

MÉTODOS PARA LA MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LOS LODOS DE LAS ESTACIONES DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES

Maria López Martínez

Ana Pérez Piqueres

Rodolfo Canet Castelló

INDICE GENERAL

1. Definición de fermentabilidad y problemática asociada.....	1
2. Indicadores de fermentabilidad.....	1
2.1. Indicadores químicos	
2.1.1. Basados en el contenido de materia orgánica	3
2.1.1.a. Tasa de producción específica de sólidos volátiles y porcentaje de reducción de sólidos volátiles.....	3
2.1.1.b. Contenido en carbono hidrosoluble.....	4
2.1.2. Demanda química de oxígeno.....	5
2.1.3. Variaciones de entalpía durante la combustión.....	6
2.1.4. Análisis FT-IR.....	6
2.2. Indicadores biológicos	
2.2.1. Aerobios.....	8
2.2.1.a. Indicadores de respiración aerobia.....	8
2.2.1.a.1. Indicadores basados en la generación de CO ₂ : Tasa de producción de CO ₂	8
2.2.1.a.2. Indicadores basados en el consumo de O ₂	10
2.2.1.a.2.a. Indicadores determinados por métodos estáticos.....	11
2.2.1.a.2.b. Indicadores determinados por métodos dinámicos.....	14
2.2.1.b. Actividad deshidrogenasa.....	18
2.2.1.c. Determinación de ATP.....	18
2.2.1.d. Otras actividades enzimáticas.....	19
2.2.2 Anaerobios.....	20
2.2.1.a. Producción acumulada de biogás.....	20
2.2.1.b. Producción acumulada de metano.....	21
2.2.1.c. Índice negro de sulfuro de hidrógeno.....	22
2.2.1.b. Indicadores basados en la producción de dióxido de carbono.....	23
2.3. Otros	
2.3.1. Intensidad de olor.....	24
2.3.2. Capacidad de autocalentamiento.....	25
3. Metodologías y límites establecidos en la legislación.....	27
4. Otros límites.....	30
5. Convenio de colaboración.....	32
6. Bibliografía.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Organización de los indicadores presentados en el informe.....	2
--	---

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales tipos de respirómetros.....	11
Tabla 2. Indicadores determinados por métodos estáticos.....	13
Tabla 3. Indicadores determinados por métodos dinámicos.....	17
Tabla 4. Indicadores de estabilidad en distintas legislaciones europeas.....	28
Tabla 5. Opciones para la reducción de la atracción de vectores según US EPA.....	29
Tabla 6. Límites de estabilidad propuestos por diferentes autores.....	31

ÍNDICE DE FICHAS

Tasa de producción específica de sólidos volátiles y porcentaje de reducción de sólidos volátiles	4
Contenido en carbono hidrosoluble.....	5
Demanda química de oxígeno.....	6
Análisis FT-IR.....	7
Tasa de producción de CO ₂	9
Indicadores basados en el consumo de O ₂ determinados por métodos estáticos.....	14
Indicadores basados en el consumo de O ₂ determinados por métodos dinámicos.....	16
Actividad deshidrogenasa.....	18
Determinación de ATP (método luciferina-luciferasa).....	19
Producción acumulada de biogás.....	21
Producción acumulada de metano.....	22
Índice negro de sulfuro de hidrógeno	23
Intensidad de olor.....	24
Capacidad de autocalentamiento	26

MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS

ABREVIATURAS

ASTM: American Society for Testing and Materials

AT₄: consumo acumulado de oxígeno en 4 días

AT₂₄: consumo acumulado de oxígeno en 24 horas de máxima actividad

ATP: adenosín 5´trifosfato

BI: índice negro

BM₁₀₀: producción de metano en 100 días

BMP₂₁: potencial bioquímico de metano en 21 días

BP₂₁: producción de biogás en 21 días

BP_F: producción de biogás hasta fin de emisión

CCQC: California Compost Quality Council

DBO (OBD): demanda bioquímica de oxígeno

DQO (COD): demanda química de oxígeno

DR₄: consumo acumulado de oxígeno en 4 días

FT-IR: espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier

GB₂₁: producción de biogás en 21 días

GFME: German Federal Ministry for the Environment, Nature conservation and Nuclear Safety

GS₉₀: producción de biogás en 90 días

HPLC: cromatografía líquida de alta presión

IR₃₇ (RI₃₇): índice respirométrico realizado a 37°C

IR_T (RI_T): índice respirométrico realizado en condiciones adiabáticas

IRD (DRI): índice respirométrico dinámico

IRD_{max}: índice respirométrico dinámico en 8 días

IRD_P (DRIP): índice respirométrico dinámico potencial

IRD_R (DRIR): índice respirométrico dinámico real

IRE (SRI): índice respirométrico estático

MS: materia seca

OD₂₀: consumo acumulado de oxígeno en 20 horas

OU_E: unidades europeas de olor

PE: equivalente de población

MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS

PE _{CO_D110}: vertido per capita equivalente a una demanda química de oxígeno de 110 g

SOUR: velocidad específica de consumo de oxígeno (Specific Oxygen Uptake Rate)

TMECC: Test Methods for the Examination of Composting and Compost

TPF: trifetilformazam

TS: sólidos totales

USEPA: Environmental Protection Agency (US)

VS: sólidos volátiles

VSS: sólidos volátiles en suspensión

1. DEFINICIÓN DE FERMENTABILIDAD Y PROBLEMÁTICA ASOCIADA

Durante las últimas décadas ha habido un gran interés en buscar métodos rápidos y sencillos para la determinación del poder de fermentación de un lodo. Un lodo con elevada fermentabilidad puede provocar numerosos problemas durante su almacenaje, distribución y uso, asociados, por ejemplo, a la emisión de malos olores, generación de lixiviados, atracción de vectores de enfermedades, proliferación de patógenos o inmovilización de nutrientes una vez aplicados al suelo. Sin embargo, a pesar de los numerosos estudios realizados, y de que las normativas vigentes exigen el tratamiento de los lodos para reducir su capacidad de fermentación, no existe un método universal ni unos límites que marquen el nivel adecuado de fermentabilidad para que un lodo no genere problemas.

La fermentabilidad y la estabilidad biológica son dos conceptos íntimamente ligados de los que no existe una definición estándar. La fermentabilidad se puede definir como la capacidad que tiene un lodo para descomponerse por acción de los microorganismos, mientras que la estabilidad biológica es la extensión hasta la cual la materia orgánica fácilmente biodegradable se ha descompuesto (Lasaridi y Stentford, 1998). Además de definiciones similares a éstas, meramente cualitativas, se pueden encontrar otras con carácter cuantitativo, que se basan en el valor de algún parámetro medible, permitiendo comparar el nivel de biodegradación de distintos lodos y establecer un punto de corte para considerar que un lodo ha alcanzado la estabilidad biológica.

Los métodos para medir la fermentabilidad de lodos son numerosos y diversos; algunos están basados en experiencias realizadas en otros campos que, al no ser directamente aplicables al de los lodos han generado resultados contradictorios, mientras que otros han sido desarrollados en condiciones muy específicas, imposibilitándose las comparaciones entre resultados. Por ello, la mayoría de los autores ha coincidido a lo largo del tiempo en la necesidad de desarrollar un método fiable y aplicable para todo tipo de lodo, que sea universalmente aceptado.

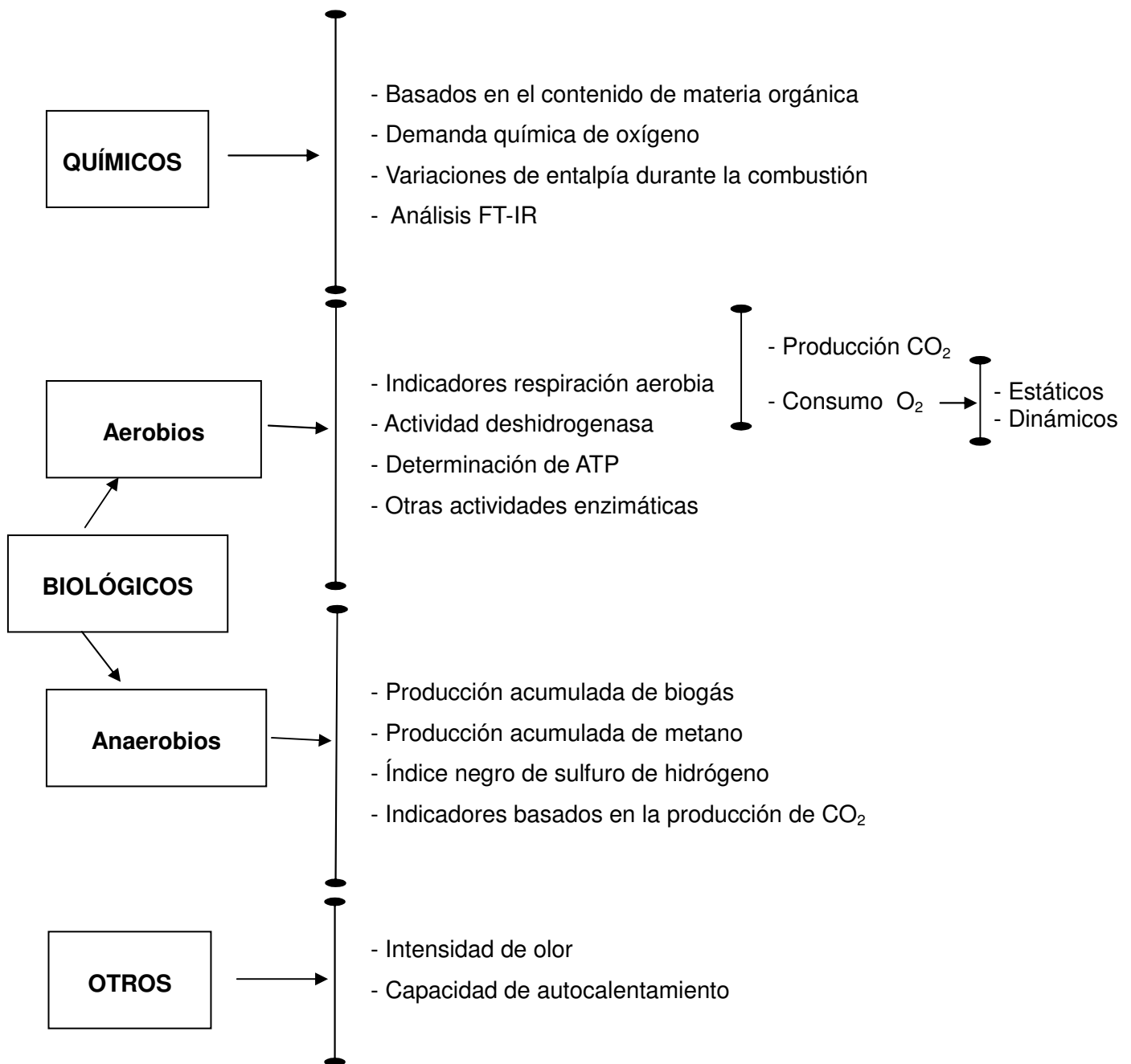
2. INDICADORES DE FERMENTABILIDAD

Para la elaboración de este informe, se ha realizado una exhaustiva búsqueda bibliográfica de los distintos indicadores y metodologías asociadas para la medida de la fermentabilidad de productos orgánicos y lodos. Para ello se han revisado estudios realizados desde mediados del siglo XX (en los que podemos encontrar los métodos más “clásicos” para evaluar la estabilidad de la materia orgánica) hasta la actualidad. Cabe destacar que no se ha constatado el desarrollo reciente de ningún método en la literatura consultada, lo que indica el poco avance realizado por los motivos apuntados anteriormente, de modo que los indicadores descritos a finales del siglo pasado siguen estando vigentes.

MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS

Los índices encontrados han sido organizados tal y como se indica en la Figura 1. En aquellos considerados más interesantes, bien por su nivel de aceptación o bien por ser recogidos en distintas legislaciones, se ha adjuntado una ficha resumen que facilitará la elección del indicador y del método más adecuado, teniendo en cuenta los recursos disponibles en las instalaciones de la propia empresa o en laboratorios de análisis agroalimentarios.

Figura 1. Organización de los indicadores presentados en el informe



MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS

2.1. INDICADORES QUÍMICOS

2.1.1 Basados en el contenido de materia orgánica

Los parámetros químicos basados en el contenido de materia orgánica son frecuentemente utilizados en la caracterización de bioresiduos. Algunos de ellos, además, han sido relacionados con el nivel de estabilidad del material, y son empleados como indicadores de la evolución de distintos procesos de tratamientos de residuos.

2.1.1.a. Tasa de producción específica de sólidos volátiles y porcentaje de reducción de sólidos volátiles

Los sólidos volátiles representan la porción de sólidos totales que se volatiliza a CO_2 y agua cuando la muestra, previamente lavada para eliminar carbonatos y sales amónicas, se somete a temperaturas de $500 \pm 50^\circ\text{C}$. En el caso de lodos procedentes de plantas de tratamiento de aguas residuales, es habitual obtener unos porcentajes de sólidos volátiles respecto a sólidos totales entorno a 50% en lodos que han sido estabilizados anaeróbicamente (Ugetti *et al.*, 2012) y entre 50-70% cuando han sido compostados (Ruggieri *et al.*, 2008; Sánchez *et al.*, 2010). Sin embargo es un parámetro muy variable, dependiente de las características del agua residual entrante en la planta de tratamiento (Nowak, 2002). Algunos autores lo han empleado como indicador de estabilidad, como Nowak y colaboradores (1996), quienes indicaron un rango de 16 a $20\text{g VSS PE}^{-1} \text{d}^{-1}$ (VSS: sólidos volátiles en suspensión; PE: equivalente de población; d: día) para considerar como estable un lodo estabilizado aeróbica o anaeróbicamente en plantas que recibían un caudal de 79-83 $\text{VSS PE}^{-1} \text{d}^{-1}$. Del mismo modo, Parravicini y colaboradores (2006), recomendaron una tasa de producción específica de sólidos volátiles de 20 g de $\text{VSS PE}_{\text{COD}110}^{-1} \text{d}^{-1}$ ($\text{PE}_{\text{COD}110}$: vertido per capita equivalente a una demanda química de oxígeno de 110 g) para considerar un lodo totalmente estabilizado. El porcentaje de reducción de sólidos volátiles que se produce durante el tratamiento de un lodo es un parámetro recogido en diversos estudios. En la legislación de Estados Unidos, la USEPA establece el requisito de que el tratamiento consiga una reducción de sólidos volátiles superior al 38%, sin embargo su objetivo es el de disminuir la atracción de vectores y no el de garantizar su estabilidad (Sobrados-Bernardos and Smith, 2012). Es importante señalar que la determinación de la estabilidad biológica empleando medidas basadas en el contenido de sólidos volátiles conlleva el error de sobreestimar la cantidad de materia orgánica biodegradable, puesto que no toda la materia que se volatiliza a 500°C es susceptible de ser degradada por los microorganismos.

Nombre	Tasa de producción específica de sólidos volátiles y porcentaje de reducción de sólidos volátiles
Referencia	AFNOR U44-160
Base metodológica	Combustión de la materia orgánica cuando la muestra se somete a $500 \pm 50^\circ\text{C}$ tras lavado de carbonatos y sales amónicas.
Aplicación	<p>El contenido en sólidos volátiles es un parámetro empleado en la caracterización de bioresiduos.</p> <p>En estabilidad en lodos se emplea:</p> <ul style="list-style-type: none"> - La tasa de producción específica: contenido en sólidos volátiles en suspensión referido a un vertido de características específicas. - Porcentaje de reducción de sólidos volátiles: reducción en el contenido de sólidos volátiles tras el proceso de tratamiento.
Pros	Rapidez y sencillez.
Contras	<ul style="list-style-type: none"> - La cantidad en sólidos volátiles depende de las características del agua residual entrante y está sometida a fluctuaciones estacionales. - Los sólidos volátiles no corresponden necesariamente a materia orgánica biodegradable. - El porcentaje de reducción de sólidos volátiles está relacionado principalmente con la atracción de vectores y no necesariamente con la estabilidad de un lodo.

2.1.1.b. Contenido en carbono hidrosoluble

El carbono hidrosoluble, o carbono orgánico disuelto, es un indicador de la materia orgánica que se encuentra fácilmente disponible para los microorganismos. Su medida se realiza por determinación del carbono orgánico contenido en un extracto acuoso 1:10 del producto a analizar. Es un parámetro ampliamente empleado como indicador de estabilidad y de madurez en compost. En lodos de depuradora su valor depende de las características del agua residual entrante en la planta de tratamiento, pero una vez compostado, valores de carbono hidrosoluble entre $4\text{-}10 \text{ mg Kg}^{-1}$ son indicadores de que el material es estable (Zmora-Nahum *et al.*, 2005; Ozdemir *et al.*, 2014).

Nombre	Contenido en carbono hidrosoluble
Referencia	ISO 8245:1999
Base metodológica	Determinación de carbono orgánico en extracto acuoso 1:10.
Aplicación	Indicador de estabilidad y madurez en compost (incluidos compost de lodos de depuradora).
Pros	Rapidez y sencillez.
Contras	<ul style="list-style-type: none"> - En lodos de depuradora su valor depende de las características del agua residual entrante en la planta. - No es utilizado como indicador de estabilidad en lodos de depuradora no compostados

2.1.2. Demanda química de oxígeno

La demanda química de oxígeno (DQO) es un parámetro ampliamente utilizado en calidad de aguas, que determina la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar todo material presente en el agua que sea susceptible de ser oxidado. Se utiliza como indicador de contenido en materia orgánica, aunque la oxidación, realizada con dicromato potásico, incluye tanto materia orgánica como sales oxidables. La DQO se ha aplicado al campo de los biosólidos como medida de estabilidad, considerándose que un residuo con una baja DQO tiene una actividad microbiana reducida consecuencia de un contenido en materia orgánica oxidable limitado. Sin embargo, esta relación no es totalmente cierta, ya que la materia orgánica oxidable incluye tanto sustancias biodegradables como no biodegradables, y no existe una correspondencia directa entre DQO, materia orgánica oxidable y actividad microbiana. En el caso concreto de lodos de aguas residuales domésticas, ha sido aplicado en numerosos estudios de evaluación de estabilidad (Stuckey *et al.* 1984; Parraviccini *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2011; Fall *et al.*, 2012), adaptándose la metodología empleada en calidad de aguas que se encuentra ampliamente estandarizada.

Nombre	Demanda química de oxígeno
Referencia	AFNOR NF T 90-101
Base metodológica	Oxidación química con dicromato potásico.
Aplicación	Indicador de calidad de aguas. Usado como medida de estabilidad en biosólidos, incluyendo lodos de depuración de aguas residuales (Stuckey <i>et al.</i> 1984; Parravicini <i>et al.</i> , 2006; Zhao <i>et al.</i> , 2011; Fall <i>et al.</i> , 2012).
Pros	Ampliamente estandarizado.
Contras	<ul style="list-style-type: none"> - La oxidación incluye tanto materia orgánica como sales oxidables. - La materia orgánica oxidable comprende tanto materia biodegradable como no biodegradable.

2.1.3. Variaciones de entalpía durante la combustión

Una versión más sofisticada de la determinación de sólidos volátiles, es aquella en la que se calienta la muestra hasta elevadas temperaturas (por ejemplo de 50^o a 550^oC) y las variaciones en temperatura y peso respecto a un material de referencia inerte son monitorizadas continuamente. El objetivo es detectar las reacciones exo y endotérmicas producidas según la combustión diferencial de los componentes de la muestra. De este modo se puede obtener o bien un termograma o bien una curva de entalpías, característico del residuo analizado, que sufrirá variaciones según cambios en su composición ligados a su nivel de degradación. Las medidas pueden ser realizadas por análisis térmico diferencial o por calorimetría diferencial de barrido. Este método ha sido empleado para caracterizar la materia orgánica de suelos y sus fracciones húmicas, y para evaluar la estabilidad de residuos compostados, habiendo sido aplicado en compost de lodos de depuradora por Balmér and Kaffehr en 1980. Debido a la escasez de estudios en el campo de los lodos y a la antigüedad de la cita encontrada, se ha decidido no incluir una ficha del método.

2.1.4. Análisis FT-IR

Cada enlace químico tiene una frecuencia específica de vibración, de modo que un material puede ser caracterizado a partir de la frecuencia de vibración correspondiente a los principales grupos químicos que lo componen. La medición se realiza por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), obteniéndose un espectro de bandas que varía según el tipo de enlaces existentes (enlaces aromáticos C=C; enlaces N-H; enlaces H-

MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS

OH,...) y la concentración de cada uno de ellos. Se ha utilizado para determinar la estabilidad de residuos compostados, pues cuando un compost comienza a estabilizarse está compuesto por una mezcla relativamente homogénea de minerales y materia orgánica que le proporciona un tipo de espectro determinado más o menos independiente del material de partida (Ouatmane *et al.*, 2000). En el caso particular de lodos de depuradora, Parravicini *et al.*, 2006, han observado que se pueden asignar características espectroscópicas específicas a las distintas etapas de tratamiento, sin embargo aún no están determinadas aquellas que definen a un lodo estabilizado.

Nombre	Análisis FT-IR
Referencia	Ouatmane <i>et al.</i> , 2000.
Base metodológica	Cada enlace químico tiene una frecuencia específica de vibración pudiendo ser medida por FT-IR.
Aplicación	Indicador utilizado en estabilidad de residuos compostados, compost de lodos de depuradora incluidos (Ouatmane <i>et al.</i> , 2000). Escasas citas en lodos no compostados (Parravicini <i>et al.</i> , 2006).
Pros	Rápido
Contras	<ul style="list-style-type: none"> - Alto coste del equipamiento. - Compleja interpretación de los resultados. - Método aún no adaptado totalmente a la evaluación de la estabilidad de lodos de depuradora.

2.2 INDICADORES BIOLÓGICOS

En este apartado se han incluido parámetros basados en la medida de la actividad de los microorganismos presentes en la muestra o de las enzimas por ellos generados. Las metodologías se basan en la cuantificación del sustrato consumido o del producto formado en las reacciones biológicas implicadas. Son ampliamente utilizados en el estudio de la fermentabilidad de los residuos orgánicos, sea cual sea su naturaleza, puesto que la actividad biológica es inversamente proporcional a su estabilidad.

2.2.1 Aerobios

Indicadores basados en actividades realizadas en presencia de oxígeno.

2.2.1.a. Indicadores de respiración aerobia

La respiración celular es el conjunto de reacciones bioquímicas por las cuales determinados compuestos orgánicos son degradados completamente por oxidación hasta convertirse en sustancias inorgánicas, generándose energía que la célula acumula en forma de ATP (Adenosín 5´trifosfato). En los organismos aerobios, el aceptor final de electrones de esta oxidación es el oxígeno que se reduce formando anhídrido carbónico y agua. La intensidad respiratoria de las células microbianas es una medida de la actividad biológica de un residuo, estando relacionada con el nivel de degradación de la materia orgánica. Se han desarrollado numerosas técnicas respirométricas ampliamente reconocidas que, a través de la cuantificación del consumo de O₂ o de la producción de CO₂ de un material en condiciones determinadas, son empleadas para evaluar la fermentabilidad de bioresiduos. Sin embargo, la diversidad de métodos existente sumada a las diferentes formas de expresar los resultados obtenidos y a las distintas interpretaciones de lo que es biológicamente estable, genera confusión en su uso.

A continuación, se detallan los indicadores y los métodos de determinación asociados más empleados, diferenciados según se basen en mediciones de cantidad de CO₂ generado o de cantidad de O₂ consumido.

2.2.1.a.1. Indicadores basados en la generación de CO₂: Tasa de producción de CO₂

La tasa de producción de CO₂ en condiciones aeróbicas, o volumen de CO₂ desprendido por unidad de tiempo en aerobiosis, puede ser medida por diferentes métodos entre los que destacan aquellos que usan equipos de respirometría para medir de forma continua el flujo de CO₂ producido, como el empleado por Körner *et al.* (2003) en la optimización de un

proceso de compostaje de restos verdes o el utilizado por Ozdemir *et al.* (2014) en compostaje de lodos de depuradora, y los que utilizan trampas alcalinas para fijarlo, como las trampas de hidróxido de bario empleadas en lodos de aguas residuales domésticas por Wenning y colaboradores (1995). Además de estos métodos cuantitativos, existe un kit comercial, el test Solvita, que permite la medida cualitativa del dióxido de carbono y amoníaco mediante una técnica colorimétrica. Debido a su gran sencillez, es ampliamente utilizado para evaluar la estabilidad de compost de todo tipo de residuos, incluidos lodos de depuradora (Herrero *et al.*, 2005; Esteban-Gutierrez and Aymerich, 2012), clasificándolos en una escala creciente del 1 al 8 según su grado de madurez (grado de madurez referido a la resistencia a la descomposición, a la ausencia de amoníaco, ácidos orgánicos y componentes fitotóxicos); sin embargo es un test que proporciona un información limitada, habiendo sido desarrollado únicamente para residuos que han sido compostados. Son diversos los inconvenientes de medir la estabilidad de un material a través de la producción de CO₂, como el hecho de que el dióxido de carbono pueda proceder no sólo de reacciones aeróbicas si no también de anaeróbicas, ya que en procesos de estabilización en presencia de O₂ existe la posibilidad de que en ciertos puntos se den condiciones de anaerobiosis (Berthe *et al.*, 2007). En estos casos, se produce una sobreestimación del nivel de respiración aerobia y se considera el material más inestable de lo que realmente es. Otro inconveniente es la solubilidad del CO₂ en soluciones acuosas y su dependencia del pH, imposibilitando la comparación de residuos donde el pH puede variar dentro de un amplio rango. Sin embargo, la principal limitación de la determinación de la estabilidad empleando la tasa de producción de CO₂ es, sin lugar a dudas, la falta de valores de referencia que caractericen un material estable.

Nombre	Tasa de producción de CO ₂
Referencia	Trampas de hidróxido de bario (Wenning <i>et al.</i> , 1995); equipos de respirometría (Körner <i>et al.</i> , 2003; Ozdemir <i>et al.</i> , 2014)
Base metodológica	Determinación de CO ₂ desprendido por unidad de tiempo empleando trampas alcalinas que fijan el CO ₂ o equipos de respirometría.
Aplicación	Principalmente en el campo de material compostado.
Pros	Sencillez
Contras	<ul style="list-style-type: none"> - El CO₂ medido puede proceder tanto de reacciones aeróbicas como anaeróbicas. - El CO₂ es soluble en soluciones acuosas, solubilidad dependiente del pH. - No existen valores de referencia que caractericen un material estable.

MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS

2.2.1.a.2. Indicadores basados en el consumo de O₂

Existe una gran diversidad de parámetros basados en el consumo de O₂ que son empleados como indicadores de estabilidad en bioresiduos. Se han desarrollado numerosos métodos que permiten realizar medidas directas y continuas de las tasas de consumo de O₂ tanto en material sólido como en líquido, empleando respirómetros (Tabla 1), cromatografía de gases o electrodos de oxígeno. En el caso específico de los lodos de depuradora son ampliamente utilizados para evaluar la estabilidad de lodos compostados, sin embargo son escasas las referencias de su uso en lodos tratados por otros medios. A pesar de la gran aceptación de estos métodos, el hecho de que las condiciones del ensayo, especialmente la temperatura, no estén estandarizadas y de que no haya un consenso en el tipo de indicador más apropiado, tasa de consumo de oxígeno o cantidad acumulada, genera una gran confusión a la hora de comparar resultados y de elegir la técnica más apropiada.

Las metodologías se dividen en estáticas o dinámicas en función de si la medida de oxígeno se realiza en ausencia o presencia de aireación continua del material. Los métodos estáticos, más baratos y sencillos de realizar, tienen la desventaja de que subestiman el consumo de oxígeno cuando se analizan muestras sólidas, pues la velocidad de transferencia de oxígeno a la biomasa y a los microorganismos limita la llegada de éste al interior de las células. En los métodos dinámicos el aporte continuo de oxígeno evita este problema, sin embargo resultan más caros y necesitan personal con formación específica. En todos los casos, independientemente de la metodología utilizada, para conseguir resultados fiables es necesario que se mantengan unas condiciones óptimas para la actividad microbiana: temperatura adecuada, humedad adaptada (un exceso produce situaciones anaeróbicas, una falta reduce la actividad), balance de nutrientes equilibrado y ausencia de compuestos tóxicos. Además, se debe tener en cuenta que si la muestra presenta un alto contenido de bacterias nitrificantes se dará una sobreestimación de la tasa respiratoria, pues la nitrificación es un proceso que también produce consumo de oxígeno.

Tabla 1. Principales tipos de respirómetros.

Manométrico	Recipiente hermético (temperatura y volumen constantes) unido a un manómetro que registra el cambio de presión debido al consumo de oxígeno. Para evitar interferencias con la medida, el dióxido de carbono producido es absorbido con un hidróxido alcalino (K o Na) colocado en su interior. Es uno de los respirómetros más simples, precursor de los respirómetros volumétricos y electrolíticos.
Volumétrico	Funciona a presión constante, pues continuamente se nivela la presión interna con la presión externa a través de un líquido cuyo desplazamiento sobre una pipeta graduada equivale al volumen de oxígeno consumido. Como en el respirómetro manométrico, el dióxido de carbono producido es absorbido con un hidróxido alcalino.
Electrolítico	Funciona a volumen constante, de manera que cuando el manómetro registra el descenso de presión en la cámara (debido al consumo de oxígeno y al retiro químico del dióxido de carbono) se produce una cantidad de oxígeno que reemplaza al volumen perdido.
De entrada directa	A partir de una fuente de oxígeno puro, se produce una entrada de oxígeno por minuto equivalente a las diferencias de presión detectadas en ese tiempo.

2.2.1.a.2.a. Indicadores determinados por métodos estáticos

Los indicadores medidos por métodos estáticos son determinados según el consumo de una concentración determinada de oxígeno añadida a la muestra de forma puntual, bajo unas condiciones particulares de humedad, peso, volumen y temperatura. Son utilizados tanto en muestras sólidas como en líquidas. En el caso de las muestras sólidas, tal y como ya se ha comentado, se produce una subestimación del consumo de oxígeno por problemas de difusión, que no se produce en muestras líquidas. Algunos autores proponen realizar suspensiones acuosas para el análisis de productos sólidos, sin embargo aunque de este modo se corrige el problema debido a la difusión, aparecen otros inconvenientes como el hecho de que es una situación artificial y las condiciones reales en las que se encuentra el material no son reflejadas (Lasaridi and Stentiford, 1998).

MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS

Son numerosos los índices de consumo de O_2 determinados por métodos estáticos que se pueden encontrar en la bibliografía, sin que haya un consenso sobre cual es el más adecuado para determinar la actividad biológica. En la Tabla 2 se recogen los más utilizados. Iannotti y colaboradores (1993) propusieron uno de los primeros índices, la tasa de consumo de oxígeno, obtenido al medir los cambios de concentración de oxígeno en el espacio de aire libre de un recipiente herméticamente cerrado, conteniendo una muestra sólida al 50-55% de humedad y una temperatura de 37°C. Adani y su equipo (2001) propusieron el índice respirométrico estático o IRE (SRI, static respirometric index), calculado como el oxígeno consumido por una muestra sólida al 75% de su capacidad de retención de agua trabajando en un reactor en condiciones adiabáticas. Barrena *et al.* (2005) emplearon los índices respirométricos: IR_T e IR_{37} (RI, respirometric index), para referirse al consumo de oxígeno de una muestra sólida de 250 ml de volumen, a 40-55% de humedad, en condiciones adiabáticas (IR_T) o a 37°C (IR_{37}).

A partir de la DBO o demanda bioquímica de oxígeno, parámetro usado rutinariamente en el tratamiento de aguas residuales para evaluar su nivel de contaminación orgánica, se han diseñado otros índices. La determinación de la DBO consiste en medir el consumo de oxígeno requerido por los organismos presentes (o inoculados, si la carga microbiana no es suficiente) para consumir la materia orgánica disuelta en el agua. Las muestras, o una dilución conveniente de las mismas, se incuban generalmente durante cinco días en oscuridad, midiéndose la disminución de la concentración de oxígeno disuelto al final de la incubación por el método Winkler (1888) o modificaciones del mismo. A partir del concepto de DBO, y con el objetivo de medir la estabilidad de material compostado, Lasiridi y Stentiford (1998) definieron dos índices ampliamente utilizados en la actualidad: la velocidad específica de consumo de oxígeno (SOUR, Specific oxygen uptake rate) y el consumo acumulado de oxígeno en 20 horas (OD_{20} , oxygen demand at 20 h). Para determinar estos índices se utiliza una sonda de oxígeno disuelto que mide los cambios en la concentración de oxígeno de una muestra en suspensión mantenida a 30°C. Este método puede ser aplicado también a muestras sólidas realizando una suspensión de las mismas.

Las normativas alemana y austriaca, por su parte, recomiendan utilizar como indicador de estabilidad de bioresiduos el índice AT_4 . Este índice representa el consumo acumulado de O_2 en 4 días de una muestra sólida en condiciones de saturación de agua y 20°C de temperatura. Fue propuesto por Binner y Zach (1999) quienes igualmente diseñaron para su determinación el respirómetro Sapromat E.

Tabla 2. Indicadores determinados por métodos estáticos.

			Muestra				Ensayo	
Índice	Nombre	Ref.(1)	Estado(2)	Peso	Tamaño (mm)	Humedad	Tiempo(4)	T(°C)
Tasa de consumo de O ₂		1	S	60 g	< 9.5	50-55 %	I: 16 h E: 1 h	37
ISR	Índice respirométrico estático	2	S	≤ 50 Kg	< 50 si necesario(3)	75 % capacidad retención agua	E: 3 h	A(5)
RI _T	Índice respirométrico	3	S	250 ml	< 10 si necesario(3)	40-55%	I: 4 h E: 1,5 h	A(5)
RI ₃₇	Índice respirométrico	3	S	250 ml	< 10 si necesario(3)	40-55%	I: 18 h E: 1,5 h	37
SOUR	Consumo específico de O ₂	4	L	3-8 g	< 9.5	-	E: 20 h	30
OD ₂₀	Consumo acumulado de O ₂ en 20 h	4	L	3-8 g	< 9.5	-	E: 20 h	30
Solid SOUR	SOUR en muestras sólidas	4	S	3-8 g	< 9.5	Suspensión acuosa	E: 20 h	30
AT ₄	Actividad respirométrica acumulada en 4 días	5	S	50 g	< 10	Saturación	E: 4 d	20

(1) Referencias: **1.** Ianotti *et al.*, 1993; **2.** Adani *et al.*, 2001; **3.** Barrena *et al.*, 2005; **4.** Lasaridi y Stetinford, 1998; **5.** Binner and Zach, 1999.

(2) Estado: sólido (S), líquido (L).

(3) Cuando se trabaja con la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos, la muestra se ha de tamizar a 50 mm en el indicador ISR y a 10 mm en RI_T y RI₃₇.

(4) I: tiempo de incubación; E: tiempo de ensayo.

(5) A: temperatura del proceso.

Los índices descritos son ampliamente utilizados en compostaje para evaluar la evolución del proceso y la estabilidad del producto final. En compost de lodos de depuradora son numerosos los estudios que los emplean, así por ejemplo, Scaglia y colaboradores (2000) determinan la estabilidad de un compost de lodos de depuradora de aguas domésticas con el índice SRI; Nikaeen *et al.* (2015) emplean el índice SOUR y Gea *et al.* (2004) emplean el IR₃₇. En lodos tratados por otros métodos diferentes del compostaje, las referencias al empleo de estos indicadores son escasas: Zhao y colaboradores (2011) evaluaron la biodegradabilidad de lodos biosecados determinando la velocidad de consumo de oxígeno a 35° y 50°C durante 16 días (Zhao *et al.*, 2011) y Lukicheva *et al.* (2012) emplearon el índice OD₂₀ para estudiar la estabilidad de lodos digeridos anaeróbicamente y lodos secados al aire.

Nombre:	Indicadores basados en el consumo de O₂ determinados por métodos estáticos
Referencia:	Ver tabla 2.
Base metodológica:	Determinación del consumo de una concentración determinada de oxígeno añadida a la muestra de forma puntual.
Aplicación:	Ampliamente utilizados en el área del compostaje, lodos de depuradora incluidos, para seguir la evolución del proceso y como medida de estabilidad del producto final. Escasas citas en lodos no compostados.
Ventajas:	Resultan más sencillos y económicos que los métodos dinámicos.
Inconvenientes:	<ul style="list-style-type: none"> - En muestras sólidas, subestimación de la velocidad de consumo oxígeno debido a la limitación que supone la velocidad de difusión del oxígeno. - En muestras sólidas, es difícil obtener una medida precisa de la fracción del volumen del recipiente disponible para el aire, dato necesario para poder calcular el O₂ consumido. - Falta de estandarización. Gran cantidad de indicadores con distintas condiciones para su determinación, lo que dificulta la comparación de resultados.

2.2.1.a.2.b. Indicadores determinados por métodos dinámicos

Los indicadores basados en el consumo de oxígeno determinados empleando métodos dinámicos se calculan a partir de la concentración de oxígeno a la entrada y a la salida de un respirómetro en el que el aire circula ininterrumpidamente sobre la muestra. Los aparatos

MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS

empleados son más complejos que los utilizados en respirometría estática, pero presentan la ventaja de no limitar la degradación de la materia orgánica puesto que se realiza un aporte continuo de oxígeno y además, se minimizan los problemas asociados a su difusión cuando se trabaja con muestras sólidas.

Los principales indicadores calculados por respirometría dinámica se recogen en la Tabla 3. El más utilizado es el que fue diseñado inicialmente por Adani y colaboradores (2001), llamado índice respirométrico dinámico o IRD (DRI, dynamic respirometric index), calculado como la media de consumo de oxígeno en 24 horas de máxima actividad durante un periodo de observación de 4 días. En función de las condiciones de operación escogidas, se habla de IRD real o IRDR (RDRI), cuando la muestra se ha analizado sin modificar su humedad, y de IRD potencial o IRDP (RDRP), cuando el contenido de humedad de la muestra ha sido optimizado. En ambos casos el análisis se realiza en condiciones adiabáticas, respetando la temperatura del proceso, lo que supone una gran ventaja pues el ensayo se produce en unas condiciones analíticas muy similares a las reales. En diversas regiones italianas, el IRD determinado al 75% de capacidad de campo de la muestra es el índice oficial empleado para considerar un compost apto para uso agrícola de acuerdo a su estabilidad, considerándose, según la región, valores límite máximos entre 0,5 y 1 g O₂ g⁻¹ VS⁻¹ h⁻¹. Otro índice empleado es el AT₄ desarrollado por la American Society for Testing and Materials (ASTM, 1996) que propone calcular la actividad respirométrica acumulada en 4 días trabajando a 58°C. Esta sociedad recomienda un AT₄ de 35-50 g O₂ Kg⁻¹ VS⁻¹ para considerar un compost estable. Es importante señalar el solapamiento de nomenclatura existente entre este índice y el AT₄ propuesto por Binner y Zach (1999), calculado a 20°C y determinado por un método estático, ya descrito en el apartado anterior. Ponsá y colaboradores (2010) midieron de forma continua el consumo de oxígeno de una muestra a 37°C durante 8 días, calculando distintos índices, como el IRD_{max}, representando el IRD máximo en esos 8 días, el IRD₂₄, calculado de forma similar al IRD propuesto por Adani *et al.*, (2001), pero determinado a 37°C, en lugar de condiciones adiabáticas, y el AT₂₄, o consumo de oxígeno acumulado en 24 horas de máxima actividad.

Como muestra del interés de los métodos dinámicos, la Comisión Europea, en su segundo borrador del Tratamiento Biológico de Bioresiduos (Biological treatment of Biowaste, 2nd draft, 2001), previo a la Directiva de Residuos actual (Waste Framework Directive 2008/98/EC), define el concepto de estabilidad como la reducción de las propiedades del bioresiduo (definido como aquel residuo capaz de ser descompuesto aeróbica o anaeróbicamente, tales como comida, restos de jardinería, papel y cartón) hasta que los olores molestos sean minimizados y la actividad respiratoria tras cuatro días (AT₄) sea menor de 10 mg O₂ g ms⁻¹ o el índice de respiración dinámico sea menor de 1 g O₂ Kg⁻¹ SV⁻¹ h⁻¹. Para calcular el índice de respiración dinámico recomienda el método ASTM D 5975-96; pero no especifica el método a emplear para determinar el AT₄. Por otro lado, La Agencia de Medio Ambiente del Reino Unido propone el índice DR₄ para evaluación de la estabilidad de

MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS

bioresiduos urbanos, basándose en el consumo de oxígeno de una muestra al 50% de humedad y 35°C (Godley *et al.*, 2005).

Nombre:	Indicadores basados en el consumo de O₂ determinados por métodos dinámicos
Referencia:	Ver Tabla 3
Base metodológica:	Determinación de consumo de O ₂ en respirómetro con flujo continuo de aire.
Aplicación:	Utilizados principalmente en compostaje, lodos de depuradora incluidos (Scaglia <i>et al.</i> , 2000; Tremier <i>et al.</i> , 2005).
Ventajas:	<ul style="list-style-type: none"> - El flujo de aire continuo no limita la degradación de la materia orgánica, ni la difusión de O₂ por la muestra. - En general, se opera con volúmenes mayores que en la respirometría estática, optimizando la representatividad de la muestra. - El ensayo se produce en unas condiciones analíticas muy similares a las reales. - Ampliamente empleado, siendo recomendado por diversos organismos (ASTM, Comisión Europea).
Inconvenientes:	<ul style="list-style-type: none"> - Elevado coste. - Se necesita personal especializado. - Falta de estandarización. Gran cantidad de indicadores con distintas condiciones para su determinación, lo que dificulta la comparación de resultados.

Tabla 3. Indicadores determinados por métodos dinámicos.

Índice	Nombre	Ref.(1)	Muestra				Ensayo	
			Estado(2)	Peso	Tamaño (mm)	Humedad	Tiempo ensayo	Temp. (°C)
IRDR	Índice respirométrico dinámico real	1	S	≥ 50 Kg	< 50 si necesario(3)	Sin ajustar	4 d	A(4)
IRDP	Índice respirométrico dinámico potencial	1	S	≥ 50 Kg	< 50 si necesario(3)	Humedad óptima	4 d	A(4)
AT ₄	Actividad respirométrica acumulada en 4 días	2	S	500 g	< 10	50%	4 d	58
IRD _{max}	Índice respirométrico dinámico máximo	3	S	100-125 g	< 15 si necesario(3)	Sin ajustar	8 d	37
IRD ₂₄	Índice respirométrico dinámico en las 24 h de máxima actividad	3	S	100-125 g	< 15 si necesario(3)	Sin ajustar	8 d	37
AT ₂₄	Consumo acumulado de oxígeno en 24 h de máxima actividad	3	S	100-125 g	< 15 si necesario(3)	Sin ajustar	8 d	37
DR ₄	Actividad respirométrica acumulada en 4 días	4	S	400 g ms	< 10	50%	4 d	35

(1) Referencias: **1.** Adani *et al.*, 2001; **2.** ASTM, 1996; **3.** Ponsá *et al.*, 2010; **4.** Godley *et al.*, 2005.

(2) Estado: sólido (S), líquido (L).

(3) Según el tipo de residuo la muestra ha de ser tamizada.

(4) A: temperatura del proceso.

2.2.1.b. Actividad deshidrogenasa

Las deshidrogenasas son enzimas implicadas en la respiración celular que catalizan la oxidación de sustratos orgánicos mediante procesos de deshidrogenación, por lo que su medida refleja la actividad microbiana global. La actividad deshidrogenasa es un indicador preciso y sensible, ampliamente reconocido y utilizado, empleado para evaluar la actividad biológica de suelos y la estabilidad de residuos de distinta naturaleza, incluyendo lodos de depuradora (Bucksteeg and Thiele, 1959; López *et al.*, 1986; Chung and Neethling, 1989; Nikaeen *et al.*, 2015). La metodología de determinación más habitual se basa en el uso de sales solubles de tetrazolio que al ser reducidas por la acción de las deshidrogenasas forman compuestos de color rojo, formazanos, cuya concentración puede ser cuantificada por colorimetría. En general no existen valores recomendados para considerar un material estable, salvo en el área del compostaje, donde se sugiere un valor de 0,60 mg de TPF (trifenilformazan) $\text{g ms}^{-1} \text{d}^{-1}$ para compost de restos de poda (Benito *et al.*, 2005) y 0,78 mg de TPF $\text{g ms}^{-1} \text{d}^{-1}$ para compost de lodos de depuradora (Nikaeen *et al.*, 2015).

Nombre:	Actividad deshidrogenasa
Referencia:	Trevors <i>et al.</i> , 1982.
Base metodológica:	Cuantificación por colorimetría de la concentración de formazanos producida por acción de las deshidrogenasas sobre sales de tretazolio.
Aplicación:	Medida de actividad global en suelos y residuos, lodos de depuradora incluidos (Bucksteeg and Thiele, 1959; López <i>et al.</i> , 1986; Chung and Neethling, 1989; Nikaeen <i>et al.</i> , 2015).
Ventajas:	Sensible, preciso y sencillo.
Inconvenientes:	- Inhibición para $\text{pH} < 5$. - Sólo existen valores de referencia de estabilidad de un residuo para aquellos que han sido compostados.

2.2.1.c. Determinación del ATP

En la descomposición de la materia orgánica por los microorganismos se produce una generación de energía que éstos acumulan en sus células en forma de moléculas de ATP, moléculas que, una vez hidrolizadas, pondrán de nuevo a su disposición la energía necesaria para el mantenimiento de sus funciones. El ATP es por tanto, un compuesto esencial celular que sirve como indicador de biomasa activa y actividad biológica,

utilizándose tanto para cuantificar la masa microbiana como la biodegradabilidad. Al igual que la actividad deshidrogenasa, es empleado como medida de actividad en suelos y en residuos, incluyendo lodos de depuradora tratados aeróbica y anaeróbicamente, aunque su uso es menos frecuente ya que la metodología empleada para su medida es más complicada. Para su determinación, el ATP es extraído de la muestra con un extractante (H_2SO_4 , $NaHCO_3$; Tris-EDTA,...) y posteriormente cuantificado por técnicas tales como cromatografía líquida de alta presión (HPLC), el test de bioluminiscencia (Chiu *et al.*, 1973), o el método del fósforo (Zhanpeng et al 2000). El test de bioluminiscencia es el más utilizado, consistiendo en una reacción de catálisis enzimática empleando el sistema luciferina-luciferasa, cuyo resultado es la emisión de luz. La luciferasa es una enzima que en presencia de magnesio y por acción del ATP, cataliza el paso de la D-luciferina a oxiluciferina excitada electrónicamente, la cual cuando vuelve a su estado normal, no excitado, produce una emisión de luz proporcional a la cantidad de ATP presente o de ATP producido por unidad de tiempo. En el método del fósforo, descrito por Yuxin (1990), la determinación se realiza midiendo el ortofosfato generado a partir de las moléculas de ATP tras digestión con ácido nítrico y sulfúrico (Zhanpeng et al 2000).

Nombre:	Determinación del ATP (método luciferina-luciferasa)
Referencia:	Chiu <i>et al.</i> ,1973.
Base metodológica:	Catálisis enzimática empleando el sistema luciferina-luciferasa cuyo resultado es la emisión de luz. La intensidad luminosa es proporcional a la concentración de ATP.
Aplicación:	Medida de biomasa microbiana y actividad global en suelos y residuos, lodos incluidos (Chiu <i>et al.</i> , 1973; Chung and Neethling, 1988).
Ventajas:	Sensibilidad (permite detectar concentraciones de 10^{-11} moles l^{-1}).
Inconvenientes:	Proceso complicado y baja estabilidad de los reactivos.

2.2.1.d. Otras actividades enzimáticas

Existen numerosas enzimas (fosfatas, glucosidasas, ...) que han sido empleadas en estudios de actividad biológica de suelos y en evaluación de procesos de compostaje de residuos tales como restos vegetales y residuos sólidos urbanos; sin embargo las referencias de su empleo en estudios de estabilidad de lodos de depuradora son esporádicos. Podemos encontrar trabajos como el de Nikaeen y colaboradores, (2015), que

aplican la determinación de la hidrólisis del diacetato de fluoresceína, indicador empleado en estabilidad de compost, al caso concreto de compost de lodos de depuradora, pero son referencias aisladas, dificultando la interpretación y comparación de resultados.

2.2.2 Anaerobios

Los indicadores anaeróbicos están basados en la medida de la actividad biológica en ausencia de oxígeno. En condiciones anaerobias los microorganismos degradan la materia orgánica produciendo biogás, el cual está constituido principalmente por metano y dióxido de carbono además de pequeñas proporciones de otros gases tales como hidrógeno, nitrógeno, oxígeno y sulfuro de hidrógeno. La cuantificación del biogás o de alguno de sus componentes en particular, producidos en un tiempo y condiciones determinadas, es la base de distintos indicadores empleados para evaluar la estabilidad de diferentes residuos. El material es inoculado con una cantidad estipulada de lodo de depuradora digerido que sirve como fuente de microorganismos (la inoculación no es necesaria si se evalúa un material que por su naturaleza ya disponga de una carga elevada de microorganismos anaeróbicos) y estos microorganismos degradan la materia orgánica disponible produciendo gases que pueden ser cuantificados por distintos medios, como por ejemplo con respirómetros o por cromatografía de gases. Al igual que en los indicadores aeróbicos basados en el consumo de oxígeno, los índices utilizados son diversos, existiendo una importante falta de estandarización con condiciones de incubación variables, falta de consenso en la cantidad de inóculo aportado y empleo de distintas técnicas de medida de gases.

2.2.2.a. Producción acumulada de biogás

La medida de producción de biogás en 21 días (GB_{21} o BP_{21}) es uno de los indicadores ampliamente utilizados para evaluar la estabilidad de distintos residuos, siendo recomendado en diferentes legislaciones. Así por ejemplo, en Alemania, la Ordenanza para el almacenamiento en vertedero y en plantas de tratamiento de residuos de material de procedencia humana (lodos de depuradora incluidos) (GFME, 2001), y en Austria, la Regulación para el tratamiento mecánico-biológico de residuos (BMLFUW, 2002), establecen como indicador de biodegradabilidad el GB_{21} , estipulando valores máximos de 20 l Kg ms^{-1} . En distintos estudios se ha comprobado que a los 55 días aún se sigue produciendo biogás, por lo que se han diseñado indicadores con tiempos de incubación superiores, como el GS_{90} (producción a los 90 días) (Godley *et al.*, 2003) o el BP_F (producción hasta que no se emite más biogás) (Barrena *et al.*, 2009); sin embargo el GB_{21} sigue siendo considerado un buen indicador de la biodegradabilidad global del material.

Nombre:	Producción acumulada de biogás
Referencia:	DIN 38414 – 8 (GB ₂₁)
Base metodológica:	Biodegradación con lodo digerido inoculado y medida del biogás producido tras 21 días de incubación en condiciones anaerobias.
Aplicación:	Aplicado en residuos urbanos y recogido en legislaciones de almacenamiento de residuos en vertederos (lodos de depuradora incluidos) (GFME, 2001; BMLFUW, 2002).
Ventajas:	Se puede realizar con dispositivos sencillos.
Inconvenientes:	- Duración del ensayo de 21 días. -Aumento de la variabilidad y de la incertidumbre ante la necesidad de utilizar inóculo.
Variaciones:	Indicadores con tiempos de incubación mayores como GS ₉₀ (90 días) (Godley <i>et al.</i> , 2003) o BP _F (hasta fin de emisión de biogás) (Barrena <i>et al.</i> , 2009).

2.2.2.b. Producción acumulada de metano

Existen distintos índices determinados de forma similar a los descritos en el apartado anterior, en los que por cromatografía de gases se determina qué volumen del biogás producido corresponde a metano. Fueron desarrollados inicialmente con el objetivo de evaluar la cantidad máxima de metano que un sustrato es capaz de producir y así determinar su eficiencia energética, pero en la actualidad son también ampliamente aplicados en el campo de la estabilización de residuos. Owen y colaboradores (1979) diseñaron una de las primeras metodologías, empleando botellas de suero convencionales para cultivos anaeróbicos, donde se incubaba la muestra durante 30 días con un suero mineral inoculado con microorganismos anaerobios. Con un dispositivo basado en un respirómetro manométrico, se extraía periódicamente el gas producido y se determinaba el volumen correspondiente a metano. A partir de esta técnica se han desarrollado diferentes métodos que difieren principalmente en las condiciones de incubación, como el BMP₂₁ (potencial bioquímico de producción de metano en 21 días) o el BM₁₀₀ (producción de metano en 100 días), éste último es uno de los indicadores recomendados por la Agencia del Medio Ambiente del Reino Unido para determinar la estabilidad de los residuos almacenados en vertedero (Godley *et al.*, 2007).

Nombre:	Producción acumulada de metano
Referencia:	Owen <i>et al.</i> , 1979.
Base metodológica:	Biodegradación con inóculo de microorganismos anaerobios y medida del metano producido tras incubación en condiciones anaerobias.
Aplicación:	Aplicado para evaluar el potencial de un sustrato para producir metano y para determinar la biodegradabilidad de un residuo. Recomendado por la Agencia del Medio Ambiente del Reino Unido para la disposición de material en vertedero (Godley <i>et al.</i> , 2007).
Ventajas:	Se puede realizar con dispositivos sencillos.
Inconvenientes:	- Duración prolongada del ensayo. -Aumento de la variabilidad y de la incertidumbre ante la necesidad de utilizar inóculo.
Variaciones:	Métodos con variaciones en las condiciones de incubación, sobre todo en los tiempos, ejemplos: 21 días (Ponsá <i>et al.</i> , 2008), 30 días (Owen <i>et al.</i> , 1979); 56 días (Shelton and Tiedje, 1984), 100 días (Godley <i>et al.</i> , 2007) o hasta fin de emisión de metano (Ponsá <i>et al.</i> , 2008).

2.2.2.c. Índice negro de sulfuro de hidrógeno

El sulfuro de hidrógeno es otro gas que se produce como consecuencia de la degradación de la materia orgánica en condiciones anaerobias. Presenta un olor muy característico a huevos podridos por lo que su detección y valoración se suelen englobar en el conjunto de técnicas basadas en la presencia o ausencia de olores. Tradicionalmente se ha medido por el test de acetato, metodología que se basa en el cambio de coloración de un papel impregnado con acetato de plomo tras reacción de éste con el sulfuro de hidrógeno. Ya en el año 1914, McBride y Edwards lo emplearon para detectar el sulfuro de hidrógeno contenido en gases y Hartman (1978) propuso su uso para evaluar la estabilidad de lodos estabilizados aeróbicamente determinando la generación de H₂S en condiciones determinadas. Actualmente el papel de acetato de plomo está comercialmente disponible en el formato de tiras de papel de filtro ya impregnadas, lo que facilita su uso. Cossu y Raga (2008) han propuesto el índice negro (BI), para evaluar la estabilidad biológica de residuos sólidos urbanos destinados a vertedero. La muestra se incubada en anaerobiosis a 35°C en el interior de una botella con tiras de papel suspendidas en el espacio libre, midiéndose el tiempo requerido para que se produzcan cambios en la coloración del papel. El BI es calculado como la inversa del tiempo necesario para que el papel cambie de color por unidad de

MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS

materia seca ($\text{BI d}^{-1} \text{ Kg ms}^{-1}$). Valores elevados indican residuos biológicamente activos y poco estables. BI bajos corresponden a cierta estabilización, pero sin indicar en qué grado, por lo que es un método recomendado principalmente como prueba preliminar de bajo coste.

Nombre:	Índice negro de sulfuro de hidrógeno
Referencia:	Cossu and Raga, 2008.
Base metodológica:	Reacción del sulfuro de hidrógeno producido en condiciones anaeróbicas con acetato de plomo.
Aplicación:	Escasas referencias. Cossu and Raga (2008) lo emplean en la evaluación de estabilidad de residuos tratados para vertedero. En lodos de depuradora, Hartman (1978) evaluó la estabilidad de lodos digeridos aeróbicamente estudiando la producción de sulfuro de hidrógeno por reacción con acetato de plomo.
Ventajas:	<ul style="list-style-type: none"> - Sencillo y barato. - Puede usarse como test preliminar.
Inconvenientes:	<ul style="list-style-type: none"> - No indica el grado de estabilización en residuos con BI bajo. - No se puede emplear en residuos con bajo contenido en sulfuro.

2.2.2.d. Indicadores basados en la producción de dióxido de carbono

El CO_2 es otro de los gases emitidos en condiciones de anaerobiosis por la degradación de materia orgánica y que es susceptible de ser medido. Sin embargo, las referencias de su uso como índice de estabilidad son prácticamente inexistentes. Parravicini y colaboradores (2006) midieron el CO_2 contenido en el biogás producido en un estudio de estabilidad de lodos digeridos, empleando tubos Dräger (viales colorimétricos que cambian de color por reacción del sustrato que contienen con el CO_2), pero no contemplaron la posibilidad de que existiera una relación entre producción de CO_2 y estabilidad.

2.3. OTROS

2.3.1. Intensidad de olor

La ausencia o disminución del olor de los lodos se ha considerado tradicionalmente como un indicador de su grado de fermentabilidad. De hecho las técnicas de estabilización de lodos comenzaron a ser desarrolladas con el objetivo de solucionar los problemas asociados al manejo de estos residuos especialmente malolientes. Son diversos los compuestos responsables del olor (H_2S , mercaptanos de indol, ácidos grasos volátiles, ...), sin embargo, su detección no implica necesariamente que el lodo sea inestable, ni su ausencia indica siempre estabilidad, a causa de posibles enmascaramientos y sinergias (Bruce, 1983). Su uso está más adaptado al control de procesos aeróbicos para vigilar el posible desarrollo de condiciones anaeróbicas que como medida de estabilidad. Uno de los métodos empleados para cuantificar la intensidad del olor es la técnica del valor umbral de dilución. Consiste en determinar el número de diluciones de aire necesarias, para que la mitad de las personas que integran un panel de prueba considere que el aire está libre de olores. Se expresa en unidades europeas de olor respecto al volumen de aire ($OU_E m^{-3}$), existiendo un estándar Europeo de 2003 que regula este procedimiento (DIN EN 13725). Otras técnicas empleadas son aquellas que determinan por cromatografía de gases los componentes volátiles producidos, como por ejemplo, la descrita por Glindemann y colaboradores (2006) donde tras incubar la muestra en botellas selladas se realiza la determinación de los gases en el espacio vacío; o la indicada por el California Compost Quality Council, en su publicación del compost maturity index (2001), donde se determinan los ácidos grasos volátiles generados tras la incubación de la muestra en suspensión acuosa y agitación.

Nombre:	Intensidad de olor
Referencia:	DIN EN 13725 (2003)
Base metodológica:	Determinación del número de diluciones de aire necesarias para que la mitad de las personas que integran un panel de prueba considere que el aire está libre de olores.
Aplicación:	Base común para la evaluación del olor en los estados de la UE.
Ventajas:	Estandarizado
Inconvenientes:	- La no existencia de olor no implica necesariamente estabilidad. - Medida subjetiva
Variaciones:	ASTMD6273–14: Standard Test Methods Natural Gas Odor Intensity

2.3.2. Capacidad de autocalentamiento

Los procesos biológicos que tienen lugar en condiciones aeróbicas son actividades exotérmicas que generan calor. De este modo, la evaluación del autocalentamiento o capacidad de producir calor de un material es considerado como indicador de actividad biológica y por tanto de su nivel de estabilidad. En el área del compostaje, dado que la generación de calor es uno de los aspectos definitorios del proceso, el estudio de la capacidad de autocalentamiento del material es ampliamente utilizado tanto para seguir la evolución del proceso como para evaluar la estabilidad del material final. En las primeras etapas de un compostaje se producen importantes incrementos en la temperatura de la biomasa, generándose gran cantidad de calor, mientras que al final las temperaturas bajan, apenas varían y el calor generado es muy limitado. El test de autocalentamiento mide el incremento de temperatura producido por la actividad microbiana de una muestra, cuando se ha mantenido dentro de un recipiente aislado térmicamente, en condiciones de humedad controladas, durante un tiempo determinado. La generación de calor se manifiesta si se alcanzan las condiciones adecuadas para el desarrollo microbiológico, especialmente en aquello que se refiere a aireación y humedad. Jourdan (1982) empleó por primera vez los vasos de Dewar (recipientes que proporcionan aislamiento térmico, disminuyendo las pérdidas de calor por conducción, convección y radiación) para evaluar la capacidad de autocalentamiento de un compost; desde entonces son ampliamente utilizados en este tipo de determinaciones. El registro del incremento de temperatura producido respecto a la temperatura ambiente durante 8-10 días permite obtener una curva que, a través de su pendiente, temperatura máxima alcanzada y el área bajo la curva existente, permite calcular la generación total de calor biológico y estimar de forma indirecta la actividad respirométrica (Koenig and Bari, 2000). Brinton y colaboradores (1995) propusieron una escala de estabilidad de compost con cinco niveles en función de la diferencia de temperaturas existente entre la máxima temperatura alcanzada en 10 días y la temperatura ambiente; así por ejemplo, si el incremento era de 0 a 10^o C, el compost se consideraba de tipo V, muy estable; si por el contrario, la diferencia era de 40-50^oC, o superior, el material se consideraba crudo (material de tipo I). Igualmente el test Rottegrade (UNE-EN 16087-2: 2012) establece una clasificación de madurez de compost en función de la temperatura máxima alcanzada en 10 días, con una temperatura ambiente constante a 20^oC y una muestra con una humedad del 40%.

El principal inconveniente de los tests de autocalentamiento es que las características de la biomasa (porosidad, grado de compactación, grado de humedad, tamaño de partícula,...) y del proceso (tamaño del recipiente) afectan a la generación de calor, dificultando su reproducibilidad y comparación entre experiencias. Es especialmente inadecuado en muestras como lodos de depuradora que no presentan las propiedades físicas adecuadas para la generación de calor, debido a su falta de porosidad, elevada compactación y humedad, a no ser que se añadan agentes descompactantes que mejoren su aireación y reduzcan el contenido en agua. Además, el uso y la interpretación de este test debe de realizarse teniendo en cuenta que el incremento de temperatura producido puede ser debido

MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS

también a actividad exotérmica química o incluso a actividad biológica no relacionada con la respiración celular.

Nombre:	Capacidad de autocalentamiento
Referencia:	Jourdan, 1982.
Base metodológica:	Determinación de la generación de calor como consecuencia de la actividad microbiana.
Aplicación:	Ampliamente utilizado en compostaje (LAGA, 1984; California Compost Quality Council, 2001).
Ventajas:	Fácil, económico y práctico.
Inconvenientes:	<ul style="list-style-type: none"> - La generación de calor se ve muy afectada por las condiciones de humedad, compactación, porosidad, tamaño partícula,...; dificultando la reproducibilidad. - Existencia de reacciones exotérmicas tanto biológicas como químicas. - Especialmente inadecuado para lodos de depuradora a no ser que se utilicen agentes descompactantes.

3. METODOLOGÍAS Y LÍMITES ESTABLECIDOS EN LA LEGISLACIÓN

Europa

En Europa, la Directiva del Consejo de 12 de junio de 1986 relativa a la protección del medio ambiente y, en particular, de los suelos, en la utilización de lodos de depuradora en agricultura (86/278/CEE), indica que solamente podrán ser empleados aquellos lodos que hayan sido tratados por algún medio que reduzca su poder de fermentación y sus efectos sanitarios negativos; sin embargo, no se especifica ni cuánto ni cómo evaluar esta reducción. Se establecen límites claros únicamente de pH, contenido en humedad, materia orgánica, nitrógeno, fósforo y metales pesados, pero no se trata de parámetros que estén directamente relacionados con la fermentabilidad de un lodo. Esta situación ha permitido que en cada país se interprete de forma diferente el requerimiento de que un lodo sea tratado previamente a su aplicación. La mayoría de los estados han introducido estándares de calidad más restrictivos que los de la Directiva pero sin que tengan necesariamente relación con la estabilidad, como por ejemplo introduciendo limitaciones más estrictas del contenido de metales pesados, ampliación de los metales a considerar; inclusión de otros compuestos peligrosos (compuestos halogenados, benzopirenos, policlorobifenilos, policlorodibenceno furanos,...) y restricciones en la presencia de patógenos (*Escherichia coli*, *Salmonella spp.*,...). En definitiva, no existe ninguna normativa específica relativa a estabilidad de lodos. En la Tabla 4 se recogen los parámetros y los límites, en el caso de que existan, indicados en distintas legislaciones europeas relacionados con la estabilidad de residuos biodegradables, así como los indicadores propuestos en el último borrador elaborado por la Comisión Europea sobre el tratamiento biológico de bioresiduos (2001). También se han incluido valores relacionados con estabilidad de compost por englobar compost de lodos de depuradora.

EEUU

Se ha realizado una búsqueda de la normativa existente en EEUU, pues muchos de los indicadores encontrados han sido desarrollados en este país y son numerosos los estudios en el campo de los residuos biodegradables. Debido a la descentralización existente en Estados Unidos, es difícil hablar de una legislación única que regule el manejo de lodos en todo el país, ya que las normas pueden ser diferentes según el estado o incluso el área geográfica. Sin embargo, sí que existen unos estándares federales recomendados a nivel nacional por la Environmental Protection Agency (EPA) para el uso y aplicación de lodos: "Standards for the Use and Disposal of Sewage Sludge" (40 CFR Part 503, 1993). En estos estándares se regulan tanto los tratamientos previos a su aplicación en el campo, estableciéndose el nivel de reducción de patógenos y de atracción de vectores que deben conseguir, como las características del producto final, limitándose el contenido en metales pesados y en patógenos humanos. No existen indicaciones para conseguir la estabilidad de un lodo pero es cierto que las medidas para la reducción de atracción de vectores (insectos

u otros organismos vivos que pueden diseminar los patógenos contenidos en los lodos) están ligadas a la estabilidad, por lo que se pueden utilizar como referencia, aunque sin olvidar que no garantizan que un material sea completamente estable. En la Tabla 5 se recogen los requisitos necesarios para que un tratamiento de lodo consiga la reducción de atracción de vectores según la US EPA (1993; 2003)

Tabla 4. Indicadores de estabilidad en distintas legislaciones europeas.

Índice	Autor	Aplicación en legislación	Método	Expresión resultado	Valor límite	Campo
AT ₄	Binner and Zach, 1999	Alemania (GFME, 2001)	Respirometría Estática	mg O ₂ g TS ⁻¹ (96h)	5	Bioresiduos
AT ₄	Binner and Zach, 1999	Austria (BMLFUW, 2002)	Respirometría Estática	mg O ₂ g TS ⁻¹ (96h)	7	Bioresiduos
AT ₄	-(¹)	Comisión Europea (Biological Treatment of Biowaste, 2 nd draft, 2001)	-(¹)	mg O ₂ g TS ⁻¹ (96h)	10	Bioresiduos ⁽²⁾
DR ₄	Godley <i>et al.</i> , 2005	UK (Environment Agency, 2005)	Respirometría Dinámica	mg O ₂ g VS ⁻¹ o g ms ⁻¹ (96h)	-(¹)	Bioresiduos urbanos
IRD	Adani <i>et al.</i> , 2001	Comisión Europea (Biological Treatment of Biowaste, 2 nd draft, 2001)	Respirometría Dinámica	mg O ₂ g VS ⁻¹ h ⁻¹	1	Bioresiduos
IRD	Adani <i>et al.</i> , 2001	Italia (diversas regiones) (Dios, 2008)	Respirometría Dinámica	mg O ₂ g VS ⁻¹ h ⁻¹	0,5-1	Compost
IRE	Adani <i>et al.</i> , 2001	Italia (Regione de Basilicata y Sicilia) (Dios, 2008)	Respirometría Estática	mg O ₂ g VS ⁻¹ h ⁻¹	0,5	Compost
GB ₂₁	Binner and Zach, 1999	Alemania (GFME, 2001). Austria (BMLFUW, 2002)	Producción de biogás en 21 días	l biogás kg ms ⁻¹	20	Bioresiduos
BM ₁₀₀	Godley <i>et al.</i> , 2005	UK (Environment Agency, 2005)	Producción de biogás en 100 días	l biogás kg VS ⁻¹	-*	Bioresiduos urbanos

(¹) - No especificado

(²) Bioresiduo: cualquier residuo capaz de descomponerse de forma aeróbica o anaeróbica, como por ejemplo comida, restos de jardinería, papel y cartón (Biological treatment of Biowaste, 2nd draft, 2001)

Tabla 5. Opciones para la reducción de la atracción de vectores según US EPA (1993; 2003)

Opción	Requisito
1	Mínimo de un 38% de reducción de sólidos volátiles
2	Para biosólidos* anaeróbicamente digeridos que no cumplan la opción 1, demostrar con un ensayo de digestión aeróbica a escala de laboratorio una reducción menor del 17% de VS en 40 días a 30-37°C
3	Para biosólidos aeróbicamente digeridos que no cumplan la opción 1, demostrar con un ensayo de digestión aeróbica a escala de laboratorio una reducción menor del 15% de VS en 30 días a 20°C
4	Para biosólidos tratados aeróbicamente, $SOUR \leq 1.5 \text{ mg h}^{-1} \text{ g ms}^{-1}$ a 20°C
5	Tratamiento aeróbico de biosólidos a temperaturas mayores de 40°C (p.ej 45°C) durante un mínimo de 14 días
6	Aumento de pH por encima de 12, manteniéndose así durante 2 horas y posteriormente a un pH ≥ 11.5 durante 22 horas
7	Deseccación hasta alcanzar el 75% de sólidos totales, en el caso de que el biosólido tenga $\geq 75\%$ de TS y no contenga sólidos inestables
8	Deseccación hasta alcanzar el 90% de sólidos totales, en el caso de que el biosólido contenga sólidos inestables
9	Aplicación de biosólidos en el suelo enterrándolos
10	Incorporación directa al suelo

* Biosólidos: productos principalmente orgánicos resultantes del tratamiento de aguas domésticas residuales

4. OTROS LÍMITES

En la búsqueda bibliográfica realizada, además de los límites recogidos en la legislación, se han encontrado diversos valores propuestos por distintos autores. En la Tabla 5 se recogen referencias de lodos, aunque son escasas, así como valores recomendados para material compostado, incluidos por considerar que son aplicables a compost de lodos de depuradora.

Como ha podido verse a lo largo de este documento, la lista de índices relacionados con la estabilidad de un material es extensa; sin embargo la existencia de una gran diversidad de métodos, cada uno realizado en unas condiciones particulares, el empleo de distintas unidades para la expresión de resultados, así como el uso de nomenclaturas similares o solapadas, dificulta la comparación e interpretación de resultados. Si a esto se le une que la interpretación de lo que se considera como material estable varía de unos países a otros, el establecimiento de límites universales se complica enormemente.

Tabla 5. Límites de estabilidad propuestos por diferentes autores.

Índice	Autor	Organismo	Método	Unidades	Valor límite	Campo
AT ₄		ASTM (1996)	Respirometría dinámica	mg O ₂ g VS ⁻¹ (96h)	35-50	Compost
Actividad deshidrogenasa	Benito <i>et al.</i> , 2005			mg TPF gms ⁻¹ d ⁻¹	0,60	Compost verde
Actividad deshidrogenasa	Nikaeen <i>et al.</i> , 2015			mg TPF gms ⁻¹ d ⁻¹	0,78	Compost lodos
Carbono hidrosoluble	Zmora-Nahum <i>et al.</i> , 2005			mg Kg ⁻¹	4-10	Compost
IRD	Epstein, 1997		Respirometría dinámica	mg O ₂ g TS ⁻¹ h ⁻¹	0,5-1 estable	Compost
IRD	Scaglia <i>et al.</i> , 2000; Adani <i>et al.</i> , 2004		Respirometría dinámica	mg O ₂ g VS ⁻¹ h ⁻¹	0,5	Compost
IRD	European Committee for Standardization (2007)		Respirometría dinámica	mg O ₂ g TS ⁻¹ h ⁻¹	0,5	Compost
IRD	Barrena <i>et al.</i> , 2013		Respirometría dinámica	mg O ₂ g TS ⁻¹ h ⁻¹	0,002	Residuos orgánicos
IRE	Ianotti <i>et al.</i> , 1993		Respirometría estática	mg O ₂ g VS ⁻¹ h ⁻¹	0,5	Compost
OUR	Ianotti <i>et al.</i> , 1993	CCQC	Respirometría estática	mg O ₂ g TS ⁻¹ h ⁻¹	0,4	Compost
OUR	Haug, 1993		Respirometría estática	mg O ₂ g TS ⁻¹ h ⁻¹	0,02	Compost
OUR	De Guardia <i>et al.</i> , 2010		Respirometría dinámica	mg O ₂ g VS ⁻¹ h ⁻¹	0,5	Compost
VSS	Parraviccini <i>et al.</i> , 2006			gVSS PE _{COD110} ⁻¹ d ⁻¹	20	Lodos
SOUR	Tonkovic 1999		Respirometría estática	mg O ₂ g TS ⁻¹ h ⁻¹	1,5	Lodos
SOUR	Nowak <i>et al.</i> , 2002; Tonkovic 1999		Respirometría estática	mg O ₂ g VSS ⁻¹ h ⁻¹	2,5	Lodos
SOUR	Ianotti <i>et al.</i> , 1993	TMECC y CCQC	Respirometría estática	mg O ₂ g VS ⁻¹ dia ⁻¹	3	Compost
SOUR	Ianotti <i>et al.</i> , 1993	CCQC	Respirometría estática	mg O ₂ g VS ⁻¹ h ⁻¹	0,5	Compost
SOUR	Lasaridi and Stentiford 1998		Respirometría estática	mg O ₂ g VS ⁻¹ h ⁻¹	1	Compost

5. CONVENIO DE COLABORACIÓN

Este trabajo es fruto del convenio de colaboración entre IVIA (Centro para el Desarrollo de la Agricultura Sostenible) y la entidad DEPURACIÓN DE AGUAS DEL MEDITERRÁNEO, denominado "CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LODOS Y SUELOS. ESTABLECIMIENTO DE INDICADORES SOBRE FERMENTABILIDAD DE LOS LODOS".

6. BIBLIOGRAFIA

Adani, F., Lozzi, P.; Genevini, P. L. 2001. Determination of biological stability and oxygen uptake on municipal solid waste and derived products. *Compost Science and Utilization*, 9 (2): 163-178.

Adani, F.; Confalonieri, R.; Tambone, F. 2004. Dynamic Respiration Index as a descriptor of the biological stability of organic wastes. *Journal of Environmental Quality*, 33 (5): 1866-1876.

AFNOR NF T 90-101. 2001. Qualité de l'eau – Détermination de la Demande Chimique en Oxygène (DCO).

AFNOR NF U 44-160. 1985. Amendements organiques et supports de cultures – Détermination de la matière organique totale – Méthode par calcination.

American Society for Testing and Materials (ASTM). 1996. Standard test method for determining the stability of compost by measuring oxygen consumption. ASTM D5975 – 96.

American Society for Testing and Materials (ASTM). 2014. Standard Test Methods for Natural Gas Odor Intensity. ASTM D6273 – 14.

Balmér, P.; Kaffehr, B. 1980. Differential thermal analysis for the characterization of the stability of sludge. In L'Hermite, P; Ott, H. (Ed.): *Characterization, treatment and use of sewage sludge. Proceedings of the Second European Symposium, Vienna (Austria)*.

Barrena, R.; Vázquez, F.; Gordillo, M.; Gea, T.; Sánchez, A. 2005. Respirometric assays at fixed and process temperatures to monitor composting process. *Bioresource Technology*, 96: 1153-1159.

Barrena, R.; D'Imporzano, G.; Ponsá, S., Gea, T.; Artola, A., Vázquez, F. 2009. In search of a reliable technique for the determination of the biological stability of the organic matter in the mechanical-biological treated waste. *Journal of Hazardous Materials*, 162: 1065–1072

Barrena, R.; Artola, A.; Font, X.; Gea, T.; Pognani, M.; Ponsá, S.; Colón, J.; Ruggieri, L.; Sánchez, A. 2013. La respirometría como herramienta para la clasificación de la biodegradabilidad de residuos orgánicos. Resultados de la experiencia de 10 años. In: *Hacia un Sistema de Gestión Integral de los Residuos Sólidos. Proceedings del V Simposio Iberoamericano de Ingeniería de Residuos, Mendoza (Argentina)*.

Benito, M.; Masaguer, A.; De Antonio, R.; Moliner, A. 2005. Use of pruning waste compost as a component in soilless growing media. *Bioresource Technology*, 96 (5): 597-603.

Berthe, L.; Druilhe, C.; Massiani, C.; Tremier, A.; de Guardia, A. 2007. Coupling a respirometer and a pycnometer, to study the biodegradability of solid organic wastes during composting. *Biosystems Engineering*, 97 (1): 75-88.

Binner, E.; Zach, A. 1999. Laboratory test describing the biological reactivity of pretreated residual wastes. *Proceedings ORBIT* (1): 255-261.

Biological Treatment of Biowaste, 2nd draft, 2001. European Commission.

BMLFUW. 2002. Regulation for the mechanical-biological treatment of waste. Austrian Ministry of the Environment. Wien, Austria.

Brinton, W. F.; Evans, E.; Droffner, M. L.; Brinton, R. B. 1995. A standardized Dewar Test for evaluation of compost self-heating. *Biocycle*, 36 (11): 1-16.

Bruce, A. M. 1983. Assessment of sludge stability. *Proceedings of the E.E.C. Workshop on Methods of characterization of sewage sludge*. Dublin (Ireland).

Bucksteeg, W.; Thiele, H. 1959. Die Beurteilung von Abwasser und Schlamm mittels TTC. *Grass-und Wasserfach*. Germany, 100, 916.

California Compost Quality Council (CCQC). 2001. Compost Maturity Index. Technical report. <http://www.ccqc.org>

Chiu, S. Y.; Kao, I. C.; Erickson, L. E.; Fan, L. T. 1973. ATP pools in activated sludge. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 45 (8): 1746-1758.

Chung, Y. C.; Neethling, J. B. 1988. ATP as a measure of anaerobic sludge digester activity. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 60 (1): 108-112.

Chung, Y. C.; Neethling, J. B. 1989. Microbial activity measurements for anaerobic sludge digestion. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 61 (3): 343-349.

Cossu, R.; Raga, R. 2008. Test methods for assessing the biological stability of biodegradable waste. *Waste Management*, 28: 381-388.

De Guardia, A.; Mallard, P.; Teglia, A.; Marin, A.; Le Pape, C.; Launay, M.; Benoist, J. C.; Petiot, C. 2010. Comparison of five organic wastes regarding their behaviour during composting: Part 1, biodegradability, stabilization kinetics and temperature rise. *Waste Management*, 30: 402-414.

Directiva 86/278/CEE del Consejo, de 12 de junio de 1986, relativa a la protección del medio ambiente y, en particular, de los suelos, en la utilización de los lodos de depuradora en agricultura.

DIN 38414 – part 8. 1985. German Standardised Procedures for Testing of Water, Wastewater and Sludge; Sludge and Sediments (Group S); Determination of Fermentation Behaviour (S8). Beuth Verlag GmbH, Berlin.

DIN EN 13725 – 2003. Air quality – Determination of odour concentration by dynamic olfactometry.

Dios, M. 2008. Estudio y desarrollo de técnicas respirométricas para el control de la estabilidad del compost. Tesis Doctoral.

Environment Agency. 2005. Guidance on monitoring MBT and other pre-treatment processes for the landfill allowance schemes. England and Wales.

Epstein, E. 1997. The Science of composting. Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster, PA, USA: 129.

Esteban-Gutierrez, M.; Aymerich, E. 2012. Biometanización vs compostaje en la gestión de fango de EDAR y residuos agroalimentarios: estudio de un caso en Navarra. III Jornadas de la Red Española de Compostaje (REC). Santiago de Compostela (España).

European Commission Working Document. 2001. Biological treatment of biowaste, 2nd draft. (Directiva de Bioresiduos de la Comisión Europea).

European Committee for Standardization (ECS). 2007. Solid recovered fuels – Determination of potential rate of microbial self heating using the real dynamic respiration index. CEN/TS 15590.

Fall, C.; Millan-Lagunas, E.; Ba, K. M.; Gallego-Alarcon, I.; Garcia-Pulido, D.; Diaz-Delgado, C.; Solis-Morelos, C. 2012. COD fractionation and biological treatability of mixed industrial wastewaters. Journal of Environmental Management, 113: 71-77.

Gea, T.; Barrera, R.; Artola, A.; Sánchez, A. 2004. Monitoring the biological activity of the composting process: Oxygen Uptake Rate (OUR), Respirometric Index (RI) and Respiratory Quotient (RQ). Biotechnology and Bioengineering, 88: 520-527.

Glindemann, D.; Murthy, S.; Higgins, M.; Chen, Y.; Novak, J. 2006. Biosolids incubation method for odorous gas measurement from dewatered sludge cakes. Journal of Residuals Science & Technology, 3 (3): 153-160.

GFME. 2001. Ordinance on Environmentally Compatible Storage of Waste from Human Settlements and on Biological Waste Treatment Facilities, Berlin, Germany.

Godley, A.R.; Lewin, K.; Graham, A.; Smith, R. 2003. Environment Agency review of methods for determining organic waste biodegradability and municipal waste diversion. In Aqua Enviro Technology Transfer (Ed.). Proceedings of the 8th European Biosolids and Organic Residuals Conference, Wakefield (UK). Paper 74.

Godley, A.; Muller, W.; Frederickson, J.; Barker, H. 2005. Comparison of the SRI and DR4 biodegradation test methods for assessing the biodegradability of untreated and MBT treated municipal solid waste. In: Kühle-Weidemeier, M. (Ed.). International Symposium MBT 2005/Internationale Tagung MBA 2005. Cuvillier-Verlag (Germany): 548-559.

Godley, A.; Lewin, K.; Frederickson, J.; Smith, R.; Blakey, N. 2007. Application of DR4 and BM100 biodegradability tests to treated and untreated organic wastes. Proceedings of the Eleventh International Waste Management and Landfill Symposium. Sardinia (Italy). Paper 225.

Hartman, R. B.; Bennett, E. R.; Linstedt, K. D. 1978. New procedure determines sludge stability. *Water and Sewage Works*, 125 (4): 42-44.

Haug, R. T. 1993. *The practical handbook of compost engineering*. Lewis Publishers. Boca Raton (USA).

Herrero, O.; Fernández, J. M.; Hernández, D.; Montes, P.; Polo, A.; de la Peña, E. 2005. Mutagenicidad y ecotoxicidad de enmiendas orgánicas de suelos. *Revista de Toxicología*, 22 (1): 60-64.

Ianotti, D. A.; Pang, T.; Toth, B. L.; Elwel, D. L.; Keener, H. M.; Hoitink, H. A. J. 1993. A quantitative respirometric method for monitoring compost stability. *Compost Science and Utilization*, 1 (3): 52-65.

ISO 8245:1999. Guidelines for the determination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC).

Jourdan, B. 1982. Standardizing selected methods for determining the degree of decomposition of municipal composts. Univ. Stuttgart.

Koenig, A., and Bari, Q. H. 2000. Application of Self-Heating Test for Indirect Estimation of Respirometric Activity of Compost: Theory and Practice. *Compost Science and Utilization*, 8 (2): 99-107.

Körner, I.; Braukmeir, J.; Herenklage, J.; Leikam, K.; Ritzkowski, M.; Schelgelmilch, M.; Stegmann, R. 2003. Investigation and optimisation of composting process test systems and practical examples. *Waste Management*, 23: 17-26.

LAGA Merkblatt 10. 1984. Länderarbeitsgemeinschaft Abfall, working group "Compost Quality Criteria"; issued by the German Department of the Environment to clarify compost quality criteria within the Sewage Sludge Order, 1982 (AbfKlärV, BGBl, IS. 734).

Lasaridi, K. E.; Stentiford, E. I. 1998. A simple respirometric technique for assessing compost stability. *Water Research*, 32 (12): 3717-3723.

Lopez, J. M.; Koopman, B.; Bitton, G. 1986. INT-dehydrogenase test for activated sludge process control. *Biotechnology & Bioengineering*, 28: 1080-1085.

Lukicheva, I.; Tian, G.; Cox, A.; Granato, T.; Pagilla, K. 2012. Anaerobic and aerobic transformations affecting stability of dewatered sludge during long-term storage in a lagoon. *Water Environment Research*, 84 (1): 17-24.

McBride, R. S.; Edwards, J. D. 1914. Lead acetate test for hydrogen sulphide in gas. *Technologic Papers of the Bureau of Standards*, nº41. USA.

Nikaeen, M.; Nafez, A. H.; Bina, B.; Nabavi, B. F.; Hassanzadeh, A. 2015. Respiration and enzymatic activities as indicators of stabilization of sewage sludge composting. *Waste Management*, 39: 104-110.

Nowak, O.; Franz, A.; Svardal, K.; Müller, V. 1996. Specific organic and nutrient loads in stabilized sludge from municipal treatment plants. *Water Science & Technology*, 33 (12):243-250.

Nowak, O. 2002. Sewage sludge stabilisation at treatment plants without mesophilic digestion (in German). *Wiener Mitteilungen*, 177: 29-76.

Quatmane, A.; Provengano, M. R.; Hafdi, M.; Senesi, N. 2000. Compost maturity assessment using calorimetry, spectroscopy and chemical analysis. *Compost Science*, 8: 124-134.

Owen, W. F.; Stuckey, D. C.; Healy, J. B.; Young, L. Y.; McCarty, P. L. 1979. Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Water Research*, 13: 485-492.

Ozdemir, S.; Dede, O. H.; Dede, G. 2014. Comparison of the composting performance of four different sewage sludges amendments. *Compost Science & Utilisation*, 22 (4): 207-215.

Parravicini, V.; Smidt, E.; Svardal, K.; Kroiss, H. 2006. Evaluating the stabilisation degree of digested sewage sludge: investigations at four municipal wastewater treatment plants. *Water Science and Technology*, 53 (8): 81-90.

Ponsá, S.; Gea, T.; Alerm, L.; Cerezo, J.; Sánchez, A. 2008. Comparison of aerobic and anaerobic stability indices through MSW biological treatment process. *Waste Management*, 28: 2735-2742.

Ponsá, S.; Gea, T.; Sánchez, A. 2010. Different Indices to Express Biodegradability in Organic Solid Wastes. *Journal Environmental Quality*, 39: 706-712.

Ruggieri, L.; Gea, T.; Artola, A.; Sanchez, A., 2008. Influence of different co-substances biochemical composition on raw sludge co-composting. *Biodegradation* 19, 403-415.

Sanchez, M.; Hernandez, S; Bravo, C; Antolin, J.M.; Gallardo, T, 2010. Sustainable use of biodegradables products in agricultural fertilisation, reforestation, plant production and recovery of degraded areas. In: *Special Orbit. International Congress about Organic Soils and Organic Matter from Waste*. Valladolid (Spain).

Scaglia, B.; Tambone, F.; Genevini, P. L.; Adani, F. 2000. Respiration Index determination: dynamic and static approaches. *Compost Science and Utilisation*, 8 (2): 90-98.

Shelton, D. R.; Tiedje, J. M. 1984. General method for determining anaerobic biodegradation potential. *Applied and Environmental Microbiology*, 47 (4): 850-857.

Sobrados-Bernardos, L.; Smith, J. E. 2012. Controlling pathogens and stabilizing sludge/biosolids: a global perspective of where we are today and where we need to go. In: *26th Annual Conference on Residuals and Biosolids. Advancing residuals management: technologies and applications*, Raleigh (USA).

Solvita 1999. Guide to Solvita testing for compost maturity index. Woods End Research Laboratory, Inc. USA.

Stuckey, D. C.; McCarty, P. L. 1984. The effect of thermal pre-treatment on the anaerobic biodegradability and toxicity of waste activated sludge. *Water Research*, 18 (11): 1343-1353.

Tonkovic, Z. 1999. Aerobic stabilization criteria for BNR biosolids. *Water Science and Technology*, 39 (6): 167-174.

Tremier, A.; de Guardia, A.; Massiani, C.; Paul, E.; Martel, J. L. 2005. A respirometric method for characterising the organic composition and biodegradation kinetics and the temperature influence on the biodegradation kinetics, for a mixture of sludge and bulking agent to be co-composted. *Bioresource Technology*, 96 (2): 169-180.

Trevors, J. T.; Mayfield, C. I.; Inniss, W. E. 1982. Measurement of electron transport system (ETS) activity in soil. *Microbiological Ecology*, 8: 163-168.

Ugetti, E.; Ferrer, I.; Nielsen, S.; Arias, C.; Brix, H.; García, J. 2012. Characteristics of biosolids from sludge treatment wetlands for agricultural reuse. *Ecological Engineering*, 40: 210– 216.

UNE EN 16087-2:2012. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Determinación de la actividad biológica aerobia. Parte 2: Ensayo de autocalentamiento para compost.

US Department of Agriculture y US Composting Council. 2001. Test Methods for the Examination of Composting and Compost, TMECC. <http://tmecc.org> Edapho International.

U. S. Environmental Protection Agency (USEPA). 1993. Standards for the Use and Disposal of Sewage Sludge. 40 CFR Part 503.

U. S. Environmental Protection Agency (USEPA). 2003. Environmental Regulations and Technology: Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge. EPA/625/R-92.

Waste Framework Directive 2008/98/EC. Directive of the European Parliament and of the Council of 19 November 2008 on waste and repealing certain Directives.

Wenning, M.; Zhanpeng, J.; Xiasheng, G. 1995. A test method for determining biodegradability of organic substances. *Journal of Environmental Sciences*, 7 (2): 146-150.

Winkler, L. W. 1888. Die Bestimmung des in Wasser gelösten Sauerstoffes. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*.

Woods End. 1994. Compost Self-Heating: Proposed CEN Compost Stability Test, prepared for British Standards Institute panel AFC/20/-/4 as a Compost Stability Test proposal for CEN/TC 223 Working Group (WG) 4. UK.

Yuxin, Y. 1990. The handbook of microorganism detection in environmental engineering. China science of environment press. Beijing.

Zhanpeng, J.; Hongwei, Y.; Shaoqi, S.; Lixin, S. 2000. Biodegradability of organic substances by ATP test. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 74 (2): 146-150.

Zhao, L.; Wei-Mei, G.; Pin-Jing, H.; Li-Ming, S. 2011. Biodegradation potential of bulking agents used in sludge bio-drying and their contribution to biogenerated heat. *Water Research*, 45 (6): 2322-2330.

MEDIDA DE LA FERMENTABILIDAD DE LODOS DE ESTACIONES DEPURADORAS

Zmora-Nahum, S.; Markovitch, O.; Tarchitzky, J.; Chen, Y. 2005. Dissolved organic carbon (DOC) as a parameter of compost maturity. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 2109-2111.