



UNIVERSIDAD DE JAÉN  
*Facultad de Ciencias Experimentales*

Trabajo Fin de Grado

**Optimización de  
estrategias analíticas  
basadas en  
espectroscopía UV para  
la determinación de  
nitratos en compost**

Alumna: **Marta Blanco Cañete**

**Junio, 2023**

Trabajo Fin de Grado

**Optimización de  
estrategias analíticas  
basadas en  
espectroscopía UV para  
la determinación de  
nitratos en compost**



**Alumna: Marta Blanco Cañete**

**Jaén, Junio, 2023**

# ÍNDICE

RESUMEN/ABSTRACT .....	1
1. INTRODUCCIÓN .....	2
1.1. Problemática de los suelos en países mediterráneos .....	2
1.2. Empleo del alperujo en el compost.....	3
1.3. Compostaje .....	4
1.3.1. Fases del compostaje .....	4
1.3.2. El ciclo del nitrógeno .....	5
1.3.3. Factores que influyen en el compostaje .....	6
1.4. Métodos analíticos para determinar nitratos.....	10
2. OBJETIVOS .....	13
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	14
3.1. Muestras .....	14
3.2. Reactivos .....	14
3.3. Instrumentación utilizada .....	15
3.4. Aparatos empleados .....	16
3.5. Materiales utilizados .....	16
3.6. Preparación y conservación de disoluciones .....	16
3.7. Preparación de la recta de calibrado de nitratos .....	17
3.8. Procedimiento de preparación de extractos de compost .....	18
3.9. Procedimiento para la determinación del factor empírico R .....	19
3.11. Procedimiento de eliminación de materia orgánica mediante resinas adsorbentes .....	20
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	23
5. CONCLUSIONES .....	40
6. BIBLIOGRAFÍA .....	41

## **RESUMEN**

Este trabajo evalúa estrategias para la determinación de nitratos en compost por espectroscopía UV. Se optimizó la preparación de extractos acuosos empleando  $\text{CaSO}_4$  y  $\text{KCl}$ , eligiéndose  $\text{KCl}$  por su mayor reproducibilidad. La espectroscopía UV es un método sencillo y fiable para determinar nitratos en matrices como aguas, donde sólo los nitratos presentan absorción UV. Sin embargo, en compost, se observó que la presencia de materia orgánica (MO), que también absorbe en UV, causaba interferencia. Como alternativa se plantearon dos estrategias: (1) La eliminación de nitratos para calcular un factor empírico, R, para estimar la absorbancia debida solo a MO. Los resultados no fueron satisfactorios ya que el catalizador utilizado, además de la reducción de los nitratos provocaba también cambios en la absorción UV de la MO. Dicho factor está correlacionado con la relación C/N, lo que permite emplearlo como un indicador de madurez del compost. (2) El empleo de resinas adsorbentes (Amberlite XAD-4 y XAD-16) para retener la MO, siendo la más eficiente la Amberlite XAD-4. Sin embargo, no fue posible eliminar completamente la interferencia debida a la MO.

## **ABSTRACT**

This study evaluates strategies for the determination of nitrates in compost by UV spectroscopy. The preparation of aqueous extracts was optimized using  $\text{CaSO}_4$  and  $\text{KCl}$ , choosing  $\text{KCl}$  for its higher reproducibility. UV spectroscopy is a simple and reliable method to determine nitrates in matrices such as water, where only nitrates show UV absorption. However, in compost, it was observed that the presence of organic matter (OM), which also absorbs UV, caused interference. As an alternative, two strategies were proposed: (1) The elimination of nitrates to calculate an empirical factor R, to estimate the absorbance due to OM. The results were not satisfactory since the catalyst used also caused changes in the UV absorption of OM. This factor is correlated with the C/N ratio, which makes it possible to use it as an indicator of compost maturity. (2) The use of adsorbent resins (Amberlite XAD-4 and XAD-16) to retain OM, the most efficient being Amberlite XAD-4. However, it was not possible to eliminate the interference due to OM.

## **1. INTRODUCCIÓN.**

### **1.1. Problemática de los suelos en países mediterráneos.**

Los países mediterráneos comparten condiciones climáticas y agroecológicas similares, así como dos grandes limitaciones: el déficit de recursos hídricos y el bajo nivel de materia orgánica del suelo. Estas dos limitaciones hacen que toda la cuenca mediterránea sea muy vulnerable a la degradación y al avance de la desertificación (L. de Sosa et al., 2021). Alrededor del 74% de los suelos mediterráneos tienen un contenido de carbono orgánico inferior al 2% (De Brogniez et al., 2015).

Además, la aplicación continua y excesiva de fertilizantes sintéticos, especialmente los fertilizantes nitrogenados, que son ampliamente utilizados en el sector agrícola, provocan efectos nocivos en el suelo, las plantas, los animales y la salud humana. Su uso inadecuado conduce a la degradación del suelo, al reducir su capacidad de retención de agua y provocar un aumento de la erosión del suelo, afectando, en última instancia, a su fertilidad al producirse pérdidas de nutrientes (Ahmad et al., 2022).

Para hacer frente a estos problemas el compost es una opción excelente y sostenible en la agricultura orgánica. El compost es un producto que puede ser utilizado como enmienda orgánica, que resulta de un proceso denominado compostaje. El compostaje es un proceso aerobio que consiste en la transformación natural de residuos orgánicos mediante un proceso biológico de oxidación y la acción de diversos microorganismos presentes en los propios residuos. El compost sirve para mejorar el estado físico, químico y biológico del suelo porque reduce las pérdidas por lixiviación de nutrientes y minimiza la dependencia de los fertilizantes sintéticos. También, es una fuente ecológica de micro (Zn, Fe, Cu y Mn) y macro (N, P, K, Ca y Mg) nutrientes. Por tanto, la aplicación de compost aumenta la productividad de los cultivos debido a que mejora la fertilidad del suelo y le provisiona de micro y macro nutrientes, aumentando el contenido de materia orgánica del suelo (Ahmad et al., 2022).

## 1.2. Empleo del alperujo en el compost.

En la actualidad, existe una gran variedad de diferentes tipos de compost que emplean distintas materias primas en su composición. Sin embargo, debido a su disponibilidad en la provincia de Jaén, se emplea como materia prima principal para el compost un subproducto proveniente del aceite de oliva denominado alperujo. El alperujo se obtiene cuando de las aceitunas se extrae el aceite de oliva mediante un sistema de centrifugación de dos fases (Alburquerque et al., 2004), tal y como se muestra en la Fig. 1.1.

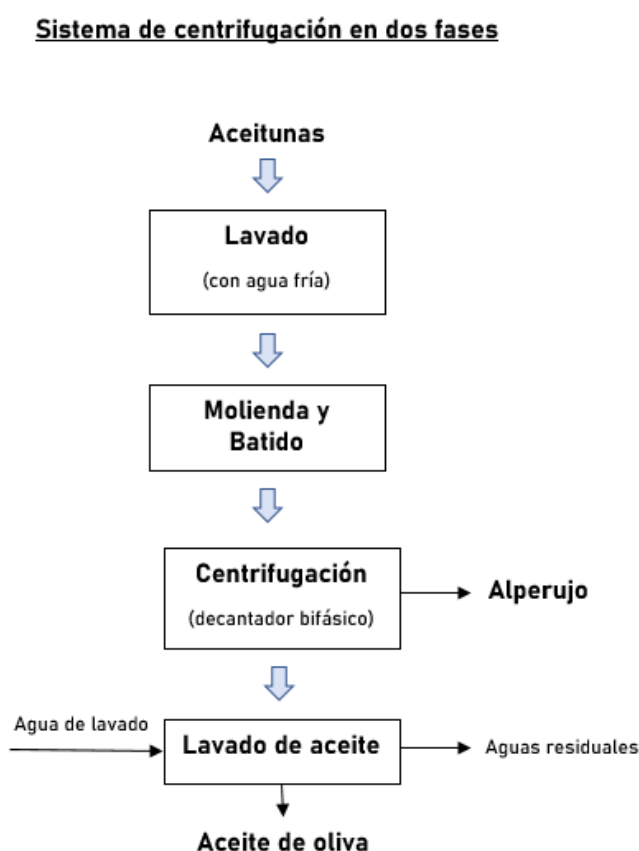


Figura 1.1. Sistema de centrifugación en dos fases para la extracción de aceite de oliva (adaptado de Alburquerque et al., 2004).

Debido a que el alperujo es un residuo sólido ácido y muy húmedo se mezcla con distintos agentes para mejorar sus propiedades físicas y químicas. En el compost de alperujo, los principales agentes con los que se mezcla el alperujo son: estiércol animal (como el de las aves de corral y ovinos) para mejorar su contenido en nitrógeno y restos de poda de olivo, procedente de la limpieza de la aceituna, para darle estructura. De esta manera, se obtiene un compost

eficiente, cuyo principal componente es el alperujo, para conseguir aumentar el contenido de materia orgánica en los suelos (Tortosa et al., 2012).

### **1.3. Compostaje.**

#### *1.3.1. Fases del compostaje.*

Basándose en el progreso de la temperatura, el proceso de compostaje puede dividirse en cuatro fases: mesófila, termófila, de enfriamiento y de maduración (Tran et al., 2021).

- a) Fase mesófila: Ocurre a <45 °C y se produce cuando la comunidad microbiana se adapta a las condiciones iniciales y su número aumenta rápidamente debido a la abundancia de sustratos orgánicos fácilmente degradables. En esta fase, se produce un descenso del pH y una disminución significativa del contenido de oxígeno (Tran et al., 2021).
- b) Fase termófila: En esta fase, se produce un aumento del pH y la actividad microbiana alcanza su punto máximo, donde las temperaturas pueden alcanzar los 70 °C (Chang et al., 2006). Los organismos termófilos tales como *Pseudoxanthomonas sp.* y *Bacillus sp.* son los dominantes, ya que las altas temperaturas inhiben el crecimiento y la prosperidad de los organismos mesófilos. Una fase termófila más larga es favorable para el proceso de compostaje, ya que ayuda a eliminar patógenos y acorta el tiempo de maduración (Tran et al., 2021).
- c) Fase de enfriamiento: Durante la fase de enfriamiento, la actividad microbiana se ralentiza debido al agotamiento de los sustratos orgánicos, y la temperatura desciende gradualmente hasta ~45 °C (Tran et al., 2021).
- d) Fase de maduración: Finalmente, cuando los sustratos orgánicos se agotan, la temperatura desciende hasta llegar al valor ambiental, y se establece que el compost ha madurado. Esto ocurre cuando la temperatura es de unos 30-35 °C y el pH final se encuentra alrededor de 7-8. (Tran et al., 2021).

### 1.3.2. El ciclo del nitrógeno.

El ciclo del nitrógeno es uno de los procesos bioquímicos cruciales del compostaje de residuos orgánicos. Consta de cinco etapas principales: mineralización, nitrificación, desnitrificación, anammox (oxidación anaerobia del ion amonio) y volatilización (Zhong et al., 2020). En la Fig. 1.2 se encuentra representado el proceso del ciclo del nitrógeno en el compostaje.

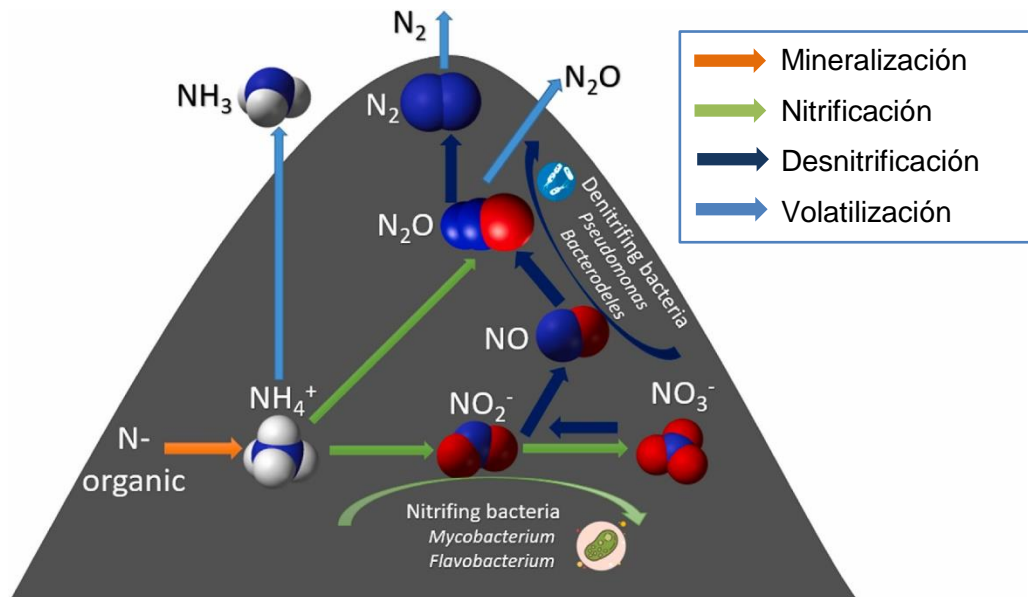


Figura 1.2. Transporte de nitrógeno durante el proceso de compostaje (modificado de Hoang et al., 2022).

Inicialmente, en el compost la principal especie es el nitrógeno orgánico (proteínas, aminoácidos, péptidos) (Hoang et al., 2022). Al principio del periodo de compostaje, el nitrógeno orgánico se descompone para liberar  $\text{NH}_4^+$  por la actividad de bacterias o arqueas (Wang y Zeng, 2018). Luego, en la fase mesófila, se produce la amonificación, liberándose  $\text{NH}_3$ . En la fase termófila ( $>55^\circ\text{C}$ ), se crea ligeramente una condición alcalina, y el  $\text{NH}_3$  se volatiliza en forma de gas (Hoang et al., 2021). Además, en esta fase, se produce una de las etapas más importantes del ciclo del nitrógeno que es la nitrificación. En el proceso bacteriano, la nitrificación consta de dos pasos: la oxidación del amoníaco y la oxidación de nitritos; y cada una de estas reacciones es llevada a cabo por un grupo microbiano diferente: las bacterias y arqueas oxidantes de amoníaco (AOB/AOA) y las bacterias oxidantes de nitritos (NOB) respectivamente (Kowalchuk y Stephen, 2001). Las AOB transforman el  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$  en

condiciones aeróbicas (Yang et al., 2019b; Tang et al., 2020) a través de la enzima amoníaco monooxigenasa (AMO). La enzima AMO está codificada por el gen *amoA*, que se encuentra comúnmente en ciertas bacterias y arqueas como *Brevundimonas*, *Pseudomonas* y *Thaumarchaeota* (Cáceres et al., 2018). Las NOB, son principalmente Nitrosomonas y Nitrobacter, que ayudan en el segundo paso de la nitrificación, oxidando el nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) en nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (Tang et al., 2020). Estos nitrificantes contienen la enzima catabólica nitrito oxidorreductasa (NXR), que existe sobre todo en las fases de enfriamiento y maduración (Maeda et al., 2011). Por otro lado, la desnitrificación, que es la conversión de  $\text{NO}_3^-$  en nitrógeno ( $\text{N}_2$ ) u óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) en condiciones anóxicas o anaeróbicas, se produce principalmente en las fases mesofílica y termofílica (Shi et al., 2020). Varios miembros de *Pseudomonas* y *Bacillus* contienen genes de nitrito reductasa (*nirK*, *nirS*, *nirZ*) y óxido nitroso reductasa (*nosZ*) que catalizan la desnitrificación (Yang et al., 2019b). El  $\text{N}_2$  formado puede ser posteriormente transformado en  $\text{NH}_3$  mediante la fijación de nitrógeno por bacterias fijadoras de nitrógeno (Zhong et al., 2020). Finalmente, la anammox es una reacción bioquímica en la que  $\text{NH}_4^+$  se combina con  $\text{NO}_2^-$ , liberando  $\text{N}_2$  mediante oxidación, siendo una de las vías de pérdida de nitrógeno durante el proceso de compostaje. Esta reacción la llevan a cabo bacterias anaerobias oxidantes de amonio tales como: *Candidatus Procadia*, *Candidatus Kuenenia* y *Candidatus Anammoxoglobus* (Hoang et al., 2022).

### 1.3.3. Factores que influyen en el compostaje.

Los parámetros operativos como la humedad, el contenido de oxígeno, la temperatura, la relación C/N y el pH desempeñan un papel esencial en el ciclo del nitrógeno y en el proceso de compostaje, y su ajuste es el método más sencillo para reducir la pérdida de nitrógeno en el compostaje (Hoang et al., 2022).

- a) Humedad: La humedad es el factor más importante en el proceso de compostaje. El contenido de humedad de la mezcla de compost afecta a la actividad microbiana y al oxígeno disponible (Tran et al., 2021). Los residuos orgánicos como lodos de depuradora, estiércol y restos de

verduras, que tienen un alto contenido de humedad (>70%) pueden reducir la porosidad de la mezcla de compost, limitando la transferencia de oxígeno y formando zonas anóxicas (Hoang et al., 2022). Asimismo, Shi et al. (2020) indicaron que la nitrificación y la desnitrificación podrían producirse al mismo tiempo bajo un alto contenido de humedad. De hecho, la nitrificación se acelera mediante la reducción de la humedad (Maeda et al., 2011). El contenido de humedad óptimo del proceso de compostaje es del 50%-60% (Tran et al., 2020).

b) Contenido en oxígeno: El oxígeno es necesario para la actividad microbiana aeróbica. Durante el proceso del compostaje, las bacterias, arqueas y hongos pueden consumir una gran cantidad de oxígeno para la descomposición orgánica (Tran et al., 2020). La mezcla inicial de compost suele contener oxígeno, lo que facilita las reacciones de metabolización de los compuestos biodegradables. AOB y nitrificantes suelen consumir la mayor cantidad de oxígeno (Hoang et al., 2022). En las capas superficiales de la pila de compost, que se encuentran en condiciones aeróbicas, es donde comienza la nitrificación (Tang et al., 2020). Las bajas tasas de difusión de oxígeno dificultan el proceso de compostaje aeróbico y forman regiones anóxicas dentro de la pila de compost. Por otro lado, los microbios desnitrificantes prefieren condiciones anóxicas, con baja concentración de oxígeno disuelto (OD) (<0,2 mg/L) (Hoang et al., 2022). La aglomeración, y la compactación de los materiales de compostaje puede llegar a bloquear la penetración de oxígeno (Shen et al., 2011). La concentración de oxígeno es un factor crucial que afecta a la emisión de N<sub>2</sub>O, por lo que se debe aplicar una tasa de aireación de 0,5 L min<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> para mitigar la emisión de N<sub>2</sub>O (Shen et al., 2011). Como conclusión, reducir el contenido de humedad para aumentar la porosidad de la mezcla de compost y, por tanto, el contenido de oxígeno es un enfoque eficaz para mitigar la pérdida de nitrógeno y mejorar la calidad del compost (Hoang et al., 2022).

c) pH: El pH es un indicador crítico durante el proceso de compostaje. Controlar la variación del pH puede ayudar a determinar qué proceso biológico y especies nitrogenadas son predominantes (Hoang et al.,

2022). En la fase mesófila, el pH del compost suele ser bajo, ya que la descomposición orgánica produce ácidos orgánicos de cadena corta, que luego inhiben la actividad de las especies AOB y, por lo tanto, la amonificación (Hoang., 2022). En la fase termófila, el pH a menudo aumenta significativamente hasta 7,5–8,5 debido a la volatilización de los ácidos orgánicos a causa de las altas temperaturas (Yang et al., 2019a). En esta fase se produce la amonificación y la nitrificación. En las fases de enfriamiento y maduración, el pH desciende ligeramente a 7-7,5 debido a la volatilización de  $\text{NH}_3$  la liberación de  $\text{H}^+$  durante la nitrificación y el agotamiento de la materia orgánica (Tran et al., 2018).

d) Temperatura: La variación de la temperatura afecta a la riqueza y diversidad de comunidades microbianas (Hoang et al., 2022). En la fase mesófila, la aceleración de la temperatura promueve la formación de  $\text{NH}_4^+$  a través de la amonificación (Wang y Zeng, 2018). A medida que el compostaje progresa en la fase termófila, la nitrificación es gradualmente inhibida por las altas temperaturas. Además, las altas temperatura promueve la liberación excesiva de  $\text{NH}_3$ , que luego inhibe la actividad microbiana (Tian et al., 2015). La temperatura también afecta a actividades microbianas desnitrificantes, porque puede restringir la actividad de las enzimas desnitrificantes y, por tanto, reducir la tasa de desnitrificación (Braker et al., 2010; Shi et al., 2020). Braker et al. (2010) descubrieron que el aumento de la temperatura mejoraba la diversidad de las comunidades microbianas desnitrificantes y la tasa de desnitrificación. Shi et al. (2020) indicaron que la temperatura óptima para los microbios desnitrificantes está entre 25 y 35 °C. Por lo tanto, controlar la temperatura es una opción para mitigar la pérdida de nitrógeno.

e) Relación C/N: La relación C/N determina en gran medida el metabolismo microbiano. Cuando la relación C/N es relativamente baja, la actividad microbiana mineraliza los compuestos nitrogenados orgánicos en nitrógeno inorgánico. La relación C/N se correlaciona positivamente con la formación de  $\text{NH}_4^+$  y la emisión de  $\text{NH}_3$  (Hoang et al., 2022). Por otro lado, una relación C/N elevada favorece la nitrificación, ya que se facilita a su vez el crecimiento de AOA (Zhang et al., 2019). Además, una alta

relación C/N es favorable para los organismos desnitrificadores del proceso de desnitrificación (Sheng et al., 2018). La desnitrificación y la emisión de  $N_2O$  aumentan al aumentar la relación C/N. Por lo tanto, el uso de agentes para ajustar la relación C/N es una buena estrategia para mitigar la pérdida de nitrógeno. La relación C/N de inicio óptima se estima en torno a 20, lo que facilita eficazmente la actividad microbiana y la descomposición orgánica (Tran et al., 2020).

- f) Tiempo de incubación: El tiempo de incubación del compostaje aeróbico es más corto que el del anaeróbico, ya que la biodegradación aeróbica suele ser más rápida que la anaeróbica (Tran et al., 2018). También, el tiempo de compostaje ocurre más rápido con material más fácilmente biodegradable (por ejemplo: residuos de alimentos, residuos verdes y estiércol). Además, la escala y las condiciones de operación (por ejemplo: el contenido de humedad, el flujo de aire y la relación C/N) afectan significativamente al tiempo de incubación durante el proceso de compostaje (Tran et al., 2020).

Las variaciones de estos parámetros a lo largo del proceso de compostaje se hallan representadas en la Fig. 1.3.

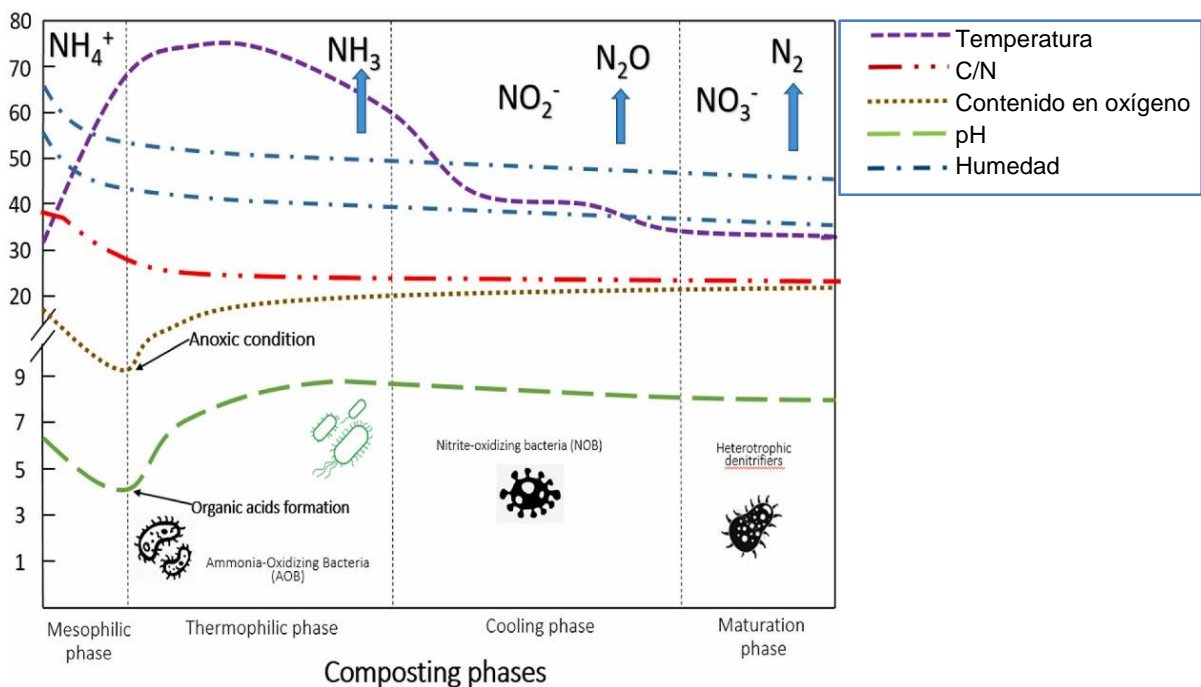


Figura 1.3. Etapas, evolución de las propiedades físico-químicas y formas de nitrógeno presentes durante el proceso de compostaje (modificado de Hoang et al., 2022).

#### 1.4. Métodos analíticos para determinar nitratos.

Los nitratos son un parámetro de interés en el compost. Por ello, a continuación, se describen diversos métodos su determinación en diferentes matrices:

- a) Espectroscopía ultravioleta de longitud de onda dual: Este método espectrofotométrico ultravioleta (UV) se basa en la medición de la absorbancia de extractos acuosos que poseen nitratos a dos longitudes de ondas distintas: 210 nm y 270 nm. Esto se realiza debido a que a 210 nm absorben radiación UV los nitratos, junto con otras sustancias disueltas que puedan estar presentes en los extractos y que también absorban radiación UV a esa longitud de onda, tal y como es el caso de la materia orgánica. Sin embargo, a 270 nm el nitrato no presenta absorbancia. Entonces, la absorbancia presente a 270 nm se debe exclusivamente todo aquello que se encuentra en el extracto y que no son nitratos. De manera que, en matrices que no son muy complejas, como es el caso de aguas subterráneas, la absorbancia debida a los nitratos se calcula restando a la absorbancia a 210 nm la de 270 nm multiplicada por un factor empírico R. (Norman et al., 1985)
- b) Ensayo de Griess: El ensayo de Griess se basa en la diazotización de una amina aromática adecuada mediante nitrito acidificado seguido de una reacción de acoplamiento. Se produce así, un cromóforo azoico coloreado, cuya concentración se determina espectroscópicamente, en el intervalo 500-600 nm, para evaluar la concentración de nitrito. La reacción de Griess se utiliza específicamente para la determinación de nitritos, pero el nitrato también puede determinarse por este método mediante reducción química o enzimática de nitrato a nitrito antes de la reacción de diazotización. Este método de determinación de nitrato es fácil, económico y factible (Singh et al., 2019) y se halla representado esquemáticamente en la Fig. 1.4.

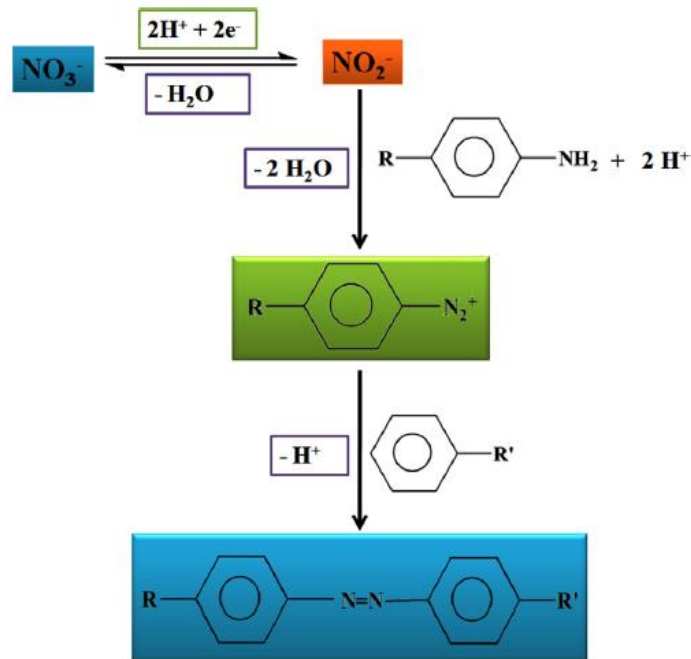


Figura 1.4. Representación esquemática del principio básico del ensayo de Griess (Singh et al., 2019).

- c) Cromatografía iónica: La cromatografía iónica es un método sensible y preciso que permite analizar aniones y cationes solubles en agua. Por lo general, los iones nitrato, nitrito y amonio se determinan mediante cromatografía iónica con detección conductimétrica. La separación de los iones de la disolución se produce a través de columnas de intercambio iónico donde quedan retenidos de forma reversible según sus diferentes propiedades de carga. Posteriormente, dichos iones son detectados por un detector de conductividad (Michalski y Kurzyca, 2006).
- d) Electrodo selectivo de iones nitrato: Es un electrodo que posee una membrana selectiva y sensible a iones nitratos. De esta manera, cuando se sumerge el electrodo en la disolución que contiene iones nitrato, en su membrana se desarrolla un potencial eléctrico debido a que el electrodo mide el coeficiente de actividad de dicho ion. La actividad de una especie en una solución se conoce como su concentración efectiva en esa solución (Dash et al., 2012).

De todos los métodos analíticos anteriormente propuestos, se escogió para ser reproducido en este trabajo la espectroscopía ultravioleta de longitud de onda dual. Las razones fueron que Norman et al., (1985) determinaba por este método

los nitratos en suelos, siendo esta matriz similar a la del compost por su contenido en materia orgánica. No obstante, los suelos presentan mucha más materia mineral que materia orgánica. Además, este método fue elegido también por su rapidez y sencillez.

## **2. OBJETIVOS.**

Los objetivos del actual Trabajo de Fin de Grado pueden dividirse en objetivos científicos y objetivos formativos.

Como objetivo científico general de este Trabajo Fin de Grado, se pretende desarrollar diferentes estrategias analíticas basadas en espectroscopía UV para la determinación de nitratos en compost de alperujo. Se abordarán los siguientes objetivos específicos:

- Optimizar las condiciones de extracción de las muestras de compost para garantizar la máxima precisión en la estimación de la concentración de nitratos mediante medidas de absorción UV.
- Diseñar y aplicar estrategias efectivas para evitar las interferencias causadas por la materia orgánica disuelta.
- Evaluar el potencial de la espectroscopía UV como metodología analítica directa para el análisis de nitratos en extractos de compost en diferentes fases de maduración.

Por otra parte, los objetivos formativos son:

- Adquirir destreza en la recopilación, evaluación e interpretación de datos, incluyendo el manejo de bases de datos y programas informáticos.
- Ser capaz de realizar una planificación y toma de decisiones siguiendo un razonamiento crítico y químico acerca de los problemas planteados.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS.

#### 3.1. Muestras.

Las muestras de compost utilizadas provienen de la cosecha de 2021 de la empresa INGNIA S.L., situada en Almedinilla (Córdoba). Esta empresa fabrica su compost a través de una mezcla inicial en la que la materia prima principal es alperujo fresco (68,25%) seguido de estiércol de cabra mezclado con paja (19,25%), hoja de olivo (8,83%) y gallinaza mezclada con serrín (3,36%).

El proceso de compostaje se efectuó mediante un sistema de pila estática con volteo regular cada quincena, en pilas de 4 metros de altura y 8 metros de diámetro, durante periodos de maduración variables.

En la tabla 3.1 aparecen las muestras que se utilizaron en este trabajo junto con su información más relevante.

Tabla 3.1. Descripción de las muestras utilizadas.

Código	Referencia	Tiempo de compostaje	N (%)	C (%)	Relación C/N
M1	L21-02 S1	3 semanas	1,46	45,98	31,49
M2	L21-02 N	21 semanas	1,90	36,44	19,21
M3	L21-02 S2	36 semanas	1,94	36,76	19,24

#### 3.2. Reactivos.

En la tabla 3.2. aparece la información más destacable acerca de los reactivos utilizados.

Tabla 3.2. Reactivos utilizados.

Reactivo	Proveedor	Fórmula	Masa molecular (g/mol)	Pureza (%)
Ácido amidosulfúrico (ó sulfámico) para análisis, ACS	PanReac AppliChem	H <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> S	97,0,7	99,5-100,3
Nitrato de potasio sin antipelmazante para análisis, ISO	PanReac AppliChem	KNO <sub>3</sub>	101,11	99
Sulfato de calcio, puro, anhidro	Thermo Scientific	CaSO <sub>4</sub>	136,14	99
Cloruro de potasio para análisis, ACS, ISO	PanReac AppliChem	KCl	74,56	99,5-100,5
Catalizador Níquel-Raney	Sigma-Aldrich	—	—	—
Ácido sulfúrico 96% para análisis, ISO; densidad = 1,84 g/ml	PanReac AppliChem	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	98,08	96
Metanol, para UHPLC Supergradiente, ACS	PanReac AppliChem	CH <sub>3</sub> OH	32,04	99,9

### 3.3. Instrumentación utilizada.

Se trabajó con una balanza analítica COBOS PRECISION, S.L. (Modelo: HTR-124CEN) de precisión 0,1 mg y con un espectrofotómetro UV-Vis de modelo GENESYS 50 (Fig. 3.1)



Figura 3.1. Espectrofotómetro UV-Vis GENESYS 50 (Thermofisher, 2023).

Los barridos espectrofotométricos fueron realizados en el rango de longitudes de onda de 200-800 nm, estableciendo un intervalo de 2 nm, una

velocidad media del instrumento y utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

### **3.4. Aparatos empleados.**

Se emplearon los siguientes aparatos en el laboratorio:

- Molinillo eléctrico de laboratorio BOMANN® KSW 445.
- Agitador orbital y de vaivén Rotabit, J.P. SELECTA ®.
- Centrífuga HETTICH Rotofix 32A.
- Baño de ultrasonidos ULTRASON S H-D, J.P. SELECTA ®.
- Estufa de laboratorio con agitador OVAN.

### **3.5. Materiales utilizados.**

- Cubeta de cuarzo de 1cm de paso óptico.
- Embudo cónico.
- Espátula de laboratorio.
- Filtros de papel.
- Frascos lavadores de laboratorio.
- Gradillas de laboratorio.
- Matraces aforados de 10, 100 y 500 ml.
- Micropipetas.
- Papel de filtro
- Papel indicador de pH.
- Pipetas Pasteur.
- Puntas de micropipetas.
- Tapones de matraces aforados.
- Tubos de centrífuga de 15 y 50 ml.
- Varillas de vidrio de laboratorio.
- Vaso de precipitado de plástico de 500 ml.
- Vasos de precipitado de vidrio de 250 ml.

### **3.6. Preparación y conservación de disoluciones.**

Solución de ácido sulfámico (2% p/v) – Se disuelven 2 g de cristales de ácido

sulfámico en 100 ml de agua Milli-Q.

Solución KCl 2M – Se disuelven 74,56 g de KCl en 500 ml de agua Milli-Q.

Solución de nitrógeno (en forma de  $\text{NO}_3^-$ ) de 1000 ppm – Se disuelven 0,7221 g de  $\text{KNO}_3$  en 100 ml de agua Milli-Q.

Solución de nitrógeno (en forma de  $\text{NO}_3^-$ ) de 100 ppm – Se toman 10 ml de la solución de nitrógeno de 1000 ppm y se llevan a un volumen final de 100 ml con agua Milli-Q. Equivale a 442,86 ppm de  $\text{NO}_3^-$ .

Solución de ácido sulfúrico 20% (v/v) – Se toman 20 ml de ácido sulfúrico concentrado y se diluyen con 80 ml de agua Milli-Q. Esta dilución se lleva a cabo en un matraz aforado de 100 ml de vidrio. Al realizar la disolución primero se añade una cantidad considerable de agua y después el ácido, enrasando finalmente con agua.

Para garantizar tener disoluciones homogéneas todas ellas se llevaron durante unos minutos al baño de ultrasonidos. Para conservarlas, las soluciones fueron almacenadas en frigorífico a 5°C.

### **3.7. Preparación de la recta de calibrado de nitratos.**

La recta de calibrado se preparó a partir de la disolución de nitrógeno ( $\text{N-NO}_3^-$ ) de 100 ppm. Se emplearon matraces aforados de 100 ml. Tal y como se indica en la Tabla 3.3 se cogieron diferentes volúmenes de la disolución patrón de 100 ppm para obtener un intervalo de concentraciones entre 0,03-25 ppm de nitrógeno.

Además, se añadió a todos los matraces 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado para que la recta de calibrado esté igual de acidificada que los extractos diluidos del apartado 3.9. Por último, se enrasó con agua Milli-Q.

En la Tabla 3.3 se halla la equivalencia de las concentraciones de nitrógeno en ppm a concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  en ppm.

Tabla 3.3. Preparación de patrones de  $\text{NO}_3^-$  para la recta de calibrado.

Matraces 100 ml	Concentración $\text{N-NO}_3^-$ (ppm)	Concentración $\text{NO}_3^-$ (ppm)	Volumen disolución patrón 100 ppm	Volumen final (ml)
Matraz 1	0,03	0,13	30 $\mu\text{L}$	100
Matraz 2	0,2	0,89	200 $\mu\text{L}$	100
Matraz 3	0,4	1,77	400 $\mu\text{L}$	100
Matraz 4	0,6	2,66	600 $\mu\text{L}$	100
Matraz 5	0,8	3,54	800 $\mu\text{L}$	100
Matraz 6	1	4,43	1 ml	100
Matraz 7	2	8,86	2 ml	100
Matraz 8	3	13,29	3 ml	100
Matraz 9	4	17,71	4 ml	100
Matraz 10	5	22,14	5 ml	100
Matraz 11	6	26,57	6 ml	100
Matraz 12	7	31,00	7 ml	100
Matraz 13	10	44,29	10 ml	100
Matraz 14	15	66,43	15 ml	100
Matraz 15	20	88,57	20 ml	100
Matraz 16	25	110,71	25 ml	100

### 3.8. Procedimiento de preparación de extractos de compost.

Se emplearon dos tipos de extractantes ( $\text{KCl}$  y  $\text{CaSO}_4$ ) para poder compararlos y, además, también se discutió sobre el empleo o no de ácido sulfámico en los extractos. Por ello, se siguió el siguiente procedimiento para la obtención de los distintos extractos:

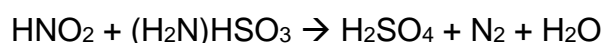
- 1) Cada muestra de compost se trituró, empleando un molinillo eléctrico de laboratorio, hasta obtener una muestra totalmente homogénea.
- 2) Posteriormente, se pesaron en balanza analítica, con precisión de 0,1 mg, 0,5 g de compost en tubos de centrifuga de 50 ml.
- 3) Seguidamente, se emplearon dos tipos de extractantes de nitratos diferentes:  $\text{CaSO}_4$  y  $\text{KCl}$ . A las muestras con  $\text{CaSO}_4$  como extractante se le añadieron 10 ml de agua Milli-Q y 0,1 g de  $\text{CaSO}_4$  y a las muestras con  $\text{KCl}$  como extractante se le añadieron 10 ml de agua Milli-Q y 10 ml de la disolución  $\text{KCl}$  2M.
- 4) A continuación, se introdujeron los extractos en el agitador orbital y de vaivén a 150 rpm durante 15 minutos.
- 5) Después se llevaron a la centrifuga a 3000 rpm durante 10 minutos.

- 6) Una vez centrifugados los extractos, se filtra el sobrenadante utilizando filtro de pliegues.
- 7) Luego, a la mitad de los extractos obtenidos de cada extractante se le añade 1 ml de ácido sulfámico (2% p/v). Los extractos resultantes se homogenizan en el agitador orbital y de vaivén a 150 rpm durante 15 minutos.
- 8) Finalmente, se diluyeron todos los extractos realizando una dilución 1:20. Para ello se diluyeron 100 µL del extracto original con 1900 µL de agua Milli-Q. Los extractos se midieron antes y después de la dilución en el espectrofotómetro UV-Vis en cubeta de cuarzo.

Se realizaron tres réplicas de cada uno de los extractos de las muestras. Los tipos de extractos preparados son:

- Extracto con KCl.
- Extracto con KCl y ácido sulfámico (2% p/v).
- Extracto con CaSO<sub>4</sub>.
- Extracto con CaSO<sub>4</sub> y ácido sulfámico (2% p/v).

Por tanto, se obtienen en total 12 extractos para cada muestra. La reacción con el ácido sulfámico ((H<sub>2</sub>N)HSO<sub>3</sub>), el cual elimina nitritos (Granger y Sigman, 2009) es:



Se preparó en todos los casos un blanco, el cual se midió igualmente el espectrofotómetro, para obtener espectros netos.

### **3.9. Procedimiento para la determinación del factor empírico R.**

Este procedimiento se basa en el descrito por Norman et al., (1985) y consta de los siguientes pasos:

- 1) Se pesan 0,5 gramos de cada muestra de compost en balanza analítica con precisión de 0,1 mg en tubos de centrifuga de 50 ml.
- 2) Se añaden 2 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20% (v/v), 8 ml de agua Milli-Q y 10 ml de KCl

2M.

- 3) Los extractos se llevaron al agitador orbital y de vaivén durante 15 minutos a 150 rpm.
- 4) Después se llevaron a la centrífuga a 3000 rpm durante 10 minutos.
- 5) Una vez centrifugados los tubos, se filtra el sobrenadante, utilizando filtro de pliegues, a nuevos tubos de centrífuga. Estos extractos originales sin diluir se guardaron, siendo éstos los utilizados en el apartado 3.10. Se almacenaron en el frigorífico a 5 °C.
- 6) A continuación, se realizó una dilución a los extractos de 1:20. Para ello se llevaron 0,5 ml del extracto a matraces aforados de 10 ml, los cuales se enrasaron con agua Milli-Q. Seguidamente, estos 10 ml se vertieron en vasos de precipitado, donde se les añadió 0,06 g de catalizador Níquel-Raney. Se asegura que la solución presenta medio ácido comprobándolo con papel indicador de pH. La solución con catalizador se dejó durante aproximadamente 30 minutos en una estufa de laboratorio a 60 °C. Transcurrido este tiempo, el extracto resultante se deja enfriar y se filtra con un filtro de pliegues.
- 7) Finalmente, los extractos obtenidos se midieron en el espectrofotómetro UV-Vis en cubeta de cuarzo.

En total, se realizaron tres réplicas de cada uno de los extractos de las muestras. Se siguió, además, el mismo procedimiento para la preparación de los blancos, los cuales se midieron igualmente el espectrofotómetro, para obtener espectros netos.

### **3.10. Procedimiento de eliminación de materia orgánica mediante resinas adsorbentes.**

Las resinas adsorbentes escogidas fueron Amberlite XAD-4 y Amberlite XAD-16. La estructura de estas resinas aparece en la Fig. 3.2. y sus propiedades aparecen descritas en la Tabla 3.4.

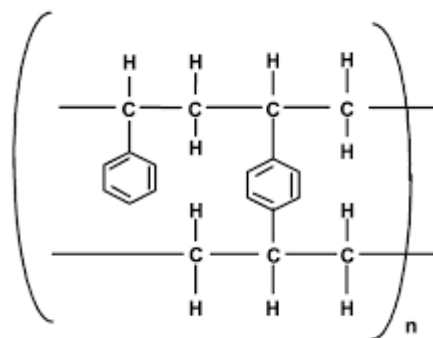


Figura 3.2. Estructura de las resinas Amberlite XAD (Sigma Aldrich, 2023).

Tabla 3.4. Propiedades Amberlite XAD-4 (Sigma Aldrich, 2023).

Resina	Matriz	Tamaño de partícula	Tamaño de poro	Superficie	Densidad
<b>Amberlite XAD-4</b>	Estireno-divinilbenceno	0,25 mm – 0,841 mm	40 Å	725 m <sup>2</sup> /g	1,08 g/ml (seco) 1,02 g/ml (húmedo)
<b>Amberlite XAD-16</b>	Estireno-divinilbenceno	0,25 mm – 0,841 mm	100 Å	900 m <sup>2</sup> /g	1,08 g/ml (seco) 1,02 g/ml (húmedo)

Las resinas previamente se purificaron. Para ello, se introdujeron en un vaso de precipitado donde se las cubrió por completo (en torno a 2,5 cm por encima de la resina) con metanol. Se mezcla bien y se deja reposar por unos 5-10 minutos. Después, se decanta el metanol y se añade agua destilada (también en torno a 2,5 cm por encima de la resina), dejando reposar entre 5-10 minutos. Finalmente, se decanta el agua, quedando las resinas purificadas (Abburi, 2003).

Se siguió el siguiente procedimiento con ambas resinas, en el cual se realizó un estudio de recuperación:

- 1) Se prepara de cada muestra dos tipos de extractos diferentes: extracto sin fortificar y extracto fortificado (4 ppm de  $\text{NO}_3^-$ ). De cada uno de los extractos se realizan tres réplicas. El extracto sin fortificar se prepara añadiendo en un matraz aforado de 10 ml, 0,5 ml del extracto original del apartado 3.9, y enrasando con agua Milli-Q hasta el enrase. El extracto fortificado se prepara igual que el anterior solo que se le añade antes de enrasar, además, 90  $\mu\text{L}$  de la disolución de 100 ppm de  $\text{N-NO}_3^-$ . De esta

manera, el extracto fortificado presenta una adición de 4 ppm de  $\text{NO}_3^-$  con respecto al extracto original. La dilución realizada al extracto original en ambos casos es de 1:20.

- 2) Todos estos extractos preparados se llevan a tubos de centrífuga y se les añade aproximadamente 0,1 gramos de resina. Se dejan agitar durante 45 minutos en el agitador orbital y de vaivén a 150 rpm para conseguir que en las resinas quede adsorbida toda la materia orgánica.
- 3) Se dejan reposar los extractos con las resinas 24 horas. Transcurrido este tiempo, todos los extractos se filtran para eliminarles las resinas y se mide en el espectrofotómetro. Las resinas que previamente se habían separado de los extractos se vuelven a adicionar, de manera que se vuelve a realizar exactamente lo mismo a las 72 horas y a las 144 horas de estar las resinas en contacto con los extractos.
- 4) Con la recta de calibrado de nitratos hallamos la concentración de  $\text{NO}_3^-$  presente en cada uno de los extractos.
- 5) Por último, se halla el porcentaje de recuperación (%R):

$$\%R = \frac{(C_f - C_0)}{C_a} \times 100$$

- $C_0$  = concentración del extracto original (en ppm).
- $C_f$  = concentración del extracto fortificado (en ppm).
- $C_a$  = concentración añadida = 4 ppm  $\text{NO}_3^-$ .

Se preparó, además, un extracto sin resinas siguiendo el mismo procedimiento. Se realizan tres réplicas de este extracto.

Se realizó en todos los casos un blanco, el cual se midió igualmente el espectrofotómetro, para obtener espectros netos.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

##### ➤ Recta de calibrado de nitratos.

Se realizaron dos rectas de calibrado porque se midió siempre la absorbancia de los extractos a dos longitudes de onda distintas: 210 y 220 nm. Se emplearon estas dos longitudes de onda debido a que en algunos artículos medían a 210 nm (Norman et al., 1985) y en otros a 220 nm (Finch et al., 1998) para calcular la concentración de nitratos presente en los extractos. Entonces, se decidió calcular la concentración de nitratos en las muestras de compost tanto a 210 nm como a 220 nm, y ver las posibles diferencias que podría haber entre los resultados obtenidos por ambas. Las rectas de calibrado de nitratos a 210 y 220 nm aparecen en la Fig. 4.1.

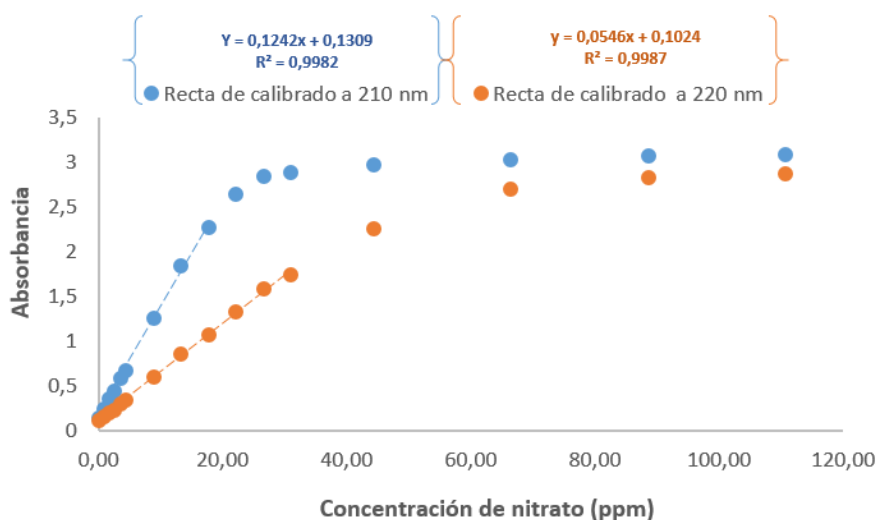


Figura 4.1. Rectas de calibrado de nitratos a 210 nm (azul) y a 220 nm (naranja). El intervalo lineal de ambas rectas aparece entre guiones.

En las dos rectas de calibrado representadas en la Fig. 4.1 se observa cuando se empieza a curvar la gráfica, perdiéndose la ley de Lambert-Beer. Se seleccionó el intervalo lineal entre la absorbancia y la concentración, que es el que aparece entre guiones, calculándose la ecuación de la recta y la  $R^2$ . Se determina, entonces, que el rango lineal a 210 nm no debe de extenderse por encima de los 18 ppm de  $\text{NO}_3^-$ , mientras que a 220 nm el rango lineal es más amplio, finalizando en 31 ppm de  $\text{NO}_3^-$ . Entonces, en el caso de que no se desee diluir demasiado una muestra, lo más adecuado sería medir a 220 nm, puesto que el intervalo lineal es más amplio.

### ➤ Optimización de la extracción de nitratos.

Para la optimización de la extracción de nitratos se comparó los resultados obtenidos por dos tipos de extractantes diferentes (KCl y CaSO<sub>4</sub>) y se discutió sobre el empleo o no de ácido sulfámico con el objetivo de eliminar nitritos como un posible interferente que pudiera estar presente en el compost.

En la extracción de nitratos empleando como extractante una disolución saturada de CaSO<sub>4</sub> se obtuvo una baja reproducibilidad entre las réplicas de todos los extractos de las muestras (Tabla 4.1). Además, las absorbancias entre los diferentes extractantes eran muy diferentes tanto a 210 como a 220 nm, siendo mayores las de los extractos que poseían CaSO<sub>4</sub> como extractante. Esto puede ser debido a que el CaSO<sub>4</sub> es poco soluble en agua y que, pese a todos los esfuerzos realizados para que se encuentre disuelto, esto no es posible del todo. Por estos motivos, se descartó como extractante de nitratos el CaSO<sub>4</sub>.

La baja reproducibilidad entre las réplicas de los extractos con CaSO<sub>4</sub> en comparación con los extractos con KCl aparece reflejada en la Tabla 4.1, donde solo se muestra esta comparativa en el caso de los extractos de una muestra (M3) a 210 nm, ya que en todos los extractos de las demás muestras sucede lo mismo.

Tabla 4.1. Comparación de las absorbancias netas (A) de los extractos de M3 a 210 nm con el empleo de CaSO<sub>4</sub> y KCl como extractantes de nitratos.

Extractante	Réplica 1 (A)	Réplica 2 (A)	Réplica 3 (A)	Media réplicas ( $\bar{X}$ )	Desviación estándar (SD)	Intervalo ( $(\bar{X} + 2SD) -$ $(\bar{X} - 2SD)$ )
KCl	1,06	1,08	1,10	1,08	0,02	(1,04 - 1,12)
CaSO <sub>4</sub>	1,83	1,62	2,06	1,84	0,18	(1,48 - 2,20)

Como se puede observar, los datos entre las tres réplicas con CaSO<sub>4</sub> son demasiado dispares. Además, la absorbancia con CaSO<sub>4</sub> es considerablemente mayor a la obtenida con KCl 2M.

Tanto el CaSO<sub>4</sub> como el KCl aparecían en el artículo descrito por Norman et al., (1985) como posibles extractantes de nitratos para suelos. De hecho, el método descrito se desarrollaba con CaSO<sub>4</sub> como extractante porque era más

eficaz que el KCl en suelos. Este hecho ya fue demostrado por Li y Smith (1984), que evidenciaron que una disolución saturada de  $\text{CaSO}_4$  era más efectiva para extraer nitratos procedentes de suelos que una solución de KCl 1M y, que la extracción de nitratos era incluso ligeramente más eficaz en suelos húmedos que en suelos secos. Esto justifica que en compost no funciona el mismo extractante de nitratos que en suelos, aun teniendo las mismas condiciones, ya que también se emplea una disolución saturada de  $\text{CaSO}_4$  y una disolución de KCl 1M.

Una vez descartado el  $\text{CaSO}_4$  como extractante, se procedió a discutir acerca de la necesidad o no de emplear ácido sulfámico para la eliminación de nitritos, tomándose como ejemplo los espectros de los extractos de M3 con y sin ácido sulfámico (Fig. 4.2).

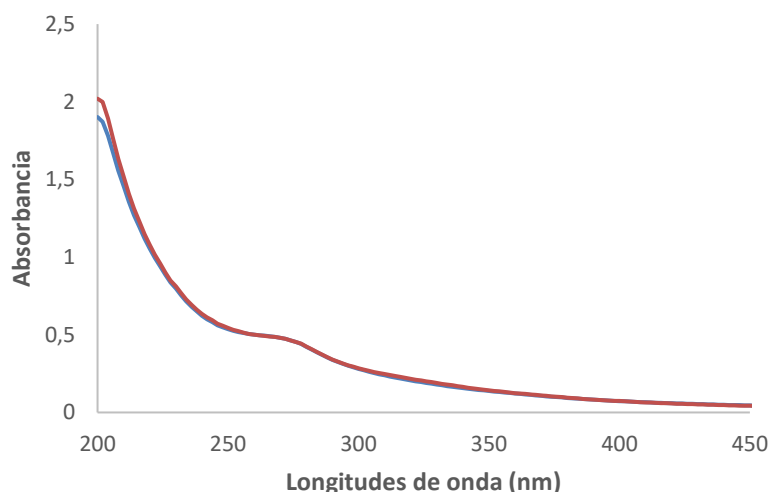


Figura 4.2. Espectros de los extractos de M3 con KCl con ácido sulfámico (azul) y sin ácido sulfámico (rojo).

Como se observa, en la Fig. 4.2 hay una ligerísima disminución de absorbancia en la zona comprendida entre 200-230 nm entre el espectro correspondiente al extracto con y sin ácido sulfámico. Esto puede indicar que sí hay nitritos en la muestra y que el ácido sulfámico los ha eliminado puesto que la absorbancia decrece un poco. Sin embargo, para ver si esto es realmente así, se realiza la media y la desviación estándar entre las absorbancias netas de los extractos de las tres muestras, tanto a 210 como a 220 nm, para comprobar si estas diferencias que aparecen reflejadas en el espectro son significativas o no (Tablas 4.2. y 4.3.).

Tabla 4.2. Media de las absorbancias netas (A) y desviación estándar de las réplicas (R) de todos los extractos de las muestras con KCl a 210 nm con y sin el empleo de ácido sulfámico.

Muestras	R1 (A)	R2 (A)	R3 (A)	Media réplicas ( $\bar{X}$ )	Desviación estándar entre réplicas (SD)	Intervalo ( $(\bar{X} + 2SD) - (\bar{X} - 2SD)$ )
M1, con ácido sulfámico	1,00	1,15	1,01	1,05	0,07	(0,91-1,19)
M1, sin ácido sulfámico	1,14	1,21	1,26	1,20	0,05	(1,10-1,30)
M2, con ácido sulfámico	1,44	1,61	1,56	1,54	0,07	(1,40-1,68)
M2, sin ácido sulfámico	1,67	1,76	1,63	1,69	0,05	(1,59-1,79)
M3, con ácido sulfámico	1,46	1,40	1,50	1,45	0,04	(1,37-1,53)
M3, sin ácido sulfámico	1,50	1,51	1,54	1,52	0,02	(1,48-1,56)

El empleo de ácido sulfámico para eliminar nitritos no ofrece diferencias significativas en los resultados al no haber variabilidad estadística de los datos, por lo que se puede prescindir de la utilización de ácido sulfámico.

Tabla 4.3. Media de las absorbancias netas (A) y desviación estándar de las réplicas (R) de todos los extractos de las muestras con KCl a 220 nm con y sin el empleo de ácido sulfámico.

Muestras	R1 (A)	R2 (A)	R3 (A)	Media réplicas ( $\bar{X}$ )	Desviación estándar entre réplicas (SD)	Intervalo ( $(\bar{X} + 2SD) - (\bar{X} - 2SD)$ )
M1, con ácido sulfámico	0,74	0,82	0,74	0,77	0,04	(0,69-0,85)
M1, sin ácido sulfámico	0,80	0,83	0,84	0,82	0,02	(0,78-0,86)
M2, con ácido sulfámico	1,08	1,22	1,17	1,16	0,05	(1,06-1,26)
M2, sin ácido sulfámico	1,24	1,29	1,19	1,24	0,04	(1,16-1,32)
M3, con ácido sulfámico	1,05	1,02	1,10	1,06	0,03	(1,00-1,12)
M3, sin ácido sulfámico	1,06	1,08	1,10	1,08	0,02	(1,04-1,12)

El empleo de ácido sulfámico para eliminar nitritos no ofrece diferencias significativas en los resultados al no haber variabilidad estadística de los datos, por lo que se puede prescindir de la utilización de ácido sulfámico.

Los datos obtenidos avalan que no es necesario el empleo de ácido sulfámico. Esto se corresponde con estudios previos realizados el grupo de

investigación por cromatografía iónica sobre estas mismas muestras, que establecieron que éstas no presentaban nitritos (datos aún no publicados).

➤ **Comparación entre los espectros de los patrones de nitratos y los extractos de las muestras**

En la Fig. 4.3. aparecen representados los espectros de los patrones de nitratos en el rango lineal de las rectas de calibrado (0,13-31,00 ppm de  $\text{NO}_3^-$ ) y, en la Fig. 4.4. aparecen los espectros de los extractos de las tres muestras.

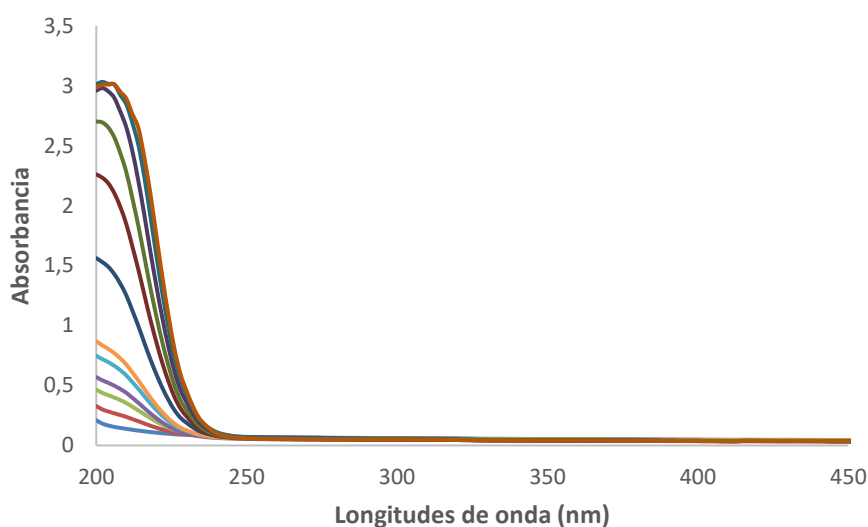


Figura 4.3. Espectros de los patrones de  $\text{NO}_3^-$  del rango de 0,13-31 ppm.

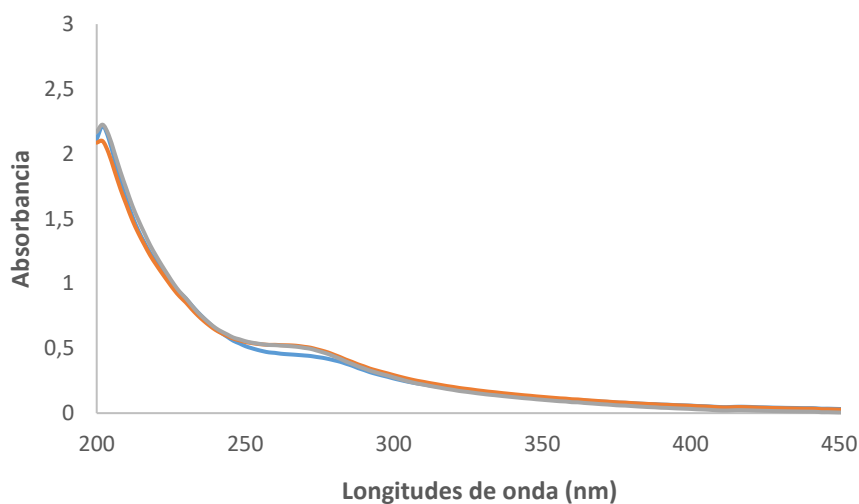


Figura 4.4. Espectros de los extractos con KCl de las muestras: M1 (azul), M2 (naranja) y M3 (gris).

Se observan diferencias apreciables entre los espectros de la Fig. 4.3 y la Fig. 4.4. Esto indica que no podemos emplear las absorbancias obtenidas de los

extractos de las muestras a 210 y a 220 nm en sus correspondientes rectas de calibrado, puesto que no solo tenemos nitratos. Estas diferencias entre los espectros de la Fig. 4.3 y la Fig. 4.4 se deben a toda la materia orgánica que poseen los extractos las muestras de compost. La diferencia más notable se aprecia en el rango de 250-300 nm, donde se observa un hombro en los espectros de los extractos de las muestras que no existe en el espectro de los patrones de nitratos. Este hombro se debe a que las muestras de compost deben presentar ácidos fúlvicos y sustancias húmicas, las cuales absorben radiación ultravioleta en ese mismo intervalo de longitudes de onda, presentando el mismo hombro y siendo mucho más prominente en el caso del espectro de los ácidos fúlvicos (Domeizel et al., 2004). Además de que si hubiera solo nitratos la absorbancia en el espectro empezaría a aparecer a unos 240 nm, ya que a mayores longitudes de onda los nitratos no presentan absorbancia en el ultravioleta.

Debido a las interferencias producidas por la materia orgánica se plantearon diferentes estrategias para intentar corregirlas y, así, acercarse lo máximo posible a la absorbancia producida exclusivamente por nitratos en los extractos de las muestras. Estas estrategias son la determinación y utilización del factor empírico R según describe Norman et al., (1985) y el empleo de resinas adsorbentes para retener materia orgánica.

#### ➤ **Estrategia para la determinación del factor empírico R.**

R es un múltiplo que se determina empíricamente y que representa la relación de absorbancia que presentan todas aquellas especies que interfieren con los nitratos a 210/220 nm con respecto a 270 nm (Norman et al., 1985). Este factor empírico se calcula siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 3.9, donde los extractos que presentan medio ácido se ponen en contacto con un catalizador denominado Níquel-Raney. Este es un catalizador sólido compuesto por granos muy finos de una aleación Níquel-Aluminio, el cual es capaz de reducir nitratos a ion amonio en medio ácido (Wang et al., 2021). De manera que, al haber eliminado los nitratos de los extractos únicamente nos queda todo aquello que interfiere en la determinación de nitratos, es decir, la materia orgánica. Por tanto, al medir tanto a 210/220 nm como a 270 nm éstas absorbancias obtenidas se deben única y exclusivamente a la materia orgánica.

El factor empírico R se calcula como:

$$R = \frac{\text{Absorbancia neta del extracto}_{(210/220) \text{ nm}}}{\text{Absorbancia neta del extracto}_{270 \text{ nm}}}$$

Entonces, para obtener únicamente la absorbancia (Abs) que presentan los nitratos en las muestras de compost se emplea la siguiente expresión:

$(\text{Abs de NO}_3^-)_{210/220 \text{ nm}} = \text{Abs}_{\text{neta } 210/220 \text{ nm}} - R \cdot \text{Abs}_{\text{neta } 270 \text{ nm}}$  ; Siendo:

- R el valor correspondiente dependiendo del extracto de la muestra, ya sea a 210 o a 220 nm.
- $\text{Abs}_{\text{neta } 210/220 \text{ nm}}$  la absorbancia de los extractos de las muestras sin haber empleado catalizador Níquel-Raney, es decir, la absorbancia que se corresponde con los nitratos más la materia orgánica.
- $\text{Abs}_{\text{neta } 270 \text{ nm}}$  la absorbancia que presentan los extractos sin catalizador a 270 nm, la cual es debida solo a la materia orgánica puesto que los nitratos no presentan absorbancia en el ultravioleta a esa longitud de onda.

Se comprobó en primer lugar si el catalizador Níquel-Raney es verdaderamente eficaz eliminando nitratos, preparándose para ello patrones acidificados de nitratos a diferentes concentraciones: 25, 50 y 100 ppm de  $\text{NO}_3^-$ . A estos patrones se les registró el espectro antes y después de añadir 0,06 g de catalizador Níquel-Raney. De manera que, si el catalizador funciona, la absorbancia de los patrones con catalizador será menor que la de los patrones solos, puesto que se habrán eliminado los nitratos al haber empleado el catalizador Níquel-Raney. En la Fig. 4.5 se muestran los espectros de los patrones de nitratos con y sin catalizador Níquel-Raney.

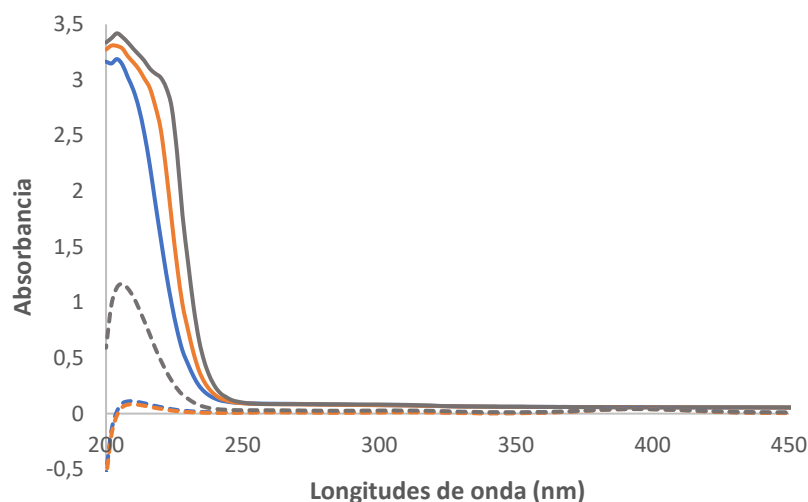


Figura 4.5. Espectros de patrones de nitrato sin catalizador (líneas completas) y con catalizador Níquel-Raney (líneas punteadas). Aparecen del mismo color aquellos espectros que se corresponden con el mismo patrón de  $\text{NO}_3^-$ , siendo: 25 ppm (azul), 50 ppm (naranja) y 100 ppm (gris).

Se observa como el catalizador Níquel-Raney funciona, puesto que elimina nitratos correctamente, ya que la absorbancia de los patrones con catalizador tiende a cero. Esto es debido a que solo los nitratos absorben en el ultravioleta y, al eliminarlos y restar el blanco, la absorbancia resultante tendría que ser nula. Sin embargo, se observa en la Fig. 4.5 en el patrón de 100 ppm no se han eliminado todos los nitratos. Esto podría ser porque los tres patrones se han tratado con la misma cantidad de catalizador y se han expuesto al mismo tiempo (30 minutos) en la estufa para que se eliminaran los nitratos. Entonces, se deduce que a concentraciones altas de nitratos (por encima de 50 ppm) haría falta aumentar la cantidad de catalizador que se suministra y el tiempo de exposición del patrón de  $\text{NO}_3^-$  en la estufa, para asegurarse de que todos los nitratos se eliminan completamente.

Una vez comprobada la eficacia del catalizador Níquel-Raney, se realizó la determinación del factor empírico R de los extractos de las muestras siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 3.9, obteniendo los siguientes resultados representados en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5. Valores de R obtenidos a 210 y a 220 nm.

Muestras	R <sub>210 nm</sub>	R <sub>220 nm</sub>
<b>M1</b>	6,04	3,15
<b>M2</b>	4,32	2,59
<b>M3</b>	4,37	2,57

Si se emplea la expresión anteriormente descrita para el cálculo de Abs de  $\text{NO}_3^-$  y se sustituyen todos los datos, las absorbancias de  $\text{NO}_3^-$  resultantes de cada uno de los extractos de las muestras presentan valor negativo. Esto indica que el uso del catalizador provoca una disminución en la absorbancia a 270 nm, dando lugar a valores de R elevados. Sin embargo, teniendo en cuenta que los nitratos no absorben radiación a dicha longitud de onda, la absorbancia no debería de verse afectada en lo absoluto por el empleo del catalizador. Entonces, para observar el efecto que produce sobre los extractos el catalizador Níquel-Raney se representan los diferentes espectros de los extractos de las tres muestras con catalizador, sin catalizador y el espectro diferencia por la aplicación del catalizador (espectro sin catalizador-espectro con catalizador) en la Fig. 4.6.

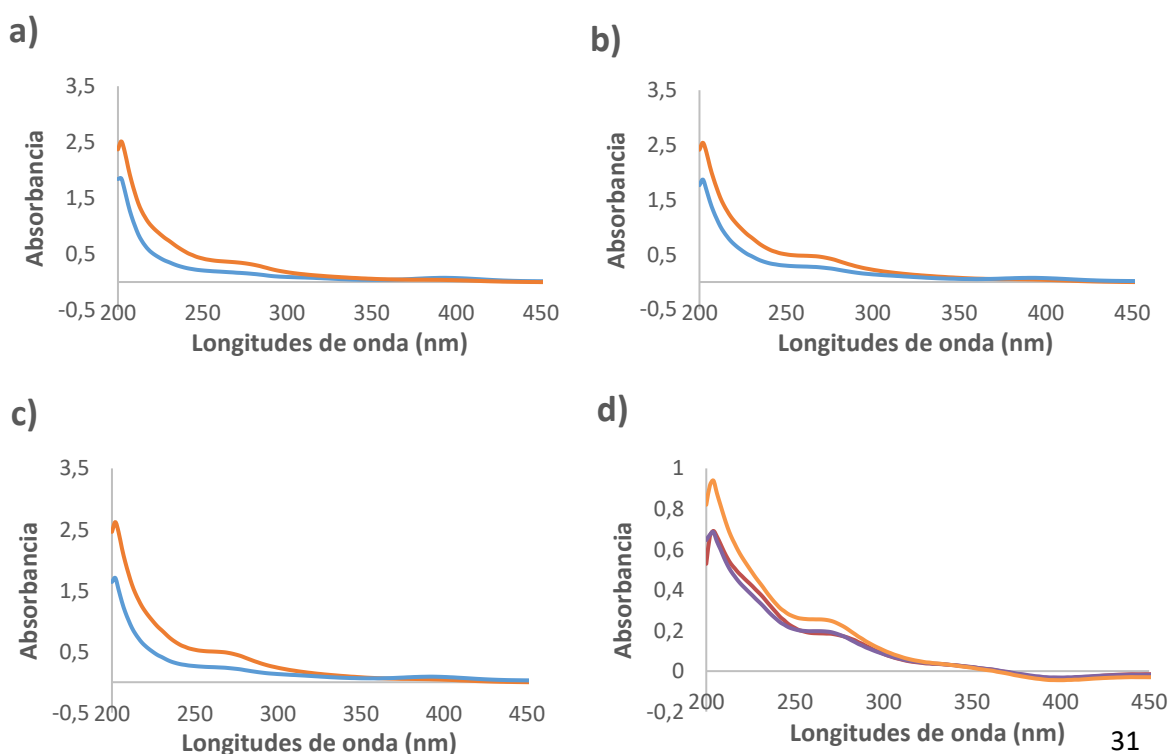


Figura 4.6. Espectros de los extractos de las muestras con y sin catalizador Níquel-Raney (a, b y c) y espectros diferencia (d). Siendo a) los espectros de los extractos de M1, b) de M2 y c) de M3. En a), b) y c) el espectro naranja se corresponde con el espectro del extracto de la muestra sin catalizador y el espectro azul se corresponde con el espectro con catalizador. En los espectros diferencia (d), el espectro rojo se corresponde con el espectro diferencia de M1, el morado con M2 y el naranja con M3.

Como se observa en la Fig. 4.6 los espectros diferencia no se corresponden solo a nitratos, puesto que no se parece a los espectros de la Fig. 4.3. Si únicamente el catalizador hubiera eliminado nitratos el espectro diferencia empezaría a presentar absorbancia a partir de los 240 nm y ésta iría aumentando progresivamente. Sin embargo, todos los espectros diferencia de la Fig. 4.6 presentan absorbancia a partir de 350 nm y, además, se aprecia claramente que en la zona de 250-300 nm se encuentra el hombro que se mencionó anteriormente debido a la presencia de ácidos fúlvicos y sustancias húmicas. Con estos resultados se demuestra que el catalizador Níquel-Raney, además de eliminar nitratos, también provoca la eliminación de otras formas moleculares, tales como ácidos fúlvicos y sustancias húmicas presentes en el compost. Esto puede deberse a que el catalizador Níquel-Raney era usado en el método descrito por Norman et al., (1985) para la determinación de nitratos en suelos y no en compost, presentando el compost más materia orgánica que un suelo y siendo esta materia orgánica, además, más fresca, dependiendo del estado de maduración del compost.

A pesar de ello, se mantiene la relación que hay entre las R de las muestras, es decir,  $R_{M1} > R_{M2} \approx R_{M3}$ . Esto es así porque el catalizador afecta a la absorbancia a 270 nm de manera proporcional en todos los extractos de las muestras. Esto se puede relacionar con la relación C/N que presenta cada muestra ( $C/N_{M1} > C/N_{M2} \approx C/N_{M3}$ ), la cual aparece en la Tabla 3.1. Se aprecia como posee una mayor R la muestra M1, la cual presenta también una relación C/N más alta. En cambio, las muestras M2 y M3 que poseen una relación C/N muy parecida también presentan valores de R muy similares. Esto se correlaciona igualmente con el tiempo de compostaje que presenta cada una de las muestras. M1 presenta 3 semanas de compostaje y es la que mayor relación C/N presenta. Esto es debido a que M1 debe de encontrarse en la fase mesófila del compostaje y, en cambio, M2 y M3 que están más avanzadas en el proceso de compostaje

(de 21 y 36 semanas de compostaje, respectivamente) deben de encontrarse en la fase termófila, donde se produce el proceso de nitrificación, aumentando de esta forma el porcentaje de nitrógeno que presenta el compost. En la Tabla 4.6 aparecen reflejados cada uno de los parámetros mencionados anteriormente.

Tabla 4.6. Parámetros de interés de cada muestra de compost.

Código	Tiempo de compostaje	Relación C/N	R <sub>210 nm</sub>	R <sub>220 nm</sub>
M1	3 semanas	31,49	6,04	3,15
M2	21 semanas	19,21	4,32	2,59
M3	36 semanas	19,24	4,37	2,57

Por lo explicado con anterioridad, se podría deducir que el factor empírico R calculado en el compost a partir de método descrito por Norman et al., (1985) aunque no proporciona un valor exacto de R para poder ser utilizado podría usarse como un parámetro indicativo para hacer una estimación relativa acerca de la evolución de la relación C/N durante el proceso de compostaje. También se relaciona R con la materia orgánica presente en el compost, ya que a mayor relación C/N, mayor cantidad de materia orgánica presenta también el compost y, por tanto, su factor empírico R será más alto.

➤ **Estrategia de eliminación de materia orgánica mediante el empleo de resinas adsorbentes.**

Como los extractos presentan gran cantidad de materia orgánica se utilizaron resinas adsorbentes para comprobar si éstas conseguían adsorber la materia orgánica presente en los extractos y, de este modo, eliminar interferentes para la determinación de nitratos. Las resinas escogidas fueron Amberlite XAD-4 y Amberlite XAD-16. Se tratan de resinas no polares que se utilizan generalmente para la adsorción de sustancias orgánicas de sistemas acuosos y disolventes polares. Ambas son adsorbentes poliméricos en forma de perlas blancas insolubles y una excelente opción para la adsorción de sustancias orgánicas. En el caso de la Amberlite XAD-4 de sustancias orgánicas de peso molecular relativamente bajo y, en el caso de la Amberlite XAD-16 de sustancias orgánicas de bajo a medio peso molecular (Sigma Aldrich, 2023).

Los extractos estuvieron en contacto con las resinas en diferentes lapsos de tiempo: 24, 72 y 144 horas. Sin embargo, a las 144 horas de estar las resinas en

contacto con los extractos y con los blancos resultó que los blancos, tanto con Amberlite XAD-4 como con Amberlite XAD-16, aumentaron su absorbancia. En cambio, los blancos con resinas que se midieron a las 24 y a las 72 horas no variaron en lo absoluto su absorbancia. Esto es señal de que después de dejar pasar, por lo menos, más de 72 horas estando en contacto las resinas con los extractos estas resinas poliméricas de estireno-divinilbenceno liberan sustancias de su composición que hacen que aumente la absorbancia en los blancos y, por tanto, también en todos los extractos con estas resinas. A causa de esta problemática, se seleccionó para comparar entre ellos los extractos con ambas resinas a las 24 y a las 72 horas de estar expuestas a ellas. Los resultados obtenidos se hallan en la Fig. 4.7.

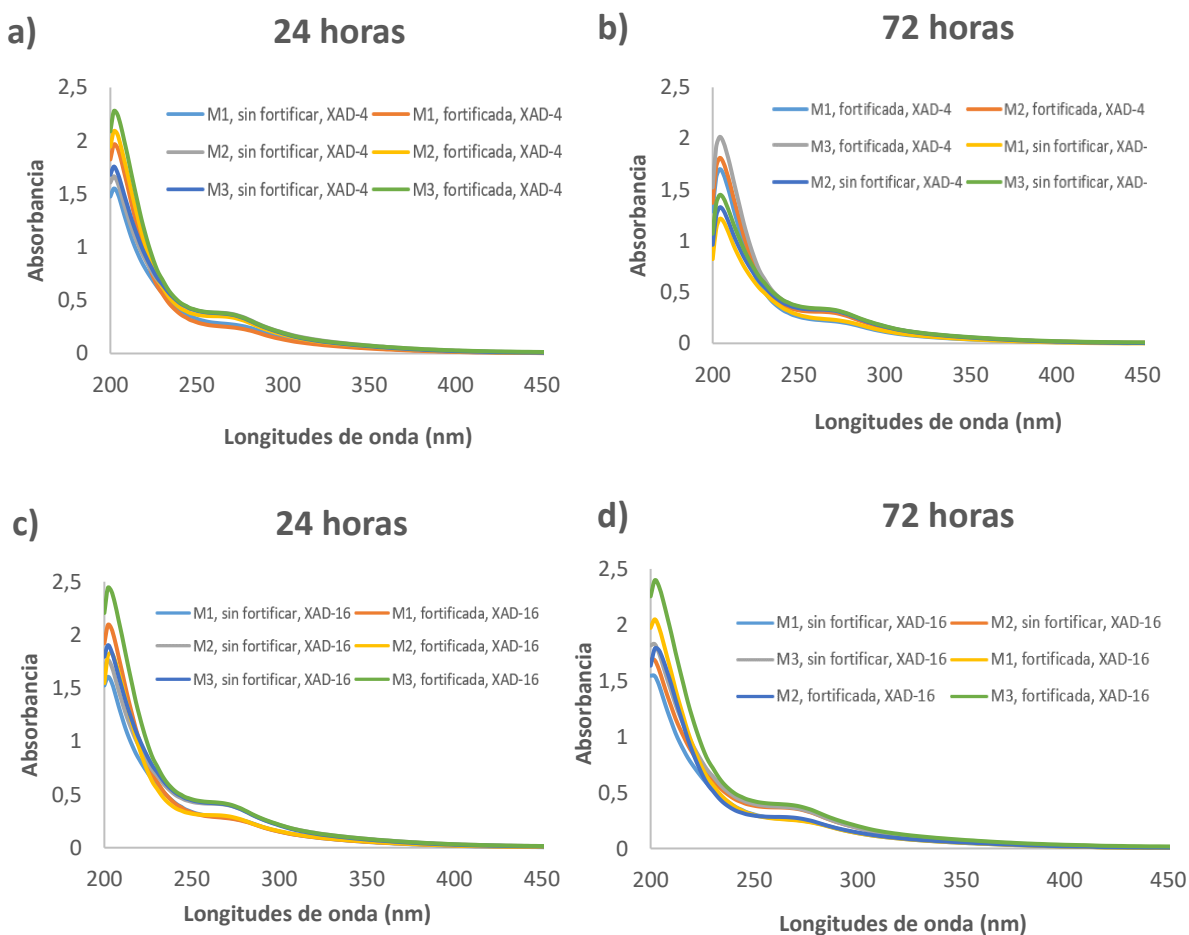


Figura 4.7. Espectros de los extractos fortificados y sin fortificar de todas las muestras (M1, M2 y M3) transcurridas 24 horas y 72 horas con Amberlite XAD-4 (a y b) y XAD-16 (c y d).

Comparando los espectros de los extractos sin fortificar de todas las muestras con ambas resinas (Fig. 4.7) con la Fig. 4.4, correspondiente al espectro de los extractos de las muestras originales sin haber añadido ninguna

resina, se observa como las resinas han adsorbido parte de la materia orgánica de los extractos, aunque no toda, ya que los espectros siguen sin ser semejantes a los espectros propios debidos exclusivamente a los nitratos (Fig. 4.3). Además, la absorbancia disminuye en todo el espectro puesto que la absorbancia debida a la materia orgánica de los extractos originales sin resina empieza a aparecer a unos 400 nm, mientras que la absorbancia de la materia orgánica en los extractos con resina (tanto a las 24 como a las 72 horas) aparece a unos 325 nm. Sin embargo, como se puede observar en la Fig. 4.7, la absorbancia de los extractos en contacto con la resina Amberlite XAD-4 sigue decreciendo de las 24 a las 72 horas. En cambio, con la resina Amberlite XAD-16 este hecho no sucede, ya que los espectros son idénticos a las 24 horas y a las 72 horas de estar los extractos en contacto con la resina Amberlite XAD-16. Esto demuestra que la resina Amberlite XAD-4 presenta una efectividad superior con respecto a la Amberlite XAD-16 a la hora de adsorber materia orgánica disuelta proveniente del compost. Se seleccionan, por tanto, los espectros con Amberlite XAD-4 a las 72 horas de estar en contacto los extractos de las muestras con estas resinas para realizar un estudio de recuperación y el cálculo final de mg de  $\text{NO}_3^-$ /kg de compost tanto a 210 como a 220 nm.

Con el estudio de recuperación, se valora la capacidad que tiene el procedimiento realizado para la determinación de nitratos, hallando para ello el porcentaje de recuperación (%R) de cada uno de los extractos de las muestras:

$$\%R = \frac{(C_f - C_0)}{C_a} \times 100$$

- $C_0$  = concentración del extracto original (en ppm).
- $C_f$  = concentración del extracto fortificado (en ppm).
- $C_a$  = concentración añadida = 4 ppm de  $\text{NO}_3^-$ .
- $C_f - C_0$  = concentración recuperada (en ppm).

En la Fig. 4.16 se representan los cálculos realizados para la determinación de nitratos en compost en todos los casos.

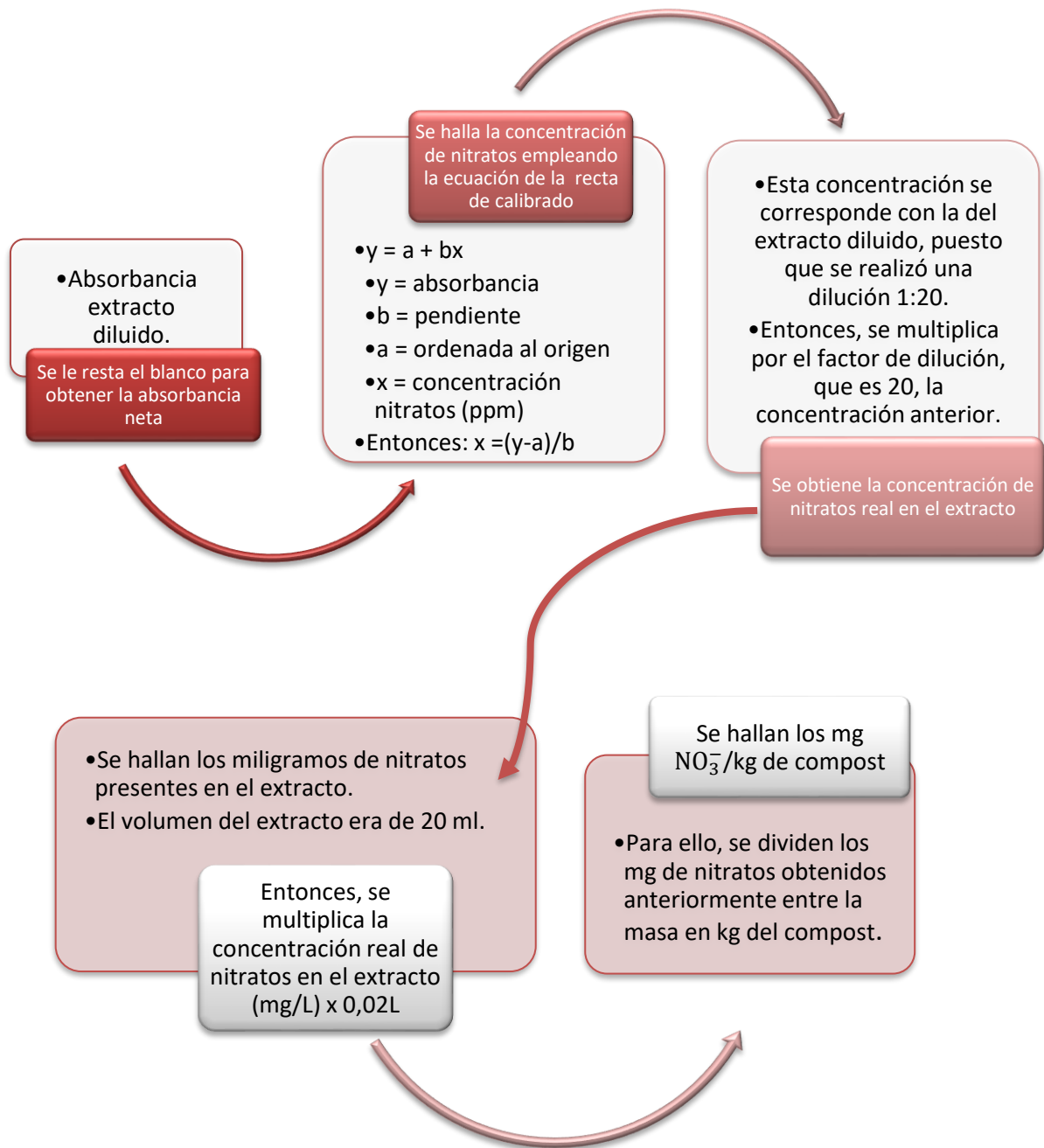


Figura 4.8. Esquema acerca de los cálculos realizados para la determinación de nitratos en compost.

Los datos obtenidos del estudio de recuperación con la resina Amberlite XAD-4 tras pasar 72 horas se hallan en la Tabla 4.7 y 4.8; y los mg de  $\text{NO}_3^-$ /kg de compost de cada una de las muestras en la Tabla 4.9.

Tabla 4.7. Estudio de recuperación de los extractos de las muestras tras haber transcurrido 72 horas con la resina Amberlite XAD-4 a 210 nm.

M1	Concentración añadida de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	Concentración recuperada de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	%R
Réplica 1	4	3,28	82
Réplica 2	4	2,93	73,50
Réplica 3	4	3,53	88,25
<b>Media (<math>\bar{X}</math>)</b>			<b>81,25</b>
<b>Desviación estándar (SD)</b>			<b>6,04</b>

M2	Concentración añadida de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	Concentración recuperada de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	%R
Réplica 1	4	3,58	89,5
Réplica 2	4	2,95	73,75
Réplica 3	4	3,43	85,75
<b>Media (<math>\bar{X}</math>)</b>			<b>83,00</b>
<b>Desviación estándar (SD)</b>			<b>6,72</b>

M3	Concentración añadida de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	Concentración recuperada de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	%R
Réplica 1	4	4,12	103,00
Réplica 2	4	3,97	99,25
Réplica 3	4	2,53	63,25
<b>Media (<math>\bar{X}</math>)</b>			<b>88,5</b>
<b>Desviación estándar (SD)</b>			<b>17,92</b>

Tabla 4.8. Estudio de recuperación de los extractos de las muestras tras haber transcurrido 72 horas con la resina Amberlite XAD-4 a 220 nm.

M1	Concentración añadida de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	Concentración recuperada de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	%R
Réplica 1	4	2,95	73,75
Réplica 2	4	2,12	53,00
Réplica 3	4	3,47	86,75
<b>Media (<math>\bar{X}</math>)</b>			<b>71,17</b>
<b>Desviación estándar (SD)</b>			<b>13,90</b>

M2	Concentración añadida de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	Concentración recuperada de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	%R
Réplica 1	4	3,42	85,50
Réplica 2	4	2,34	58,50
Réplica 3	4	3,15	78,75
<b>Media (<math>\bar{X}</math>)</b>			<b>74,25</b>
<b>Desviación estándar (SD)</b>			<b>11,47</b>

M3	Concentración añadida de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	Concentración recuperada de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	%R
Réplica 1	4	4,22	105,50
Réplica 2	4	3,81	95,25
Réplica 3	4	3,06	76,50
<b>Media (<math>\bar{X}</math>)</b>			<b>93,10</b>
<b>Desviación estándar (SD)</b>			<b>12,01</b>

Como se aprecia en las Tablas 4.7 y 4.8, la media de los porcentajes de recuperación en todos los casos es mayor al 70%, siendo generalmente mayor a 210 nm. Sin embargo, aunque la media del porcentaje de recuperación en todos los casos es aceptable, hay una gran variabilidad entre los porcentajes de recuperación entre las réplicas, por lo que la reproducibilidad es bastante baja.

Los mg de  $\text{NO}_3^-/\text{kg}$  de compost de cada una de las muestras se hallan en la Tabla 4.9.

Tabla 4.9. Concentraciones de nitratos de todas las muestras en mg de  $\text{NO}_3^-/\text{kg}$  de compost a 210 y a 220 nm.

Longitudes de onda (nm)	M1 (mg $\text{NO}_3^-/\text{kg}$ compost)	M2 (mg $\text{NO}_3^-/\text{kg}$ compost)	M3 (mg $\text{NO}_3^-/\text{kg}$ compost)
210	6073,00	6742,88	7731,30
220	8838,59	10023,13	11026,58

En la Tabla 4.10 se representan los mg de  $\text{NO}_3^-/\text{kg}$  de compost de cada una de las muestras hallados con del método de referencia (cromatografía iónica).

Tabla 4.10. Concentraciones de nitratos de todas las muestras en mg de  $\text{NO}_3^-/\text{kg}$  de compost con el método de referencia

Método de referencia	M1 (mg $\text{NO}_3^-/\text{kg}$ compost)	M2 (mg $\text{NO}_3^-/\text{kg}$ compost)	M3 (mg $\text{NO}_3^-/\text{kg}$ compost)
Cromatografía iónica	3861,43	6102,06	4166,08

Comparando los datos de las Tablas 4.9 y 4.10 se observa como los resultados a 220 nm son mayores que a 210 nm, y que ninguno de estos resultados se corresponde con los mg de  $\text{NO}_3^-/\text{kg}$  de compost establecidos por el método de referencia.

Paredes et al., (2000) establecieron que en un compost maduro formado por agua residuales de almazara, estiércol de ave y desechos provenientes de la desmotadora de algodón presentaba 3019 mg de  $\text{NO}_3^-/\text{kg}$  de compost. Comparando este dato con los resultados de la Tabla 4.10. se observa que los mg de  $\text{NO}_3^-/\text{kg}$  de compost de todas las muestras, excepto en el caso de M2, se hallan sobre el mismo orden.

## 5. CONCLUSIONES

En este trabajo se ha demostrado que:

- Para la extracción de nitratos es más adecuado el KCl como extractante que el  $\text{CaSO}_4$ , y que las muestras no presentan nitritos.
- El catalizador Níquel-Raney es eficaz en la eliminación de  $\text{NO}_3^-$  pero que, al presentar los extractos de compost una matriz orgánica fresca, el catalizador no solo reduce nitratos, sino que también reduce parte de la materia orgánica disuelta, haciendo que el valor obtenido del parámetro R no sea adecuado.
- Aunque el procedimiento para determinar el factor empírico R usando el catalizador Níquel-Raney no ofrece un resultado fiable, éste proporciona una estimación relativa acerca de la relación C/N que presenta el compost, la cual puede ser relacionada con cantidad la materia orgánica que posee y con la fase en la que el compost se encuentra en el proceso de compostaje. Es decir, puede emplearse como un indicador de madurez del compost.
- Las resinas Amberlite XAD consiguen adsorber materia orgánica en su superficie, siendo la más eficiente la Amberlite XAD-4. No obstante, la cinética con estas resinas es lenta y los resultados obtenidos no son muy reproducibles.

Se concluye, por todo lo expuesto hasta ahora, que las distintas estrategias empleadas para eliminar las interferencias producidas por la materia orgánica para la determinación de nitratos por espectroscopía UV no han dado resultados satisfactorios para desarrollar un método fiable para determinar nitratos por espectroscopía UV. Por ello, se exponen otros métodos analíticos posibles para la determinación de nitratos en compost como son la cromatografía iónica y el electrodo selectivo de iones nitrato.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Abhuri, K. (2003). Adsorption of phenol and p-chlorophenol from their single and bisolute aqueous solutions on Amberlite XAD-16 resin. *Journal of Hazardous Materials*, 105(1-3), 143-156. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2003.08.004>
- Ahmad, S., Hussain, I., Ghaffar, A., Rahman, M. H. U., Saleem, M. Z., Yonas, M. W. & Arslan, M. (2022). Organic amendments and conservation tillage improve cotton productivity and soil health indices under arid climate. *Scientific Reports*, 12(1), 14072. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18157-0>
- Albuquerque, J. A., González, J., García, D., & 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)
- Braker, G., Schwarz, J., & Conrad, R. (2010). Influence of temperature on the composition and activity of denitrifying soil communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 73(1), 134-148. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00884.x>
- 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>
- Chang, J. I., Tsai, J. J., & Wu, K. H. (2006). Thermophilic composting of food waste. *Bioresource technology*, 97(1), 116-122. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.013>
- Dash, D., Kumar, S., Mallika, C., & Mudali, U. K. (2012). New data on activity coefficients of potassium, nitrate, and chloride ions in aqueous solutions of KNO<sub>3</sub> and KCl by ion selective electrodes. *International Scholarly Research Notices*, 2012. <https://doi.org/10.5402/2012/730154>
- De Brogniez, D., Ballabio, C., Stevens, A., Jones, R. J. A., Montanarella, L., & van Wesemael, B. (2015). A map of the topsoil organic carbon content of Europe generated by a generalized additive model. *European Journal of Soil Science*, 66(1), 121-134. <https://doi.org/10.1111/ejss.12193>
- Domeizel, M., Khalil, A., & Prudent, P. (2004). UV spectroscopy: a tool for monitoring humification and for proposing an index of the maturity of compost. *Bioresource Technology*, 94(2), 177-184. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.11.026>
- Finch, M. S., Hydes, D. J., Clayson, C. H., Weigl, B., Dakin, J., & Gwilliam, P. (1998). A low power ultra violet spectrophotometer for measurement of nitrate in seawater: introduction, calibration and initial sea trials. *Analytica Chimica Acta*, 377(2-3), 167-177. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00616-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00616-3)
- Granger, J., & Sigman, D. M. (2009). Removal of nitrite with sulfamic acid for

- nitrate N and O isotope analysis with the denitrifier method. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23(23), 3753-3762. <https://doi.org/10.1002/rcm.4307>
- Hoang, H. G., Thuy, B. T. P., Lin, C., Vo, D. V. N., Tran, H. T., Bahari, M. B., & Vu, C. T. (2022). The nitrogen cycle and mitigation strategies for nitrogen loss during organic waste composting: A review. *Chemosphere*, 134514. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134514>
- Kowalchuk, G. A., & Stephen, J. R. (2001). Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology. *Annual Reviews in Microbiology*, 55(1), 485-529. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.485>
- L. de Sosa, L., Benítez, E., Girón, I., & 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>
- Li, S., & Smith, K. A. (1984). The rapid determination of nitrate at low concentrations in soil extracts: Comparison of ion-selective electrode with continuous-flow analysis. *Communications in soil science and plant analysis*, 15(12), 1437-1451. <https://doi.org/10.1080/00103628409367571>
- Maeda, K., Hanajima, D., Toyoda, S., Yoshida, N., Morioka, R., & Osada, T. (2011). Microbiology of nitrogen cycle in animal manure compost. *Microbial biotechnology*, 4(6), 700-709. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00236.x>
- Michalski, R., & Kurzyca, I. (2006). Determination of Nitrogen Species (Nitrate, Nitrite and Ammonia Ions) in Environmental Samples by Ion Chromatography. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(1).
- Norman, R. J., Edberg, J. C., & Stucki, J. W. (1985). Determination of nitrate in soil extracts by dual-wavelength ultraviolet spectrophotometry. *Soil Science Society of America Journal*, 49(5), 1182-1185. <https://doi.org/10.2136/sssaj1985.03615995004900050022x>
- 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, 222-227. <https://doi.org/10.1007/s003740000239>
- Shen, Y., Ren, L., Li, G., Chen, T., & Guo, R. (2011). Influence of aeration on CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O and NH<sub>3</sub> emissions during aerobic composting of a chicken manure and high C/N waste mixture. *Waste Management*, 31(1), 33-38. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.08.019>
- Sheng, S., Liu, B., Hou, X., Liang, Z., Sun, X., Du, L., & Wang, D. (2018). Effects of different carbon sources and C/N ratios on the simultaneous anammox and denitrification process. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 127, 26-34. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.11.002>
- Shi, M., Zhao, Y., Zhu, L., Song, X., Tang, Y., Qi, H. & Wei, Z. (2020). Denitrification during composting: Biochemistry, implication and

- perspective. *International biodeterioration & biodegradation*, 153, 105043. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.105043>
- Sigma Aldrich (2023). AMBERLITE XAD POLYMERIC RESINS. <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/287/103/xad4pis.pdf> (visitado el 22 de Mayo de 2023)
- Singh, P., Singh, M. K., Beg, Y. R., & Nishad, G. R. (2019). A review on spectroscopic methods for determination of nitrite and nitrate in environmental samples. *Talanta*, 191, 364-381. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.08.028>
- Tang, J., Li, X., Cui, P., Lin, J., Zeng, R. J., Lin, H., & Zhou, S. (2020). Nitrification plays a key role in N<sub>2</sub>O emission in electric-field assisted aerobic composting. *Bioresource Technology*, 297, 122470. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122470>
- Thermo Fisher (2023). Espectrofotómetros Vis/UV-Vis GENESYS™ 40/50 <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/es/es/840-298000> (visitado el 15 de Mayo de 2023)
- Tian, W., Wang, L., Li, Y., Zhuang, K., Li, G., Zhang, J. & Xi, Y. (2015). Responses of microbial activity, abundance, and community in wheat soil after three years of heavy fertilization with manure-based compost and inorganic nitrogen. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 213, 219-227. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.08.009>
- 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>
- Tran, H. T., Lin, C., Bui, X. T., Ngo, H. H., Cheruiyot, N. K., Hoang, H. G., & Vu, C. T. (2021). Aerobic composting remediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. Current and future perspectives. *Science of the Total Environment*, 753, 142250. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142250>
- Tran, H. T., Lin, C., Hoang, H. G., Nguyen, M. T., Kaewlaoyoong, A., Cheruiyot, N. K. & Vu, C. T. (2020). Biodegradation of dioxin-contaminated soil via composting: identification and phylogenetic relationship of bacterial communities. *Environmental Technology & Innovation*, 19, 101023. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101023>
- Tran, H. T., Vu, C. T., Lin, C., Bui, X. T., Huang, W. Y., Hoang, H. G., & Liu, W. Y. (2018). Remediation of highly fuel oil-contaminated soil by food waste composting and its volatile organic compound (VOC) emission. *Bioresource Technology Reports*, 4, 145-152. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2018.10.010>
- Wang, S., & Zeng, Y. (2018). Ammonia emission mitigation in food waste composting: a review. *Bioresource technology*, 248, 13-19. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.050>

- Wang, W., Wang, K., Xu, L., Li, Y., & Niu, J. (2021). *Raney nickel coupled nascent hydrogen as a novel strategy for enhanced reduction of nitrate and nitrite*. *Chemosphere*, 263, 128187. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128187>
- Yang, F., Li, Y., Han, Y., Qian, W., Li, G., & Luo, W. (2019a). Performance of mature compost to control gaseous emissions in kitchen waste composting. *Science of the Total Environment*, 657, 262-269. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.030>
- Yang, X. C., Han, Z. Z., Ruan, X. Y., Chai, J., Jiang, S. W., & Zheng, R. (2019b). Composting swine carcasses with nitrogen transformation microbial strains: succession of microbial community and nitrogen functional genes. *Science of the Total Environment*, 688, 555-566. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.283>
- Zhang, L., Loh, K. C., & Zhang, J. (2019). Enhanced biogas production from anaerobic digestion of solid organic wastes: Current status and prospects. *Bioresource Technology Reports*, 5, 280-296. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2018.07.005>
- Zhong, X. Z., Zeng, Y., Wang, S. P., Sun, Z. Y., Tang, Y. Q., & Kida, K. (2020). Insight into the microbiology of nitrogen cycle in the dairy manure composting process revealed by combining high-throughput sequencing and quantitative PCR. *Bioresource technology*, 301, 122760. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122760>

