

# EXTRACTOS HIDROSOLUBLES Y HÚMICOS OBTENIDOS DE UN COMPOST Y DE UN VERMICOMPOST DERIVADOS DE LA MEZCLA DE ALPERUJOS CON OTROS RESIDUOS AGRÍCOLAS

**CRUZ, J.; CANET, R.; POMARES, F. Y ALBIACH, R.**

Dpto. de Recurso Naturales. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrárias (IVIA)  
Apartado Postal 46113. Moncada (Valencia)  
E-mail: [jacruher@doctor.upv.es](mailto:jacruher@doctor.upv.es)

## RESUMEN

Los composts y vermicomposts de alperujos son fuentes importantes de micronutrientes y de materia orgánica humificada, pero también contienen sustancias no húmicas, que podrían condicionar su uso como enmiendas orgánicas. El efecto de las sustancias húmicas y la cantidad obtenida de ellas depende de diferentes factores, tales como el tipo de extractante que se utilice y del grado de humificación del material del cual se obtienen. En el presente trabajo se aplicó un método sencillo con el propósito de obtener una fracción de sustancias húmicas similar a la extraída con un método estándar, para ello se comparó el uso de agua y KOH +  $K_4P_2O_7$  como extractantes, en diferentes proporciones y tiempos de agitación. Como fuente de materia orgánica se utilizó un compost y un vermicompost, producidos ambos a base de mezclas de alperujos con otros residuos agrícolas. El contenido de carbono fácilmente oxidable obtenido en las sustancias húmicas bajo los diferentes tratamientos aplicados dependió del tipo de extractante utilizado, del tiempo de agitación, de la proporción extractante: extractado, y en menor medida del material orgánico. De manera particular, cuando se utilizó agua como extractante, el contenido de carbono en sustancias húmicas fue menor comparado con el obtenido con el KOH +  $K_4P_2O_7$ , y no representó más del 35 a 40% respecto al obtenido con el método estándar. Por último, el tratamiento en reposo por 24 horas con posteriores agitaciones menores a 4 horas, puede sustituir el uso de agitación durante 24 horas seguidas.

**PALABRAS CLAVE:** SUSTANCIAS HÚMICAS, KOH, ÁCIDOS HÚMICOS Y ALPERUJOS

## 1 ► INTRODUCCIÓN

Los alperujos son residuos orgánicos derivados de la extracción de aceite de oliva, que se caracterizan por ser de consistencia semisólida, con elevado contenido de humedad, de materia orgánica y de micronutrientes, pero con valores elevados de conductividad eléctrica (Albuquerque, *et al.* 2003), así como altos contenidos de ácidos grasos y de sustancias fenólicas (Albuquerque, *et al.* 2003; Molina, *et al.* 2003), los cuales se ha comprobado que pueden causar efectos fitotóxicos en cultivos hortícolas (Aranda, *et al.* 2002; Jung, *et al.* 2003). La aplicación de éstos ha promovido efectos positivos en el rendimiento y calidad de maíz, trigo y arroz (Tejada, *et al.* 2001; Tejada y González, 2003; Tejada y González, 2004), pero su uso de manera directa en las actividades agrícolas no es recomendado porque pueden inhibir la germinación de semillas, el crecimiento de plantas, y provocar un efecto negativo en la estabilidad estructural y actividad microbiana en el suelo (Aranda, *et al.* 2002). Una de las alternativas más viables en zonas de bajo potencial de industrialización de estos residuos, consiste en la producción de composts (Canet, *et al.* 2002) o la obtención de vermicompost al mezclarlos con otros residuos agrícolas, de forma que se pueda disponer de productos estabilizados que puedan ser usados de manera más segura como enmiendas orgánicas.

Por otro lado, se tienen antecedentes del uso de extractos acuosos de alperujos, de la aplicación de éstos después de recibir un tratamiento de lavado o de la acción de *Fusarium sp.*, con los que se ha conseguido disminuir significativamente la fitotoxicidad en cultivos hortícolas sensibles (Aranda, *et al.* 2002). Así mismo, se han encontrado efectos positivos en el porcentaje y tasa de germinación en bioensayos con el uso de extractos acuosos de vermicompost de orujos (Sainz, *et al.* 2000).

Los extractos acuosos y las sustancias húmicas en algunos casos han influido significativamente en el crecimiento y desarrollo de las plantas, pero en otros han resultado inconsistentes. El efecto de estas sustancias depende de factores tales como el método de extracción que se utilice, del origen y grado de humificación del material del cual se obtienen, de sus características y de las condiciones en las que se apliquen.

Para obtener tales sustancias se han desarrollado diferentes metodologías, las cuales se basan fundamentalmente en procesos de extracción, separación y purificación. Para la extracción se utilizan reactivos alcalinos combinados con diferentes tiempos de agitación o reposo. Se utilizan extracciones sucesivas con agitaciones de una hora, o agitaciones constantes en tiempos que van de una hasta 24 horas; sin embargo Ikeya y Watanabe (2003) indican que el reposo de las muestras en el extractante por 48 horas, puede sustituir el uso de agitaciones constantes durante 24 horas, resultando en un método más práctico y con eficiencias comparables.

Los extractantes químicos más comunes son el hidróxido de sodio, pirofosfato de sodio o combinaciones de éstos. Sin embargo, son productos que suelen alterar las propiedades físico-químicas y la estructura de las sustancias húmicas o pueden extraer sustancias que

no son consideradas como constituyentes húmicos (Adani, *et al.* 1995; Harper, *et al.* 2000). El hidróxido de potasio ha dado resultados satisfactorios en la extracción de sustancias húmicas (Valdrighi, *et al.* 1996; Atiyeh, *et al.* 2002), con la ventaja de que el K no influye negativamente en la fisiología de las plantas (Valdrighi, *et al.* 1996).

Para evitar cambios en las características y propiedades de las sustancias húmicas, se ha usado el agua como extractante (Pinton, *et al.* 1998; Harper, *et al.* 2000), con la que se obtiene de manera eficiente un producto no alterado y caracterizado por ser de bajo peso molecular (Pinton, *et al.* 1998; Harper, *et al.* 2000); cuyo efecto en la formación de complejos con micronutrientes, así como su difusión en el suelo y su absorción por las plantas han quedado demostrados en diferentes investigaciones (Mohamed, *et al.* 1998; Pinton, *et al.* 1999 a; Pinton *et al.* 1999 b; Varanini y Pinton, 2000; Cesco, *et al.* 2002; Nikolic, *et al.* 2003). Estas sustancias tienen mayor movilidad en el suelo en comparación con moléculas de elevado peso molecular, y es factible su aplicación en sistemas de producción sostenibles o ecológicos.

De esta manera, en una primera fase del trabajo y con la utilización de una metodología sencilla de extracción, se tiene como objetivo comparar tiempos de reposo y agitación, así como la eficiencia del agua y la mezcla de hidróxido más pirofosfato potásico en la extracción de sustancias húmicas, respecto a las obtenidas con un método estándar. Para ello, se utilizó como fuente de materia orgánica a un compost y un vermicompost, producidos ambos a base de mezclas de alperujos con otros residuos agrícolas.

## 2 ▶ MATERIALES Y MÉTODOS

Como fuente de sustancias húmicas se utilizó un Compost y un Vermicompost, ambos producidos a partir de la mezcla de alperujo más estiércol de conejo y paja de arroz. Los dos materiales fueron elaborados bajo temperatura ambiente en las instalaciones del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) en Moncada Valencia, España.

El compost utilizado fue colectado después de un año de su elaboración en pilas con volteo constante, cuyas características y parámetros de evolución se indican en Canet *et al.* (2002). Parte del compost fue colocado en cajas de plástico, y sobre éste se aplicaron lombrices. El vermicompost así producido, fue colectado después de seis meses de aplicadas las lombrices y fue tamizado en una malla de 1 cm, inmediatamente después fue extendido y colocado al aire para permitir un secado homogéneo. Una vez seco, fue colocado en sacos y se dejó en almacén a temperatura ambiente hasta su utilización.

El análisis de las muestras se realizó siguiendo las metodologías descritas en los métodos oficiales de análisis del Ministerio de Agricultura (MAPA, 1994) o pequeñas modificaciones de las mismas. Las propiedades analíticas evaluadas en cada material se realizaron al menos por triplicado y se indican en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Características de los productos orgánicos

CARACTERÍSTICAS		VERMICOMPOST	COMPOST
Densidad		0,78	0,63
Carbono orgánico oxidable	(%)	32,79	36,45
Sólidos volátiles	(%)	75,25	87,16
Carbono húmico total	(%)	9,63	11,68
Carbono ácido húmico	(%)	6,23	7,69
Carbono ácido fúlvico	(%)	1,56	2,34
E4/E6		8,04	8,54
AH/AF		4,00	3,29
GH	(%)	80,81	85,83
N total	(%)	2,56	2,70
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	(%)	3,28	2,49
K <sub>2</sub> O	(%)	2,97	4,61
pH	(1:5)	9,35	9,23
C/N		12,80	13,50

### Extracción de sustancias húmicas

Para la extracción de sustancias húmicas se utilizó agua ó hidróxido de potasio más pirofosfato potásico (0,1N) como extractantes, en las proporciones extractado/ extractante de 1:5, 1:10 y 1:20 (p/v), y a 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240, 480 y 1440 minutos de agitación en agua o hidróxido de potasio. Por otro lado, se colocaron muestras a 24 horas de reposo en ambos extractantes y bajo las mismas proporciones que en el caso anterior, a las cuales se les aplicaron 0, 20, 60 y 240 minutos de agitación. El tratamiento de las muestras con el extractante durante 24 horas en reposo (Valdrighi, *et al.* 1996; Atiyeh, *et al.* 2002) permite una extracción eficiente de sustancias húmicas y resulta más práctico que agitaciones continuas.

Para separar las sustancias húmicas de las enmiendas estudiadas, se procedió a pesar muestras por triplicado de cada una de las proporciones y materiales manejados, colocando cada una de las muestras en recipientes de plástico de 65 ml de capacidad. A estas muestras se les agregó el extractante según la proporción a ensayo. Posteriormente

se procedió a colocar las muestras en reposo o en agitación a temperatura ambiente, de acuerdo a los tiempos ya indicados. Después de someter las muestras al tiempo de agitación correspondiente, se procedió a centrifugar cada una de las muestras durante 20 minutos a 4500 rpm. Tras ello el sobrenadante se aforó a 100 ml. Este extracto se consideró como el extracto húmico total. De este extracto se cogió una alícuota, la cual se desecó a 65 °C en estufa. Una vez desecadas las muestras, se les determinó su contenido de carbono orgánico oxidable mediante el método indicado en MAPA (1994). Para determinar el porcentaje de carbono en el extracto húmico, se tomó una alícuota del extracto húmico total y se añadió ácido sulfúrico 1:1 en agua, hasta alcanzar un pH de 1 y se dejó reposar durante la noche. Después de este tiempo, el sobrenadante se filtró con papel Watman 40. El filtrado se consideró como el extracto fúlvico. De este se cogió una alícuota y se procedió a secarlas en estufa a 65 °C. De las muestras así secas, se determinó el contenido de carbono fácilmente oxidable en el extracto fúlvico, de la misma manera que en el caso anterior. El contenido de carbono en el extracto húmico se obtuvo por diferencia respecto al carbono húmico total, como lo indica Wu y Ma (2002).

Los resultados obtenidos en cada uno de los materiales evaluados y con los extractantes utilizados, se compararon con las sustancias húmicas extraídas mediante el método estándar del Ministerio de Agricultura (MAPA, 1994)

Partiendo de la clasificación tradicional de las sustancias húmicas realizada por su solubilidad y separación en función del pH, en el presente trabajo al carbono contenido en el extracto húmico total, en el ácido fúlvico y en el ácido húmico se le denominó como carbono contenido en la fracción total, fracción fúlvica y fracción húmica respectivamente.

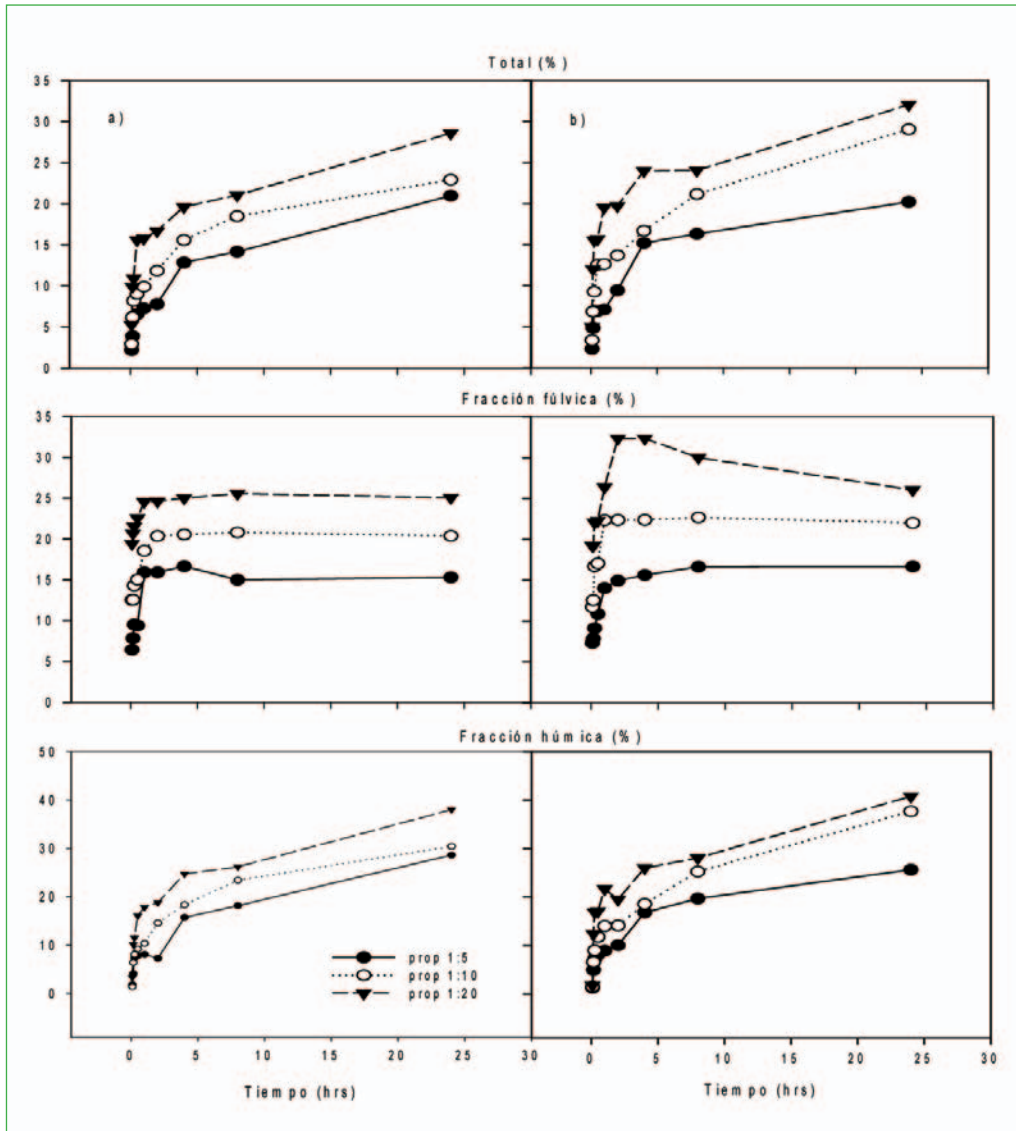
### 3 ▶ RESULTADOS

#### Contenido de carbono fácilmente oxidable en sustancias húmicas

- **Sustancias hidrosolubles**

En ambos materiales, el mayor contenido de sustancias hidrosolubles en general se encontró con la proporción 1:20 y en agitación durante 24 horas seguidas (Figura 1).

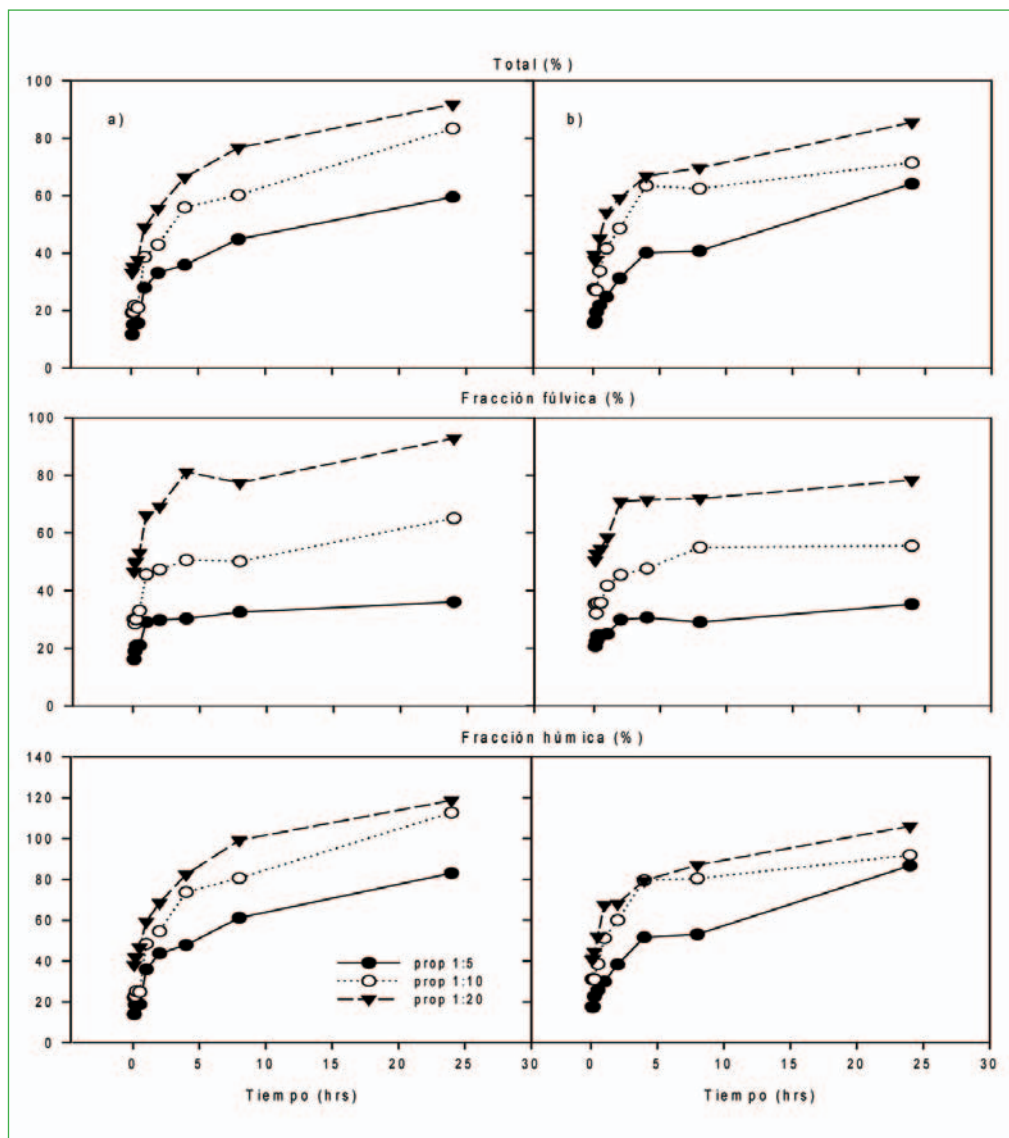
El contenido de carbono extraído con agua presentó una eficiencia menor al 35 - 40% en ambos productos orgánicos, respecto al carbono obtenido con el método estándar, aún después de 24 horas de agitación. Esta eficiencia resulta inferior en la proporción 1:10 a las dos horas de agitación respecto a la observada por Wu y Ma (2002), quienes encontraron de un 2,2 hasta un 34% de sustancias húmicas hidrosolubles respecto al total extraído en seis composts, dependiendo del tipo y del grado de humificación de los mismos.



El contenido de carbono en la fracción húmica soluble en agua resulta superior a las 24 horas, pero una agitación con esta duración resulta poco práctica.

En la fracción fúlvica, la estabilización se observó alrededor de la hora de agitación en el vermicompost y a las 2 horas en el compost, en las tres proporciones manejadas; esta situación en parte se explica al mayor grado de solubilidad de los ácidos fúlvicos, que los hace más fácilmente extraíbles como lo indica Wu y Ma (2002), y por la proporción de

ácido fúlvico contenido en cada producto orgánico. El vermicompost presentó una menor fracción húmica hidrosoluble total y una menor fracción fúlvica respecto a la observada en el compost, situación que refleja un mayor grado de estabilidad como lo indican diferentes autores citados por Wu y Ma (2002).



**Figura 2.** Eficiencia de  $\text{KOH} + \text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$  0,1 N en la extracción de sustancias húmicas a diferentes proporciones y tiempos de agitación en un compost vermiestabilizado (a) y un compost (b) ambos a base de alperujo más estiércol de conejo y paja de arroz. Prop.= proporciones a 1:5, 1:10 y 1:20 p/v.



- **Sustancias húmicas extraídas con hidróxido más pirofosfato potásico**

Al usar hidróxido más pirofosfato potásico se obtuvieron mayores cantidades de carbono fácilmente oxidable en las tres sustancias húmicas evaluadas, comparadas con las cantidades obtenidas en las sustancias hidrosolubles en ambos materiales y respecto a la extracción con hidróxido y pirofosfato de sodio (Figura 2).

La proporción de carbono en la fracción húmica total como en el contenido en la fracción fúlvica no resultaron superiores respecto a la obtenida con el uso de hidróxido más pirofosfato de sodio, incluso después de 24 horas de agitación.

En la fracción húmica obtenida con hidróxido más pirofosfato potásico después de 8 horas de agitación en la proporción 1:20 y después de 24 horas en la proporción 1:10 en el vermicompost, se encontró una concentración superior al 100% respecto a la obtenida con el método estándar. Tal situación puede explicarse por una posible formación y extracción de sustancias que no son consideradas como constituyentes húmicos (Adani, *et al.* 1995; Harper, *et al.* 2000).

De la misma manera que con el uso de agua como extractante, con el hidróxido más pirofosfato potásico las mayores concentraciones de sustancias húmicas se encontraron en la proporción 1:20 y a 24 horas de agitación.

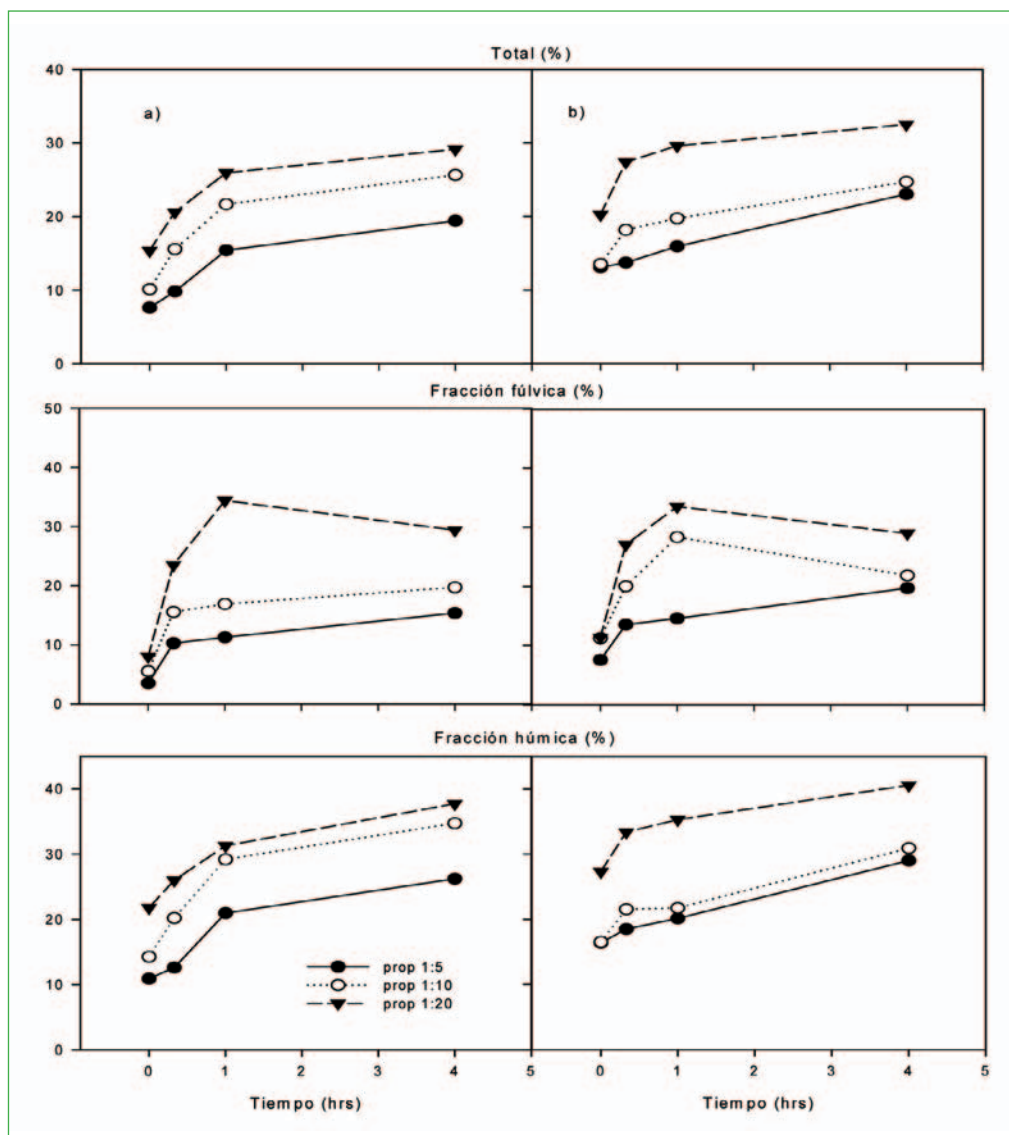
Con el uso de hidróxido de potasio se observa una mayor eficiencia en la extracción de carbono en el vermicompost, tanto en la fracción húmica total como en la fracción fúlvica y húmica; lo cual indica que este material puede estar constituido por una mayor proporción de sustancias húmicas menos solubles y más difíciles de extraer.

### Sustancias húmicas extraídas después de 24 horas de reposo

- **Sustancias hidrosolubles**

Las sustancias hidrosolubles extraídas después de 24 horas de reposo y a tres tiempos de agitación resultaron ligeramente superiores en el vermicompost en las tres proporciones manejadas (Figura 3). De la misma manera que en los casos anteriores, con la proporción 1:20 y en el tiempo mas largo de agitación se obtuvieron las mayores extracciones de carbono fácilmente oxidable. Las máximas cantidades extraídas fueron similares a las obtenidas con 24 horas de agitación. Con lo cual, y por razones prácticas se puede utilizar el método de reposo durante 24 horas en sustitución de la agitación constante.

Bajo la consideración de que las cantidades extraídas de estas sustancias no superan el 35 a 40% respecto a las obtenidas con el método estándar en ambos residuos orgánicos manejados. Estas concentraciones resultan superiores a las observadas por Wu y Ma (2002), pero fueron inferiores a las observadas por Harper, *et al.* (2000) al usar 72 horas de reposo.

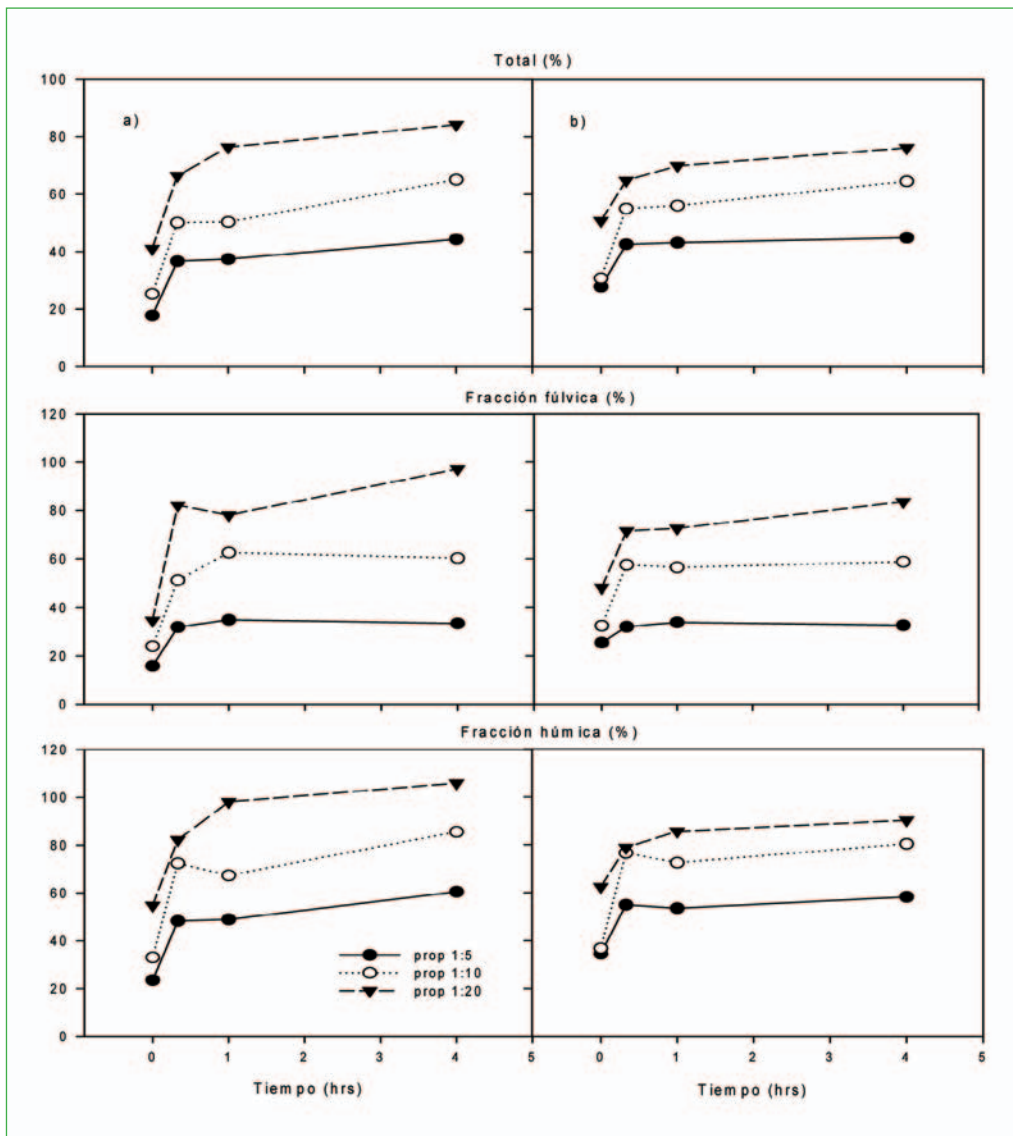


**Figura 3.** Eficiencia de agua en la extracción de sustancias húmicas a diferentes proporciones y tiempos de agitación, después de 24 horas de reposo en agua en un compost vermiestabilizado (a) y un compost (b) ambos a base de alperujo más estiércol de conejo y paja de arroz. Prop.= proporciones a 1:5, 1:10 y 1:20 p/v.

• **Sustancias húmicas extraídas con hidróxido más pirofosfato potásico**

Con el uso de hidróxido mas pirofosfato potásico como extractante, se encontró una mayor cantidad de carbono orgánico fácilmente oxidable en el vermicompost. Con relación a las sustancias extraídas con el método estándar, la mayor eficiencia de extracción se observó

en la proporción 1:20 y a 240 minutos de agitación después de 24 horas de reposo. En el vermicompost y el carbono contenido en la fracción húmica obtenida con hidróxido más pirofosfato potásico, después de 4 horas de agitación en proporción 1:20 se encontró una concentración superior al 100% respecto a la obtenida con el método estándar (Figura 4).



**Figura 4.** Eficiencia de KOH + K<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,1 N en la extracción de sustancias húmicas a diferentes proporciones, tiempos de agitación y 24 horas de reposo en un compost vermicompostado (a) y un compost (b) ambos a base de alperujo más estiércol de conejo y paja de arroz. Prop.= proporciones a 1:5, 1:10 y 1:20 p/v.

Nuevamente, con el uso de hidróxido más pirofosfato de potasio como extractante y después de un reposo de 24 horas, el vermicompost presentó un mayor contenido de sustancias húmicas, confirmando que se trata de un material más humificado, con un tipo de sustancias menos solubles. De la misma manera que en el caso anterior, la utilización de reposo durante 24 horas más agitación, resulta un método más práctico comparado con la agitación durante 24 horas seguidas.

#### 4 ► CONCLUSIONES

El contenido de carbono fácilmente oxidable obtenido en las sustancias húmicas bajo los diferentes tratamientos aplicados, dependió en gran medida del tipo de extractante utilizado, del tiempo de agitación, de la proporción extractante: extractado, y en menor medida del material orgánico en cuestión. De manera particular, cuando se utilizó agua como extractante, el contenido de carbono en sustancias húmicas hidrosolubles fue menor comparado con el obtenido con el uso de hidróxido más pirofosfato potásico, y no representó más del 35 a 40% respecto al obtenido con el método estándar. Por último, el tratamiento en reposo durante 24 horas con posteriores agitaciones menores a 4 horas, puede sustituir el uso de 24 horas seguidas de agitación.

Resultaría interesante determinar el contenido total de sustancias hidrosolubles y en la misma muestra extraer el resto de sustancias con hidróxido más pirofosfato potásico en cada material orgánico, y por separado estudiar el efecto de estas sustancias sobre el crecimiento y desarrollo de cultivos hortícolas sensibles a la materia orgánica poco estabilizada. Sobre todo, partiendo de que los vermicomposts y los composts de alperujos aún podrían contener sustancias fitotóxicas y que estas podrían quedar separadas en la fracción hidrosoluble, como se observa en los resultados obtenidos por Aranda *et al.* (2002).

#### 5 ► BIBLIOGRAFÍA

• **ADANI, F.; GENEVINI, P. L. Y TAMBONE, F. 1995**

A new index of organic mater stability. *Compost Science and Utilization*. 3:25-37.

• **ALBUQUERQUE, J. A.; GONZÁLVZ, J.; GARCÍA, D. Y CEGARRA, J. 2003**

Agrochemical characterisation of alperujo, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresource Technology* (en prensa).

• **ARANDA, E.; SAMPEDRO, I.; OCAMPO, J. A. Y GARCÍA, I. 2002**

Reducción de la fitotoxicidad del extracto acuoso de alperujo en plantas de tomate mediante el uso de *Fusarium lateritium*. pp. 233-236. Jornadas de Investigación y Transferencia de Tecnología Oleícola Andalucía 2002.

• **ATIYEH, R. M.; LEE, S.; EDWARDS, C. A.; ARANCON, N. Q. Y METZGER, J. D. 2002**

The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. *Bioresource*

Technology. 84:7-14.

• **CANET, R.; POMARES, F.; CABOT, B.; CHAVES, C.; FERRER, E. Y ALBIACH, M<sup>a</sup>. R. 2002**

Composting as a management alternative for olive-mill pomace (alperujo) and other agricultural residues from South-Eastern Spain. In: Lowe, P. and Hudson, J A. (Eds.)

• **CESCO, S.; NIKOLIC, M.; ROMHELD, V.; VARANINI, Z. Y PINTON, R. 2002**

Uptake of <sup>59</sup>Fe from soluble <sup>59</sup>Fe-humate complexes by cucumber and barley plants. Plant and Soil. 241:121-128.

• **HARPER, S. M.; KERVEN, G. L.; EDWARDS, D. G. Y OSTATEK - BOCZYNSKI, Z. 2000**

Characterisation of fulvic and humic acids from leaves of *Eucalyptus camaldulensis* and from decomposed hay. Soil Biology & Biochemistry. 32:1331-1336.

• **IKENYA, K. Y WATANABE, A. 2003**

Direct expression of an index for the degree of humification of humic acids using organic carbon concentration. Soil Sci. Plan Nutr. 49(1):47-53.

• **JUNG, V.; OLSSON, E.; CASPERSEN, S.; ASP, H.; JENSÉN, P. Y ALSANIUS, B. W. 2003**

Response of young hydroponically growth tomato plants to phenolic acids. Scientia Horticulturae. 100(2004):23-37.

MAPA 1994. Métodos oficiales de análisis. Tomo III. Madrid, España. 662 p.

• **MOHAMED, A. A.; AGNOLON, F.; CESCO, S.; VARANINI, Z. Y PINTON, R. 1998**

Incidence of lime-induced chlorosis: plant response mechanisms and role of water soluble humic substances. Agrochimica. 42(6):255-262.

• **MOLINA, A. E.; YÁÑEZ, R. D.; MOUMEN, A. Y MARTÍN, G. I. 2003**

Chemical composition and nitrogen availability for goats and sheep of some olive by-products. Small Ruminant Research. 49:329-336.

• **NIKOLIC, M., CESCO, S., RÖMHELD, V., VARANINI, Z. AND PINTON, R., 2003**

Uptake of Iron (<sup>59</sup>Fe) complexed to water-extractable humic substances by sunflower leaves. Journal of Plant Nutrition. 26(10 & 11):2243-2253.

• **PINTON, R.; CESCO, S.; NOBILI, M. D.; SANTI, S. Y VARANINI, Z. 1998**

Water and pyrophosphate-extractable humic substances fractions as a source of iron for Fe-deficient cucumber plants. Biol. Fertil. Soils. 26:23-27.

• **PINTON, R.; CESCO, S.; SANTI, S.; AGNOLON, F. Y VARANINI, Z. 1999**

Water extractable humic substances enhance iron deficiency responses by Fe-deficient cucumber plants. Plant and Soil. 210:145-157.

• **PINTON, R.; CESCO, S.; IAOLETTIG, G.; ASTOLFI, S. Y VARANINI, Z. 1999**

Modulation of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake by water-extractable humic substances: involvement of root plasma membrana H<sup>+</sup> ATPase. Plan and Soil. 215:155-161.

• **SAINZ, H.; BENÍTEZ, E.; MELGAR, R.; ÁLVAREZ, R.; GÓMEZ, M. Y NOGALES, R. 2000**

Biotransformación y valorización agrícola de subproductos del olivar orujos secos y extractados mediante vermicompostaje. Edafología. 72(2):103-111.

• **TEJADA, M. Y GONZÁLEZ, J. L. 2003**

Aplication of a byproduct of the two-step olive oil mill process on rice yield. Agrochimica 47(3-4):94-102.

• **TEJADA, M. Y GONZÁLEZ, J. L. 2004**

Effect of aplication of a by-product of the two-step olive oil mill process on maize yield. Agronomy Journal. 96:692-699.

• **TEJADA, M., ORDOÑEZ, C. Y GONZALEZ, J. L. 2001**

Utilization of a by-product of the two-step olive oil mill process on wheat under dry land conditions. *Agrochimica*. 45(5-6):199-206

• **VALDRIGHI, M. M.; PERA, A.; AGNOLUCCI, M.; FRASSINETTI, S.; LUNARDI, D. Y VALLINI, G. 1996**

Effects of compost-derived humic acids on vegetable biomass production and microbial growth within a plant (*Cichorium intybus*)- soil system : a comparative study. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 58:133-144.

• **VARANINI, Z. Y PINTON, R. 2000**

Direct versus indirect effects of soil humic substances on plant growth and nutrition. In: Pinton, R., Varanini, Z. and Nannipieri, P. (Eds.) *The rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soil plant interface*. Marcel Dekker, Inc. N.Y. p 141-157.

• **WU, L. Y MA, L. Q. 2002**

Relationship between compost stability and extractable organic carbon. *Jurnal of the Environmental Quality* 31:1323-1328.