de fenoles simples. La concentración de los compuestos fenólicos varía entre 0.5 hasta 24 g L<sup>-1</sup> (Paraskeva y Diamadopoulos, 2006). El alpechín es moderadamente ácido y tiene alta conductividad. Sus características varían ampliamente dependiendo de la zona en la que se produce, la variedad de la aceituna extraída y el tiempo de almacenado (Tabla 2). Aparte de los azúcares, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos, el alpechín contiene grandes cantidades de recursos minerales, especialmente potasio, confiriéndole un potencial fertilizante en caso de poder lidiar con sus problemas más marcados. Aunque contiene grandes cantidades de proteínas y grasas, sus componentes principales son la celulosa, la hemicelulosa y la lignina (Dermeche y col., 2013).

El principal problema que se encuentra en la composición química de los alpechines es el contenido en sustancias fenólicas. Los compuestos fenólicos consisten en sustancias orgánicas que contienen anillos aromáticos, grupos hidroxilos y cadenas funcionales. Se pueden encontrar desde moléculas simples, como los ácidos fenólicos, hasta compuestos muy polimerizados, como los taninos. Son compuestos que suelen encontrarse unidos a azúcares, ácidos orgánicos y lípidos, pero pueden encontrarse unidos a otros fenoles mediante los grupos hidroxilos o los carbonos aromáticos (Bravo, 2009). Las principales familias de este tipo de compuestos que se encuentran en los alpechines son los ácidos fenólicos, secoiridoides y flavonoides (Dermeche y col., 2013).

La elevada carga orgánica, en combinación de las características anteriores y una elevada demanda química y biológica de oxígeno contribuyen a que el alpechín sea capaz de causar severos daños ambientales si no se trata correctamente (Dermeche y col., 2013). Esto es debido a la lenta degradación de los lípidos y fenoles de su composición que, a pesar de ser en gran parte orgánica, no se degrada con facilidad. Constituye un riesgo para la vida acuática ya que tiene una carga orgánica 10 veces superior a la presente en el agua residual municipal, suponiendo cambios severos en el ecosistema y eutrofización. Los fuertes olores que emite se deben al proceso de fermentación que se da a cabo al almacenarlos en balsas o tanques

abiertos, provocando la emisión de gases como el metano y otros compuestos olorosos que pueden viajar a grandes distancias. Debido al aceite residual que contiene, el alpechín forma barreras impermeables sobre la superficie del agua. Además, su oxidación provoca la liberación de taninos y su polimerización, lo que puede cambiar el color de las aguas en contacto. Estas características se suman a su toxicidad inherente al resto de sus propiedades químicas (Kapellakis y col., 2008).

Tabla 2. Características y composición del alpechín (Dermeche y col., 2013; Paredes y col., 1999).

Parámetros	Rango de valores
Materia seca (%)	4.12 - 16.38
pH	2.24 - 6.71
Conductividad eléctrica (dS/m)	4.00 - 13.98
Carbono total (%)	2.0 - 3.3
Materia orgánica (% p.s.)	57.2 - 70.63
Carbono orgánico total (g/L)	20.19 - 39.8
Materia mineral (%)	0.4 - 7.2
Nitrógeno total (%)	0.58 - 1.13
P (%)	0.06 - 0.032
K (%)	0.44 - 6.94
Na (%)	0.04 - 0.48
Ca (%)	0.32 - 1.15
Mg (%)	0.06 - 0.22
Fe (mg/kg)	652 - 1482
Cu (mg/kg)	14 - 44
Mn (mg/kg)	1 - 53
Zn (mg/kg)	31 - 82
Lípidos (%)	0.03 - 11.37
Fenoles totales (%)	0.63 - 5.45
Azúcares totales (%)	1.5 - 32.91
DQO (g/L)	30 - 320
DBO (g/L)	10 - 132

### 1.3.3. Gestión

La gestión tradicional del alpechín se ha llevado a cabo mediante el secado en balsas al aire libre, suponiendo problemas de impacto ambiental tales como percolación por mala impermeabilización, emisiones de GEI e impactos sobre la fauna y flora al ser las balsas un peligro letal para animales terrestres y su alta concentración en compuestos fenólicos inhibe el crecimiento vegetal. Muchos productores, para abaratar costes, construyen tanques o pequeñas balsas de cemento en las que almacenar el alpechín. Estos sistemas son ineficientes para gestionar grandes cantidades de material, lo que lleva a la creación de las mencionadas balsas de secado de alpechín, con los subsiguientes problemas de impermeabilización, riesgos de

filtración y olores (Figura 4). Estas balsas, a su vez, pueden encontrarse a grandes distancias de la zona de producción y son difícilmente considerables como una opción óptima (Kapellakis y col., 2006).



Figura 4. Balsa de alpechines abandonada en Beneixama, Alicante. Fuente: elaboración propia.

La necesidad de gestión de estos residuos acumulados lleva a la búsqueda de nuevos sistemas de tratamiento capaces de lidiar con sus principales retos. Para ello, se plantean escenarios centralizados que permitan la gestión integrada de grandes volúmenes de este tipo de residuo, facilitando la gestión a gran escala mediante otras tecnologías. Este planteamiento no está exento de desventajas, ya que requieren costes de construcción elevados, personal específico y sistemas de organización de alto coste. Debido a esto, se barajan alternativas de gestión in situ que abaraten costes y faciliten la implementación (Kapellakis y col., 2006).

Todos los métodos de gestión del alpechín planteados como alternativas a las balsas de secado tienen ventajas y desventajas, de entre los cuales Doula y col. (2017) destaca los siguientes:

- El **tratamiento biológico**: permite la reducción de la demanda de oxígeno de las muestras y permite la eliminación de los sólidos en suspensión. Se basa en tecnologías anaerobias que pueden producir biogás y servir como sistema de cogeneración. Sin embargo, requiere de un pretratamiento físico-químico, la presencia de sustancias antimicrobianas causa problemas en el desarrollo de los microorganismos necesarios y conlleva una inversión elevada.
- El **compostaje**: Los sistemas de co-compostaje han mostrado ser efectivos para la degradación de residuos recalcitrantes como el alperujo, probando su potencial para el tratamiento que podría utilizar el alpechín como un material de bajo coste para la producción de nutrientes de uso agronómico (Enaime y col., 2020; Galliou y col., 2018).

Sin embargo, requiere de la optimización de las mezclas y la reducción de la humedad total de la pila, ya que los alpechines tienen mucha humedad y poca consistencia.

- La **filtración por membrana**: sistemas de microfiltración, ultrafiltración y ósmosis inversa pueden ser útiles para extraer el agua y concentrar los sólidos para la incineración, pero debido a los costes de implementación y el requerimiento energético no es una alternativa viable para almazaras de pequeño tamaño.
- Los **tratamientos físico-químicos**: consistirían en la eliminación de la materia orgánica no biodegradable mediante adsorción, precipitación y floculación utilizando químicos y otros materiales tales como carbón activo, polielectrolitos o floculantes y coagulantes. Son de alta eficiencia, pero causan grandes cantidades de lodos que han de ser eliminados de otras formas posteriormente, trasladando el problema.
- La **evaporación forzada**: mediante un sistema multifase de evaporación con recirculación del calor se pueden tratar los materiales procedentes de la digestión aerobia u otros tratamientos. Conlleva un consumo de energía elevado y sistemas de control complejos que solo pueden ser llevado a cabo a nivel industrial a gran escala.

De entre estas técnicas, el compostaje demuestra tener gran viabilidad debido a sus bajos costes, fácil manejo y a que permite la recirculación de nutrientes de vuelta al sistema agroindustrial, optimizando el rendimiento del conjunto. Sin embargo, todo ello depende de la gestión previa de los alpechines, la búsqueda de materiales óptimos para el co-compostaje y una caracterización previa del alpechín que permita adecuar la mezcla a las necesidades del sistema.

## 1.4. Compostaje

### 1.4.1. Definición y fases del compostaje

El compostaje es un proceso bio-oxidativo bioquímico controlado mediante el cual los residuos orgánicos se descomponen por la acción de microorganismos en condiciones aerobias con una humedad y temperatura adecuadas, produciendo un material estable, higienizado y rico en nutrientes conocido como compost (Azim y col., 2018; Singh Antil y col., 2014). Es un proceso sostenible y ampliamente utilizado como sistema de gestión de residuos y la aplicación de compost se usa para la mejora de suelos agrícolas, ya que sus características y bajo coste de producción lo dotan de un valor agronómico importante (Waqas y col., 2023).

El compostaje es un proceso termófilo, capaz de alcanzar temperaturas de más de 70 °C. Se divide en cuatro fases definidas por sus temperaturas —mesófila, termófila enfriamiento y maduración— durante las cuales se produce una sucesión de comunidades microbianas de

hongos y bacterias que degradan y transforman los componentes de los materiales iniciales (Azim y col., 2018).

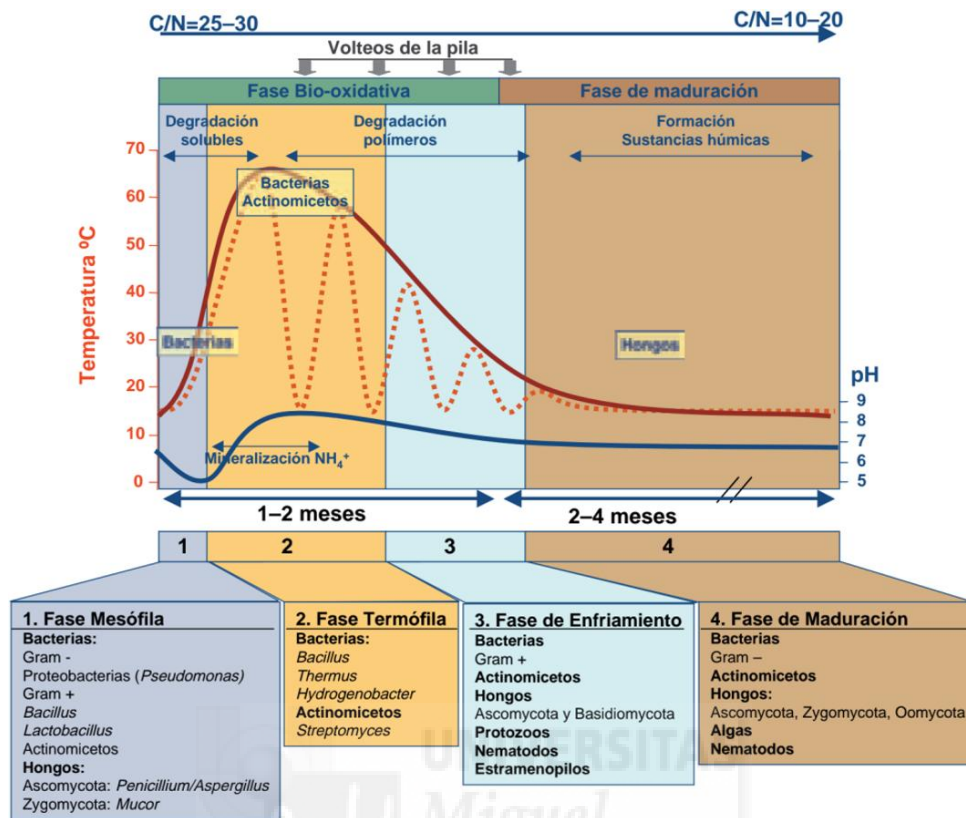


Figura 5. Fases del proceso de compostaje, sucesión microbológica y cambios en el pH y las características (Moreno Casco, 2008).

La fase mesófila inicial ocurre durante los primeros días y es un periodo de aclimatación y desarrollo microbiano en el cual la temperatura aumenta hasta 40 °C mientras los microorganismos descomponen los compuestos más sencillos y fáciles de degradar como los azúcares y las proteínas. En esta fase del proceso, actúan tanto bacterias como hongos mesófilos productores de ácidos orgánicos como *Lactobacillus* spp y *Acetobacter* spp (Partanen y col., 2010).

La fase termófila ocurre poco después debido a la intensa actividad biológica. En ella se alcanzan temperaturas de en torno a 70 °C y se produce una degradación rápida de la materia orgánica y formación de ácidos húmicos. Es debido a esta temperatura que se produce la higienización del compost. En esta fase, las bacterias gram positivas como *Bacillus* spp. y las actinobacterias dominan el microbioma y aparecen hongos que se encargan de la degradación de hemicelulosa (Partanen y col., 2010).

En la fase de enfriamiento o segunda mesófila la temperatura se reduce debido al agotamiento de la materia más biodegradable y disponible. Es en esta fase cuando se producen los polímeros más recalcitrantes y se produce un descenso en la temperatura hacia

la última fase. Esta fase se agrupa generalmente con las dos primeras como la fase bio-oxidativa y es el periodo en el que más se controlan los parámetros a nivel industrial, comprobando los indicadores de madurez para pasar cuanto antes a la fase siguiente.

La fase de maduración se produce cuando la temperatura se encuentra a menos de 10 °C por encima de la temperatura ambiente. Esta fase se puede alargar de 1 a 4 meses y es el periodo en el que se producen reacciones químicas que estabilizan y humifican la materia orgánica (Figura 5).

## 1.4.2. Seguimiento del proceso de compostaje

El seguimiento del proceso de compostaje consiste en la monitorización de los factores ambientales de las pilas y del control de las características del sustrato.

Los factores ambientales, como son la temperatura, la humedad o la aireación, determinan la velocidad y el correcto desarrollo del proceso de compostaje. Durante el proceso de compostaje se realiza un seguimiento mediante sondas de temperatura para comprobar el estado de la pila. La temperatura de la pila indica la fase del proceso en la que se encuentra y el registro de temperaturas a lo largo del tiempo puede delatar problemas en el desarrollo, como deficiencias en la aireación o en la humedad. Durante el compostaje se requieren riegos consistentes para mantener la humedad del sistema entre el 40% y el 60%. Un exceso de humedad puede generar condiciones anaeróbicas capaces de frenar el proceso y causar emisiones de GEI. Además, el sistema de compostaje requiere aireamiento regular. Dependiendo del sistema de compostaje utilizado y el volumen de los materiales, el aireamiento puede realizarse mediante técnicas manuales como el volteo de pilas hasta sistemas como la ventilación forzada o mediante tuberías (Figura 6).

El control del sustrato permite deducir características finales del compost y el estado de desarrollo de las pilas. Este se puede llevar a cabo a través de muestreos y análisis periódicos del material. Las características del sustrato se dividen en físicas, químicas y físico-químicas. Las características físicas hacen referencia al tamaño de partícula, la porosidad y la relación aire-agua, y son estos parámetros los que aseguran la homogeneización de los riegos, la eficiencia y requerimiento de volteos o la viabilidad de sistemas de aireación alternativos como los forzados. Las características químicas se refieren a la relación Carbono-Nitrógeno, el contenido en nutrientes y ciertos componentes limitantes, y son las relacionadas con la actividad microbiana, las características finales a nivel nutricional de los compost y los requerimientos adicionales del proceso en caso de que en el sustrato se encuentre algún material que requiera especial atención debido a comportamientos antagonistas al resto del proceso o resistencias a la degradación. Por último, las características físico-químicas son el pH y la conductividad eléctrica, siendo el pH un

marcador del desarrollo del proceso como se observa en la Figura 5, y la conductividad marcando limitaciones de salinidad fácilmente.

La degradación de la materia orgánica por los microorganismos se refleja en el compost como una reducción de la materia orgánica total, y se puede analizar este parámetro en distintos momentos a lo largo del proceso para determinar, mediante modelos cinéticos de primer orden, la degradación total en el punto en cuestión en que se encuentra el proceso. También se pueden tener en cuenta los microorganismos presentes en la pila, comparando los encontrados con los esperables durante la sucesión natural que ocurre en la pila a lo largo del proceso. El control de humedad de la pila se puede hacer mediante sondas automatizadas o por diferencia de peso en muestras homogéneas, de forma que se pueda asegurar el contenido óptimo de humedad. Mediante la medición de gases emitidos por las pilas se puede determinar si el proceso está siendo más o menos activo microbiológicamente a partir de las emisiones de CO<sub>2</sub> y la emisión de gases vinculados a la anaerobiosis puede denotar un exceso de humedad o necesidad de volteo debido a la formación de zonas anóxicas.



Figura 6. a) Aireación por volteo de una pila de compostaje. b) Sistema de medición de gases de efecto invernadero en campo aplicado a pilas de compostaje. Fuente: elaboración propia.

### 1.4.3. Calidad del compost

La calidad del compost es, en esencia, un concepto multifactorial influenciado fuertemente por las características de los materiales iniciales, las proporciones de la mezcla y las técnicas de manejo utilizadas. A partir de la relación C/N, el contenido en humedad y la densidad aparente de los materiales se pueden calcular mezclas óptimas con relaciones C/N de entre 25 y 30 y humedades iniciales de en torno al 60%. Estas condiciones facilitan la producción de un compost de calidad, ya que favorecen un entorno de crecimiento favorable para los microorganismos. El control de la temperatura es imperativo para obtener un producto final higienizado y la máxima degradación de la materia orgánica, para lo que se requieren temperaturas superiores a 40 °C

durante la fase termófila, asegurando la humedad óptima para evitar la muerte de los microorganismos (Peña y col., 2020).

Tabla 3. Contenido reglamentario y normas de etiquetado de las enmiendas orgánicas compostadas según los criterios definidos en el RD 506/2013 Anexo I Grupo 6.

Tipo	Contenido mínimo y máximo (porcentaje en masa) Otros requisitos	Otras informaciones sobre la denominación del tipo de etiquetado	Contenido en nutrientes que debe declararse y garantizarse. Formas y solubilidad de los nutrientes. Otros criterios
Compost convencional	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Materia orgánica total: 35%.</li> <li>– Humedad máxima: 40%.</li> <li>– C/N &lt; 20.</li> <li>Las piedras y gravas eventualmente presentes de diámetro superior a 5 mm, no superarán el 2%.</li> <li>Las impurezas (metales, vidrios y plásticos) eventualmente presentes de diámetro superior a 2 mm, no superarán el 1,5%.</li> <li>El 90% de las partículas pasarán por la malla de 25 mm.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– pH.</li> <li>– Conductividad eléctrica.</li> <li>– Relación C/N.</li> <li>– Humedad mínima y máxima.</li> <li>– Materias primas utilizadas.</li> <li>– Tratamiento o proceso de elaboración, según la descripción</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Materia orgánica total.</li> <li>– C orgánico.</li> <li>– N total (si supera el 1%).</li> <li>– N orgánico (si supera el 1%).</li> <li>– N amoniacal (si supera el 1%).</li> <li>– K<sub>2</sub>O total (si supera el 1%).</li> <li>– K<sub>2</sub>O total (si supera el 1%).</li> <li>– Ácidos húmicos.</li> <li>– Granulometría.</li> </ul>
Compost vegetal	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Materia orgánica total: 40%.</li> <li>– Humedad máxima: 40%.</li> <li>– C/N &lt; 15.</li> <li>No podrá contener impurezas ni inertes de ningún tipo tales como piedras, gravas, metales, vidrios o plásticos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– pH.</li> <li>– Conductividad eléctrica.</li> <li>– Relación C/N.</li> <li>– Humedad mínima y máxima.</li> <li>– Tratamiento o proceso de elaboración, según la descripción</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Materia orgánica total.</li> <li>– C orgánico.</li> <li>– N total (si supera el 1%).</li> <li>– N orgánico (si supera el 1%).</li> <li>– N amoniacal (si supera el 1%).</li> <li>– P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> total (si supera el 1%).</li> <li>– K<sub>2</sub>O total (si supera el 1%).</li> <li>– Ácidos húmicos.</li> <li>– Granulometría.</li> </ul>
Compost de estiércol	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Materia orgánica total: 35%.</li> <li>– Humedad máxima: 40%.</li> <li>– C/N &lt; 20.</li> <li>No podrá contener impurezas ni inertes de ningún tipo tales como: piedras, gravas, metales, vidrios o plásticos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– pH.</li> <li>– Conductividad eléctrica.</li> <li>– Relación C/N.</li> <li>– Humedad mínima y máxima.</li> <li>– Tratamiento o proceso de elaboración, según la descripción</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Materia orgánica total.</li> <li>– C orgánico.</li> <li>– N total (si supera el 1%).</li> <li>– N orgánico (si supera el 1%).</li> <li>– N amoniacal (si supera el 1%).</li> <li>– P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> total (si supera el 1%).</li> <li>– K<sub>2</sub>O total (si supera el 1%).</li> <li>– Ácidos húmicos.</li> <li>– Granulometría.</li> </ul>
Vermicompost	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Materia orgánica total: 30%.</li> <li>– Humedad máxima: 40%.</li> <li>– C/N &lt; 20.</li> <li>– El 90% de las partículas pasarán por la malla de 25 mm.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– pH.</li> <li>– Conductividad eléctrica.</li> <li>– Relación C/N.</li> <li>– Humedad mínima y máxima.</li> <li>– Se podrán añadir las denominaciones usuales en el comercio</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Materia orgánica total.</li> <li>– C orgánico.</li> <li>– N total (si supera el 1%).</li> <li>– N orgánico (si supera el 1%).</li> <li>– P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> total (si supera el 1%).</li> <li>– K<sub>2</sub>O total (si supera el 1%).</li> <li>– Ácidos húmicos.</li> <li>– Granulometría.</li> <li>– Tipo o tipos de estiércoles empleados.</li> </ul>

La calidad del compost está vinculada a su contenido en macro y micronutrientes, su capacidad fitoestimulante y su potencial para mejorar las características del suelo. Estas características se reflejan en el compost final en su índice de germinación, capacidad de intercambio catiónico, contenido en sustancias húmicas, contenido en carbono hidrosoluble y contenido en diferentes formas del nitrógeno, así como el fósforo y potasio total. Debido a que ninguno de estos parámetros por sí solo está reconocido como marcador inequívoco de la calidad

del compost, es necesario tomar la combinación de las distintas propiedades y las condiciones de su producción como un conjunto que muestre la validez del conjunto (Azim y col., 2018).

Por otro lado, la legislación española en el Real Decreto 506/2013 de 28 de junio define las características mínimas y máximas de los tipos de compost que describe, sirviendo como estimación para los criterios a seguir para asegurar la calidad del material. Los tipos de compost que se definen son el compost convencional, que define como un producto higienizado y estabilizado obtenido a partir de la descomposición biológica aeróbica bajo condiciones controladas de materiales orgánicos biodegradables; el compost vegetal, que se define de la misma forma que el anterior pero los materiales orgánicos que lo componen son exclusivamente hojas, hierba cortada y restos de poda; el compost de estiércol, que está compuesto exclusivamente por estiércol; y el vermicompost, que incluye la digestión mediante lombrices. Las características mínimas y máximas esperadas de estos compost se muestran en la Tabla 3.

Además, el RD 506/2013 establece en el Anexo V unos criterios de clasificación del compost en función de su contenido en metales pesados, distinguiendo tres clasificaciones de la A a la C, siendo la primera de mayor calidad y no pudiendo comercializarse nada que no cumpla como mínimo los criterios de la clasificación C (Tabla 4). Además, los compost de clase C no podrán aplicarse en suelos agrícolas en dosis superiores a 5 toneladas de materia seca por hectárea al año, siendo modificable este criterio por las Comunidades Autónomas para zonas de especial protección.

Tabla 4. Criterios de clasificación de los compost dependiendo de los límites máximos de metales pesados según el RD 506/2013.

Metal pesado	Límites de concentración		
	Sólidos: mg/kg de materia seca		
	Líquidos: mg/kg		
	Clase A	Clase B	Clase C
Cadmio	0,7	2	3
Cobre	70	300	400
Níquel	25	90	100
Plomo	45	150	200
Zinc	200	500	1000
Mercurio	0,4	1,5	2,5
Cromo (total)	70	250	300
Cromo (VI)	No detectable según método oficial	No detectable según método oficial	No detectable según método oficial

## 1.5. Bioaumentación

### 1.5.1. Microbioma del compostaje

Durante el compostaje los microorganismos se suceden a lo largo del tiempo influidos por los cambios en la temperatura, pH y disponibilidad de nutrientes provocados por las comunidades microbianas previas. Debido a esto, algunos microorganismos como las actinobacterias, que pueden observarse a simple vista debido a las comunidades que forman, pueden usarse como marcadores de seguimiento del proceso, y la composición de las comunidades microbianas y su estructura muestran la calidad y madurez del compost (Steger y col., 2007). Las comunidades microbianas que se encuentran en las pilas también están ampliamente influidas por los materiales iniciales utilizados (Mehta y col., 2014). Las distintas fases del proceso de compostaje conllevan cambios en las comunidades de forma marcada, definidas principalmente por las características térmicas del proceso. Es en las etapas mesófilas en las que se encuentra principalmente la actividad de los hongos y bacterias mesófilas, como la familia Lactobacillales, teniendo actividad antes de la fase termófila y tras el enfriamiento. Así, durante la fase termófila se puede observar la presencia de microorganismos extremófilos, con temperaturas de crecimiento óptimas en torno a 70°C, debido a que estas condiciones se encuentran por encima de lo ideal para otros microorganismos moderadamente termófilos, o en temperaturas inferiores, como al inicio de la fase, se pueden observar integrantes del género *Bacillus* y miembros del género *Thermus*, relacionados con la degradación de macromoléculas. Durante la fase de maduración y en los compost estables se pueden encontrar bacterias de los géneros *Thermobifida* y *Bacillus* y hongos de los géneros *Thermomyces* y *Aspergillus*, con actinobacterias degradando la materia orgánica más residual (Nozhevnikova y col., 2019).

Tabla 5. Listado de microorganismos beneficiosos presentes en el compost y sus respectivos efectos notables.

Microorganismos	Beneficio potencial	Referencia
<i>Trichoderma harzianum</i> T-78	Efecto biopesticida, bioestimulante y biofertilizante	López-Mondéjar y col. (2010)
<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus niger</i>	Efecto biopesticida frente a fitopatógenos	Suárez-Estrella y col. (2007)
<i>Azotobacter vinelandii</i>	Efecto promotor de la fijación de nitrógeno atmosférico, degradación fenólica y actividad fertilizante	Piperidou y col. (2000)
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Biocontrol de fitopatógenos y actividad bioestimulante	Jackson y col. (1994)
<i>Bacillus pumilus</i>	Efecto de biocontrol contra fitopatógenos	Dobrzyński y col. (2023)
<i>Gliocladium virens</i>	Efecto biopesticida contra fitopatógenos	Kumar y col. (2019)

Numerosos microorganismos presentes en el compost han demostrado aportar características positivas al material y producir efectos beneficiosos en el medio, como los mostrados en la Tabla 5. Es por esto, que muchos productores de compost utilizan pequeñas cantidades de lotes anteriores de compost para inocular microorganismos en siguientes lotes (Lutz y col., 2020). A partir de este tipo de comportamientos, numerosos trabajos han buscado consorcios microbianos aplicables a pilas de compostaje en distintas fases que permitan acelerar algunas partes del proceso, degradar las sustancias más recalcitrantes o problemáticas o mejorar las características finales del compost.

### 1.5.2. Usos biotecnológicos de microbioma orientados a residuos oleícolas

La biorremediación se define como el proceso de transformación de ambiente contaminado con la ayuda de microorganismos o enzimas para llevarlo a un punto no tóxico. Es una herramienta ampliamente aceptada como solución al tratamiento de bajo impacto sobre el medio y aprovecha diferentes tipos de microorganismos para la descomposición de las sustancias más problemáticas y contaminantes (Thassitou y Arvanitoyannis, 2001).

En un proceso de compostaje, la materia orgánica es biodegradada de forma aerobia por los microorganismos presentes en el proceso a partir de los materiales iniciales, generando CO<sub>2</sub> y agua, dejando una fracción resultante que pasa a ser un bio-fertilizante gracias al proceso de humificación (Paredes y col., 2000a; Tomati y col., 1996; Vlyssides y col., 1996). Para que estos microorganismos cumplan su función se requiere que a lo largo del proceso se mantengan unas condiciones óptimas de temperatura y humedad, que se encuentran en una humedad de en torno al 50-65%, suficiente aireación y porosidad para una aireación completa y el uso de un estructurante que mantenga una densidad aparente óptima que mantenga la porosidad y que varía dependiendo de los materiales utilizados (Arvanitoyannis y Kassaveti, 2007; Caputo y col., 2003).

En otros residuos similares, como el alperujo, el uso de microorganismos exógenos se ha planteado como potenciador del compostaje. El uso de microorganismos fúngicos para la degradación de compuestos lignocelulósicos se planteó como acelerador del proceso y permitió reducir los tiempos de compostaje a menos de 50 días. El producto obtenido fue estable, maduro y palió algunos de los problemas del material que se extienden también al alpechín (Haddadin y col., 2009).

## 1.6. Biofertilizantes derivados de la industria oleícola

Debido a la amplia relevancia de la industria oleícola en la cuenca mediterránea, han ido apareciendo diferentes estrategias para la obtención de materiales de interés a partir de los

residuos de las almazaras. Petrucci y col. (2025) utiliza los restos de esta industria para la obtención de lignina y polifenoles, para así producir nanopartículas que sirven como base para la formulación de biofertilizantes que podrían servir como alternativas a los fertilizantes NPK tradicionales. Haddad y col. (2017) desarrolla un método de gestión en el cual se mezclan los restos de almazara con serrín y podas para facilitar la desecación del residuo, facilitar la pirólisis y obtener así biochar alto en potasio, nitrógeno y fósforo. Otros trabajos, como el de Alaoui y col. (2024), plantean la aplicación directa de los residuos de almazara en el suelo y afirman mejoras en las características finales del suelo, aunque esto dependerá ampliamente de las características de los materiales aplicados y las del suelo en cuestión. El compostaje de restos de almazara es una estrategia extendida, al ser de bajo coste que ha demostrado tener múltiples beneficios como enmienda de suelos para la agricultura gracias a su contenido en nitrógeno y fósforo, como biofertilizante o sustrato comercial y como biofiltro para la eliminación de metales tóxicos; pero no se pueden ignorar sus problemáticas como la reducción del índice de germinación del suelo, la necrosis en las hojas, la disminución del desarrollo de tallos secundarios o la fitotoxicidad relacionada también con técnicas de neutralización del pH (Arvanitoyannis y Kassaveti, 2007).

### 1.6.1. Compostaje de alperujos

El alperujo es un residuo con características muy similares al alpechín que se produce en las almazaras de dos fases. Se trata del principal residuo generado actualmente por la industria oleícola tras el cambio generalizado del sistema de tres fases al de dos fases. Es un material semisólido compuesto por agua en más de la mitad de su peso, entre un 40 y un 50%, y su fracción sólida contiene pulpa y piel de oliva, huesos de oliva y algo de aceite. Sus características, al igual que las del alpechín, varían en gran medida dependiendo del método de extracción, la variedad de la oliva y la zona de producción (Petraakis, 2006). Son principalmente ácidos, altos en potasio, pobres en fósforo, Ca y Mg, y con un contenido orgánico elevado, a pesar de estar compuesto principalmente por lignina, hemicelulosa y celulosa. El contenido en grasas, carbonos hidrosolubles y proteínas es generalmente elevado, aunque sus proteínas suelen estar poco disponibles para los microorganismos ya que tienden a estar asociadas con la fracción lignocelulósica. También suelen contener fracción algo menor de sustancias fenólicas hidrosolubles unidas a la fracción lipídica, que son las que confieren las características fitotóxicas del material (Alburquerque y col., 2004).

Algunos autores han demostrado que el compostaje plantea una alternativa válida de bajo coste para el reciclaje de alperujos con una completa detoxificación de los materiales iniciales. Aun así, la naturaleza semilíquida de los alperujos requiere que se mezcle con otros productos o residuos para aportar una estructura apropiada (Cayuela y col., 2006). Algunas de las técnicas de detoxificación pasan por la dilución o la absorción de los compuestos fenólicos en materia

orgánica, aprovechando que los materiales orgánicos compostados tienen capacidad quelante y alta capacidad de intercambio catiónico que pueden ayudar a eliminar las sustancias orgánicas tóxicas (Franco y col., 1996).

Los compost que se suelen obtener contienen alto contenido en materia orgánica y carbono total, aunque estas características son altamente dependientes de los materiales utilizados para el co-compostaje. En general, el pH y la conductividad eléctrica suelen acabar siendo adecuados para su uso en cultivos y la mayor parte del contenido en polifenoles consigue mitigarse. Los nutrientes disponibles suelen ser principalmente potasio con pequeños valores de fósforo y nitrógeno de lenta liberación (Gómez-Muñoz y col., 2013). Autores como Ameziane y col. (2020) lograron obtener a partir de alperujos compost de pH neutros con tendencias básicas, apropiados para la industria agrícola. A pesar de que algunos de sus compost aumentaron de salinidad a lo largo del proceso, los valores se encontraron en rangos válidos. La materia orgánica se mantuvo elevada y los niveles de fósforo y potasio fueron elevados, de modo que se observó el mencionado potencial fertilizante. En contraposición con compost de alperujo sin una correcta maduración, estos compost mostraron valores de índice de germinación óptimos, mostrando que la fitotoxicidad pudo ser contrarrestada.

### 1.6.2. Compostaje de alpechines: factores limitantes

Los problemas vinculados al compostaje de alpechines se han discutido de forma extensiva a lo largo de este trabajo. Los problemas se resumirían en una fitotoxicidad elevada, el exceso de humedad de los materiales, la falta de estructura y la alta carga orgánica y lignocelulósica.

La fitotoxicidad viene vinculada principalmente a la salinidad del material y la elevada carga de compuestos fenólicos, que han demostrado en numerosos estudios causar problemas en la germinación y el crecimiento de las plantas (Azzam y Hazaimh, 2021; Bouhia y col., 2021; Bravo, 2009; Hachicha y col., 2009; Qin y col., 2016; C. Santos y col., 2018).

La consistencia pastosa y el exceso de humedad son características físicas del material que complican su gestión, desplazamiento y requieren que la mezcla en cuestión contenga otros materiales estructurantes que solucionen la falta de porosidad y permitan la construcción física de una pila de compostaje. Esto provoca que, a pequeña escala, se requiera la interacción de diferentes productores de residuos que puedan utilizar sus materiales para solucionar problemas comunes, como pueden ser restos de poda de frutales o urbana y residuos de la industria ganadera.

La carga orgánica y lignocelulósica requiere una actividad microbiológica elevada, que es fácilmente inhibida por el contenido fenólico (Di Martino y col., 2021; Paraskeva y Diamadopoulos, 2006). Debido a esto se plantean diferentes métodos de bioaumentación a partir de microorganismos capaces de la degradación fenólica y lignocelulósica que puedan evitar la inhibición producida por los materiales (Martínez-Gallardo y col., 2020; Tyagi y col., 2011).

A su vez, el alpechín ha demostrado causar problemas de olores y de emisiones de GEI que pueden causar que su gestión mediante el compostaje no tenga tan buen balance a nivel ambiental. Debido a ello, se han planteado algunas estrategias como el uso de aditivos que han demostrado ser capaces de paliar las emisiones y fomentan la proliferación de microorganismos y mejoras en el suelo, como es el caso del biochar (Agegnehu y col., 2017; Harrison y col., 2024; Martínez-Gallardo y col., 2020, 2022; Smirnova y col., 2025).





## 2. OBJETIVOS





El objetivo principal de este trabajo es el desarrollo y validación de nuevos procesos biotecnológicos basados en el compostaje para la gestión de alpechines de balsas abandonadas en el contexto de la economía circular, teniendo en cuenta el valor agronómico del producto y tratando de mitigar el impacto ambiental de las emisiones de GEI durante el proceso de compostaje. Para ello, se exploraron diferentes enfoques en la optimización del proceso de compostaje como el uso de distintos aditivos y consorcios microbianos con el objetivo de maximizar la velocidad del proceso, la calidad del producto y minimizar las emisiones de GEI totales.

Para llevar a cabo el objetivo principal el trabajo se dividió en los siguientes objetivos específicos:

*Objetivo 1.* Caracterización de los alpechines: características físicas, químicas, fisicoquímicas y biológicas, así como de los microorganismos de interés para la degradación de sustancias recalcitrantes naturalmente presentes en el material.

*Objetivo 2.* Desarrollo de estrategias de bajo coste para la transformación del residuo en producto mediante compostaje convencional con aplicación de aditivos y coberturas geotextiles para la optimización del rendimiento y mitigación de las emisiones de GEI.

*Objetivo 3.* Optimización del proceso de compostaje mediante la aplicación de consorcios microbianos seleccionados para la degradación de sustancias recalcitrantes de los alpechines y mejora de la calidad del producto final.

*Objetivo 4.* Evaluación de la calidad de los compost obtenidos y validación agronómica, ambiental y económica, analizando los efectos sobre el suelo y el cultivo.

Se realizaron distintos estudios para llevar a cabo los anteriores objetivos, recogiendo los resultados en las siguientes tres publicaciones:

- **Publicación 1:** *Composting of Olive Mill Wastewater Sludge Using a Combination of Multiple Strategies*, Agronomy, 2025 (doi: 10.3390/agronomy15040808).
- **Publicación 2:** *Combined effect of assisted Bioaugmentation and Biochar incorporation on Olive Mill Wastewater sludge composting*, Environmental Pollution, 2026 (doi: ).
- **Publicación 3:** *Agronomic assessment of olive mill wastewater sludge derived compost on Lactuca sativa and Zea mais: fertilizing efficiency and potential toxic effect on seed germination and seedling growth*, Agronomy, 2025 (doi: ).

La correlación entre los objetivos específicos y las publicaciones de este trabajo se muestran en la tabla inferior:

	Publicación 1	Publicación 2	Publicación 3
Objetivo 1	<b>X</b>	<b>X</b>	
Objetivo 2	<b>X</b>		
Objetivo 3		<b>X</b>	
Objetivo 4			<b>X</b>



# 3. RESUMEN DE MATERIALES Y MÉTODOS





Este trabajo se divide en dos grupos principales: el desarrollo de sistemas de compostaje, compuesto por los trabajos mostrados en el primera y segunda publicación; y la validación agronómica del compost producido, cuyos resultados se muestran en la tercera publicación.

La **publicación 1**; sobre compostaje de alpechines en el cual se utilizaron distintas fuentes de nitrógeno y carbono, se aplicaron como aditivos biochar y un aditivo orgánico-mineral, y se utilizaron lonas para tratar de mitigar las emisiones de efecto invernadero; se publicó en la revista *Agronomy* (2025) bajo el título “*Composting of Olive Mill Wastewater Sludge Using a Combination of Multiple Strategies: Assessment of Improvement in Biodegradability, GHG Emissions, and Characteristics of the End Product*” (Anexo 8.1). Para ello se diseñó un experimento que consistió en un proceso de compostaje realizado en las instalaciones CompoLab en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (EPSO, Orihuela-Alicante) entre abril y julio de 2023 mediante un sistema de compostaje en pilas. Las pilas se voltearon 4 veces durante el proceso, que consistió en 165 días: 119 días de fase bio-oxidativa y 46 días de fase de maduración. La optimización se realizó teniendo en cuenta cuatro variables principales: (a) la fuente de nitrógeno, (b) la fuente de carbono, (c) aditivos y (d) uso de una membrana geotextil semipermeable.

Los materiales fueron alpechín como ingrediente principal en todas las pilas, estiércol vacuno o caprino como fuente de nitrógeno y poda de almendro o de viñedo como fuente de carbono. Se usaron como aditivos (1% sobre peso fresco) Biochar (de pirólisis de poda urbana a 450 °C 24 horas, pH 6,5; conductividad eléctrica 1,7 dS m<sup>-1</sup>; Carbono orgánico total 54,1%, nitrógeno total 1,4%) y un suplemento bio-mineral compuesto por biochar, polvo de almendra, un material inorgánico alto en fósforo y un regulador de pH. Como cobertura se utilizó una membrana geotextil semipermeable (TenCate Toptex®, polipropileno sin costuras, 200 g·m<sup>-2</sup>).

Los diferentes materiales se integraron en cuatro mezclas distintas de tres ingredientes en sus respectivas proporciones respecto al peso fresco para la obtención de relaciones C/N óptimas (20±2). A partir de cada una de las cuatro mezclas se prepararon 6 pilas trapezoidales: (1) sin aditivo ni cobertura, (2) con biochar sin lona, (3) con bio-mineral sin lona, (4) sin aditivo con cobertura, (5) con biochar y cobertura, (6) con bio-mineral y cobertura. De esta manera se obtuvo un total de 24 pilas de compostaje (dimensiones 3 m × 4,5 m × 1,3 m). Las pilas de compostaje se muestrearon a los 0 (Inicio), 60 (termófila), 120 (final de biooxidativa) y 165(madurez) días desde el inicio del proceso. Todas las muestras se tomaron mediante el mismo método: cuatro sub-muestras desde la base hasta arriba de cuatro puntos distintos de la pila que se integraron en una muestra representativa para el análisis.

La **publicación 2**; sobre compostaje avanzado y optimizado de alpechines a dos proporciones distintas con aditivación de biochar y un consorcio microbiano; se publicó en la

revista *Environmental Pollution* (2026) bajo el título “*Combined effect of assisted Bioaugmentation and Biochar incorporation on Olive Mill Wastewater sludge composting*” (Anexo 8.2.). Para ello se llevó a cabo un experimento que consistió en 8 pilas de compostaje distintas preparadas a partir de dos mezclas: a) la Mezcla A preparada con un 30% de alpechín, 60% estiércol vacuno (CM) y 10% poda de viña (Vn) en relación de peso fresco; y b) la Mezcla B preparada con 50% alpechín, 40% CM y 10% Vn en relación de peso fresco. Dos pilas recibieron una aditivación de biochar al 5% en peso fresco (Pila A-Bioch y Pila B-Bioch), dos fueron inoculadas con un consorcio microbiano (Pila A-Inoc y Pila B-Inoc) y dos recibieron ambos tratamientos: biochar 5% y consorcio microbiano (Pila A-Bioch+Inoc y Pila B-Bioch+Inoc). El proceso de compostaje se llevó a cabo de marzo a julio de 2024 en las instalaciones Compolab de la UMH-EPSO (Orihuela, España). La fase bio-oxidativa acabó tras 115 días de compostaje y las pilas se mantuvieron en maduración durante 60 días. Todas las pilas se voltearon cada 15 días y regaron cuando fue necesario para mantener las condiciones de humedad óptimas. Todas las pilas se muestrearon al inicio del proceso y tras 30, 60, 90 y 120 días desde el inicio y otra vez tras la fase de maduración siguiendo la misma metodología de muestreo que en la primera publicación.

Las cepas seleccionadas para la inoculación fueron *Burkholderia vietnamiensis* OR3, *Pseudomonas extremaustralis* OR1, *Bacillus safensis* 190 y *Aspergillus ochraceus* H2. Estos microorganismos son miembros de la colección de cepas del grupo de investigación BIO-175 de la Universidad de Almería. Todos ellos habían sido previamente aislados y caracterizados enzimáticamente (Jurado y col., 2014; López-González y col., 2013; Martínez-Gallardo y col., 2020). La selección de estas cepas se basó en su funcionalidad metabólica específica. *B. vietnamiensis* OR3, *P. extremaustralis* OR1 y *B. safensis* 190 fueron elegidos por su capacidad biofertilizante; mientras que *A. ochraceus* H2 fue seleccionada por su eficiencia en la degradación de compuestos fenólicos, que son los principales responsables de la toxicidad y la recalcitrancia del alpechín. Las cepas guardadas en criopreservación a -80 °C fueron reactivadas en agar de recuento en placa (APHA, ref. 2135102275 liofilchem®), mientras que *A. ochraceus* H2 fue reactivada en agar de dextrosa de patata (PDA, ref. 1101300500 Merck). Las condiciones de incubación óptimas para las cepas bacterianas fueron 30 °C durante 24 h, mientras que H2 fue incubada durante 96 h a la misma temperatura. Tras el tiempo de incubación, los cultivos fueron almacenados a 4 °C hasta su uso. La biomasa microbiana se produjo en grandes cantidades para obtener inóculo suficiente para llevar a cabo el protocolo de bioaugmentación a escala de campo. Para preparar el inóculo fúngico, la biomasa recién producida de *A. ochraceus* H2 de las placas PDA fue transferido a un caldo de dextrosa de patata (PDB, ref. P6685-250G Merck) e incubada a 30 °C con agitación de 100 rpm durante 72 h. Tras la incubación, el cultivo fue centrifugado para recuperar el micelio fúngico. La viabilidad del inóculo se comprobó mediante una suspensión de 0.1 g de biomasa fúngica en 900 µL de solución salina estéril (0.9%

peso/volumen NaCl). Tras realizar diez diluciones en serie, 100  $\mu\text{L}$  de la dilución apropiada fueron extendidos en placas PDA e incubadas a 30 °C durante 5 días, tras lo cual se contaron las colonias. La biomasa fúngica fue finalmente ajustada a  $10^7$  propágulos  $\text{g}^{-1}$ . Para la producción de biomasa bacteriana, las cepas seleccionadas fueron sembradas en masa en placas Petri de 120 x 120 mm que contenían medio APHA utilizando un isopo estéril. Las placas fueron incubadas a 30 °C durante 24 h. Tras la incubación, la biomasa fue tomada de la superficie de las placas usando una espátula estéril y transferida a un contenedor estéril. La viabilidad del inóculo bacteriano se determinó utilizando el método de Miles y col. (1938), que estima el número de unidades formadoras de colonias (CFU) viable por unidad de volumen o peso en una suspensión bacteriana. La biomasa bacteriana fue ajustada en este caso a  $10^{10}$  CFU  $\text{mL}^{-1}$ . Por último, al inicio de proceso de compostaje, las pilas P3, P4, P7 y P8 fueron suplementadas con una mezcla de biomasa microbiana (OR1, OR3 y H2) en una relación de 6 log CFU  $\text{g}^{-1}$  de residuo y cepa. Para ello, la biomasa fue incorporada en el agua utilizada para ajustar el contenido en humedad de las pilas.

Ambos trabajos de compostaje fueron analizados para los parámetros de pH, conductividad eléctrica (CE), materia orgánica total, nitrógeno total, carbono orgánico total, polifenoles hidrosolubles, capacidad de intercambio catiónico (CIC), índice de germinación (IG), y contenido total elemental de P, K, Ca, Mg, y Na y metales pesados. Los métodos utilizados fueron los descritos por Bustamante y col. (2008): el pH y CE se analizaron en un extracto acuoso 1:10 (peso/volumen). La materia orgánica total se midió por pérdida por ignición a 430 °C durante 24 h. El nitrógeno total y el carbono orgánico total se midió por ignición a 1020 °C en un analizador elemental automático (EuroVector elemental Analyser, Milán, Italia). Los polifenoles hidrosolubles se analizaron con el método modificado Folin-Ciocalteu en un extracto acuoso 1:20 (peso/volumen) (Paredes y col., 2009). La CIC se analizó utilizando el método de  $\text{BaCl}_2$ -trietanolamina. El IG del compost final e inicial se midió en semillas de *Lepidium sativum* de acuerdo al método de Zucconi y col (1981). El contenido elemental total de P, K, Ca, Mg y Na y los metales pesados fueron medidos mediante ICP-OES tras una digestión en microondas. Además, para los compost de la primera publicación se realizó también el análisis del contenido en ácidos húmicos y fúlvicos en una extracción alcalina 1:20 (NaOH) utilizando un analizador automático para muestras líquidas (TOC-VCSN Analyzer, Shimadzu, Kyoto, Japón). Respecto al desarrollo de la materia orgánica, para ambos trabajos se realizó un análisis y modelización de la variación y pérdida de materia orgánica a lo largo del proceso a partir del cálculo de mineralización de la materia orgánica descrito por Paredes y col. (2000b) y ajustando los resultados a una ecuación cinética de primer orden mediante el software SigmaPlot 13. Además, para el primer trabajo se realizó un análisis térmico y espectroscópico mediante una termobalanza (Mettler Toledo TGA/SDTA851e/LF/1600) unida a un espectrómetro de masas (Pfeiffer Vacuum Thermostar GSD301T) mediante los métodos descritos por Martín-Mata et al.,

(2016). Por último, en ambos trabajos se realizó un seguimiento de los flujos de los GEI ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  y  $\text{N}_2\text{O}$ ) emitidos por las pilas de compostaje utilizando una cámara opaca y aislada ( $3.534 \text{ dm}^3$ ) y un dispositivo de análisis de gases fotoacústico Gasera One (Gasera One, Gasera Ltd., Finlandia) Las mediciones GEI se realizaron al inicio y al final del proceso y los días 6, 20, 35, 49, 62, 76, 91 y 109 en el primer trabajo y 7,15, 21, 35,49,63,77, 91 y 105 en el segundo trabajo. Los gases se midieron directamente desde la parte superior de la pila y por duplicado, y los flujos de emisión ( $\text{mg gas m}^2 \text{ día}^{-1}$ ) fueron calculados de acuerdo a lo descrito por Sánchez-Navarro y col. (2022). Las emisiones acumuladas de gases durante el periodo experimental se calcularon mediante la multiplicación del flujo medio de las dos mediciones consecutivas por el tiempo entre ellas. Además, se tomó en cuenta la superficie total de las pilas (forma de prisma trapezoidal) para determinar las emisiones gaseosas totales. El total de GWP de cada pila fue expresado como  $\text{CO}_2$  equivalentes y calculados utilizando los factores de (IPCC, 2023) para cada gas, con  $\text{N}_2\text{O}$  Y  $\text{CH}_4$  teniendo valores GWP de 273 y 27.2 respectivamente y excluyendo las emisiones de  $\text{CO}_2$  del cálculo debido a que se consideran biogénicas (Christensen y col., 2009).

Para la primera publicación se realizó el cálculo del valor económico del producto de acuerdo a las unidades fertilizantes y el contenido en sustancias húmicas, determinado mediante métodos analíticos. Se calculó el valor en base al precio equivalente de las unidades de N,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{K}_2\text{O}$  y las sustancias húmicas de la urea, el fosfato diamónico (DAP) y el cloruro de potasio (KCl) y las sustancias húmicas en el mercado, respectivamente (Jara-Samaniego y col., 2017). Cada valor se obtuvo a partir del valor promedio (EUR/tonelada) de cada fertilizante en 2023 según el World Bank. Se tomó como referencia el valor de humedad del compost al 25%, ya que es el contenido promedio en agua del compost comercial que cumple con el rango establecido por el Real Decreto 999/2017 (BOE-A-2017-14332) (<40% de humedad en compost comerciales). El programa Infostat® (v.2020), un paquete de software estadístico unido al entorno de programación R (Di Rienzo y col., 2020), se utilizó para realizar el análisis de datos de la primera publicación; y el análisis estadístico de la segunda publicación se llevó a cabo mediante el software IBM SPSS versión 3.0. Se utilizaron análisis de varianza de una vía (ANOVA) y test mínima diferencia significativa (LSD) a  $p < 0,05$  para analizar la significancia estadística de las diferencias entre los valores de cada parámetro analizado a lo largo del proceso de compostaje. Se utilizaron test LSD y ANOVA de dos vías para analizar las diferencias entre los valores de cada parámetro (Fuentes de Nitrógeno, Fuentes de Carbono, cobertura y aditivos) estudiados durante el compostaje. Los flujos diarios de GEI, las emisiones de GEI acumuladas y el GWP se analizaron con los métodos estadísticos ya mencionados. El índice exotérmico ( $\text{EXI}^2$ ) se define como la suma cuadrática de la diferencia diaria entre la temperatura interna de la pila y la ambiental durante la fase biooxidativa. Se realizó una correlación de Pearson entre los parámetros físico-químicos y las emisiones de GEI de los diferentes compost de la primera publicación.

La **publicación 3**; sobre la prueba agronómica de los compost de alpechín sobre lechuga y maíz para determinar la eficiencia fertilizante y los efectos tóxicos sobre la germinación y crecimiento de las plántulas; se publicó en la revista *Agronomy* bajo el título “*Agronomic assessment of olive mill wastewater sludge derived compost son Lactuca sativa and Zea mais: fertilizing efficiency and potential toxic effect on seed germination and seedling growth*” (Anexo 8.3.).

Para este trabajo se realizó un diseño experimental dividido en dos partes: el experimento de macetas y el ensayo de toxicidad en maíz. Los compost utilizados fueron los producidos en la primera publicación de esta tesis. Para el experimento en macetas se realizaron dos ciclos de cultivo con lechuga (*Lactuca sativa* L. “Celistra”) del tipo Little Gem, que se llevaron a cabo en las instalaciones FertiLab-EPISO UMH (Orihuela, España) bajo condiciones controladas. Durante ambos ciclos de cultivo la temperatura se mantuvo entre 21 y 25 °C, la humedad relativa estuvo entre 50% y 60% y el fotoperiodo fue de 12h/12h (luz/oscuridad) mediante lámparas artificiales (RX600, Solray® 285, Helsinki, Finlandia). Las macetas de plástico (Ø 11 cm, 1.200 cm<sup>3</sup>) se llenaron con 1.500 g de suelo, preparado de acuerdo con los test basados en suelo para plantas OECD 207.1984 (*Test No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests*, 1984); que consistió en una mezcla de suelo natural franco (0-20 cm de profundidad, secado al aire y tamizado a 5 mm) recolectado de la granja experimental de la EPISO-UMH (38°4'9.066" N, 0°59'6.148" W) y arena fina y gruesa (50:25:25 peso:peso:peso, respectivamente) para obtener una textura franco arenosa. El suelo sintético tuvo una distribución granulométrica de 60% arena, 12.5% limo y 27.5% arcilla, una densidad aparente de 12.7 kg m<sup>-3</sup>, un pH de 8.47 y una conductividad eléctrica de 3.58 dS m<sup>-1</sup>.

Los tratamientos se aplicaron superficialmente con una aplicación normalizada de 200 kg N ha<sup>-1</sup> excepto IN100, que fue ajustado a 100 kg N ha<sup>-1</sup>. Se probaron 8 compost de alpechín (T1-C, T1-B, T2-C, T2-B, T3-C, T3-B, T4-C y T4-B; donde T1 a T4 fueron distintas mezclas de compostaje con alpechín mostradas en la primera publicación, y C y B hacen referencia al tratamiento sin aditivos y al tratamiento con aditivación de Biochar). Se prepararon tres tratamientos como control positivo: fertilizantes inorgánicos con contenido NPK de 15-15-15% (IN100 e IN200), Vermicompost de estiércol de cabra (Vermi) y estiércol vacuno fresco (Manure). Además, se prepararon tres macetas que no recibieron ningún tratamiento y se utilizaron como control. En cada maceta se aplicó una plántula de *Lactuca sativa* L. “Celistra” y los tratamientos se aplicaron por triplicado, se distribuyeron aleatoriamente y se regaron consistentemente para mantener la humedad del suelo al 60% de su capacidad de retención hídrica.

El primer ciclo de cultivo duró 51 días hasta la cosecha. Tras cosechar la lechuga, el suelo de cada maceta del mismo tratamiento fue combinado, una fracción fue utilizada para realizar los análisis y otra fue reutilizada como sustrato para el segundo ciclo de cultivo. En el segundo

ciclo de cultivo duró 48 días y se mantuvieron las mismas condiciones que el primer ciclo, incluyendo la variedad de la lechuga y las condiciones ambientales. En el segundo ciclo de cultivo no se aplicó ningún tratamiento al suelo. La cosecha se llevó a cabo de la misma forma que en el primer ciclo y el suelo fue utilizado para análisis.

Para realizar la prueba de fitotoxicidad se llevó a cabo un test de índice de germinación indirecto (IG) a todos los compost utilizando extractos acuosos (1:10 peso/volumen) y *Lepidium sativum* L. tal y como se menciona en los métodos analíticos de la primera y segunda publicación (Zucconi, Pera, y col., 1981). Los dos compost que mostraron los mayores valores de IG se seleccionaron para la prueba de viabilidad como sustrato (T1-C y T4-C) y la fitotoxicidad fue evaluada mediante una prueba de crecimiento vegetal para la determinación directa de toxicidad aguda (OECD, 2006), utilizando diferentes proporciones de cada compost mezcladas con fibra de coco (100/0, 50/50, 25/75, 12.5/87.5 w/w %). Se prepararon en torno a 60 g de sustrato en alvéolos de plantación, con 10 réplicas de cada mezcla, y una semilla de maíz (*Zea mays* L. var "Rostrato") en cada una. Se dejó crecer a las plantas 2 semanas desde la germinación y emergencia del 50% de las semillas del tratamiento control. La humedad de los sustratos se mantuvo al 70% de su capacidad de retención hídrica mediante riegos periódicos. Tras las 2 semanas de crecimiento se contabilizó el número de semillas que emergieron en cada tratamiento y se midió el peso seco y fresco de la parte aérea y radicular de las plántulas. Se calcularon la concentración efectiva media (EC50) y la concentración letal media (LC50) aplicando una regresión lineal a la relación entre el logaritmo del porcentaje de concentración del compost y el efecto tóxico sobre el crecimiento fresco y seco y la emergencia de semillas, ambos comparados frente al control (100% fibra de coco) (Clemente y col., 2020).

Para realizar la analítica de los suelos de las macetas de ambos ciclos, los suelos de todas las réplicas del mismo tratamiento de cada ciclo fueron integrados, secados al aire tras retirar las raíces más grandes, molidos y tamizados a < 2 mm. El pH de las muestras se analizó en extracciones suelo/agua 1:2.5 (peso/volumen), la CE se midió en extractos suelo/agua 1:5 (peso/volumen), el nitrógeno total Kjeldahl (NTK) se midió por el método descrito por Bremner (2018), el fósforo Olsen (Olsen-P) se midió por el método descrito por Olsen y col. (1954), el potasio asimilable (Kava) se midió mediante el método descrito por Knudsen y col. (1982) y el carbono oxidable (Cox) se midió mediante el método Wkley y Black modificado (Yeomans y Bremner, 1988).

El desarrollo vegetal de las lechugas de ambos ciclos se analizó mediante el seguimiento de la cobertura total de las plantas (fCOVER) y el contenido en clorofila (CCC) en los días 10, 25 y 45 desde la plantación. La fCOVER se midió utilizando la aplicación Canopeo (Patrignani y Ochsner, 2015) y el CCC se midió mediante un clorofilómetro manual (Konica Minolta Chlorophyll Meter SPAD-502 Plus) (Casella y col., 2022). La cosecha del primer ciclo de cultivo se llevó a cabo tras 51 días desde el inicio del experimento y la cosecha del segundo ciclo se realizó a los

48 días desde el inicio del experimento. Tras cada una de las cosechas se pesó la biomasa aérea fresca de cada lechuga ( $\text{g maceta}^{-1}$ ), se secaron a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 48 h y la biomasa seca fue pesada de nuevo ( $\text{g maceta}^{-1}$ ) para determinar la producción en peso fresco y seco. Las muestras de lechuga secas se molieron y tamizaron ( $< 1\text{ mm}$ ) para su análisis químico. El carbono total (TOC) y el nitrógeno total (TN) fueron analizados mediante un microanalizador elemental automático (EuroVector, Milán, Italia). Los macro y micronutrientes (Ca, S, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn, Na, P y K) se midieron mediante espectroscopía de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) tras una digestión con  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$  (1:4 volumen/volumen). La eficiencia de uso de nutrientes se calculó para el nitrógeno (NUE) del primer ciclo de cultivo como la relación entre la aplicación de nutrientes mediante los tratamientos y la toma de nutrientes de cada planta (López-Bellido y col., 2005).





# 4. RESUMEN DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN





En este apartado se desarrollan los resultados obtenidos en cada uno de los trabajos que forman esta tesis. Todos ellos fueron publicados en las revistas mencionadas anteriormente y el documento completo se recoge en el apartado Anexos, incluyendo las respectivas tablas y figuras.

La **publicación 1**; sobre compostaje de alpechines; en el cual se utilizaron distintas fuentes de nitrógeno y carbono, se aplicaron como aditivos biochar y un aditivo orgánico-mineral, y se utilizaron lonas para tratar de mitigar las emisiones de efecto invernadero; se publicó en la revista *Agronomy* (2025) bajo el título “*Composting of Olive Mill Wastewater Sludge Using a Combination of Multiple Strategies: Assessment of Improvement in Biodegradability, GHG Emissions, and Characteristics of the End Product*” (Anexo 8.1.) y sus resultados se exponen en los siguientes apartados:

### *Cambios en la temperatura e índices exotérmicos*

Los cambios en el perfil térmico mostraron un rápido incremento de los valores de temperatura en todas las pilas de co-compostaje independientemente de las estrategias utilizadas. Los valores termófilos ( $>40^{\circ}\text{C}$ ) se alcanzaron rápidamente y como mínimo se mantuvieron hasta el primer volteo (20 días), excepto en la Mezcla 3 sin aditivo y sin cobertura. Todas las pilas mantuvieron temperaturas termófilas que se reavivaron tras los volteos hasta 80 días desde el inicio del proceso. Tras el volteo que se llevó a cabo en el día 90, la temperatura decayó progresivamente hasta alcanzar valores ambientales, indicando el fin de la fase bio-oxidativa del compostaje. La máxima temperatura alcanzada mostró diferencias estadísticas cuando se compararon las diferentes mezclas. Además, el comportamiento exotérmico también mostró diferencias estadísticas cuando se compararon las mezclas, tal y como muestra el número de días que cada mezcla pasó a más de 50, 60 y  $70^{\circ}\text{C}$ . Las mezclas 1 y 3 no alcanzaron los  $70^{\circ}\text{C}$ , mientras que la Mezcla 2 y la Mezcla 4 mostraron temperaturas sobre los  $70^{\circ}\text{C}$  durante 1 y 11 días respectivamente. Esto puede ser debido a mejores condiciones de difusión de oxígeno en esas mezclas, ya que el incremento de temperatura es causado por la actividad exotérmica microbiana durante la descomposición de la materia orgánica (Nelson y col., 2007). En lo que respecta a las diferentes variables experimentales, la mayor temperatura promedio se encontró en las mezclas en las que la poda de viña se utilizó como fuente de carbono. Las mezclas con poda de viña alcanzaron temperaturas mayores ( $+10^{\circ}\text{C}$  de máxima y  $+6.1^{\circ}\text{C}$  de media), de manera que sus índices exotérmicos (EXi2) fueron también remarcablemente mayores. La actividad exotérmica no se vio afectada por la fuente de nitrógeno y no se encontraron grandes diferencias en el comportamiento térmico de las pilas de compostaje dependiendo del uso de estiércol vacuno o caprino. El tipo de sistema de compostaje utilizado en este estudio (escala comercial con volteo periódico) no produjo diferencias significativas entre

las pilas con cobertura geotextil y aquellas que no la tuvieron. En este aspecto, estudios como Sun y col. (2022) o Xiong y col. (2023) hablan de un efecto en la temperatura en sistemas de compostaje con coberturas de membrana semipermeable, aunque en ambos casos estos estudios fueron llevados a cabo en sistemas de compostaje con aireación forzada intermitente. Finalmente, los aditivos (biochar y bio-mineral) en la proporción que se probaron (1% en peso sobre materia fresca) no produjeron diferencias significativas. Czekala y col. (2016), co-compostando estiércol de corral con aditivación de biochar, informó sobre un efecto de incremento en la temperatura; y Sebahire y col. (2024), en un experimento de compostaje a escala de laboratorio con estiércol vacuno, indicó un incremento en la temperatura al utilizar biochar en la mezcla. En ambos estudios, la aplicación de biochar fue del 5% a diferencia del 1% utilizado en este.

### *Dinámicas de la materia orgánica y análisis térmico*

La concentración inicial de materia orgánica total fue mayor en la Mezcla 1 (76.9%), preparada con estiércol vacuno y poda de almendro. Las mezclas 2 y 3 mostraron valores iniciales de materia orgánica total cercanos, del 72.2% y 72.1% respectivamente. La mezcla preparada con la combinación de estiércol caprino, poda de viña y alpechín obtuvo el menor valor inicial de materia orgánica total (68.7%). En todas las pilas de este estudio la reducción de contenido en materia orgánica fue mayor durante etapas tempranas de la fase bio-oxidativa, pero con diferente intensidad dependiendo de los materiales iniciales y estrategias de manejo utilizadas. En lo que respecta a las fuentes de nitrógeno utilizadas, durante la fase termófila las pilas preparadas con estiércol vacuno alcanzaron pérdidas de materia orgánica del 34.7%, mientras que las pilas preparadas con estiércol caprino alcanzaron el 30.7% de pérdida de materia orgánica. En un estudio sobre tratamientos de digestión anaerobia, Nleya y col. (2025) encontró menor biodegradabilidad en el estiércol caprino (26% de biodegradabilidad) comparado con el estiércol vacuno (81% de biodegradabilidad), atribuido a hidrólisis más lentas y a una composición más recalcitrante de la parte mineral del estiércol caprino. Un efecto similar se observó en las pilas preparadas con podad de viña (35% de pérdida de materia orgánica) durante la fase termófila comparada con las pilas que contenían poda de almendro (29.7%) como estructurante. Hachicha y col. (2009) reportó que la naturaleza de los agentes estructurantes cumple un rol importante en el compostaje de alpechines, encontrando que el uso de paja de maíz resultó en menores pérdidas de materia orgánica, con una fase termófila muy corta comparada con el uso de residuos de algodón como estructurante. El uso de cubierta geotextil resultó en una menor ratio de mineralización de materia orgánica comparado a las pilas sin cobertura, con valores de degradación de materia orgánica durante la fase termófila del 30.4% y el 34.9% respectivamente y un valor promedio al final del proceso de compostaje del 47.8% en las pilas cubiertas y un 49.3% en las pilas sin cubrir. Este comportamiento contrasta con los

resultados de Xiong y col. (2021) en su estudio de compostaje de estiércol vacuno y paja de trigo, donde una membrana funcional semipermeable fue incorporada, resultando en mayor degradación de materia orgánica. Este resultado discordante observado entre la membrana semipermeable utilizada por Xiong y col. (2021) y la membrana geotextil utilizada en este estudio podría atribuirse a dos factores. El primero podrían ser las características del material de fabricación, que producen dos tipos de cobertura con diferentes propiedades, tales como el tamaño del poro, su distribución, la permeabilidad al aire, o el ratio de transmisión de vapor de agua. Otro factor podría ser el tipo de sistema de compostaje utilizado. Xiong y col. (2023) uso un sistema de aireación forzado mediante un dispositivo en el fondo de la pila que creó un medio de presión ligeramente positiva bajo la membrana, mejorando el flujo de oxígeno en la pila (Xiong y col., 2021). Finalmente, los aditivos utilizados mostraron una degradación de materia orgánica más lenta durante la fase termófila, alcanzando el 31.4% en los tratamientos con biochar, el 30.3% en los tratamientos bio-minerales y el 36.5% sin tratamientos aditivos. Múltiples estudios han mostrado que la adición de aditivos exógenos, como el vinagre de madera (Guo y col., 2021), superfosfato (Zhang y col., 2017) o biochar (Akdeniz, 2019), pueden acelerar la descomposición de la materia orgánica y acortar el tiempo de compostaje. Se ha observado que el biochar puede acelerar la mineralización de materia orgánica, principalmente debido a que las características físicas y químicas del material pueden mejorar la aireación de la pila de compostaje (Godlewska y col., 2017), estimular los microorganismos y sus niveles de actividad enzimática (Yin. Y, Yang, Tang, y col., 2021), y fomentar la degradación de materia orgánica (Khan y col., 2016). En este estudio, los resultados obtenidos no mostraron este efecto de mejora en la degradación de la materia orgánica, aunque el valor final de potencial de degradación ( $A$ ) fue ligeramente superior en las pilas de bio-mineral y biochar en comparación con las no aditivadas. Las R1 y R2 iniciales presentaron valores similares en todas las pilas de compostaje, como se esperaba, ya que el ingrediente principal en todos los casos fue alpechín de la misma balsa de almacenamiento. Además, las proporciones de fuente de nitrógeno y carbono en las mezclas fueron calculadas para obtener relaciones C/N iniciales similares. Según el compostaje progresó, se observó un incremento en R1 y R2 en todos los casos, y se encontraron diferencias ligeramente significativas en el comportamiento durante la fase termófila. El incremento de los valores de R1 y R2 en las mezclas 1 y 2, preparadas con estiércol vacuno, fueron superiores a las de las mezclas preparadas con estiércol caprino. Este incremento de R1 y R2 durante el compostaje indicaron un incremento en el contenido relativo de la fracción de materia orgánica más térmicamente estable en comparación con la menos estable (Martín-Mata y col., 2016). Los valores de R1 y R2 se volvieron estables en las fases de maduración de todas las pilas. Sin embargo, cuando se comparan los valores de R1 y R2 entre muestras tomadas al final de la fase de maduración y las muestras tomadas al final de la fase bio-oxidativa se observan incrementos significativos. Esto sugiere que los compuestos orgánicos alcanzaron buena estabilidad al final de la fase bio-

oxidativa (Díaz y col., 2021), con tan solo cambios mínimos durante la fase de maduración. En lo respectivo al FTIR, los valores muestran una intensa absorción en la región de la banda relacionada con los carbohidratos ( $1096$  y  $1037\text{ cm}^{-1}$ ) (Martínez-Sabater y col., 2009). En lo que respecta a los materiales iniciales, el alpechín alcanzó el valor más alto (0.283), con grandes diferencias comparado con otros materiales iniciales (0.081 el estiércol caprino, 0.067 el estiércol vacuno, 0.065 la poda de almendro, 0.061 la poda de viña y 0.03 el biochar). Al inicio del proceso de compostaje, todas las mezclas presentaron las mayores absorbancias relativas, mostrando la Mezcla 3 la mayor. Durante la fase termófila, la banda correspondiente a los carbohidratos decreció abruptamente en todas las mezclas, tras lo cual los valores se mantuvieron estables hasta el final del compostaje. Esto indica que los carbohidratos, incluyendo los compuestos orgánicos fácilmente biodegradables tales como carbohidratos simples, fueron la fracción más metabolizada por la microflora del compostaje al principio del proceso (Hachicha y col., 2009). El análisis estadístico mostró que la gran diferencia en el índice de termoestabilidad (R1) puede explicarse por la variación en la fuente de nitrógeno. Especialmente durante las fases termófila y bio-oxidativa, el uso de estiércol vacuno como ingrediente en las pilas de compostaje llevó a mayores valores de R1 y R2. Cuando la temperatura a la que ocurre la pérdida de peso es mayor, la fracción orgánica que se degrada es consecuentemente más resistente y ordenada estructuralmente (Díaz y col., 2021). El uso de cobertura también mostró diferencias significativas, pero con valores casi idénticos en R1, especialmente tras el final de la fase bio-oxidativa y durante la fase de maduración. Así pues, en vista de los datos, la cantidad de materia orgánica quemada en las dos regiones de temperatura no fue influenciada por las principales variables consideradas ni por el uso de diferentes fuentes de C o aditivos tales como el biochar o el bio-mineral.

#### *Cambios en los parámetros fisicoquímicos durante el proceso de compostaje*

En lo que respecta al pH, los valores más bajos se encontraron al principio del tratamiento en todas las estrategias utilizadas. Todas las mezclas empezaron con un pH cercano a la normalidad (7.7 en promedio) y terminaron el proceso con valores promedio de 8.3 en la Mezcla 2, 8.5 en la Mezcla 1, 8.8 en la Mezcla 4 y 9.3 en la Mezcla 3, todos más alcalinos. Wichuk y col. (2010) afirma que la liberación de amonio es la responsable del incremento de pH durante el proceso y su volatilización causa una reducción en el pH cercana a 9.5, lo que se correlaciona bien con otros indicadores de estabilidad y madurez. En un test de correlación Pearson, el pH mostró una correlación negativa ( $r = -0.611$  a  $p < 0.001$ ) con el contenido en nitrógeno total de las pilas, apoyando la propuesta de Wichuk y col. (2010) sobre el incremento de pH con las pérdidas de nitrógeno. La conductividad eléctrica está relacionada estrechamente con la salinidad en la bibliografía. En cualquier caso, la correlación de Pearson mostró una correlación positiva fuerte entre el nitrógeno total y la conductividad eléctrica ( $r = 0.696$  a  $p < 0.001$ ) y a

correlación positiva algo menor con el contenido en sodio ( $r = 0.243$  a  $p < 0.05$ ). Tanto la Mezcla 1 como la Mezcla 4 exhibieron un comportamiento similar en su conductividad eléctrica a lo largo del tiempo. Durante la fase termófila (60 días) la conductividad eléctrica decreció en ambas mezclas, pero luego incrementó gradualmente hasta exceder los valores iniciales en los casos donde se utilizó el aditivo bio-mineral o la cobertura. La Mezcla 3 mostró un desarrollo diferente, con un marcado incremento de conductividad eléctrica al final de la fase bio-oxidativa en las pruebas de todas sus variantes. En general, los valores de conductividad eléctrica de los compost maduros obtenidos se encontraron en el rango superior de los reportados en otros trabajos para los compost hechos con alpechín ( $2.46 \text{ dS m}^{-1} - 2.31 \text{ dS m}^{-1}$ ) (Cayuela y col., 2010; Sáez y col., 2021). La elevada conductividad eléctrica de los productos finales puede estar relacionada con el alpechín como ingrediente, dependiendo del origen del alpechín utilizado, ya que puede causar altas conductividades eléctricas (Hachicha y col., 2009) pero no tiene mayor impacto que las fuentes de nitrógeno o carbono (Azzam y Hazaimah, 2021). Ya que la conductividad eléctrica inicial del alpechín utilizado no fue tan alta como la encontrada en las fuentes de nitrógeno, no parece ser la causa de la conductividad eléctrica elevada que se encuentra en el compost final de todas las pilas. El alpechín es bien conocido por su elevada concentración en sustancias fenólicas. Estos compuestos aromáticos tienen un efecto fitotóxico y pueden actuar como inhibidores del crecimiento de algunos microorganismos presentes en el compostaje (Azzam y Hazaimah, 2021). El alpechín de este estudio mostró una alta concentración de compuestos fenólicos,  $29.840 \text{ mg kg}^{-1}$ , más elevada que las reportadas en otros estudios que utilizaron alpechines extraídos de balsas de almacenamiento:  $19.996 \text{ mg kg}^{-1}$  (Sáez y col., 2021) y  $13.400 \text{ mg kg}^{-1}$  (Kavvadias y col., 2017) Este valor disminuyó en las mezclas iniciales debido al efecto de la dilución cuando el alpechín fue mezclado con los distintos ingredientes utilizados, resultando en un rango de  $4554\text{-}6708 \text{ mg kg}^{-1}$ . En todas las pilas de compostaje se observó un descenso brusco en los compuestos fenólicos durante los primeros dos meses, con un comportamiento similar a los descritos por Hachicha y col. (2009) y Sáez y col. (2021). Estos procesos de biodegradación iniciales de la fracción fenólica fueron más pronunciados cuando se utilizó el aditivo bio-mineral en las Mezcla 1 y la Mezcla 2, ambas de estiércol vacuno. Al final del compostaje, la reducción promedio en compuestos fenólicos de acuerdo a las distintas variables fue del 47% al usar aditivo bio-mineral, 27% al aplicar biochar, 23% al no usar aditivo, 28% al utilizar cobertura geotextil y 37% al no utilizar cobertura. Los compost con aditivo bio-mineral mostraron un menor contenido final en polifenoles hidrosolubles al final de la fase de maduración. Cayuela y col. (2006) observó una reducción de los polifenoles hidrosolubles entre el 34% y el 44% durante un compostaje de alpechín en pilas, pero también encontró un comportamiento de incrementos y reducciones que atribuyó a la degradación de lignina. Esto podría explicar el incremento repentino de los polifenoles hidrosolubles encontrados tras la fase bio-oxidativa en

las mezclas 3 y 4. Hachicha y col. (2009) encontró una degradación de fenoles del 72% tras 7 meses de proceso.

### *Emisiones de GEI durante el compostaje y evaluación de GWP*

Los mayores GWP se observaron en la Mezcla 4, mientras que las otras mezclas no mostraron diferencias discernibles. Esto es atribuible a que la Mezcla 4 mostró las mayores emisiones acumuladas de  $N_2O$  (con un incremento en emisiones del 61%, 55% y 48% para la Mezcla 1, 2 y 3 respectivamente). Sin embargo, los resultados estadísticos revelaron que las mayores pérdidas de nitrógeno ocurrieron en la Mezcla 2 debido a las emisiones de  $NH_3$ . No se encontraron diferencias en las emisiones de  $CO_2$  o  $CH_4$  para las mezclas probadas. Con respecto a las fuentes de nitrógeno, el estiércol caprino fue el que mostró las mayores emisiones de  $N_2O$ , aunque el estiércol vacuno emitió más  $NH_3$ . Por lo general, el GWP fue superior en los compost de estiércol caprino. Ba y col. (2020) observó que las emisiones de  $N_2O$  se correlacionaban positivamente con el contenido en nitrógeno total del material a compostar, ya que se producen durante procesos de nitrificación/desnitrificación incompletos bajo condiciones aerobias y anaerobias. Aun así, el estiércol caprino tenía menor nitrógeno total (1.87%) que el estiércol vacuno (2.15%) y a consecuencia las pilas iniciales preparadas con estiércol caprino también tuvieron un contenido de nitrógeno total inicial promedio menor (1.85%) que las pilas de estiércol vacuno (2.05%). Otra explicación puede provenir de Pardo y col. (2015) que, en su meta-análisis sobre el efecto de diferentes sistemas de compostaje en emisiones de gases, sugirió que las prácticas de manejo tienen mayor influencia en las emisiones que la composición de los residuos sólidos en bruto. El uso de poda de viña como fuente de carbono causó un incremento en las emisiones de  $N_2O$  y  $CO_2$  comparado con la poda de almendro. El comportamiento de las emisiones de  $CO_2$  fue similar al mostrado por las pilas con cubierta geotextil, sugiriendo que la fuente de carbono y la presencia de cobertura fueron las causas principales de variabilidad en las emisiones de  $CO_2$ . El uso de aditivos no fue estadísticamente significativo para los diferentes flujos de GEI o no tuvieron un efecto significativo en el GWP. Otros estudios han probado el biochar como aditivo en sistemas de compostaje y han encontrado reducciones en las pérdidas de nitrógeno en un rango de entre el 6% y el 86%, dependiendo de la proporción aplicada, entre un 3% y un 25%, con una reducción proporcional a la proporción utilizada (Sanchez-Monedero y col., 2018). También se han probado de forma satisfactoria, con efecto de mitigación de las emisiones de GEI, otras dosis de aplicación mayores, del 20% (Steiner y col., 2010) al 50% (Dias y col., 2010). Sin embargo, las dosis mayores del 20% son desaconsejadas debido a un potencial efecto negativo en la actividad microbiana que puede ralentizar el proceso (M. Li y col., 2017). Ya que en este estudio el biochar se aplicó al 1%, puede que el porcentaje de aplicación fuera insuficiente para representar un impacto estadísticamente significativo en las emisiones de  $N_2O$ ,  $NH_3$  o  $CH_4$ . Las pilas cubiertas con la membrana geotextil semipermeable incrementaron sus

emisiones de CO<sub>2</sub> en un 67.5% comparado con las pilas de gestión convencional, en contraste con otros estudios. Los autores de Varga y col. (2024) encontraron una reducción significativa de las emisiones de NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y N<sub>2</sub>O cuando se utilizó una membrana semipermeable. Además, Xiong y col. (2023), utilizando un sistema de compostaje con una membrana funcional, reportó una reducción del 23% en las emisiones de CH<sub>4</sub>, lo que se atribuyó a las elevadas temperaturas alcanzadas por la pila cubierta. Además, se observó que, en las pilas cubiertas, el ratio de emisión de CH<sub>4</sub> decreció gradualmente al inhibirse las bacterias metanogénicas debido a las altas temperaturas de la fase termófila (Ma y col., 2020). Sin embargo, como se menciona anteriormente, bajo las condiciones experimentales de este trabajo no se encontraron diferencias entre el comportamiento exotérmico de las pilas cubiertas y sin cubrir.

### *Características del compost final*

Aunque se utilizó la misma proporción de alpechín para preparar todas las mezclas, la Mezcla 1 mostró menor contenido en polifenoles hidrosolubles en el producto final. El uso de aditivo bio-mineral o biochar no mostró ninguna tendencia clara. Aun así, en general, las pilas con cobertura mostraron una menor reducción en el contenido de polifenoles hidrosolubles. Esto es especialmente notable en la Mezcla 4. Al analizar tan solo las pilas sin cobertura, se observa que la Mezcla 3 presenta el mayor contenido en polifenoles hidrosolubles. Los polifenoles hidrosolubles presentaron una correlación Pearson positiva con el pH ( $r = 0.718$  a  $p < 0.001$ ). Los compuestos fenólicos se consideran ácidos débiles y se espera que se neutralicen en medio alcalino (bajo pH), formando sales de fenolato que están menos disponibles para la biodegradación (S. Wang y col., 2015). Esto puede haber ocurrido en la Mezcla 3, ya que tuvo el mayor pH durante el compostaje. Todas las pilas alcanzaron valores por debajo del límite establecido ( $< 8000 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en las regulaciones españolas (RD 506/2013) para la venta de compost derivado de alpechín. El contenido húmico tampoco fue afectado significativamente por el uso de aditivos, aunque los tratamientos con aplicación de biochar mostraron incrementos del 8% y 9% en la formación de sustancias húmicas en las pilas sin y con cobertura respectivamente. Esto coincide con los hallazgos de otros autores (Jindo y col., 2016; M. Li y col., 2017), que propusieron distintos mecanismos para explicar el efecto causado por el biochar: (1) la liberación de compuestos orgánicos solubles y restos aromáticos a partir del biochar puede ser incorporado a las sustancias húmicas, y (2) la adsorción de estos compuestos en la superficie activa. Adicionalmente, los diferentes tratamientos mostraron el mismo comportamiento en pilas cubiertas y sin cubrir, lo que parece indicar que la estrategia de manejo no fue la causa y que las diferencias en este parámetro fueron causadas principalmente por la diferente composición de cada mezcla. Se registraron valores de índice de germinación iniciales bajos en las cuatro mezclas probadas, con 6.7%, 2.1%, 2.2% y 5.3% respectivamente para las mezclas 1, 2, 3 y 4, lo que sugiere severa fitotoxicidad en el sustrato de alpechín durante las fases tempranas de

compostaje. Tras esto, el parámetro aumentó durante todo el proceso hasta alcanzar > 50% en el producto final, excepto la Mezcla 3. De acuerdo con el índice de germinación, la Mezcla 3 mostró altas características fitotóxicas en todos los escenarios probados. Los aditivos no mostraron el mismo comportamiento en otras mezclas y, por tanto, el estudio estadístico no encontró un efecto claro. Sin embargo, en general, el índice de germinación de las pilas con aditivo bio-mineral fue ligeramente superior, quizá relacionado con la previamente mencionada baja concentración de polifenoles hidrosolubles que se encontró. Una correlación Pearson apoya esta conclusión, con una moderada correlación negativa ( $r = -0.500$  a  $p = 0.001$ ) entre los polifenoles hidrosolubles y el índice de germinación. La capacidad de intercambio catiónico de los compost finales fue afectada por la presencia de cobertura. Sin cobertura, no se encuentran diferencias entre los distintos aditivos, pero con cobertura se muestran pequeños incrementos en la capacidad de intercambio catiónico en las pilas que utilizaron biochar o aditivo bio-mineral en comparación con los grupos control. Notablemente, la Mezcla 1 y Mezcla 4 incrementaron su capacidad de intercambio catiónico cuando ambos, cobertura y aditivo bio-mineral, fueron utilizados. Las pilas con biochar también tuvieron mejor rendimiento en este aspecto bajo la cubierta, como se observa en las mezclas 3 y 4. La mayor capacidad de intercambio catiónico promedio encontrada en las pilas con biochar y cobertura se encuentra en concordancia con lo observado por otros autores. Agyarko y col. (2017) reportó que la absorción de tanto la materia orgánica envejecida como disuelta llevó a la formación de oxígeno enlazado orgánicamente con un contenido en grupos funcionales en la superficie del biochar, y la primera y más importante consecuencia de esta modificación de la superficie del biochar es el incremento de la capacidad de intercambio catiónico y su habilidad para retener nutrientes (Sanchez-Monedero y col., 2018).

#### *Contenido en nutrientes y valor económico de mercado*

De acuerdo con el contenido en unidades fertilizantes y sustancias húmicas, las mezclas 2 y 3 produjeron aparentemente un producto de mayor valor económico. Sin embargo, la Mezcla 2 tuvo un rango de valores mayor (199-225€/t) que el de la Mezcla 3 (190-214€/t), sugiriendo que la Mezcla 2 es la mejor alternativa económica. El valor económico de la Mezcla 2 está también más relacionado con su contenido en sustancias húmicas-fúlvicas (61.7% del valor total) que con su contenido NPK (38.3% del valor total). En lo que respecta a los aditivos utilizados, el biochar parece tener algo de impacto sobre el valor económico. El valor de las pilas con biochar varió entre 199 €/t y 214 €/t, aparentemente más alto que el control (182-208 €/t) o las pilas con aditivo bio-mineral (179-208 €/t). Nguyen y col. (2022) menciona que la aplicación de biochar entre el 2.5% y 10% en varios procesos de compostaje que involucran estiércol vacuno incrementaron el nitrógeno total en torno al 45%. En este estudio, el mayor incremento en el nitrógeno total, fósforo total y especialmente potasio total se observó cuando los aditivos bio-mineral y biochar fueron utilizados. Aun así, el incremento en el precio de mercado fue principalmente justificado por el

incremento en sustancias húmicas causado por los aditivos como se menciona anteriormente. Finalmente, el uso de cobertura geotextil no mostró ningún impacto en el valor económico total del compost final comparado con no usarla.

La **publicación 2**; sobre compostaje avanzado y optimizado de alpechines a dos proporciones distintas con aditivación de biochar y un consorcio microbiano; se publicó en la revista *Environmental Pollution* (2026) bajo el título “*Combined effect of assisted Bioaugmentation and Biochar incorporation on Olive Mill Wastewater sludge composting*” (Anexo 8.2.) y los resultados se desarrollan en los siguientes apartados:

### *Evolución de la temperatura e índices exotérmicos*

Las temperaturas medidas durante la fase bio-oxidativa mostraron que todas las pilas llegaron a temperaturas termófilas en los primeros 5 días del proceso. La fase termófila (temperatura sobre 45 °C) es el resultado de la generación de calor por la actividad microbiana sobre los materiales fácilmente accesibles (Chowdhury y col., 2014). La misma tendencia se observa en el co-compostaje de alpechín a escala industrial (Gigliotti y col., 2012; Michailides y col., 2011). Desde el primer volteo (día 6 del proceso), se observó un comportamiento distinto entre las pilas de compostaje preparadas con la Mezcla A y las preparadas con la Mezcla B, lo que se reflejó en un valor final del Índice Exi2 significativamente mayor. Además, las pilas preparadas con la Mezcla A también mostraron mayores temperaturas máximas, mayor temperatura promedio y mayor número de días a más de 50 °C, 60 °C y 70 °C. La aplicación de inóculo no produjo grandes diferencias comparado con las pilas sin inoculación. Sin embargo, el biochar como aditivo causó una pequeña reducción del número de días que las pilas se mantuvieron a más de 60 y 70 °C, reduciendo así el valor final del Índice EXi2 y llevando a la reducción de la temperatura promedio en 3 °C. Czekala y col. (2016) observó que la fase termófila fue 4-5 días más corta en las pilas de compostaje con enmienda de biochar al 5%. Vandecasteele y col. (2016) también encontró menores temperaturas en el compostaje con biochar y mayor descenso en la velocidad de degradación de materia orgánica que puede ser el causante de la rápida estabilidad térmica. Sin embargo, Olivera-Begué y col. (2025) no encontró ningún efecto en las temperaturas máximas alcanzadas en pilas de compostaje de fracción orgánica de residuos municipales cuando se aplicó biochar a partir de madera en un 10%. Pila A-Inoc mostró el mayor Índice EXi2. Aun así, los resultados obtenidos sugieren mayor variación en el comportamiento exotérmico de las pilas de la Mezcla A que en las de la Mezcla B. Pila A-Bioch no recuperó temperaturas termófilas tras el quinto volteo, aparentemente llegando a la estabilidad térmica en etapas tempranas. La Pila A-Inoc mantuvo la fase termófila más tiempo y obtuvo así el mayor valor EXi2 final. Por último, la combinación de biochar e inóculo (Pila A-

Bioch+Inoc) aparentemente indujo a la reducción del perfil térmico durante todo el proceso de compostaje. En contraste, entre las pilas preparadas con la Mezcla B, Pila B-Bioch mostró un Índice EXi2 mayor que el resto, a pesar de que el biochar mostró estadísticamente menor EXi2 en promedio.

### *Dinámica de la degradación de materia orgánica*

En lo que respecta a la mineralización de la materia orgánica, todas las pilas se ajustaron a curvas de degradación similares a las observadas en otros estudios de compostaje con alpechín o estiércol de cerdo (Hachicha y col., 2009; A. Santos y col., 2016) con degradación de materia orgánica más intensa al inicio del proceso y una reducción de velocidad con la subsecuente estabilización del contenido en materia orgánica restante. En el modelo de la ecuación cinética de primer orden, el ratio de degradación ( $k$ ) depende de la concentración de materia orgánica mineralizable. En este caso, el ratio de degradación medio de las pilas de Mezcla A fue mayor (0.0305) que el de las pilas de Mezcla B (0.0205). Los datos sugieren que un mayor porcentaje de alpechín en la Mezcla B es el causante de la menor  $k$ , lo que puede deberse a su naturaleza recalcitrante (Paraskeva y Diamadopoulos, 2006). Esto es apoyado por la menor actividad termófila de la Mezcla B. El mayor ratio de degradación de materia orgánica de la Mezcla A se encuentra en la Pila A-Control, en contraste con la Pila B-Control que no superó a la Pila B-Bioch ni la Pila B-Inoc. Por otro lado, el máximo potencial de degradación ( $A$ ) de la Pila B-Inoc es mayor que el promedio de la Mezcla B, sugiriendo que el inóculo puede ser capaz de degradar los compuestos orgánicos recalcitrantes presentes en el alpechín a mayor velocidad que las bacterias presentes de forma natural en las pilas y que esto se muestra de forma notable en las dinámicas de la materia orgánica, ya que la actividad microbiana del compost se reduce en presencia de alpechín (Abid y Sayadi, 2006).

### *Evolución de los parámetros físico-químicos durante el compostaje y características del compost final*

Las propiedades de los compost muestran una idea del grado de madurez y estabilidad que han alcanzado, así como su capacidad fertilizante (Bernal y col., 2009). En lo que respecta a los valores de pH, al inicio del proceso las pilas de Mezcla A mostraron valores cercanos a 7, pero al añadir biochar el pH incrementó ligeramente, probablemente debido al pH alcalino del biochar. En las pilas de Mezcla B, una composición más alta en alpechín indujo una reducción inicial del pH debido a las características ácidas del alpechín utilizado (5.36). En dichas pilas, la proporción de biochar aplicada (5% sobre peso fresco) no fue capaz de afectar al pH inicial de la mezcla. Durante el proceso se observó un efecto de alcalinización en todas las pilas, especialmente en las de Mezcla B. El incremento en pH durante el compostaje puede ser debido a la descomposición de las sustancias fácilmente biodegradables como los ácidos orgánicos

(Dias y col., 2010). Además, el elevado contenido en  $\text{NH}_4^+$  restante en las pilas de la Mezcla B hacia el final del compostaje pudo contribuir al elevado pH observado (Steiner y col., 2010). Los valores de CE iniciales fueron ligeramente reducidos por el incremento en la concentración de alpechín, debido a la reducción de la proporción de estiércol vacuno en la mezcla, el cual presentó elevados valores de CE. Todo el compost mostró valores superiores a  $7\text{dS m}^{-1}$ . Un valor de CE superior a  $4\text{dS m}^{-1}$  es considerado un potencial inhibidor del crecimiento vegetal (Luo y col., 2018). En otros estudios, extractos acuosos de alpechín aplicados en el suelo fueron utilizados de forma eficiente como inhibidores de la nitrificación (Di Martino y col., 2021). Esto podría explicar por qué en este estudio la nitrificación observada en la Mezcla B (22.4% de media) fue inferior al observado en las pilas de la Mezcla A (32.5% de media), a pesar de que ambos mostraran un contenido inicial en  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  similar. Aun así, el inóculo aparentemente incrementó esta actividad de manera similar en ambas mezclas, Mezcla B (+8.69%) y Mezcla A (+8.21%), al compararlas con sus respectivos controles. Zhao y col. (2020) describe un comportamiento en el cual la inoculación con ciertos consorcios bacterianos termotolerantes aumenta la nitrificación y las poblaciones de bacterias nitrificantes, especialmente durante la fase termófila. En contraste, en este trabajo se observó que la inoculación aumentó la nitrificación especialmente durante la fase de maduración, puede que debido posibles características mesófilas del inóculo. Por otro lado, el biochar aparentemente causó una reducción en la nitrificación de la Mezcla A ( $-5.03\%\pm 0.82$  vs Control) que no fue notable en las pilas de la Mezcla B con biochar. La aplicación de biochar aparentemente causó el menor incremento de TN durante el proceso. Las pilas con biochar mostraron un incremento del  $39.8\%\pm 7.09$  del TN de media, inferior al del control, inóculo y biochar+inóculo, los cuales incrementaron su TN en  $57.2\%\pm 9.26$ ,  $55.3\%\pm 6.07$  y  $52.8\%\pm 4.59$  respectivamente. Aunque el fósforo al final del proceso fue muy similar entre los compost, el incremento en fósforo hacia la fase de madurez en los compost con biochar+inóculo fue aparentemente inferior ( $58.3\%\pm 4.31$ ) al del resto de casos. El inóculo y el biochar no provocaron este comportamiento de forma independiente, ya que el inóculo aparentemente aumentó el fósforo más que cualquier otra variable ( $79.8\%\pm 11.5$ ). Respecto al potasio del compost final, los datos sugieren que la Mezcla B ( $28.0\text{ g/kg}\pm 1.93$ ) tuvo mayor contenido en este nutriente que la Mezcla A ( $25.2\text{ g/kg}\pm 1.39$ ). El alto contenido en potasio del alpechín puede ser el principal causante de esta diferencia. Además, los datos también sugieren que las pilas con biochar terminaron teniendo menores concentraciones de potasio ( $25.6\text{ g/kg}\pm 1.49$  para el biochar y  $25.0\text{ g/kg}\pm 1.56$  para el biochar+inóculo) y menores incrementos en el potasio durante el proceso ( $4.34\text{ g/kg}\pm 5.20$  para el biochar y  $4.77\%\pm 2.49$  para el biochar+inóculo) comparadas con las concentraciones de potasio finales de los controles y las pilas con inóculo ( $28.7\text{ g/kg}\pm 2.19$  y  $27.1\text{ g/kg}\pm 2.55$  respectivamente) y con sus incrementos en potasio durante el compostaje ( $17.2\%\pm 13.0$  y  $23.4\pm 8.82$  respectivamente).

### *Emisiones de GEI durante el compostaje y análisis del GWP*

Las mayores emisiones de  $N_2O$  se encontraron en la Pila A-Control y se redujeron con la aplicación de biochar, inóculo y biochar+inóculo progresivamente. Sin embargo, las menores emisiones de  $N_2O$  de la Mezcla A (Pila A-Bioch+Inoc) siguieron siendo más elevadas que las mayores emisiones de la Mezcla B (Pila B-Control). Por otro lado, la Pila B-Control y la Pila B-Inoc causaron la menor cantidad de emisiones de  $N_2O$  y fueron significativamente parte del mismo grupo estadístico. Ambos, biochar e inóculo, están relacionados con menores emisiones de  $N_2O$  promedio. Este comportamiento puede estar relacionado con la mejora del proceso de nitrificación, y tanto los organismos nitrificantes como el biochar han sido propuestos como alternativas para incrementar los índices de nitrificación en otros trabajos (Cáceres y col., 2018; Yin, Y., Yang, C. y col., 2021). Las emisiones de  $NH_3$  fueron notablemente superiores en la Pila A-bioch, seguida por la Pila A-Inoc. La Pila A-control tuvo menores emisiones de  $NH_3$  que cualquier otro tratamiento de la Mezcla A. Nguyen y col. (2022) observó que el biochar puede absorber  $NH_3$ , disminuyendo las emisiones de este gas, y otros autores encontraron que el biochar estimula la volatilización de amonio cuando se aplica en condiciones ácidas (Sha y col., 2019). A pesar de que las emisiones fueron generalmente superiores en la Mezcla A, las emisiones de  $CO_2$  de la Pila A-bioch+inoc fueron estadísticamente similares a las de la Pila B-bioch y Pila B-bioch+inoc. Aun así, las menores emisiones de  $CO_2$  se encontraron en la Pila B-control y la Pila B-inoc. La Pila A-control y la Pila A-inoc mostraron las mayores emisiones, a pesar de que el inóculo causó una reducción en las emisiones de la Mezcla B comparada con su control. Las emisiones de  $CO_2$  están directamente correlacionadas con la actividad de los microorganismos, sugiriendo que la Pila A-inoc y la Pila A-control desarrollaron sus comunidades microbianas pero la Pila B-inoc no lo hizo (Gómez y col., 2006). Las emisiones de  $CH_4$  más bajas se encuentran en la Pila A-bioch+inoc y la Pila B-control, sugiriendo que el biochar junto al inóculo tuvieron efectos que provocaron esta actividad similarmente baja. Además, la Pila B-bioch y la Pila B-bioch+inoc mostraron emisiones similares, expresando evidencia estadística del biochar teniendo un efecto de disminución de las emisiones de  $CH_4$  de las pilas de compostaje con alpechín. Finalmente, la Pila B-inoc emitió las mayores cantidades de  $CH_4$  tras la Pila A-control y puede ser causado por la mayor actividad microbiológica relacionada con el alpechín, aunque no hay una relación estadística como para afirmarlo. Las emisiones de  $CH_4$  son causadas generalmente por la descomposición anaeróbica de la materia orgánica, sugiriendo problemas de degradación de la Pila B-inoc, que también emitió similares cantidades de  $CO_2$  que la Pila B-control (Chen y col., 2014). Esto puede ser debido a la alta concentración de alpechín de la Mezcla B, ya que la Pila A-inoc redujo sus emisiones de  $CH_4$  comparado con su control. En lo que respecta al GWP total, el mayor GWP se encontró en la Mezcla A, probablemente relacionado al efecto ecotóxico del alpechín y sus efectos en altas concentraciones sobre el

microbioma de las pilas de la Mezcla B (Di Martino y col., 2021). El inóculo y el biochar causaron una reducción estadísticamente significativa de las emisiones de  $N_2O$  y un incremento en las emisiones de  $NH_3$ . La reducción de las emisiones de  $N_2O$  por el biochar fue reportada en suelos, apoyando este resultado, pero el incremento en las emisiones de  $NH_3$  puede estar mostrando bajos ratios de nitrificación y la volatilización de formas del nitrógeno, pero en forma de gases sin efecto sobre el cálculo del GWP (Borchard y col., 2019; Cáceres y col., 2018). El biochar también causó una reducción en las emisiones de  $CH_4$ , un comportamiento anteriormente observado en otras condiciones por otros autores (Nan y col., 2021; Nguyen y col., 2022). Las emisiones de  $CO_2$  de las pilas con inóculo fueron menores que las de sus contrapartes sin inóculo, a pesar de que las emisiones de  $CO_2$  son marcadores de actividad microbiológica (Gómez y col., 2006). Por último, el biochar y el inóculo provocaron efectos similares sobre las emisiones de GWP de sus respectivas pilas, siempre causando una reducción de las emisiones finales.

### *Reducción de los compuestos fenólicos y efecto en la toxicidad*

La evolución de los compuestos fenólicos totales durante el compostaje exhibió una tendencia general a decrecer en ambas mezclas, reflejando una degradación microbiológica progresiva de los compuestos recalcitrantes (Bouhia y col., 2021). Esta reducción está comúnmente vinculada con la madurez del compost y la reducción en la fitotoxicidad (Martínez-Gallardo y col., 2020). En la Mezcla A, todos los tratamientos mostraron un descenso significativo del contenido fenólico en relación a sus valores iniciales (~2330 mg/kg). El tratamiento de biochar (Pila A-bioch) alcanzó la menor concentración final (1501 mg/kg), seguido por el tratamiento de solo inóculo (Pila A-inoc, 1588 mg/kg) y el efecto de ambos tratamientos combinados (Pila A-bioch+inoc, 1780.78 mg/kg). Estos resultados sugieren que tanto el biochar como el inóculo potenciaron la degradación de fenoles, probablemente mediante la estimulación microbiana y/o mecanismos de absorción (Kavvadias y col., 2017). A pesar del descenso general, todos los tratamientos de la Mezcla A mostraron un incremento transitorio en el contenido en fenoles en torno al día 60, coincidiendo con la fase termófila. Este pico está probablemente relacionado con la despolimerización enzimática del material lignocelulósico, temporalmente incrementando los fenoles en la fase soluble (Jurado y col., 2014; Martínez-Gallardo y col., 2020; Qin y col., 2016). En la Mezcla B, caracterizada por una mayor proporción de alpechín y una consecuente recalcitrancia química, los tratamientos relacionados con la inoculación microbiana (Pila B-inoc y Pila B-bioch+inoc) mostraron las menores concentraciones finales de compuestos fenólicos (1849 y 180 mg/kg respectivamente). Estos valores fueron inferiores a los observados en el control (Pila B-control, 2070 mg/kg) y el tratamiento de biochar (Pila B-bioch, 1976 mg/kg). Estos resultados sugieren que el inóculo microbiano fue particularmente efectivo en condiciones más inhibitorias, posiblemente debido a las capacidades enzimáticas y la resiliencia del consorcio microbiano introducido (Martínez-Gallardo y col., 2020). En general, el inóculo microbiano mostró

mayor efectividad en la Mezcla B, que contenía una mayor carga orgánica y mayor fitotoxicidad, indicando su viabilidad para el compostaje de sustratos químicamente complejos. En contraste, el biochar mostró un rendimiento más consistente en la Mezcla A, posiblemente debido a su estructura porosa y su habilidad para adsorber nutrientes en entornos menos recalcitrantes (Nain y col., 2024). Aunque el uso combinado de biochar e inóculo no siempre resultó en efectos sinérgicos, contribuyó consistentemente a la reducción de compuestos fenólicos y la estabilización del compost. Estos resultados remarcan el potencial del protocolo de bioaumentación aplicado en este trabajo para mejorar la degradación de fenoles en una matriz recalcitrante y rica en lignocelulosa. El índice de germinación (IG) es un indicador bien establecido para evaluar la fitotoxicidad de enmiendas orgánicas, así como la madurez y estabilidad biológica del compost (Yang y col., 2021). En este estudio, la fitotoxicidad se evaluó utilizando semillas de *Lepidium sativum* y el protocolo descrito por Zucconi y col. (1984). Los valores de IG por debajo del 50% denotan severa fitotoxicidad, entre 50-80% moderada fitotoxicidad y entre 80-100% ausencia de fitotoxicidad. Los valores superiores al 100% denotan potencial fitoestimulante. Al final del proceso de compostaje (día 160), se observan claras diferencias entre las dos mezclas. Todos los tratamientos de la Mezcla B alcanzaron valores de IG superiores al 80%, indicando madurez y ausencia de fitotoxicidad. Los tratamientos inoculados (Pila B-inoc) alcanzaron los valores más elevados (111.4%), sugiriendo un efecto estimulador en la germinación y enraizamiento temprano de las semillas. Alternativamente, los valores de IG de la Mezcla A se encontraron en un rango entre 73.6% y 80.9%, con tan solo el tratamiento inoculado superando el 80%, reflejando una mejora modesta en la reducción de la fitotoxicidad. Estos hallazgos resaltan la efectividad de la inoculación y la mejora en la calidad del compost, particularmente bajo condiciones de elevada carga orgánica y alta recalcitrancia química. El inóculo probablemente contribuyó a la degradación de los compuestos fitotóxicos y, bajo ciertas condiciones, promovió efectos positivos en el desarrollo temprano de las plantas (Xu y col., 2019). Resultados similares fueron observados por Hu y col. (2019) donde se usó un consorcio capaz de degradar la lignocelulosa en el co-compostaje de sustrato de setas agotado con estiércol porcino. Una explicación razonable de este fenómeno fue que la inoculación pudo incrementar la población de microorganismos, acelerando así la descomposición de las sustancias fitotóxicas tales como ácidos orgánicos. Por último, es interesante remarcar que, aunque los compost finales de la Mezcla B mantuvieron mayores concentraciones de compuestos fenólicos, exhibieron superiores valores de IG comparados con la Mezcla A. Este resultado puede ser explicado por las diferencias cualitativas en los perfiles fenólicos, ya que compuestos específicos a concentraciones moderadas pueden causar respuestas estimuladoras en plantas, en lugar de efectos inhibitorios (Bouhia y col., 2023).

### *Perfil microbiológico del compost final*

La composición microbiana del compost final sirve como un indicador clave de su madurez biológica, estabilidad funcional y potencial de rendimiento agronómico. En general, la inoculación microbiana incrementó la abundancia de los grupos microbianos generales y funcionales en ambas mezclas, aunque su eficacia dependió de las características del sustrato. En la Mezcla A, el mayor conteo microbiano fue observado consistentemente en los tratamientos inoculados y combinados (bioch+inoc). La abundancia total de los grupos bacterianos y fúngicos alcanzó 8.07-8.99 y  $>5.2 \log \text{ UFC g}^{-1}$  respectivamente en esos tratamientos, contrastando con los menores valores del control y los tratamientos de solo biochar. Los grupos funcionales como los microorganismos glucolíticos, quitinolíticos y solubilizadores de nutrientes siguieron la misma tendencia, con la inoculación aumentando las poblaciones microbianas de forma significativa. Estos resultados sugieren que la aplicación del inóculo estimuló de forma efectiva el desarrollo microbiano en esta matriz (Lerma-Moliz y col., 2024; Li, J. y col., 2023). El medio físico-químicamente estable de la Mezcla A aparentemente facilitó la persistencia y expresión a lo largo del tiempo de los microorganismos. En la Mezcla B, el tratamiento combinado Pile B-bioch+inoc expresó el mayor número conteo microbiano de entre los grupos, incluyendo bacterias totales (8.10 log UFC g<sup>-1</sup>), hongos (5.88 log UFC g<sup>-1</sup>), y organismos glucanolíticos y quitinolíticos (6.06 y 5.65 log UFC g<sup>-1</sup>), así como organismos solubilizadores de Ca y P. En contraste, el inóculo solo mostró un recuento bacteriano y fúngico reducido, indicando que la presencia de biochar fue esencial para permitir la colonización microbiana bajo condiciones más inhibitorias. Esto sugiere que la capacidad del biochar para estabilizar el entorno y retener nutrientes es fundamental para mejorar la persistencia y actividad del inóculo. Estos resultados sugieren un efecto sinérgico entre el biochar y los inoculos microbianos en facilitar la actividad de las comunidades con potencial de biocontrol (Li, J. y col., 2023; Nguyen y col., 2022).

La **publicación 3**; sobre la prueba agronómica de los compost de alpechín producidos para la primera publicación en lechugas plantadas en macetas en dos ciclos de cultivo y la prueba de uso de los compost como sustrato para cultivos sin suelo utilizando maíz; se publicó en la revista *Agronomy* bajo el título "*Agronomic assessment of olive mill wastewater sludge compost on Lactuca sativa and Zea mays: fertilizing efficiency and use as substrate for soilless crops*" (Anexo 8.3.) y sus resultados se muestran en los siguientes apartados:

### *Parámetros del suelo*

Los suelos donde se aplicaron los tratamientos de compost mostraron diferencias en el Cox al final del primer ciclo de cultivo, con valores mayores que los tratamientos inorgánicos y similares a otros tratamientos orgánicos como Manure o Vermi. Tras el segundo ciclo de cultivo,

los valores de Cox en los suelos con compost de alpechín fueron similares o superiores a los de los otros tratamientos orgánicos. La única excepción a este comportamiento general fue T4-B, que mostró los mayores valores de Cox tras el primer ciclo de cultivo y el menor valor tras el segundo ciclo. El incremento en el Cox tras la aplicación de compost muestra un aumento en el stock de carbono del suelo y un incremento en la materia orgánica edáfica (Doublet y col., 2010; Picariello y col., 2020). Otros estudios también mencionan que el alpechín, asumiendo que se neutralizan sus efectos fitotóxicos, puede ser utilizado como enmienda en áreas semiáridas pobres en materia orgánica (Piotrowska y col., 2011). De Sosa y col. (2021) comentaron un efecto acumulativo en el secuestro de carbono en los suelos tratados con compost urbano y agroindustrial en cultivos de oliva bajo condiciones mediterráneas durante años consecutivos.

La aplicación de los tratamientos de compost causó un incremento en el NTK de los suelos al final del primer ciclo de cultivo, con valores similares a los de los tratamientos inorgánicos. Además, los suelos con tratamientos de T1 mostraron mayores valores de NTK que los inorgánicos. Todos los tratamientos fertilizantes tuvieron valores estadísticamente superiores al control sin fertilización, siendo Vermi el que más destacó. Doublet y col. (2010) observó que las partículas de la fracción de tamaños 0-50  $\mu\text{m}$  presentaron los mayores valores de humificación de materia orgánica y contribuyeron en mayor medida a la mineralización del nitrógeno del lodo y a la disponibilidad del nitrógeno tras la aplicación de compost al suelo.

Respecto al Olsen-P, al final del primer ciclo de cultivo los valores más altos se encontraron en el tratamiento IN200, como se esperaba. Este tratamiento tuvo una aplicación de fósforo 2,2-2,5 veces superior al de los tratamientos de compost. En este caso, los compost T1-C, T2-B y T3-B mostraron valores finales similares a los del tratamiento IN100. Al final del segundo ciclo de cultivo se observó la misma tendencia, pero con menores diferencias, incluso no llegando a encontrar diferencias significativas al comparar IN200 con los tratamientos T1-B, T1-C, T2-C, T3-C y T3-B. El suelo del tratamiento T2-B mostró el mayor contenido en Olsen-P. Grigatti y col. (2019), en un experimento de macetas con *Lolium perenne* L., discutió que el digestato de biorresiduos y en particular el compost de lodo de depuradora asegura la disponibilidad del fósforo durante dos ciclos de cultivo gracias a la proporción de sus formas del fósforo, con un 26-38% de fósforo lábil y un 5-11% de fósforo extraíble (NaOH-P), los cuales reconocidos que se encuentran disponibles para las plantas de forma inmediata y a medio-largo plazo respectivamente (Tampio y col., 2016). De este modo, parece que la eficiencia relativa del aporte de fósforo en el compost de alpechín utilizado podría ser similar a la de estos tipos de compost de lodo.

Al final del primer ciclo de cultivo, los suelos tratados con compost con alpechín mostraron valores de Kava significativamente mayores que los del resto de tratamientos. Este comportamiento fue especialmente marcado en los compost T3 y T4 (con estiércol caprino), que superaron a los tratamientos inorgánicos. T1 y T2 mostraron este mismo efecto, pero no de forma tan potente como los tratamientos previos, aunque llegaron a causar valores similares de Kava

a los de los tratamientos inorgánicos. Tras el segundo ciclo de cultivo, todos los compost de alpechín mostraron este incremento en el Kava del suelo por encima de los tratamientos inorgánicos e incluso similares los orgánicos en algunos casos. Piotrowska y col. (2006) también observó incrementos en el Kava de los suelos tras la aplicación de alpechín en un experimento de mineralización y atribuyeron el efecto a la naturaleza acídica del alpechín. Sin embargo, a diferencia de en dicho estudio, ninguno de los tratamientos de alpechín de este estudio fue acídico ni tampoco lo fue el suelo.

### *Rendimiento del cultivo*

En el primer ciclo de cultivo, todos los tratamientos orgánicos excepto T1-C tuvieron estadísticamente mayor rendimiento en peso fresco y seco que el control. El mejor resultado de rendimiento corresponde al tratamiento inorgánico IN200, seguido por IN100. Esto sugiere que la disponibilidad de nutrientes del compost de alpechín fue similar a la de otros tratamientos inorgánicos como estiércol o vermicompost, pero es sobrepasada por la de los tratamientos inorgánicos, ya que los nutrientes disponibles están directamente relacionados con el rendimiento y la producción (Alkhader y col., 2013).

Tras el segundo ciclo de cultivo, el peso seco de los tratamientos orgánicos fue ligeramente superior al del control, pero sin diferencia estadística. Incluso cuando el peso seco de los tratamientos fue similar al del control algunos tratamientos tuvieron rendimientos algo inferiores, como T3-B o Manure, que fueron los más bajos; y otros tuvieron rendimientos notables, como T4-By T4-C, que causaron el mayor incremento en peso seco de entre los tratamientos orgánicos. Hernández y col. (2016) observaron un rendimiento significativamente superior al aplicar compost de estiércol en dos cultivos consecutivos de lechuga al compararlos con una fertilización inorgánica, pero en este estudio el ratio de aplicación de nitrógeno de los compost fue de 1,8 g N/maceta contra 0,5 g N/maceta en el caso de la fertilización inorgánica. Por otro lado, en un estudio a largo plazo bajo condiciones de campo, de Sosa y col (2021) no observaron diferencias en el rendimiento de producción de olivas o el crecimiento de los olivos al comparar la aplicación de compost urbano con la de fertilizantes inorgánicos.

### *Desarrollo del cultivo*

Tras 10 días desde el inicio del primer ciclo de cultivo no se encontraron diferencias en el CCC entre los tratamientos y el control, tan solo IN1000 mostró un contenido en clorofila significativamente superior, mientras que Vermi y T1-C mostraron influencia negativa durante el crecimiento inicial. Tras 25 días, IN100, IN 200, Vermi, T3-C y T4-B mostraron valores de CCC significativamente superiores al control, mientras que el resto de tratamientos presentaron mayores valores que el control pero sin diferencias estadísticas. En la cosecha, 45 días tras el inicio del ciclo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los

tratamientos y el control excepto IN200, IN100 y T2-C. Todos los tratamientos mostraron una evolución similar en el CCC, aunque con diferencias entre ellos. Todos los tratamientos, especialmente IN200 e IN100, indujeron un incremento rápido (0-25 días) en el contenido en clorofila de las hojas, y luego se observó un marcado descenso hasta la cosecha. El descenso en CCC observado desde el día 25 fue el siguiente: IN100 -34,1%, IN200 -33,7%, Vermi -16,4%, Manure -9,2%, y un valor promedio entre los compost de -9,0%. Este parámetro aporta información sobre el estado nutricional de las plantas y se correlaciona con el contenido en nitrógeno en las hojas (Jayara y col., 2023). El comportamiento observado otorga una idea de como los nutrientes se encuentran disponibles en los diferentes tratamientos. Los fertilizantes inorgánicos presentan un contenido en nutrientes disponibles para las plantas desde las primeras fases de crecimiento, mientras que los compost presentan un comportamiento similar al del vermicompost o el estiércol, estimulando el crecimiento de la planta en estados de intermedios y de senescencia. El Hayany y col. (2023) reportó que la aplicación de té de compost y sustancias húmicas tuvo un menor efecto estimulante en la planta durante las fases iniciales e intermedias del crecimiento, mientras que en las fases finales mostró efectos significativamente positivos en las propiedades biométricas y fisiológicas, tales como la biomasa o la producción de clorofila.

En el segundo ciclo de cultivo, durante los primeros 10 y 25 días, tan solo IN200 mostró mayores valores de CCC que el control. Tras 45 días, los tratamientos inorgánicos (IN100 e IN200), Manure, T1-B, T3-C y T4-B sobrepasaron al control. Todos los demás tratamientos fueron superiores al control pero, debido a la amplia dispersión de los datos en esta etapa del crecimiento, no se encontraron diferencias estadísticas. Las dinámicas observadas sugieren que, excepto con IN200, el nitrógeno residual de los tratamientos no fue suficiente para cubrir la demanda del cultivo hasta la cosecha. Estos resultados se correlacionan con los del rendimiento.

Respecto a las dinámicas del fCOVER, el primer ciclo no mostró diferencias significativas durante los primeros 10 días. Tras los primeros 25, todos los compost excepto T2-B mostraron un incremento similar en fCOVER al de Manure y ligeramente menor al del Vermi, mientras que los tratamientos inorgánicos causaron el mayor efecto estimulante en las plantas. Tras 45 días desde el inicio del ciclo de cultivo, todos los tratamientos obtuvieron un incremento similar en fCOVER respecto al control. El análisis estadístico estableció tres grupos distintos: los tratamientos control, todos los tratamientos orgánicos junto IN100, y finalmente IN200 como el grupo de mayor desarrollo de fCOVER.

Tras 10 días del segundo ciclo de cultivo, ninguno de los tratamientos excepto IN200 mostró efectos en el fCOVER al compararlo con el control. Tras 25 días, T2-B mostró un incremento significativo comparado con el control. Todos los demás tratamientos fueron estadísticamente similares al Vermi, Manure y el control. Al final del segundo ciclo de cultivo, el comportamiento previo persiste. El desarrollo de la cobertura vegetal fue inferior al observado en el primer ciclo de cultivo, lo que corrobora la idea del agotamiento de nutrientes durante el

segundo ciclo de cultivo. No hubo evidencia para sugerir ningún efecto negativo en el desarrollo causado por el compost, ya que los tratamientos con alpechín mostraron el mismo CCC y fCOVER o superior al control en todos los muestreos y ambos ciclos de cultivo, similar a los otros tratamientos orgánicos e IN100.

### *Eficiencia de uso de nutrientes*

En el primer ciclo de cultivo, las plantas con compost de alpechín como tratamiento mostraron similares contenidos en nitrógeno a las de los tratamientos Vermi y Manure, que fueron estadísticamente mayores al control, excepto T1-C. Las diferencias pueden ser a causa de la disponibilidad del nitrógeno de cada tratamiento, ya que la dosis fue igual para todos los tratamientos (200 kg de nitrógeno/ha) y los tratamientos inorgánicos tienen más disponibilidad y eficiencia de uso del nitrógeno que los orgánicos (Fandika y col., 2007). La absorción de fósforo de los cultivos fue superior en los tratamientos inorgánicos, seguidos por Vermi y Manure. Al comparar los tratamientos de compost con Vermi y Manure, tan solo T1-B mostró valores similares de absorción de fósforo. A pesar de esto, Vermi y Manure alcanzaron los mayores valores de absorción de fósforo, y es interesante destacar que los compost tuvieron mayor contenido en fósforo que Manure y T1-B, T3-C, T3-B, T4-C y T4-B tuvieron mayor contenido que Vermi. Sin embargo, durante el segundo ciclo de cultivo se observó un patrón distinto: la absorción de fósforo del compost fue superior a la de Vermi y en muchos casos comparable o superior a la de Manure (T1-C, T2-B, T3-C, T4-B y T4-C). De este modo, parece que los compost de alpechín representan una fuente valiosa de nitrógeno disponible para las plantas a corto plazo y también una fuente de fósforo a medio plazo.

Los cultivos tratados con compost de alpechín mostraron una absorción de potasio similar a la del vermicompost, estiércol y el control, siendo superados por los tratamientos inorgánicos. Paradójicamente, el Kava de los suelos fue superior en los tratamientos de compost de alpechín que en los inorgánicos. Yin y col. (2023) observó que mayores concentraciones de potasio en los fertilizantes pueden hacer decrecer la eficiencia de uso del nutriente. Además, los desbalances en la fertilización de potasio pueden causar filtraciones del potasio soluble en el suelo, previniendo la absorción por la planta (Z. Li y col., 2019; M. Yin y col., 2023).

Tras el segundo ciclo de cultivo, la absorción de nitrógeno de todos los tratamientos fue muy similar, con IN200 y T4-B incrementando la absorción de forma significativa sobre los valores del control. El agotamiento del stock de nitrógeno del suelo desde el primer ciclo de cultivo puede haber causado pequeñas diferencias entre tratamientos, ya que la concentración de nitrógeno en los suelos es cercana a la del control. Finalmente, tan solo IN200 obtuvo cambios significativos en la absorción de potasio al final del segundo ciclo, a pesar del elevado Kava presente en los suelos de los tratamientos con alpechín al final del segundo ciclo.

El NUE de los compost de alpechín y de los tratamientos orgánicos fue similar. Tan solo los tratamientos inorgánicos mostraron estadísticamente mayor NUE, con ambos tratamientos inorgánicos en torno al 60%. El NUE promedio de los tratamientos de compost de alpechín estuvo entre 9.49% y 15.0%, y fueron estadísticamente similares a Vermi y Manure, sugiriendo un rendimiento similar al de otros tratamientos orgánicos convencionales. Salim y col. (2020) menciona que los fertilizantes con menores contenidos en nitrógeno tienden a tener mayor eficiencia de uso de nutrientes. Además, Agegnehu y col. (2016) observó que los tratamientos orgánicos mostraron similares NUE en el cultivo de paja de cebada entre tratamientos orgánicos, con mayor rendimiento en los casos en los que se combinaron con otros materiales inorgánicos para actuar como fertilizantes orgánico-minerales.

Los compost no mostraron diferencias en el NUE dependiendo de sus ingredientes. Aún así, las fuentes de carbono aparentemente diferenciaron a los compost con poda de almendro, de menor NUE; y los compost de poda de viña, con mayor NUE. El biochar no causó ninguna diferencia estadística en el NUE. Esto contrasta con los resultados de Agegnehu y col. (2016), ya que en ellos se encontró que el biochar y el biochar co-compostado tuvieron mejores rendimientos en este aspecto que el compost convencional. Esto puede deberse a la proporción de biochar utilizada en el compostaje de los tratamientos probados (1% sobre materia fresca).

#### *Test de fitotoxicidad del compost*

La LC50 obtenida fue del 65,5% de concentración de compost T1, lo que indica que el compost aplicado a esta concentración puede provocar un efecto letal en el 50% de las semillas, mientras que para el compost T4 la LC50 se encontró al 75,7% de concentración. Además, el compost T1 mostró incrementos en la germinación hasta una concentración del 29,2%, mientras que T4 mostró un efecto fitoestimulante en la germinación hasta una concentración del 42,6%, lo que indica mayor toxicidad en el compost T1. Los valores de EC50 no se encontraron para ninguno de los dos compost, lo que indica que el uso de estos compost no causa efectos negativos en el crecimiento de las plántulas, ni siquiera en una concentración del 100%. El peso seco total incrementó tras una aplicación del 12,5% y no decreció hasta la concentración del 25%. Además, el peso seco de la raíz siempre fue superior al peso aéreo, sugiriendo la ausencia de actividad inhibitoria y un potencial efecto fitoestimulante en el crecimiento de las raíces. Tal y como discuten Muscolo y col. (2010), la dilución es una de las principales estrategias para reducir la fitotoxicidad del alpechín, y los tratamientos preliminares pueden causar diferencias significativas en el rendimiento, apoyando la idea de que el compost podría haber mejorado las características del alpechín como un pretratamiento, al tiempo que lo diluía. Alvarenga y col. (2007) reportaron valores de EC50, en compost de fracción orgánica de residuos sólidos municipales, al 70% para cebada (*Hordeum vulgare* L.) y 39.9% para berro (*Lepidium sativum*

L.), justificando la idea de que la alta salinidad del compost es el mayor factor limitante porque genera fitotoxicidad sobre algunas plantas.





## 5. CONCLUSIONES





Esta tesis doctoral se ha centrado en el desarrollo de nuevas tecnologías de compostaje para la valorización de alpechines abandonados en balsas de secado para la obtención de materiales inocuos para el medio o de valor agronómico para la mejora de las características del suelo y la fertilización de cultivos. El trabajo se ha realizado teniendo en cuenta el punto de vista ambiental y las emisiones de GEI, orientando la optimización del proceso de compostaje de manera que se mitiguen las potenciales emisiones, ofreciendo así alternativas de valorización más respetuosas a nivel ambiental, escalables a nivel industrial y con un valor añadido final. De esta forma, esta tesis doctoral se ha alineado con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la agenda 2030 nº12 (Producción y Consumo Responsables), nº13 (Acción por el Clima) y nº15 (Vida de Ecosistemas Terrestres).

Los resultados obtenidos durante la realización de los trabajos presentados en los apartados previos han permitido extraer las siguientes conclusiones relacionadas con los objetivos marcados:

1. El alpechín ha demostrado ser un material con difícil tratamiento debido a su alto contenido compuestos fenólicos y a sus características físico-químicas. De hecho, su alto contenido en sustancias antimicrobianas causó un lento aumento en las temperaturas de las pilas de compostaje en sus fases tempranas. Algunas de las características más problemáticas, como la salinidad, tuvieron consecuencias a nivel de calidad en los materiales finales.
2. Durante el compostaje con aditivos y cubiertas, las pilas formadas usando poda de viña y estiércol vacuno mostraron los mejores comportamientos exotérmicos y produjeron mejores compost. Las pilas con Biochar como aditivo produjeron mejores compost, con mayor capacidad de intercambio catiónico y contenido en ácidos húmicos. Además, el Biochar redujo las emisiones de los GEI, en especial  $\text{NH}_3$  y  $\text{N}_2\text{O}$ , convirtiéndose en el aditivo más recomendable para el compostaje de alpechines. Por tanto, la estrategia de co-compostaje acondiciona y mejora las características del alpechín y la aditivación con Biochar supone una mejora en la calidad del compost y disminuye el impacto ambiental.
3. El uso del inóculo microbiano propuesto (desarrollado en colaboración con la Universidad de Almería) supuso una mejora significativa en el proceso de compostaje, causando mejoras sustanciales en la estabilidad y el índice de germinación de los productos. Además, el inóculo indujo a un aumento de la nitrificación y la combinación de inóculo con Biochar causó la reducción de las emisiones totales.
4. Los compost de alpechín obtenidos son válidos como enmiendas orgánicas, no muestran efectos fitotóxicos observables, y se comportan como otros fertilizantes orgánicos convencionales usados como referencia como el vermicompost. Los compost además mejoraron las características del suelo, como el incremento en el stock de carbono o el

aumento de fósforo y potasio biodisponible. Los test de fitotoxicidad demostraron los efectos fitoestimulantes de estos compost cuando se utilizaron como ingrediente en sustratos en proporciones inferiores al 30%, especialmente para el desarrollo radicular.

De manera general se podría concluir que las estrategias propuestas y desarrolladas a lo largo de esta tesis doctoral han demostrado ser viables y beneficiosas para la gestión de alpechines, obteniendo productos de valor agronómico mediante sistemas de compostaje más respetuosos con el medio ambiente. Las diferentes estrategias utilizadas mostraron una gran variedad de resultados dependiendo de las necesidades del residuo y de los materiales co-compostados, permitiendo el uso de alternativas diferentes adaptadas para cada escenario. Los materiales finales obtenidos mostraron una reducción considerable de las características más problemáticas del alpechín, permitiendo el uso de las técnicas desarrolladas para la gestión de estos residuos producidos o almacenados y ayudando así a la mitigación de su impacto ambiental, económico y social.



## 6. PERSPECTIVAS DE FUTURO





El principal objetivo de este trabajo era la gestión de alpechines procedentes de balsas abandonadas mediante compostaje y la optimización del proceso para obtener productos de valor añadido para el sector agronómico que tuvieran en cuenta la perspectiva de la economía circular y pudieran utilizarse como enmienda orgánica en suelos, fomentando la recirculación de nutrientes al medio. Durante la realización de esta tesis hemos observado diferentes puntos débiles en la gestión de este tipo de residuos que abren una serie de oportunidades de desarrollo para futuros trabajos.

En primer lugar, el ritmo de producción de los residuos de almazara depende en gran medida del tamaño de las instalaciones, de la cantidad de producto que se extrae y de la estacionalidad. En este sentido, el compostaje a gran escala no es abarcable para una almazara pequeña o que forme parte de un consorcio de agricultores que no genere un volumen suficientemente elevado de alpechines. Por esto, la aplicación de modelos de compostaje comunitario o compostaje in situ orientado a almazaras y otros lugares de producción, como fincas privadas, podría tener un impacto positivo a nivel global, permitiendo a los productores gestionar sus propios residuos sin tener que depender de gestores externos. Además, también permitiría tener un efecto mucho más directo en los campos de los cuales se extrajo la aceituna, permitiendo recircular de forma específica la materia orgánica extraída del suelo de vuelta al terreno agotado.

Un punto importante a tener en cuenta es la heterogeneidad de los productos obtenidos mediante el compostaje, debido a que las características del compost están extremadamente influenciadas por los materiales utilizados para su producción. Esto puede suponer un grave problema debido a la amplia heterogeneidad de los alpechines, que depende en gran medida de su procedencia. Debido a esto, es de especial relevancia desarrollar sistemas de compostaje que tengan en cuenta estas diferencias, probando alpechines de distintas fuentes en sistemas de compostaje optimizados mediante los inóculos estudiados en este trabajo. De esta forma, se podrían buscar los parámetros clave que influyen en el compostaje de estos materiales de manera que los sistemas se puedan extrapolar a otras partes de la cuenca mediterránea. Un análisis más exhaustivo de distintos residuos de almazara, no solo alpechín, permitiría crear una base de datos con la que diseñar y optimizar sistemas de compostaje con materiales de similar procedencia, permitiendo una economía circular de cercanía.

El desarrollo de nuevos métodos de aplicación agronómica de los compost debería ser un objetivo importante para futuros trabajos. Debido a las características del compost de alpechín, no siempre balanceado a nivel nutricional, nuevos sistemas de aplicación, como los pellets, suponen una oportunidad para optimizar el equilibrio de nutrientes mediante la adición de fertilizantes minerales y además facilitar la aplicación.

Finalmente, a lo largo de este trabajo se han discutido ampliamente los problemas de fitotoxicidad causados por los materiales y las estrategias en la mitigación, pero también se han mencionado cambios beneficiosos en el suelo. Se puede afirmar que existe un nicho de uso de estos compost en la restauración de suelos degradados. Para poder asegurar la idoneidad de estos materiales, los ensayos en campo y en suelos afectados por distintos procesos degradativos, como pueden ser los incendios o la desertificación, son una dirección interesante en la que orientar futuros proyectos.



## 7. REFERENCIAS





- Abid, N., y Sayadi, S. (2006). Detrimental effects of olive mill wastewater on the composting process of agricultural wastes. *Waste Management*, 26(10), 1099-1107. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.06.015>
- Agegnehu, G., Nelson, P. N., y Bird, M. I. (2016). The effects of biochar, compost and their mixture and nitrogen fertilizer on yield and nitrogen use efficiency of barley grown on a Nitisol in the highlands of Ethiopia. *Science of The Total Environment*, 569-570, 869-879. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2016.05.033>
- Agegnehu, G., Srivastava, A. K., y Bird, M. I. (2017). The role of biochar and biochar-compost in improving soil quality and crop performance: A review. *Applied Soil Ecology*, 119, 156-170. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.06.008>
- Agyarko-Mintah, E., Cowie, A., Van Zwieten, L., Singh, B. P., Smillie, R., Harden, S., y Fornasier, F. (2017). Biochar lowers ammonia emission and improves nitrogen retention in poultry litter composting. *Waste Management*, 61, 129-137. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.12.009>
- Akdeniz, N. (2019). A systematic review of biochar use in animal waste composting. *Waste Management*, 88, 291-300. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.03.054>
- Alaoui, I., El Ghadraoui, O., Tanji, K., Harrach, A., y Farah, A. (2024). The Olive Mill Pomace: A Sustainable Biofertilizer to Improve Soil Properties and Plant Nutrient Uptake. *Waste and Biomass Valorization*, 15(5), 2575-2590. <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02324-z>
- Albuquerque, J. A., González, J., García, D., y Cegarra, J. (2004). Agrochemical characterisation of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresource Technology*, 91(2), 195-200. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00177-9](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00177-9)
- Alkhader, A., Rayyan, A., y Rusan, M. (2013). The effect of phosphorus fertilizers on the growth and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under greenhouse and field conditions. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11(2), 777-783.
- Alkhalidi, A., Halaweh, G., y Khawaja, M. K. (2023). Recommendations for olive mills waste treatment in hot and dry climate. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 22(6), 361-373. <https://doi.org/10.1016/J.JSSAS.2023.03.002>
- Alvarenga, P., Palma, P., Gonçalves, A. P., Fernandes, R. M., Cunha-Queda, A. C., Duarte, E., y Vallini, G. (2007). Evaluation of chemical and ecotoxicological characteristics of biodegradable organic residues for application to agricultural land. *Environment International*, 33(4), 505-513. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2006.11.006>
- Ameziane, H., Nounah, A., Khamar, M., y Zouahri, A. (2020). Composting olive pomace: Evolution of organic matter and compost quality. *Agronomy Research*, 18(1), 5-17. <https://doi.org/10.15159/AR.20.004>

- Arvanitoyannis, I. S., y Kassaveti, A. (2007). Current and potential uses of composted olive oil waste. *International Journal of Food Science and Technology*, 42(3), 281-295. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2006.01211.X>
- Azbar, N., Bayram, A., Filibeli, A., Muezzinoglu, A., Sengul, F., y Ozer, A. (2004). A review of waste management options in olive oil production. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 34(3), 209-247. <https://doi.org/10.1080/10643380490279932>
- Azim, K., Soudi, B., Boukhari, S., Perissol, C., Roussos, S., y Thami Alami, I. (2018). Composting parameters and compost quality: a literature review. *Organic Agriculture*, 8(2), 141-158. <https://doi.org/10.1007/s13165-017-0180-z>
- Azzam, M. O. J., y Hazaimah, S. A. (2021). Olive mill wastewater treatment and valorization by extraction/concentration of hydroxytyrosol and other natural phenols. *Process Safety and Environmental Protection*, 148, 495-523. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.10.030>
- Ba, S., Qu, Q., Zhang, K., y Groot, J. C. J. (2020). Meta-analysis of greenhouse gas and ammonia emissions from dairy manure composting. *Biosystems Engineering*, 193, 126-137. <https://doi.org/10.1016/J.BIOSYSTEMSENG.2020.02.015>
- Babić, S., Malev, O., Pflieger, M., Lebedev, A. T., Mazur, D. M., Kužić, A., Čož-Rakovac, R., y Trebše, P. (2019). Toxicity evaluation of olive oil mill wastewater and its polar fraction using multiple whole-organism bioassays. *Science of The Total Environment*, 686, 903-914. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.046>
- Banias, G., Achillas, C., Vlachokostas, C., Moussiopoulos, N., y Stefanou, M. (2017). Environmental impacts in the life cycle of olive oil: a literature review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(6), 1686-1697. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8143>
- Bernal, M. P., Alburquerque, J. A., y Moral, R. (2009). Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. *Bioresource Technology*, 100(22), 5444-5453. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.027>
- Borchard, N., Schirrmann, M., Cayuela, M. L., Kammann, C., Wrage-Mönnig, N., Estavillo, J. M., Fuertes-Mendizábal, T., Sigua, G., Spokas, K., Ippolito, J. A., y Novak, J. (2019). Biochar, soil and land-use interactions that reduce nitrate leaching and N<sub>2</sub>O emissions: A meta-analysis. *Science of The Total Environment*, 651, 2354-2364. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.10.060>
- Bouhia, Y., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., y Lyamlouli, K. (2023). Olive mill waste sludge: From permanent pollution to a highly beneficial organic biofertilizer: A critical review and future perspectives. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 259, 114997. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114997>
- Bouhia, Y., Lyamlouli, K., Fels, L. El, Youssef, Z., Ouhdouch, Y., y Hafidi, M. (2021). Effect of Microbial Inoculation on Lipid and Phenols Removal During the Co-composting of Olive Mill

- Solid Sludge with Green Waste in Bioreactor. *Waste and Biomass Valorization*, 12(3), 1417-1429. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01077-3>
- Bravo, L. (2009). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317-333. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>
- Bremner, J. M. (2018). Nitrogen-Total. En *Methods of Soil Analysis, Part 3: Chemical Methods* (pp. 1085-1121). John Wiley y Sons, Ltd. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c37>
- Bustamante, M. A., Paredes, C., Marhuenda-Egea, F. C., Pérez-Espinosa, A., Bernal, M. P., y Moral, R. (2008). Co-composting of distillery wastes with animal manures: Carbon and nitrogen transformations in the evaluation of compost stability. *Chemosphere*, 72(4), 551-557. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2008.03.030>
- Cáceres, R., Malińska, K., y Marfà, O. (2018). Nitrification within composting: A review. *Waste Management*, 72, 119-137. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.10.049>
- Caputo, A. C., Scacchia, F., y Pelagagge, P. M. (2003). Disposal of by-products in olive oil industry: waste-to-energy solutions. *Applied Thermal Engineering*, 23(2), 197-214. [https://doi.org/10.1016/S1359-4311\(02\)00173-4](https://doi.org/10.1016/S1359-4311(02)00173-4)
- Cardoni, M., y Mercado-Blanco, J. (2023). Confronting stresses affecting olive cultivation from the holobiont perspective. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1261754. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2023.1261754/XML/NLM>
- Casella, A., Orden, L., Pezzola, N. A., Bellacomo, C., Winschel, C. I., Caballero, G. R., Delegido, J., Gracia, L. M. N., y Verrelst, J. (2022). Analysis of Biophysical Variables in an Onion Crop (*Allium cepa* L.) with Nitrogen Fertilization by Sentinel-2 Observations. *Agronomy*, 12(8), 1884. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY12081884/>
- Cayuela, M. L., Millner, P., Slovin, J., y Roig, A. (2007). Duckweed (*Lemna gibba*) growth inhibition bioassay for evaluating the toxicity of olive mill wastes before and during composting. *Chemosphere*, 68(10), 1985-1991. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2007.02.064>
- Cayuela, M. L., Sánchez-Monedero, M. A., y Roig, A. (2006). Evaluation of two different aeration systems for composting two-phase olive mill wastes. *Process Biochemistry*, 41(3), 616-623. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.08.007>
- Cayuela, M. L., Sánchez-Monedero, M. A., y Roig, A. (2010). Two-phase olive mill waste composting: Enhancement of the composting rate and compost quality by grape stalks addition. *Biodegradation*, 21(3), 465-473. <https://doi.org/10.1007/s10532-009-9316-5>
- Chen, R., Wang, Y., Wei, S., Wang, W., y Lin, X. (2014). Windrow composting mitigated CH<sub>4</sub> emissions: characterization of methanogenic and methanotrophic communities in manure management. *FEMS Microbiology Ecology*, 90(3), 575-586. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12417>

- Chowdhury, A. K. M. M. B., Michailides, M. K., Akrotos, C. S., Tekerlekopoulou, A. G., Pavlou, S., y Vayenas, D. V. (2014). Composting of three phase olive mill solid waste using different bulking agents. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 91, 66-73. <https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2014.03.012>
- Christensen, T. H., Gentil, E., Boldrin, A., Larsen, A. W., Weidema, B. P., y Hauschild, M. (2009). C balance, carbon dioxide emissions and global warming potentials in LCA-modelling of waste management systems. *Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy*, 27(8), 707-715. <https://doi.org/10.1177/0734242X08096304>
- Clemente, R., Sáez-Tovar, J. A., y Bernal, M. P. (2020). Extractability, Distribution Among Different Particle Size Fractions, and Phytotoxicity of Cu and Zn in Composts Made With the Separated Solid Fraction of Pig Slurry. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00002>
- Czekala, W., Malińska, K., Cáceres, R., Janczak, D., Dach, J., y Lewicki, A. (2016). Co-composting of poultry manure mixtures amended with biochar – The effect of biochar on temperature and C-CO<sub>2</sub> emission. *Bioresource Technology*, 200, 921-927. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.019>
- de Sosa, L. L., Benítez, E., Girón, I., y Madejón, E. (2021). Agro-industrial and urban compost as an alternative of inorganic fertilizers in traditional rainfed olive grove under mediterranean conditions. *Agronomy*, 11(6), 1223. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY11061223/S1>
- Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Moulti-Mati, F., y Michaud, P. (2013). Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry*, 48(10), 1532-1552. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2013.07.010>
- Di Martino, C., Palumbo, G., Di Iorio, E., Colombo, C., y Crawford, T. W. (2021). Effects of Olive Mill Wastewater and Two Natural Extracts as Nitrification Inhibitors on Activity of Nitrifying Bacteria, Soil Nitrate Leaching Loss, and Nitrogen Metabolism of Celery (*Apium graveolens* L.). *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(5), 1922-1938. <https://doi.org/10.1007/S00344-020-10239-5/METRICS>
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M., y Robledo, C. (2020). *InfoStat Versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina*. <http://www.infostat.com.ar>.
- Diacono, M., Persiani, A., Testani, E., Montemurro, F., y Ciaccia, C. (2019). Recycling Agricultural Wastes and By-products in Organic Farming: Biofertilizer Production, Yield Performance and Carbon Footprint Analysis. *Sustainability* 2019, Vol. 11, Page 3824, 11(14), 3824. <https://doi.org/10.3390/SU11143824>
- Dias, B. O., Silva, C. A., Higashikawa, F. S., Roig, A., y Sánchez-Monedero, M. A. (2010). Use of biochar as bulking agent for the composting of poultry manure: Effect on organic matter

- degradation and humification. *Bioresource Technology*, 101(4), 1239-1246. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.024>
- Díaz, M. J., Ruiz-Montoya, M., Palma, A., y de-Paz, M.-V. (2021). Thermogravimetry Applicability in Compost and Composting Research: A Review. *Applied Sciences*, 11(4), 1692. <https://doi.org/10.3390/app11041692>
- Dobrzyński, J., Jakubowska, Z., Kulkova, I., Kowalczyk, P., y Kramkowski, K. (2023). Biocontrol of fungal phytopathogens by *Bacillus pumilus*. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1194606. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2023.1194606/EPUB>
- Doublet, J., Francou, C., Pétraud, J. P., Dignac, M. F., Poitrenaud, M., y Houot, S. (2010). Distribution of C and N mineralization of a sludge compost within particle-size fractions. *Bioresource Technology*, 101(4), 1254-1262. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.037>
- Doula, M. K., Moreno-Ortego, J. L., Tinivella, F., Inglezakis, V. J., Sarris, A., y Komnitsas, K. (2017). Olive mill waste: recent advances for the sustainable development of olive oil industry. En C. M. Galanakis (Ed.), *Olive Mill Waste* (pp. 29-56). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805314-0.00002-9>
- Duman, A. K., Özgen, G. Ö., y Üçtuğ, F. G. (2020). Environmental life cycle assessment of olive pomace utilization in Turkey. *Sustainable Production and Consumption*, 22, 126-137. <https://doi.org/10.1016/J.SPC.2020.02.008>
- El Hayany, B., En-Nejmy, K., El Glaoui, G. E. M., Hafidi, M., y El Fels, L. (2023). Chlorophyll performances as an indicator of compost quality: Effectiveness of liquid humic substances and compost tea. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 12(4), 683-698. <https://doi.org/10.30486/IJROWA.2023.1962394.1499>
- Enaime, G., Baçaoui, A., Yaacoubi, A., Belaqziz, M., Wichern, M., y Lübken, M. (2020). Phytotoxicity assessment of olive mill wastewater treated by different technologies: effect on seed germination of maize and tomato. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(8), 8034-8045. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06672-z>
- Espeso, J., Isaza, A., Lee, J. Y., Sørensen, P. M., Jurado, P., Avena-Bustillos, R. de J., Olaizola, M., y Arboleya, J. C. (2021). Olive Leaf Waste Management. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 660582. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.660582>
- Fandika, I. R., Kadyampakeni, D., Bottomani, C., y Kakhiwa, H. (2007). Comparative response of varied irrigated maize to organic and inorganic fertilizer application. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 32(15-18), 1107-1116. <https://doi.org/10.1016/J.PCE.2007.07.025>
- FAO. (2019). World fertilizer trends and outlook to 2022. En FAO (Ed.), *World fertilizer trends and outlook to 2022* (1.ª ed.). FAO. <https://doi.org/10.4060/CA6746EN>
- Franco, I., Gallardo-Lara, F., Hurtarte, M., y Baca, M. T. (1996). Alpechín as fertilizer. En C. Rodrigues-Barrueco (Ed.), *Fertilizers and Environment* (1.ª ed., pp. 477-480). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-1586-2\\_82](https://doi.org/10.1007/978-94-009-1586-2_82)

- Galliou, F., Markakis, N., Fountoulakis, M. S., Nikolaidis, N., y Manios, T. (2018). Production of organic fertilizer from olive mill wastewater by combining solar greenhouse drying and composting. *Waste Management*, 75, 305-311. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.01.020>
- Geisendorf, S., y Pietrulla, F. (2018). The circular economy and circular economic concepts—a literature analysis and redefinition. *Thunderbird International Business Review*, 60(5), 771-782. <https://doi.org/10.1002/tie.21924>
- Gigliotti, G., Proietti, P., Said-Pullicino, D., Nasini, L., Pezzolla, D., Rosati, L., y Porceddu, P. R. (2012). Co-composting of olive husks with high moisture contents: Organic matter dynamics and compost quality. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 67, 8-14. <https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2011.11.009>
- Godlewska, P., Schmidt, H. P., Ok, Y. S., y Oleszczuk, P. (2017). Biochar for composting improvement and contaminants reduction. A review. *Bioresource Technology*, 246, 193-202. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.095>
- Gómez, R. B., Lima, F. V., y Ferrer, A. S. (2006). The use of respiration indices in the composting process: a review. *Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy*, 24(1), 37-47. <https://doi.org/10.1177/0734242X06062385>
- Gómez-Muñoz, B., Hatch, D. J., Bol, R., y García-Ruiz, R. (2013). Agrochemical characterization, net N mineralization, and potential N leaching of composted olive-mill pomace currently produced in southern Spain. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 176(5), 655-664. <https://doi.org/10.1002/jpln.201200421>
- Gregson, N., y Crang, M. (2015). From Waste to Resource: The Trade in Wastes and Global Recycling Economies. *Annual Review of Environment and Resources*, 40(1), 151-176. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-102014-021105>
- Grigatti, M., Cavani, L., di Biase, G., y Ciavatta, C. (2019). Current and residual phosphorous availability from compost in a ryegrass pot test. *Science of The Total Environment*, 677, 250-262. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.04.349>
- Guo, H., Gu, J., Wang, X., Song, Z., Yu, J., y Lei, L. (2021). Microbial mechanisms related to the effects of bamboo charcoal and bamboo vinegar on the degradation of organic matter and methane emissions during composting. *Environmental Pollution*, 272. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116013>
- Hachicha, S., Cegarra, J., Sellami, F., Hachicha, R., Drira, N., Medhioub, K., y Ammar, E. (2009). Elimination of polyphenols toxicity from olive mill wastewater sludge by its co-composting with sesame bark. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2-3), 1131-1139. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2008.04.066>
- Haddad, K., Jeguirim, M., Jerbi, B., Chouchene, A., Dutournié, P., Thevenin, N., Ruidavets, L., Jellali, S., y Limousy, L. (2017). Olive Mill Wastewater: From a Pollutant to Green Fuels,

- Agricultural Water Source and Biofertilizer. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 5(10), 8988-8996. <https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.7B01786>
- Haddadin, M. S. Y., Haddadin, J., Arabiyat, O. I., y Hattar, B. (2009). Biological conversion of olive pomace into compost by using *Trichoderma harzianum* and *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioresource Technology*, 100(20), 4773-4782. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2009.04.047>
- Harrison, B. P., Gao, S., Thao, T., Gonzales, M. L., Williams, K. L., Scott, N., Hale, L., Ghezzehei, T., Diaz, G., y Ryals, R. A. (2024). Methane and nitrous oxide emissions during biochar-composting are driven by biochar application rate and aggregate formation. *GCB Bioenergy*, 16(1). <https://doi.org/10.1111/gcbb.13121>
- Hermann, B. G., Debeer, L., De Wilde, B., Blok, K., y Patel, M. K. (2011). To compost or not to compost: Carbon and energy footprints of biodegradable materials' waste treatment. *Polymer Degradation and Stability*, 96(6), 1159-1171. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMDEGRADSTAB.2010.12.026>
- Hernández, T., Chocano, C., Moreno, J. L., y García, C. (2016). Use of compost as an alternative to conventional inorganic fertilizers in intensive lettuce (*Lactuca sativa* L.) crops—Effects on soil and plant. *Soil and Tillage Research*, 160, 14-22. <https://doi.org/10.1016/J.STILL.2016.02.005>
- Hu, T., Wang, X., Zhen, L., Gu, J., Zhang, K., Wang, Q., Ma, J., Peng, H., Lei, L., y Zhao, W. (2019). Effects of inoculating with lignocellulose-degrading consortium on cellulose-degrading genes and fungal community during co-composting of spent mushroom substrate with swine manure. *Bioresource Technology*, 291, 121876. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.121876>
- IPCC. (2023). Annex II: Definitions, Units and Conventions. En P. R. Shukla, J. Skea, R. Slade, Al. A. Khourdajie, R. van Diemen, D. McCollum, M. Pathak, S. Some, P. Vyas, R. Fradera, M. Belkacemi, A. Hasija, G. Lisboa, S. Luz, y J. Malley (Eds.), *Climate Change 2022 - Mitigation of Climate Change* (pp. 1821-1840). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781009157926.021>
- Itelima, Bang, W. J., Onyimba, I. A., Sila, y Egbere, O. J. (2018). *Bio-fertilizers as key player in enhancing soil fertility and crop productivity: A Review*. 6(3), 73-83. <https://doi.org/10.26765/DRJAFS.2018.4815>
- Jackson, A. J., Walters, D. R., y Marshall, G. (1994). Evaluation of *Penicillium chrysogenum* and its antifungal extracts as potential biological control agents against *Botrytis fabae* on faba beans. *Mycological Research*, 98(10), 1117-1126. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80197-4](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80197-4)
- Jara-Samaniego, J., Pérez-Murcia, M. D., Bustamante, M. A., Paredes, C., Pérez-Espinosa, A., Gavilanes-Terán, I., López, M., Marhuenda-Egea, F. C., Brito, H., y Moral, R. (2017).

- Development of organic fertilizers from food market waste and urban gardening by composting in Ecuador. *PloS one*, 12(7), e0181621. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181621>
- Jayara, A. S., Kumar, R., Pandey, P., Singh, S., Shukla, A., Singh, A. P., Pandey, S., Meena, R. L., y Reddy, K. I. (2023). Boosting nutrient use efficiency through fertilizer use management. *Applied Ecology and Environmental Research*, 21(4), 2931-2952. [https://doi.org/10.15666/aeer/2104\\_29312952](https://doi.org/10.15666/aeer/2104_29312952)
- Jindo, K., Sonoki, T., Matsumoto, K., Canellas, L., Roig, A., y Sanchez-Monedero, M. A. (2016). Influence of biochar addition on the humic substances of composting manures. *Waste Management*, 49, 545-552. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.01.007>
- Jurado, M., López, M. J., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M. C., López-González, J. A., y Moreno, J. (2014). Exploiting composting biodiversity: Study of the persistent and biotechnologically relevant microorganisms from lignocellulose-based composting. *Bioresource Technology*, 162, 283-293. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2014.03.145>
- Kapellakis, I. E., Tsagarakis, K. P., Avramaki, C., y Angelakis, A. N. (2006). Olive mill wastewater management in river basins: A case study in Greece. *Agricultural Water Management*, 82(3), 354-370. <https://doi.org/10.1016/J.AGWAT.2005.08.004>
- Kapellakis, I. E., Tsagarakis, K. P., y Crowther, J. C. (2008). Olive oil history, production and by-product management. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 7(1), 1-26. <https://doi.org/10.1007/s11157-007-9120-9>
- Kavvadias, V., Elaiopoulos, K., Theocharopoulos, Sid., y Soupios, P. (2017). Fate of Potential Contaminants Due to Disposal of Olive Mill Wastewaters in Unprotected Evaporation Ponds. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 98(3), 323-330. <https://doi.org/10.1007/s00128-016-1922-4>
- Khan, N., Clark, I., Sánchez-Monedero, M. A., Shea, S., Meier, S., Qi, F., Kookana, R. S., y Bolan, N. (2016). Physical and chemical properties of biochars co-composted with biowastes and incubated with a chicken litter compost. *Chemosphere*, 142, 14-23. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.05.065>
- Knudsen, D., Peterson, G. A., y Pratt, P. F. (1982). Lithium, Sodium, and Potassium. En *Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties*, (pp. 225-246). John Wiley y Sons, Ltd. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c13>
- Kumar, D., Singh, M. K., Singh, H. K., y Singh, K. N. (2019). Fungal Biopesticides and Their Uses for Control of Insect Pest and Diseases. En B. D. Kaushik, D. Kumar, y Md. Samim (Eds.), *Biofertilizers and Biopesticides in Sustainable Agriculture* (pp. 43-70). Apple Academic Press. <https://doi.org/10.1201/9780429059384-3>

- Kutos, S., Stricker, E., Cooper, A., Ryals, R., Creque, J., MacHmuller, M., Kroegar, M., y Silver, W. L. (2023). Compost amendment to enhance carbon sequestration in rangelands. *Journal of Soil and Water Conservation*, 78(3), 163-177. <https://doi.org/10.2489/JSWC.2023.00072>
- Lerma-Moliz, R., López-González, J. A., Suárez-Estrella, F., Martínez-Gallardo, M. R., Jurado, M. M., Estrella-González, M. J., Toribio, A. J., Jiménez, R., y López, M. J. (2024). Antioxidant and biofertilizing effect of compost extracts on horticultural crops to minimize the use of agrochemicals. *Environmental Technology & Innovation*, 36, 103776. <https://doi.org/10.1016/J.ETI.2024.103776>
- Li, J., Li, H., Shang, J., Liu, K., He, Y., y Shao, X. (2023). The Synergistic Effect of Biochar and Microorganisms Greatly Improves Vegetation and Microbial Structure of Degraded Alpine Grassland on Qinghai–Tibet Plateau. *Agronomy*, 13(9), 2203. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY13092203/S1>
- Li, M., Zhang, A., Wu, H., Liu, H., y Lv, J. (2017). Predicting potential release of dissolved organic matter from biochars derived from agricultural residues using fluorescence and ultraviolet absorbance. *Journal of Hazardous Materials*, 334, 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.03.064>
- Li, Z., Zhang, R., Xia, S., Wang, L., Liu, C., Zhang, R., Fan, Z., Chen, F., y Liu, Y. (2019). Interactions between N, P and K fertilizers affect the environment and the yield and quality of satsumas. *Global Ecology and Conservation*, 19, e00663. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00663>
- López-Bellido, L., López-Bellido, R. J., y Redondo, R. (2005). Nitrogen efficiency in wheat under rainfed Mediterranean conditions as affected by split nitrogen application. *Field Crops Research*, 94(1), 86-97. <https://doi.org/10.1016/J.FCR.2004.11.004>
- Lopez-Gonzalez, J. A., Lopez, M. J., Vargas-Garcia, M. C., Suarez-Estrella, F., Jurado, M., y Moreno, J. (2013). Tracking organic matter and microbiota dynamics during the stages of lignocellulosic waste composting. *Bioresource Technology*, 146, 574-584. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2013.07.122>
- López-Mondéjar, R., Antón, A., Raidl, S., Ros, M., y Pascual, J. A. (2010). Quantification of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* with real-time TaqMan PCR and its potential extrapolation to the hyphal biomass. *Bioresource Technology*, 101(8), 2888-2891. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2009.10.019>
- Luo, Y., Liang, J., Zeng, G., Chen, M., Mo, D., Li, G., y Zhang, D. (2018). Seed germination test for toxicity evaluation of compost: Its roles, problems and prospects. *Waste Management*, 71, 109-114. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2017.09.023>
- Lutz, S., Thuerig, B., Oberhaensli, T., Mayerhofer, J., Fuchs, J. G., Widmer, F., Freimoser, F. M., y Ahrens, C. H. (2020). Harnessing the Microbiomes of Suppressive Composts for Plant

- Protection: From Metagenomes to Beneficial Microorganisms and Reliable Diagnostics. *Frontiers in Microbiology*, 11, 529923. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.01810/EPUB>
- Ma, S., Xiong, J., Cui, R., Sun, X., Han, L., Xu, Y., Kan, Z., Gong, X., y Huang, G. (2020). Effects of intermittent aeration on greenhouse gas emissions and bacterial community succession during large-scale membrane-covered aerobic composting. *Journal of Cleaner Production*, 266. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121551>
- Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharyya, P., Das, B., Ghosh, A., y Tribedi, P. (2016). Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research* 2016 24:4, 24(4), 3315-3335. <https://doi.org/10.1007/S11356-016-8104-0>
- Manzanares, P., Ruiz, E., Ballesteros, M., Negro, M. J., Gallego, F. J., López-Linares, J. C., y Castro, E. (2017). Residual biomass potential in olive tree cultivation and olive oil industry in Spain: valorization proposal in a biorefinery context. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 15(3), e0206. <https://doi.org/10.5424/sjar/2017153-10868>
- MAPA. (2024). *Encuesta sobre Superficies y Rendimientos Cultivos*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España. <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadistica-digital/powerbi-esyrce>
- MAPA. (2025a). *Aceite de oliva*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. <https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/aceite-oliva-y-aceituna-mesa/aceite>
- MAPA. (2025b). *Boletines de Comercio Exterior*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. [https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/aceite-oliva-y-aceituna-mesa/boletin\\_comercio\\_exterior\\_aaoo\\_am](https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/aceite-oliva-y-aceituna-mesa/boletin_comercio_exterior_aaoo_am)
- Martínez-Gallardo, M. R., Jurado, M. M., López-González, J. A., Toribio, A., Suárez-Estrella, F., Sáez, J. A., Moral, R., Andreu-Rodríguez, F. J., y López, M. J. (2022). Biorecovery of olive mill wastewater sludge from evaporation ponds. *Journal of Environmental Management*, 319. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115647>
- Martínez-Gallardo, M. R., López, M. J., Jurado, M. M., Suárez-Estrella, F., López-González, J. A., Sáez, J. A., Moral, R., y Moreno, J. (2020). Bioremediation of Olive Mill Wastewater sediments in evaporation ponds through in situ composting assisted by bioaugmentation. *Science of The Total Environment*, 703. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135537>
- Martínez-Sabater, E., Bustamante, M. A., Marhuenda-Egea, F. C., El-Khattabi, M., Moral, R., Lorenzo, E., Paredes, C., Gálvez, L. N., y 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(20), 9613-9623. <https://doi.org/10.1021/jf901027v>

- Martín-Mata, J., Lahoz-Ramos, C., Bustamante, M. A., Marhuenda-Egea, F. C., Moral, R., Santos, A., Sáez, J. A., y Bernal, M. P. (2016). Thermal and spectroscopic analysis of organic matter degradation and humification during composting of pig slurry in different scenarios. *Environmental science and pollution research international*, 23(17), 17357-17369. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6838-3>
- Mehta, C. M., Palni, U., Franke-Whittle, I. H., y Sharma, A. K. (2014). Compost: Its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. *Waste Management*, 34(3), 607-622. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2013.11.012>
- Michailides, M., Christou, G., Akratos, C. S., Tekerlekopoulou, A. G., y Vayenas, D. V. (2011). Composting of olive leaves and pomace from a three-phase olive mill plant. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(3), 560-564. <https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2011.02.007>
- Mies, A., y Gold, S. (2021). Mapping the social dimension of the circular economy. *Journal of Cleaner Production*, 321, 128960. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2021.128960>
- Miles, A. A., Misra, S. S., y Irwin, J. O. (1938). The estimation of the bactericidal power of the blood. *Epidemiology and Infection*, 38(6), 732-749. <https://doi.org/10.1017/S002217240001158X>
- Moreno Casco, J., y Moral Herrero, R. (2008). *Compostaje*. Mundi-Prensa.
- Muscolo, A., Sidari, M., Mallamaci, C., y Attinà, E. (2010). Effects of Olive Mill Wastewater on Seed Germination and Seedling Growth. *Terrestrial and Aquatic Environment Toxicology*, 4(Special Issue 1), 75-83.
- Nain, P., Purakayastha, T. J., Sarkar, B., Bhowmik, A., Biswas, S., Kumar, S., Shukla, L., Biswas, D. R., Bandyopadhyay, K. K., Agarwal, B. K., y Saha, N. Das. (2024). Nitrogen-enriched biochar co-compost for the amelioration of degraded tropical soil. *Environmental Technology*, 45(2), 246-261. <https://doi.org/10.1080/09593330.2022.2103742>
- Nan, Q., Xin, L., Qin, Y., Waqas, M., y Wu, W. (2021). Exploring long-term effects of biochar on mitigating methane emissions from paddy soil: a review. *Biochar*, 3(2), 125-134. <https://doi.org/10.1007/S42773-021-00096-0/FIGURES/2>
- Nelson, M. I., Marchant, T. R., Wake, G. C., Balakrishnan, E., y Chen, X. D. (2007). Self-heating in compost piles due to biological effects. *Chemical Engineering Science*, 62(17), 4612-4619. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2007.05.018>
- Nguyen, M. K., Lin, C., Hoang, H. G., Sanderson, P., Dang, B. T., Bui, X. T., Nguyen, N. S. H., Vo, D.-V. N., y Tran, H. T. (2022). Evaluate the role of biochar during the organic waste composting process: A critical review. *Chemosphere*, 299, 134488. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134488>

- Nleya, Y., Young, B., Nooraee, E., y Baroutian, S. (2025). Anaerobic digestion of dairy cow and goat manure: Comparative assessment of biodegradability and greenhouse gas mitigation. *Fuel*, 381, 133458. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2024.133458>
- Nozhevnikova, A. N., Mironov, V. V., Botchkova, E. A., Litt, Y. V., y Russkova, Y. I. (2019). Composition of a Microbial Community at Different Stages of Composting and the Prospects for Compost Production from Municipal Organic Waste (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 55(3), 199-208. <https://doi.org/10.1134/S0003683819030104/TABLES/1>
- OECD. (2006). Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. En *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2*. OECD Publishing. <https://doi.org/10.1787/9789264070066-en>
- Olivera-Begué, E., González, D., Kaal, J., Camps-Arbestain, M., y Sánchez, A. (2025). Commercial-scale co-composting of wood-derived biochar with source-selected organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource Technology*, 431, 132595. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2025.132595>
- Olsen, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S., y Dean, L. A. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. En *Circular* (Vol. 939, pp. 18-19). U.S. Department of Agriculture,.
- Paraskeva, P., y Diamadopoulos, E. (2006). Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: a review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 81(9), 1475-1485. <https://doi.org/10.1002/jctb.1553>
- Pardo, G., Moral, R., Aguilera, E., y del Prado, A. (2015). Gaseous emissions from management of solid waste: A systematic review. *Global Change Biology*, 21(3), 1313-1327. <https://doi.org/10.1111/gcb.12806>
- Paredes, C., Cegarra, J., Roig, A., Sánchez-Monedero, M. A., y Bernal, M. P. (1999). Characterization of olive mill wastewater (alpechin) and its sludge for agricultural purposes. *Bioresource Technology*, 67(2), 111-115. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00106-0](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00106-0)
- Paredes, C., Medina, E., Moral, R., Pérez-Murcia, M. D., Moreno-Caselles, J., Angeles Bustamante, M., y Cecilia, J. A. (2009). Characterization of the Different Organic Matter Fractions of Spent Mushroom Substrate. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 40(1-6), 150-161. <https://doi.org/10.1080/00103620802625575>
- Paredes, C., Roig, A., Bernal, M. P., Sánchez-Monedero, M. A., y Cegarra, J. (2000a). Evolution of organic matter and nitrogen during co-composting of olive mill wastewater with solid organic wastes. *Biology and Fertility of Soils*, 32(3), 222-227. <https://doi.org/10.1007/S003740000239/METRICS>
- Paredes, C., Roig, A., Bernal, M. P., Sánchez-Monedero, M. A., y Cegarra, J. (2000b). Evolution of organic matter and nitrogen during co-composting of olive mill wastewater with solid

- organic wastes. *Biology and Fertility of Soils*, 32(3), 222-227.  
<https://doi.org/10.1007/s003740000239>
- Parlamento Europeo. (2023, mayo 24). *Economía circular: definición, importancia y beneficios. Temas. Parlamento Europeo.*  
<https://www.europarl.europa.eu/topics/es/article/20151201STO05603/economia-circular-definicion-importancia-y-beneficios>
- Partanen, P., Hultman, J., Paulin, L., Auvinen, P., y Romantschuk, M. (2010). Bacterial diversity at different stages of the composting process. *BMC Microbiology*, 10(1), 1-11.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-94/TABLES/2>
- Patrignani, A., y Ochsner, T. E. (2015). Canopeo: A powerful new tool for measuring fractional green canopy cover. *Agronomy Journal*, 107(6), 2312-2320.  
<https://doi.org/10.2134/AGRONJ15.0150>
- Peña, H., Mendoza, H., Diánez, F., y Santos, M. (2020). Parameter Selection for the Evaluation of Compost Quality. *Agronomy 2020*, Vol. 10, Page 1567, 10(10), 1567.  
<https://doi.org/10.3390/AGRONOMY10101567>
- Persiani, A., Montemurro, F., y Diacono, M. (2021). Agronomic and Environmental Performances of On-Farm Compost Production and Application in an Organic Vegetable Rotation. *Agronomy 2021*, Vol. 11, Page 2073, 11(10), 2073.  
<https://doi.org/10.3390/AGRONOMY11102073>
- Petrakis, C. (2006). Olive Oil Extraction. En D. Boskou (Ed.), *Olive Oil: Chemistry and Technology* (2.ª ed., pp. 191-223). AOCS Press. <https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-88-2.50013-4>
- Petrucci, R., Menegaldo, G., Rocchi, L., Paolotti, L., Boggia, A., y Puglia, D. (2025). Olive Oil Wastewater Revalorization into a High-Added Value Product: A Biofertilizer Assessment Combining LCA and MCI. *Sustainability*, 17(15), 6779.  
<https://doi.org/10.3390/SU17156779/S1>
- Picariello, E., Pucci, L., Carotenuto, M., Libralato, G., Lofrano, G., y Baldantoni, D. (2020). Compost and Sewage Sludge for the Improvement of Soil Chemical and Biological Quality of Mediterranean Agroecosystems. *Sustainability 2021*, Vol. 13, Page 26, 13(1), 26.  
<https://doi.org/10.3390/SU13010026>
- Piotrowska, A., Iamarino, G., Rao, M. A., y Gianfreda, L. (2006). Short-term effects of olive mill waste water (OMW) on chemical and biochemical properties of a semiarid Mediterranean soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(3), 600-610.  
<https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2005.06.012>
- Piotrowska, A., Rao, M. A., Scotti, R., y Gianfreda, L. (2011). Changes in soil chemical and biochemical properties following amendment with crude and dephenolized olive mill waste water (OMW). *Geoderma*, 161(1-2), 8-17.  
<https://doi.org/10.1016/J.GEODERMA.2010.11.011>

- Piperidou, C. I., Chaidou, C. I., Stalikas, C. D., Soulti, K., Pilidis, G. A., y Balis, C. (2000). Bioremediation of Olive Oil Mill Wastewater: Chemical Alterations Induced by *Azotobacter vinelandii*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1941-1948. <https://doi.org/10.1021/JF991060V>
- Qin, L., Li, W. C., Liu, L., Zhu, J. Q., Li, X., Li, B. Z., y Yuan, Y. J. (2016). Inhibition of lignin-derived phenolic compounds to cellulase. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/S13068-016-0485-2>
- Reganold, J. P., Papendick, R. I., y Parr, J. F. (1990). Sustainable Agriculture. *Scientific American*, 262(6), 112-121. <http://www.jstor.org/stable/24996835>
- Roig, A., Cayuela, M. L., y Sánchez-Monedero, M. A. (2006). An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Management*, 26(9), 960-969. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2005.07.024>
- Sáez, J. A., Pérez-Murcia, M. D., Vico, A., Martínez-Gallardo, M. R., Andreu-Rodríguez, F. J., López, M. J., Bustamante, M. A., Sanchez-Hernandez, J. C., Moreno, J., y Moral, R. (2021). Olive mill wastewater-evaporation ponds long term stored: Integrated assessment of in situ bioremediation strategies based on composting and vermicomposting. *Journal of hazardous materials*, 402, 123481. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123481>
- Salim, N., y Raza, A. (2020). Nutrient use efficiency (NUE) for sustainable wheat production: a review. *Journal of Plant Nutrition*, 43(2), 297-315. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1676907>
- Sanchez-Monedero, M. A., Cayuela, M. L., Roig, A., Jindo, K., Mondini, C., y Bolan, N. (2018). Role of biochar as an additive in organic waste composting. *Bioresource Technology*, 247, 1155-1164. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.193>
- Sánchez-Navarro, V., Shahrokh, V., Martínez-Martínez, S., Acosta, J. A., Almagro, M., Martínez-Mena, M., Boix-Fayos, C., Díaz-Pereira, E., y Zornoza, R. (2022). Perennial alley cropping contributes to decrease soil CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O emissions and increase soil carbon sequestration in a Mediterranean almond orchard. *Science of The Total Environment*, 845. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.157225>
- Santos, A., Bustamante, M. A., Tortosa, G., Moral, R., y Bernal, M. P. (2016). Gaseous emissions and process development during composting of pig slurry: the influence of the proportion of cotton gin waste. *Journal of Cleaner Production*, 112, 81-90. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2015.08.084>
- Santos, C., Goufo, P., Fonseca, J., Pereira, J. L. S., Ferreira, L., Coutinho, J., y Trindade, H. (2018). Effect of lignocellulosic and phenolic compounds on ammonia, nitric oxide and greenhouse gas emissions during composting. *Journal of Cleaner Production*, 171, 548-556. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2017.10.050>

- Sebahire, F., Faridullah, F., Irshad, M., Bacha, A. U. R., Hafeez, F., y Nduwamungu, J. (2024). Effect of Biochar on Composting of Cow Manure and Kitchen Waste. *Land*, 13(10), 1545. <https://doi.org/10.3390/land13101545>
- Seneviratne, G., Jayakody, K., Weerasekara, M., Someya, T., y Ryuda, N. (2011). Microbial Biofertilizer Application Versus Compost Use in Agriculture: Soil Health Implications. En M. Miransari (Ed.), *Soil Microbes and Environmental Health* (pp. 88-117). Nova Science Publishers. [https://www.researchgate.net/profile/Gamini-Seneviratne/publication/286161082\\_Microbial\\_biofertilizer\\_application\\_versus\\_compost\\_use\\_in\\_agriculture\\_Soil\\_health\\_implications/links/5d355d3f299bf1995b3f9f4d/Microbial-biofertilizer-application-versus-compost-use-in-agriculture-Soil-health-implications.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Gamini-Seneviratne/publication/286161082_Microbial_biofertilizer_application_versus_compost_use_in_agriculture_Soil_health_implications/links/5d355d3f299bf1995b3f9f4d/Microbial-biofertilizer-application-versus-compost-use-in-agriculture-Soil-health-implications.pdf)
- Sha, Z., Li, Q., Lv, T., Misselbrook, T., y Liu, X. (2019). Response of ammonia volatilization to biochar addition: A meta-analysis. *Science of The Total Environment*, 655, 1387-1396. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.11.316>
- Singh Antil, R., Raj, D., Abdalla, N., Inubushi, K., Antil, R. S., Raj, · D, Abdalla, · N, Raj, D., Abdalla, N., y Inubushi, K. (2014). *Physical, Chemical and Biological Parameters for Compost Maturity Assessment: A Review*. 83-101. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-08004-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-08004-8_5)
- Smirnova, K. A., Xu, S., Orlova, E. E., Abakumov, E. V., Orlova, N. E., y Chukov, S. N. (2025). Impact of Biochar and Biochar-Based Plant Composts on the Microbiological Activity of Agrosoddy-Podzolic Soil. *Eurasian Soil Science*, 58(9), 112. <https://doi.org/10.1134/S1064229325600289>
- Steger, K., Sjögren, Å. M., Jarvis, Å., Jansson, J. K., y Sundh, I. (2007). Development of compost maturity and Actinobacteria populations during full-scale composting of organic household waste. *Journal of Applied Microbiology*, 103(2), 487-498. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03271.x>
- Steiner, C., Das, K. C., Melear, N., y Lakly, D. (2010). Reducing Nitrogen Loss during Poultry Litter Composting Using Biochar. *Journal of Environmental Quality*, 39(4), 1236-1242. <https://doi.org/10.2134/jeq2009.0337>
- Suárez-Estrella, F., Vargas-García, C., López, M. J., Capel, C., y Moreno, J. (2007). Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Crop Protection*, 26(1), 46-53. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2006.04.003>
- Sun, X., Huang, G., Huang, Y., Fang, C., He, X., y Zheng, Y. (2022). Large Semi-Membrane Covered Composting System Improves the Spatial Homogeneity and Efficiency of Fermentation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(23), 15503. <https://doi.org/10.3390/ijerph192315503>

- Tampio, E., Salo, T., y Rintala, J. (2016). Agronomic characteristics of five different urban waste digestates. *Journal of Environmental Management*, 169, 293-302. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2016.01.001>
- Test No. 207: *Earthworm, Acute Toxicity Tests*. (1984). OECD. <https://doi.org/10.1787/9789264070042-en>
- Thassitou, P. K., y Arvanitoyannis, I. S. (2001). Bioremediation: a novel approach to food waste management. *Trends in Food Science & Technology*, 12(5-6), 185-196. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00081-4](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00081-4)
- Tomati, U., Galli, E., Fiorelli, F., y Pasetti, L. (1996). Fertilizers from composting of olive-mill wastewaters. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38(3-4), 155-162. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(96\)00044-3](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(96)00044-3)
- Tyagi, M., da Fonseca, M. M. R., y de Carvalho, C. C. C. R. (2011). Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation*, 22(2), 231-241. <https://doi.org/10.1007/S10532-010-9394-4>,
- Vandecasteele, B., Sinicco, T., D'Hose, T., Vanden Nest, T., y Mondini, C. (2016). Biochar amendment before or after composting affects compost quality and N losses, but not P plant uptake. *Journal of Environmental Management*, 168, 200-209. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2015.11.045>
- Varga, Z. I., Shahzad, S., Ramay, M. W., Damak, M., Gulyás, M., Béres, A., Gyuricza, C., Székács, A., y Aleksza, L. (2024). Ammonia and Greenhouse Gas Emissions from Organic Manure Composting: The Effect of Membrane Cover. *Agronomy*, 14(7). <https://doi.org/10.3390/agronomy14071471>
- Vidal Giménez, F., Marqués Pérez, I., Ribal Sanchis, F. J., y Pastor, J. T. (2025). Análisis de la eficiencia económica de la industria oleícola española. *Economía agraria y recursos naturales*, ISSN-e 2174-7350, ISSN 1578-0732, Vol. 25, Nº. 1, 2025, págs. 163-177, 25(1), 163-177. <https://doi.org/10.7201/earn.2025.01.07>
- Vlyssides, A. G., Bouranis, D. L., Loizidou, M., y Karvouni, G. (1996). Study of a demonstration plant for the co-composting of olive-oil-processing wastewater and solid residue. *Bioresource Technology*, 56(2-3), 187-193. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(96\)00010-7](https://doi.org/10.1016/0960-8524(96)00010-7)
- Wang, S., Shi, D., Yang, R., Xu, Y., Guo, H., y Yang, X. (2015). Solvent extraction of phenol from aqueous solution with benzyl 2-ethylhexyl sulfoxide as a novel extractant. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 93(10), 1787-1792. <https://doi.org/10.1002/cjce.22267>
- Wang, Y., Zhu, Y., Zhang, S., y Wang, Y. (2018). What could promote farmers to replace chemical fertilizers with organic fertilizers? *Journal of Cleaner Production*, 199, 882-890. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2018.07.222>
- Waqas, M., Hashim, S., Humphries, U. W., Ahmad, S., Noor, R., Shoaib, M., Naseem, A., Hlaing, P. T., y Lin, H. A. (2023). Composting Processes for Agricultural Waste Management: A

- Comprehensive Review. *Processes* 2023, Vol. 11, Page 731, 11(3), 731. <https://doi.org/10.3390/PR11030731>
- Wichuk, K. M., y McCartney, D. (2010). Compost stability and maturity evaluation — a literature review A paper submitted to the Journal of Environmental Engineering and Science. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 37(11), 1505-1523. <https://doi.org/10.1139/L10-101>
- Xiong, J., Ma, S., He, X., Han, L., y Huang, G. (2021). Nitrogen transformation and dynamic changes in related functional genes during functional-membrane covered aerobic composting. *Bioresource Technology*, 332, 125087. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125087>
- Xiong, J., Su, Y., He, X., Han, L., y Huang, G. (2023). Effects of functional membrane coverings on carbon and nitrogen evolution during aerobic composting: Insight into the succession of bacterial and fungal communities. *Bioresource Technology*, 369, 128463. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128463>
- Xu, J., Lu, Y., Shan, G., He, X. S., Huang, J., y Li, Q. (2019). Inoculation with Compost-Born Thermophilic Complex Microbial Consortium Induced Organic Matters Degradation While Reduced Nitrogen Loss During Co-Composting of Dairy Manure and Sugarcane Leaves. *Waste and Biomass Valorization*, 10(9), 2467-2477. <https://doi.org/10.1007/S12649-018-0293-Y>
- Yang, Y., Wang, G., Li, G., Ma, R., Kong, Y., y Yuan, J. (2021). Selection of sensitive seeds for evaluation of compost maturity with the seed germination index. *Waste Management*, 136, 238-243. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2021.09.037>
- Yeomans, J. C., y Bremner, J. M. (1988). A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 19(13), 1467-1476. <https://doi.org/10.1080/00103628809368027>
- Yin, M., Li, Y., Hu, Q., Yu, X., Huang, M., Zhao, J., Dong, S., Yuan, X., y Wen, Y. (2023). Potassium Increases Nitrogen and Potassium Utilization Efficiency and Yield in Foxtail Millet. *Agronomy*, 13(9), 2200. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY13092200/S1>
- Yin, Y., Yang, C., Li, M., Zheng, Y., Ge, C., Gu, J., Li, H., Duan, M., Wang, X., y Chen, R. (2021). Research progress and prospects for using biochar to mitigate greenhouse gas emissions during composting: A review. En *Science of the Total Environment* (Vol. 798). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149294>
- Yin, Y., Yang, C., Tang, J., Gu, J., Li, H., Duan, M., Wang, X., y Chen, R. (2021). Bamboo charcoal enhances cellulase and urease activities during chicken manure composting: Roles of the bacterial community and metabolic functions. *Journal of Environmental Sciences*, 108, 84-95. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2021.02.007>
- Yu, Y. Y., Li, S. M., Qiu, J. P., Li, J. G., Luo, Y. M., y Guo, J. H. (2019). Combination of agricultural waste compost and biofertilizer improves yield and enhances the sustainability of a pepper

- field. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 182(4), 560-569.  
<https://doi.org/10.1002/JPLN.201800223>
- Zhang, D., Luo, W., Yuan, J., Li, G., y Luo, Y. (2017). Effects of woody peat and superphosphate on compost maturity and gaseous emissions during pig manure composting. *Waste Management*, 68, 56-63. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.05.042>
- Zhao, Y., Li, W., Chen, L., Meng, L., y Zheng, Z. (2020). Effect of enriched thermotolerant nitrifying bacteria inoculation on reducing nitrogen loss during sewage sludge composting. *Bioresource Technology*, 311. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2020.123461>
- Zucconi, F., Forte, M., Monaco, A., y Bertoldi, M. (1981). Biological evaluation of compost maturity. *BioCycle*, 22, 27-29.
- Zucconi, F., Monaco, A., y Forte, M. (1984). Phytotoxins during the stabilization of organic matter. *Composting of Agricultural and Other Wastes*, 73-86.
- Zucconi, F., Pera, A., Forte, M., y de Bertoldi, M. (1981). Evaluating toxicity of immature compost. *BioCycle*, 22(2), 54-57.



## 8. ANEXOS





**8.1. Publicación 1: Composting of Olive Mill Wastewater Sludge Using a Combination of Multiple Strategies: Assessment of Improvement in Biodegradability, GHG Emissions, and Characteristics of the End Product. 2025.**

Mira-Urios, M.Á., Sáez, J.A., Orden, L., Marhuenda-Egea, F.C., Andreu-Rodríguez, F.J., Toribio, A.J., Agulló, E., López, M.J., Moral, R.



# COMPOSTING OF OLIVE MILL WASTEWATER SLUDGE USING A COMBINATION OF MULTIPLE STRATEGIES: ASSESSMENT OF IMPROVEMENT IN BIODEGRADABILITY, GHG EMISSIONS, AND CHARACTERISTICS OF THE END PRODUCT

Miguel Ángel Mira-Urios <sup>1</sup>, José A. Sáez <sup>1,\*</sup>, Luciano Orden <sup>1</sup>, Frutos C. Marhuenda-Egea <sup>2</sup>, Francisco Javier Andreu-Rodríguez <sup>1</sup>, Ana J. Toribio<sup>3</sup>, Enrique Agulló <sup>1</sup>, Maria J. López <sup>3</sup> and Raúl Moral <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Universidad Miguel Hernández, Carretera de Beniel Km 3,2, Orihuela, 03312 Alicante, Spain; miguel.mirau@umh.es (M.Á.M.-U.); l.orden@umh.es (L.O.); jandreu@umh.es (F.J.A.-R.); enrique.agullo@umh.es (E.A.); raul.moral@umh.es (R.M.)

<sup>2</sup> Instituto Multidisciplinar para el Estudio del Medio Ramón Margalef, San Vicent del Raspeig, 03690 Alicante, Spain; frutos@gcloud.ua.es

<sup>3</sup> Unidad de Microbiología, Departamento de Biología y Geología, CITE II-B, Campus de Excelencia Internacional en Agroalimentación (CeIA3), CIAIMBITAL, Universidad de Almería, 04120 Almería, Spain; atoribio@ual.es (A.J.T.); mllopez@ual.es (M.J.L.)

\* Correspondence: jose.saezt@umh.es

**Abstract:** In this study, several composting strategies such as the use of semipermeable geotextile covers and biochar as an additive were investigated to improve olive mill wastewater (OMW) biodegradability and mitigate greenhouse gas (GHG) emissions during industrial-scale composting. In addition, the final characteristics of the compost obtained and its marketable value were also assessed. For this purpose, four different co-composting mixtures were prepared with OMW as the main ingredient, and two types of manure (cattle and goat manure) and bulking agents (almond pruning and vineyard pruning waste) as N and C sources. The results showed that exothermic behavior and biodegradability were more influenced by the co-composting strategy. The use of biochar as an additive showed a reduction in N losses (-14%) via GHG emissions and a significant improvement in cation exchange capacity (+35%) or the content of humic substances (+10%) in the final product. Lastly, the use of a geotextile cover was shown to be the worst cost-effective strategy, as it did not improve compost quality and showed no effect on GHG emissions.

**Keywords:** olive mill waste sludge; greenhouse gas emissions; biochar; geotextile membrane cover

## 1. Introduction

Olive oil is a key agro-industrial product in several countries in the Mediterranean area, as it accounts for nearly 90% of olive oil production worldwide [1]. As the leading olive oil producer,

Spain is home to 2,768,267 ha of olive orchards [2]. Olive mill wastewater (OMW) sludge is a by-product of olive oil production in olive mills and presents significant environmental challenges. OMW is rich in organic matter (OM) and phytotoxic compounds such as phenolic compounds [3], has a strong odor, and can cause severe soil and water pollution if not properly managed. In addition, it is estimated that approximately 90% of the total olive volume processed in the three-phase system is converted into OMW [4]. Another critical environmental concern associated with OMW is the emission of greenhouse gases (GHGs) due to long-term storage in evaporation ponds and their slow decomposition. Therefore, traditional disposal methods are environmentally unsustainable, prompting the need for innovative solutions that are able to use OMW as a low-cost raw material to obtain an N and C source that can be used to restore the fertility of soils. Co-composting systems have shown potential for degradation of this recalcitrant waste and can be a suitable technique to obtain an environmentally safe product with improved agronomic characteristics for soil application [1,4]. Although composting can produce significant amounts of CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O if not managed properly [5], composting systems, when correctly managed, have shown great potential for organic waste treatment and GHG mitigation [6]. Different approaches to the use of these techniques could be the solution to OMW environmental issues.

Thus, the application of various additives to compost has been explored as a method to optimize the degradation process and reduce GHG emissions. Recently, several research studies [7–9] have shown the potential of biochar for mitigating GHG emissions and improving composting treatment. Biochar has many physical and chemical properties, such as high porosity, large surface area, and abundant surface functional groups, which have attracted much attention in the last few years. It can interact with the main nutrient cycles and induce changes in microbial communities that can alter biogeochemical cycles (degradation of OM, humification, nitrification, and denitrification), helping to enhance the quality of composts and mitigate GHG emissions [10].

In recent years, membrane-covered composting has received widespread attention as a new composting technology [11–13]. Some studies, such as the one by Varga et al. [14], have proposed covers as an additional strategy for mitigating GHG emissions. These studies have suggested that this methodology could help control moisture levels and temperature within compost piles, creating optimal conditions for microbial activity and thus reducing the time of the treatment process and the release of GHG emissions from composting piles. Along with the integration of advanced measurement techniques, such as portable devices for measuring GHG emissions, the use of geotextile covers is proposed as a feasible alternative to this environmental concern.

Other studies, such as the one by Luo et al. [15] and Yang et al. [16], proved that different organic covers also had an impact on the GHG emissions of composting piles. In those studies, organic biomass materials, such as mature composts or cornstalks, utilized as a cover over manure, reduced the emissions of ammonia or N<sub>2</sub>O, but also increased CH<sub>4</sub> emissions (16–43%)

in some situations by increasing anaerobic zones during heap composting. Semipermeable membranes with selective permeability, used over compost piles and under forced ventilation that facilitates O<sub>2</sub> penetration, improved compost quality and reduced methane emissions in studies carried out by Xiong et al. [17] and Li et al. [18], and Fang et al. [12] demonstrated improvements in physicochemical indicators such as temperature, pH, and germination index when this technique was used. In addition, Ma et al. [19] observed that membrane covering accelerated organic matter degradation, which was reflected in the amount of mineral components produced during the decomposition process.

Despite all the benefits of composting using membrane covers, the initial investment is high due to the characteristics and high price of these types of materials, and even prohibitive in certain scenarios. Alternative covers have been researched for GHG reduction, such as organic covers or superficial layers of mature compost [15]. Other alternatives, such as geotextile membranes, are commonly used in a wide variety of agricultural applications [20], although they have rarely been tested for this use.

In order to validate the quality of composts, the change in OM is a key factor. Moreover, several composting studies have assessed C sequestration in soils as a tool to mitigate climate change through the improvement of the carbon cycle efficiency of compost OM [21,22]. Thus, thermal analysis (TA) techniques such as Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and thermogravimetry analysis (TGA) have been applied due to their high sensitivity to the chemical changes produced during the biotransformation of organic wastes, and because they are reproducible, informative, rapid, low-cost, and small-sample-consuming methods that can be used to elucidate the structural features of OM. They also provide important information about the chemical characteristics of the samples and the progressive biodegradation of the more labile organic compounds, as well as the formation of more resistant and structurally ordered compounds such as humic compounds [23–25]. This information, through the R1 and R2 parameters, allows for the quantitative evaluation of the stabilization of organic matter in the composting process and could be considered a reliable parameter to check the maturity level of organic matter [24,26].

The main objective of this work was to evaluate the feasibility of co-composting technology on a commercial scale to manage and recycle OMW mixed with different types of manures and bulking agents used as the N source and C source, respectively. In addition, different management strategies were tested, such as the use of additives, including biochar, and a bio-mineral supplement, or the use of geotextile covers. In order to obtain a comprehensive assessment, the study mainly focused on (i) process assessment, through the changes in key chemical parameters, the exothermic behavior of compost piles, and the biodegradability of the organic matter through FTIR and TGA techniques; (ii) the assessment of the environmental impact with respect to GHG emissions from compost piles; and (iii) the assessment of the

agronomic quality and economic value of the end products obtained based on their characteristics and nutrient content.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Experimental Design

**Table 1.** Physicochemical properties of the raw materials used in the composting piles.

Mixture	OMW	CM	GM	Alm	Vn
Mixture 1 (% f.w.)	50	40	-	10	-
Mixture 2	50	40	-	-	10
Mixture 3	50	-	40	10	-
Mixture 4	50	-	40	-	10
Moisture (%)	71.2	55.4	47.9	10.2	7.1
pH	6.06	8.11	8.79	6.76	7.65
EC (dS m <sup>-1</sup> )	1.48	9.46	9.31	1.11	1.23
TOC (%)	51.1	36.8	36.6	45.3	35.4
TN (%)	1.72	2.15	1.87	0.44	1.02
TOC/TN	29.5	17.1	19.6	104	34.7
PPH (mg kg <sup>-1</sup> )	29,804	1963	3480	3928	960
<b>Total elements</b>					
P (g kg <sup>-1</sup> )	2.61	7.16	7.43	0.41	1.22
K (g kg <sup>-1</sup> )	33.2	23.2	25.3	2.1	6.4
Ca (g kg <sup>-1</sup> )	0.80	2.63	3.17	0.50	4.81
Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	0.04	0.20	0.16	0.01	0.15
Cr (mg kg <sup>-1</sup> )	4.79	15.1	12.9	5.43	30.7
Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	43.2	46.9	43.4	3.02	35.9
Ni (mg kg <sup>-1</sup> )	4.40	6.86	5.12	2.08	6.22
Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	3.12	5.01	2.84	0.92	8.91
Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	53.3	189	319	6.76	42.8

CM: cattle manure; GM: goat manure; Alm: almond tree pruning; Vn: grapevine pruning; OMW: three-phase olive mill wastewater.

The composting process was carried out in the CompoLab treatment plant of the EPSO (Orihuela, Alicante, Spain) from April to July 2023 using a windrow composting system. All piles were turned 4 times, and the entire process consisted of 119 days of the bio-oxidative phase and 46 days of the maturation phase, for a total of 165 days. The optimization procedure was based on four main variables: (a) nitrogen source, (b) carbon source, (c) additives, and (d) use of semipermeable geotextile cover. The materials used for this purpose were olive mill wastewater

(OMW) sludge as the main ingredient in all piles, which was then mixed with cattle manure (CM) or goat manure (GM) as the N source, and almond tree pruning waste (Alm) or vineyard pruning waste (Vn) as the C source. Biochar and a bio-mineral (BM) supplement mixture composed of biochar, almond powder, an inorganic P-rich material, and a pH regulator were used as additives. Lastly, for covering the composting piles, a semipermeable geotextile cover (TenCate Toptex®, polypropylene non-woven, 200 g·m<sup>-2</sup>) was used.

The physicochemical characteristics of each ingredient are shown in Table 1. These materials were blended in different proportions on a fresh weight basis to obtain optimal C/N ratios (20 ± 2). A total of 4 different mixtures were mechanically prepared with 3 ingredients each (Table 1). Then, each mixture was divided into 6 different trapezoidal windrows composting piles: (1) without additive and no cover as the control, (2) with a biochar additive (1% f.w.) and no cover, (3) with the BM additive (1% f.w.) and no cover, (4) without additive and with a cover, (5) with biochar and cover, and (6) with the BM additive and a cover. Therefore, a total of 24 trapezoidal windrows composting piles were made (base dimensions of 3 m × 4.5 m × 1.3 m). The biochar (pH 6.5, EC: 1.7 dS m<sup>-1</sup>, TOC: 54.1%, TN: 1.4%) used as the additive was obtained from a pyrolysis process (450 °C, 24 h) using urban pruning waste.

## 2.2. Physicochemical Analyses

The composting piles were sampled at 0 (start-up), 60 (thermophilic), 120 (end bio-oxidative), and 165 days (mature compost) from the start of the process. In each sampling, all piles were sampled using the same method: four subsamples were taken from the bottom to the top at four different points of the pile and were blended together as a representative sample for analysis. All collected samples were dried (60 °C), milled, and sieved to 0.5 mm prior to analysis. All analyses were performed in triplicate (n = 3). Both raw materials and compost were analyzed according to the methods described by Bustamante et al. [27]: electrical conductivity (EC) and pH were analyzed in a 1:10 (w/v) water extract. Total organic matter (TOM) was determined by loss-on-ignition at 430 °C for 24 h. Total nitrogen (TN) and total organic carbon (TOC) were measured by ignition at 1020 °C using automatic elemental microanalyzers (EuroVector elemental Analyzer, Milano, Italy). Humic (Cha) and fulvic content were measured after 1:20 alkaline (NaOH) extraction using an automatic analyzer for liquid samples (TOC-VCSN Analyzer, Shimadzu, [Kyoto](#), Japan). Water-soluble polyphenols (PPHs) were determined using the modified Folin–Ciocalteu method in a 1:20 (w/v) water extract. After microwave acid digestion, the total elemental contents of P, K, Ca, Mg, Na, and heavy metals were analyzed using ICP-OES. To measure the germination index (GI) of the compost obtained, the germination and radicle length of garden cress (*Lepidium sativum*) were assessed according to the method of Zucconi et al. [28]. The cation exchange capacity (CEC) was determined using the BaCl<sub>2</sub>-triethanolamine method.

### 2.3. OM Modeling and Thermal and Spectroscopic Analysis

Organic matter mineralization during composting was calculated as the OM losses during the process, according to the equation

$$OM\ loss\ (\%) = 100 - 100 \frac{[X_1 (100 - X_2)]}{[X_2 (100 - X_1)]} \quad 1)$$

where  $X_1$  and  $X_2$  are the initial (0 days) and specific (60, 120, and 165 days) ash content, respectively. The results were fitted to a first-order kinetic model [29]:

$$OM\ loss = A * (1 - e^{-kt}) \quad 2)$$

where  $A$  is the maximum degradation of OM (%),  $k$  the degradation rate constant, and  $t$  the composting time (days). SigmaPlot 13 software was used for curve fitting.

Thermal analysis was performed with a thermobalance (Mettler Toledo TGA/SDTA851e/LF/1600) coupled with a mass spectrometer (Pfeiffer Vacuum Thermostar GSD301T). This system allows the recording of thermograms and mass spectra at the same time. All samples (5–6 mg per sample) were combusted in an  $Al_2O_3$  pan with a mixed stream of oxygen/He (20/80%) at a constant gas flow of  $100\text{ mL min}^{-1}$ , within a temperature range of 25 to  $650\text{ }^\circ\text{C}$ , with an increase of  $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  and self-controlled calibration. To evaluate the transformation of organic matter during the composting process, as well as the OM stability of the end product, the R1 and R2 indexes were used. The R1 index is obtained from thermogravimetry (TG) data and is the ratio of the weight losses associated with the second (400–580  $^\circ\text{C}$ ) and first (250–400  $^\circ\text{C}$ ) exothermic peaks. It has been identified as a reliable parameter for evaluating the level of stabilization of OM in compost samples [30]. And the R2 index indicates the ratio of energy needed by a compound for its combustion, corresponding to the same peaks obtained by DTA [31]. Therefore, these indicators correlate with the enrichment of aliphatic compounds (more refractory) relative to labile carbohydrates at lower temperatures. All samples taken during the different composting phases were measured in triplicate. The FT-IR spectra were obtained using a Bruker IFS 66 spectrometer. In all cases, 7–10 mg of each sample was accurately weighed and then mixed with 100 mg of KBr, dried and pressed into pellets. The wavelength resolution was set at  $4\text{ cm}^{-1}$ , with a range of 400–4000  $\text{cm}^{-1}$ . In all samples, the average value of 20 scans was recorded and corrected using ambient air as the background.

### 2.4. GHG Measurement During Composting

The gaseous fluxes ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  and  $\text{N}_2\text{O}$ ) from the composting piles were measured with an opaque and isolated closed chamber ( $3.534\text{ dm}^3$ ) using a Gasera One device photoacoustic gas analyzer (Gasera One, Gasera Ltd.Finland). The measurements of  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ , and  $\text{N}_2\text{O}$  were undertaken on days 0, 6, 20, 35, 49, 62, 76, 91, 109, and 154 after the beginning of the process. The concentration of each gas (ppm) was measured in situ from the top of the composting piles

and then converted into flux ( $\text{mg gas m}^2 \text{ day}^{-1}$ ) according to the protocol established by Sánchez-Navarro et al. [32]. Cumulative gas emissions during the experimental period were calculated by multiplying the average flux of the two consecutive measurements by the time elapsed between them. In addition, the total surface area (trapezoidal prism shape) of each pile was taken into account to calculate the total gaseous emissions from the composting piles. The total global warming potential (GWP) for each pile was expressed as  $\text{CO}_2\text{-eq}$  and calculated according to the factor proposed by the IPCC 2023 [33] for each gas, where  $\text{N}_2\text{O}$  and  $\text{CH}_4$  account for GWP (100-year time horizon) values of 273 and 27.2, respectively.  $\text{CO}_2$  emissions from the composting process were not included in the GWP, as they are considered to be of biogenic origin [34].

### **2.5. Economic Value of the Product**

The economic value of the compost obtained was calculated according to its fertilizing units and humic substance content, determined using analytical methods. It was calculated based on the value of the N,  $\text{P}_2\text{O}_5$ , and  $\text{K}_2\text{O}$  fertilizing units and humic fertilizer as mineral fertilizer urea, diammonium phosphate (DAP), and potassium chloride (KCl) [35], respectively. Each value was obtained from the average marketable values (EUR/t) of these fertilizers in 2023, provided by the World Bank. A compost moisture content of 25% was considered, as it is the average water content in commercial compost that complies with the range established by Spanish Royal Decree 999/2017 (BOE-A-2017-14332) (<40% moisture for commercial compost).

### **2.6. Statistical Analyses**

The data analysis was performed using Infostat<sup>®</sup> (v.2020), a statistical software package linked to the R programming environment [36]. One-way analysis of variance (ANOVA) and the least significant difference (LSD) test at  $p < 0.05$  were used to assess the statistical significance of differences between the values of each parameter (N sources and C sources) studied during composting. SigmaPlot 13 software was used to calculate the OM loss during composting, according to the first-order kinetic function. Adjusted R-squared ( $R^2_{\text{adj}}$ ) and F values were used to fit the curve to the kinetic function and ensure the statistical significance of the correlation. Two-way ANOVA and LSD tests were used to assess the differences between the values of each parameter (N sources, C sources, cover, additives, and OMW) studied during composting. Daily greenhouse gas fluxes, accumulated greenhouse values, and GWP were also analyzed using one-way and two-way ANOVAs, as previously discussed. The exothermic index ( $\text{EXI}^2$ ) is defined as the quadratic sum of the daily difference between the temperature inside the pile and the environmental temperature during the bio-oxidative phase. Pearson's correlation coefficients between the physicochemical parameters of the end products and the GHG flux emissions of the different compost piles were also determined.

### **3. Results and Discussion**

#### **3.1. Temperature Changes and Exothermic Indexes**

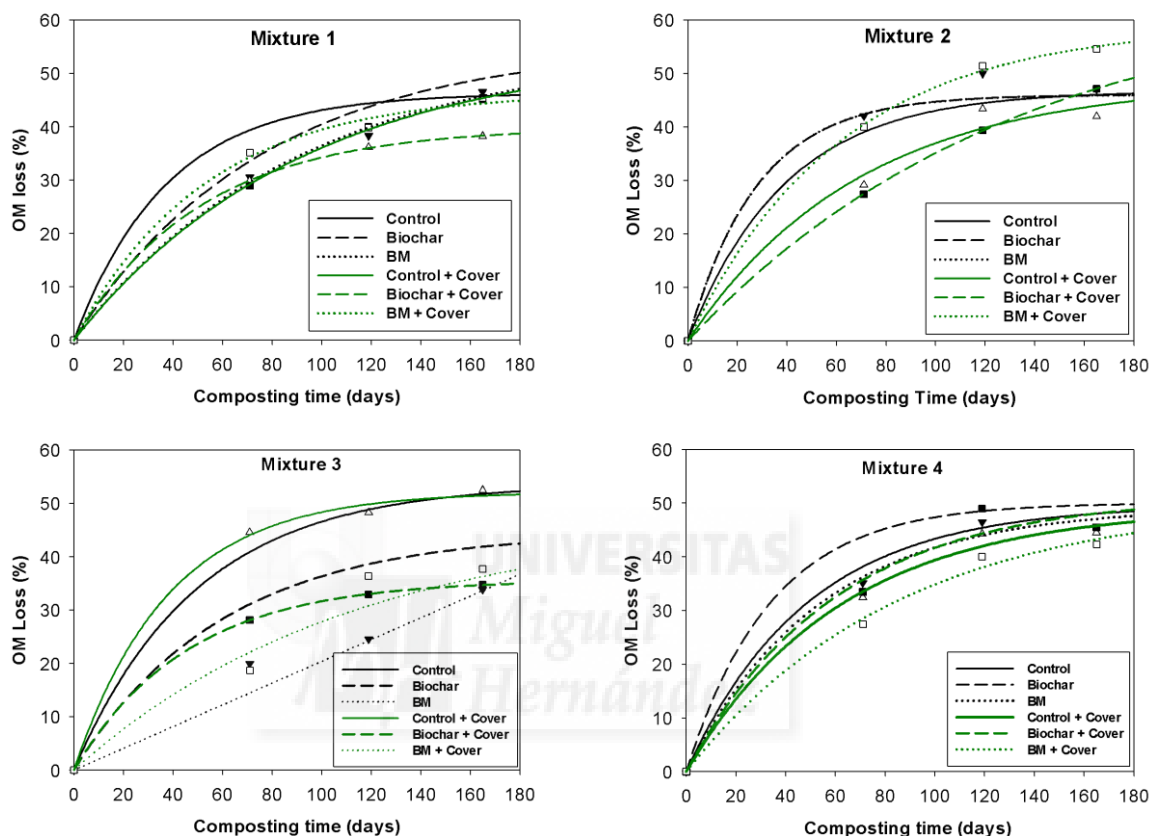
The changes in the temperature profile (Supplementary Data) showed a quick increase in the temperature values for all co-composting piles independently of the strategies used. Thermophilic values ( $>40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) were quickly reached and lasted at least until the first turning event (day 20), except for Mixture 3, without additive and no cover. All the piles maintained thermophilic temperatures, which were reactivated after the turning events for 80 days after the beginning of the process. After the turning event carried out on day 90, the temperatures progressively fell, reaching ambient values, indicating the end of the bio-oxidative phase of composting. As shown in Table 2, the maximum temperature reached showed a statistical difference when the different mixtures tested were compared. In addition, the exothermic behavior also showed statistical differences when comparing mixtures, supported by the number of days each mixture was found to be over 50, 60, and 70  $^{\circ}\text{C}$ . In this sense, Mixture 1 and Mixture 3 did not reach 70  $^{\circ}\text{C}$  in the piles, while Mixture 2, and especially Mixture 4, showed temperatures over 70  $^{\circ}\text{C}$  for 1 and 11 days, respectively. This could be explained by better conditions of oxygen diffusion in these mixtures, as the temperature increase is caused by the microbial exothermic activity during aerobic organic matter decomposition [37].

Regarding the different variables tested, the highest average temperature was found in mixtures in which Vn was used as the C source. Vn mixtures reached higher temperatures (+10  $^{\circ}\text{C}$  as the maximum and +6.1  $^{\circ}\text{C}$  on average), so their exothermic index (EXI) was also remarkably higher. The exothermic activity was not affected by the N source, and no major differences were found in the thermal behavior of the composting piles depending on the use of CM or GM. The type of composting system used in this study (commercial scale with periodic turning) did not produce significant differences between the piles with a geotextile cover and those without. In this sense, research studies such as Sun et al. [38] or Xiong et al. [39] have reported an effect on temperature in composting systems with the use of semipermeable-membrane covers. But in both cases, these studies were conducted in composting systems with intermittent forced aeration. Finally, as can be observed in Table 2, the additives (biochar and BM) in the proportion tested (1% f.w.) did not produce significant differences. Czekala et al. [40], when co-composting poultry manure amended with biochar, reported an increase in temperature effect, and Sebahire et al. [9], in a laboratory-scale composting experiment with cow manure, indicated a higher increase in temperature with the use of biochar in a mixture. In both studies, the biochar amendment added was 5%.

#### **3.2. OM Dynamics and Thermal Analysis**

The initial concentration of TOM was higher in Mixture 1 (76.9%), prepared with CM and Alm. Mixture 2 and Mixture 3 presented close initial values of TOM, at 72.2% and 72.1%,

respectively. The mixture prepared with the combination of GM, Vn, and OMW obtained the lowest initial value of TOM (68.7%). In all the piles studied, the decrease in the OM content was the greatest during the early stage of the bio-oxidative phase (Figure 1), but with a different intensity depending on the raw material or management strategies used. Regarding N source ingredients, during the thermophilic phase, the piles prepared with CM reached an OM loss of 34.7%, while the piles prepared with GM reached 30.7% of OM loss (Table 3).



**Figure 1.** OM loss (%) behavior in the composting pile studied. Lines represent kinetic curve fitting. OM: organic matter.

**Table 3.** Estimated kinetic model parameters for OM loss during composting according to the variables used and mixtures.

		<b>A</b>	<b>k</b>			<b>A</b>	<b>k</b>
<b>N source</b>	CM	49.2	0.0199	Cover	No Cover	49.3	0.021
	GM	48.1	0.0218		Cover	47.8	0.021
	<i>F-anova</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>		<i>F-anova</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
<b>C source</b>	Alm	46.2 b	0.0176	Additive	SN	48.3	0.021
	Vn	51.1 a	0.0245		B	49.0	0.027
	<i>F-anova</i>	1.25 *	<i>ns</i>		BM	49.6	0.014
				<i>F-anova</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	
	<b>Mixtures</b>	<b>A</b>	<b>k</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>RMS</b>	<b>F-value</b>	
	Mixture 1	46.3	0.0191	0.99	0.8	16,467	
	Mixture 2	52.1	0.0208	0.99	7.2	19,298	
	Mixture 3	46.1	0.0162	0.98	4.1	3457	
	Mixture 4	50.1	0.0273	0.99	5.5	933	
	<i>F-anova</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>				

A: maximum potential mineralization of OM (%);  $k$ : rate constant ( $d^{-1}$ ); RMS: residual mean square. \*: significant difference between treatments at  $p < 0.05$ ; ns = not significant. Different letters within a column indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

In this sense, in a study about anaerobic digestion treatment, Nleya et al. [41] reported a lower biodegradability of goat manure (26% biodegradability) compared to cow manure (81% biodegradability), attributed to slower hydrolysis rates and the more recalcitrant composition of the mineral part of goat manure. A similar effect was observed in the piles prepared with Vn (35% OM Loss) during the thermophilic phase compared with the piles that contained Alm (29.7%) as the bulking agent. Hachicha et al. [42] reported that the nature of the bulking agent plays an important role in the composting of OMW sludge, finding that the use of maize straw results in a lower OM loss, with the thermophilic phase being very short compared with cotton gin waste as the bulking agent. The use of a geotextile cover resulted in a lower OM mineralization rate than the piles without a cover, with OM degradation values during the thermophilic phase of 30.4 and 34.9%, respectively, and an average value at the end of the composting process of 47.8% in covered piles, and 49.3% in no-cover piles (Figure 1). This behavior contrasts with the findings by Xiong et al. [17] in a composting study of dairy cattle manure and wheat straw, where a semipermeable functional membrane cover was incorporated, resulting in greater OM degradation. This discordant result observed between the semipermeable membrane cover used by Xiong et al. [17] and the geotextile membrane cover used in our study can be attributed to two factors. One factor may be the characteristics of the manufacturing material, which provide the two types of covers with different properties, such as pore size distribution, air permeabilities, or water vapor transmission rate. Another factor could be the type of composting system used. Xiong et al. [39] used a forced aeration system with a device at the bottom of the pile, which created a slightly positive-pressure environment under the membrane, enhancing the flow of oxygen into the pile [17]. Finally, the additives used showed slower OM degradation during the thermophilic phase, reaching 31.4% for the biochar treatment, 30.3% for the BM treatment, and 36.5% when no additives were added. Many studies have shown that the addition of exogenous additives, such as wood vinegar [43], superphosphate [44], and biochar [45], can accelerate the decomposition of organic matter and shorten composting time. Biochar has been shown to accelerate the mineralization of organic matter, mainly because the physical and chemical characteristics of this material can enhance the aeration of compost heap [46], stimulate microorganisms and their enzyme activity levels [10], and promote the degradation of organic matter [47]. In our study, the results obtained did not show this organic matter degradation-enhancing effect, although the final value of  $A$  was slightly higher in BM and B piles compared with SN piles (Table 3).

The initial R1 and R2 presented similar values in all composting piles, as expected, since the main ingredient in all cases was the OMW sourced from the same storage pond. In addition,

the proportions of N source and C source ingredients in the mixtures were calculated in order to obtain close initial CN ratio values. As the composting process progressed, an increase in both R1 and R2 values was observed in all cases, and slight significant differences were found in behavior during the thermophilic phase. The increases in the R1 and R2 values in Mixture 1 and Mixture 2 prepared with CM were higher than those prepared with GM. This increase in R1 and R2 values during composting indicates an increase in the relative amount of the most thermally stable fraction of the OM with respect to the least stable one [48].

As shown in Table 4, the values of R1 and R2 became stable in the maturation stages of the composting process in all piles. However, when comparing the values of R1 and R2 between samples taken at the end of the maturation phase and the samples taken at the end of the bio-oxidative phase, insignificant increases were observed. This suggests that at the end of the bio-oxidative phase, the organic compounds reached good stability in the composting piles [24], with only minimal changes occurring during the maturation phase. With regard to FTIR, Table 4 shows the value of an intense absorption band in the region related to carbohydrates (1096 and 1037  $\text{cm}^{-1}$ ) [49]. With respect to the raw materials, the OMW reached the highest value (0.283), with large differences compared with the other raw materials (0.081 GM, 0.067 CM, 0.065 Alm, 0.061 Vn, and 0.03 biochar). At the beginning of the composting process, all the mixtures presented the highest relative absorbance values, with Mixture 3 having the highest absorbance. During the thermophilic phase, the band corresponding to carbohydrates sharply decreased in all the mixtures, after which the values remained stable until the end of composting. This indicates that carbohydrates, including easily biodegradable organic compounds, such as simple carbohydrates, were the most metabolized fraction by the composting microflora at the beginning of the process [42].

**Table 4.** Evolution of the OM mineralization and R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub> indexes of TGA during composting.

	Start-Up (Day 0)		Thermophilic (Day 60)		End Bio-Oxidative (Day 120)		Matured (Day 165)	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
<b>N source</b>								
<b>CM</b>	0.69	1.77	1.03 a	2.81 a	1.15 a	3.29 b	1.15	3.20 b
<b>GM</b>	0.70	1.71	0.98 b	2.36 b	1.11 b	2.58 a	1.11	2.55 a
F-anova	ns	ns	8.52 **	15.3 ***	4.45 *	25.4 ***	ns	31.9 ***
<b>C Source</b>								
<b>Alm</b>	0.71	1.83	1.00	2.59	1.13	3.05	1.15	3.04
<b>Vn</b>	0.68	1.64	1.01	2.57	1.13	2.82	1.11	2.71
F-anova	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<b>Cover</b>								
<b>No Cover</b>	0.70	1.74	0.96 a	2.60	1.17 b	3.14	1.16	3.00
<b>Cover</b>	0.70	1.74	1.02 b	2.57	1.08 a	2.73	1.10	2.84
F-anova	ns	ns	4.45 *	ns	27.9 **	6.86 *	8.70 **	ns

\*, \*\*, \*\*\*: Significant at  $p < 0.05$ , 0.01, 0.001, respectively; ns: not significant. Average values in a column followed by the same letter are not significantly different at  $p < 0.05$  (LSD test). Mixture 1: OMW + CM + Alm (50:40:10%) f.w.; Mixture 2: OMW + CM + Vn (50:40:10%) f.w.; Mixture 3: OMW + GM + Alm (50:40:10%) f.w.; Mixture 4: OMW + GM + Vn (50:40:10%) f.w.

The statistical analysis showed that the greater difference in thermostability index (R1) (Table 5) values can be explained by the variable N source. Especially during the thermophilic and bio-oxidative phases, the use of CM as an ingredient in the composting piles leads to higher values of both R1 and R2. When the temperature at which the weight loss occurs is higher, the organic fraction that degrades is consequently more resistant and structurally ordered [24].

The use of coverage also showed significant differences, but with nearly identical values of R1, especially after the end of the bio-oxidative phase and during the maturation phase. Therefore, in view of the data, the amount of OM burned in the two temperature regions was not influenced by the main variables considered, namely the use of different C sources or additives such as biochar or BM.

**Table 5.** Indexes R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub> according to the variables tested.

		Start-Up (Day 0)		Thermophilic (Day 60)		End Bio-Oxidative (Day 120)		Matured (Day 165)	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
N source	CM	0.69	1.77	1.03 a	2.81 a	1.15 a	3.29 b	1.15	3.20 b
	GM	0.70	1.71	0.98 b	2.36 b	1.11 b	2.58 a	1.11	2.55 a
F-anova		ns	ns	8.52 **	15.3 ***	4.45 *	25.4 ***	ns	31.9 ***
C Source	Alm	0.71	1.83	1.00	2.59	1.13	3.05	1.15	3.04
	Vn	0.68	1.64	1.01	2.57	1.13	2.82	1.11	2.71
F-anova		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cover	No Cover	0.70	1.74	0.96 a	2.60	1.17 b	3.14	1.16	3.00
	Cover	0.70	1.74	1.02 b	2.57	1.08 a	2.73	1.10	2.84
F-anova		ns	ns	4.45 *	ns	27.9 **	6.86 *	8.70 **	ns

\*, \*\*, \*\*\*: Significant at  $p < 0.05$ ,  $0.01$ ,  $0.001$ , respectively; ns: not significant. Average values in a column followed by the same letter are not significantly different at  $p < 0.05$  (LSD test).

### 3.3. Changes in Physicochemical Parameters During the Composting Process

Regarding pH (Figure 2), the lowest values were found at the beginning of the treatment process for all strategies tested. All the mixtures started with a pH close to neutrality (7.7 average value) and finished the process with average values of 8.3 in M2, 8.5 in M1, 8.8 in M4, and 9.3 in M3, becoming more alkaline. Wichuk et al. [50] affirmed that the release of ammonium is responsible for the increase in pH during the process, and its volatilization causes a pH reduction as the compost matures. However, Cayuela et al. [51] found that OMW compost kept its pH near 9.5, which correlated well with other indicators of stability and maturity. In the Pearson correlation test, pH showed a negative correlation ( $r = -0.611$  at  $p < 0.001$ ) with TN content in the piles, supporting the proposal by Wichuk et al. [50] about the increase in pH with nitrogen losses.

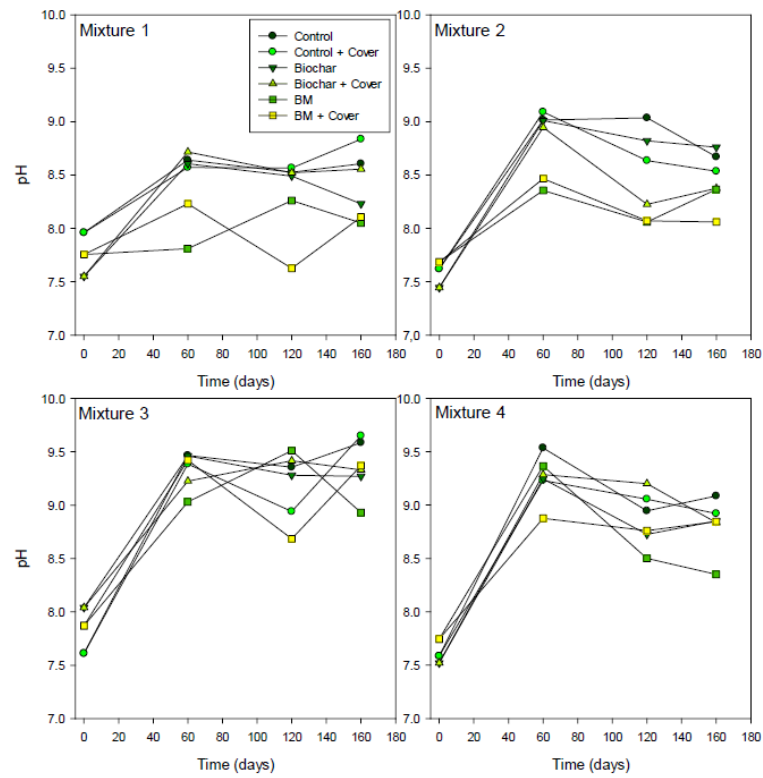


Figure 2. pH changes in each mixture.

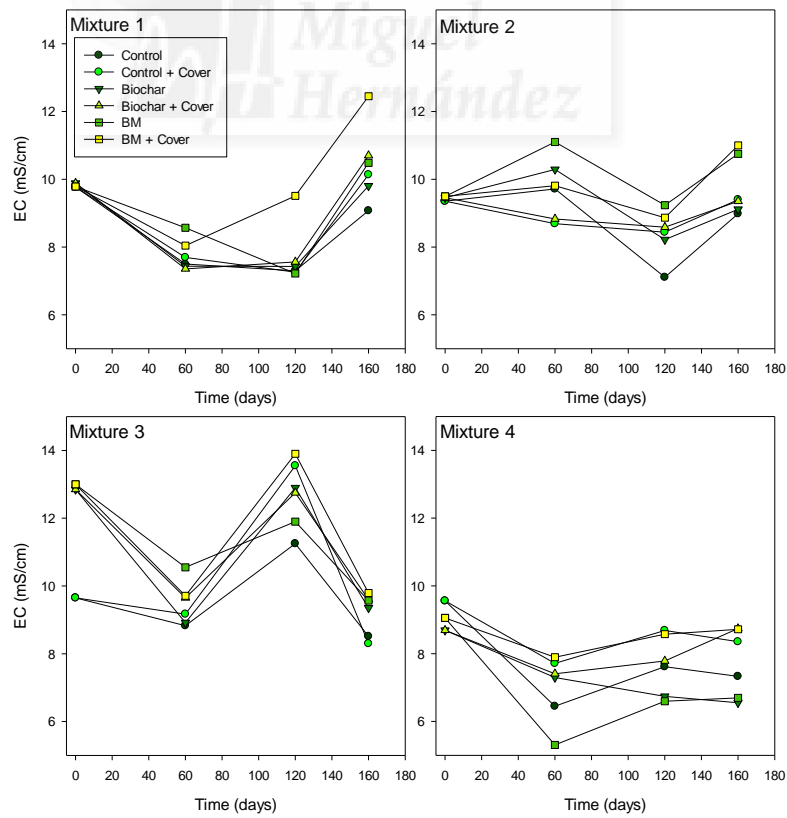


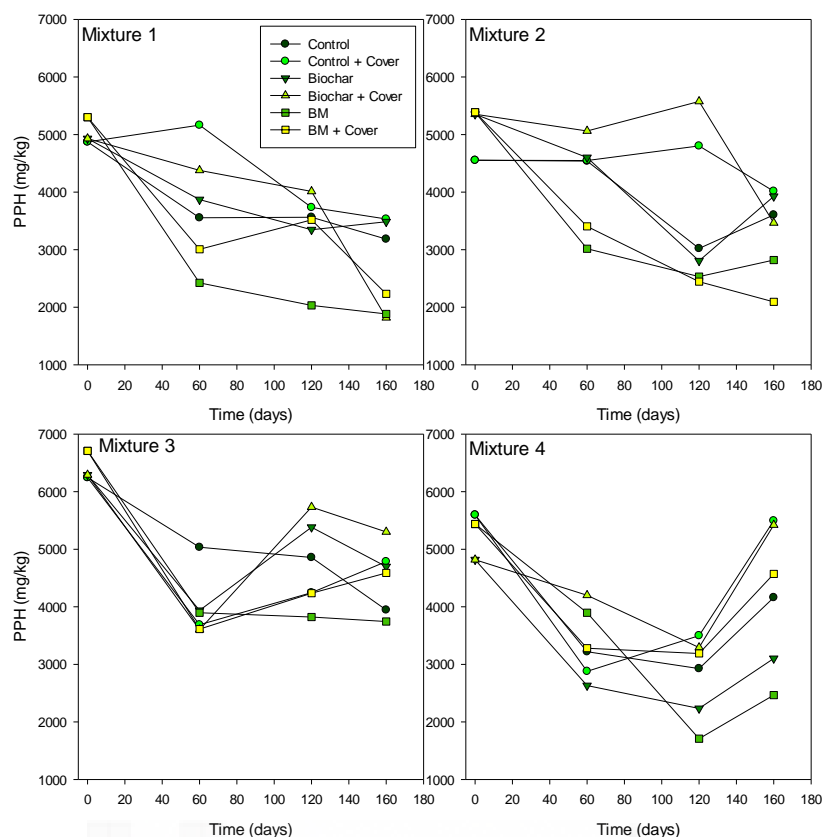
Figure 3. Changes in the electrical conductivity of each mixture.

The EC (Figure 3) is closely related to salinity content in the bibliography; however, the Pearson correlation showed a strong positive relation between TN and EC ( $r = 0.696$  at  $p < 0.001$ ), and a lower positive significant correlation was found with Na content ( $r = 0.243$  at  $p < 0.05$ ). Both Mixture 1 and Mixture 4 exhibited similar behavior in their EC changes. During the thermophilic phase (60 days), EC decreased in Mixture 1 and Mixture 4, but then gradually increased, eventually exceeding the initial levels when BM or a cover were used. Mixture 3 showed a different development, with a marked increase in EC values for all the variables tested at the end of the bio-oxidative phase.

In general, the EC values of the mature composts obtained were found to be in the upper range of values previously reported for compost made from OMW (2.46 dS m<sup>-1</sup>–7.31 dS m<sup>-1</sup>) [52,53]. The high EC of the end products could be related to OMW as an ingredient, depending on the sources of OMW, as it can cause a high EC [42], but have no impact greater than N or C sources [54]. As the initial EC of OMW was not as high as the one found in our N sources (Table 1), a high EC of the final compost found in every pile seems to be not caused by it.

OMW is well known for its high concentration of phenolic compounds. These aromatic compounds have a phytotoxic effect and can act as growth inhibitors against some microorganisms present in composting piles [55].

The OMW in our study showed (Table 1) a high concentration of phenolic compounds (29,840 mg kg<sup>-1</sup>), which is higher compared to those reported in other studies that used OMW extracted from storage ponds: 19,996 mg kg<sup>-1</sup> [52] and 13,400 mg kg<sup>-1</sup> [56]. This value decreased in the initial mixtures due to the dilution effect when OMW was mixed with the different ingredients used (Figure 4), resulting in a range of 4554–6708 mg kg<sup>-1</sup>. In all the composting piles, a sharp decrease in phenolic compounds was observed during the first two months, with a behavior similar to that described by Hachicha et al. [42] and Sáez et al. [52]. These initial biodegradation processes of the phenolic fraction were more pronounced when BM was used in the process for Mixture 1 and Mixture 2. At the end of the composting process, an average reduction in phenolic compounds was found according to the variables tested: BM 47%, biochar 27%, SN 23%, cover 28%, and no cover 37%. The composts with BM showed a lower PPH content at the end of the maturation phase. Cayuela et al. [57] found a reduction in PPH between 34% and 44% during a windrow OMW composting process, but also found a behavior of increases and decreases in OMW that was attributed to lignin degradation. This could explain the sudden increase in PPH found after the end of the bio-oxidative phase in Mixture 3 and Mixture 4. Hachicha et al. [42] reported a phenol degradation of 72% after 7 months of processing.



**Figure 4.** Changes in the water-soluble polyphenols of each mixture.

### 3.4. Greenhouse Gas Emissions During Composting and GWP Assessment

The highest GWP was observed in Mixture 4 (Figure 5), while the other mixtures exhibited no discernible differences. This is attributable to Mixture 4, showing the highest accumulated emission of  $N_2O$  (Figure 6) (with an increase in emissions of 61%, 55%, and 48% for Mixture 1, Mixture 2, and Mixture 3, respectively). However, the statistical results revealed that the greatest nitrogen losses were observed in Mixture 2 due to  $NH_3$  emissions (Figure 7). No differences were found in  $CO_2$  (Figure 8) or  $CH_4$  (Figure 9) emissions for the different mixtures tested. With respect to the N source, GM was responsible for the highest  $N_2O$  emissions, although CM expressed higher emissions of  $NH_3$ . Overall, the GWP index was higher in GM composts.

Ba et al. [58] found that  $N_2O$  emissions were positively correlated with the TN content of composting material, as they are produced during incomplete nitrifying/denitrifying processes under aerobic or anaerobic conditions. However, GM had a lower TN content (1.87%) than CM (2.15%), and subsequently, the initial mixtures prepared with GM also had a lower average nitrogen content (1.85%) than those prepared with CM (2.05%). Another explanation can be the one provided by Pardo et al. [59], who in a meta-analysis about the effect of different composting systems on gaseous emissions, suggested that management practices have an even greater influence than the composition of raw solid waste. The use of Vn (Table 6) as the carbon source caused an increase in  $N_2O$  and  $CO_2$  emissions compared to Alm. The behavior of  $CO_2$  emissions

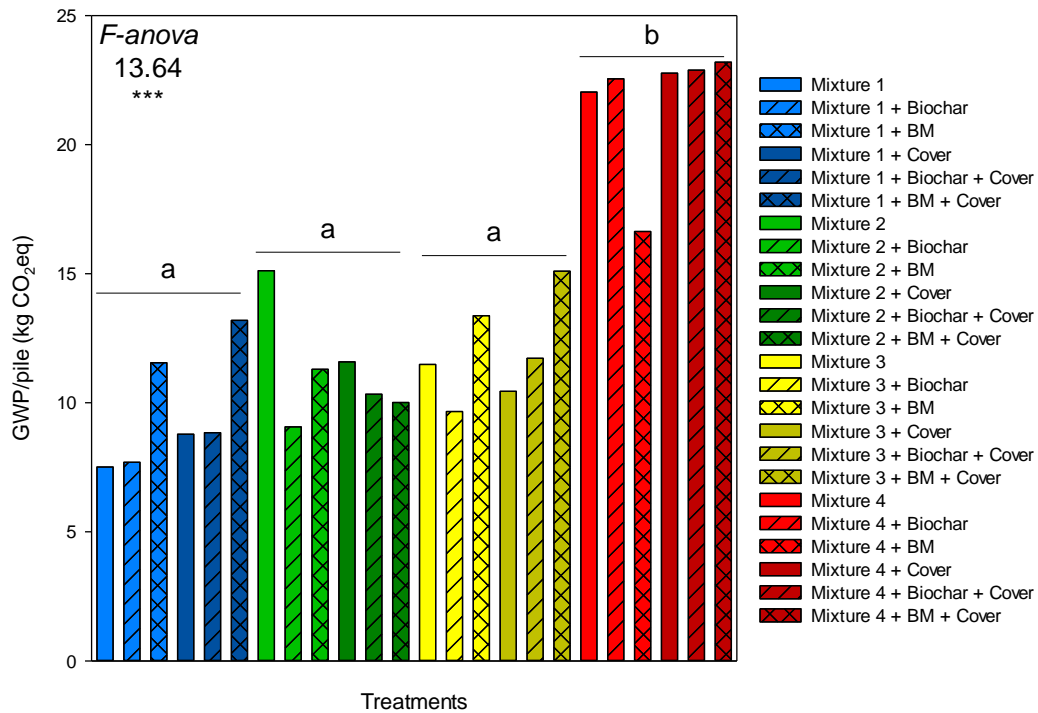
was similar to that shown by geotextile-covered piles, suggesting that the C source and the presence of a cover were the main causes of variability in CO<sub>2</sub> emissions. The additives used were not statistically significant for different GHG flux emissions or did not have an effect on the GWP index.

**Table 6.** Accumulated GHG emissions of composting piles depending on the mixture, N source, C source, cover use, and additive used.

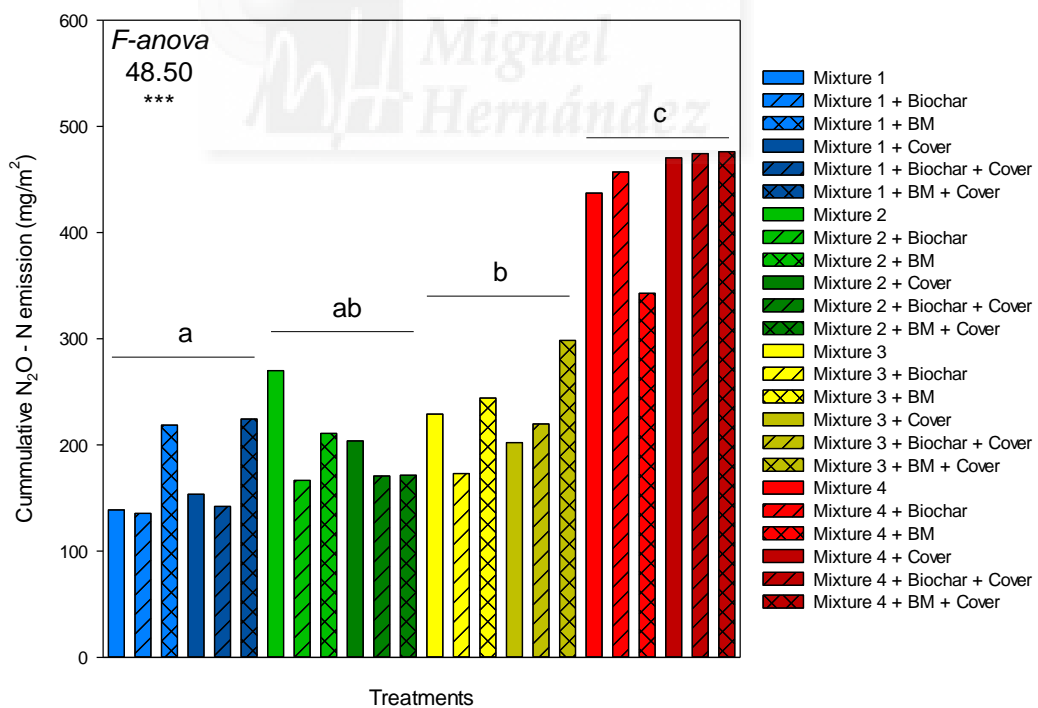
Mixture	g NH <sub>3</sub> /pile	g N <sub>2</sub> O/pile	g CH <sub>4</sub> /pile	kg CO <sub>2</sub> /pile	GWP (kg CO <sub>2</sub> -eq/pile)
<b>N source</b>					
CM	98 b	30 a	79	397	10.4 a
GM	75 a	55 b	63	440	16.8 b
<i>F-anova</i>	4.88 *	16.77 ***	ns	ns	13.90 **
<b>C source</b>					
Alm	80	33 a	68	333 a	10.8 a
Vn	92	53 b	73	503 b	16.5 b
<i>F-anova</i>	1.09 ns	8.84 **	ns	9.12 **	9.60 **
<b>Cover</b>					
No Covered	87	42	67	337 a	13.2
Covered	86	44	75	500 b	14.1
<i>F-anova</i>	ns	ns	ns	8.06 **	ns
<b>Additive</b>					
Control	93	44	69	374	13.7
Biochar	79	40	71	455	12.8
BM	87	45	73	427	14.3
<i>F-anova</i>	ns	ns	ns	ns	ns

CO<sub>2</sub> equivalent from N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> flux emissions were calculated according to their GWP (IPCC, 2023). \*, \*\*\*: significant difference between treatments at  $p < 0.05$  and  $p < 0.0001$ , respectively; ns: not significant. Different letters within a column indicate significant differences between treatments (LSD test,  $p < 0.05$ ).

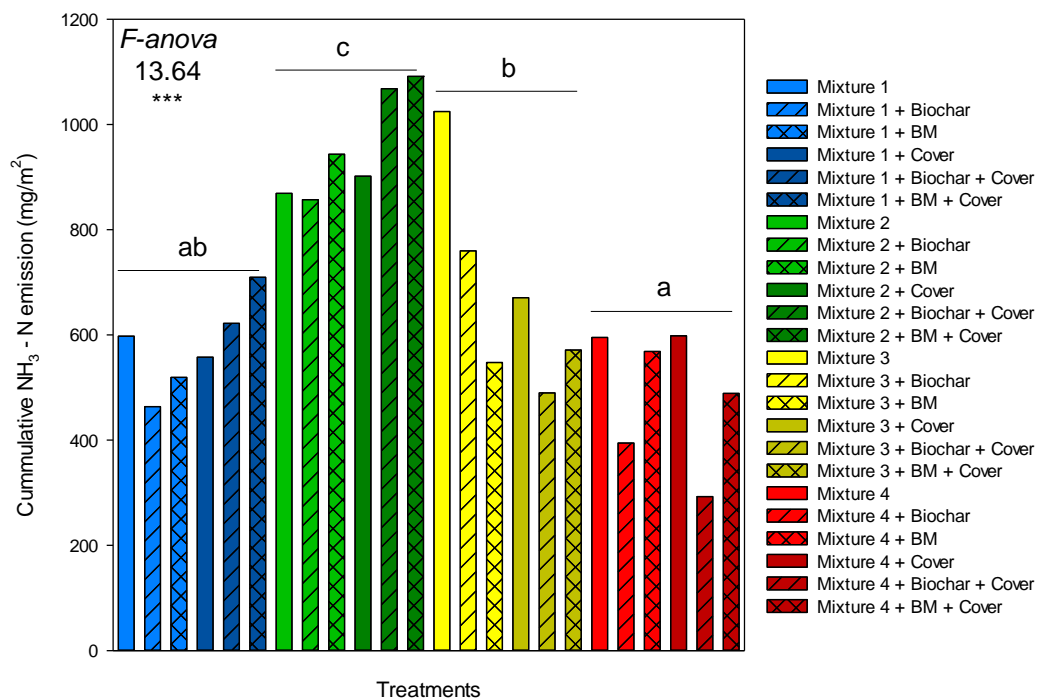
Other studies have tested biochar as an additive in composting processes and found a reduction in N losses ranging from 6% to 86%, depending on the application rate of biochar, from 3% to 25%, with a decrease proportional to the rate of biochar added [60]. Higher application doses have also been successfully applied, with a mitigating effect on GHG emissions, from 20% [61] to 50% [62]. However, doses higher than 20% are discouraged due to the potential negative effect on microbial activity, which can slow down the process [63]. As this study applied biochar at 1%, this percentage could be insufficient to represent a statistically significant impact on N<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub>, or CH<sub>4</sub> emissions.



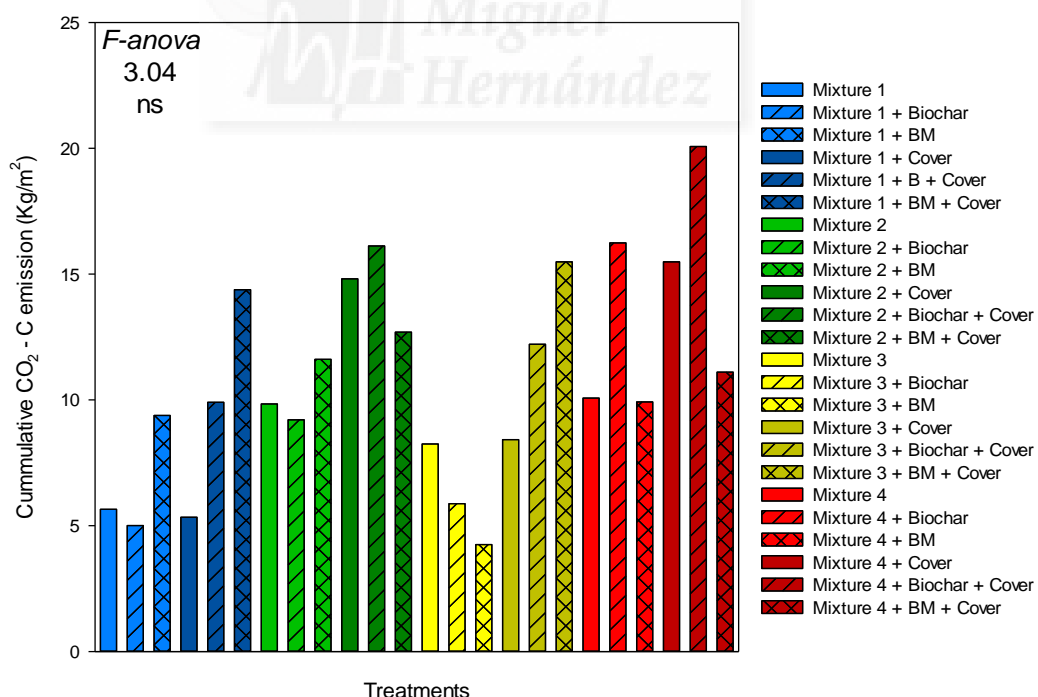
**Figure 5.** Global warming potential (GWP) of each pile. Different letters on the bar graph or bracket indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ). \*\*\*: Significant at  $p < 0.001$ .



**Figure 6.** Cumulative N<sub>2</sub>O emissions of each treatment. Different letters on the bar graph or bracket indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ). \*\*\*: Significant at  $p < 0.001$ .



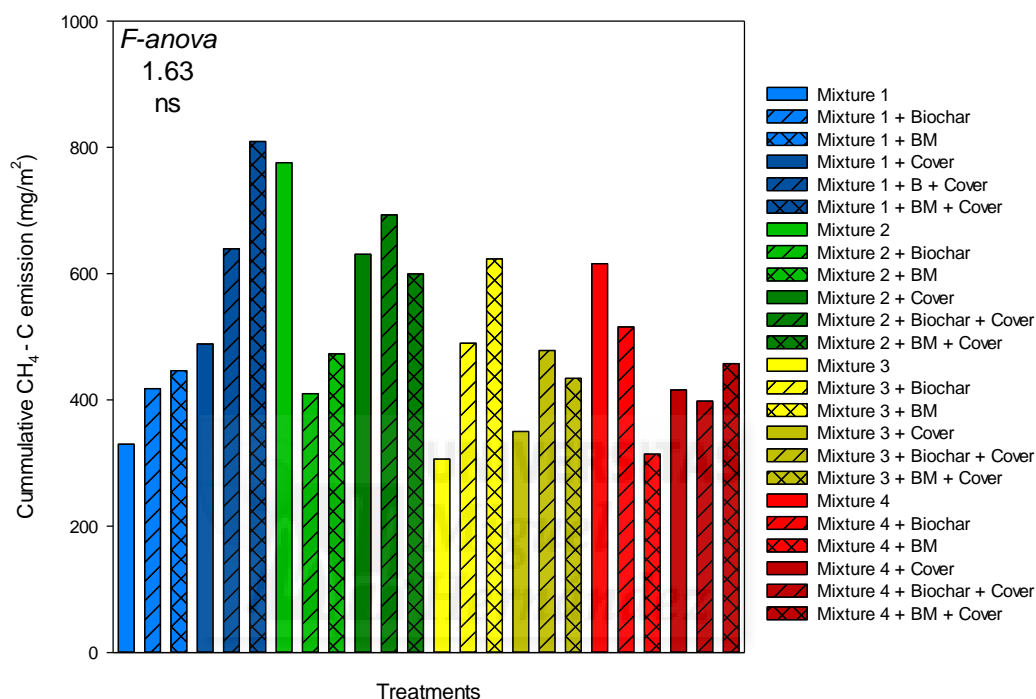
**Figure 7.** Cumulative NH<sub>3</sub> emissions of each treatment. Different letters on the bar graph or bracket indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ). \*\*\*: Significant at  $p < 0.001$ .



**Figure 8.** Cumulative CO<sub>2</sub> emissions of each treatment, ns: not significant.

Piles covered with a semipermeable geotextile material increased their CO<sub>2</sub> (Figure 8) emissions by 67.5% compared to the regular pile management, which was in contrast to the observations in other studies. The authors of [14] found a significant decrease in NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>,

and N<sub>2</sub>O emissions when a semipermeable membrane was used. In addition, Xiong et al. [39], when using a composting system with a functional membrane cover, reported a decrease of 23% in CH<sub>4</sub> emissions, which they attributed to the highest temperatures reached in the covered pile. They observed that in the covered piles, the methane emission rate gradually decreased as methanogenic bacteria became inhibited by the high temperatures reached during the thermophilic period [64]. However, as noted above, under our experimental conditions, we found no differences in the exothermic behavior between cover and no-cover piles.



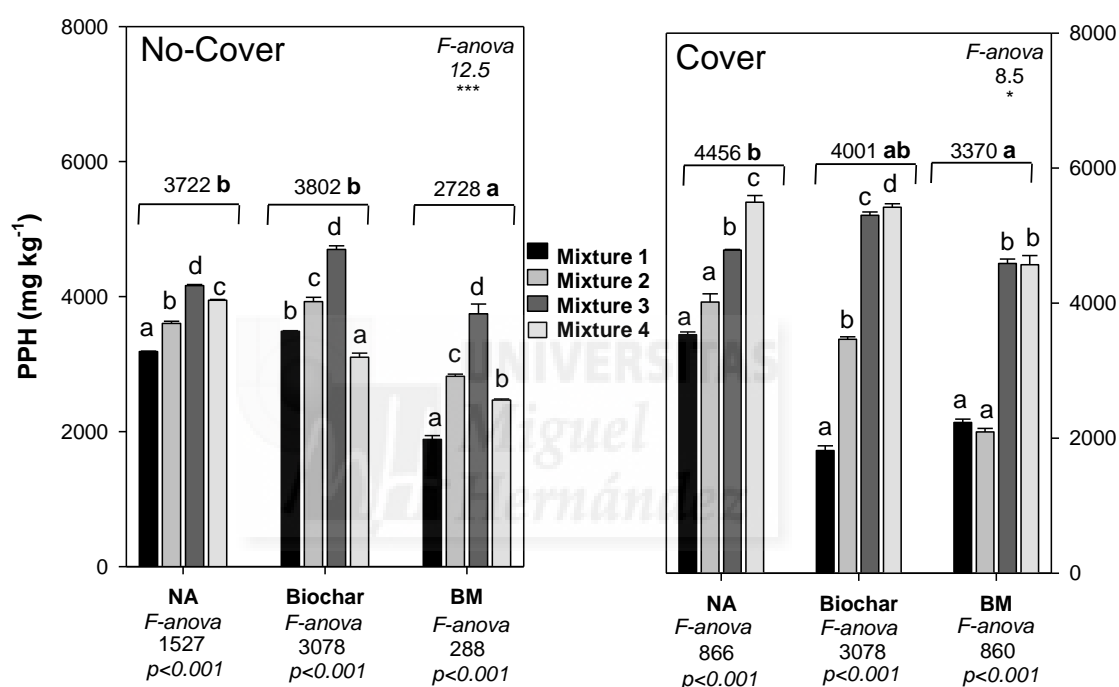
**Figure 9.** Cumulative CH<sub>4</sub> emissions of each treatment. ns: not significant

### 3.5. Characteristics of the Final Compost

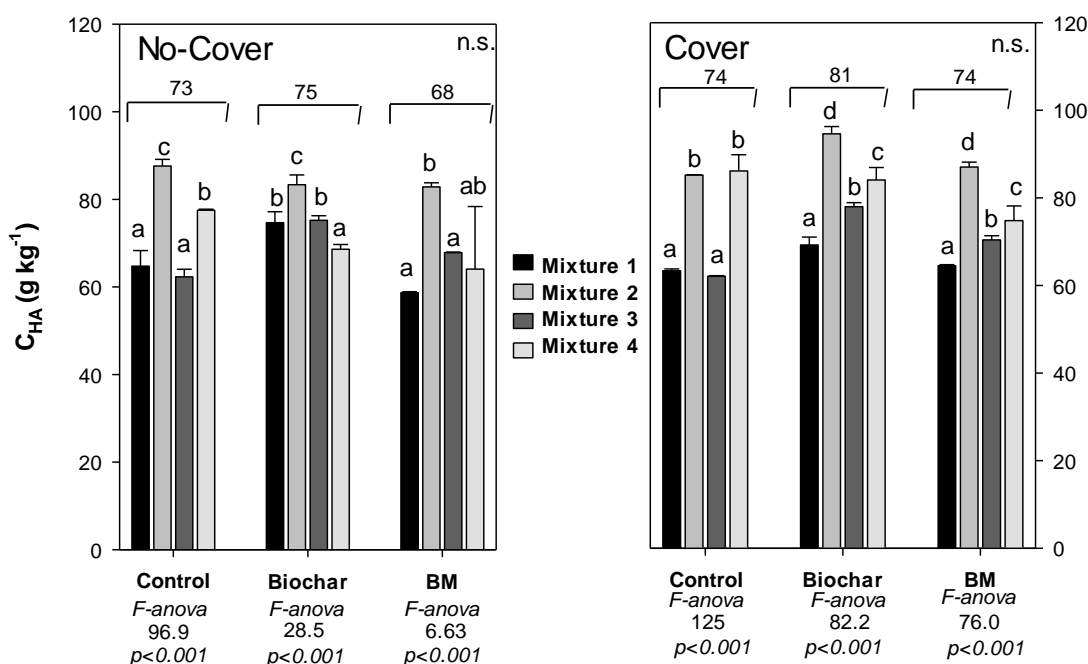
Although the same OMW proportion was used to prepare all the mixtures, Mixture 1 showed a lower overall PPH content in the final product (Figure 10). The use of BM and B additives did not show a clear tendency. However, in general, covered piles showed a lower reduction in phenolic compound content. This fact was especially noticeable in Mixture 4. If the no-cover piles group is analyzed, it is observed that Mixture 3 presented the highest content value in all scenarios tested. The PPH content presented a positive Pearson correlation with pH value ( $r = 0.718$  at  $p < 0.001$ ). Phenolic compounds are considered weak acids and are expected to become neutralized in alkaline media (high pH), forming phenolate salts that are less available for biodegradation [65]. This may have occurred in Mixture 3, which had the highest pH values during the composting process. All the piles reached values ( $<8000 \text{ mg kg}^{-1}$ ) below the limit established in the Spanish regulations (RD 506/2013) for the marketing of compost derived from OMW.

The humic-like content (Figure 11) was also not significantly affected by the use of additives, although the treatment group with biochar application showed an 8% and 9% increase in the formation of humic substances for no-cover piles and cover piles, respectively. This agrees with the findings of other authors [63,66], who proposed several mechanisms to explain the effect caused by biochar: (1) the release of soluble organic compounds and aromatic moieties from biochar that can be incorporated into the humic substance, and (2) the adsorption of these compounds onto its active surface.

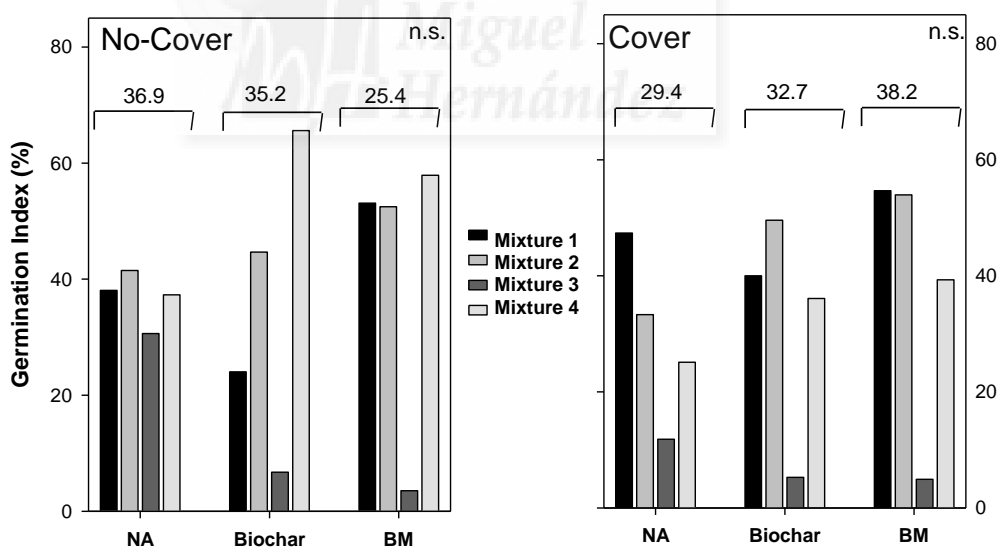
In addition, the different treatments showed the same behavior in covered and uncovered piles, which seems to indicate that the management strategies were not the cause, and that the differences found for this parameter were mainly due to the different composition of each mixture.



**Figure 10.** Water-soluble phenolic content of the final compost depending on the treatment. Different letters on the bar graph or bracket indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ). The number on the bracket indicates the average value of this treatment group. \*: significant difference between treatments at  $p < 0.05$ .



**Figure 11.** Carbon humic compound of the final compost depending on the treatment. Different letters on the bar graph or bracket indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ). The number on the bracket indicates the average value of this treatment group, ns: not significant.

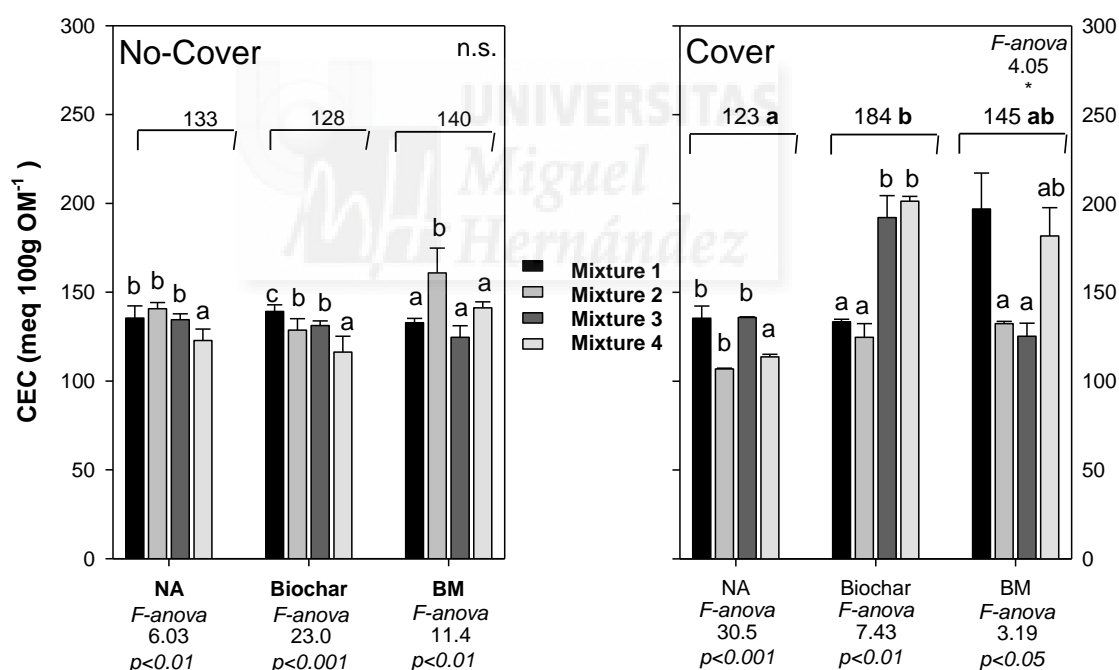


**Figure 12.** Germination index of the final compost depending on the treatment. The number on the bracket indicates the average value of this treatment group, ns: not significant.

Low initial GI values were recorded in the four mixtures tested, with 6.7%, 2.1%, 2.2%, and 5.3%, respectively, for M1, M2, M3, and M4, suggesting severe phytotoxicity in the OMW substrate in the early composting stage. Afterwards, this parameter increased during the composting process to reach  $> 50\%$  in the final product, except for Mixture 3 (Figure 12). According to the GI values, Mixture 3 showed high phytotoxic characteristics in all scenarios

evaluated. The additives did not present the same behavior in all the mixtures, and therefore, the statistical study did not show a clear effect. However, in general, the GI in piles with BM was slightly higher, and this may be linked to the previous low PPH concentration found with this additive. A Pearson correlation supports this, with a moderate negative correlation ( $r = -0.500$  at  $p < 0.001$ ) between PPH and GI.

The final CEC (Figure 13) of the final composts was affected by the presence of a cover. Without a cover, no differences between additives were found, but its presence showed a slight CEC increase in biochar piles and BM compared with the control group. Notably, Mixture 1 and Mixture 4 increased their CEC when both BM and cover were applied. Biochar piles also performed better under the cover, as observed in Mixture 3 and Mixture 4. This highest average CEC found in the biochar-covered group piles is in concordance with that found by other authors. Agyarko et al. [67] reported that both aging and dissolved organic matter adsorption led to the formation of organically bonded oxygen containing functional groups on the surface of biochar. And the first and most important consequence of such modification of the biochar surface is an increase in CEC and its ability to retain nutrients [60].

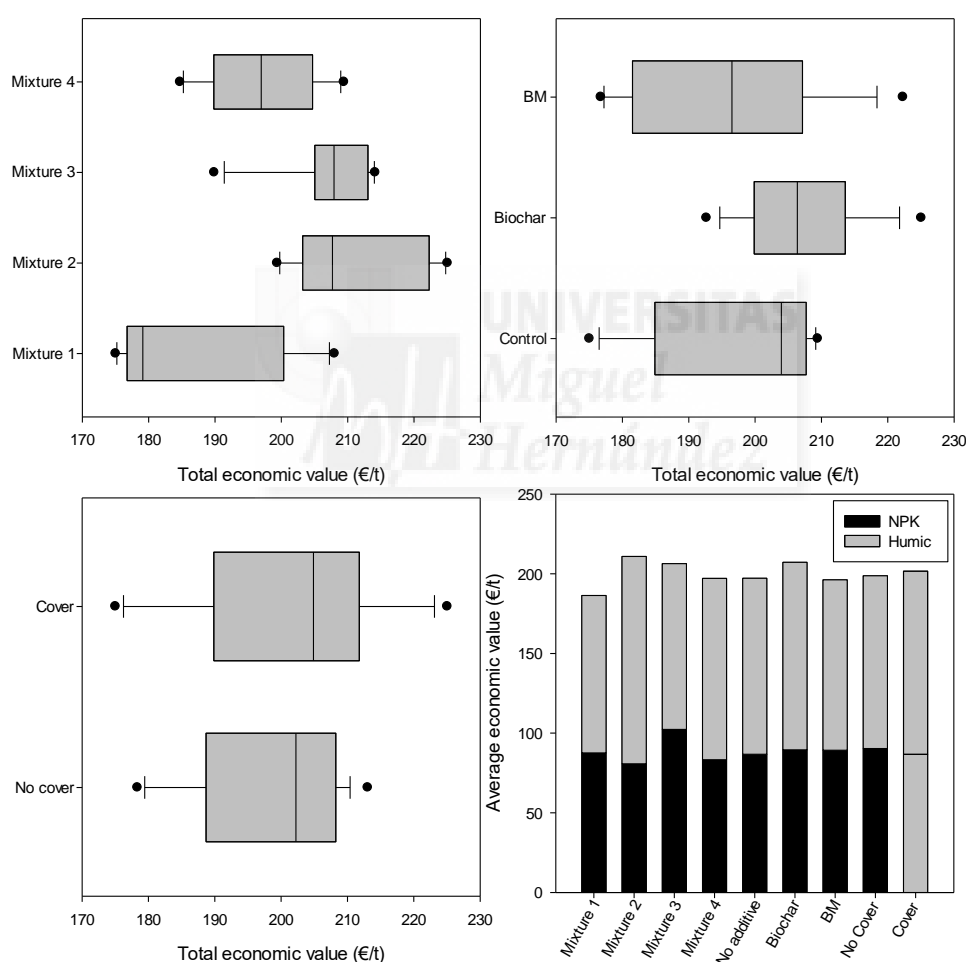


**Figure 13.** Cation exchange capacity of the final compost depending on the treatment. Different letters on the bar graph or bracket indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ). The number on the bracket indicates the average value of this treatment group. \*: significant difference between treatments at  $p < 0.05$ , ns: not significance.

#### 4. Nutrient Content and Economic Marketable Value

According to their fertilizer unit and humic substance content (Figure 14), Mixture 2 and Mixture 3 seemed to produce a more valuable product. However, the Mixture 2 range of value is

higher (199–225 EUR/t) than the Mixture 3 range (190–214 EUR/t), suggesting that Mixture 2 is the best alternative. The value of Mixture 2 is also more related to its humic–fulvic substance content (61.7% of the total value) than to its NPK content (38.3% of the total value). Regarding the additives used, biochar appeared to have some impact on economic value. The value of piles with biochar addition ranged from 199 EUR/t to 214 EUR/t, apparently higher than the control (182–208 EUR/t) or BM piles (179–208 EUR/t). Nguyen et al. [68] found that the application of biochar at 2.5 to 10% in various composting processes involving cow manure increased TN by around 45%. In our study, the highest increase in TN, TP, and especially in TK was observed when BM and B were used. But the increase in price was mainly justified by the increase in humic substance content described above. Finally, the use of a geotextile cover showed no impact on the total economic value of the final compost compared with no-cover piles.



**Figure 14.** Economic value of the final compost depending on the mixture, treatment, and cover-use, and proportion of total economic value associated with NPK content and humic substances.

## 5. Conclusions

In view of the results obtained, we can conclude that the use of the tested strategies does not result in a global improvement in composting performance for all the parameters evaluated. However, the use of some strategies or the combination of more than one can improve some aspects of the process or the final quality of the product.

Regarding exothermic behavior and biodegradability, the co-composting strategy showed the greatest influence due to the conditioning of the OMW characteristics. The use of a cover or additives did not show any statistically significant effect on temperature, or changes in thermal indexes. Nevertheless, all the compost piles reached the correct stability and maturity after 4 months of composting.

The use of biochar as an additive showed a reduction in GHG emissions and nitrogen losses via  $\text{NH}_3$  and  $\text{N}_2\text{O}$  release, although no statistical significance was found in the proportion tested (1% f.w.). Furthermore, due to characteristics such as large active surface, biochar improved the quality of the final product in parameters such as a higher CEC or humic substance content. Regarding the degradation of phenolic compounds and the reduction in phytotoxicity of OMW, the combination of using a cover and biochar, and especially a cover and BM, was shown to be the most efficient strategy. In addition, the use of both B and BM additives showed an increase in the economic value. However, it would be necessary to carry out field experiments to evaluate the bioavailability of nutrients (NPK) in the end products obtained for crops under different environmental conditions, soil textures, or moisture content.

Finally, under the composting conditions tested (piles with periodic turning at a commercial scale), the worst cost-effective strategy was the use of a geotextile membrane cover, because there was no difference in thermic behavior caused by the presence of the cover; it did not improve the quality of the final composts. Although the use of a cover did not have a statistically significant effect on the GWP, an increase in  $\text{CO}_2$  emissions from covered piles was observed.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at [www.mdpi.com/xxx/s1](http://www.mdpi.com/xxx/s1), Table S1: Pearson correlation analyses in end-product obtained.

**Author Contributions:** Conceptualization, R.M. and J.A.S.; methodology, R.M. and E.A.; software, J.A.S. and M.Á.M.-U.; validation, F.J.A.-R. and L.O.; formal analysis, M.Á.M.-U. and E.A.; investigation, L.O. and A.J.T.; resources, R.M. and F.C.M.-E.; data curation, J.A.S. and L.O.; writing—original draft preparation, M.Á.M.-U.; writing—review and editing, J.A.S.; visualization, R.M. and F.C.M.-E.; supervision, F.J.A.-R. and E.A.; project administration, R.M. and M.J.L.; funding acquisition, R.M. and M.J.L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research is supported by the project TED2021-129481B, involving the projects TED2021-129481B-C31, TED2021-129481B-C32, and TED2021-129481B-C33, co-

funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and by the European Union “NextGenerationEU”/PRTR.

**Data Availability Statement:** The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors on request.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

#### References:

1. Galliou, F.; Markakis, N.; Fountoulakis, M.S.; Nikolaidis, N.; Manios, T. Production of Organic Fertilizer from Olive Mill Wastewater by Combining Solar Greenhouse Drying and Composting. *Waste Manag.* **2018**, *75*, 305–311. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.01.020>.
2. ESYRCE Encuesta Sobre Superficies y Rendimientos Cultivos, Encuesta de Marco de Áreas de España. Available online: <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/esyrce/> (accessed on 1 February 2025).
3. Babić, S.; Malev, O.; Pflieger, M.; Lebedev, A.T.; Mazur, D.M.; Kužić, A.; Čož-Rakovac, R.; Trebše, P. Toxicity Evaluation of Olive Oil Mill Wastewater and Its Polar Fraction Using Multiple Whole-Organism Bioassays. *Sci. Total Environ.* **2019**, *686*, 903–914. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.046>.
4. Enaime, G.; Baçaoui, A.; Yaacoubi, A.; Belaqziz, M.; Wichern, M.; Lübken, M. Phytotoxicity Assessment of Olive Mill Wastewater Treated by Different Technologies: Effect on Seed Germination of Maize and Tomato. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2020**, *27*, 8034–8045. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06672-z>.
5. Chadwick, D.; Sommer, S.; Thorman, R.; Fanguero, D.; Cardenas, L.; Amon, B.; Misselbrook, T. Manure Management: Implications for Greenhouse Gas Emissions. *Anim. Feed. Sci. Technol.* **2011**, *166–167*, 514–531. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.036>.
6. Calvin, K.; Dasgupta, D.; Krinner, G.; Mukherji, A.; Thorne, P.W.; Trisos, C.; Romero, J.; Aldunce, P.; Barrett, K.; Blanco, G.; et al. *Climate Change 2023: Synthesis Report; Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change; Core Writing Team, Lee, H., Romero, J., Eds.; IPCC: Geneva, Switzerland, 2023.*
7. Chiappero, M.; Norouzi, O.; Hu, M.; Demichelis, F.; Berruti, F.; Di Maria, F.; Mašek, O.; Fiore, S. Review of Biochar Role as Additive in Anaerobic Digestion Processes. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2020**, *131*, 110037. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2020.110037>.
8. García-Prats, M.; González, D.; Sánchez, A. Characterization of Biochars of Different Origin and Application to the Anaerobic Digestion of Source-Selected Organic Fraction of

- Municipal Solid Waste under Batch Conditions and at Different Dosages. *Front. Chem. Eng.* **2024**, *6*, 1384495. <https://doi.org/10.3389/fceng.2024.1384495>.
9. Sebahire, F.; Faridullah, F.; Irshad, M.; Bacha, A.U.R.; Hafeez, F.; Nduwamungu, J. Effect of Biochar on Composting of Cow Manure and Kitchen Waste. *Land* **2024**, *13*, 1545. <https://doi.org/10.3390/land13101545>.
  10. Yin, Y.; Yang, C.; Tang, J.; Gu, J.; Li, H.; Duan, M.; Wang, X.; Chen, R. Bamboo Charcoal Enhances Cellulase and Urease Activities during Chicken Manure Composting: Roles of the Bacterial Community and Metabolic Functions. *J. Environ. Sci.* **2021**, *108*, 84–95. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2021.02.007>.
  11. Sun, X.; Ma, S.; Han, L.; Li, R.; Schlick, U.; Chen, P.; Huang, G. The Effect of a Semi-Permeable Membrane-Covered Composting System on Greenhouse Gas and Ammonia Emissions in the Tibetan Plateau. *J. Clean. Prod.* **2018**, *204*, 778–787. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.09.061>.
  12. Fang, C.; Su, Y.; He, X.; Han, L.; Qu, H.; Zhou, L.; Huang, G. Membrane-Covered Composting Significantly Decreases Methane Emissions and Microbial Pathogens: Insight into the Succession of Bacterial and Fungal Communities. *Sci. Total Environ.* **2022**, *845*, 157343. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157343>.
  13. Yang, Y.; Chen, W.; Liu, G.; Cui, B.; Zhang, L.; Wuyun, D.; Wang, Q.; Wang, G.; Li, G.; Yuan, J. Effect of a Semi-Permeable Membrane Covered Composting on Greenhouse Gas Emissions and Bacterial Community Succession: A Comparative Study with Biomass Materials Covering. *J. Clean. Prod.* **2024**, *434*, 140146. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.140146>.
  14. Varga, Z.I.; Shahzad, S.; Ramay, M.W.; Damak, M.; Gulyás, M.; Béres, A.; Gyuricza, C.; Székács, A.; Aleksza, L. Ammonia and Greenhouse Gas Emissions from Organic Manure Composting: The Effect of Membrane Cover. *Agronomy* **2024**, *14*, 1471. <https://doi.org/10.3390/agronomy14071471>.
  15. Luo, W.H.; Yuan, J.; Luo, Y.M.; Li, G.X.; Nghiem, L.D.; Price, W.E. Effects of Mixing and Covering with Mature Compost on Gaseous Emissions during Composting. *Chemosphere* **2014**, *117*, 14–19. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.043>.
  16. Yang, Y.; Chen, W.; Liu, G.; Kong, Y.; Wang, G.; Yin, Z.; Li, G.; Yuan, J. Effects of Cornstalk and Sawdust Coverings on Greenhouse Gas Emissions during Sheep Manure Storage. *Waste Manag.* **2023**, *166*, 104–114. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2023.04.034>.
  17. Xiong, J.; Ma, S.; He, X.; Han, L.; Huang, G. Nitrogen Transformation and Dynamic Changes in Related Functional Genes during Functional-Membrane Covered Aerobic Composting. *Bioresour. Technol.* **2021**, *332*, 125087. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125087>.

18. Li, Y.; Liu, Y.; Yong, X.; Wu, X.; Jia, H.; Wong, J.W.C.; Wu, H.; Zhou, J. Odor Emission and Microbial Community Succession during Biogas Residue Composting Covered with a Molecular Membrane. *Bioresour. Technol.* **2020**, *297*, 122518. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122518>.
19. Ma, S.; Sun, X.; Fang, C.; He, X.; Han, L.; Huang, G. Exploring the Mechanisms of Decreased Methane during Pig Manure and Wheat Straw Aerobic Composting Covered with a Semi-Permeable Membrane. *Waste Manag.* **2018**, *78*, 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.06.005>.
20. Hsieh, C.W. Geotextiles in Agriculture and Aquaculture. In *Geotextiles*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2016; pp. 511–530.
21. Farina, R.; Testani, E.; Campanelli, G.; Leteo, F.; Napoli, R.; Canali, S.; Tittarelli, F. Potential Carbon Sequestration in a Mediterranean Organic Vegetable Cropping System. A Model Approach for Evaluating the Effects of Compost and Agro-Ecological Service Crops (ASCs). *Agric. Syst.* **2018**, *162*, 239–248. <https://doi.org/10.1016/j.agry.2018.02.002>.
22. Dijkstra, F.A.; Keitel, C. Maximising Carbon Sequestration through Mixing Compost in Moist Soil. *Soil. Biol. Biochem.* **2024**, *191*, 109330. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2024.109330>.
23. Pelegrín, M.; Sáez-Tovar, J.A.; Andreu-Rodríguez, J.; Pérez-Murcia, M.D.; Martínez-Sabater, E.; Marhuenda-Egea, F.C.; Pérez-Espinosa, A.; Bustamante, M.A.; Agulló, E.; Vico, A.; et al. Composting of the Invasive Species *Arundo Donax* with Sewage and Agri-Food Sludge: Agronomic, Economic and Environmental Aspects. *Waste Manag.* **2018**, *78*, 730–740. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.06.029>.
24. Díaz, M.J.; Ruiz-Montoya, M.; Palma, A.; de-Paz, M.-V. Thermogravimetry Applicability in Compost and Composting Research: A Review. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 1692. <https://doi.org/10.3390/app11041692>.
25. 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. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2005.02.005>.
26. Soobhany, N.; Gunasee, S.; Rago, Y.P.; Joyram, H.; Raghoo, P.; Mohee, R.; Garg, V.K. Spectroscopic, Thermogravimetric and Structural Characterization Analyses for Comparing Municipal Solid Waste Composts and Vermicomposts Stability and Maturity. *Bioresour. Technol.* **2017**, *236*, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.161>.
27. Bustamante, M.A.; Moral, R.; Paredes, C.; Vargas-García, M.C.; Suárez-Estrella, F.; Moreno, J. Evolution of the Pathogen Content during Co-Composting of Winery and Distillery Wastes. *Bioresour. Technol.* **2008**, *99*, 7299–7306. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2007.12.051>.

28. Zucconi, F.; Pera, A.; Forte, M.; de Bertoldi, M. Evaluating Toxicity of Immature Compost. *Biocycle* **1981**, *2*, 54–57.
29. Paredes, C.; Roig, A.; Bernal, M.P.; Sánchez-Monedero, M.A.; Cegarra, J. Evolution of Organic Matter and Nitrogen during Co-Composting of Olive Mill Wastewater with Solid Organic Wastes. *Biol. Fertil. Soils* **2000**, *32*, 222–227. <https://doi.org/10.1007/s003740000239>.
30. Marhuenda-Egea, F.C.; Martínez-Sabater, E.; Jordá, J.; Sánchez-Sánchez, A.; Moral, R.; Bustamante, M.A.; Paredes, C.; Pérez-Murcia, M.D. Evaluation of the Aerobic Composting Process of Winery and Distillery Residues by Thermal Methods. *Thermochim. Acta* **2007**, *454*, 135–143. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2007.01.015>.
31. Torres-Climent, A.; Gomis, P.; Martín-Mata, J.; Bustamante, M.A.; Marhuenda-Egea, F.C.; Pérez-Murcia, M.D.; Pérez-Espinosa, A.; Paredes, C.; Moral, R. Chemical, Thermal and Spectroscopic Methods to Assess Biodegradation of Winery-Distillery Wastes during Composting. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0138925. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0138925>.
32. Sánchez-Navarro, V.; Shahrokh, V.; Martínez-Martínez, S.; Acosta, J.A.; Almagro, M.; Martínez-Mena, M.; Boix-Fayos, C.; Díaz-Pereira, E.; Zornoza, R. Perennial Alley Cropping Contributes to Decrease Soil CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O Emissions and Increase Soil Carbon Sequestration in a Mediterranean Almond Orchard. *Sci. Total Environ.* **2022**, *845*, 157225. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.157225>.
33. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). The Earth's Energy Budget, Climate Feedbacks and Climate Sensitivity. In *Climate Change 2021—The Physical Science Basis*; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 2023; pp. 923–1054.
34. Christensen, T.H.; Gentil, E.; Boldrin, A.; Larsen, A.W.; Weidema, B.P.; Hauschild, M. C Balance, Carbon Dioxide Emissions and Global Warming Potentials in LCA-Modelling of Waste Management Systems. *Waste Manag. Res. : J. A Sustain. Circ. Econ.* **2009**, *27*, 707–715. <https://doi.org/10.1177/0734242X08096304>.
35. Jara-Samaniego, J.; Pérez-Murcia, M.D.; Bustamante, M.A.; Paredes, C.; Pérez-Espinosa, A.; Gavilanes-Terán, I.; López, M.; Marhuenda-Egea, F.C.; Brito, H.; Moral, R. Development of Organic Fertilizers from Food Market Waste and Urban Gardening by Composting in Ecuador. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0181621. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181621>.
36. Di Rienzo, J.; Casanoves, F.; Balzarini, M.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C. InfoStat Versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <https://www.infostat.com.ar/>

37. Nelson, M.I.; Marchant, T.R.; Wake, G.C.; Balakrishnan, E.; Chen, X.D. Self-Heating in Compost Piles Due to Biological Effects. *Chem. Eng. Sci.* **2007**, *62*, 4612–4619. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2007.05.018>.
38. Sun, X.; Huang, G.; Huang, Y.; Fang, C.; He, X.; Zheng, Y. Large Semi-Membrane Covered Composting System Improves the Spatial Homogeneity and Efficiency of Fermentation. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2022**, *19*, 15503. <https://doi.org/10.3390/ijerph192315503>.
39. Xiong, J.; Su, Y.; He, X.; Han, L.; Huang, G. Effects of Functional Membrane Coverings on Carbon and Nitrogen Evolution during Aerobic Composting: Insight into the Succession of Bacterial and Fungal Communities. *Bioresour. Technol.* **2023**, *369*, 128463. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128463>.
40. Czekala, W.; Malińska, K.; Cáceres, R.; Janczak, D.; Dach, J.; Lewicki, A. Co-Composting of Poultry Manure Mixtures Amended with Biochar—The Effect of Biochar on Temperature and C-CO<sub>2</sub> Emission. *Bioresour. Technol.* **2016**, *200*, 921–927. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.019>.
41. Nleya, Y.; Young, B.; Noorae, E.; Baroutian, S. Anaerobic Digestion of Dairy Cow and Goat Manure: Comparative Assessment of Biodegradability and Greenhouse Gas Mitigation. *Fuel* **2025**, *381*, 133458. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2024.133458>.
42. Hachicha, S.; Cegarra, J.; Sellami, F.; Hachicha, R.; Drira, N.; Medhioub, K.; Ammar, E. Elimination of Polyphenols Toxicity from Olive Mill Wastewater Sludge by Its Co-Composting with Sesame Bark. *J. Hazard. Mater.* **2009**, *161*, 1131–1139. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2008.04.066>.
43. Guo, H.; Gu, J.; Wang, X.; Song, Z.; Yu, J.; Lei, L. Microbial Mechanisms Related to the Effects of Bamboo Charcoal and Bamboo Vinegar on the Degradation of Organic Matter and Methane Emissions during Composting. *Environ. Pollut.* **2021**, *272*, 116013. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116013>.
44. Zhang, D.; Luo, W.; Yuan, J.; Li, G.; Luo, Y. Effects of Woody Peat and Superphosphate on Compost Maturity and Gaseous Emissions during Pig Manure Composting. *Waste Manag.* **2017**, *68*, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.05.042>.
45. Akdeniz, N. A Systematic Review of Biochar Use in Animal Waste Composting. *Waste Manag.* **2019**, *88*, 291–300. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.03.054>.
46. Godlewska, P.; Schmidt, H.P.; Ok, Y.S.; Oleszczuk, P. Biochar for Composting Improvement and Contaminants Reduction. A Review. *Bioresour. Technol.* **2017**, *246*, 193–202. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.095>.
47. Khan, N.; Clark, I.; Sánchez-Monedero, M.A.; Shea, S.; Meier, S.; Qi, F.; Kookana, R.S.; Bolan, N. Physical and Chemical Properties of Biochars Co-Composted with Biowastes

- and Incubated with a Chicken Litter Compost. *Chemosphere* **2016**, *142*, 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.05.065>.
48. Martín-Mata, J.; Lahoz-Ramos, C.; Bustamante, M.A.; Marhuenda-Egea, F.C.; Moral, R.; Santos, A.; Sáez, J.A.; Bernal, M.P. Thermal and Spectroscopic Analysis of Organic Matter Degradation and Humification during Composting of Pig Slurry in Different Scenarios. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2016**, *23*, 17357–17369. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6838-3>.
49. 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. Study of the Evolution of Organic Matter during Composting of Winery and Distillery Residues by Classical and Chemometric Analysis. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 9613–9623. <https://doi.org/10.1021/jf901027v>.
50. Wichuk, K.M.; McCartney, D. Compost Stability and Maturity Evaluation—A Literature Review A Paper Submitted to the Journal of Environmental Engineering and Science. *Can. J. Civ. Eng.* **2010**, *37*, 1505–1523. <https://doi.org/10.1139/L10-101>.
51. Cayuela, M.L.; Mondini, C.; Sánchez-Monedero, M.A.; Roig, A. Chemical Properties and Hydrolytic Enzyme Activities for the Characterisation of Two-Phase Olive Mill Wastes Composting. *Bioresour. Technol.* **2008**, *99*, 4255–4262. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.057>.
52. Sáez, J.A.; Pérez-Murcia, M.D.; Vico, A.; Martínez-Gallardo, M.R.; Andreu-Rodríguez, F.J.; López, M.J.; Bustamante, M.A.; Sanchez-Hernandez, J.C.; Moreno, J.; Moral, R. Olive Mill Wastewater-Evaporation Ponds Long Term Stored: Integrated Assessment of in Situ Bioremediation Strategies Based on Composting and Vermicomposting. *J. Hazard. Mater.* **2021**, *402*, 123481. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123481>.
53. Cayuela, M.L.; Sánchez-Monedero, M.A.; Roig, A. Two-Phase Olive Mill Waste Composting: Enhancement of the Composting Rate and Compost Quality by Grape Stalks Addition. *Biodegradation* **2010**, *21*, 465–473. <https://doi.org/10.1007/s10532-009-9316-5>.
54. Abid, N.; Sayadi, S. Detrimental Effects of Olive Mill Wastewater on the Composting Process of Agricultural Wastes. *Waste Manag.* **2006**, *26*, 1099–1107. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.06.015>.
55. Azzam, M.O.J.; Hazaimah, S.A. Olive Mill Wastewater Treatment and Valorization by Extraction/Concentration of Hydroxytyrosol and Other Natural Phenols. *Process Saf. Environ. Prot.* **2021**, *148*, 495–523. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.10.030>.
56. Kavvadias, V.; Elaiopoulos, K.; Theocharopoulos, S.; Souplos, P. Fate of Potential Contaminants Due to Disposal of Olive Mill Wastewaters in Unprotected Evaporation Ponds. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2017**, *98*, 323–330. <https://doi.org/10.1007/s00128-016-1922-4>.

57. Cayuela, M.L.; Sánchez-Monedero, M.A.; Roig, A. Evaluation of Two Different Aeration Systems for Composting Two-Phase Olive Mill Wastes. *Process Biochem.* **2006**, *41*, 616–623. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.08.007>.
58. Ba, S.; Qu, Q.; Zhang, K.; Groot, J.C.J. Meta-Analysis of Greenhouse Gas and Ammonia Emissions from Dairy Manure Composting. *Biosyst. Eng.* **2020**, *193*, 126–137. <https://doi.org/10.1016/J.BIOSYSTEMSENG.2020.02.015>.
59. Pardo, G.; Moral, R.; Aguilera, E.; del Prado, A. Gaseous Emissions from Management of Solid Waste: A Systematic Review. *Glob. Chang. Biol.* **2015**, *21*, 1313–1327. <https://doi.org/10.1111/gcb.12806>.
60. Sanchez-Monedero, M.A.; Cayuela, M.L.; Roig, A.; Jindo, K.; Mondini, C.; Bolan, N. Role of Biochar as an Additive in Organic Waste Composting. *Bioresour. Technol.* **2018**, *247*, 1155–1164. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.193>.
61. Steiner, C.; Das, K.C.; Melear, N.; Lakly, D. Reducing Nitrogen Loss during Poultry Litter Composting Using Biochar. *J. Environ. Qual.* **2010**, *39*, 1236–1242. <https://doi.org/10.2134/jeq2009.0337>.
62. Dias, B.O.; Silva, C.A.; Higashikawa, F.S.; Roig, A.; Sánchez-Monedero, M.A. Use of Biochar as Bulking Agent for the Composting of Poultry Manure: Effect on Organic Matter Degradation and Humification. *Bioresour. Technol.* **2010**, *101*, 1239–1246. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.024>.
63. Li, M.; Zhang, A.; Wu, H.; Liu, H.; Lv, J. Predicting Potential Release of Dissolved Organic Matter from Biochars Derived from Agricultural Residues Using Fluorescence and Ultraviolet Absorbance. *J. Hazard. Mater.* **2017**, *334*, 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.03.064>.
64. Ma, S.; Xiong, J.; Cui, R.; Sun, X.; Han, L.; Xu, Y.; Kan, Z.; Gong, X.; Huang, G. Effects of Intermittent Aeration on Greenhouse Gas Emissions and Bacterial Community Succession during Large-Scale Membrane-Covered Aerobic Composting. *J. Clean. Prod.* **2020**, *266*, 121551. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121551>.
65. Wang, S.; Shi, D.; Yang, R.; Xu, Y.; Guo, H.; Yang, X. Solvent Extraction of Phenol from Aqueous Solution with Benzyl 2-ethylhexyl Sulfoxide as a Novel Extractant. *Can. J. Chem. Eng.* **2015**, *93*, 1787–1792. <https://doi.org/10.1002/cjce.22267>.
66. Jindo, K.; Sonoki, T.; Matsumoto, K.; Canellas, L.; Roig, A.; Sanchez-Monedero, M.A. Influence of Biochar Addition on the Humic Substances of Composting Manures. *Waste Manag.* **2016**, *49*, 545–552. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.01.007>.
67. Agyarko-Mintah, E.; Cowie, A.; Van Zwieten, L.; Singh, B.P.; Smillie, R.; Harden, S.; Fornasier, F. Biochar Lowers Ammonia Emission and Improves Nitrogen Retention in Poultry Litter Composting. *Waste Manag.* **2017**, *61*, 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.12.009>.

68. Nguyen, M.K.; Lin, C.; Hoang, H.G.; Sanderson, P.; Dang, B.T.; Bui, X.T.; Nguyen, N.S.H.; Vo, D.V.N.; Tran, H.T. Evaluate the Role of Biochar during the Organic Waste Composting Process: A Critical Review. *Chemosphere* **2022**, *299*, 134488. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134488>.

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



**8.2. Publicación 2: Combined effect of assisted Bioaugmentation and Biochar incorporation on Olive Mill Wastewater sludge composting. 2025.**

Mira-Urios, M.Á., Martínez-Gallardo, M.R., Sáez, J.A., Andreu-Rodríguez, F.J., Orden, L., Toribio, A.J., Blesa-Marco, Z.E., Martínez-Sabater, E., Pérez-Murcia, M.D., Suárez-Estrella, F., Moral, R.

# COMBINED EFFECT OF ASSISTED BIOAUGMENTATION AND BIOCHAR INCORPORATION ON OLIVE MILL WASTEWATER SLUDGE COMPOSTING.

Miguel Ángel Mira-Urios<sup>1</sup>, M.R. Martínez-Gallardo<sup>2</sup>, José A. Sáez\*<sup>1</sup>, Francisco Javier Andreu-Rodríguez<sup>1</sup>, Luciano Orden<sup>1</sup>, A. J. Toribio<sup>2</sup>, ZE Blesa-Marco, Encarnación Martínez-Sabater<sup>1</sup>, María Dolores Pérez-Murcia<sup>1</sup>, F. Suárez-Estrella<sup>2</sup>, Raúl Moral<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Universidad Miguel Hernández, Carretera de Beniel Km 3,2, Orihuela, Alicante 03312, España.

<sup>2</sup> Unidad de Microbiología, Departamento de Biología y Geología, CITE II-B, Universidad de Almería.

Corresponding author: J.A. Sáez

*E-mail address:* jose.saezt@umh.es

**Abstract:** The main environmental issue of the olive oil agro-industry has been the disposal of olive mill wastewater (OMW) due to its recalcitrant characteristics. This study aimed to assess the potential of co-composting combined with assisted Bioaugmentation and Biochar application (5 % f.w.) as a treatment technique for OMW. For this purpose, two different co-composting mixture with increasing amount of OMW (Mixture A 30% f.w.- Mixture B 50% f.w.) were prepared and composted under commercial conditions. The results showed that assisted Bioaugmentation lead to a higher reduce in phenolic compounds and improve of the phytotoxicity and microbial profile. The use of biochar did not alter the evolution of the process, however, the assessment of greenhouse gas emissions revealed a reduction in N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> emissions and in the overall global warming potential (GWP) of the process, although an increase in NH<sub>3</sub> emission were observed. Finally, the combined use of biochar and Bioaugmentation produced a synergistic effect in Mixture B leading enhanced organic matter degradation in this recalcitrant environment.

**Keywords:** Olive mill waste sludge bioremediation, Bioaugmentation treatment, Greenhouse gas emissions, Biochar additive

## 1. Introduction

In the olive oil industry, the management and disposal of olive oil mill wastewater (OMW) presents a significant environmental challenge in Mediterranean countries, which are responsible for 97% of global olive oil production (Galliou et al., 2018) resulting in a

high concentration of waste in regions dedicated to olive oil sector. Additionally, the olive oil extraction season is limited to a few months of the year (November-February). Consequently, OMW removal is difficult and temporary storage is required (Bernal et al., 2009). In addition, these wastes are highly phytotoxic but they also contain high percentages of organic matter and a wide range of plant nutrients that could be reused as fertilizers for sustainable agricultural practices (Muktadirul Bari Chowdhury et al., 2013).

The characteristics of OMW make difficult to apply a cost-effective treatment method (Galliou et al., 2018). The common practice for its management in Mediterranean countries has been the storage in evaporation ponds. However, with this management strategy, these effluents are transformed into a more polluting and recalcitrant solid

sediment high in toxic compounds (Kavvadias et al., 2017). Several studies have proposed the composting as treatment to stabilize OMW (Martínez-Gallardo et al., 2020; Sánchez-Monedero et al., 2010), shown as a feasible method with low technical requirement that allow obtained humus-like product and recover nutrients for environmentally safe agronomic application.

Raw OMW obtained from storage ponds is not immediately suitable for composting. Due to its characteristics, several factors have been described that can limit its treatment by composting, such as, acidic pH (Hachicha et al., 2009), excessive moisture content, a very high C/N ratio (Sánchez-Monedero et al., 2010) or high content in phenolic compound, lipid and organic acids (Martínez-Gallardo et al., 2022). For this reason, several studies (Chowdhury et al., 2014; Masmoudi et al., 2024; Tortosa et al., 2012) have proposed co-composting as a feasible method to modify the characteristics of OMW with low technical requirements. In the co-composting technique, OMW is mixed with other raw ingredients such as Olive leave, rice husk (Chowdhury et al., 2014), Almond pruning waste (Mira-Urios et al., 2025), grape stalks (Cayueta et al., 2010) which act as bulking agents improve the physical properties and aeration of OMW and/or with different type of manure Poultry manure, Sheep manure (Tortosa et al., 2020), cow manure (Aviani et al., 2010) to improve the OMW nutrient balance and facilitate the colonization and growth of microorganisms necessary for the composting process.

The use of biochar in organic waste composting has attracted interest in the last decade due to its reported environmental and agronomical benefits (Sanchez-Monedero et al., 2018). In particular, the large surface area and porosity of biochar have been proved to enhance the environmental conditions during composting process and act as physical support for microbial growth, having several benefits to treatment in terms of enhanced organic matter degradation, humification and in reduction of N losses and

greenhouse gas emissions (GHG), (Kammann et al., 2016; Schmidt et al., 2014). In addition, applied in soil, Mukherjee and Zimmerman (2013) presented evidence that higher temperature biochars (650°C) displaying greater nutrient sorption than low temperature biochars and reasoned that this was due to their greater surface area and organic matter sorption capacity.

Recently several methods have been applied for OMW treatment such as Bioremediation technique, which involves the use of living organisms, typically microorganisms or their products, to degrade, detoxify, or separate toxic chemicals present. Besides, the Bioremediation can be accelerated by incorporating microbial species capable of degrading the contaminant, a process known as bioaugmentation (Crawford & Rosenberg, 2014), by adding nutrients, or by providing conditions that stimulate the activity of the microbiota naturally present in contaminated matrices, or by a combination of both (Tyagi et al., 2011).

The aim of this study was to evaluate the environmental and agronomic benefits of applying biochar as a composting additive in combination with bioaugmentation strategy, during co-composting of OMW. To achieve this, the study focusing on the following aspects: 1) The monitoring of the treatment process through the thermal profile and the evolution of chemical parameters; b) the assessment of the agronomic quality of the end-products obtained, c) evaluation of the main GHG (N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>) produced during the process d) assessing the reduction in phenolic compounds and tracking the persistence of inoculated microbiota in final compost.

## **2. Materials and Methods**

### **2.1. Experimental set-up**

A Total of 8 different composting piles were prepared using two different mixtures: a) Mixture A: prepared with OMW 30% Cow manure (CM) 60% and vineyard pruning (Vn) 10% proportion in fresh weight f.w.; and b) Mixture B: prepared with OMW 50% f.w., Cow manure 40% f.w., and vineyard pruning 10% f.w. Properties of raw materials are enclosed in supplementary materials (Table S1). Two piles received a Biochar addition of 5% f.w. (Pile A-Bioch and Pile B-Bioch), two piles were inoculated with a microbial consortium (Pile A-Inoc and Pile B-Inoc), and two piles received both treatments: Biochar 5% f.w. and microbial consortium (Pile A- Bioch+Inoc and Pile B-Bioch+Inoc). The composting process was carried out from March to July of 2024 in the Compolab facility of the UMH-EPISO (Orihuela, Spain). The Bio-oxidative phase finished after 115 days of composting and all piles stayed in maturation for 60 days. All piles were turned every 15 days and watered as necessary to keep optimal moisture conditions. All piles were

sampled at the beginning of the process, after 30, 60, 90 and 120 days from the beginning and after maturation phase.

## **2.2. Bioaugmentation protocol for compost piles**

The strains selected as microbial inoculants were *Burkholderia vietnamiensis* OR3, *Pseudomonas extremaustralis* OR1, *Bacillus safensis* 190 and *Aspergillus ochraceus* H2. These microorganisms are members of the strain collection of the BIO-175 research group of the University of Almeria. All of them have been previously isolated and enzymatically characterized (Jurado et al., 2014; Lopez-Gonzalez et al., 2013; Martínez-Gallardo et al., 2020). The selection of these strains to be applied in four of the eight compost piles previously described in section 2.1., was based on their specific metabolic functionality: *B. vietnamiensis* OR3, *P. extremaustralis* OR1 and *B. safensis* 190 were chosen for their biofertilizing capacity, while *A. ochraceus* H2 was selected for its efficiency in degrading phenolic compounds, which are primarily responsible for the toxicity and recalcitrance of the material to be composted. The stock strains stored by cryopreservation at -80 °C were reactivated on Plate Count Agar (APHA, ref. 2135102275 liofilchem®), while *A. ochraceus* H2 was reactivated on potato dextrose agar (PDA, ref. 1101300500 Merck). Optimal incubation conditions for the bacterial strains were 30 °C for 24 h, while H2 was incubated for 96 h at the same temperature. After incubation time, the cultures were stored at 4 °C until use.

The methodology for inocula production and assembling the microbial consortia are enclosed in supplementary materials (Method S1).

At the beginning of the composting process, the Pile A-Inoc, Pile B-Inoc, Pile A-Bioch+Inoc and Pile B-Bioch+Inoc were supplemented with a mix of the microbial biomass (OR1, OR3 and H2) at the rate of 6 log CFU g<sup>-1</sup> of waste mixture and strain. For that, biomass was incorporated into the water used to adjust the moisture content of the composting piles.

## **2.4. Physico-Chemical analyses**

The initial raw materials and compost samples were analysed according with methods described by Bustamante et al., (2008): pH and electrical conductivity (EC) were analyzed in a 1:10 (w/v) water extract. Total organic matter (TOM) was determined by loss-on-ignition at 430 °C for 24 h. The Total nitrogen (TN) and Total organic carbon (TOC) was measured by ignition at 1020°C in automatic elemental analysers (EuroVector elemental Analyser, Milano, Italy). Water soluble polyphenols (PPH) were determined by the modified Folin-Ciocalteu method in a 1:20 (w/v) water extract (Paredes et al., 2009). The Germination Index (GI) of the final compost obtained, was

assessed with seeds of *Lepidium sativum* according to the method of Zucconi et al., (1981). Total elemental contents of P, K, Ca, Mg, Na and heavy metals were measured in ICP-OES after microwave acid digestion. A total of 6 sampling event was done during composting process at 0 (start- up), 30 (Thermophilic), 60, 90, 120 (End Bio-oxidative) and 180 days (Mature compost) from the beginning of the process. Each sample was composed of 7 subsamples taken from the entire profile (from the bottom to the top) of each pile. The integrated samples were dried (60 °C), milled, and sieved to 0.5 mm prior to analysis. All analyses were performed in triplicate (n=3).

### 2.5. OM modelling analysis

Organic matter mineralization during composting was calculated as the OM losses during the process, according to the equation (Paredes et al., 2000b):

$$OM\ loss\ (\%) = 100 - 100 \frac{[X_1 (100 - X_2)]}{[X_2 (100 - X_1)]} \quad (1)$$

where  $X_1$  is the start point (0 days) and  $X_2$  are the punctual sampling (30,60,90 ,120 days and Maturity) ash content, respectively. The results were fitted to a first order kinetic model:

$$OM\ loss = A * (1 - e^{-kt})$$

where, A is the maximum degradation of OM (%),  $k$  the degradation rate constant and  $t$  the composting time (days). SigmaPlot 13 software was used for curve fitting and first order kinetic model.

### 2.6. GHG measurement during composting

The gaseous emissions ( $CO_2$ ,  $CH_4$ , and  $N_2O$ ) from the composting piles were monitored using an opaque, insulated closed chamber (3.534 dm<sup>3</sup>) with a Gasera One equipped with photoacoustic sensor (Gasera One, Gasera Ltd). Measurements were taken once a week the first 4 weeks and every 15 days after that until the end of the bio-oxidative phase. The gas concentrations (ppm) were measured directly from the top of the composting piles in duplicate and then the flux emission (mg gas m<sup>2</sup> day<sup>-1</sup>) calculated according with described by Sánchez-Navarro et al. (2022). Cumulative emissions over the experimental period were calculated by multiplying the average flux of two consecutive measurements by the time interval between them. The total surface area (trapezoidal prism shape) of each pile was also considered to determine the overall gaseous emissions. The total GWP for each pile was expressed as CO<sub>2</sub>-equivalents and calculated using the IPCC 2021 factors for each gas, with N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> having GWP values of 273 and 27.2, respectively. CO<sub>2</sub> emissions from the composting process were excluded from the GWP calculation as they are considered biogenic (Christensen et al., 2009).

## 2.6. Statistical analyses

One-way analysis of variance (ANOVA) and least significant difference (LSD) test at  $p < 0.05$  were used to assess the statistical significance of differences between values of each variable studied during composting. Sampling of greenhouse gas fluxes, accumulated greenhouse values and GWP were also analyzed via one-way and two-way ANOVAs as previously discussed. The exothermic index ( $EXI^2$ ), defined as the quadratic sum of the daily difference between the temperature inside the pile and the environmental temperature during the bio-oxidative phase (Vico et al., 2018). All statistical analyses were performed using the IBM SPSS version 30.0 software package.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Temperature evolution and exothermic indexes

Temperatures measured during the bio-oxidative phase showed how all composting piles reached thermophilic temperatures during the first 5 days of composting process. The thermophilic phase (temperature over 45°C) is the result of the heat generation from aerobic microbial activities on readily available organic materials (Chowdhury et al., 2014). The same trend was also observed in co-composting of OMW at industrial-scale (Gigliotti et al., 2012; Michailides et al., 2011). From the first turning event (Day 6 of the process), a different behaviour was observed between the composting piles prepared with Mixture A and those prepared with Mixture B, which was reflected in a significantly higher final value of  $EXI_2$  Index (Table 1). In addition, the piles prepared with Mixture A also showed higher maximum temperature, higher average temperature and a higher number of days over >50°C, >60°C and <70 °C (Table 1). The application of Inoculum did not produce major differences compared with the piles without inoculation. Nevertheless, Biochar used as additive caused a small reduction of the number of days the piles maintained their temperature over 60 and 70 °C, thus lowering the final value of  $EXI_2$  Index, and reducing the average temperature by 3 °C. Czekala et al. (2016) observed that thermophilic phase was shorter 4-5 days or composting mixtures amended with 5% of Biochar. Vandecasteele et al (2016) also reported lower temperatures in composting piles with Biochar and faster OM degradation decline that could be the cause for early thermic stability. However, Olivera-Begué et al., (2025) found no effect on the maximum temperatures reached in composting piles of Organic fraction of municipal solid waste when wood-derived biochar was applied at 10%.

Pile A-Inoc showed the highest  $EXI_2$  Index. However, the result obtained (Fig S1) suggests greater variation between the exothermic behaviour of piles prepared with Mixture A than those prepared with Mixture B piles. Pile A-Bioch after of fifth turning

event not recovered thermophilic temperatures, therefore apparently reached thermal stability in the early stage. The Pile A-Inoc sustain the thermophilic phase of the composting process and subsequent obtained a highest final EXi2 value. And finally, the combination of Bioch and Inoc (Pile A-Bioch+Inoc) seem induce a reduction in temperature profile during whole composting process.

**Table 1.** Temperature values sorted by variable and mixture. Tmax: average maximum temperatures.

		Tmax (°C)	Tave (°C)	Days>5 °C	Days>60° C	Days>70° C	EXi2 (x1000)
Mixture A		73 b	48 b	56 b	28 b	10 b	130744 b
Mixture B		71 a	44 a	33 a	13 a	4 a	93372 a
F- anova		4.67 *	28.9 ***	24.23 ***	89.6 ***	66.1 ***	38.8 ***
Inoculo	NI	72	46	48	17 a	8	114559
	I	72	46	41	24 b	7	109556
F- anova		ns	ns	ns	19.9 ***	ns	ns
Biochar	NO	72	47 b	48	27 b	10 b	124205 b
	YES	72	44 a	40	14 a	4 a	99910 a
F- anova		ns	16.5 ***	ns	56.2 ***	77.3 ***	16.4 ***

Tave: average temperature; days>50°C: average temperature of days over 50 °C; days>60°C: average temperature of days over 60 °C. EXi2 (x1000): quadratic exothermic index. \*, \*\*: significant difference between treatments at  $p < 0.01$  and  $p < 0.001$ , respectively. ns= not significant. Different letters within a column indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

In contrast, among piles prepared with Mixture B, Pile B-Bioch displayed an apparently higher EXi2 than the rest, despite biochar causing statistically lower EXi2 by average.

### 3.2 OM degradation dynamics

Regarding to OM mineralization (Fig. S2.) all the piles obtained fitting curves similar to those observed in other composting studies with OMW or pig manure (Hachicha et al., 2009; Santos et al., 2016) with more intense OM degradation at the beginning of the process and a subsequent slowed down with stabilization of the remained OM content. In the first-order kinetic model, the degradation rate ( $k$ ) depend on the concentrations of mineralizable OM. In this sense, the average degradation rate of the piles prepared with Mixture A (0.0305) than those prepared with Mixture B (0.0205).

The data displayed in Table 2 suggests that higher OMW percentage of Mixture B causes a lower  $k$ , which could be due to the recalcitrant nature of OMW (Paraskeva & Diamadopoulos, 2006). This is supported by the lower thermophilic activity of Mixture B piles. The highest OM degradation rate in Mixture A were found in Pile A-Control, in

contrast to Pile B-Control which did not exceed the Pile B-Bioch or Pile B-Inoc. On the other hand, maximum degradation potential (A) on Pile B+ Inoc is higher than the average of the Mixture B, suggesting the Inoculum might be able to degrade recalcitrant Organic compounds present in OMW at faster rate than naturally present bacteria and it is noticeable in OM dynamics, as regular microbial activity in compost is reduced by OMW (Abid & Sayadi, 2006).

**Table 2.** Parameter values obtained from Fitting organic matter mineralization to first-order kinetic function ( $y= A*(1-e^{-kt})$ ).

Composting Pile	Initial OM	Final OM	A	k	RMS	F-values
Pile A-Control	77.2	65.2	44.1	0.0388	6.924	219***
Pile A-Bioch	78.0	67.9	40.3	0.0311	1.405	856***
Pile A-Inoc	75.8	66.1	41.7	0.0279	12.28	87.1**
Pile A-Bioch+Inoc	76.4	68.6	34.1	0.0243	8.168	101**
Mean value	76.8	66.9	40.1	0.0305		
Pile B-Control	78.5	68.6	43.4	0.0178	9.190	142**
Pile B-Bioch	79.1	68.5	43.8	0.0229	0.591	2309***
Pile B-Inoc	80.3	67.9	49.4	0.0281	1.090	1644***
Pile B-Bioch+Inoc	79.5	70.0	45.8	0.0141	26.19	53.1**
Mean value	79.4	68.75	45.6	0.0207		

A: Maximum degradation of OM; k: rate constant; RMS: residual mean square;  
 \*\*: Significant at  $P<0.01$ , \*\*\*: Significant at  $P<0.001$

### 3.3 Physico-chemical parameters evolution during composting process and characteristics of the final compost

The properties of the composts hint the degree of maturity and stability of the composts, as well as their fertilizing capacity (Bernal et al., 2009). Regarding pH values (Table 2 and Table 3) at the beginning of treatment process the piles prepared with Mixture A showed pH close to 7, but adding Biochar increased pH slightly, probably due to alkalinity pH value of the Biochar (Table S1). In Piles-B, the addition of more OMW induce an initial reduction in pH value due to acidic characteristics of OMW (5.36) used (Table S1). In these piles, the proportion of biochar added (5% f.w.) is not able to affect the initial pH of the mixture. During the process, an alkalization effect was observed in all piles, especially in Mixture B piles.

The increase of pH during composting might be due to the decomposition of the readily biodegradable substances such as organic acids (Dias et al., 2010). Besides, the higher remaining  $\text{NH}_4^+$  content available in piles-B towards the end of the composting process may also contribute to the highest value of pH observed. (Steiner et al., 2010).

Initial EC values was slightly reduced with increasing OMW concentrations, due to the reduction in Cow manure quantity, which presented high EC values (Table

S1). All compost obtained had values above  $7 \text{ dS m}^{-1}$ . An EC value  $> 4 \text{ dS m}^{-1}$  is considered potentially inhibitory to plant growth (Luo et al., 2018).

In other studies, water extract of OMW applied in soil have been used efficiently as nitrifying inhibitors (Di Martino et al., 2021). This could explain why in our study the nitrification observed in Mixture B (22.4 % on average) was lower than in piles prepared with Mixture A (32.5 % on average), despite both displaying similar initial  $\text{NH}_4\text{-N}$  content (Table 3). However, Inoculum apparently increased this activity with a similar trend in both, Mixture B (+8.69%) and in Mixture A (8.21 %) if compared with their respective control piles. Zhao et al. (2020) describes a behavior where the inoculation with certain thermotolerant microbial consortia enhanced the nitrification and the population of nitrifying bacteria during thermophilic phase. In contrast, in our study observed that the inoculate treatment enhanced nitrification specially during the maturity phase, probably because the inoculum used presents the maximum metabolic activity at mesophilic temperatures (30-35°C). Biochar apparently caused the lowest increment of TN during the process. Biochar piles displayed a 39.8% increase of TN on average, lower than Control, Inoculum and Biochar+Inoculum piles, which increased their TN in 57.2%, 55.3%, and 52.8% respectively. The increment of P at the end of the process was very similar in all composts and no clear trend was observed. Regarding K in the final compost, the data suggests that Mixture B ( $28.0\text{g/kg} \pm 1.93$ ) had higher content than Mixture A ( $25.2\text{g/kg} \pm 1.39$ ). The high K content of OMW might be the main cause (Table S1).

**Table 3.** Evolution during composting process of the main physico-chemical parameter in piles prepared with Mixture A. Different letters within a column indicate significant differences between treatments (ANOVA;  $p < 0.05$ ).

Composting Stage	Bulk density (g L <sup>-1</sup> )	pH	EC (dS m <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N (mg kg <sup>-1</sup> )	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N (mg kg <sup>-1</sup> )	TN (g kg <sup>-1</sup> )	P (g kg <sup>-1</sup> )	K (g kg <sup>-1</sup> )
<b>Pile A-Control (30% OMW+60% CM+10% Vn)</b>								
Start	278	7.2	9.8	1468	61.3	23.9	8.43	25.1
Thermophilic	322	8.9	9.9	208	118	-	-	-
End of Bio-oxidative phase	476	9.0	9.1	128	175	-	-	-
Maturity	497	8.8	8.0	47.4	547	36.0	12.9	27.1
<b>Pile A-Bioch: (30% OMW+60% CM+10% Vn) + Biochar</b>								
Start	255	8.8	8.6	1346	56.1	23.3	7.80	24.1
Thermophilic	416	8.9	9.2	209	110	-	-	-
End of Bio-oxidative phase	507	8.9	8.8	121	165	-	-	-
Maturity	539	8.8	7.3	80.1	426	31.4	12.2	24.5
<b>Pile A-Inoc (30% OMW+60% CM+10% Vn) + Inoculum</b>								
Start	256	7.1	9.6	1165	61.3	24.1	7.05	21.6
Thermophilic	362	8.8	10.4	204	127	-	-	-
End of Bio-oxidative phase	421	8.8	10.8	144	194	-	-	-
Maturity	524	8.7	9.2	71.4	548	36.4	12.1	25.3
<b>Pile A-Bioch+Inoc (30% OMW+60% CM+10% Vn) + Biochar + Inoculum</b>								
Start	241	8.6	8.5	1216	60.5	22.4	7.15	23.2
Thermophilic	349	8.9	9.0	164	132	-	-	-
End of Bio-oxidative phase	426	9.0	8.6	132	205	-	-	-
Maturity	562	8.8	7.3	96	399	33.5	11.1	23.9

EC: Electrical conductivity; TN: Total Nitrogen; P: Phosphorus content; K: Potassium content.

**Table 4.** Evolution during composting stage of the main physico-chemical parameter in piles prepared with Mixture B. Different letters within a column indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

Composting Stage	Bulk density (g L <sup>-1</sup> )	pH	EC (dS m <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N (mg kg <sup>-1</sup> )	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N (mg kg <sup>-1</sup> )	TN (g kg <sup>-1</sup> )	P (g kg <sup>-1</sup> )	K (g kg <sup>-1</sup> )
<b>Pile B-Control (50% OMW+40% CM+10%Vn)</b>								
Start	282	7.3	8.9	1104	58.5	21.5	6.73	23.9
Thermophilic	321	9.0	9.2	122	100			
End of Bio-oxidative phase	426	9.2	9.0	160	141			
Maturity	449	9.2	8.0	106	274	35.2	12.2	30.2
<b>Pile B-Bioch (50% OMW+40% CM+10% Vn) + Biochar</b>								
Start	260	7.2	9.1	1305	62.3	22.1	6.53	24.4
Thermophilic	381	9.0	8.7	102	88.7			
End of Bio-oxidative phase	430	9.1	9.0	103	115			
Maturity	510	9.2	8.4	102	272	32.0	11.8	26.6
<b>Pile B- Inoc (50% OMW+40% CM+10% Vn) + Inoculum</b>								
Start	270	7.0	9.6	1341	55.1	21.3	5.96	22.3
Thermophilic	353	9.0	8.7	135	88.7			
End of Bio-oxidative phase	422	9.1	9.0	121	122			
Maturity	497	9.3	7.7	103	427	34.0	11.2	28.9
<b>Pile B- Biochar +Inoculum (50% OMW+40% CM+10% Vn)</b>								
Start	271	6.9	9.2	1201	56.4	20.7	6.57	24.5
Thermophilic	312	8.9	8.6	148	107			
End of Bio-oxidative phase	432	9.1	8.3	107	158			
Maturity	510	9.1	8.2	110	374	32.3	10.6	26.1

EC: Electrical conductivity; TN: Total Nitrogen; P: Phosphorus content; K: Potassium content.

### **3.4. Greenhouse gas emissions during composting and GWP assessment**

The behaviors of  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$ , and  $\text{CH}_4$  emissions were very similar, showing the highest emission fluxes during the early stages of the process and then reducing gaseous emission until end of the process. In opposite trend,  $\text{N}_2\text{O}$  showed the highest emission fluxes during the maturation phase. Therefore, it appears that nitrous oxide in the compost piles studied is generated as by-product of the aerobic nitrification, that mainly occurred during the last stage of composting process (Sánchez-Monedero et al., 2010).

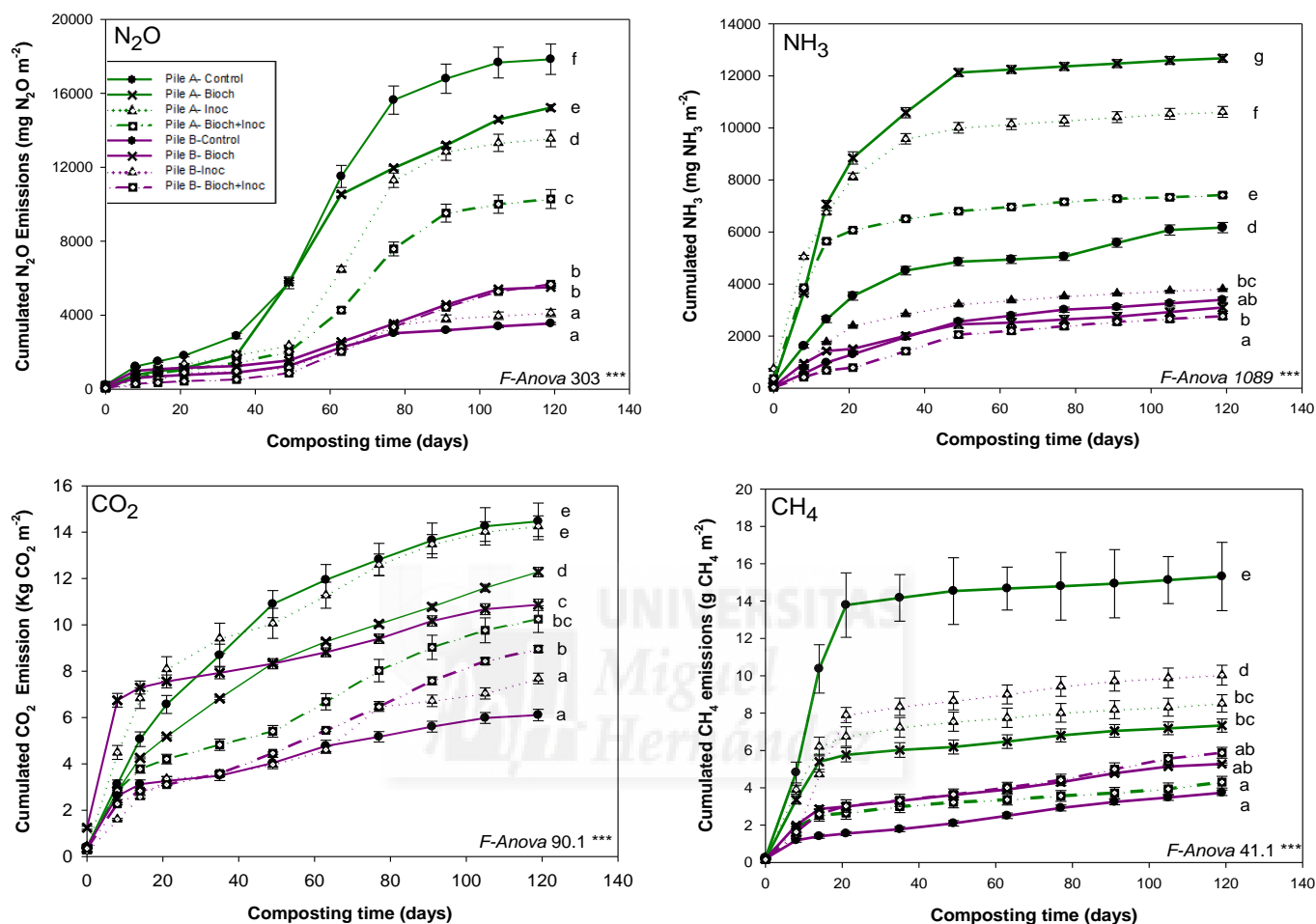
The highest  $\text{N}_2\text{O}$  emissions were found in Pile A-Control and were reduced by Biochar + Inoculum and Biochar + Inoculum addition. However, the lowest  $\text{N}_2\text{O}$  emissions from Mixture A (Pile A-Bioch+Inoc) were still higher than the highest emissions from Mixture B. Pile B-Control and Pile B-Inoc caused the lowest  $\text{N}_2\text{O}$  emissions. Both Biochar and Inoculum are related to lower average  $\text{N}_2\text{O}$  emissions (Sha et al., 2019). This behavior could be related to an improved nitrification process, and both nitrifying microorganisms and Biochar had been proposed as an alternative to increment the nitrification rate (Cáceres et al., 2018; Yin et al., 2021). The addition of 20 % of biochar has been suggested to enhance nitrogen retention and reduce  $\text{N}_2\text{O}$  emissions during the composting (Steiner et al., 2010).

$\text{NH}_3$  emissions were noticeably higher in Pile A-Bioch, followed by Pile A-Inoc. The Pile A-Control had lower emissions of  $\text{NH}_3$  than all piles prepared with Mixture A. Mixture B piles  $\text{NH}_3$  emissions were very similar between themselves (lowest emissions found in Pile B-Inoc), but always lower than the emissions of Mixture A piles. Nguyen et al. (2022) reported that Biochar can absorb  $\text{NH}_3$  lowering the emissions of this gas, contrary to the results obtained. Biochar and Inoculum caused an increment on the  $\text{NH}_3$  emissions.

Despite the emissions being generally higher in Mixture A piles,  $\text{CO}_2$  emission of Pile A-Bioch+Inoc was statistically similar to Pile B-Bioch and Pile B-Bioch+Inoc. The lowest  $\text{CO}_2$  emissions were found in Pile B-Control and Pile B-Inoc. The  $\text{CO}_2$  emission is directly correlated with microorganism activity (Gómez et al., 2006) and Biochar enhances environmental conditions for microbial growth in composting pile. The enhanced environmental conditions can promote a change in the microbial communities that can affect important microbially mediated biogeochemical cycles: organic matter degradation and humification (Kammann et al., 2016). Therefore, the result obtained suggesting that the chemical and microbiological properties in composting pile of OMW are favorable for the interaction with biochar, even a synergetic effect is observed with combined application of Biochar+Inoculum when the OMW quantity increase in composting mixture.

The lowest  $\text{CH}_4$  emissions were found in Pile A-Bioch+Inoc and Pile B-Control. Additionally, Pile B-Bioch and Pile B-Bioch+Inoc showed similar emissions, expressing statistical evidence of Biochar produced an inhibitory effect over  $\text{CH}_4$  emissions of composting piles with OMW. Lastly, Pile B-Inoc emitted the highest quantity of  $\text{CH}_4$  if compared with other pile prepared with Mixture

B, and could be caused by higher microbiological activity. This fact may indicate that the oxygen transfers within the composting mass was insufficient to meet the metabolic demands of microorganisms, which limited the free air space, forming anaerobic micro-sites (Eftoda & McCartney, 2004).



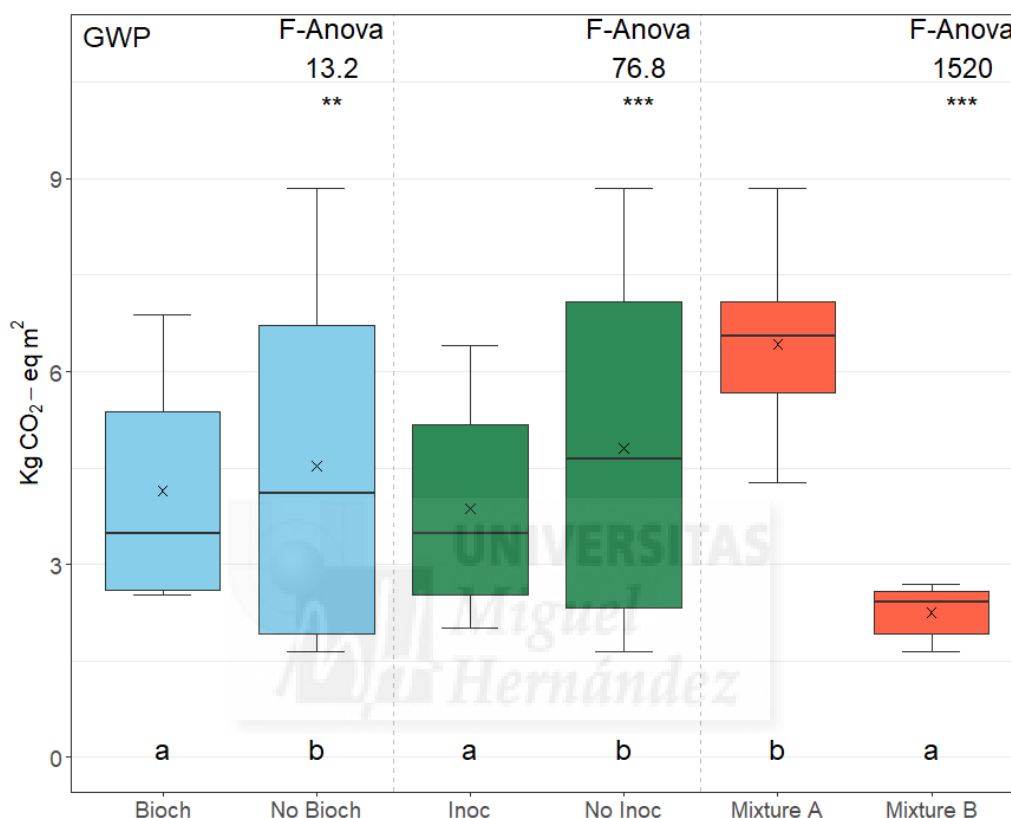
**Fig. 1.** Accumulated emissions of  $N_2O$ ,  $NH_3$ ,  $CO_2$  and  $CH_4$ . Different letters within the graphic indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ). \*\*\*:  $p < 0.001$ .

Regarding the total GWP emissions, the highest values were found in Mixture A piles, probably related to the OMW ecotoxic effect and its higher concentration on Mixture B (Di Martino et al., 2021). Inoculum and Biochar significantly reduced  $N_2O$  emissions and incremented  $NH_3$  emissions. The reduction of  $N_2O$  emissions by Biochar was reported in other composting studies as an effect on nitrifying and denitrifying microbiota, supporting this result. However, the mechanism incrementing  $NH_3$  emissions is not clear.

We hypothesized that the hydrophobic characteristics of OMW and its high initial moisture content (74.3 %) could have negatively affected the adsorption of  $NH_4^+$  or volatile  $NH_3$  onto the surface of biochar (Hua et al., 2009; López-Cano et al., 2016).

Biochar also reduced CH<sub>4</sub> emissions, a behavior previously reported in other treatments conditions (Nan et al., 2021; Nguyen et al., 2022) by improving the physical characteristics of the piles. The CO<sub>2</sub> emissions of Inoculum piles were lower than their counterpart, despite CO<sub>2</sub> being a microbial activity marker (Gómez et al., 2006).

Lastly, Biochar and Inoculum caused a similar effect on the GWP of their piles, both reducing the final emissions (Fig. 2).



**Fig. 2.** Total global warming potential sorted by variable. The x symbol represents the average value. \*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\*:  $p < 0.001$ . Different letters under each boxplot indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

### 3.5. Reduction in Phenolic compounds and Toxicity effect

The evolution of total phenolic compounds during composting exhibited a general decreasing trend in both mixtures A and B (Fig. S3), reflecting the progressive microbial degradation of these recalcitrant compounds (Bouhia et al., 2021), a behaviour commonly linked to compost maturation and diminished phytotoxicity (Martínez-Gallardo et al., 2020). In Mixture A, all treatments showed a significant decrease in phenolic content relative to the initial value (~2330 mg/kg). The biochar treatment (Pile A-Bioch) reached the lowest final concentration (1501 mg/kg), followed by the inoculum-only treatment (Pile A-Inoc, 1588 mg/kg) and the combined treatment (Pile A- Bioch+Inoc) (1780.78 mg/kg). These results suggest that both Biochar and

inoculum independently enhanced phenolic degradation, likely through microbial stimulation and/or adsorption mechanisms (Kavvadias et al., 2017). Despite the overall decline, all Mixture A treatments exhibited a transient increase in phenolic content around day 60, coinciding with the thermophilic phase. This peak is likely related to enzymatic depolymerization of lignocellulosic material, temporarily releasing bound phenolics into the soluble phase (Jurado et al., 2014; Martínez-Gallardo et al., 2020). In Mixture B, with higher OMW proportion and consequently greater chemical recalcitrance, treatments involving microbial inoculation (Pile B-Inoc and Pile B-Bioch+Inoc) yielded the lowest final phenolic compound concentrations (1849 and 1840 mg/kg, respectively). These values were lower than those observed in both the control (Pile B, 2070 mg/kg) and the biochar-only treatment (Pile B-Bioch, 1976 mg/kg). These results suggest that Inoculum was particularly effective under more inhibitory conditions, possibly due to the enzymatic capabilities and resilience of the microbial consortium (Martínez-Gallardo et al., 2020). Overall, Inoculum showed greater effectiveness in Mixture B, which contained a higher organic load and greater phytotoxicity, indicating its suitability for the composting of chemically complex substrates. In contrast, biochar displayed more consistent performance in Mixture A, possibly due to its porous structure and ability to adsorb nutrients (Nain et al., 2024) in less recalcitrant environments. Although the combined use of biochar and inoculum did not always result in synergistic effects, it contributed consistently to the reduction of phenolic compounds and the stabilization of the compost. These results highlight the potential of this bioaugmentation protocol for phenolic degradation in a recalcitrant, lignocellulose-rich organic matrix.

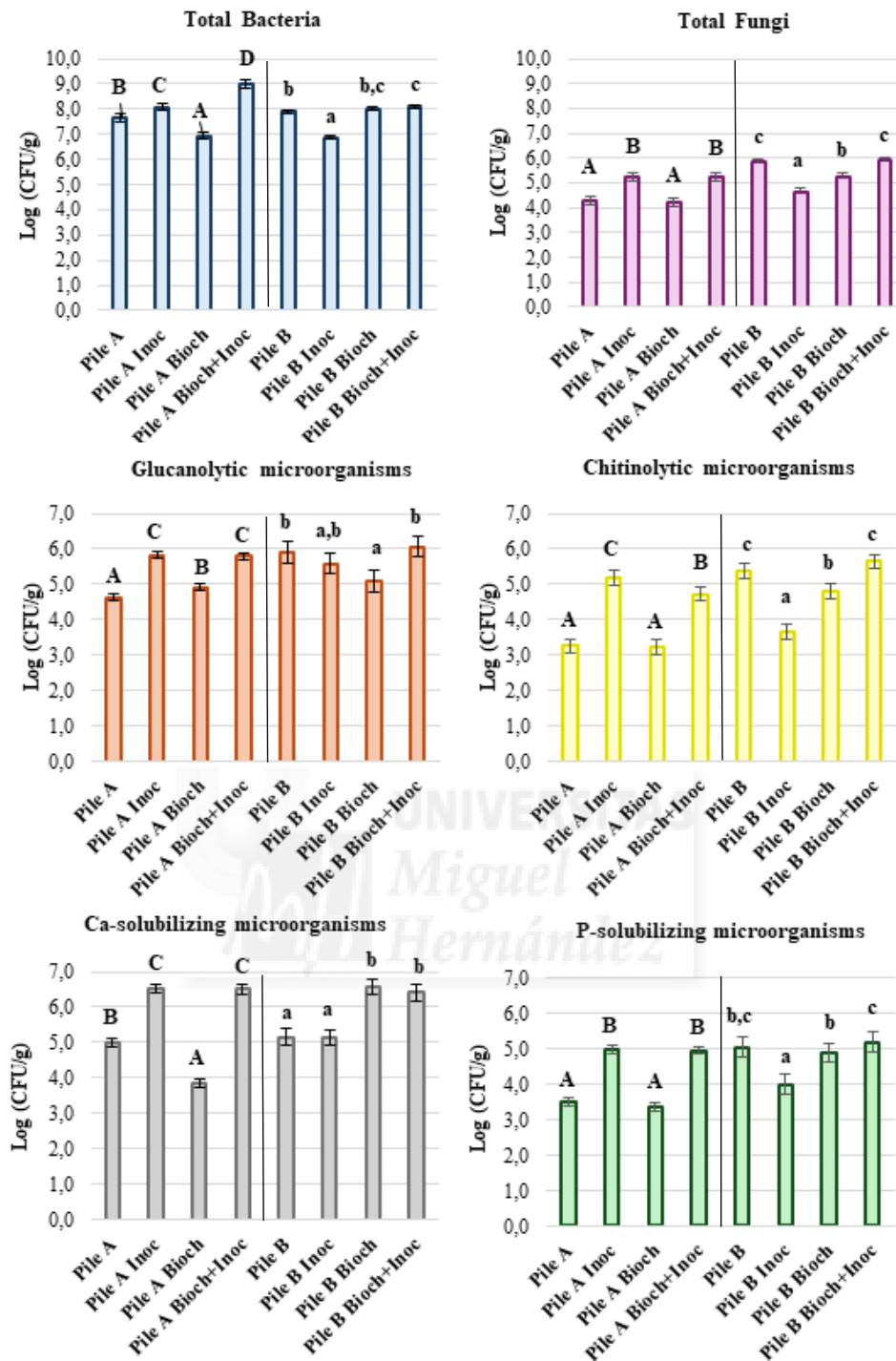
The germination index (GI) is a well-established indicator for assessing the phytotoxicity of organic amendments, as well as compost maturity and biological stability (Yang et al., 2021). In this study, phytotoxicity was evaluated using a germination bioassay with *Lepidium sativum* seeds, following the protocol described by (Zuconi et al., 1984). GI values below 50% denote severe phytotoxicity, values between 50-80% indicate moderate toxicity, values from 80-100% reflect the absence of phytotoxic effects, and values above 100% are associated with phytostimulant potential. At the end of the composting process (day 160), clear differences were observed between the two mixtures (Fig. S4). All treatments from Mixture B reached GI values above 80%, indicating mature and non-phytotoxic compost. The inoculated treatment (Pile B Inoc) achieved the highest value (111.4%), suggesting a stimulatory effect on seed germination and early root development. Conversely, GI values for Mixture A ranged from 73.6% to 80.9%, with only the inoculated treatment exceeding the 80% threshold, reflecting a modest improvement in phytotoxicity reduction. These findings highlight the effectiveness of microbial inoculation in enhancing compost quality, particularly under conditions of elevated organic load and chemical recalcitrance. The inoculum likely contributed to the degradation of phytotoxic compounds and, under certain conditions, promoted positive effects on early plant development (Xu et al., 2019). The similar result was also observed by (Hu et al., 2019) where they used lignocellulose-

degrading consortium in co-composting of spent mushroom substrate with swine manure. A reasonable explanation for this phenomenon was that inoculation could increase the population of microorganisms, thereby accelerating the decomposition of phytotoxic substance such as organic acids.

Interestingly, although final composts from Mixture B retained higher concentrations of phenolic compounds, they exhibited superior GI values compared to those from Mixture A. This outcome may be explained by qualitative differences in phenolic profiles, since specific compounds at moderate concentrations can elicit stimulatory responses in plants, rather than inhibitory effects (Bouhia et al., 2023).

### **3.6. Microbial profile of final compost**

The microbial composition of the final compost serves as a key indicator of its biological maturity, functional stability, and potential agronomic performance. Figure 3 displays the abundance of total bacteria (Fig. 3a), total fungi (Fig. 3b), and functional microbial groups with potential biofertilizing and biopesticide roles, including glucanolytic (Fig. 3c), chitinolytic (Fig. 3d), calcium (Ca)-solubilizing (Fig. 3e), and phosphorus (P)-solubilizing microorganisms (Fig. 3f) in the compost samples at final time. Overall, microbial inoculation improved the abundance of general and functional microbial groups in both mixtures, although its efficacy depended on substrate characteristics. In Mixture A, the highest microbial counts were consistently observed in the inoculated and combined treatments (Bioch+Inoc). Total bacterial and fungal abundances reached 8.07-8.99 and >5.2 log CFU g<sup>-1</sup>, respectively, in these treatments, contrasting with lower values in the control and biochar-only treatments. Functional groups such as glucanolytic, chitinolytic, and nutrient-solubilizing microorganisms followed the same trend, with inoculation enhancing microbial populations significantly. These results suggest that inoculum application effectively stimulated microbial development in this more buffered matrix (Lerma-Moliz et al., 2024; Li et al., 2023). The stable physicochemical environment in mixture A likely supported microbial persistence and functional expression over time. In mixture B, the combined treatment (Pile B- Bioch+Inoc) yielded the highest microbial counts across most groups, including total bacteria (8.10 log CFU g<sup>-1</sup>), fungi (5.88 log CFU g<sup>-1</sup>), glucanolytic and chitinolytic microorganisms (6.06 and 5.65 log CFU g<sup>-1</sup>), as well as Ca- and P-solubilizing microorganisms. In contrast, the inoculum alone showed reduced bacterial and fungal counts, indicating that the presence of biochar was essential to support microbial colonization under more inhibitory conditions. This suggests that the capacity of biochar to stabilize the environment and retain nutrients is fundamental for enhancing inoculant persistence and activity. These results suggest a synergistic effect between biochar and microbial inoculants in promoting microbial communities with potential biocontrol activity (Li et al., 2023; Nguyen et al., 2022).



**Fig. 3.** Microbial profile analysis of the final compost obtained after the composting process in the piles composed of mixture A or B. Four treatments were applied to each mixture: control without additives (Pile A or Pile B), addition of microbial inoculum (Inoc), biochar (Bioch), or the combination of both (Bioch+Inoc). Microbial counts are shown, expressed as Log CFU/g, for Total Bacteria (a), Total Fungi (b), as well as Glucanolytic (c), Chitinolytic (d), Ca-solubilizing (e), and P-solubilizing (f) microorganisms. Data are presented as the mean of three replicates, and error bars represent the LSD value calculated using Fisher's test ( $p < 0.05$ ). Different letters indicate statistically significant differences among treatments.

#### 4. Conclusions

The use of biochar as an additive in OMW co-composting does not present major changes in the evolution of the process or the final quality of the compost, however an environmental benefit is observed due to the reduction in N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> emissions, which reduces the GWP of the process. The bioagmentation strategy with the microbial consortium selected accelerated the degradation of organic matter and reduced phenolic compounds during composting, even in composting mixture with high amount of OMW. Compost from inoculated treatments showed greater maturity and stability, with germination indices over 80% and up to 111.4%, demonstrating consortium effectiveness even under recalcitrant conditions and supporting its agricultural use. The treatment also enhanced microbial functions related to nutrient solubilization and biocontrol. Overall, these findings highlight the potential of microbial inoculants, specially combined with biochar, to improve compost quality from OMW obtaining environmental benefit in terms of reduction in GHG emissions from the composting pile.

#### 5. Acknowledgements

This research is supported by the project TED2021-129481B, co-funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and the European Union "NextGenerationEU"/PRTR.

#### 6. References

- Abid, N., & Sayadi, S. (2006). Detrimental effects of olive mill wastewater on the composting process of agricultural wastes. *Waste Management*, 26(10), 1099–1107. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2005.06.015>
- Aviani, I., Laor, Y., Medina, S., Krassnovsky, A., & Raviv, M. (2010). Co-composting of solid and liquid olive mill wastes: Management aspects and the horticultural value of the resulting composts. *Bioresource Technology*, 101(17), 6699–6706. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2010.03.096>
- Bernal, M. P., Alburquerque, J. A., & Moral, R. (2009). Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. *Bioresource Technology*, 100(22), 5444–5453. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.027>
- Bouhia, Y., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., & Lyamlouli, K. (2023). Olive mill waste sludge: From permanent pollution to a highly beneficial organic biofertilizer: A critical review and future perspectives. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 259, 114997. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114997>
- Bouhia, Y., Lyamlouli, K., Fels, L. El, Youssef, Z., Ouhdouch, Y., & Hafidi, M. (2021). Effect of Microbial Inoculation on Lipid and Phenols Removal During the Co-composting of Olive Mill

- Solid Sludge with Green Waste in Bioreactor. *Waste and Biomass Valorization*, 12(3), 1417–1429. <https://doi.org/10.1007/S12649-020-01077-3/TABLES/5>
- Bustamante, M. A., Paredes, C., Marhuenda-Egea, F. C., Pérez-Espinosa, A., Bernal, M. P., & Moral, R. (2008). Co-composting of distillery wastes with animal manures: Carbon and nitrogen transformations in the evaluation of compost stability. *Chemosphere*, 72(4), 551–557. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2008.03.030>
- Cáceres, R., Malińska, K., & Marfà, O. (2018). Nitrification within composting: A review. *Waste Management*, 72, 119–137. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.10.049>
- Cayuela, M. L., Sánchez-Monedero, M. A., & Roig, A. (2010). Two-phase olive mill waste composting: Enhancement of the composting rate and compost quality by grape stalks addition. *Biodegradation*, 21(3), 465–473. <https://doi.org/10.1007/s10532-009-9316-5>
- Chowdhury, A. K. M. M. B., Michailides, M. K., Akrotos, C. S., Tekerlekopoulou, A. G., Pavlou, S., & Vayenas, D. V. (2014). Composting of three phase olive mill solid waste using different bulking agents. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 91, 66–73. <https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2014.03.012>
- Christensen, T. H., Gentil, E., Boldrin, A., Larsen, A. W., Weidema, B. P., & Hauschild, M. (2009). C balance, carbon dioxide emissions and global warming potentials in LCA-modelling of waste management systems. *Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy*, 27(8), 707–715. <https://doi.org/10.1177/0734242X08096304>
- Crawford, R. L., & Rosenberg, E. (2014). Bioremediation. *The Prokaryotes: Applied Bacteriology and Biotechnology*, 295–307. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-31331-8\\_30/FIGURES/00304](https://doi.org/10.1007/978-3-642-31331-8_30/FIGURES/00304)
- Czekała, W., Malińska, K., Cáceres, R., Janczak, D., Dach, J., & Lewicki, A. (2016). Co-composting of poultry manure mixtures amended with biochar – The effect of biochar on temperature and C-CO<sub>2</sub> emission. *Bioresource Technology*, 200, 921–927. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.019>
- Di Martino, C., Palumbo, G., Di Iorio, E., Colombo, C., & Crawford, T. W. (2021). Effects of Olive Mill Wastewater and Two Natural Extracts as Nitrification Inhibitors on Activity of Nitrifying Bacteria, Soil Nitrate Leaching Loss, and Nitrogen Metabolism of Celery (*Apium graveolens* L.). *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(5), 1922–1938. <https://doi.org/10.1007/S00344-020-10239-5/METRICS>
- Dias, B. O., Silva, C. A., Higashikawa, F. S., Roig, A., & Sánchez-Monedero, M. A. (2010). Use of biochar as bulking agent for the composting of poultry manure: Effect on organic matter degradation and humification. *Bioresource Technology*, 101(4), 1239–1246. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.024>

- Eftoda, G., & McCartney, D. (2004). Determining the Critical Bulking Agent Requirement For Municipal Biosolids Composting. *Compost Science & Utilization*, 12(3), 208–218. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2004.10702185>
- Galliou, F., Markakis, N., Fountoulakis, M. S., Nikolaidis, N., & Manios, T. (2018). Production of organic fertilizer from olive mill wastewater by combining solar greenhouse drying and composting. *Waste Management*, 75, 305–311. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.01.020>
- Gigliotti, G., Proietti, P., Said-Pullicino, D., Nasini, L., Pezzolla, D., Rosati, L., & Porceddu, P. R. (2012). Co-composting of olive husks with high moisture contents: Organic matter dynamics and compost quality. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 67, 8–14. <https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2011.11.009>
- Gómez, R. B., Lima, F. V., & Ferrer, A. S. (2006). The use of respiration indices in the composting process: a review. *Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy*, 24(1), 37–47. <https://doi.org/10.1177/0734242X06062385>
- Hachicha, S., Cegarra, J., Sellami, F., Hachicha, R., Drira, N., Medhioub, K., & Ammar, E. (2009). Elimination of polyphenols toxicity from olive mill wastewater sludge by its co-composting with sesame bark. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2–3), 1131–1139. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2008.04.066>
- Hu, T., Wang, X., Zhen, L., Gu, J., Zhang, K., Wang, Q., Ma, J., Peng, H., Lei, L., & Zhao, W. (2019). Effects of inoculating with lignocellulose-degrading consortium on cellulose-degrading genes and fungal community during co-composting of spent mushroom substrate with swine manure. *Bioresource Technology*, 291, 121876. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.121876>
- Hua, L., Wu, W., Liu, Y., McBride, M. B., & Chen, Y. (2009). Reduction of nitrogen loss and Cu and Zn mobility during sludge composting with bamboo charcoal amendment. *Environmental Science and Pollution Research*, 16(1), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s11356-008-0041-0>
- Jurado, M., López, M. J., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M. C., López-González, J. A., & Moreno, J. (2014). Exploiting composting biodiversity: Study of the persistent and biotechnologically relevant microorganisms from lignocellulose-based composting. *Bioresource Technology*, 162, 283–293. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2014.03.145>
- Kammann, C., Glaser, B., & Schmidt, H.-P. (2016). *Combining biochar and organic amendments*. 136–164. <https://doi.org/10.4324/9781315884462-6>
- Kavvadias, V., Elaiopoulos, K., Theocharopoulos, Sid., & Soupios, P. (2017). Fate of Potential Contaminants Due to Disposal of Olive Mill Wastewaters in Unprotected Evaporation Ponds. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 98(3), 323–330. <https://doi.org/10.1007/s00128-016-1922-4>

- Lerma-Moliz, R., López-González, J. A., Suárez-Estrella, F., Martínez-Gallardo, M. R., Jurado, M. M., Estrella-González, M. J., Toribio, A. J., Jiménez, R., & López, M. J. (2024). Antioxidant and biofertilizing effect of compost extracts on horticultural crops to minimize the use of agrochemicals. *Environmental Technology & Innovation*, *36*, 103776. <https://doi.org/10.1016/J.ETI.2024.103776>
- Li, J., Li, H., Shang, J., Liu, K., He, Y., & Shao, X. (2023). The Synergistic Effect of Biochar and Microorganisms Greatly Improves Vegetation and Microbial Structure of Degraded Alpine Grassland on Qinghai–Tibet Plateau. *Agronomy*, *13*(9), 2203. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY13092203/S1>
- López-Cano, I., Roig, A., Cayuela, M. L., Albuquerque, J. A., & Sánchez-Monedero, M. A. (2016). Biochar improves N cycling during composting of olive mill wastes and sheep manure. *Waste Management*, *49*, 553–559. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2015.12.031>
- Lopez-Gonzalez, J. A., Lopez, M. J., Vargas-Garcia, M. C., Suarez-Estrella, F., Jurado, M., & Moreno, J. (2013). Tracking organic matter and microbiota dynamics during the stages of lignocellulosic waste composting. *Bioresource Technology*, *146*, 574–584. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2013.07.122>
- Luo, Y., Liang, J., Zeng, G., Chen, M., Mo, D., Li, G., & Zhang, D. (2018). Seed germination test for toxicity evaluation of compost: Its roles, problems and prospects. *Waste Management*, *71*, 109–114. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2017.09.023>
- Martínez-Gallardo, M. R., Jurado, M. M., López-González, J. A., Toribio, A., Suárez-Estrella, F., Sáez, J. A., Moral, R., Andreu-Rodríguez, F. J., & López, M. J. (2022). Biorecovery of olive mill wastewater sludge from evaporation ponds. *Journal of Environmental Management*, *319*. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115647>
- Martínez-Gallardo, M. R., López, M. J., Jurado, M. M., Suárez-Estrella, F., López-González, J. A., Sáez, J. A., Moral, R., & Moreno, J. (2020). Bioremediation of Olive Mill Wastewater sediments in evaporation ponds through in situ composting assisted by bioaugmentation. *Science of The Total Environment*, *703*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135537>
- Masmoudi, S., Abid, W., Medhioub, K., & Ammar, E. (2024). Compost derived from olive mill cake: Effects on isohumic soil quality based on humic acids characterization. *Heliyon*, *10*(16). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36456>
- Michailides, M., Christou, G., Akrotos, C. S., Tekerlekopoulou, A. G., & Vayenas, D. V. (2011). Composting of olive leaves and pomace from a three-phase olive mill plant. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *65*(3), 560–564. <https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2011.02.007>
- Miles, A. A., Misra, S. S., & Irwin, J. O. (1938). The estimation of the bactericidal power of the blood. *Epidemiology and Infection*, *38*(6), 732–749. <https://doi.org/10.1017/S002217240001158X>

- Mira-Urios, M. Á., Sáez, J. A., Orden, L., Marhuenda-Egea, F. C., Andreu-Rodríguez, F. J., Toribio, A. J., Agulló, E., López, M. J., & Moral, R. (2025). Composting of Olive Mill Wastewater Sludge Using a Combination of Multiple Strategies: Assessment of Improvement in Biodegradability, GHG Emissions, and Characteristics of the End Product. *Agronomy*, *15*(4), 808. <https://doi.org/10.3390/agronomy15040808>
- Mukherjee, A., & Zimmerman, A. R. (2013). Organic carbon and nutrient release from a range of laboratory-produced biochars and biochar–soil mixtures. *Geoderma*, *193–194*, 122–130. <https://doi.org/10.1016/J.GEODERMA.2012.10.002>
- Muktadirul Bari Chowdhury, A. K. Md., Akratos, C. S., Vayenas, D. V., & Pavlou, S. (2013). Olive mill waste composting: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *85*, 108–119. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.06.019>
- Nain, P., Purakayastha, T. J., Sarkar, B., Bhowmik, A., Biswas, S., Kumar, S., Shukla, L., Biswas, D. R., Bandyopadhyay, K. K., Agarwal, B. K., & Saha, N. Das. (2024). Nitrogen-enriched biochar co-compost for the amelioration of degraded tropical soil. *Environmental Technology*, *45*(2), 246–261. <https://doi.org/10.1080/09593330.2022.2103742>
- Nan, Q., Xin, L., Qin, Y., Waqas, M., & Wu, W. (2021). Exploring long-term effects of biochar on mitigating methane emissions from paddy soil: a review. *Biochar*, *3*(2), 125–134. <https://doi.org/10.1007/S42773-021-00096-0/FIGURES/2>
- Nguyen, M. K., Lin, C., Hoang, H. G., Sanderson, P., Dang, B. T., Bui, X. T., Nguyen, N. S. H., Vo, D.-V. N., & Tran, H. T. (2022). Evaluate the role of biochar during the organic waste composting process: A critical review. *Chemosphere*, *299*, 134488. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134488>
- Olivera-Begué, E., González, D., Kaal, J., Camps-Arbestain, M., & Sánchez, A. (2025). Commercial-scale co-composting of wood-derived biochar with source-selected organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource Technology*, *431*, 132595. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2025.132595>
- Paraskeva, P., & Diamadopoulos, E. (2006). Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: a review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, *81*(9), 1475–1485. <https://doi.org/10.1002/jctb.1553>
- Paredes, C., Medina, E., Moral, R., Pérez-Murcia, M. D., Moreno-Caselles, J., Angeles Bustamante, M., & Cecilia, J. A. (2009). Characterization of the Different Organic Matter Fractions of Spent Mushroom Substrate. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *40*(1–6), 150–161. <https://doi.org/10.1080/00103620802625575>
- Paredes, C., Roig, A., Bernal, M. P., Sánchez-Monedero, M. A., & Cegarra, J. (2000). Evolution of organic matter and nitrogen during co-composting of olive mill wastewater with solid organic wastes. *Biology and Fertility of Soils*, *32*(3), 222–227. <https://doi.org/10.1007/s003740000239>

- Sanchez-Monedero, M. A., Cayuela, M. L., Roig, A., Jindo, K., Mondini, C., & Bolan, N. (2018). Role of biochar as an additive in organic waste composting. *Bioresource Technology*, *247*, 1155–1164. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.193>
- Sánchez-Monedero, M. A., Serramiá, N., Civantos, C. G.-O., Fernández-Hernández, A., & Roig, A. (2010). Greenhouse gas emissions during composting of two-phase olive mill wastes with different agroindustrial by-products. *Chemosphere*, *81*(1), 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.022>
- Sánchez-Navarro, V., Shahrokh, V., Martínez-Martínez, S., Acosta, J. A., Almagro, M., Martínez-Mena, M., Boix-Fayos, C., Díaz-Pereira, E., & Zornoza, R. (2022). Perennial alley cropping contributes to decrease soil CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O emissions and increase soil carbon sequestration in a Mediterranean almond orchard. *Science of The Total Environment*, *845*. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.157225>
- Santos, A., Bustamante, M. A., Tortosa, G., Moral, R., & Bernal, M. P. (2016). Gaseous emissions and process development during composting of pig slurry: the influence of the proportion of cotton gin waste. *Journal of Cleaner Production*, *112*, 81–90. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2015.08.084>
- Schmidt, H. P., Kammann, C., Niggli, C., Evangelou, M. W. H., Mackie, K. A., & Abiven, S. (2014). Biochar and biochar-compost as soil amendments to a vineyard soil: Influences on plant growth, nutrient uptake, plant health and grape quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *191*, 117–123. <https://doi.org/10.1016/J.AGEE.2014.04.001>
- Sha, Z., Li, Q., Lv, T., Misselbrook, T., & Liu, X. (2019). Response of ammonia volatilization to biochar addition: A meta-analysis. *Science of The Total Environment*, *655*, 1387–1396. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.11.316>
- Steiner, C., Das, K. C., Melear, N., & Lakly, D. (2010). Reducing Nitrogen Loss during Poultry Litter Composting Using Biochar. *Journal of Environmental Quality*, *39*(4), 1236–1242. <https://doi.org/10.2134/jeq2009.0337>
- Tortosa, G., Albuquerque, J. A., Ait-Baddi, G., & Cegarra, J. (2012). The production of commercial organic amendments and fertilisers by composting of two-phase olive mill waste (“alperujo”). *Journal of Cleaner Production*, *26*, 48–55. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2011.12.008>
- Tortosa, G., Torralbo, F., Maza-Márquez, P., Aranda, E., Calvo, C., González-Murua, C., & Bedmar, E. J. (2020). Assessment of the diversity and abundance of the total and active fungal population and its correlation with humification during two-phase olive mill waste (“alperujo”) composting. *Bioresource Technology*, *295*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122267>

- Tyagi, M., da Fonseca, M. M. R., & de Carvalho, C. C. C. R. (2011). Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation*, 22(2), 231–241. <https://doi.org/10.1007/S10532-010-9394-4>,
- Vandecasteele, B., Sinicco, T., D'Hose, T., Vanden Nest, T., & Mondini, C. (2016). Biochar amendment before or after composting affects compost quality and N losses, but not P plant uptake. *Journal of Environmental Management*, 168, 200–209. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2015.11.045>
- Vico, A., Pérez-Murcia, M. D., Bustamante, M. A., Agulló, E., Marhuenda-Egea, F. C., Sáez, J. A., Paredes, C., Pérez-Espinosa, A., & Moral, R. (2018). Valorization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) pruning biomass by co-composting with urban and agri-food sludge. *Journal of Environmental Management*, 226, 408–415. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2018.08.035>
- Xu, J., Lu, Y., Shan, G., He, X. S., Huang, J., & Li, Q. (2019). Inoculation with Compost-Born Thermophilic Complex Microbial Consortium Induced Organic Matters Degradation While Reduced Nitrogen Loss During Co-Composting of Dairy Manure and Sugarcane Leaves. *Waste and Biomass Valorization*, 10(9), 2467–2477. <https://doi.org/10.1007/S12649-018-0293-Y>
- Yang, Y., Wang, G., Li, G., Ma, R., Kong, Y., & Yuan, J. (2021). Selection of sensitive seeds for evaluation of compost maturity with the seed germination index. *Waste Management*, 136, 238–243. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2021.09.037>
- Yin, Y., Yang, C., Li, M., Zheng, Y., Ge, C., Gu, J., Li, H., Duan, M., Wang, X., & Chen, R. (2021). Research progress and prospects for using biochar to mitigate greenhouse gas emissions during composting: A review. In *Science of the Total Environment* (Vol. 798). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149294>
- Zhao, Y., Li, W., Chen, L., Meng, L., & Zheng, Z. (2020). Effect of enriched thermotolerant nitrifying bacteria inoculation on reducing nitrogen loss during sewage sludge composting. *Bioresource Technology*, 311. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2020.123461>
- Zucconi, F., Forte, M., Monaco, A., & Bertoldi, M. (1981). Biological evaluation of compost maturity. *BioCycle*, 22, 27–29.
- Zucconi, F., Monaco, A., & Forte, M. (1984). Phytotoxins during the stabilization of organic matter. *Composting of Agricultural and Other Wastes*, 73–86.



**8.3.      Publicación 3: Agronomic Assessment of Olive Mill Wastewater Sludge Derived Composts on *Lactuca sativa* and *Zea mays*: Fertilizing Efficiency and Potential Toxic Effect on Seed Germination and Seedling Growth. 2025.**

Mira-Urios, M.Á., Sáez-Tovar, J.A., Andreu-Rodríguez, F.J., Sánchez-Méndez, S., Orden, L., Valverde-Vozmediano, L., Pérez-Murcia, M.D., Moral, R.



# AGRONOMIC ASSESSMENT OF OLIVE MILL WASTEWATER SLUDGE DERIVED COMPOSTS ON LACTUCA SATIVA AND ZEA MAYS: FERTILIZING EFFICIENCY AND POTENTIAL TOXIC EFFECT ON SEED GERMINATION AND SEEDLING GROWTH

Miguel Ángel Mira-Urios, José A. Sáez-Tovar\*, F. Javier Andreu-Rodríguez, Silvia Sánchez-Méndez, Luciano Orden, Lucía Valverde-Vozmediano, María Dolores Pérez-Murcia, Raúl Moral.

Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH),  
Universidad Miguel Hernández, Carretera de Beniel Km 3,2, Orihuela, 03312 Alicante, Spain

\* Correspondence: jose.saezt@umh.es

**Abstract:** Olive mill wastewater is a polluting residue generated from the olive oil industry and is one which constitutes an environmental concern in Mediterranean countries. Composting has been reported as a viable valorization alternative, as it reduces the volume and the phytotoxic characteristics of OMW. In this study, several composts derived from OMW were evaluated under controlled conditions over two growing season pot experiments using *Lactuca sativa* as a test crop. The analysis focused on soil quality changes, crop yield, and plant development. Additionally, potential phytotoxicity was also evaluated through a direct acute toxicity plant growth test. Application of OMW composts improved soil fertility indicators, including oxidizable carbon, Kjeldahl total nitrogen, Olsen phosphorous, and plant availability. Crop yields were comparable to those obtained with other organic amendments such as vermicompost and fresh cattle manure in both growing seasons and plant development (in terms of chlorophyll content and canopy cover) was not negatively affected. Nutrient uptake (NPK) was consistent during both growing seasons, with similar nitrogen use efficiency to that achieved in other organic treatments. Regarding the potential toxic effect, the OMW composts tested enhanced seed germination when mixed with coconut fiber at weight ratios below 29.2%. No half-maximal effective concentration (EC50) values were detected, even at 100% compost concentration, while half-maximal inhibitory concentration (LC50) values ranged between 65–75%. These results indicate that OMW composts can serve as an effective short-term source of plant-available nitrogen and a medium-term source of phosphorus, without risk of finding inhibitory or phytotoxic effects on crops.

**Keywords:** Olive mill wastewater, composting, C-stock, nutrient efficiency

## 1. Introduction

One of the main environmental concerns from the olive oil industries is the disposal of olive oil mill wastewater (OMW). Olive oil in Mediterranean countries accounts for nearly 90% of worldwide production [1], which implies that waste derived from this agroindustry is highly concentrated in some regions [2]. OMW presents significant management challenges due to its

physicochemical characteristics. OMW is rich in organic matter (OM) and phytotoxic compounds, such as phenolic compounds with a strong odor, and can cause severe soil and water pollution, inhibiting plant growth, exacerbating soil hydrophobicity and disrupting ecosystemic balance [3–6].

Traditionally, OMW has been managed through evaporation in drying ponds. However, this method has proven inadequate for handling this hazardous waste, mainly due to poor maintenance of the ponds and the subsequently high environmental impact [7] and the recalcitrant characteristics of OMW [8]. Through different techniques, OMW has proven to have great potential for the obtention of different high-value products such as organic amendments, compounds of pharmaceutical interest, or bio-stimulants for agricultural purposes [9]. Other strategies have been addressed, such as ultrafiltration/reverse osmosis [10,11], flocculation clarification [12], thermal concentration and evaporation [13], incineration and combustion, and gasification [14,15]. However, these strategies are costly, present a high technical requirement, and the pollution problems are not sufficiently reduced. Therefore, more research about viable technological procedures to manage these wastes is needed. In this context, some authors have proposed biological methods, such as composting, as the most cost-efficient management systems [16,17].

As the use of inorganic fertilizers in the EU rises, it creates dependence on external industries, which in turn rely on high carbon footprint processes like the Haber–Bosch process [18,19]. However, these fertilizers tend not to improve soil health nor to replace organic matter [20]. Thus, N- and K-rich fertilizers of inorganic sources are used to compensate for nutrient-poor soils [21].

Optimizing nutrient application is key to reducing negative effects on the environment and increasing the sustainability of ecosystems. Applied fertilizers through several consecutive crop seasons either accumulate in the soil or are lost by lexiviation or runoff when the N supply exceeds the demand of the crops, causing several physiological responses that can reduce the profit of growers [22]. As the nutrient content of composts heavily depend on the initial materials, OMW composts can inherit some of their characteristics, like phytotoxicity or low nutrient availability. Biochar, a product derived from the pyrolysis of biomass and which can be used as a soil amendment, can enhance nutrient availability in some agricultural soils when applied with compost [23]. Thus, testing OMW composting systems with Biochar addition can result in improved agronomic characteristics and lower environmental impact.

This study aims to investigate the feasibility of composting to reduce the toxic effects and limiting characteristics commonly associated with OMW, enabling its use as an agronomic fertilizer. For this purpose, different OMW-derived composts were tested in an experiment with lettuce (*Lactuca sativa*) under controlled conditions, in order to assess the viability of the composts as soil amendment, their effect on crop production and development, and the impact

of their application on soil during two growing seasons. The potential acute toxicity of composts was also evaluated through an experiment on maize (*Zea mays*), using different concentrations of composts blended with coconut fiber to determine their half-maximal inhibitory concentration (LC50) and half-maximal effective concentration (EC50).

## **2. Materials and Methods**

### **2.1. Pot Experimental Design**

A two-growing season pot experiment with lettuce (*Lactuca sativa* L. “Celiestra”) was carried out in the FertiLab-EPSO UMH (Spain) under controlled conditions. During both growing seasons, the temperature was between 21 and 25 °C, the relative humidity was 50–60%, and the photoperiod was 12 h/12 h (light/dark, respectively) through artificial lamps (RX600, Solray® 285, Helsinki, Finland). Plastic pots (Ø 11 cm, 1200 cm<sup>3</sup>) were filled with 1500 g of soil, prepared according to the OECD 207. A total of 1984 soil-based plant tests were undertaken, consisting of a mixture of natural, loamy soil (0–20 cm depth, airdried, and 5 mm sieved) collected at the EPSO-UMH (38°4'9.066" N, 0°59'6.148" W mixed with fine, and coarse sand (50:25:25% w:w:w, respectively). The resulting synthetic soil presented a granulometric distribution of 60% sand, 12.5% silt, and 27.5% clay, classified as a sandy loam texture (USDA taxonomy) with a bulk density of 1.27 kg dm<sup>-3</sup>, a pH of 8.47, and an electrical conductivity (EC) of 3.58 mS cm<sup>-1</sup>.

The fertilization treatments were superficially applied according to a normalized N application rate of 200 kg N ha<sup>-1</sup> (except IN100, which was adjusted to 100 kg N ha<sup>-1</sup>). A total of 8 composts were tested, all with OMW as their main ingredient (Table 1). As positive controls, three different treatments were applied—inorganic fertilizers with NPK content of 15–15–15%, vermicompost produced using goat manure, and fresh cattle manure. Additionally, three pots did not receive any fertilizer treatment and were used as blank. One seedling of *Lactuca sativa* L. “Celiestra” was sown in each pot. All treatments were applied in triplicate (n = 3) and randomized placed and irrigated to constantly maintain the soil at 60% of its water-holding capacity. Applied treatments are displayed in Table 1.

The growing season lasted for 51 days until harvest. After harvesting the lettuce, the soil from each pot of the same treatment was combined for its use for analytical purposes and was reused as a substrate for a second growing season. The second growing season lasted for 48 days until harvest under the same conditions as the first growing season, including lettuce variety and environmental conditions. No fertilizer treatment was applied to the soil before the second growing season. The harvesting was carried out as per the first growing season and the soil was used for analysis.

### **2.2. Compost Production**

All composts used for this test were produced during the experiments developed by Miras-Urios et al. [24]. The composting process was carried out in the CompoLab treatment plant of the

EPSO (Orihuela, Alicante, Spain) in a windrow composting system. All piles were turned 4 times and the entire process consisted of 119 days of the bio-oxidative phase and 46 days of the maturation phase, for a total of 165 days. The materials utilized were olive mill wastewater (OMW) sludge as main ingredient (50% f.w.) in all piles, cattle manure (CM) (T1 and T2) or goat manure (GM) (T3 and T4) as the N source, and almond tree pruning (Alm) or vineyard pruning waste (Vn) as the C source and bulking agent. In addition, in other replicates of each mixture, Biochar obtained from the pyrolysis process of urban pruning waste (450 °C, 24 h) was applied as an additive (1% f.w.). The physico-chemical characteristics of the resulting composts were analyzed following the methods of [25] and are shown in Table 2.

**Table 1.** Fertilizer treatments applied to the pot test for evaluation.

Type	Acronym	N Source	C Source	Biochar	Treatment
Reference	Control	-	-	-	No fertilizer treatment applied
Complex (15-15-15)	IN100	-	-	-	Inorganic fertilizer (15-15-15) rate 100 kg N/ha
Complex (15-15-15)	IN200	-	-	-	Inorganic fertilizer (15-15-15) rate 200 kg N/ha
Vermicompost	Vermi	-	-	-	Vermicompost
Fresh Manure	Manure	-	-	-	Fresh CM in direct application
Compost	T1-C	CM	Alm	No	OMW 50% +CM 40%+ Alm 10%
Compost	T1-B	CM	Alm	Yes	OMW 50% +CM 40%+ Alm 10% + 1% f.w. Biochar
Compost	T2-C	CM	Vn	No	OMW 50%+CM 40%+Vn 10%
Compost	T2-B	CM	Vn	Yes	OMW 50%+CM 40%+Vn 10% + 1% f.w. Biochar
Compost	T3-C	GM	Alm	No	OMW 50%+GM 40%+ Alm 10%
Compost	T3-B	GM	Alm	Yes	OMW 50%+GM 40%+ Alm 10% + 1% f.w. Biochar
Compost	T4-C	GM	Vn	No	OMW 50%+GM 40%+Vn 10%
Compost	T4-B	GM	Vn	Yes	OMW 50%+GM 40%+Vn 10% + 1% f.w. Biochar

OMW: Olive Mill Wastewater sludge; CM: Cattle Manure; GM: Goat Manure; Alm: Almond tree pruning; Vn: Vineyard pruning waste.

**Table 2.** Physico-chemical characteristics of the compost treatments.

Compost	Vermi	Manure	T1-C	T1-B	T2-C	T2-B	T3-C	T3-B	T4-C	T4-B
pH	7.48	8.80	8.72	8.39	8.60	8.57	9.62	9.30	9.00	8.84
EC (dS/m)	1.74	8.52	9.61	10.3	9.19	9.23	8.41	9.48	7.84	7.65
TOC (%)	32.0	42.6	36.7	64.6	32.7	58.7	60.0	91.3	54.4	55.0
TN (%)	2.88	3.05	3.04	3.13	2.79	2.79	2.63	2.58	2.49	2.48
TOC/TN	11.4	14.0	12.1	11.5	11.7	11.7	12.4	13.1	30.5	12.4
PPH (mg/kg)	250	-	3649	3679	3913	4190	4551	5558	3212	2763
<b>Total elements</b>										
P (g/kg)	1.00	1.92	0.98	1.28	0.89	0.89	1.45	1.29	1.04	1.10
K (g/kg)	1.94	1.65	3.02	3.19	3.32	3.42	3.75	3.89	3.23	3.09
Ca (g/kg)	7.81	2.23	3.81	4.12	4.42	4.38	4.22	3.82	4.92	4.86
Cd (mg/kg)	< 0.01	0.14	0.28	0.33	0.30	0.34	0.30	0.36	0.31	0.32
Cr (mg/kg)	13.2	7.91	22.2	26.0	32.5	29.0	22.4	27.21	36.8	36.5
Cu (mg/kg)	60.9	33.1	70.3	72.9	67.5	68.3	58.2	54.5	59.5	60.0
Ni (mg/kg)	7.13	6.04	0.67	0.71	0.67	0.69	0.80	0.82	0.61	0.57
Pb (mg/kg)	13.1	0.93	9.10	10.44	11.6	10.6	10.3	11.2	12.7	12.6
Zn (mg/kg)	1046	130	6.69	7.20	12.2	9.11	6.87	6.07	9.36	9.52

EC: electrical conductivity; TOC: total organic carbon; TN: total nitrogen; PPH: water-soluble polyphenols.

### 2.3. Test of phytotoxicity

An indirect germination index (GI) test was performed for all composts using water extracts (1:10 w/v) and seed of *Lepidium sativum* L. in accordance with the method described by Zucconi et al. [26]. The GI was calculated from the percentage of seed germination (G) and root elongation (R), determined by comparison with the results of the control using the following Formula (1):

$$GI = \frac{[G \times R]}{100} \quad (1)$$

The two composts that obtained the highest germination index (GI) were selected (T1 and T4) and the potential phytotoxicity of the composts was evaluated through a direct acute toxicity plant growth test (OECD 208), using different proportions of compost mixed with coconut fiber (100/0, 50/50, 25/75, 12.5/87.5 w/w %). Around 60 g of substrate was placed in plastic seedbeds, with 10 replicates for each mixture and one seed of maize (*Zea mays* L. var. "Rostrato"). The plants were left for 2 weeks to grow after 50% of seeds in the control treatment had emerged. Humidity of the substrates was maintained at 70% of their water-holding capacity. The number of emerged plants in each treatment was recorded and the fresh and dried weight of their aerial parts and roots were determined. The Half maximal effective concentration (EC50) and median lethal concentration (LC50) were calculated by applying a linear regression analysis to the relationship between the logarithm of the percentage compost concentration and the toxic effect percentage on plant growth (fresh and dry weight) and seedling emergence with respect to the control (100% coconut fiber without compost) [27].

### 2.4. Sampling and Analytical Methods

#### 2.4.1. Soil Analysis

After each growing season, all the soil from pots with the same treatment were integrated and used as samples for analysis. This soil samples were air-dried after removal of all large roots, ground and sieved to <2 mm. Samples were analyzed for pH in a 1:2.5 soil/water extraction (w/v) and EC in a 1:5 soil/water extraction (w/v), while total Kjeldahl nitrogen (TKN) [28], Olsen phosphorus [29], plant-available potassium (Kava) [30], and oxidizable carbon (Cox) were determined by a modified Walkley and Black method [31].

#### 2.4.2. Plant development and Vegetal tissue Analysis

In both growing seasons, the green cover factor (fCOVER) and chlorophyll content (CCC) were measured for each plant after 10, 25 and 45 days. fCOVER was determined using Canopeo [32] and CCC was determined using a hand-held chlorophyllmeter (Konica Minolta Chlorophyll Meter SPAD-502Plus) [33].

The first growing season harvesting was performed after 51 days of the experiment and the second growing season harvest was carried out 48 days after the second planting. Fresh aboveground biomass was weighted ( $\text{g pot}^{-1}$ ), then dried at  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 48 h, and lastly dry biomass was weighted ( $\text{g pot}^{-1}$ ). Dry samples were ground and sieved ( $<1\text{ mm}$ ) for chemical analysis. Total C (TOC) and N (TN) content was analyzed using an automatic elemental microanalyzer (EuroVector, Milan, Italy). Macro and micronutrients (Ca, S, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn, Na, P and K) were determined by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES) after a  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$  (1:4 v/v) digestion.

Nutrient efficiency of the first growing season for N (NUE) was calculated as the ratio between the nutrient application rate from the treatments and the nutrient uptake [34].

### **2.4.3. Statistical Analysis**

Statistically significant differences between the treatments were assessed by one-way analysis of variance (one-way ANOVA), with each treatment as a factor, using the IBM SPSS Statistics 22.0 software. The normality of the data was tested using the Shapiro–Wilks test, and the homogeneity of variance was assessed using the Levene test ( $p > 0.05$ ). The Tukey b test was used to analyze significant differences and multiple comparisons between the different treatments at a 5% significance level ( $p < 0.05$ ).

## **3. Results and discussion**

### **3.1. Soil Parameters**

The soils where compost treatments were applied showed differences in Cox at the end of the first growing season, with values higher than inorganic treatments and similar to the other organic treatments—manure and vermicompost. After the second growing season, Cox values of the soils with compost were similar to or higher than the other organic treatments. The only exception to the general behavior was T4-B, which showed the highest values of Cox after the first growing season and the lowest after the second growing season. The increase in the Cox after compost application shows an increment of the C stock of the soil and an increase in the edaphic organic matter [35,36]. Other studies have also reported that OMW, provided that their phytotoxic effects are neutralized, can be used as soil amendments in semiarid areas poor in organic matter [37]. de Sosa et al. [38] re-reported a cumulative effect in C sequestration in soil treated with urban and agro-industrial compost in an olive crop under Mediterranean conditions during four consecutive years.

The application of compost treatments caused an increment in KTN of the soils at the end of the first growing season with overall values similar to inorganic treatments. Nonetheless, soils with T1 treatments had higher KTN than inorganics. All fertilizer treatments had statistically higher values than the control treatment without fertilization, with the treatment with vermicompost being

the highest. Doublet et al., [35] found that the 0–50 µm fraction particle size presented the most humified organic matter and contributed the most to the N mineralization of sludge and N availability after compost application in soil.

**Table 3.** Soil parameters at the end of each growing season depending on the application of different treatments.

Treatment	pH	EC (mS/cm)	Cox (g/kg)	KTN (g/kg)	Olsen-P (mg/kg)	Kava (mg/kg)
<b>First Growing Season</b>						
Control	7.96 c	2.70 b	3.47 ab	0.40 a	21.9 a	276 a
IN100	7.89 abc	2.71 b	3.40 a	0.51 ab	32.4 c	254 a
IN200	7.86 abc	2.70 b	3.40 a	0.51 ab	45.5 d	389 bcd
Vermicompost	7.90 abc	2.74 b	4.47 de	0.70 d	25.8 ab	350 b
Manure	7.83 abc	2.26 a	4.17 cde	0.50 ab	21.9 a	375 bc
T1-C	7.85 abc	2.73 b	3.97 bcd	0.68 cd	32.7 c	406 bcd
T1-B	7.91 bc	2.67 b	3.88 abc	0.65 cd	30.8 bc	441 de
T2-C	7.70 ab	2.78 b	3.95 bcd	0.50 bc	30.9 bc	433 cde
T2-B	7.68 ab	2.68 b	4.38 cde	0.62 bcd	33.2 c	465 ef
T3-C	7.75 abc	2.77 b	4.23 cde	0.50 bc	27.7 bc	567 g
T3-B	7.69 ab	2.70 b	4.03 cd	0.55 bc	32.8 c	516 f
T4-C	7.77 abc	2.63 b	4.27 cde	0.48 ab	27.5 b	507 f
T4-B	7.67 a	2.61 b	4.63 e	0.58 bcd	26.6 ab	516 f
F-Anova	4.55 ***	5.57 ***	10.3 ***	7.83 ***	18.2 ***	49.3 ***
<b>Second Growing Season</b>						
Control	7.50 ab	1.89 ab	3.47 ab	-	20.5 ab	143 a
IN100	7.59 ab	1.90 abc	3.97 abc	-	28.5 bcd	207 bc
IN200	7.62 ab	1.87 a	4.03 abc	-	31.1 d	183 ab
Vermicompost	7.63 ab	1.88 ab	3.43 a	-	23.2 abc	242 cd
Manure	7.66 ab	1.95 abc	3.60 ab	-	23.2 abc	232 bcd
T1-C	7.46 ab	1.87 a	4.55 c	-	29.6 cd	249 cd
T1-B	7.38 a	2.08 abc	4.22 abc	-	28.6 bcd	242 cd
T2-C	7.57 ab	2.10 cd	4.33 bc	-	29.5 bcd	247 cd
T2-B	7.48 ab	2.06 abc	3.83 abc	-	32.6 d	227 d
T3-C	7.60 ab	2.13 d	3.82 abc	-	27.1 bcd	285 d
T3-B	7.51 ab	2.02 abc	4.03 abc	-	27.1 bcd	297 d
T4-C	7.75 b	2.12 d	3.72 abc	-	21.0 a	254 cd
T4-B	7.63 ab	2.06 abc	3.37 a	-	22.6 abc	267 d
F-Anova	2.98 **	5.20 ***	4.65 ***	-	7.16 ***	11.1 ***

EC: electrical conductivity; Cox: oxidizable carbon; KTN: Kjeldahl total nitrogen; Olsen-P: Olsen phosphorous; Kava: available potassium. \*\*, \*\*\*: significant difference between treatments at  $p < 0.01$ , and  $p < 0.001$ , respectively; ns: not significant. Different letters within a column indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

Regarding Olsen-P, at the end of the first growth session, and as expected, the statistically highest values were determined in the IN200 treatment. This treatment had a phosphorus application ratio per pot 2.2–2.5 times higher than the compost treatments. In this sense, OMW composts, such as T1-C, T2-B and T3-B, presented similar final values than IN100 treatment. At the end of the second growing season, the same trend was observed but with smaller differences,

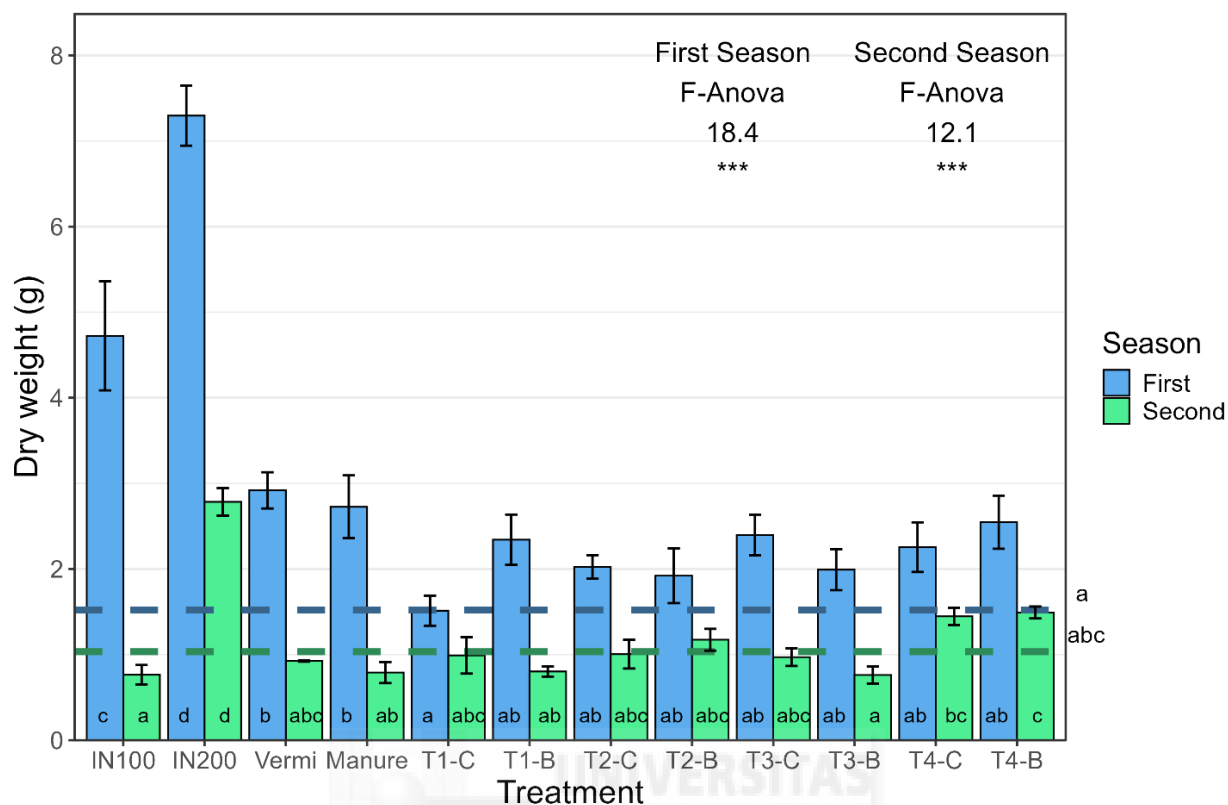
even without statistical differences when comparing the IN200 treatment with T1-B, T1-C, T2-C, T3-C and T3-B treatments. The soil of treatment T2-B presented the highest Olsen-P content. Grigatti et al. [39], in a pot test with ryegrass, reported that bio-waste digestate, and sewage sludge compost in particular, ensures P availability for two growth cycles due to their proportions in P forms, with 26–38% of P-labile and 5–11% of extractable-P (NaOH-P), which are recognized to be available immediately for plants and over the medium and long-terms, respectively [40]. It appears, therefore, that the relative efficiency in P supply of the OMW compost tested could be similar to this type of compost.

At the end of the first growing season, composts with OMW compost treatment showed significantly higher Kava than soils with any other treatment. This behavior was demonstrated in particular in the T3 and T4 composts (with GM), which exceeded inorganic treatments. T1 and T2 showed this effect but not to the extent of the previous treatments and on some occasions the Kava was found to be similar to inorganic treatments. After the second growing season, all OMW composts showed this increment in Kava over inorganic treatments and, in some cases, similar to vermicompost and manure (Table 3). Piotrowska et al. [41] also reported increments of Kava in soils after applying OMW in a mineralization experiment and ascribed the effect to the acidic nature of OMW. However, none of the OMW treatments were acidic and neither was the soil.

### **3.2. Crop Response to Fertilizers**

#### **3.2.1. Crop Yield**

In the first growing season, all of the organic treatments, except T1-C, performed significantly better than control in both fresh and dry weight. The best yield result corresponded with inorganic treatment IN200 followed by IN100. This suggests that the availability of nutrients in OMW compost treatments was similar to other organic treatments (vermicompost and manure), but was surpassed by inorganic treatments, as the available nutrients are related to yield [42]. After the second growing season, the dry weight of organic treatments (T1-C, T1-B, T2-C, T2-B, was slightly higher, but still statistically similar to the control. Even as the dry weight of all organic treatments was similar to the control, some treatments underperformed, such as T3-B or manure which were the lowest; and some others overperformed, such as T4-B and T4-C, which caused the highest dry weight of the overall organic treatments (Figure 1). Hernández et al. [43] reported a significantly higher yield with manure compost application in two consecutive crops of lettuce when compared with inorganic fertilization, but in this study the N rate applications of compost were 1.8 g N/pot versus 0.5 g N/pot in inorganic fertilization. On the other hand, in a long-term study under field conditions, de Sosa et al. [38] reported no detected effect in yield of olive production and olive tree growth when comparing the application of urban compost with the application of inorganic fertilization.



**Figure 1.** Yield in dry weight (g) of lettuces in each treatment at the end of their respective growing seasons. Horizontal dashed lines represent control values. \*\*\*: significant difference between treatments at  $p < 0.001$ ; ns: not significant. Different letters within a column indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

### 3.2.2. Crop development

After 10 days of the beginning of the first growing season, there were no differences found in CCC between the treatments and the control without fertilization, only IN100 presented a significantly higher content of chlorophyll, while vermicompost and T1-C showed a negative influence during the initial growth of seedling. After 25 days, IN100, IN200, vermicompost, T3-C and T4-B showed statistically higher CCC than the control, while all other treatments presented higher values than control but without a statistically significant difference. At harvest (45 days) no difference was found in CCC between any treatment and the control except for IN200, IN100 and T2-C. All treatments showed similar evolution for chlorophyll content, although with differences between them. All fertilization treatments, specially IN100 and IN200, induced a rapid increase (0–25 days) in the chlorophyll content of leaves, and then a marked decline was observed until the harvest. The decrease observed from day 25 until the harvest was as follows: IN100 –34.1%, IN200 –33.7%, vermicompost –16.4%, and manure –9.2%, and the average value of the overall compost was –9.0%. This parameter provides information about the nutritional status of the plant

and is correlated with its leaf nitrogen content [44]. The observed behavior could give an idea of how nutrients are available in the different treatments tested in this work. Inorganic fertilizers present a nutrient content readily available to plants from the first stages of growth, while compost presents a behavior similar to vermicompost or manure, stimulating the growth of plants in intermediate or senescence stage. El Hayany et al. [45] have reported that the application of compost tea and humic substances has a lower stimulatory effect on plant growth during the initial and intermediate stages, whereas in the final stage it shows significant positive effects on biometric and physiological properties, such as biomass and chlorophyll production.

In the second growing season for the first 10 and 25 days, only IN200 showed higher CCC than the control. After 45 days, inorganic treatments (IN100 and IN 200), manure, T1-B, T3-C and T4-B surpassed the control. All other treatments were higher to the control. However, due to the wide dispersion of data during this stage of growth, significant statistical differences were not obtained. The observed dynamics suggest that, except for IN200, the residual nitrogen of the other treatments was not sufficient to cover the crop demand until harvest. These results correlate with the yield results.

Regarding the dynamics of fCover, the first growing season showed no statistical difference in the first 10 days. After 25 days, every compost treatment, except T2-B, displayed a similar increment on the fCover than manure and a slightly lower one than vermicompost, while inorganic treatments caused the highest stimulatory effect on plant growth. 45 days after the beginning of the growing season, all treatments obtained significant enhancement in the green cover with respect to control treatment. The statistical study established three different groups; control treatment, all Organic treatment and IN100 and finally IN200 presented the highest green cover development.

After 10 days in the second growing season, every treatment except IN200 had no effect on the fCover compared to Control. After 25 days, T2-B showed statistically significant higher fCover than the control. All other composts were statistically similar to vermicompost, manure and the control. By the end of the second growing season, the previous behavior persists (Table 4). The development of plant cover was scarce compared with the first growing season, which corroborates the idea of nutrient depletion during this second growing season. There was no evidence to suggest any negative effect on development caused by compost, as all OMW treatments showed the same or higher CCC and fCover than the control in each sampling and growing season, similar to other organic treatments and IN100. Table 4. Chlorophyll content (CCC) in leaves and green cover factor (fCover) of lettuces at each moment during the growing season depending on the treatment applied to soil.

**Table 4.** Chlorophyll content (CCC) in leaves and the green cover factor (fCover) of lettuces at each moment during the growing season depending on the treatment applied to soil.

Treatment	CCC (SPAD)			fCover (%)		
	10 Days	25 Days	45 Days	10 Days	25 Days	45 Days
<b>First Growing Season</b>						
Control	37.5 ab	35.1 a	39.3 a	3.18	5.43 a	5.94 a
IN100	49.6 b	70.1 cd	46.2 ab	4.29	11.7 c	7.85 ab
IN200	42.8 ab	80.1 d	53.1 b	4.52	15.0 d	12.7 b
Vermicompost	29.9 a	54.3 bc	45.4 a	3.11	8.03 c	8.27 ab
Manure	36.7 ab	50.2 ab	45.6 a	9.32	7.75 bc	6.60 ab
T1-C	32.9 a	45.1 ab	41.1 a	3.2	6.74 abc	7.63 ab
T1-B	38.5 ab	48.3 ab	42.0 a	3.06	6.75 abc	7.16 ab
T2-C	42.8 ab	41.5 ab	46.2 ab	3.84	6.11 ab	8.47 ab
T2-B	36.7 ab	46.4 ab	42.8 a	2.73	5.79 a	8.53 ab
T3-C	41.2 ab	55.8 bc	41.8 a	3.06	7.91 bc	8.25 ab
T3-B	39.4 ab	46.8 ab	40.3 a	2.78	6.60 abc	7.19 ab
T4-C	41.9 ab	45.4 ab	44.8 a	3.06	6.66 abc	7.10 ab
T4-B	38.9 ab	52.5 bc	45.4 a	3.37	7.14 abc	7.36 ab
F-Anova	1.98 *	6.09 ***	3.48 ***	1.74 ns	36.1 ***	8.47 ***
<b>Second Growing Season</b>						
Control	26.4 a	32.2 bcde	22.1 a	2.03 a	3.10 a	3.18 a
IN100	25.9 a	27.0 a	28.4 b	1.82 a	3.00 a	3.03 a
IN200	42.1 b	42.8 f	28.2 b	4.19 b	6.57 c	5.50 c
Vermicompost	29.4 a	30.4 abc	25.6 ab	2.57 a	3.45 ab	3.59 ab
Manure	26.6 a	33.8 bcde	29.0 b	2.21 a	3.17 a	3.67 ab
T1-C	29.0 a	31.1 bcd	26.6 ab	2.46 a	3.62 ab	3.88 ab
T1-B	26.6 a	34.3 cde	27.5 b	1.77 a	2.84 a	3.89 ab
T2-C	28.6 a	34.5 de	26.7 ab	2.42 a	3.72 ab	3.44 ab
T2-B	28.4 a	35.2 e	25.9 ab	2.58 a	4.31 b	4.16 b
T3-C	24.3 a	31.9 bcde	28.9 b	2.18 a	3.06 a	3.12 a
T3-B	28.5 a	33.2 bcde	26.1 ab	2.21 a	3.58 ab	3.54 ab
T4-C	24.9 a	30.2 ab	26.4 ab	2.39 a	3.50 ab	3.72 ab
T4-B	26.8 a	31.9 bcde	27.7 b	2.26 a	3.26 ab	3.47 ab
F-Anova	10.5 ***	14.7 ***	2.30 *	8.18 ***	14.0 ***	7.68 ***

\*, \*\*\*: significant difference between treatments at  $p < 0.05$ , and  $p < 0.001$ , respectively; ns: not significant. Different letters within a column indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

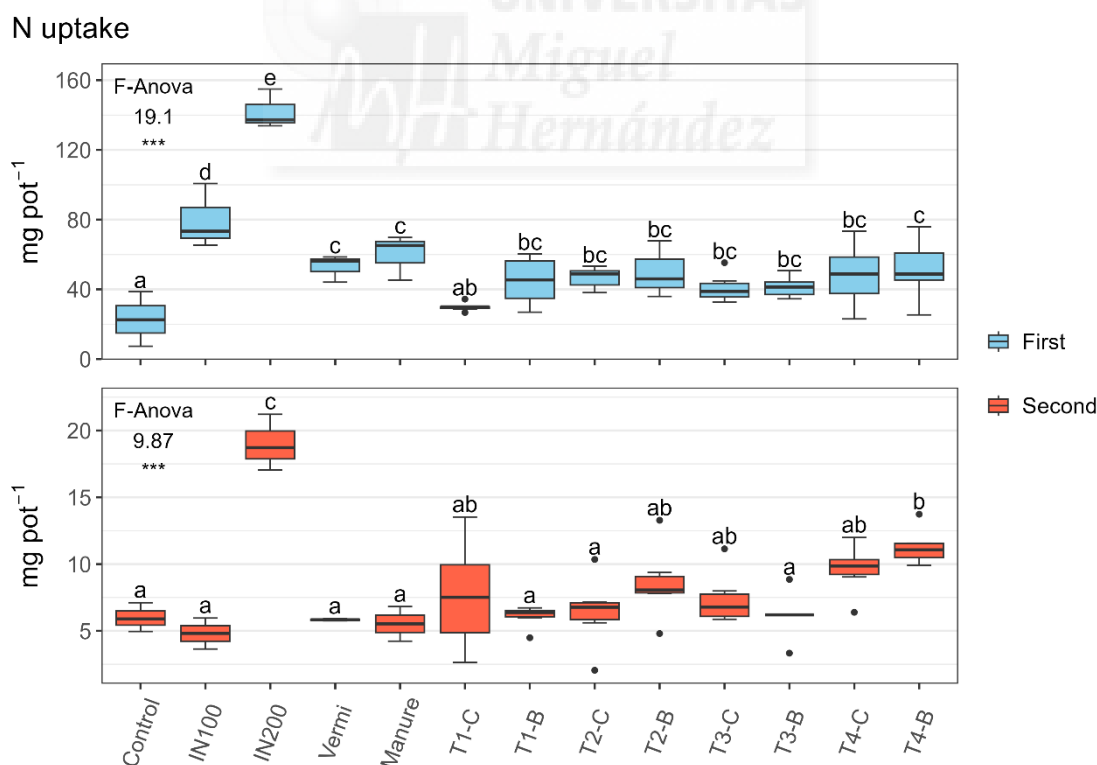
### 3.2.3. Nutrient use efficiency

In the first growing season, crops with OMW compost application displayed similar N uptake than crops with vermicompost and manure application and all of them were above that of the control, except T1-C (Figure 2). This difference might be caused by the availability of the N in each treatment, as the N dosage was equal for all treatments (200 kg/ha) and inorganic fertilizers have higher availability and use efficiency of N [46]. The P uptake of the crops was higher in inorganic treatments (IN 100, IN200) followed by vermicompost and manure. If we compare the compost treatments with vermicompost and manure, only T1-B showed similar values of P uptake (Figure 3). Despite that, vermicompost and manure treatment reached highest P uptake values, and it is interesting to high-light that all composts had a higher phosphorus content than manure and that T1-B, T3-C T3-B, T4-C and T4-B had a higher phosphorus content than vermicompost. However, during the second growing season, a different pattern was observed: the P uptake from

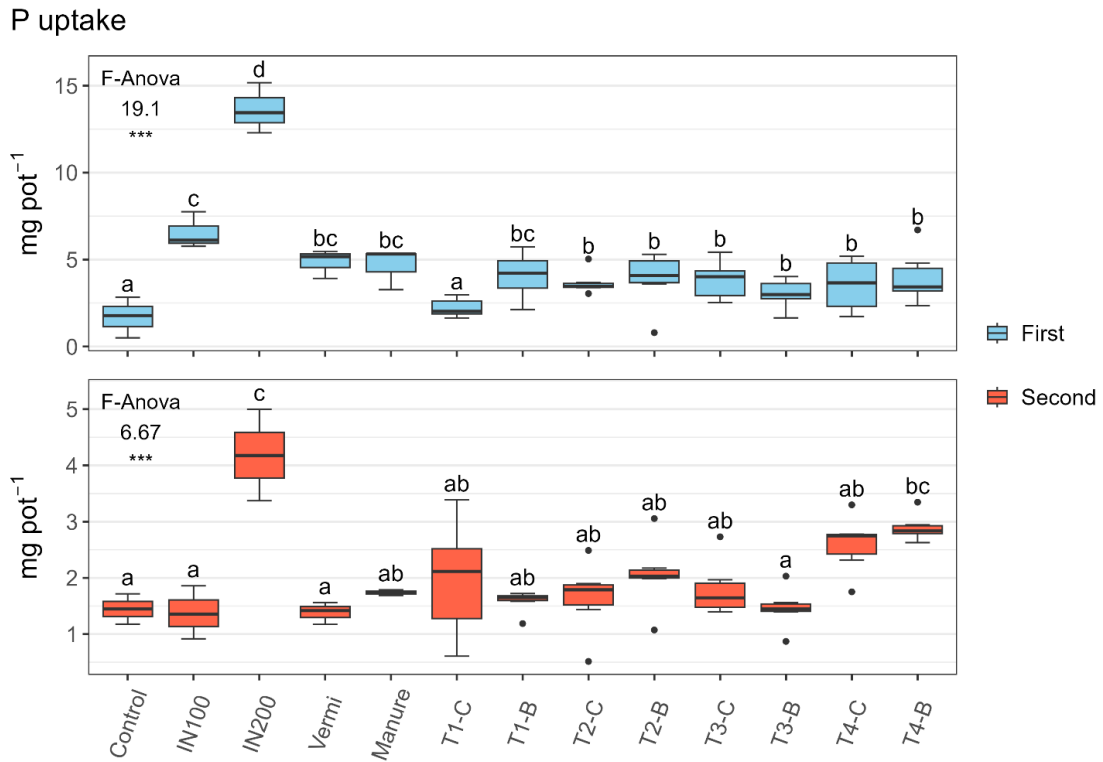
the compost was higher than that from the vermicompost, and, in most cases, the compost also outperformed the manure (T1-C, T2-B, T3-C, T4-B, and T4-C). Therefore, it appears that OMW composts represents a valuable source of N available for plant nutrition in the short term and also a valuable medium-term P source.

Crops treated with OMW composts showed similar K uptake to vermicompost, manure and the control, being surpassed by inorganic treatments (Figure 4). Paradoxically, Kava was higher in soils with OMW treatments than inorganic treatments. As Yin et al. have reported, higher concentrations of K in the fertilizer can decrease the use efficiency of the nutrient [47]. Additionally, K fertilization imbalances can lead to leaching of the soluble K, preventing the absorption by the plant [47,48].

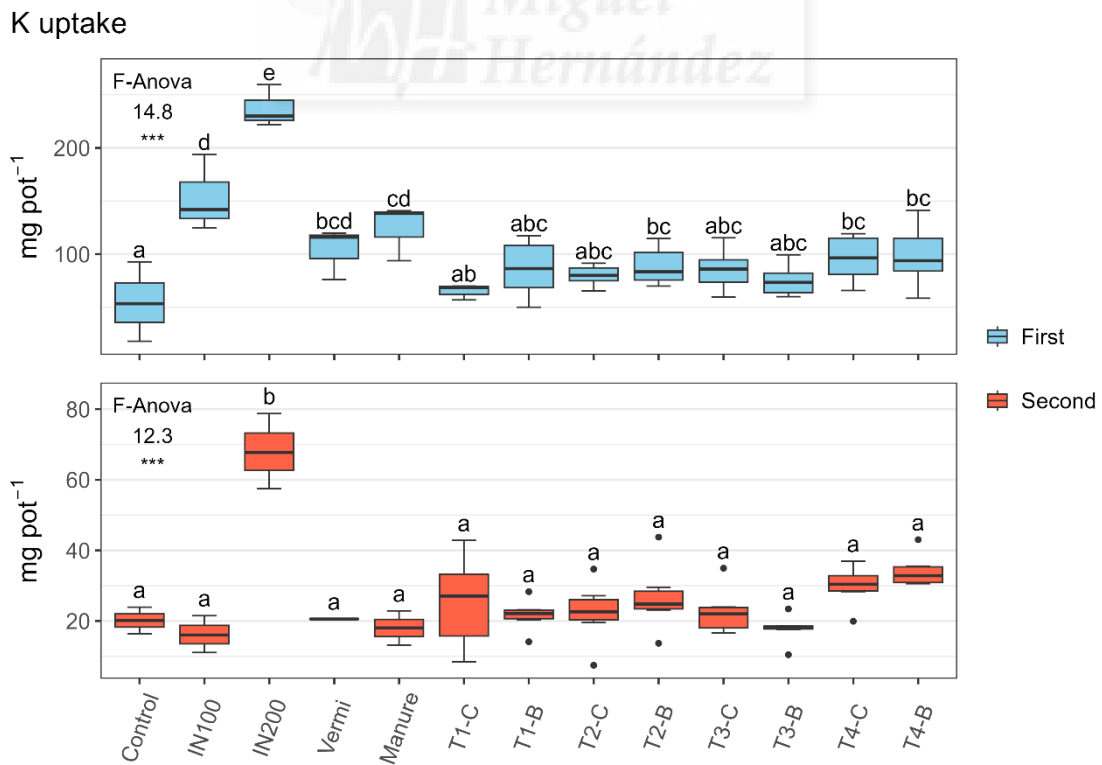
After the second growing season, N uptake of all crops was very similar, with IN200 and T4-B soils increasing the uptake significantly above the control values (Figure 2). The depletion of N stock in soil from the first growing season could have led to smaller differences between treatments, as the N concentration in soils are closer to that of the control. Lastly, only IN200 led to significant changes to the K uptake of the plants at the end of the second growing season, despite the high Kava present in OMW treatment soils by the end of the second growing season (Figure 4).



**Figure 2.** N uptake of lettuces for each treatment by the end of their respective growing seasons. \*\*\*: significant difference between treatments  $p < 0.001$ . Different letters within a column indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).



**Figure 3.** P uptake of lettuce for each treatment by the end of their respective growing seasons. \*\*\*: significant difference between treatments at  $p < 0.001$ . Different letters within a column indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).



**Figure 4.** K uptake of lettuce for each treatment by the end of their respective growing seasons. \*\*\*: significant difference between treatments at  $p < 0.001$ . Different letters within a column indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

The NUE of all OMW composts and organic treatments was similar. Only inorganic treatments showed statistically higher NUE, with both treatments around 60%. The average NUE of OMW treatments ranged between 9.49% and 15.0%, and was statistically similar to vermicompost and manure, suggesting equal performance than conventional organic treatments. Salim et al. [49] mentions that fertilizers with lower N content tend to have higher nutrient use efficiency. Additionally, Agegnehu et al. [50] have reported that organic treatments displayed similar NUE on the growth of barley straw between organic treatments, with better performance when paired with inorganic materials to act as organo-mineral fertilizers.

The composts showed no different NUE depending on their ingredients. However, the bulking agent used does apparently show some differences; OMW composts prepared with Alm reached lower NUE, while composts prepared with Vn reached a higher NUE. Biochar caused no statistical difference between the NUE of the OMW composts (Table 5). This contrasts with the reports of Agegnehu et al. [50], as they found biochar and co-composted biochar performed better than just compost. This might be due to the lower biochar concentration in the composts tested in this study.

**Table 5.** Differences in NUE of the first growing season between treatments.

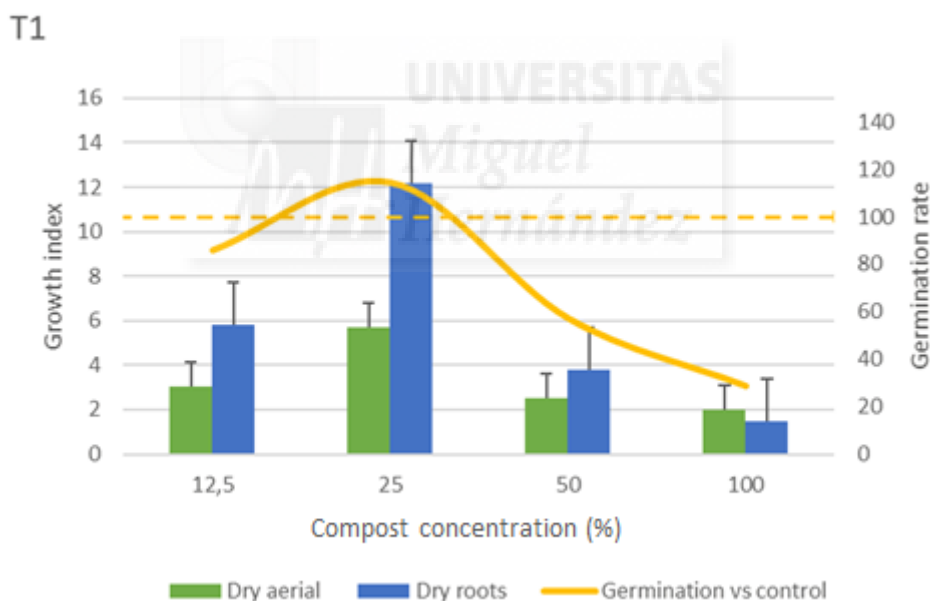
Treatment	NUE (%)
Treatments	
IN100	60.0 b
IN200	62.7 b
Vermi	15.9 a
Manure	19.6 a
T1-C	13.7 a
T1-B	11.6 a
T2-C	12.6 a
T2-B	14.0 a
T3-C	9.49 a
T3-B	9.79 a
T4-C	13.4 a
T4-B	15.0 a
F-Anova	24.4 ***

CM: cattle manure; GM: goat manure; Alm: almond tree pruning; Vn: vineyard pruning.  
 \*\*, \*\*\*: significant difference between treatments at  $p < 0.01$ , and  $p < 0.001$ , respectively;  
 ns: not significant. Different letters within a column indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

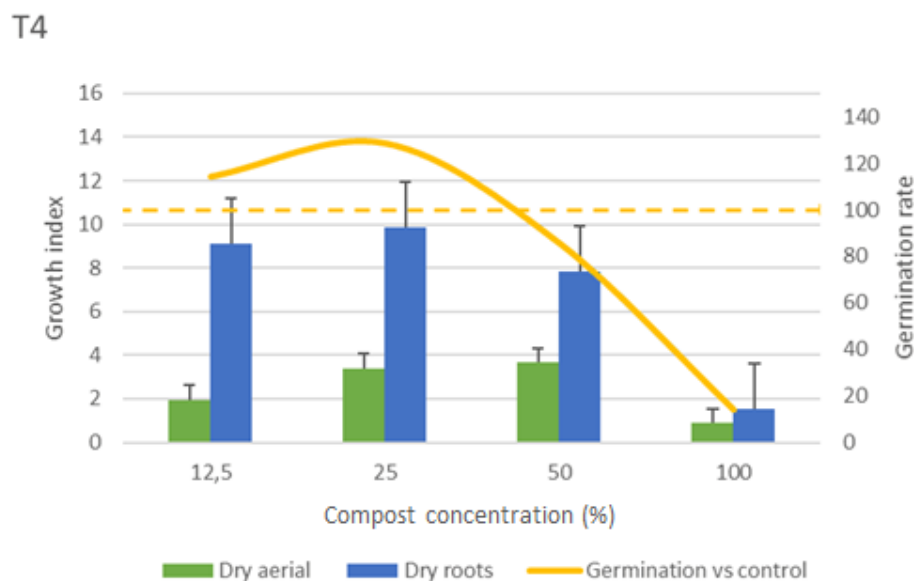
### 3.3. Phytotoxicity test of compost

The calculated values of LC50 (related with seedling emergence) were 65.5% for compost T1, which indicates that this compost applied at this concentration can provoke a lethal effect on 50% of seeds (Figure 5), while for compost T4 the LC50 was found at 75.7% of compost

concentration (Figure 6). In addition, T1 compost showed increments in the germination until a concentration of 29.2% was reached, while T4 showed a phytostimulant effect on seed germination until a concentration of 42.6% in the substrate was reached, which indicates the greater toxicity of compost T1. The EC50 values were not found in either compost T1 or T4, which indicates that the use of these composts does not cause a harmful effect on seedling growth, even at 100% compost concentration. Total dry weight increased after 12.5% and did not decrease until after 25%. Furthermore, root dry weight was always higher than aerial, suggesting the absence of inhibitory effects and potential phytostimulant for root growth. As Muscolo et al. [51] have discussed, dilution is one of the main strategies by which to decrease OMW phytotoxicity and preliminary treatments can cause significant differences in yield, supporting the idea that compost could have improved the OMW characteristics as a pretreatment, as well as diluting the OMW. Alvarenga et al. [52] have reported EC50 values, for a compost from the organic fraction of municipal solid waste, of 70.0% for barley (*Hordeum vulgare* L.) and 39.9% for cress (*Lepidium sativum* L.), justifying the idea that high compost salinity is the main limiting factor because it generates phytotoxicity in some plants [53].



**Figure 5.** Changes in germination and growth of maize depending on the concentration of compost T1 in % in substrate. Growth index represents the increment of dry weight (aerial and roots) compared to Control (100% coconut fiber). The dashed line represents the germination of the Control.



**Figure 6.** Changes in germination and growth of maize depending on the concentration of compost T4 in % in their substrate. Growth index represents the increment of dry weight (aerial and roots) compared to Control (100% coconut fiber). The dashed line represents the germination of the Control.

#### 4. Conclusions

Composting has been shown to be an effective treatment by which to solve the environmental issues associated with OMW toxicity. The results of this study demonstrate that composts derived from olive mill wastewater (OMW) can be safely used as organic amendments. Their application improved soil fertility by increasing oxidizable carbon, total Kjeldahl nitrogen, available phosphorus, and potassium. OMW composts achieved crop yield and plant development comparable to common organic treatments such as vermicompost or fresh manure and provided a valuable source of nitrogen for short-term plant nutrition and a medium-term source of phosphorus. Phytotoxic effects were not observed, as germination and growth tests confirmed the absence of inhibitory impacts. Even proportions <30% showed phytostimulant effects, especially on germination and root growth. Field studies, as well as in situ composting treatment, should be further evaluated; however, the overall results obtained in this work demonstrate that OMW composting represents a sustainable strategy by which to valorize this residue and to contribute to both soil health and the circular economy.

**Author Contributions:** Conceptualization, R.M. and F.J.A.-R.; methodology, M.D.P.-M.; software, M.Á.M.-U.; J.A.S.-T. validation, M.D.P.-M., S.S.-M. and L.O.; formal analysis, S.S.-M.; L.V.-V. and M.Á.M.-U. investigation, F.J.A.-R.; resources, R.M.; data curation, M.D.P.-M. and J.A.S.-T. writing—original draft preparation, M.Á.M.-U.; writing—review and editing, J.A.S.-T.;

visualization, R.M.; supervision, L.O. and F.J.A.-R.; project administration, R.M.; funding acquisition, R.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research is supported by the project TED2021-129481B, Olive\_Relife, co-funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and by the European Union “NextGenerationEU”/PRTR.

**Data Availability Statement:** The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors on request.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

### References

1. Galliou, F.; Markakis, N.; Fountoulakis, M.S.; Nikolaidis, N.; Manios, T. Production of Organic Fertilizer from Olive Mill Wastewater by Combining Solar Greenhouse Drying and Composting. *Waste Manag.* **2018**, *75*, 305–311. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.01.020>.
2. Sáez, J.A.; Pérez-Murcia, M.D.; Vico, A.; Martínez-Gallardo, M.R.; Andreu-Rodríguez, F.J.; López, M.J.; Bustamante, M.A.; Sanchez-Hernandez, J.C.; Moreno, J.; Moral, R. Olive Mill Wastewater-Evaporation Ponds Long Term Stored: Integrated Assessment of in Situ Bioremediation Strategies Based on Composting and Vermicomposting. *J. Hazard. Mater.* **2021**, *402*, 123481. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123481>.
3. Babić, S.; Malev, O.; Pflieger, M.; Lebedev, A.T.; Mazur, D.M.; Kužić, A.; Čož-Rakovac, R.; Trebše, P. Toxicity Evaluation of Olive Oil Mill Wastewater and Its Polar Fraction Using Multiple Whole-Organism Bioassays. *Sci. Total Environ.* **2019**, *686*, 903–914. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.046>.
4. Shabir, S.; Ilyas, N.; Saeed, M.; Bibi, F.; Sayyed, R.Z.; Almalki, W.H. Treatment Technologies for Olive Mill Wastewater with Impacts on Plants. *Environ. Res.* **2023**, *216*, 114399. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2022.114399>.
5. Doula, M.K.; Moreno-Ortego, J.L.; Tinivella, F.; Inglezakis, V.J.; Sarris, A.; Komnitsas, K. Olive Mill Waste: Recent Advances for the Sustainable Development of Olive Oil Industry. In *Olive Mill Waste: Recent Advances for Sustainable Management*; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, 2017; pp. 29–56. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805314-0.00002-9>.
6. Dich, A.; Abdelmoumene, W.; Belyagoubi, L.; Assadpour, E.; Belyagoubi Benhammou, N.; Zhang, F.; Jafari, S.M. Olive Oil Wastewater: A Comprehensive Review on Examination of Toxicity, Valorization Strategies, Composition, and Modern Management Approaches.

- Environ. Sci. Pollut. Res.* **2025**, *32*, 6349–6379. <https://doi.org/10.1007/s11356-025-36127-7>.
7. Kavvadias, V.; Elaiopoulos, K.; Theocharopoulos, S.; Soupios, P. Fate of Potential Contaminants Due to Disposal of Olive Mill Wastewaters in Unprotected Evaporation Ponds. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2017**, *98*, 323–330. <https://doi.org/10.1007/s00128-016-1922-4>.
  8. Martínez-Gallardo, M.R.; López, M.J.; Jurado, M.M.; Suárez-Estrella, F.; López-González, J.A.; Sáez, J.A.; Moral, R.; Moreno, J. Bioremediation of Olive Mill Wastewater Sediments in Evaporation Ponds through in Situ Composting Assisted by Bioaugmentation. *Sci. Total Environ.* **2020**, *703*, 135537. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135537>.
  9. Palumbo, G.; Schiavon, M.; Nardi, S.; Ertani, A.; Celano, G.; Colombo, C.M. Biostimulant Potential of Humic Acids Extracted From an Amendment Obtained via Combination of Olive Mill Wastewaters (OMW) and a Pre-Treated Organic Material Derived From Municipal Solid Waste (MSW). *Front. Plant Sci.* **2018**, *9*, 383035. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01028>.
  10. Coskun, T.; Debik, E.; Demir, N.M. Treatment of Olive Mill Wastewaters by Nanofiltration and Reverse Osmosis Membranes. *Desalination* **2010**, *259*, 65–70. <https://doi.org/10.1016/J.DESAL.2010.04.034>.
  11. Coskun, T.; Basturk, I. A New Approach to Evaluate Membrane Performance: COD and EC Rejection Rates. *Desalin. Water Treat.* **2016**, *57*, 25450–25459. <https://doi.org/10.1080/19443994.2016.1156585>.
  12. Fleyfel, L.M.; Matta, J.; Sayegh, N.F.; El Najjar, N.H. Olive Mill Wastewater Treatment Using Coagulation/Flocculation and Filtration Processes. *Heliyon* **2024**, *10*, e40348. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e40348>.
  13. Masi, F.; Bresciani, R.; Munz, G.; Lubello, C. Evaporation–Condensation of Olive Mill Wastewater: Evaluation of Condensate Treatability through SBR and Constructed Wetlands. *Ecol. Eng.* **2015**, *80*, 156–161. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLENG.2014.11.008>.
  14. Kıpçak, E.; Söğüt, O.Ö.; Akgün, M. Hydrothermal Gasification of Olive Mill Wastewater as a Biomass Source in Supercritical Water. *J. Supercrit. Fluids* **2011**, *57*, 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2011.02.006>.
  15. Lajili, M.; Guizani, C.; Escudero Sanz, F.J.; Jeguirim, M. Fast Pyrolysis and Steam Gasification of Pellets Prepared from Olive Oil Mill Residues. *Energy* **2018**, *150*, 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2018.02.135>.
  16. Chowdhury, A.K.M.M.B.; Akratos, C.S.; Vayenas, D.V.; Pavlou, S. Olive Mill Waste Composting: A Review. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2013**, *85*, 108–119. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.06.019>.
  17. Souilem, S.; El-Abbassi, A.; Kiai, H.; Hafidi, A.; Sayadi, S.; Galanakis, C.M. Olive Oil Production Sector: Environmental Effects and Sustainability Challenges. In *Olive Mill Waste:*

- Recent Advances for Sustainable Management*, Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, 2017; pp. 1–28. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805314-0.00001-7>.
18. Eurostat Consumption of Inorganic Fertilizers (Aei\_fm\_usefert). Available online: [https://ec.europa.eu/eurostat/cache/metadata/en/aei\\_fm\\_usefert\\_esms.htm](https://ec.europa.eu/eurostat/cache/metadata/en/aei_fm_usefert_esms.htm) (accessed on 26 May 2025).
  19. Wang, M.; Khan, M.A.; Mohsin, I.; Wicks, J.; Ip, A.H.; Sumon, K.Z.; Dinh, C.-T.; Sargent, E.H.; Gates, I.D.; Kibria, M.G. Can Sustainable Ammonia Synthesis Pathways Compete with Fossil-Fuel Based Haber–Bosch Processes? *Energy Environ. Sci.* **2021**, *14*, 2535–2548. <https://doi.org/10.1039/D0EE03808C>.
  20. Liang, B.; Zhao, W.; Yang, X.; Zhou, J. Fate of Nitrogen-15 as Influenced by Soil and Nutrient Management History in a 19-Year Wheat–Maize Experiment. *Field Crops Res.* **2013**, *144*, 126–134. <https://doi.org/10.1016/J.FCR.2012.12.007>.
  21. FAO. *The State of the World's Land and Water Resources for Food and Agriculture—Systems at Breaking Point (SOLAW 2021)*; FAO: Rome, Italy, 2021; ISBN 978-92-5-135327-1.
  22. Albornoz, F. Crop Responses to Nitrogen Overfertilization: A Review. *Sci. Hortic.* **2016**, *205*, 79–83. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2016.04.026>.
  23. Manolikaki, I.; Diamadopoulos, E. Positive Effects of Biochar and Biochar-Compost on Maize Growth and Nutrient Availability in Two Agricultural Soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2019**, *50*, 512–526. <https://doi.org/10.1080/00103624.2019.1566468>.
  24. Mira-Urios, M.Á.; Sáez, J.A.; Orden, L.; Marhuenda-Egea, F.C.; Andreu-Rodríguez, F.J.; Toribio, A.J.; Agulló, E.; López, M.J.; Moral, R. Composting of Olive Mill Wastewater Sludge Using a Combination of Multiple Strategies: Assessment of Improvement in Biodegradability, GHG Emissions, and Characteristics of the End Product. *Agronomy* **2025**, *15*, 808. <https://doi.org/10.3390/agronomy15040808>.
  25. Paredes, C.; Pérez-Murcia, M.D.; Pérez-Espinosa, A.; Ángeles Bustamante, M.; Moreno-Caselles, J. Recycling of Two-Phase Olive-Mill Cake “Alperujo” by Co-Composting with Animal Manures. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2015**, *46*, 238–247. <https://doi.org/10.1080/00103624.2014.989022>.
  26. Zucconi, F.; Pera, A.; Forte, M.; de Bertoldi, M. Evaluating Toxicity of Immature Compost. *Biocycle* **1981**, *22*, 54–57.
  27. Clemente, R.; Sáez-Tovar, J.A.; Bernal, M.P. Extractability, Distribution Among Different Particle Size Fractions, and Phytotoxicity of Cu and Zn in Composts Made with the Separated Solid Fraction of Pig Slurry. *Front. Sustain. Food Syst.* **2020**, *4*, 2. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00002>.
  28. Bremner, J.M. Nitrogen-Total. In *Methods of Soil Analysis, Part 3: Chemical Methods*; John Wiley & Sons, Ltd.: Hoboken, NJ, USA, 2018; pp. 1085–1121.

29. Olsen, S.R.; Cole, C.V.; Watanabe, F.S.; Dean, L.A. Estimation of Available Phosphorus in Soils by Extraction with Sodium Bicarbonate. In *Circular*, U.S. Department of Agriculture: Washington, DC, USA, 1954; Volume 939, pp. 18–19.
30. Knudsen, D.; Peterson, G.A.; Pratt, P.F. Lithium, Sodium, and Potassium. In *Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties*; American Society of Agronomy, Inc.; Soil Science Society of America, Inc.: Madison, WI, USA, 1982; pp. 225–246. <https://doi.org/10.2134/AGRONMONOGR9.2.2ED.C13>.
31. Yeomans, J.C.; Bremner, J.M. A Rapid and Precise Method for Routine Determination of Organic Carbon in Soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1988**, *19*, 1467–1476. <https://doi.org/10.1080/00103628809368027>.
32. Patrignani, A.; Ochsner, T.E. Canopeo: A Powerful New Tool for Measuring Fractional Green Canopy Cover. *Agron. J.* **2015**, *107*, 2312–2320. <https://doi.org/10.2134/AGRONJ15.0150>.
33. Casella, A.; Orden, L.; Pezzola, N.A.; Bellacomo, C.; Winschel, C.I.; Caballero, G.R.; Delegido, J.; Gracia, L.M.N.; Verrelst, J. Analysis of Biophysical Variables in an Onion Crop (*Allium cepa* L.) with Nitrogen Fertilization by Sentinel-2 Observations. *Agronomy* **2022**, *12*, 1884. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY12081884>.
34. López-Bellido, L.; López-Bellido, R.J.; Redondo, R. Nitrogen Efficiency in Wheat under Rainfed Mediterranean Conditions as Affected by Split Nitrogen Application. *Field Crops Res.* **2005**, *94*, 86–97. <https://doi.org/10.1016/J.FCR.2004.11.004>.
35. Doublet, J.; Francou, C.; Pétraud, J.P.; Dignac, M.F.; Poitrenaud, M.; Houot, S. Distribution of C and N Mineralization of a Sludge Compost within Particle-Size Fractions. *Bioresour. Technol.* **2010**, *101*, 1254–1262. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.037>.
36. Picariello, E.; Pucci, L.; Carotenuto, M.; Libralato, G.; Lofrano, G.; Baldantoni, D. Compost and Sewage Sludge for the Improvement of Soil Chemical and Biological Quality of Mediterranean Agroecosystems. *Sustainability* **2020**, *13*, 26. <https://doi.org/10.3390/SU13010026>.
37. Piotrowska, A.; Rao, M.A.; Scotti, R.; Gianfreda, L. Changes in Soil Chemical and Biochemical Properties Following Amendment with Crude and Dephenolized Olive Mill Waste Water (OMW). *Geoderma* **2011**, *161*, 8–17. <https://doi.org/10.1016/J.GEODERMA.2010.11.011>.
38. De Sosa, L.L.; Benítez, E.; Girón, I.; Madejón, E. Agro-Industrial and Urban Compost as an Alternative of Inorganic Fertilizers in Traditional Rainfed Olive Grove under Mediterranean Conditions. *Agronomy* **2021**, *11*, 1223. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY11061223>.
39. Grigatti, M.; Cavani, L.; di Biase, G.; Ciavatta, C. Current and Residual Phosphorous Availability from Compost in a Ryegrass Pot Test. *Sci. Total Environ.* **2019**, *677*, 250–262. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.04.349>.

40. Tampio, E.; Salo, T.; Rintala, J. Agronomic Characteristics of Five Different Urban Waste Digestates. *J. Environ. Manag.* **2016**, *169*, 293–302. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2016.01.001>.
41. Piotrowska, A.; Iamarino, G.; Rao, M.A.; Gianfreda, L. Short-Term Effects of Olive Mill Waste Water (OMW) on Chemical and Biochemical Properties of a Semiarid Mediterranean Soil. *Soil Biol. Biochem.* **2006**, *38*, 600–610. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2005.06.012>.
42. Alkhader, A.; Rayyan, A.; Rusan, M. The Effect of Phosphorus Fertilizers on the Growth and Quality of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) under Greenhouse and Field Conditions. *J. Food Agric. Environ.* **2013**, *11*, 777–783.
43. Hernández, T.; Chocano, C.; Moreno, J.L.; García, C. Use of Compost as an Alternative to Conventional Inorganic Fertilizers in Intensive Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Crops—Effects on Soil and Plant. *Soil Tillage Res.* **2016**, *160*, 14–22. <https://doi.org/10.1016/J.STILL.2016.02.005>.
44. Jayara, A.S.; Kumar, R.; Pandey, P.; Singh, S.; Shukla, A.; Singh, A.P.; Pandey, S.; Meena, R.L.; Reddy, K.I. Boosting Nutrient Use Efficiency through Fertilizer Use Management. *Appl. Ecol. Environ. Res.* **2023**, *21*, 2931–2952. [https://doi.org/10.15666/aeer/2104\\_29312952](https://doi.org/10.15666/aeer/2104_29312952).
45. El Hayany, B.; En-Nejmy, K.; El Glaoui, G.E.M.; Hafidi, M.; El Fels, L. Chlorophyll Performances as an Indicator of Compost Quality: Effectiveness of Liquid Humic Substances and Compost Tea. *Int. J. Recycl. Org. Waste Agric.* **2023**, *12*, 683–698. <https://doi.org/10.30486/IJROWA.2023.1962394.1499>.
46. Fandika, I.R.; Kadyampakeni, D.; Bottomani, C.; Kakhiwa, H. Comparative Response of Varied Irrigated Maize to Organic and Inorganic Fertilizer Application. *Phys. Chem. Earth Parts A/B/C* **2007**, *32*, 1107–1116. <https://doi.org/10.1016/J.PCE.2007.07.025>.
47. Yin, M.; Li, Y.; Hu, Q.; Yu, X.; Huang, M.; Zhao, J.; Dong, S.; Yuan, X.; Wen, Y. Potassium Increases Nitrogen and Potassium Utilization Efficiency and Yield in Foxtail Millet. *Agronomy* **2023**, *13*, 2200. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY13092200>.
48. Li, Z.; Zhang, R.; Xia, S.; Wang, L.; Liu, C.; Zhang, R.; Fan, Z.; Chen, F.; Liu, Y. Interactions between N, P and K Fertilizers Affect the Environment and the Yield and Quality of Satsumas. *Glob. Ecol. Conserv.* **2019**, *19*, e00663. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00663>.
49. Salim, N.; Raza, A. Nutrient Use Efficiency (NUE) for Sustainable Wheat Production: A Review. *J. Plant Nutr.* **2020**, *43*, 297–315. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1676907>.
50. Agegnehu, G.; Nelson, P.N.; Bird, M.I. The Effects of Biochar, Compost and Their Mixture and Nitrogen Fertilizer on Yield and Nitrogen Use Efficiency of Barley Grown on a Nitisol in the Highlands of Ethiopia. *Sci. Total Environ.* **2016**, *569–570*, 869–879. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2016.05.033>.
51. Muscolo, A.; Sidari, M.; Mallamaci, C.; Attinà, E. Effects of Olive Mill Wastewater on Seed Germination and Seedling Growth. *Terr. Aquat. Environ. Toxicol.* **2010**, *4*, 75–83.

52. Alvarenga, P.; Palma, P.; Gonçalves, A.P.; Fernandes, R.M.; Cunha-Queda, A.C.; Duarte, E.; Vallini, G. Evaluation of Chemical and Ecotoxicological Characteristics of Biodegradable Organic Residues for Application to Agricultural Land. *Environ. Int.* **2007**, *33*, 505–513. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2006.11.006>.
53. Kapanen, A.; Itävaara, M. Ecotoxicity Tests for Compost Applications. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2001**, *49*, 1–16. <https://doi.org/10.1006/EESA.2000.1927>.

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

