UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS AGRÓNOMOS

**EVALUACIÓN DEL USO DE RESIDUOS ORGÁNICOS PARA LA PRODUCCIÓN
DE BIOCHAR Y SU APLICACIÓN COMO ENMIENDA ORGÁNICA**

TESIS DOCTORAL

PAOLA ANDREA CELY PARRA
Master en Ingeniería Ambiental
Tecnóloga en Saneamiento Ambiental
2016

EVALUACIÓN DEL USO DE RESIDUOS ORGÁNICOS PARA LA PRODUCCIÓN DE
BIOCHAR Y SU APLICACIÓN COMO ENMIENDA ORGÁNICA.

Autora:

Paola Andrea Cely Parra
Master en Ingeniería Ambiental
Tecnóloga en Saneamiento Ambiental

Directores:

Dr. Gabriel Gascó Guerrero
Profesor titular Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Departamento de Producción Agraria.

Dra. Ana María Méndez Lázaro
Profesora titular Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Minas y Energía, Departamento de Ingeniería Geológica y Minera.

(D-15)

Tribunal nombrado por el Magfco. Y Excmo. Sr. Rector de la Universidad Politécnica de Madrid, el día de de 2016.

Presidente: _____

Secretario: _____

Vocal: _____

Vocal: _____

Vocal: _____

Suplente: _____

Suplente: _____

Realizado el acto de defensa y lectura de Tesis el día de de 2016 en la E.T.S.I /
Facultad Agrónomos.

EL PRESIDENTE

LOS VOCALES

EL SECRETARIO

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero dedicar este trabajo a mi madre, a mi padre y a mis hermanos por su apoyo incondicional, su amor y sus consejos, y porque, a pesar de la distancia, siempre están conmigo. Además, agradezco el soporte económico que me brindaron y por el cual pude desarrollar esta investigación.

Agradezco a mis directores de tesis por sus enseñanzas y orientación, así como a todos los docentes, investigadores y doctorandos pertenecientes a la Universidad Politécnica de Madrid y a otras instituciones con quienes tuve la oportunidad de compartir experiencias académicas, establecer lazos de amistad, y quienes de forma directa o indirecta me ayudaron y guiaron durante todo este proceso.

También quiero agradecer a mi familia más cercana, tía, primos, primas, amigos y amigas, por su amor, apoyo, por hacerme sonreír y transmitirme energía y fortaleza para seguir adelante; en especial a mi abuelo porque con su luz y sabiduría me ayudó a convertirme en la mujer que soy ahora. A ti abuelito te agradezco y te dedico este trabajo, siempre te llevaré en mi corazón.

“De los miedos nacen los corajes; y de las dudas las certezas.

Los sueños anuncian otra realidad posible y los delirios otra razón.

Al fin y al cabo, somos lo que hacemos para cambiar lo que somos.”

Eduardo Galeano

RESUMEN

En la actualidad el uso de *biochar* ha despertado gran interés por sus supuestos aportes en la lucha contra el calentamiento global, la mejora de la calidad de los suelos y el aumento de la productividad de cultivos. Esta tesis se ha centrado en el estudio de los efectos de este material carbonoso en los suelos y en evaluar la viabilidad de gestión de diversos residuos orgánicos mediante procesos de pirólisis o gasificación.

Con este propósito, se estudió la influencia de distintas materias primas y procesos de producción sobre las propiedades de los *biochars* y los impactos asociados a su uso como enmienda orgánica. La tesis está estructurada en cinco capítulos.

El objetivo del capítulo tres fue estudiar la influencia de la materia prima (residuos ganaderos) y de la temperatura de pirólisis sobre las propiedades de los *biochars*, para ello se hizo una caracterización de todos los materiales. Los resultados indican que las propiedades agronómicas de los *biochars* son muy variables según la biomasa empleada y las condiciones de producción. Sin embargo, en todos los casos se observó una reducción de las fracciones móviles de metales traza en los *biochars*.

En el cuarto capítulo se determinó la influencia del *biochar* sobre las propiedades biológicas del suelo, con este fin, se desarrollaron dos estudios en los que se evaluaron los efectos del *biochar* sobre la respiración del suelo y las actividades enzimáticas. Los resultados indican que tras el proceso de pirólisis la biomasa alcanza mayor estabilidad, por lo tanto, la mineralización del carbono es menor cuando se usa *biochar* como enmienda orgánica. Sin embargo, los *biochars* producidos a altas temperaturas tienen un impacto negativo sobre los microorganismos del suelo.

El objetivo del capítulo cinco fue evaluar la influencia del *biochar* sobre la germinación y el desarrollo de las plantas. Para ello, se hizo un ensayo de germinación, un ensayo de producción vegetal y un análisis foliar. Los resultados indican que los efectos del *biochar* varían en función de sus propiedades y de la especie vegetal utilizada, lo cual sugiere que no todos los *biochars* tienen el potencial de incrementar la productividad de los cultivos.

ABSTRACT

Nowadays the use of biochar on agricultural activities has turned into an interesting option that could not only mitigate global warming but that could also improve soil qualities and crop productivity. Therefore, this thesis has been developed in order to evaluate effects of this carbonaceous material when it is used as soil organic amendment and also to evaluate the viability of pyrolysis and gasification process on the organic wastes management.

Accordingly, the effect of different types of organic wastes and production parameters on biochar properties were evaluated. The impact of biochar as organic amendment was studied as well. This thesis has five chapters. In the first and second chapters an introduction and objectives were done.

In the third chapter the influence of biomass (manure wastes) and pyrolysis temperature on biochar agronomic properties were studied. Accordingly, a characterization of all materials were done. The results indicate that it is possible to produce biochar with different properties according to the organic waste used such as feedstock and the pyrolysis conditions. Furthermore, a reduction of mobile forms of metals on biochars was observed.

In the fourth chapter, the biochar influence on soil biological properties were determined. To this end, two independent studies were carried out in order to evaluate the effects of biochar on the soil respiration process and on the enzymatic activities. The results show that the biomass become more stable after the pyrolysis process, therefore, when biochar is used as an organic amendment, the carbon mineralization in soils decreases. However, a negative response of soil microorganism was observed when biochar produced at high temperatures was used.

The fifth chapter includes an evaluation of the biochar influence on germination and plant development. To this end, three assays -germination test, vegetal mass production and leaf assay- were done. According to the results, the biochar effects depend on its properties and these effects change significantly according to the plant that is used. This fact suggests that not all biochars have the potential to improve crops productivity.

ÍNDICE GENERAL

1 CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL	25
1.1 ¿Qué es el <i>biochar</i> ?.....	25
1.1.1 Definición.....	25
1.1.2 Propiedades.....	27
1.1.3 Sistemas de producción.....	30
1.2 Implicaciones agrícolas de la utilización de <i>biochar</i>	33
1.2.1 Efectos sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.....	33
1.2.2 Efectos sobre los cultivos y los macro-organismos	35
1.3 Implicaciones ambientales de la utilización de <i>biochar</i>	37
1.3.1 Emisiones de gases de efecto invernadero.....	37
1.3.2 Gestión de residuos.....	41
1.3.3 Recuperación de suelos.....	42
1.4 Implicaciones socio-económicas de la utilización de <i>biochar</i>	44
1.4.1 Planes internacionales de desarrollo.....	44
1.4.2 Promoción de la soberanía alimentaria.....	45
1.4.3 Viabilidad económica.....	46
2 CAPÍTULO 2. OBJETIVOS.....	49
2.1 Objetivo general.....	49
2.2 Objetivos específicos.....	49
2.3 Esquema general.....	50
3 CAPÍTULO 3. PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE <i>BIOCHAR</i> A PARTIR DE RESIDUOS GANADEROS.....	51
3.1 Introducción.....	51

3.2 Materiales y métodos.....	53
3.2.1 Selección de materias primas.....	53
3.2.2 Preparación de los <i>biochars</i>	54
3.2.3 Caracterización de los residuos ganaderos y de los <i>biochars</i>	56
3.3 Resultados y discusión.....	62
3.4 Conclusiones.....	83
4 CAPÍTULO 4. EFECTOS DEL <i>BIOCHAR</i> SOBRE LAS EMISIONES DE CO ₂	85
4.1 Introducción.....	85
4.2 Materiales y métodos.....	87
4.2.1 Selección y caracterización del suelo	87
4.2.2 Caracterización de las enmiendas orgánicas.....	90
4.2.3 Tratamientos y respiración del suelo.....	92
4.2.4 Modelo de mineralización.....	94
4.2.5 Actividades enzimáticas.....	96
4.2.6 Análisis estadístico.....	98
4.3 Resultados y discusión.....	99
4.3.1 Evaluación de las emisiones de CO ₂ y el efecto <i>priming</i> -Estudio A-.....	99
4.3.2 Evaluación de las emisiones de CO ₂ y el efecto <i>priming</i> -Estudio B-.....	114
4.4 Conclusiones.....	123
5 CAPÍTULO 5. EFECTO DEL <i>BIOCHAR</i> EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y EL DESARROLLO DE LAS PLANTAS.....	125
5.1 Introducción.....	125
5.2 Materiales y métodos	127
5.2.1 Selección y caracterización de los suelos -Estudio A-.....	127
5.2.2 Selección y caracterización del suelo -Estudio B-.....	127

5.2.3 Caracterización de los <i>biochars</i> -Estudio A-	128
5.2.4 Caracterización del hollín -Estudio B-	128
5.2.5 Mediciones en plantas -Estudio A-	129
5.2.6 Mediciones en plantas -Estudio B-	132
5.3 Resultados y discusión	132
5.3.1 Caracterización inicial de las enmiendas y los suelos	132
5.3.2 Evaluación de los <i>biochars</i> y su efecto sobre algunas especies vegetales -Estudio A-	139
5.3.3 Evaluación del hollín y su efecto sobre algunas especies vegetales al ser usado como <i>biochar</i> -Estudio B-	152
5.4 Conclusiones	161
6 CONCLUSIONES GENERALES	163
7 LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN	165
7.1 Estudios a largo plazo y en campo de la aplicación de <i>biochars</i> producidos a partir de residuos ganaderos	165
7.2 Análisis de ciclo de vida	165
7.3 Implicaciones sociales	165
8 REFERENCIAS	167
9 ANEXOS: PUBLICACIONES	189
9.1 Artículos publicados en revistas con índice de impacto	189
9.2 Artículos en preparación	189
9.3 Congresos	189

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Pirólisis y gasificación: Condiciones de operación y productos (Lehmann y Joseph, 2009; Balat et al., 2009).....	31
Tabla 2. Muestras de <i>biochar</i> producidas.....	54
Tabla 3. Caracterización de los residuos ganaderos.....	67
Tabla 4. Caracterización de los <i>biochars</i> producidos a 300 °C.....	68
Tabla 5. Caracterización de los <i>biochars</i> producidos a 500 °C.....	69
Tabla 6. Análisis inmediato de los residuos ganaderos y de sus correspondientes <i>biochars</i> ...	73
Tabla 7. Contenido total en metales de los residuos ganaderos y de sus correspondientes <i>biochars</i>	81
Tabla 8. Contenido en metales móviles de los residuos ganaderos y de sus correspondientes <i>biochars</i>	82
Tabla 9. Propiedades del suelo (S) y de los <i>biochars</i> (BI, BII y BIII).....	100
Tabla 10. Análisis inmediato de las muestras BI, BII y BIII.....	101
Tabla 11. Análisis elemental de las muestras BI, BII y BIII.....	102
Tabla 12. Valores de pH, CE y CIC tras el montaje de incubación.....	103
Tabla 13. Parámetros de modelización del CO ₂ emitido durante el período de incubación..	111
Tabla 14. Influencia de las propiedades del <i>biochar</i> sobre las emisiones de CO ₂	113
Tabla 15. Propiedades del suelo, del purín de cerdo y de los <i>biochars</i>	115
Tabla 16. Índice de calidad (MGae) y actividad de la deshidrogenasa, fosfomonoesterasa, fosfodiesterasa y β -glucosidasa en el suelo control y en los tratamientos.....	122
Tabla 17. Propiedades de los suelos y de los <i>biochars</i>	135
Tabla 18. Análisis inmediato y elemental de las enmiendas.....	138
Tabla 19. Ensayo de germinación: Estudio A.....	144
Tabla 20. Metales biodisponibles del suelo con y sin enmienda y del hollín.....	157
Tabla 21. Análisis foliar: Parte aérea de las plantas en los tratamientos SV y SVHM.....	159

Tabla 22. Análisis foliar: Raíces de las plantas en los tratamientos SV y SVHM.....	160
--	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Muestras de <i>biochar</i> (UC Davis biochar database, 2015).....	25
Figura 1.2. a) Macroporosidad de un <i>biochar</i> producido a partir de madera en un proceso de pirólisis lenta, b) Macroporosidad de un <i>biochar</i> producido a partir de gallinaza en un proceso de pirólisis lenta (Lehmann y Joseph, 2009).....	29
Figura 1.3. Esquema general de los procesos térmicos para la producción de <i>biochar</i> y aprovechamiento de subproductos; a) Pirólisis, b) Gasificación.....	32
Figura 1.4. Efecto del <i>biochar</i> en la fijación de carbono en los suelos (International Biochar Initiative, 2015).....	39
Figura 2.1. Esquema general del trabajo planteado para el cumplimiento de los objetivos....	50
Figura 3.1. Residuos ganaderos; a) E, b) EP, c) G, d) GS, e) PC.....	53
Figura 3.2. Residuos ganaderos y sus correspondientes <i>biochars</i> ; a) E, b) BE300, c) BE500, d) EP, e) BEP300, f) BEP500, g) G, h) BG300, i) BG500, j) GS, k) BGS300, l) BGS500, m) PC, n) BPC300, ñ) BPC500.....	55
Figura 3.3. Detalle del procedimiento para determinar la CIC; a) Destilación, b) Filtración..	56
Figura 3.4. Detalle del procedimiento para determinar el $N_{Kjeldahl}$; a) Preparación de las muestras en los tubos de destilación, b) Digestión de las muestras en el digestor de nitrógeno.	58
Figura 3.5. Detalle del procedimiento de digestión para la extracción de metales; a) Ebullición de las muestras, b) Filtración.	60
Figura 3.6. Análisis elemental de los residuos ganaderos y de los <i>biochars</i> ; a) Relación H/C, b) Relación (O+N)/C.....	71
Figura 3.7. Rendimiento de pirólisis a 300 °C (Y-300) y a 500 °C (Y-500).....	74
Figura 3.8. Análisis termogravimétrico de los residuos ganaderos y de los <i>biochars</i> producidos.....	76
Figura 3.9. Análisis térmico diferencial de los residuos ganaderos y de los <i>biochars</i> producidos.....	77

Figura 3.10. Poder calorífico superior de los residuos ganaderos calculado a partir de los análisis inmediato y elemental según las ecuaciones 5 - 25.....	79
Figura 4.1. Muestra de suelo tamizada.....	87
Figura 4.2. Detalle del procedimiento para determinar la textura del suelo; probetas del blanco y de la muestra.....	88
Figura 4.3. Detalle del procedimiento para determinar la Cc y el Pm; a) Ollas de presión, b) Muestras sobre las membranas en saturación.....	89
Figura 4.4. Enmiendas orgánicas usadas en los estudios A (aumento 2x) y B (aumento 4x); a) BI, b) BII, c) BIII, d) PC, e) BPC300, f) BPC500.....	90
Figura 4.5. Detalle del procedimiento para determinar las emisiones de CO ₂ ; a) Incubación, b) Valoración.....	92
Figura 4.6. Detalle del procedimiento para determinar la actividad enzimática, tubos de ensayo con las muestras.....	96
Figura 4.7. Análisis termogravimétrico del suelo y del suelo enmendado tras el periodo de incubación; a) dTG, b) DTA.	105
Figura 4.8. Mineralización acumulada de C-CO ₂ de los <i>biochars</i>	106
Figura 4.9. Evolución del carbono orgánico fácilmente oxidable con dicromato.	107
Figura 4.10. Mineralización acumulada de C-CO ₂ y efecto <i>priming</i> de las muestras S, SBI, SBII y SBIII.	108
Figura 4.11. Mineralización acumulada de C-CO ₂ de las enmiendas.	117
Figura 4.12. Mineralización acumulada de C-CO ₂ y efecto <i>priming</i> de las muestras S, SPC, SPC300 y SPC500.....	119
Figura 5.1. Detalle del ensayo de germinación; a) semillas de <i>Nasturtium officinale</i> , b) semillas de <i>Lens esculenta</i> , c) semillas de <i>Cucumis sativus</i>	130
Figura 5.2. Detalle del procedimiento para medir la producción de masa vegetal; Separación parte aérea de la planta y raíces.....	131
Figura 5.3. Contenido en HAP's de los <i>biochars</i>	140

Figura 5.4. Contenido en polifenoles de los <i>biochars</i>	141
Figura 5.5. Macetas con plantas de <i>Lens esculenta</i> ; a) Tratamientos del suelo ST, b) Tratamientos del suelo SA.....	145
Figura 5.6. Producción de <i>Lens esculenta</i> en los tratamientos de los suelos SA y ST; a) Peso de masa aérea y de raíces, b) Longitud de los tallos.	147
Figura 5.7. Macetas con plantas de <i>Lactuca sativa</i> ; a) Tratamientos del suelo ST, b) Tratamientos del suelo SA.....	148
Figura 5.8 Producción de <i>Lactuca sativa</i> en los tratamientos de los suelos SA y ST; a) Peso de masa aérea y de raíces, b) Longitud de los tallos.	149
Figura 5.9. Análisis foliar en los tratamientos de los suelos SA y ST; a) hojas y tallos, b) raíces.	150
Figura 5.10. Análisis termogravimétrico del hollín HM; a) TG y dTG, b) DTA.....	152
Figura 5.11. Contenido en HAP's del hollín.	153
Figura 5.12. Macetas con plantas de <i>Lens esculenta</i> ; tratamientos del suelo SV.....	154
Figura 5.13. Macetas de los tratamientos del suelo SV; a) plantas de <i>Lactuca sativa</i> , b) plantas de <i>Nasturtium officinale</i> , c) plantas de <i>Cucumis sativus</i>	154
Figura 5.14. Producción de <i>Lens esculenta</i> , <i>Nasturtium officinale</i> , <i>Lactuca sativa</i> y <i>Cucumis sativus</i> en los tratamientos del suelo SV; a) masa parte aérea, b) masa de raíces, c) longitud de tallos.....	156

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

A_{útil}	contenido de agua útil.
BI	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de astillas de madera, empleada en el desarrollo experimental de los capítulos 4 y 5.
BII	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de la mezcla de lodos de papel y cascara de trigo, empleada en el desarrollo experimental de los capítulos 4 y 5.
BIII	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de lodos de depuradora, empleada en el desarrollo experimental de los capítulos 4 y 5.
BE300	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de estiércol vacuno a una temperatura de 300 °C, empleada en el desarrollo experimental de capítulo 3.
BE500	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de estiércol vacuno a una temperatura de 500 °C, empleada en el desarrollo experimental de capítulo 3.
BEP300	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de una mezcla de estiércol vacuno y paja a una temperatura de 300 °C, empleada en el desarrollo experimental de capítulo 3.
BEP500	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de una mezcla de estiércol vacuno y paja a una temperatura de 500 °C, empleada en el desarrollo experimental de capítulo 3.
BG300	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de gallinaza a una temperatura de 300 °C, empleada en el desarrollo experimental de capítulo 3.
BG500	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de gallinaza a una temperatura de 500 °C, empleada en el desarrollo experimental de capítulo 3.
BGS300	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de una mezcla de gallinaza y serrín a una temperatura de 300 °C, empleada en el desarrollo experimental de capítulo 3.
BGS500	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de una mezcla de gallinaza y serrín a una temperatura de 500 °C, empleada en el desarrollo experimental de capítulo 3.
BPC300	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de purín de cerdo a una temperatura de 300 °C, empleada en el desarrollo experimental de los capítulos 3 y 4.

BPC500	muestra de <i>biochar</i> producida a partir de purín de cerdo a una temperatura de 300 °C, empleada en el desarrollo experimental de los capítulos 3 y 4.
Cc	capacidad de campo.
CE	conductividad eléctrica.
CF	carbono fijo.
CIC	capacidad de intercambio catiónico.
C_{K2Cr2O7}	carbono orgánico fácilmente oxidable con dicromato.
DTA	análisis térmico diferencial (siglas en ingles).
dTG	derivada de la curva del análisis termogravimétrico.
E	muestra de estiércol vacuno empleada en el desarrollo experimental del capítulo 3.
EBC	certificación europea de <i>biochar</i> (siglas en ingles).
EP	muestra de la mezcla de estiércol y paja empleada en el desarrollo experimental del capítulo 3.
EPA	agencia de protección ambiental estadounidense (siglas en ingles).
FAO	organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (siglas en ingles).
G	muestra de gallinaza empleada en el desarrollo experimental del capítulo 3.
GS	muestra de la mezcla de gallinaza y paja empleada en el desarrollo experimental del capítulo 3.
HAP's	hidrocarburos aromáticos policíclicos.
HM	muestra de hollín producida a partir de madera de pino en un proceso de gasificación, empleada en el desarrollo experimental del capítulo 5.
MGea	media geométrica de la actividad enzimática.
MOT	materia orgánica total.
MV	materia volátil.

N_{Kjeldahl}	nitrógeno kjeldahl.
ODM	objetivos del milenio.
ODS	objetivos de desarrollo sostenible.
ONU	organización de las naciones unidas.
PC	muestra de purín de cerdo empleada en el desarrollo experimental de los capítulos 3 y 4.
PCS	poder calorífico superior.
Pm	punto de marchitez.
S	muestra de suelo proveniente de la provincia de Toledo empleada en el desarrollo experimental del capítulo 4.
SA	muestra de suelo proveniente de la provincia de Ávila empleada en el desarrollo experimental del capítulo 5.
SABI	muestra SA tras ser enmendada con BI.
SABII	muestra SA tras ser enmendada con BII.
SABIII	muestra SA tras ser enmendada con BIII.
SBI	muestra S tras ser enmendada con BI.
SBII	muestra S tras ser enmendada con BII.
SBIII	muestra S tras ser enmendada con BIII.
SPC	muestra S tras ser enmendada con PC.
SPC300	muestra S tras ser enmendada con BPC300.
SPC500	muestra S tras ser enmendada con BPC500.
ST	muestra de suelo proveniente de la provincia de Toledo empleada en el desarrollo experimental del capítulo 5.
STBI	muestra ST tras ser enmendada con BI.
STBII	muestra ST tras ser enmendada con BII.
STBIII	muestra ST tras ser enmendada con BIII.

SV	muestra de suelo proveniente del municipio de Valdeolmos empleada en el desarrollo experimental del capítulo 5.
SVHM	muestra SV tras ser enmendada con HM.
TG	análisis termogravimétrico.
USDA	departamento de agricultura de los Estados Unidos (siglas en ingles).

1 CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 ¿Qué es el *biochar*?

1.1.1 Definición

El *biochar* es una sustancia heterogénea generalmente rica en compuestos aromáticos y materia mineral, producida por pirólisis de una biomasa obtenida de forma sostenible bajo condiciones controladas y mediante el uso de tecnologías limpias. Además, su uso puede contemplar cualquier propósito que no implique una rápida mineralización del CO₂ y, eventualmente, puede convertirse en una enmienda del suelo (EBC, 2012).

Figura 1.1. Muestras de biochar (UC Davis biochar database, 2015).

El *biochar* también se ha definido como un producto carbonoso resultante de procesos pirolíticos o de gasificación. Durante estos procesos térmicos, los principales componentes de la biomasa (celulosa, hemicelulosa y lignina) experimentan distintas reacciones químicas en las que se rompen enlaces por fragmentación, despolimerización y volatilización y, posteriormente, se forman otros nuevos mediante reacciones de condensación y polimerización. A partir de dichas reacciones se obtienen productos condensables como bioaceites y alquitranes y no condensables como volátiles (CO, CO₂, H₂, CH₄, HAPs, etc.) y

un material carbonoso denominado *biochar*, cuyo fin puede ser su utilización como enmienda orgánica para mejorar las propiedades físico-químicas del suelo, aumentar la productividad y para fijar carbono. Adicionalmente, el uso de *biochar* en los sistemas agrícolas representa una opción viable para una adecuada gestión medio ambiental, con relación al manejo de residuos, la producción de energía y el control del cambio climático (Duku et al., 2011; Macías y Camps, 2010; Lehmann y Joseph, 2009; Whitman y Lehmann, 2009).

El término *biochar* no solo hace referencia al uso de materia orgánica carbonizada en los suelos agrícolas, sino también a su uso para la recuperación de suelos contaminados, entre otras aplicaciones ambientales (Edenborn et al., 2015). Es importante resaltar que este término hace énfasis en su origen biológico, lo cual lo distingue de otros productos carbonizados producidos a partir de plásticos y diversos materiales no biológicos.

La diferencia con el carbón vegetal se asocia principalmente al uso que se le da. Por ejemplo, la producción de *biochar* tiene como única finalidad la aplicación en suelos, bien sea para mejorar la productividad desde un punto de vista agrícola o para recuperar suelos desde un punto de vista ambiental, mientras que el carbón vegetal es empleado principalmente como materia prima en procesos industriales, para la producción de energía o en procesos de filtración y tratamiento de aguas (Lehmann y Joseph, 2009).

Debido a la gran variedad de materias primas, así como a las distintas configuraciones del proceso pirolítico o de gasificación que pueden usarse en la producción de *biochar*, la Certificación Europea de *Biochar* (EBC) ha propuesto una serie de pautas que constituyen la base para la certificación de la producción sostenible de *biochar*, en un intento por delimitar los requerimientos que debe cumplir un material carbonoso para ser considerado *biochar*. Dichas pautas se enuncian a continuación:

- El *biochar* se produce por pirólisis de la biomasa, en la cual las sustancias orgánicas se transforman a temperaturas entre 350 °C y 1000 °C en un proceso térmico con bajo contenido de oxígeno.
- La torrefacción, la carbonización hidrotermal y la producción de coque, son procesos de carbonización cuyos productos finales no entran dentro de la definición de *biochar*.

- El proceso de gasificación al estar estrechamente relacionado con el proceso de pirólisis, es igualmente considerado como una técnica que puede ser optimizada para la producción de *biochar*.
- Durante el proceso pirolítico se deben cumplir una serie de requisitos para garantizar la sostenibilidad y los parámetros de calidad, dentro de estos requisitos se establece que la pirólisis se debe llevar a cabo bajo un proceso autónomo de energía.
- La energía externa usada para operar el reactor (electricidad para sistemas de transmisión de potencia, sistemas de ventilación y de control automático, combustible para el pre-calentamiento, etc.) según sea el sistema, no debe exceder el 8 % o el 4 % del poder calorífico de la biomasa empleada.
- Los gases producidos durante el proceso pirolítico deben ser tratados, quemados o usados como fuente de energía, debido a que actualmente la producción de *biochar* suele realizarse mediante tecnologías obsoletas cuyas emisiones a la atmósfera generan impactos negativos en el medio ambiente y no cumplen con los requerimientos de calidad. Por lo tanto, no son permitidas según los parámetros de producción de la EBC.
- Por lo menos el 70 % del calor producido por el reactor debe ser reutilizado en actividades como el secado de la biomasa, la producción de energía eléctrica, etc., para cumplir con los propósitos de sostenibilidad, dejando exentos los procesos a pequeña escala donde la producción anual es menor que 20 toneladas.

1.1.2 Propiedades

Las propiedades de los *biochars* son muy variables debido a los diferentes parámetros que se pueden modificar para su producción (Janus et al., 2015). Entre los aspectos más relevantes que influyen sobre las propiedades del *biochar* se encuentran, el tipo de biomasa empleada como materia prima, el tamaño de partícula, la temperatura, velocidad y tiempo de calentamiento y el tipo de proceso térmico (Barrow, 2012; Cely et al., 2015).

En estudios previos se ha observado que el contenido en carbono del *biochar* depende en gran medida de la biomasa empleada. Por ejemplo, los *biochars* producidos a partir de residuos

forestales suelen tener contenidos en carbono mayores que 500 g kg^{-1} debido a su gran cantidad de compuestos orgánicos muy estables. Dichos compuestos no se degradan fácilmente al aumentar la temperatura, como es el caso de la lignina (De La Rosa et al., 2014; Blázquez et al., 2014). El aumento del contenido en carbono de los *biochars* al aumentar la temperatura de producción, se debe a un mayor grado de carbonización, así como a la reducción de los contenidos en hidrógeno y oxígeno resultante de la volatilización de compuestos ligeros (CO_2 y CH_4) y a la formación de nuevos enlaces mediante reacciones de polimerización y condensación (Janus et al., 2015; Dume et al., 2015).

La concentración de grupos funcionales en el *biochar*, depende de la composición inicial de la biomasa, de la temperatura final del proceso térmico, de la composición del gas, de la velocidad de calentamiento y de si el *biochar* ha sido sometido a un post-tratamiento (Lehmann y Joseph, 2009). En estudios previos se ha observado que con el aumento de la temperatura los grupos hidroxilo tienden a desaparecer como resultado de la deshidratación, al igual que los grupos carboxilo y fenólico (Hagner et al., 2015). La reducción de estos grupos en la superficie de los *biochars* producidos a altas temperaturas les confiere un carácter hidrófobo (Hagner et al., 2015; Sohi et al., 2009). Además, la presencia de grupos alifáticos y aromáticos en la superficie de los *biochars*, unido a las áreas superficiales pequeñas y a la baja porosidad, también contribuyen a reducir la afinidad entre estos *biochars* y el agua, aumentando su hidrofobicidad.

La composición de la biomasa también está relacionada con la concentración de metales en los *biochars*. En estudios previos se ha encontrado que dicha concentración es 4 a 5 veces mayor en los *biochars* en comparación con la materia prima usada para su producción, ya que la materia mineral se concentra tras el proceso de pirólisis (Qiu et al., 2015). Como es de esperar, los *biochars* producidos a partir de lodos de depuradora tienen un alto contenido en metales, los cuales podrían constituir una fuente de nutrientes o de contaminantes para el suelo (Cely et al., 2014; Méndez et al., 2012).

El contenido en compuestos tóxicos de los *biochars* es muy variable en función de los parámetros de producción. Por ejemplo, se ha observado que la concentración y estabilidad de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's) aumenta cuando la temperatura y los tiempos de residencia durante la pirólisis y/o gasificación son mayores (Bucheli et al., 2014).

De igual forma, diversos estudios han reportado altas concentraciones de HAP's en *biochars* producidos a partir de madera y mediante procesos de gasificación (Hansen et al., 2015).

Es importante destacar que existe muy poca información referente a la presencia de otras sustancias contaminantes en los *biochars*, tales como las dioxinas y furanos. Uno de los pocos estudios publicados fue realizado por Bjorkman y Stromberg (1997), quienes estudiaron las emisiones de cloro durante los procesos de pirólisis y gasificación de la biomasa. En dicho estudio, no se encontraron compuestos organoclorados en los *biochars* producidos a partir de césped a temperaturas entre 300 °C - 500 °C. Sin embargo, durante la descomposición térmica de la alfalfa se encontraron precursores potenciales de dichos compuestos (Bucheli et al., 2014).

La temperatura de producción también influye en propiedades físico-químicas del *biochar* como el pH, el cual tiende a aumentar con el incremento de la temperatura debido a la pérdida de grupos ácidos (fenólicos y carboxílicos fundamentalmente). El aumento del pH con la temperatura también se debe a la separación de minerales y sales alcalinas de la fracción orgánica de la biomasa y el consecuente aumento del contenido en cenizas durante la pirólisis (Janus et al., 2015; Tsai et al., 2012).

La conductividad eléctrica, el volumen de poros y la superficie BET de los *biochars* también aumentan cuando aumenta la temperatura (Wang et al., 2015a).

Figura 1.2. a) Macroporosidad de un biochar producido a partir de madera en un proceso de pirólisis lenta, b) Macroporosidad de un biochar producido a partir de gallinaza en un proceso de pirólisis lenta (Lehmann y Joseph, 2009).

A partir de diversos estudios, se ha establecido que las propiedades morfológicas del *biochar* están fuertemente relacionadas con la temperatura de producción. La correlación positiva entre la temperatura y la superficie BET puede ser el resultado de los cambios en la estructura química de la biomasa, ya que durante el proceso de pirólisis y/o gasificación se crean estructuras carbonosas con distinto grado de porosidad que influyen en el aumento del área superficial (Schimmelpfennig y Glaser, 2012). También se ha observado que con el incremento de la temperatura disminuye el tamaño de partícula del *biochar* haciendo que su estructura sea frágil y fácil de romper (Kim et al., 2012).

1.1.3 Sistemas de producción

Como se mencionó anteriormente el *biochar* se puede obtener por pirólisis y/o gasificación de la biomasa. El proceso de pirólisis hace referencia a la descomposición térmica ($T \geq 300\text{ }^{\circ}\text{C}$) de la materia orgánica en ausencia de oxígeno. La pirólisis también constituye el primer paso en un proceso de gasificación. Este último hace referencia a la oxidación parcial de la biomasa a altas temperaturas empleando pequeñas cantidades de oxígeno o un agente gasificante (aire, vapor de agua e hidrógeno).

La Tabla 1 reúne los tipos de pirólisis más comunes de acuerdo a las condiciones de operación, así como el rendimiento aproximado de los productos según el proceso de pirólisis o gasificación empleado. Dichas condiciones de operación pueden ser ajustadas en función del producto con mayor rendimiento que se quiera obtener (Balat et al., 2009; Agirre et al., 2013; Fernandez-Akarregi et al., 2013; Duku et al., 2011):

- Las bajas temperaturas y largos tiempos de residencia favorecen la producción de *biochar*.
- Las altas temperaturas y los tiempos de residencia cortos son propicios para la producción de efluentes líquidos.
- Las altas temperaturas con largos tiempos de residencia favorecen la producción de efluentes gaseosos.

Tabla 1. Pirólisis y gasificación: Condiciones de operación y productos (Lehmann y Joseph, 2009; Balat et al., 2009).

Proceso	Condiciones			Productos (%)		
	T (°C)	Tiempo de residencia	Velocidad de calentamiento	Líquidos (bioaceites)	Sólidos (<i>biochar</i>)	Gases
Pirólisis rápida	≈ 650	≈ 0.5-5 s	rápida	75	12	13
Pirólisis intermedia	≈ 500	≈ 5-30 min	lenta	50	25	25
Pirólisis lenta	≈ 350-400	horas/días	muy lenta	30	35	35
Gasificación	≈ 800	-	-	5	10	85

A partir de las fracciones gaseosas y líquidas producidas durante los procesos de pirólisis y gasificación, también se podrían obtener beneficios. En el caso de los efluentes gaseosos, estos podrían usarse como fuente de energía durante el proceso térmico (Yoder et al., 2011). De hecho, en los procesos de gasificación la fracción gaseosa es la más abundante y usada para la producción de energía. Los efluentes líquidos por su parte, podrían ser empleados como bioaceites y ser refinados para la producción de bioetanol, biogasolina o distintos compuestos químicos (Balat et al., 2009; Yoder et al., 2011).

La Figura 1.1a muestra un proceso de pirólisis. En el, la biomasa entra al horno pirolítico y bajo las condiciones descritas en la Tabla 1 se obtiene un residuo sólido (*biochar*) y un efluente gaseoso. Este último tras salir del horno pirolítico entra a un ciclón, en el cual por acción de la fuerza centrífuga separa las partículas que hayan sido arrastradas por el gas, las cuales salen del ciclón por la parte inferior. El gas continúa hasta el condensador donde se separan las fracciones líquida y gaseosa, esta última se re-circula y se somete a un proceso de combustión para generar parte de la energía requerida en el proceso de pirólisis.

Por otra parte, en la Figura 1.1b se representa el proceso de gasificación, esta Figura difiere del proceso de pirólisis representado en la Figura 1.1a por la entrada de un agente gasificante en el reactor.

Figura 1.3. Esquema general de los procesos térmicos para la producción de biochar y aprovechamiento de subproductos; a) Pirólisis, b) Gasificación.

1.2 Implicaciones agrícolas de la utilización de *biochar*

1.2.1 Efectos sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo

El uso de *biochar* como enmienda orgánica contribuye a mejorar propiedades físicas del suelo, como la estructura y la porosidad, lo cual puede tener un impacto directo sobre el crecimiento de las plantas al favorecer la profundidad de penetración de las raíces y la disponibilidad de agua y aire en la zona radicular (Cely et al., 2014; Peng et al., 2011; Lehmann y Joseph, 2009).

Sin embargo, los efectos sobre las propiedades del suelo, sus funciones biológicas, el desarrollo de los cultivos, etc., están fuertemente influenciados por diversas propiedades del *biochar*, como la materia prima utilizada para su producción. Por ejemplo, Liu et al. (2013) comprobaron que los *biochars* producidos a partir de residuos ganaderos son considerados en términos generales, muy buenos para el aumento de la fertilidad del suelo y la mejora de su estructura; al igual que aquellos producidos a partir de residuos agrícolas y de residuos de madera.

En varios estudios, se han observado cambios en el pH y en la CIC de los suelos enmendados con *biochar*, aunque dichos cambios también son muy variables en función de las propiedades de los *biochars* y de los suelos estudiados (Smider y Singh, 2014; Méndez et al., 2012; Van Zwieten et al., 2010). Aun así, es común encontrar que la aplicación de *biochar* en el suelo contribuye a la reducción de la acidez, al aumento en la CIC, al aumento de la capacidad de campo y a la mejora de la estructura (Oleszczuk et al., 2013; Quilliam et al., 2012; Lehmann y Joseph, 2009).

El *biochar*, al ser un material obtenido a partir de biomasa, constituye una fuente importante de carbono y nutrientes que pueden actuar directamente en la mejora de los cultivos o de forma indirecta, al aumentar la eficiencia de los fertilizantes empleados (Liu et al., 2013). La adición de *biochar* promueve cambios en la dinámica del nitrógeno y del fósforo, aunque no siempre hay una influencia directa entre la adición de *biochar* y la retención del contenido total de dichos nutrientes en el suelo (Schulz y Glaser, 2012). En cuanto al contenido total de carbono, este tiende a aumentar en los suelos tras enmendarlos con *biochar*, no solo por ser una enmienda con un alto contenido de carbono estable, sino también porque en su superficie

se adsorbe el carbono junto con diversos compuestos minerales. Este hecho ha sido evidenciado previamente tras adicionar materia orgánica en suelos de *terra preta* y suelos tropicales adyacentes y observar que en los suelos de *terra preta* (cuenca del Amazonas) se logró retener un mayor contenido en materia orgánica estable (Wilson, 2014).

El *biochar* tiene la capacidad de retener los contaminantes disminuyendo su movilidad y biodisponibilidad, lo cual genera un acondicionamiento óptimo del entorno para los microorganismos beneficiosos del suelo al limitar el potencial tóxico de dichas sustancias contaminantes sobre algunos grupos de organismos. Méndez et al. (2012) observaron un aumento significativo en el contenido de metales de un lodo de depuradora tras ser pirolizado. Sin embargo, la biodisponibilidad y las formas móviles de dichos metales disminuyeron tras el proceso de pirólisis y, por lo tanto, el riesgo de lixiviación de los mismos también disminuyó.

La inmovilización de metales tras la aplicación de *biochar* en el suelo está fuertemente relacionada con la CIC, con la capacidad de adsorción del *biochar* y especialmente con el aumento del pH, el cual produce una desprotonación de la superficie del suelo (pérdida de cationes H^+), incrementando su carga negativa y generando un aumento en la adsorción de iones metálicos en la superficie del *biochar* (Kim et al., 2015).

La estructura porosa del *biochar* podría proporcionar un hábitat adecuado para diversos microorganismos. Además, el alto contenido en carbonos aromáticos del *biochar*, le confiere propiedades eléctricas que dan lugar a reacciones de oxidación y reducción de gran importancia en la bioquímica del suelo, ya que los microorganismos usan dichos carbonos aromáticos como aceptores y/o receptores de electrones durante su metabolismo (Wilson, 2014).

De acuerdo a esto, la capacidad de adsorción de moléculas orgánicas e inorgánicas podría ser un factor clave para suplir algunas de las necesidades energéticas y/o nutricionales de los microorganismos, asegurando condiciones adecuadas para la biota del suelo, lo que se traduce en el mantenimiento de las funciones de los ecosistemas (Anderson et al., 2011; Lehmann y Joseph, 2009).

Aun así, algunos estudios han reportado efectos adversos sobre las comunidades microbianas mediante la medición de la actividad enzimática en suelos tras ser enmendados con diferentes *biochars*, lo cual está fuertemente relacionado con la temperatura de producción del *biochar* y con el tipo de enzima. Sin embargo, los autores expresan la necesidad de evaluar los mecanismos asociados a la estabilización de las enzimas tras el uso de *biochar* como enmienda orgánica, mediante estudios a largo plazo y en campo (Wang et al., 2015a).

1.2.2 Efectos sobre los cultivos y los macro-organismos

En la última década, ha existido un interés global en el uso de *biochar* para mitigar el cambio climático mediante la fijación de carbono en el suelo. Sin embargo, aún hace falta más información sobre los impactos del uso de *biochar* en la productividad de cultivos en diferentes sistemas agrícolas (Liu et al., 2013).

En un estudio realizado por Peng et al. (2011) se demostró que los *biochars* producidos a partir de paja de arroz a temperaturas de 250, 300, 350, 400 y 450 °C y tiempos de residencia de 2, 4 y 8 horas, pueden actuar como fertilizante: una enmienda del 1% de *biochar* es equivalente a 0.11-0.15 g Kg⁻¹ de N, 1.89-2.78 g Kg⁻¹ de K y 0.02 g Kg⁻¹ de P. Aunque gran parte de este contenido no se encuentra disponible para las plantas debido a la alta estabilidad del *biochar*, dicha estabilidad hace que se pueda considerar al *biochar* como un fertilizante de liberación lenta.

El uso de *biochar* como enmienda orgánica puede tener influencia en el perfil del suelo como resultado de su desplazamiento, tanto en profundidad como a cientos de metros, debido a procesos erosivos (Lehmann y Joseph, 2009). Además, los efectos de este material carbonoso dependen en gran medida de sus propiedades, las cuales, al estar influenciadas por diversos factores (temperatura, materia prima, tiempo de residencia, etc.), son muy variables de un *biochar* a otro. De igual forma, los efectos del *biochar* varían en función de las propiedades del suelo y de la respuesta de cada especie vegetal, microorganismo, etc.

Por ejemplo, se ha observado que las materias primas utilizadas para la producción de *biochar* tienen gran influencia en los impactos de este material sobre los cultivos. Tras la realización de un meta-análisis, Liu et al. (2013) observaron que el uso de *biochars* producidos a partir de residuos municipales disminuye considerablemente la productividad de

los cultivos, ya que su alto contenido en sodio, además de inhibir el crecimiento de las plantas, aumenta la sodicidad¹ de los suelos.

En resumen, se pueden encontrar estudios en los que los efectos del *biochar* resultan beneficiosos (Oleszczuk et al., 2013; Cely et al., 2014); otros en los que, por el contrario, el *biochar* produce impactos negativos al ser usado como enmienda orgánica (Quilliam et al., 2012) y otros en los que los resultados obtenidos tras la experimentación con y sin *biochar* no presentan diferencias significativas (Van Zwieten et al., 2010).

En la investigación realizada por Van Zwieten et al. (2010) en un suelo Calcisol, enmendado con una mezcla de *biochar* y fertilizante, hubo un incremento en la producción de soja. En comparación con la producción de rábano y trigo que disminuyó. En este mismo estudio, en ausencia del fertilizante no se observaron diferencias significativas en los efectos del *biochar* sobre la producción de trigo y de soja; mientras que la producción de rábano en el suelo enmendado solo con *biochar* aumentó significativamente. De igual forma, Van Zwieten et al. (2010) observaron que las lombrices de tierra muestran preferencia por un Ferrasol enmendado con *biochar* comparado con el mismo suelo sin *biochar*. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el caso del Calcisol con y sin *biochar*. De acuerdo a estos resultados, los autores expresan la necesidad de verificar los efectos del *biochar* sobre diferentes tipos de suelos y cultivos.

Por otra parte, investigaciones como la de Paz-Ferreiro et al., (2014) indican que la interacción entre el *biochar* y las lombrices de tierra actúa positivamente sobre las actividades enzimáticas en el suelo y sobre el crecimiento de las plantas; aunque encontraron que el efecto del *biochar* estuvo fuertemente condicionado por el tipo de suelo usado.

Es importante tener en cuenta que en algunos estudios se ha registrado la pérdida de materia orgánica original del suelo (efecto *priming* negativo); la reducción de la bioaccesibilidad de los microorganismos que degradan contaminantes orgánicos del suelo (Quilliam et al., 2012); la inhibición de la germinación por efecto de componentes tóxicos en los *biochars* (Buss y Ondrej, 2014); y la disminución en la productividad de cultivos, tras la combinación de tipos

1 Acumulación de iones de sodio en el complejo de cambio del suelo. La sodicidad impacta negativamente sobre las propiedades físicas del suelo reduciendo su permeabilidad. Además, las altas concentraciones de sodio suelen producir una deficiencia de calcio en las plantas.

de *biochars* y suelos específicos (Ameloot et al., 2013) o en función de la especie vegetal empleada (Liu et al., 2013).

Además, los niveles de toxicidad obtenidos en los *biochars* estudiados en la investigación de Oleszczuk et al. (2013) fueron similares a los observados para los biosólidos. Esto indica que el *biochar* podría tener un efecto negativo sobre los organismos del suelo y por ello, al igual que otros fertilizantes, debería estar sujeto a un estricto control con un análisis previo a su aplicación.

Es evidente que sigue existiendo incertidumbre sobre los efectos del *biochar* en el funcionamiento del ecosistema agrícola. Por ello, es necesario evaluar el potencial agronómico del *biochar* en función de las respuestas de diversos cultivos, con diferentes tipos de suelo y bajo condiciones de campo (Smider y Singh, 2014).

1.3 Implicaciones ambientales de la utilización de *biochar*

1.3.1 Emisiones de gases de efecto invernadero

El cambio climático hace referencia a las alteraciones en la temperatura, la precipitación, los patrones de viento, entre otros factores climáticos, que se producen durante un prolongado periodo de tiempo (EPA, 2014). En la actualidad, uno de los aspectos más relevantes del cambio climático lo constituye el calentamiento global como consecuencia directa de las actividades humanas que emiten grandes cantidades de CO₂ y otros gases de efecto invernadero en la atmósfera (Woolf et al., 2010).

La mayoría de los gases de efecto invernadero provienen de la quema de combustibles fósiles para la producción de energía. Sin embargo, la deforestación, los procesos industriales y algunas prácticas agrícolas también generan efluentes gaseosos que alteran los procesos naturales, asociados al efecto invernadero y necesarios para mantener la vida en la tierra. De acuerdo a esto, la cantidad y concentración de gases de efecto invernadero en la atmósfera aumenta, generando cambios climáticos que impactan de forma negativa en la salud y el bienestar de los seres vivos y los ecosistemas (EPA, 2014).

El suelo constituye una fuente importante de emisión de gases de efecto invernadero. Sin embargo, es importante destacar que también juega un papel crucial en la captura y retención

de dichos gases. Por ejemplo, de acuerdo a los datos reportados por Ciais et al. (2013) desde 1750 las emisiones resultantes de la quema de combustibles fósiles y de los cambios en los usos del suelo aumentaron la concentración de CO₂ en la atmósfera. La mitad de dichas emisiones (240 ± 10 PgC) permanecieron en la atmósfera, mientras que el resto fueron capturadas por reservorios naturales, de los cuales la biomasa vegetal y los suelos no afectados por cambios de su uso capturaron 160 ± 90 Pg C.

Una de las temáticas principales a considerar es el aumento de carbono en el suelo por una mayor adición de materia orgánica, de la cual hay grandes cantidades disponibles. Sin embargo, cuando el suelo está en equilibrio, solo el 10 % del carbono logra estabilizarse durante más de un año, pues una vez que se adiciona materia orgánica al suelo, el carbono es rápidamente emitido a la atmósfera (Sohi et al., 2009). En consecuencia, la adición de materia orgánica en el suelo es ineficiente en términos de mitigación del cambio climático, pues su rápida degradación se traduce en emisiones de CO₂.

Diversas investigaciones indican que el *biochar* podría actuar de forma positiva en los procesos de captura y retención de gases en el suelo, entre otras razones, porque la materia orgánica podría ser estabilizada por dicha enmienda; haciendo que el carbono se mineralice lentamente (Woolf et al., 2010; Cely et al., 2014).

Por lo tanto, las emisiones de CO₂ tras la adición de *biochar* en el suelo serán menores que aquellas resultantes de la adición directa de materia orgánica. Algunos cálculos previos sugieren que, por ejemplo, una superficie de 250 hectáreas podría capturar aproximadamente 1900 toneladas de CO₂ al año tras la aplicación de *biochar* (Wei et al., 2012).

En otros estudios, se ha encontrado que las emisiones de CO₂ producto del proceso de pirólisis, tienen una proporción menor con respecto al CO₂ emitido por la descomposición de la materia orgánica adicionada directamente al suelo (Sohi et al., 2009). El balance de carbono de distintos tipos de biomasa sugiere que de 3 a 11 kg de carbono pueden fijarse a partir de cada kg de carbono emitido durante la producción de *biochar* (McHenry, 2009).

También se ha observado que el tiempo de residencia juega un papel importante en la interacción entre el *biochar* y el suelo. Por ejemplo, Smith et al. (2010) encontraron que las emisiones de CO₂ del suelo aumentan tras la adición del *biochar* y que este aumento ocurre

durante los primeros días de incubación; pasado este tiempo, no se observan diferencias significativas entre las emisiones del suelo control y del suelo enmendado.

Los resultados encontrados por Smith et al. (2010) se corresponden con los encontrados en otros estudios (Gascó et al., 2012; Méndez et al., 2013), indicando que el *biochar* no es inerte. Por el contrario, el *biochar* proporciona cantidades significativas de carbono lábil, el cual puede ser usado como fuente de energía por los microorganismos del suelo.

Figura 1.4. Efecto del biochar en la fijación de carbono en los suelos (International Biochar Initiative, 2015).

Ante las numerosas investigaciones en las que se ha registrado una reducción de las emisiones de CO_2 del suelo tras la adición de *biochar*, es importante tener en cuenta que la mineralización de la materia orgánica original del suelo puede aumentar o disminuir por la adición de *biochar*, dando lugar a lo que se conoce como efecto *priming* positivo o negativo respectivamente (Ameloot et al., 2013).

El aporte dado por los suelos en la disminución de gases contaminantes está condicionado a los diversos procesos biológicos asociados: el ciclo de los nutrientes, la actividad microbiana, etc. Por ejemplo, la principal fuente de emisiones de NO y N₂O en los sistemas agrícolas y ecosistemas naturales se produce en el suelo como resultado de procesos de nitrificación y desnitrificación (Nelissen et al., 2014).

Durante el proceso anóxico de desnitrificación se emite una mayor cantidad de óxidos de nitrógeno. Por esta razón, se podría pensar que el aumento en la aireación del suelo tras la adición de *biochar* tiene una relación directa con la disminución de las emisiones de óxidos de nitrógeno. En efecto, Case et al. (2012) comprobaron que la adición de *biochar* disminuye las emisiones de N₂O del suelo, sin embargo, no encontraron una relación entre el aumento en la aireación y la reducción de dichas emisiones. Este resultado los llevó a sugerir como hipótesis que es la inmovilización física y biológica de los nitratos uno de los procesos que podría explicar la reducción de las emisiones de N₂O en los suelos enmendados con *biochar*.

El pH es otro factor importante a considerar en las emisiones de óxidos de nitrógeno del suelo, ya que, junto al *biochar*, se pueden estar añadiendo cenizas alcalinas en forma de óxidos, hidróxidos y carbonatos de Ca, Mg, K y Na, los cuales se liberan rápidamente y se filtran por todo el perfil del suelo reduciendo la acidez. Cuando el pH de un suelo se incrementa (por ejemplo, por la técnica del encalado), el proceso de desnitrificación libera menos N₂O y la relación de N₂O/N₂ disminuye (Lehmann y Joseph, 2009).

Otro gas de efecto invernadero es el metano, los flujos de metano medidos entre suelo y atmósfera son producto de dos procesos: la producción de metano por organismos metanógenos y la absorción de metano por organismos metanótrofos. Los principales sustratos para la producción de metano son acetato, formiato, CO₂ y H₂, producidos durante la descomposición anaeróbica de la materia orgánica en el suelo (Lehmann y Joseph, 2009).

Se debe considerar que, cuando se mejoran las propiedades físicas del suelo por la aplicación de *biochar* aumenta la difusión de O₂, reduciendo la incidencia de las condiciones anaeróbicas necesarias para la producción de CH₄ y; por tanto, se reducen las emisiones de este gas. A pesar de esto, en algunos estudios se han registrado aumentos en las emisiones de CH₄ en suelos tras enmendarlos con *biochar*. Por ejemplo, Zhang et al. (2010) enmendaron un suelo con diferentes dosis de un *biochar* producido a partir de paja de trigo y encontraron que las

emisiones de CH₄ aumentaron en todos los casos independientemente de la dosis aplicada. Por otra parte, en la investigación de Troy et al. (2013b) no se observaron efectos (ni aumento ni reducción) sobre las emisiones de CH₄ tras enmendar el suelo con un *biochar* producido a partir de purín de cerdo.

1.3.2 Gestión de residuos

Otro aspecto medio ambiental a considerar es el manejo sostenible de los residuos orgánicos: si bien hace falta confirmar mediante estudios a largo plazo, y en campo, algunos de los beneficios ambientales y agrícolas derivados del uso de *biochar* en el manejo de los suelos; su producción también podría representar una opción en la gestión sostenible de los residuos orgánicos. Esto debido a que dichos residuos pueden ser usados como materia prima en el proceso de producción de *biochar*.

Dicho de otra manera, es importante impulsar el uso de biomasa residual, como es el caso de los residuos agrícolas, forestales, la fracción orgánica de los residuos urbanos, etc., de los cuales existen altas tasas de producción.

De acuerdo a cifras publicadas por FAOSTAT, en el año 2009 se generaron 148.59 miles de toneladas de purín en Europa por 153,226,384 cabezas de cerdo (Wnetrzak et al., 2013). Por su parte, según datos publicados por EUROSTAT (2012), en España, durante el año 2012, se produjo un total de 5,496,458 toneladas de residuos agrícolas, forestales y de pesca. De modo que, es viable considerar el uso de este tipo de residuos en la producción de *biochar*.

A saber, aunque la aplicación directa de residuos en suelos, específicamente de residuos ganaderos, forma parte de las prácticas habituales de la agricultura; al ser usado como enmienda orgánica, el *biochar* influiría positivamente en la disminución de riesgos ambientales, como la eutrofización de acuíferos, ríos y/o embalses; la contaminación del suelo por nitratos; o la contaminación de cultivos por microorganismos patógenos. Esto, minimizando el riesgo sanitario que representa la aplicación directa de este tipo de residuos en el suelo; al tiempo que se reducen las emisiones a la atmósfera (Azargohar et al., 2013).

Lo anterior, sumado a la posibilidad de aprovechamiento energético; el rechazo de la tala de bosques y de la utilización de tierras que, en lugar de destinarse a la producción de alimentos, contribuye a la expansión de cultivos de biomasa (tal como ocurrió con la producción de agro-

combustibles); justifica la necesidad del tratamiento térmico de los residuos orgánicos, a pesar de que este tipo de valorización constituye una de las últimas opciones a considerar según la jerarquía europea de residuos (Directiva 2008/98/CE, 2008).

En resumen, resulta interesante la promoción del uso de residuos agrícolas, ganaderos, lodos de depuradora, etc., en la producción de *biochar*. Este aspecto es muy importante, ya que destinar grandes superficies de tierra para la producción de cultivos de biomasa como promoción del *biochar* no resulta sostenible ni ambiental ni socialmente.

Cabe destacar entonces, las múltiples investigaciones sobre *biochars* producidos a partir de lodos de depuradora (Hossain et al., 2011; Paz-Ferreiro et al., 2012; Gascó et al., 2012; Méndez et al., 2013;), gallinaza, estiércol y/o purín de cerdo (Cantrell et al., 2012; Song y Guo, 2012; Troy et al., 2013a; Cely et al., 2015), paja de trigo, paja de arroz, entre otros residuos agrícolas (Peng et al., 2011; Oleszczuk et al., 2014; Smider y Singh, 2014). En estos estudios, se ha evidenciado la importancia del *biochar* para mejorar la calidad del suelo y, por tanto, la productividad (Glaser et al., 2014); a la vez que constituye una práctica agrícola sostenible en términos ambientales al minimizar las emisiones asociadas al calentamiento global del sector agrícola (Case et al., 2012; Nelissen et al., 2014) y al representar una opción para la gestión de residuos (Shen et al., 2013).

1.3.3 Recuperación de suelos

Diversos estudios han demostrado que una de las aplicaciones potenciales del uso de *biochar* en los suelos es la recuperación de suelos contaminados por actividades mineras, para esto es necesario la restauración ecológica de dichos suelos (Anawar et al., 2015). El uso de *biochar* en estos estudios revela que su adición aumenta la producción de biomasa vegetal; disminuye la acidez en los residuos mineros, mejorando el pH y; reduce las concentraciones de metales pesados, tanto en el suelo como en las especies de plantas usadas para la fito-estabilización de los mismos (Rodríguez-Vila et al., 2015; Anawar et al., 2015).

Aun así, la reducción en la movilidad de los metales pesados varía significativamente de un metal a otro (Anawar et al., 2015). Investigaciones como la de Qiao et al. (2015) mostraron que tras tratar un suelo contaminado mediante la aplicación de un *biochar* producido a partir de tallos de maíz y fitorremediación, utilizando *arbuscular mycorrhizae*, la reducción en el

contenido de metales en plantas de maíz fue del 45 al 56 % para el Cu; del 25 al 45 % para el Ni, Cr y Zn; mientras que la reducción en el contenido de Pb y Cd fue del 10 al 20 %.

La materia prima usada para la producción de *biochar* tiene un papel importante en la recuperación de suelos contaminados. Según Kong et al. (2013) es común encontrar mayores concentraciones de fósforo en *biochars* preparados a partir de estiércol o gallinaza, lo cual los convierte en una buena opción para reducir las concentraciones de Pb mediante la precipitación de los fosfatos; en comparación con los *biochars* preparados a partir de plantas. Incluso, las materias primas contaminadas como resultado de procesos de fitoextracción tienen el potencial de ser usadas para la producción de *biochar*, con el fin de reducir la biodisponibilidad de metales en el suelo.

No obstante, antes de considerar la utilización de estos materiales, es fundamental conocer las especificaciones de los parámetros de adsorción de los diferentes *biochars*, así como determinar el máximo riesgo que representa el contenido de elementos contaminantes en la biomasa (Břendová et al., 2015). A esta conclusión llegó un grupo de investigadores tras encontrar que no había diferencias significativas entre la capacidad de adsorción de Cd y Pb, por parte de *biochars* producidos a partir de biomasa contaminada (residuos de maíz y madera de sauce, tanto los árboles como el maíz habían sido sembrados en suelos contaminados) y biomasa sin contaminar (madera de álamo). Sin embargo, hubo un incremento en la desorción de Zn como resultado del alto contenido en Zn y de la baja CIC de la biomasa contaminada (Břendová et al., 2015).

Estos resultados abren la posibilidad de utilización de residuos para los cuales no existe ningún tipo de aplicación, como es el caso de las especies vegetales empleadas en procesos de fitorremediación, las cuales podrían ser utilizadas para la producción de *biochar* con el propósito de recuperar suelos contaminados.

Por otra parte, el uso de *biochar* en suelos agrícolas tendría resultados beneficiosos en la reducción de la lixiviación de sustancias potencialmente contaminantes como herbicidas y fertilizantes minerales. En investigaciones como la de Hagner et al. (2015) se ha evidenciado la capacidad del *biochar* para reducir la lixiviación de glifosato cuando la dosis de *biochar* es mayor que 80 t ha⁻¹. Aunque, dichos resultados son muy variables en función de las propiedades químicas del *biochar* y, por tanto, de su capacidad de adsorción.

Finalmente, la adición de *biochar* en el suelo contribuye a la degradación y captura de pesticidas, reduciendo su biodisponibilidad. Por lo tanto, su contenido en las plantas también disminuye. Este efecto es más efectivo tras la adición de *biochars* producidos a altas temperaturas, lo cual puede ser resultado de su mayor área superficial y su mayor capacidad para capturar compuestos orgánicos (Yu et al., 2009).

1.4 Implicaciones socio-económicas de la utilización de *biochar*

1.4.1 Planes internacionales de desarrollo

El 25 de septiembre de 2015 la sede de Naciones Unidas reunió a los líderes mundiales de 193 estados para aprobar la agenda de desarrollo sostenible que se llevará a cabo hasta el año 2030. En ella, se sustituyeron los ocho objetivos del milenio (ODM) por 17 objetivos de desarrollo sostenible (ODS), los cuales han sido estructurados en torno al crecimiento económico, a la inclusión social y a la protección ambiental.

Bajo este marco, las investigaciones y la puesta en marcha de proyectos sobre el uso de *biochar* en la agricultura podrían significar un aporte para el cumplimiento de los ODS que se enuncian a continuación:

Objetivo 2: Poner fin al hambre, lograr la seguridad alimentaria, la mejora de la nutrición y promover la agricultura sostenible.

Objetivo 13: Adoptar medidas urgentes para combatir el cambio climático y sus efectos.

Objetivo 15: Proteger, restablecer y promover el uso sostenible de los ecosistemas terrestres, gestionar los bosques de forma sostenible, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras y poner freno a la pérdida de la diversidad biológica.

En este sentido, aunque hace falta más información y aún existe incertidumbre sobre algunos efectos generados tras la producción y uso del *biochar* en los suelos, como ya se ha mencionado, son varias las investigaciones que indican que, en algunos casos, el uso de *biochar* como enmienda orgánica incrementa la fertilidad de los suelos y mejora sus propiedades, aumentando el contenido de materia orgánica estable e incrementando la producción de cultivos. Por lo tanto, su uso, junto con otras estrategias tales como la promoción y realización de proyectos de agricultura ecológica; familiar y campesina,

representa una opción apropiada para mejorar la agricultura y la calidad de los suelos a nivel mundial.

De igual forma, en diversos estudios se ha evidenciado la capacidad del *biochar* para disminuir las emisiones de efecto invernadero asociadas al sector agrícola, no solo por la captura de carbono en los suelos, sino también por la reducción de las emisiones de metano y óxidos nitrosos. Lo cual, junto a la adopción de otras medidas, sería fundamental para mitigar los efectos producidos por el cambio climático.

1.4.2 Promoción de la soberanía alimentaria

En la cumbre mundial sobre la alimentación de 1996 se estableció que: “Existe soberanía alimentaria cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos a fin de llevar una vida activa y sana” (FAO, 1996).

Actualmente, existen conocimientos suficientes sobre la manera de combatir el hambre. Sin embargo, casi tres cuartas partes de las personas pobres, de los llamados países en desarrollo, viven en zonas rurales y gran parte de la población rural pobre son pequeños agricultores y trabajadores sin tierras, que dependen de la agricultura como fuente de ingresos. Es decir que, el rápido aumento de la pobreza rural se puede explicar por el declive de la agricultura y el sector rural (FAO, 2003). Por esta razón, la implementación de nuevas tecnologías en el sector agrícola es fundamental, especialmente porque la mejora de las propiedades del suelo es una necesidad en muchas regiones del mundo en las que hace falta garantizar la soberanía alimentaria (Lehmann y Joseph, 2009).

Si se impulsara la producción de *biochar* a nivel regional, o local, se reduciría la dependencia al mercado de fertilizantes (Barrow, 2012). En este sentido, el *biochar* representa una alternativa interesante de empoderamiento² de las comunidades campesinas, las cuales

2 Según la RAE el empoderamiento consiste en hacer poderoso o fuerte a un individuo o grupo social desfavorecido. Este término ha evolucionado desde los años 70 en torno a dos dimensiones, una individual que implica un proceso por el que los individuos más vulnerables elevan sus niveles de confianza, autoestima y capacidad para responder a sus propias necesidades y una dimensión colectiva que implica una participación social autónoma en pro al cumplimiento de objetivos comunes.

tendrían mayor autonomía para la producción de *biochar*, a partir de los residuos agrícolas y ganaderos que generan. Así mismo, disminuirían el volumen de residuos que producen; bien con la posibilidad de generar su propia energía (Scholz et al., 2014); o bien con la posibilidad de producción de bio-combustibles que pueden producirse en zonas rurales a pequeña escala, e incluso ser posteriormente transportados para llevar a cabo procesos de refinación o de producción de energía y calor (Fernandez-Akarregi et al., 2013).

De ahí que, si bien el uso de *biochar* no es la solución definitiva, ni la única respuesta al problema del hambre en el mundo; los hallazgos encontrados hasta ahora hacen necesario continuar con las investigaciones en torno al uso de *biochar* en la agricultura; el cual, en conjunto con otras estrategias, tales como el aumento de la producción local a pequeña escala, la agricultura ecológica, etc., representa una alternativa para impulsar la agricultura y el desarrollo rural sostenible.

Así, la integración del *biochar* en el desarrollo agrícola podría resultar beneficioso si se quiere aumentar la productividad mediante el acondicionamiento del suelo, con el objetivo de promover la soberanía alimentaria, especialmente en los lugares donde existen carencias o dificultades para garantizar el acceso a los alimentos. Todo esto, dentro del enfoque de doble componente establecido por la FAO, el cual combina la agricultura y el desarrollo rural sostenibles con programas específicamente dirigidos a incrementar el acceso a los alimentos (FAO, 2003).

1.4.3 Viabilidad económica

Para analizar la viabilidad económica de la producción y utilización de *biochar* con fines agrícolas, es importante destacar que el precio máximo de este material para su uso como enmienda orgánica en EEUU está alrededor de 500 \$ t⁻¹ (Shabangu et al., 2014).

La mejora del pH del suelo es uno de los efectos más observados en las investigaciones sobre el uso de *biochar* como enmienda orgánica (Glaser et al., 2014; Oleszczuk et al., 2014), lo cual indica que este material carbonoso sería un sustituto adecuado de la cal en la agricultura. Sin embargo, para modificar tan solo una unidad del pH de un suelo se necesita gran cantidad de *biochar*. Por ejemplo, para aumentar una unidad del pH de un suelo arenoso se necesitan 1.35 toneladas de cal por hectárea, mientras que la cantidad de *biochar* necesario para el

mismo propósito sería de 42.5 t ha⁻¹ (Galinato et al., 2011). De acuerdo a estos datos, no parece económicamente viable el uso de *biochar* para ajustar únicamente el pH durante la producción agrícola pues su costo sería mayor en comparación con la aplicación de cal.

No obstante, para determinar la rentabilidad del uso de *biochar* en los suelos se pueden considerar otras etapas del proceso, de las cuales se podrían obtener beneficios económicos, como es el caso de la etapa de producción. De acuerdo a esto, Shabangu et al. (2014) hicieron una evaluación económica de dos procesos de pirólisis a 300 °C y 450 °C usando como materia prima madera de pino con el fin de comercializar *biochar* y metanol, en dicha evaluación económica los investigadores asumieron que los requerimientos de biomasa serían de 100 t h⁻¹ y el precio de venta del metanol sería de 422 \$ t⁻¹ (18.59 \$ GJ⁻¹). Bajo este escenario encontraron que el proceso es viable solo si el precio de venta mínimo del *biochar* es de 280 \$ t⁻¹ en el caso del proceso de pirólisis a 450 °C y de 220 \$ t⁻¹ en el caso de la pirólisis a 300 °C.

Por su parte, en el estudio de Kung et al. (2013) se hizo una evaluación económica de procesos de pirólisis lenta y rápida usando como materia prima madera de álamo. En el primer escenario de dicho estudio, el objetivo fue producir y comercializar energía, bioaceites y *biochar*. Este último fue empleado durante el proceso como fuente de calor y solo se comercializó el excedente. Los resultados indican que los rendimientos energéticos son muy bajos y los costes muy altos, por lo tanto, no se puede producir energía de forma competitiva a partir del proceso de pirólisis lenta.

En el mismo estudio, Kung et al. (2013) evaluaron la viabilidad económica de la producción y aplicación en suelos de todo el *biochar* producido. Para esto, tuvieron en cuenta los impactos positivos del *biochar* en el suelo y cómo éstos podrían repercutir económicamente en la reducción del uso de fertilizantes y agua. Los resultados indican que la rentabilidad depende, en gran medida, del aumento en el rendimiento de los cultivos, si dicho rendimiento aumenta un 14.9 % el primer año y 7.45 % los años siguientes, el proceso de pirólisis lenta podría ser rentable.

Finalmente, Kung et al. (2013) consideraron la compensación económica derivada de la disminución de gases de efecto invernadero tras la aplicación de *biochar* en el suelo y encontraron que la rentabilidad depende de que el precio de compensación sea mayor que

39.23 \$/t CO₂-equivalente en el caso de la pirólisis rápida y 33.02 \$/t CO₂-equivalente en el caso de la pirólisis lenta.

Es importante tener en cuenta que la rentabilidad es muy variable en función del coste de la biomasa, de la calidad de los productos a comercializar y del coste de inversión (Shabangu et al., 2014). Aunque se encontrara una configuración que optimizara el proceso para la producción de *biochar* y bioaceites de buena calidad, difícilmente dicho proceso representaría rentabilidad económica (Yoder et al., 2011). Es decir que, en la mayoría de los escenarios, la aplicación de *biochar* como enmienda orgánica sería económicamente viable solo si se considera el aumento en la productividad de cultivos, la mejora de las propiedades del suelo y si hay una retribución económica por la captura de carbono (Galinato et al., 2011); al igual que si se considera la reducción en las emisiones de N₂O y CH₄ tras la aplicación de *biochar* en el suelo (Pratt et al., 2010).

2 CAPÍTULO 2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

El objetivo general de esta tesis es estudiar las características de diversos tipos de *biochars* y los impactos derivados de su uso como enmienda orgánica sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas de distintos tipos de suelos; así como evaluar su efecto sobre el desarrollo de algunas especies vegetales para determinar su viabilidad como opción en la valorización y uso agrícola de diversos residuos orgánicos.

2.2 Objetivos específicos

El objetivo general se divide a su vez en los siguientes objetivos específicos:

1. Estudiar la influencia de las propiedades de diversos residuos ganaderos y de la temperatura de pirólisis sobre las propiedades agronómicas de los *biochars*.
2. Evaluar la influencia de distintos tipos de *biochars* sobre las propiedades del suelo, en relación al ciclo del carbono y las actividades enzimáticas.
3. Evaluar la viabilidad del uso de *biochar* como enmienda orgánica, mediante su influencia en la germinación de semillas y el desarrollo de las plantas.

2.3 Esquema general

Figura 2.1. Esquema general del trabajo planteado para el cumplimiento de los objetivos.

3 CAPÍTULO 3. PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE *BIOCHAR* A PARTIR DE RESIDUOS GANADEROS

3.1 Introducción

El objetivo principal de este capítulo es estudiar la influencia de las propiedades de diversos residuos ganaderos y de la temperatura de pirólisis sobre las propiedades agronómicas de los *biochars*. Para este fin, se emplearon distintos residuos (estiércol, con y sin paja; gallinaza, con y sin serrín; y purín de cerdo) como materia prima y se evaluaron sus propiedades y las de los *biochars* preparados a dos temperaturas (300 °C y 500 °C).

Los residuos ganaderos han sido usados tradicionalmente como enmienda orgánica en suelos agrícolas; incluso, en algunas investigaciones se han observado mejoras en las propiedades de suelos enmendados con este tipo de residuos. Por ejemplo, Da Rosa et al. (2013) encontraron que tras la aplicación de una y dos dosis de 90 Kg ha⁻¹ y 180 Kg ha⁻¹ de purín de cerdo en el suelo, el contenido en carbono lábil aumentó, mejorando la actividad microbiana y dando lugar a un efecto *priming* positivo. Ahora bien, es importante considerar que esos cambios implican un incremento en las emisiones de gases de efecto invernadero, las cuales suelen aumentar considerablemente en los suelos enmendados con residuos ganaderos (Troy et al., 2013b). Da Rosa et al. (2013) también observaron que, tras la aplicación de dichas dosis de purín de cerdo, el pH y la biodisponibilidad de P, Ca y Mg en el suelo aumentaron.

En contraste, Leonel et al. (2009) encontraron que la adición de estiércol en el suelo no afectó a los niveles de macro y micro nutrientes. También observaron que, en los suelos tratados con estiércol, hubo un incremento en el porcentaje de productividad de cultivos de higueras y un mayor número de higos en todos los ciclos de cosecha.

Es común observar aumentos significativos en la biodisponibilidad de nutrientes en suelos tratados con residuos ganaderos. Esto, sin embargo, puede representar riesgos para el ecosistema del suelo y el medio ambiente (Corá et al., 2015), como la eutrofización y nitrificación de los suelos y las aguas. Por esta razón, el uso de residuos ganaderos como enmienda orgánica representa un grave problema en zonas con pequeña superficie cultivable y gran número de explotaciones ganaderas, ya que la adición constante de altas dosis de éstos

residuos en áreas pequeñas aumenta la concentración de contaminantes en los suelos y su lixiviación con la consiguiente contaminación de aguas superficiales y subterráneas.

Otro efecto negativo, generado por el uso de residuos ganaderos en suelos agrícolas, es el impacto sobre la reproducción y el desarrollo de diferentes organismos como, por ejemplo, las lombrices. A esta conclusión llegó un grupo de investigadores quienes, además, observaron un aumento en la tasa de mortalidad de dichos macroorganismos (Sizmur et al., 2011). Aun así, la respuesta de las lombrices fue muy variable en función del contenido en materia orgánica y el pH, entre otras propiedades del residuo y del suelo (Sizmur et al., 2011).

La mala gestión de estos residuos también supone impactos negativos en la salud de las personas. Por ejemplo, se puede producir un mayor riesgo de transmisión de enfermedades como la peste porcina (Lomas et al., 2001), o la transmisión de genes resistentes a los antibióticos, debido a los altos contenidos en patógenos de los residuos ganaderos, entre los que se destacan bacterias resistentes a los antibióticos. Dichas bacterias pueden contaminar el suelo, los cultivos y fuentes de agua subterráneas y superficiales (Udikovic-Kolic et al., 2014).

Por estas razones, en los últimos años se han desarrollado distintos tratamientos como la digestión anaerobia o el compostaje, aplicables a este tipo de residuos (Lomas et al., 2001).

En definitiva, se ha planteado la posible utilización de residuos ganaderos como materias primas para la producción de *biochar* dadas las ventajas anteriormente mencionadas en relación al uso de *biochar* en los suelos, entre las que cabe destacar la posibilidad de aprovechamiento energético, la mejora de las propiedades del suelo, la captura de contaminantes presentes en el suelo, el aumento de la productividad de cultivos y la disminución de emisiones (Omar y Robinson, 2014; Barrow, 2012; Edenborn et al., 2015). Por tanto, es necesario evaluar la viabilidad de producción de *biochar* a partir de residuos ganaderos como alternativa para la gestión de los mismos, así como evaluar el potencial de dicho *biochar* para ser usado como enmienda orgánica.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Selección de materias primas

Se seleccionaron cinco residuos procedentes de explotaciones ganaderas de la provincia de Ávila (Castilla y León, España) (Figura 3.1); las muestras se secaron a temperatura ambiente y; posteriormente, se tamizaron con un tamiz de 2 mm. Estos residuos fueron:

- Estiércol vacuno (E)
- Estiércol vacuno con paja (EP)
- Gallinaza (G)
- Gallinaza con serrín (GS)
- Purín de cerdo (PC).

Figura 3.1. Residuos ganaderos; a) E, b) EP, c) G, d) GS, e) PC.

3.2.2 Preparación de los *biochars*

Los *biochars* se prepararon a partir de cada residuo ganadero mediante un proceso de pirólisis a dos temperaturas distintas: 300 °C y 500 °C. La velocidad de calentamiento fue de 10 °C min⁻¹. La correspondiente temperatura final se mantuvo de forma constante durante 1 hora. Tras dicho procedimiento, se obtuvieron 10 muestras cuya nomenclatura se recoge en la Tabla 2.

Tabla 2. Muestras de biochar producidas

Residuo	Temperatura	<i>Biochar</i>
Estiércol vacuno	300 °C	BE300
	500 °C	BE500
Estiércol vacuno con paja	300 °C	BEP300
	500 °C	BEP500
Gallinaza	300 °C	BG300
	500 °C	BG500
Gallinaza con serrín	300 °C	BGS300
	500 °C	BGS500
Purín de cerdo	300 °C	BPC300
	500 °C	BPC500

La Figura 3.2 muestra imágenes de las 10 muestras de *biochar* obtenidas por pirólisis de residuos ganaderos:

Figura 3.2. Residuos ganaderos y sus correspondientes biochars; a) E, b) BE300, c) BE500, d) EP, e) BEP300, f) BEP500, g) G, h) BG300, i) BG500, j) GS, k) BGS300, l) BGS500, m) PC, n) BPC300, ñ) BPC500.

3.2.3 Caracterización de los residuos ganaderos y de los *biochars*

En las muestras de residuos y *biochars*, se determinó el pH, la conductividad eléctrica (CE), la capacidad de intercambio catiónico (CIC), el contenido en bases de cambio (Ca, Mg, K y Na), el contenido en nitrógeno Kjeldahl (N_{Kjeldahl}), el contenido en fósforo (P), el contenido en carbono orgánico fácilmente oxidable ($C_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$) y el contenido en metales totales (Fe, Zn, Ni, Cu y Cd) y móviles (Zn, Ni, Cu y Cd). Además, en las muestras de *biochars*, se determinó el área superficial mediante el índice de yodo. Para completar la caracterización, se hizo un análisis inmediato, un análisis elemental y un análisis termogravimétrico (TG, dTG y DTA). Finalmente, se calculó el poder calorífico superior (PCS) de los residuos ganaderos.

El pH y la CE se determinaron en una relación muestra: agua de 1:2.5 utilizando un pH metro Crison micro-pH 2000 (Thomas, 1996) y un conductivímetro Crison 222 conductivimeter (Rhoades, 1996), respectivamente.

La CIC se determinó a partir de una disolución de 20 g de muestra y 50 mL de acetato de amonio (NH_4OAc) 1.0 N a pH 7.0 (Sumner y Miller, 1996). La mezcla se agitó durante 30 minutos y se dejó en reposo 24 horas. Transcurrido este tiempo, se filtró la disolución con 200 mL de acetato de amonio. Posteriormente, la solución se recogió en un matraz erlenmeyer, en el cual se determinó la concentración de iones Ca, Mg, K y Na con un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 2280.

Figura 3.3. Detalle del procedimiento para determinar la CIC; a) Destilación, b) Filtración.

En el papel filtro quedó retenida la muestra con exceso de amonio, la cual se lavó con 200 mL de alcohol etílico. La solución recogida se desechó y el contenido del papel filtro se lavó nuevamente con 200 mL de cloruro de sodio acidulado (NaCl) al 10 %. La solución recogida se destiló sobre 100 mL de ácido bórico (H_3BO_3) al 2 %. Tras la destilación, se hizo una valoración con ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.1 N. El indicador utilizado fue rojo de metilo y la CIC se calculó de acuerdo a la ecuación [1].

$$mmol_c/100g = \frac{V \times N \times f}{P} \times 100 \quad [1]$$

Donde: V es el volumen de H_2SO_4 , N la normalidad del H_2SO_4 , f el factor de la relación entre la normalidad real y la normalidad verdadera y P el peso en gramos de la muestra.

El área superficial se evaluó a partir de la determinación del índice de yodo (ASTM, 1995), calculado según el método estandarizado D-4607-94. Las muestras se tamizaron a través de una malla de 45 μm y, posteriormente, se pesaron en un matraz erlenmeyer de 250 mL. A continuación, se añadieron 5 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 5 % y se llevaron a ebullición. Las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se les añadió 25 mL de yodo (I) 0.1 N. Posteriormente, se agitaron durante 30 segundos y se filtraron. A partir de 20 mL del filtrado se realizó una valoración con tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$) 0.1 N utilizando almidón como indicador. El índice de yodo se calculó de acuerdo a la ecuación [2].

$$\text{Índice de yodo} = \frac{(V_b - V_m) \times N \times 12.69}{P} \quad [2]$$

Donde: V_b es el volumen de $Na_2S_2O_3$ en mL gastados en el blanco, V_m es el volumen de $Na_2S_2O_3$ en mL gastados en la muestra, N es la normalidad del $Na_2S_2O_3$ y P el peso en gramos de la muestra.

El $N_{Kjeldahl}$ se determinó a partir de la digestión de Kjeldahl (Bremmer y Mulvaney, 1982). Se pesaron 5 g de muestra seca y tamizada, y se introdujeron en un tubo de destilación. Posteriormente, se añadieron 5.5 g de mezcla catalizadora y 15 mL de ácido sulfúrico

concentrado (H_2SO_4). El tubo se puso en el digestor de nitrógeno, donde el nitrógeno orgánico total se convirtió en sulfato de amonio, el cual se destiló sobre 50 mL de ácido bórico (H_3BO_3) al 2 %.

Finalmente, se hizo una valoración con ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.1 N, se usó como indicador rojo de metilo y verde de bromocresol. El porcentaje de nitrógeno se calculó de acuerdo a la ecuación [3].

$$N_{Kjeldahl} = \frac{V}{P} \times N \times 1.4 \quad [3]$$

Donde: V es el volumen en mL de H_2SO_4 , P es el peso de la muestra en gramos y N es la normalidad del H_2SO_4 .

Figura 3.4. Detalle del procedimiento para determinar el $N_{Kjeldahl}$; a) Preparación de las muestras en los tubos de destilación, b) Digestión de las muestras en el digestor de nitrógeno.

El fósforo se determinó según la metodología de Watanabe y Olsen (1965). En primer lugar, se prepararon los patrones de fósforo disolviendo 0.439 g de fosfato diácido de potasio

(KH_2PO_4) en agua y enrasando a 100 mL para obtener el patrón de 1000 ppm de fósforo, el cual se diluyó 50 veces para obtener el patrón de 20 ppm. El extractante fue bicarbonato de sodio (NaHCO_3) a pH 8.5. Se tomó 1 g de muestra y se adicionaron 20 mL de extractante, posteriormente, se agitó durante 30 minutos y se filtró. En tubos de ensayo se añadieron 5 mL del filtrado y 5 mL de nitrovanadatolibdato, las muestras se dejaron en reposo durante 30 minutos para que se desarrollara el color y se midieron en un espectrofotómetro Shimadzu UV-1203 a una longitud de onda de 430 nm. De igual forma, en el caso de los patrones se añadieron 0, 1, 2, 3, 4 y 5 mL de patrón de 20 ppm y 5, 4, 3, 2, 1 y 0 mL de agua y 5 mL de reactivo nitrovanadatolibdato. Los patrones se dejaron en reposo durante 30 minutos para que se desarrollara el color y su concentración fue de 0, 4, 8, 12, 16 y 20 ppm respectivamente.

El $\text{C}_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$ se determinó siguiendo el método Walkley-Black (Nelson y Sommers, 1996). Se adicionó una cantidad aproximada de 0.3 g de la muestra en un erlenmeyer con 10 mL de dicromato potásico ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) y 20 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4). Posteriormente se dejó reposar cada muestra durante 30 minutos, al completar este tiempo se adicionó agua destilada hasta completar los 150 mL del erlenmeyer. Finalmente, se realizó una valoración con sal de Mohr (sulfato ferroso amónico, $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) utilizando como indicador ortofenantrolina. El porcentaje de carbono orgánico fácilmente oxidable se determinó a partir de la ecuación [4].

$$C_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7} = \frac{3 \times \left(1 - \frac{V_m}{V_b}\right)}{P} \quad [4]$$

Donde: 3 es el peso equivalente del carbono en la reacción de oxidación de la materia orgánica, V_m es el volumen de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ gastado en la muestra, V_b es el volumen de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ gastado en el blanco y P es el peso en gramos de la muestra.

El contenido total en metales se determinó mediante un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 2280 tras extraer la muestra por digestión ácida siguiendo el método 3051a (USEPA, 1997). Se pesaron 0.5 g de muestra y se transfirieron a un vaso de precipitado

de 50 mL donde, posteriormente, se adicionaron 5 mL de ácido nítrico (HNO_3) y 5 mL de ácido clorhídrico (HCl) concentrados. Se tapó el vaso de precipitado con un vidrio de reloj y se colocó en la plancha a una temperatura de 90 °C durante 1 hora. Trascurrido ese tiempo se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente y se filtró en un matraz aforado de 50 mL. El vaso de precipitado se lavó con agua destilada para transferir todo su contenido y hasta enrasar el matraz aforado. En la disolución se midieron los metales totales por espectrofotometría de absorción atómica.

Figura 3.5. Detalle del procedimiento de digestión para la extracción de metales; a) Ebullición de las muestras, b) Filtración.

El contenido en metales móviles también se determinó en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 2280 (Ure et al., 1965). En este caso, la muestra se extrajo por digestión usando 10 mL de cloruro de calcio (CaCl_2) 0.1 M y 1 g de muestra. La disolución se agitó durante 1 hora y se filtró antes de medir la concentración de metales en el espectrofotómetro.

El análisis inmediato se determinó por termogravimetría usando un equipo de análisis termogravimétrico modelo Labsys Setaram. Para ello, se incrementó la temperatura de la muestra hasta alcanzar los 600 °C a una velocidad de calentamiento de 30 °C min^{-1} bajo atmósfera de nitrógeno. La humedad se calculó mediante la pérdida de peso desde la temperatura inicial hasta los 150 °C. La materia volátil (MV) se determinó a partir de la pérdida de peso desde los 150 °C hasta los 600 °C. Las cenizas se calcularon como el peso final de la muestra tras introducir aire a 600 °C hasta peso constante. El carbono fijo (CF) se

calculó por diferencia. Con el fin de evitar la descomposición de los carbonatos y contabilizar como materia volátil el CO₂ producido en dicha descomposición, se calculó el contenido en cenizas por combustión a 600 °C y no a 800 °C - 900 °C (Lu et al., 2014a; Cely et al., 2014; Kalderis et al., 2014).

El análisis elemental (C, H, N, O), se realizó mediante la combustión de las muestras a 1000 °C en un equipo Macro-analyser elemental Leco TruSpec CHNS y el oxígeno se determinó por diferencia.

También se realizó un análisis termogravimétrico (TG, dTG) y un análisis térmico diferencial (DTA) en una termobalanza modelo Labsys Setaram. Para ello, se pesaron 80 mg de cada muestra, y se calentaron a 15 °C min⁻¹ hasta alcanzar los 850 °C en una atmósfera de aire usando un flujo de aire de 30 mL min⁻¹.

Todos los procedimientos descritos anteriormente se realizaron por triplicado.

Finalmente, se calculó el poder calorífico superior de cada uno de los residuos ganaderos a partir de las aproximaciones sugeridas por Choi et al. (2014), de las cuales se utilizaron 8 aproximaciones basadas en el análisis inmediato y 13 en el análisis elemental:

- Análisis Inmediato

$$PCS = 0.1823 \times MV^{1.034} \quad [5]$$

$$PCS = 0.1109 \times MV^{1.1386} \quad [6]$$

$$PCS = (0.197 \times MV) + 0.3955 \quad [7]$$

$$PCS = (0.1645 \times MV) + 3.5194 \quad [8]$$

$$PCS = (-0.1678 \times ceniza) + 20.0517 \quad [9]$$

$$PCS = (0.557 \times MV) - (0.003 \times MV^2) - 8.5907 \quad [10]$$

$$PCS = (0.323 \times MV) - (0.001 \times MV^2) - 3.4159 \quad [11]$$

$$PCS = (-0.1279 \times ceniza) - (0.001 \times ceniza^2) + 19.1279 \quad [12]$$

- Análisis Elemental

$$PCS = 0.4233 \times C^{1.0118} \quad [13]$$

$$PCS = 0.4291 \times C^{1.0004} \quad [14]$$

$$PCS=(0.3841\times C)+1.654 \quad [15]$$

$$PCS=(0.3976\times C)+1.6494 \quad [16]$$

$$PCS=(0.338\times C)+(0.1705\times O)-1.3236 \quad [17]$$

$$PCS=(0.6157\times C)-(0.004\times C^2)-1.4083 \quad [18]$$

$$PCS=(0.3528\times C)+(0.6403\times N)+1.518 \quad [19]$$

$$PCS=(0.3375\times C)+(0.1267\times O)-0.4527 \quad [20]$$

$$PCS=(0.3532\times C)+(0.4859\times N)+1.494 \quad [21]$$

$$PCS=(0.2322\times C)+(0.764\times H)+(0.1325\times O)-0.4479 \quad [22]$$

$$PCS=(0.2681\times C)+(0.5089\times H)+(0.1723\times O)-1.2684 \quad [23]$$

$$PCS=(0.2856\times C)+(0.352\times H)+(0.0969\times O)+(0.432\times N)-0.0691 \quad [24]$$

$$PCS=(0.2579\times C)+(0.5887\times H)+(0.0755\times O)+(0.2979\times N)+0.3785 \quad [25]$$

3.3 Resultados y discusión

Las Tablas 3, 4 y 5 incluyen los resultados de caracterización de las muestras de residuos ganaderos y de los *biochars* preparados a partir de dichas muestras.

Los valores de pH de los residuos ganaderos están en un rango de 5.8 (G) a 10.3 (EP), mientras que el pH de las muestras de *biochar* aumentó dentro del rango de 7.8 (BPC300) a 10.6 (BGS300 y BG500). En general, se ha observado que el pH aumenta con la temperatura de pirólisis. Sin embargo, la magnitud de este aumento depende de las características de la biomasa (Cantrell et al., 2012). Por ejemplo, en las muestras E y PC el pH disminuyó tras la pirólisis a 300 °C. Hossain et al. (2011) observaron un comportamiento similar tras la pirólisis de lodos de depuradora a bajas temperaturas (> 400 °C). Los resultados de la Tabla 5 muestran como todas las muestras de *biochar* obtenidas a 500 °C tienen un pH alcalino que oscila entre 8.2 (BPC500) y 10.6 (BG500).

En cuanto a la CE los resultados encontrados tras la pirólisis de las muestras PC y GS indican una reducción significativa de la CE con la temperatura de pirólisis, del mismo modo que los resultados observados por Hossain et al. (2011) en *biochars* obtenidos a partir de lodos de depuradora. Sin embargo, en el caso de E, EP y G, la CE aumentó con la temperatura de

pirólisis. Esto indica que las características de la biomasa tienen una influencia importante en la evolución de la CE durante la pirólisis.

Las Tablas 4 y 5 muestran los resultados del índice de yodo de los *biochars*. Esta propiedad está relacionada con la porosidad, la cual se estima en función de la cantidad de yodo adsorbida por cada gramo de *biochar*. En términos generales, los valores de índice de yodo obtenidos fueron pequeños, probablemente debido a que en su producción no hubo ninguna etapa de activación ($BEP \approx BG \approx BE > BGS \approx BPC$). Los valores de índice de yodo aumentan en carbones que han tenido una etapa de activación, además, dicho aumento varía significativamente en función del tipo de activación. Por ejemplo, en la investigación de Wu et al. (2014) se observó que el valor de índice de yodo es mayor en carbones activados químicamente con KOH, en comparación con aquellos activados con $ZnCl_2$ y H_3PO_4 . En dicha investigación se prepararon carbonos activos a partir de lodos de residuos ganaderos y se observó que los valores del índice de yodo estuvieron entre 15 g I/100g y 48 g I/100g.

La CIC refleja la capacidad del *biochar* y de los residuos ganaderos para intercambiar cationes. Los suelos minerales generalmente tienen una CIC menor que $15 \text{ cmol}_{(c)} \text{ kg}^{-1}$ mientras que las sustancias húmicas pueden llegar a tener una CIC mayor que $100 \text{ cmol}_{(c)} \text{ kg}^{-1}$ (Sposito, 1989). Los suelos con alta CIC son capaces de retener nutrientes catiónicos en la zona de las raíces disminuyendo la lixiviación de nutrientes. Por lo tanto, la adición de enmiendas con alta CIC mejora la productividad de los suelos e incluso puede reducir la contaminación de las aguas subterráneas por lixiviación de nutrientes y metales traza, lo que además tiene una influencia positiva sobre el ciclo de los nutrientes (Sohi et al., 2009).

De acuerdo a los resultados expuestos en las Tablas 3, 4 y 5 los residuos ganaderos tienen una CIC entre $44.1 \text{ cmol}_{(c)} \text{ kg}^{-1}$ (PC) y $66.8 \text{ cmol}_{(c)} \text{ kg}^{-1}$ (G). Aunque, este parámetro varía significativamente en los *biochars* en función de los diferentes tipos de residuos ganaderos utilizados como materia prima y de las temperaturas de pirólisis empleadas.

El valor más alto de CIC se obtuvo con el *biochar* BG300 ($137.6 \text{ cmol}_{(c)} \text{ kg}^{-1}$) indicando que este material resultaría interesante para su utilización con fines agronómicos al adicionarse al suelo como enmienda orgánica. Este valor fue similar al obtenido por Zhao et al. (2013) tras pirolizar purín de cerdo a 650°C . En cambio, el valor más bajo de CIC correspondió a los

biochars BPC300 y BPC500. En este caso, y en concordancia con Song y Guo (2012), la CIC disminuyó con el aumento de la temperatura.

La Tabla 3 muestra la concentración en K, Ca, Mg, Na y P de los diferentes residuos ganaderos. Los bajos valores en la CIC de los *biochars* BPC300 y BPC500 podrían estar relacionados con el bajo contenido en K, Ca, Mg y Na del residuo PC usado como materia prima. Por otra parte, la CIC de los *biochars* preparados a partir de E aumentó con la temperatura, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Zhao et al. (2013).

El incremento en la CIC durante la pirólisis podría relacionarse con el contenido en K, Ca, Mg y Na de la biomasa, que promueve la formación de grupos oxigenados (carbonilos, carboxilos y fenólicos) en la superficie del *biochar* (Meszáros et al., 2007), los cuales mejoran la CIC debido a las interacciones electrostáticas (Abdel-Fattah et al., 2014). Dichas interacciones también se establecen con los iones metálicos retenidos en la estructura del *biochar* como resultado del aumento del pH tras el proceso de pirólisis. Por lo tanto, el incremento del pH podría influir en el incremento de la CIC cuando aumenta la temperatura (Zornoza et al., 2015).

En cuanto a los *biochars* obtenidos tras la pirólisis de los residuos EP, G y GS se observó un comportamiento distinto, ya que la CIC aumentó tras el proceso de pirólisis a 300 °C, pero disminuyó tras la pirólisis a 500 °C. La reducción en la CIC durante la pirólisis podría relacionarse con la disminución de grupos hidroxilo y carboxilo al aumentar la temperatura de tratamiento, lo cual afecta la capacidad del *biochar* para retener nutrientes (Zornoza et al., 2015).

Con respecto al contenido intercambiable de Ca, Mg, Na y K, si bien, las concentraciones se mantuvieron en el mismo rango que las presentadas por otros autores (Cantrell et al., 2012). No se observó un enriquecimiento de nutrientes tras el proceso de pirólisis, lo cual podría ser resultado de la alta estabilidad de los *biochars*, en cuya superficie se adsorbe el Ca, Mg, Na y K mediante enlaces fuertes los cuales impiden la extracción completa de dichas bases de cambio.

El contenido en fósforo de los residuos ganaderos disminuye tras la pirólisis a 300 °C (Tablas 3 y 4). De cualquier modo, no hay una tendencia clara con respecto a la variación del contenido en fósforo entre las muestras pirolizadas a 300 °C y a 500 °C, pues su valor

aumenta en los *biochars* BE500 y BEP500 y disminuye tras la pirólisis de los residuos PC y G a 500 °C (Tablas 4 y 5).

Las Tablas 3, 4 y 5 muestran los resultados del contenido en N_{kjeldhal} , $C_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$ y la relación C/N de los residuos ganaderos, los *biochars* producidos a 300 °C y los *biochars* producidos a 500 °C respectivamente. El N_{kjeldhal} incluye el contenido en nitrógeno orgánico y nitrógeno amoniacal, pero no las formas inorgánicas (nitritos y nitratos).

En los residuos ganaderos el contenido en N_{kjeldhal} varió de 1.81% en el caso del EP hasta 3.35% en el caso de la G. Además, su contenido disminuyó con el aumento de la temperatura en los residuos E, GS y PC. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Wang et al. (2012) quienes estudiaron la disponibilidad del nitrógeno en un *biochar* producido a partir de estiércol y encontraron que el nitrógeno se vuelve más estable con el aumento de la temperatura de pirólisis. En las muestras EP y G el contenido en N_{kjeldhal} aumentó con la pirólisis a 300 °C (el contenido más alto de N_{kjeldhal} en los *biochars* correspondió al BG300) y disminuyó al aumentar la temperatura, indicando que tras el proceso de pirólisis el contenido de N en estos residuos es más lábil a bajas temperaturas y más estable a altas temperaturas.

Calvelo Pereira et al. (2011) encontraron que en general la oxidación con dicromato potásico podría ser una medida del grado de carbonización de la biomasa y de este modo podría ser usado para estimar la fracción lábil del carbono contenido en el *biochar*. Así mismo, Wang et al. (2012) encontraron que el $C_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$ decrece cuando la temperatura de pirólisis aumenta, mientras que, el contenido en C elemental aumenta con la temperatura. De la misma manera, Song y Guo (2012) estudiaron las variaciones en la calidad de un *biochar* preparado a partir de gallinaza a distintas temperaturas y encontraron que la fracción recalcitrante del *biochar* de gallinaza resistente a la oxidación con dicromato aumenta con la temperatura de pirólisis.

Los resultados de esas investigaciones coinciden con los obtenidos en este estudio (Tablas 4 y 5) a excepción de la tendencia observada para el C elemental de los *biochars* producidos a 500 °C, pues su contenido disminuyó ligeramente en comparación con los *biochars* producidos 300 °C.

En cuanto a los resultados del contenido en $C_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$ de las muestras se puede observar una disminución al aumentar la temperatura, indicando el aumento en la estabilidad del *biochar* como consecuencia del reordenamiento progresivo de las estructuras orgánicas en estructuras

de alta estabilidad formadas durante la pirólisis. La reducción en el contenido de $C_{K2Cr2O7}$ fue más importante para el *biochar* producido a partir de GS a 300 °C, generando un *biochar* muy estable a bajas temperaturas.

Los valores obtenidos de la relación C/N de los diferentes materiales de partida se corresponden con los encontrados en la literatura para este tipo de residuos (Mustin, 1987; María et al., 2009). Los valores medios de la relación C/N para el estiércol están entre 15-20 (el valor de E es 20.94 y de EP es 18.23), para la gallinaza entre 10-15 (el valor para la G es 10.67 y 10.26 para la GS) y para el purín de cerdo entre 4-5 (el valor de PC es 5.38). La relación C/N disminuye tras la pirólisis como consecuencia del aumento en la estabilidad del $N_{kjeldhal}$ y del $C_{K2Cr2O7}$.

Tabla 3. Caracterización de los residuos ganaderos.

	pH	CE dS m ⁻¹	CIC cmol _(c) kg ⁻¹	N kjeldahl %	P mg Kg ⁻¹	C _{K2Cr2O7} %	C/N	Ca mg Kg ⁻¹	Mg mg Kg ⁻¹	Na mg Kg ⁻¹	K mg Kg ⁻¹
E	8.8±0.5	0.26±15	53.7±4.7	1.92±0.13	3.1±0.2	40.2±2.1	20.94	5.3±0.2	2.27±140	8.2±0.1	12.9±0.6
EP	10.3±0.1	0.6±36	60.2±0.9	1.81±0.17	3.2±0.1	33.0±1.5	18.23	3.8±0.3	1.43±140	17.3±0.8	3.5±0.1
G	5.8±0.1	0.43±31	66.8±1.4	3.35±0.17	3.6±0.1	35.8±1.6	10.67	1.8±0.2	0.2±32	7.7±0.1	29.7±0.8
GS	8.0±0.1	0.35±5	64.2±0.6	3.18±0.03	3.2±0.2	32.6±1.2	10.26	2.6±0.1	0.2±32	8.7±0.1	31±0.9
PC	9±0.1	0.12±3	44.1±0.3	2.51±0.22	2.3±0.2	13.5±0.7	5.38	1.5±0.2	0.7±123	0.6±0.1	0.7±0.1

Tabla 4. Caracterización de los biochars producidos a 300 °C.

	pH	CE dS m ⁻¹	CIC cmol _(c) kg ⁻¹	Índice yodo g I 100 g ⁻¹	N kjeldahl %	P mg Kg ⁻¹	C _{K₂Cr₂O₇} %	C/N	Ca mg Kg ⁻¹	Mg mg Kg ⁻¹	Na mg Kg ⁻¹	K mg Kg ⁻¹
BE300	8.0±0.1	0.31±12	66.3±8.5	19.67±1.47	1.91±0.23	1.8±0.1	35.2±1.8	18.43	3.7±0.1	3.3±481	2.7±0.1	3.3±0.3
BEP300	10.1±0.1	0.42±21	65.5±13	21.30±1.04	2.87±0.14	1.8±0.1	21.4±1.9	7.46	3.2±0.2	2.2±160	4.3±0.2	3.5±0.3
BG300	8.1±0.1	0.52±36	137.6±9.7	20.52±3.75	4.72±0.34	2.2±0.1	13.6±0.9	2.89	3.4±0.3	0.12±24	13.3±1.4	50.7±0.9
BGS300	10.6±0.1	0.41±10	81.7±0.3	15.17±0.58	1.26±0.12	2.6±0.1	4.2±0.6	3.32	3±0.3	0.05±10	12.2±0.7	53.6±0.9
BPC300	7.8±0.1	0.10±11	35.6±0.1	9.55±1.04	2.24±0.04	2.8±0.2	7.9±0.4	3.52	1.3±0.2	0.9±128	0.6±0.1	0.8±0.1

Tabla 5. Caracterización de los biochars producidos a 500 °C.

	pH	CE dS m ⁻¹	CIC cmol _(c) kg ⁻¹	Índice yodo g I 100 g ⁻¹	N kjeldahl %	P mg Kg ⁻¹	C _{K₂Cr₂O₇} %	C/N	Ca mg Kg ⁻¹	Mg mg Kg ⁻¹	Na mg Kg ⁻¹	K mg Kg ⁻¹
BE500	10.2±0.1	0.39±15	70.9±1.5	19.21±1.77	1.29±0.11	2.3±0.4	8.0±0.3	6.17	10.5±0.8	2.05±160	2.7±0.1	3.4±0.2
BEP500	10.1±0.1	0.56±43	58.4±0.7	20.18±3.72	1.43±0.12	3.6±0.1	4.8±0.8	3.35	1.8±0.2	2.1±220	2.8±0.1	3.5±0.4
BG500	10.6±0.1	0.66±25	81.4±2.0	19.29±3.92	1.52±0.02	1.4±0.2	3.1±0.2	2.06	2.6±0.1	0.05±11	13.7±0.9	56.5±0.9
BGS500	10.3±0.1	0.31±29	65.8±0.7	10.47±1.56	1.41±0.3	1.3±0.2	2.4±0.1	1.69	2.7±0.1	0.06±12	11.5±0.4	51.8±0.9
BPC500	8.2±0.1	0.06±3	32.7±3.6	11.67±1.49	1.19±0.14	1.2±0.1	5±0.3	4.15	0.8±0.1	0.8±107	0.6±0.1	0.8±0.1

La Figura 3.6 muestra los resultados del análisis elemental de los residuos ganaderos y sus correspondientes *biochars*. La relación H/C (Figura 3.6a) es una medida del grado de aromatización, debido a que la proporción de carbono en la muestra aumenta y el hidrógeno disminuye como resultado de la deshidratación, polimerización y volatilización de las estructuras orgánicas ligeras (Janus et al., 2015).

En todas las muestras se observa una disminución de la relación H/C al aumentar la temperatura, indicando una mayor aromaticidad (Oleszczuk et al., 2012; Cantrell et al., 2012). Los *biochars* producidos a partir de los residuos G y GS tuvieron una baja relación H/C, incluso a 300 °C. La misma tendencia se observó en todos los *biochars* producidos a 500 °C, en los que además la relación H/C fue similar.

La Figura 3.6b muestra la relación (N+O)/C de los residuos ganaderos y los *biochars*. Este índice está relacionado con la polaridad de las muestras y disminuyó con el aumento de la temperatura, lo cual indica una reducción de grupos polares (carboxilo, amino y fenólico) en la superficie de los *biochars* (Hagner et al., 2015; Cantrell et al., 2012). De acuerdo a esto, en investigaciones como la de Hagner et al. (2015) se observó que las altas temperaturas durante la producción de *biochar* podrían disminuir su capacidad de adsorción de contaminantes polares orgánicos e inorgánicos presentes en el suelo.

Figura 3.6. Análisis elemental de los residuos ganaderos y de los biochars; a) Relación H/C, b) Relación (O+N)/C.

La Tabla 6 muestra los resultados obtenidos en el análisis inmediato de los residuos ganaderos y de los *biochars*.

Enders et al. (2012) representaron gráficamente en un diagrama triangular el contenido en ceniza, CF y MV de diversos *biochars* y encontraron que algunas áreas del triángulo no

contenían información, a pesar de la gran cantidad de muestras caracterizadas. Específicamente, encontraron que el contenido en CF permaneció por debajo del 30 % para los *biochars* que contenían más de un 35 % en ceniza. Esta tendencia se observó en el caso de los *biochars* producidos a partir de PC (BPC300 y BPC500).

Enders et al. (2012) también observaron que el contenido en CF aumentó con la temperatura de pirólisis para las muestras con menos de un 20 % en ceniza, mientras que disminuyó para los *biochars* con más de un 20 % en ceniza. Esta tendencia se observó en los *biochars* producidos a partir de E.

Al igual que los resultados obtenidos por Meng et al. (2013) y antagónico a los obtenidos por Hossain et al. (2011), el contenido en CF de los *biochars* aumentó significativamente en comparación con dicho contenido en las materias primas empleadas para su producción, siendo indicativo de la mayor estabilidad de las estructuras orgánicas en las muestras de *biochar*.

En las muestras con mayor contenido en ceniza (PC y EP), el aumento de CF con la temperatura es menor que en los residuos ganaderos con bajo contenido en ceniza (E, G y GS). La razón de este hecho podría ser que el alto contenido en ceniza obstaculiza la formación de estructuras aromáticas que contribuyen a aumentar el contenido en CF (Windeatt et al., 2014).

En términos generales, las muestras de *biochar* presentaron un alto contenido en ceniza, lo cual es importante al considerar el uso de *biochar* como enmienda orgánica con fines agrícolas, ya que el contenido en ceniza podría constituir una fuente de nutrientes inorgánicos esenciales para el crecimiento de las plantas (Abdel-Fattah et al., 2014).

El índice de termoestabilidad, $CF/(MV+CF)$ puede considerarse como una medida de la estabilidad de la materia orgánica (Gascó et al., 2012; Calvelo Pereira et al., 2011). Este parámetro indica la fracción de materia orgánica térmicamente más estable con respecto al contenido total. De acuerdo a los resultados obtenidos, el índice de termoestabilidad aumentó con el incremento de la temperatura de pirólisis. Este aumento fue mayor en las muestras G y GS, incluso a 300 °C, lo cual indica la formación de estructuras con alta estabilidad a bajas temperaturas. Estos resultados coinciden con la evolución del $C_{K2Cr2O7}$, así como, con la evolución de la relación H/C durante la pirólisis de los residuos G y GS.

Tabla 6. Análisis inmediato de los residuos ganaderos y de sus correspondientes biochars.

Muestra	MV (%)	CF (%)	Ceniza (%)	CF/(MV+CF)
E	64.66	20.67	14.66	0.24
BE300	47.31	32.50	20.20	0.41
BE500	13.20	43.15	43.65	0.77
EP	56.56	16.97	26.46	0.23
BEP300	24.91	36.75	38.34	0.60
BEP500	11.95	36.73	51.32	0.75
G	64.85	14.92	20.24	0.19
BG300	23.87	41.38	34.75	0.63
BG500	11.96	50.01	38.03	0.81
GS	59.80	22.79	17.4	0.28
BGS300	13.01	52.44	34.55	0.80
BGS500	8.28	55.77	35.95	0.87
PC	41.72	11.06	47.22	0.21
BPC300	31.25	18.50	50.25	0.37
BPC500	6.50	19.62	73.88	0.75

Generalmente, los rendimientos en pirólisis están correlacionados positivamente con el contenido en ceniza de la biomasa. Comparando el contenido en ceniza de los residuos ganaderos (Tabla 6) con los rendimientos de pirólisis a 300 °C y 500 °C (Figura 3.7) se puede observar que las muestras G y GS tienen rendimientos de pirólisis mayores que los esperados

para sus respectivos contenidos en ceniza. Estos resultados se corresponden con el alto contenido en CF, el cual aumenta tras el proceso de pirólisis indicando una alta carbonización de los *biochars* producidos a partir de G y GS incluso a bajas temperaturas.

Los porcentajes de ceniza y CF de los residuos ganaderos son mayores en comparación con otros tipos de residuos como los de aceituna, usados por Blázquez et al. (2014) o como los lodos de depuradora usados por Méndez et al. (2013) para la producción de *biochar*, lo cual indica que en términos generales el uso de residuos ganaderos podría ser adecuado para la producción de *biochar* con altos rendimientos.

En todos los casos hubo una disminución en el rendimiento de pirólisis con el aumento de la temperatura (Kim et al., 2012; Park et al., 2012).

Figura 3.7. Rendimiento de pirólisis a 300 °C (Y-300) y a 500 °C (Y-500).

La Figura 3.8 muestra la derivada de la curva termogravimétrica (dTG) en atmósfera de aire de los residuos ganaderos y sus correspondientes *biochars*. El análisis térmico ha sido usado en el estudio de la estabilidad de la materia orgánica, tras la pirólisis de la biomasa, durante el compostaje y en suelos tras ser enmendados (Smidt y Lechner, 2005; Dell'Abate et al., 2000).

Mediante un análisis termogravimétrico, Otero et al. (2002) estudiaron el proceso de estabilización de un lodo de depuradora y encontraron que el avance en dicha estabilización

está relacionado con un aumento de la temperatura de combustión, estableciendo que las estructuras más resistentes y ordenadas se queman a mayor temperatura.

La pérdida de peso a temperaturas por debajo de 150 °C es el resultado de la pérdida de agua, a temperaturas entre 200 °C y 550 °C se debe a la oxidación de la materia orgánica, inicialmente la pérdida de peso corresponde a la materia orgánica menos humificada, mientras que los picos observados a temperaturas mayores que 550 °C corresponden a la materia orgánica más humificada, al denominado carbón refractario del *biochar* y a la descomposición de las arcillas. Finalmente, a temperaturas mayores que 600 °C se observa la descomposición de los carbonatos (Méndez et al., 2013).

De acuerdo a los resultados observados, la destrucción térmica de las muestras tiene lugar cuando la temperatura de pirólisis aumenta, disminuyendo el contenido en materia orgánica lábil y dando lugar al carbono más estable el cual se oxida a más altas temperaturas. Este efecto fue más importante en los residuos G y GS. Dichos resultados se corresponden con el contenido de $C_{K2Cr2O7}$ y el índice de termoestabilidad de las muestras (Tablas 4, 5 y 6).

La Figura 3.9 muestra el análisis térmico diferencial (DTA) de todas las muestras. Está establecido que la energía liberada durante la combustión de la materia orgánica cambia a altas temperaturas con el avance de la estabilidad en asociación con la combustión de la fracción orgánica más difícil de oxidar (Méndez et al., 2013).

De esta manera, el residuo E muestra altos contenidos de materia orgánica poco estable, mientras que los residuos G, GS y PC muestran altas cantidades de una materia orgánica más estable que se quema a muy altas temperaturas. En todos los casos se pueden observar los cambios que se presentan con el incremento de la temperatura de pirólisis, estos cambios fueron más relevantes para las muestras G y GS probablemente debido a su alta estabilidad inicial.

Figura 3.8. Análisis termogravimétrico de los residuos ganaderos y de los biochars producidos.

Figura 3.9. Análisis térmico diferencial de los residuos ganaderos y de los biochars producidos.

La eficiencia del aprovechamiento energético está en función del poder calorífico³ de la biomasa utilizada. Existen numerosas investigaciones (Choi et al., 2014; García et al., 2014a; García et al., 2014b; Parikh et al., 2005) que plantean innumerables aproximaciones para calcular el PCS, de distintos tipos de biomasa.

Choi et al. (2014) desarrollaron una serie de ecuaciones para calcular el PCS de distintos residuos ganaderos, las ecuaciones propuestas se desarrollaron a partir de los análisis inmediato, elemental y químico. La Figura 3.10 muestra el PCS calculado para cada uno de los residuos ganaderos a partir de 8 formulas basadas en el análisis inmediato que se muestran en las ecuaciones [5] a la [12] y 13 formulas basadas en el análisis elemental que se muestran en las ecuaciones [13] a la [25] del apartado 3.2.3 de este capítulo.

Raj et al. (2015) caracterizaron distintos tipos de biomasa para evaluar su potencial en la producción de biocombustibles y encontraron que los altos valores de PCS en la biomasa suelen atribuirse a un alto contenido de CF, contrario a las muestras con bajos valores de PCS, las cuales también suelen presentar un bajo contenido en hidrógeno y un alto contenido en metales.

Los residuos con mayor PCS fueron E, G y GS, aunque el rango de valores obtenidos en las muestras utilizadas en este estudio coincide con el de las muestras empleadas en el estudio de Choi et al. (2014). Cabe destacar la gran diferencia entre el PCS de los purines de cerdo, pues en dicha investigación fue el residuo con mayor poder calorífico (19.44 MJ Kg^{-1}) entre todos los residuos ganaderos estudiados y su valor se correspondió con el PCS calculado en otros estudios para el mismo tipo de biomasa (Sharara y Sadaka, 2014). No obstante, en este estudio el resultado fue totalmente opuesto, ya que el PC tuvo el PCS más bajo entre todos los residuos evaluados, lo cual se corresponde con su alto contenido en ceniza (Tabla 6) en comparación con el resto de residuos ganaderos.

Los valores de PCS calculados a partir del análisis elemental de las muestras E, G y GS fueron similares a los observados por Raj et al. (2015) en tallos de algodón (17.3 MJ Kg^{-1}) y

³ Cantidad de calor producido por unidad de masa tras la destrucción térmica de la biomasa, el poder calorífico es una medida estándar de energía en un combustible. Este se clasifica en superior e inferior, el primero hace referencia al calor total producido teniendo en cuenta el calor latente generado por la condensación del vapor de agua, mientras que el inferior no tiene en cuenta el calor latente.

restos de *jatropha* (16.4 MJ Kg^{-1}). A partir de estos resultados, los investigadores sugirieron la viabilidad del uso de dichas materias primas para la producción de biocombustibles.

Figura 3.10. Poder calorífico superior de los residuos ganaderos calculado a partir de los análisis inmediato y elemental según las ecuaciones 5 - 25.

La Tabla 7 muestra el contenido total en Fe, Zn, Ni, Cu y Cd de los *biochars* y de los residuos ganaderos. Durante la pirólisis se produce un incremento en la concentración de metales (Méndez et al., 2012), algunos de los cuales (Fe, Zn, Ni y Cu) son esenciales para el crecimiento de las plantas. Sin embargo, en todas las muestras se observa una ligera reducción en el contenido de Fe y Cu al incrementar la temperatura de 300°C a 500°C . Esta tendencia también se observa en la concentración de Zn de los *biochars* producidos a partir de GS y en el contenido de Ni de los *biochars* producidos a partir de G, GS y PC. Dichas reducciones en la concentración de metales de los *biochars* producidos a 500°C , pueden ser el resultado de una extracción incompleta durante el procedimiento de digestión ácida.

Debido a que en la actualidad no existe ninguna normativa referente al uso de *biochar* en la agricultura ni existen recomendaciones sobre los límites permisibles del contenido en metales de los *biochars* para su aplicación en suelos, las concentraciones en Fe, Zn, Ni, Cu y Cd de los *biochars* se compararon con los valores límite de metales en lodos de depuradora para su aplicación en suelos agrícolas establecidos por la Unión Europea. Y, en ningún caso se excedieron los valores fijados por la directiva 86/278/CEE (European Community, 1986).

Las formas móviles de Zn, Ni, Cu y Cd (Tabla 8) disminuyeron con el aumento de la temperatura, lo cual coincide con otros estudios donde se observó que la lixiviación y biodisponibilidad de metales disminuye tras el proceso de pirólisis (Méndez et al., 2012; Oleszczuk et al., 2014).

Al respecto, existen diversos mecanismos que explican la reducción de la movilidad y biodisponibilidad de metales en los *biochars* (Wang et al., 2015b). Por ejemplo, su CIC, la unión directa de grupos funcionales que contienen oxígeno con silicatos y/o la formación y adsorción de óxidos metálicos en la superficie del *biochar* (Mosley et al., 2015).

Wang et al. (2015a) encontraron que el incremento en el pH promueve la reducción de metales pesados, lo cual se ha confirmado en estudios previos donde se ha observado la importancia del pH del *biochar* en la inmovilización de metales. Cuando el pH es mayor que 8 dicha inmovilización podría estar asociada a la formación y precipitación de hidróxidos, carbonatos y fosfatos (Mackie et al., 2015). Igualmente, es posible que la relación entre el pH y las cargas superficiales del *biochar* controlen la adsorción de metales mediante interacciones electrostáticas en su superficie (Wang et al., 2015a; 2015b).

La estructura del *biochar* es otro factor importante en la reducción de la movilidad de metales, debido a que el *biochar* está compuesto en mayor proporción por estructuras aromáticas, donde los enlaces π^4 tienen la capacidad de formar enlaces con iones metálicos (Wilson et al., 2014). Gracias a su estructura porosa, el *biochar* puede absorber agua, metales y otros nutrientes solubles. Además, como ya se ha comentado, dichos elementos metálicos también pueden ser adsorbidos en función de la carga eléctrica y el área superficial del *biochar* (Wilson et al., 2014).

4 Son un tipo de enlace covalente formado por la hibridación lateral de orbitales p, en enlaces dobles o triples y siempre va acompañado de un enlace sigma.

Tabla 7. Contenido total en metales de los residuos ganaderos y de sus correspondientes biochars.

	Metales Totales (mg Kg ⁻¹)														
	E	BE300	BE500	EP	BEP300	BEP500	G	BG300	BG500	GS	BGS300	BGS500	PC	BPC300	BPC500
Fe	453±35	528±40	480±36	266±15	346±22	300±19	75±7	105±9	103±8	80±5	110±10	100±6	4146±18	6094±212	5597±198
Zn	200±7	234±8	272±7	117±5	314±13	477±18	336±15	520±23	649±33	315±18	610±25	609±20	988±96	1213±101	1318±107
Ni	7±1	10±1	10±1	2±1	3±1	3±1	7±1	11±1	10±1	14±1	18±1	16±1	11±1	17±1	15±1
Cu	22±1	28±4	24±8	14±4	20±2	16±3	22±4	33±6	28±7	51±6	65±14	62±10	227±6	348±8	310±12
Cd	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u

* u: Valor por debajo del límite de detección.

Tabla 8. Contenido en metales móviles de los residuos ganaderos y de sus correspondientes biochars.

	Metales Móviles (mg Kg ⁻¹)														
	E	BE300	BE500	EP	BEP300	BEP500	G	BG300	BG500	GS	BGS300	BGS500	PC	BPC300	BPC500
Zn	1.52±0.04	0.70±0.03	u	0.23±0.03	u	u	18.75±1.3	0.23±0.05	u	9.44±1.52	u	u	0.23±0.02	u	u
Ni	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u
Cu	0.53±0.04	u	u	u	u	u	u	u	u	11.65±1.34	3.02±0.17	2.97±0.08	4.84±0.4	3.87±0.21	1.54±0.08
Cd	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u

* u: Valor por debajo del límite de detección.

3.4 Conclusiones

1. Las propiedades de los *biochars* están fuertemente influenciadas por el tipo de residuo ganadero usado y la temperatura de producción, lo cual hace posible preparar *biochars* con diferentes propiedades agronómicas dependiendo del tipo de biomasa y de las condiciones de pirólisis.
2. Es posible obtener un *biochar* con alta CIC y elevada estabilidad a partir de la pirólisis de la gallinaza a 300 °C. Por esta razón, este tipo de *biochar* tiene el potencial de ser usado cuando su objetivo es aumentar el rendimiento de los cultivos en particular en suelos con pocos nutrientes.
3. El carbono fijo aumentó con la temperatura de pirólisis. Este efecto fue más pronunciado en los residuos de gallinaza y gallinaza mezclada con serrín, los cuales mostraron una alta termoestabilidad a 300 °C. En todos los casos, el índice de termoestabilidad aumentó con la temperatura de pirólisis indicando la formación de estructuras carbonosas más estables.
4. Se pueden obtener altos rendimientos en la producción de *biochar* mediante la pirólisis del purín de cerdo, debido a su alto contenido en ceniza y también al usar gallinaza como materia prima, por su alta carbonización a bajas temperaturas.
5. Hace falta evaluar la viabilidad del aprovechamiento energético durante la producción de *biochar* a partir de la determinación del poder calorífico inferior de cada uno de los residuos ganaderos.
6. Finalmente, las formas móviles de Zn y Cu disminuyeron tras el proceso de pirólisis reduciendo el riesgo de contaminación.

4 CAPÍTULO 4. EFECTOS DEL *BIOCHAR* SOBRE LAS EMISIONES DE CO₂

4.1 Introducción

El objetivo principal de este capítulo es evaluar la influencia de distintos tipos de *biochars* sobre las propiedades del suelo en relación al ciclo del carbono y las actividades enzimáticas. Para este fin, se utilizaron *biochars* producidos por pirólisis a distintas temperaturas y bajo distintas condiciones. Las materias primas empleadas fueron: astillas de madera, lodos de papel mezclados con cascara de trigo, lodos de depuradora y purín de cerdo. Para evaluar las emisiones de CO₂ y el efecto *priming* se realizaron dos estudios por separado: en el primero, (estudio A) se utilizaron 3 muestras de distintos *biochars*; y en el segundo, (estudio B) un residuo ganadero y dos *biochars* producidos a partir del mismo.

Debido a los cambios en el contenido de carbono de los suelos tras la aplicación de enmiendas orgánicas, es importante considerar la importancia del ciclo del carbono, dicho ciclo puede entenderse como una serie de reservorios de carbono en el sistema terrestre regulados por dos sub-sistemas. El primer sub-sistema se caracteriza por un flujo de carbono relativamente rápido entre la atmósfera; los océanos, los ríos y demás fuentes de agua dulce; la vegetación y los suelos. El segundo sub-sistema incluye enormes reservorios de carbono en rocas y sedimentos que se caracterizan por tener flujos de carbono mucho más lentos, los cuales se intercambian entre sub-sistemas de forma natural mediante la actividad volcánica, los procesos erosivos etc. (Ciais et al., 2013).

El uso de *biochar* como enmienda orgánica está fuertemente relacionado con el ciclo del carbono, ya que, al reducir la mineralización del carbono en los suelos, disminuye el flujo de CO₂ entre suelo y atmósfera. Como se comentó ampliamente en la introducción de esta tesis doctoral, en investigaciones previas se ha observado la reducción de emisiones tras la adición de *biochar* en el suelo en comparación con la aplicación de otro tipo de enmiendas orgánicas usadas en la agricultura (Case et al., 2012; Troy et al., 2013b). Sin embargo, estos efectos están fuertemente condicionados por el tipo de biomasa utilizada, por las condiciones de producción y por las propiedades del suelo enmendado. Por ejemplo, los *biochars* producidos a partir de madera a temperaturas mayores que 500 °C suelen reducir la mineralización del carbono en el suelo, mientras que los altos contenidos en compuestos orgánicos volátiles de

Los *biochars* producidos a bajas temperaturas aumentan la mineralización del carbono (Bruckman et al., 2015).

Un aspecto que se debe considerar al evaluar las emisiones de CO₂ tras la aplicación de *biochar* es el efecto *priming* ejercido por esta enmienda en el suelo. El aumento en la mineralización de la materia orgánica original del suelo (efecto *priming* positivo) se evidencia al incrementar su actividad microbiana y su respiración. Mientras que la reducción en la mineralización de la materia orgánica original del suelo (efecto *priming* negativo) impacta negativamente sobre las comunidades de microorganismos, inhibiendo sus actividades metabólicas (Ameloot et al., 2013; Bruckman et al., 2015), lo cual puede estar asociado a la presencia de componentes tóxicos en los *biochars* (Lu et al., 2014b).

Estudios de emisiones como el de Bruckman et al. (2015), realizado durante un periodo de un año en diferentes tratamientos de suelos y *biochars*, indican que el efecto *priming* tiene una variación entre -52 % y 89 %. Una de las observaciones iniciales de Bruckman et al. (2015) tras usar un *biochar* producido a partir de astillas de madera como enmienda orgánica fue lo que los autores denominaron efecto *priming* positivo débil, debido a que dicho efecto fue variando hacia un efecto *priming* negativo. Aunque esta variación no fue estadísticamente significativa, los autores creen que el efecto *priming* negativo sería más pronunciado en el futuro.

Por otra parte, Wang et al. (2015c) hicieron un meta-análisis para evaluar el efecto *priming* y encontraron que en la mitad de los estudios realizados durante periodos de tiempo inferiores a medio año hubo un efecto *priming* negativo tras la adición de *biochar* en el suelo, mientras que en los estudios realizados durante más tiempo no hubo diferencias significativas.

Lu et al. (2014b) observaron un efecto *priming* negativo que produjo una reducción de la biomasa microbiana tras enmendar un suelo con un *biochar* preparado a partir de paja. Estos autores observaron el mismo efecto tras enmendar el mismo suelo con una mezcla de *biochar* y nitrógeno. En diversos estudios, se ha observado que la adición de nitrógeno estimula la mineralización del carbono del suelo, por lo que este *biochar*, además de producir un efecto *priming* negativo, inhibió el efecto de la fertilización con nitrógeno sobre la mineralización del carbono orgánico del suelo.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Selección y caracterización del suelo

Se seleccionó un suelo (S) del noroeste de Toledo (Castilla La Mancha, España), la muestra de suelo fue secada y tamizada a través de una malla de 2 mm.

En esta muestra se determinaron el pH, la conductividad eléctrica (CE), la capacidad de intercambio catiónico (CIC), el contenido en bases de cambio (Ca, Mg, K y Na), el contenido en nitrógeno Kjeldahl ($N_{Kjeldahl}$), el contenido en carbono orgánico fácilmente oxidable ($C_{K2Cr2O7}$), el contenido en fósforo (P), la materia orgánica total (MOT), la textura, la capacidad de campo (Cc), el punto de marchitez (Pm) y el porcentaje de agua útil ($A_{\text{útil}}$).

Figura 4.1. Muestra de suelo tamizada.

El pH, la CE, la CIC, las bases de cambio (Ca, Mg, K y Na), el $N_{Kjeldahl}$, el $C_{K2Cr2O7}$, y el fósforo fueron determinados siguiendo los procedimientos descritos en el Capítulo 3 (apartado 3.2.3).

La MOT se determinó mediante el método de combustión seca a 540 °C (Nelson y Sommers, 1996). Para ello, tras secar 10 g de suelo a una temperatura de 105 °C la muestra se introdujo en la mufla durante 24 horas, tiempo durante el cual se incrementó la temperatura hasta alcanzar los 540 °C desde una temperatura inicial igual a la temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, la muestra se dejó enfriar en el desecador y seguidamente fue pesada.

La textura del suelo se determinó siguiendo la metodología de Bouyoucos (1962). Se pesaron 40 g de suelo en un vaso de precipitado de 250 mL, posteriormente se añadieron 100 mL de solución dispersante (hexametáfosfato sódico, (NaPO₃)₆) y agua hasta completar los 200 mL. La muestra se agitó durante 10 minutos y se transfirió a una probeta de 1 L, en cuya parte superior se puso un embudo y un tamiz de 0.2 mm, separando así la arena de mayor tamaño (arena gruesa ISSS). Posteriormente, se adicionó la cantidad de agua necesaria para completar los 1000 mL de la probeta.

La arena retenida en el tamiz se pasó a una capsula de aluminio y se puso en el baño de arena durante 24 horas para eliminar la humedad, pasado este tiempo se registró el peso con el fin de determinar el porcentaje de arena gruesa.

Figura 4.2. Detalle del procedimiento para determinar la textura del suelo; probetas del blanco y de la muestra.

Antes de iniciar las mediciones, se agitó el contenido de cada probeta con una varilla de vidrio asegurando una mezcla completa y, a partir de ese momento (tiempo cero), se registró la temperatura de la muestra y se realizó la medida con el densímetro pasados 0.5, 1, 3, 30, 60,

300, 480 y 1440 minutos. A partir de los resultados obtenidos, se calculó el porcentaje en peso de partículas en suspensión y su diámetro y se determinó la textura del suelo siguiendo la clasificación USDA.

La Cc y el Pm se determinaron usando la membrana de Richards (Richards, 1954). La muestra se puso dentro de una banda de caucho, sobre la membrana de 1/3 bar (Cc) y de 15 bares (Pm), cada membrana se conectó a una manguera cuyo extremo opuesto se había introducido en un vaso de precipitado lleno de agua.

Figura 4.3. Detalle del procedimiento para determinar la Cc y el Pm; a) Ollas de presión, b) Muestras sobre las membranas en saturación.

Durante 24 horas las membranas se saturaron; posteriormente, se retiraron las mangueras y las membranas se introdujeron en las ollas a las presiones correspondientes durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, las muestras se traspasaron a un crisol, se pesaron (el crisol se pesó previamente vacío) y se metieron en un horno durante 24 horas a una temperatura de 105 °C. Luego, se volvieron a pesar.

Todos los procedimientos descritos anteriormente se realizaron por triplicado.

4.2.2 Caracterización de las enmiendas orgánicas

En el estudio A se usaron tres muestras de diferentes *biochars*, las cuales fueron proporcionadas por EU-COST action:

- El *biochar* I (BI) fue producido por Swiss *biochar* (Lausana, Suiza), a partir de astillas de madera a 620 °C.
- El *biochar* II (BII) fue producido por Sonnenerde (Austria) a partir de la mezcla de lodos de papel y cascaras de trigo 500 °C.
- El *biochar* III (BIII) fue producido por Pyreg (Alemania) a partir de lodos de depuradora a 600 °C.

En todos los casos, la duración del proceso de pirólisis fue de 20 minutos y todas las muestras fueron producidas usando el sistema de pirólisis Pyreg 500-III.

Por otra parte, en el estudio B se utilizó purín de cerdo (PC) y dos *biochars* producidos a partir de ese residuo ganadero, mediante un proceso de pirólisis a temperaturas de 300 °C (BPC300) y 500 °C (BPC500), tal como se describe en el Capítulo 3 (apartado 3.2.2).

Figura 4.4. Enmiendas orgánicas usadas en los estudios A (aumento 2x) y B (aumento 4x); a) BI, b) BII, c) BIII, d) PC, e) BPC300, f) BPC500.

En todas las enmiendas se determinaron el pH, la conductividad eléctrica (CE), la capacidad de intercambio catiónico (CIC), el contenido en carbono orgánico fácilmente oxidable (C_{K₂Cr₂O₇}) y se hizo un análisis inmediato y un análisis elemental.

Adicionalmente, en los *biochars* usados en el estudio A se determinaron el contenido en materia orgánica total (MOT), el contenido en metales totales (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn), el contenido en sustancias fenólicas, la capacidad de campo (Cc), el punto de marchitez (Pm), el porcentaje de agua útil (A_{útil}) y el área BET. Mientras que en las muestras usadas en el estudio B se determinaron el contenido en bases de cambio (Ca, Mg, Na y K), la porosidad mediante el índice de yodo, el contenido en nitrógeno Kjeldahl (N_{Kjeldahl}), el contenido en fósforo (P) y el contenido en metales totales (Cu, Ni y Zn).

El pH, la CE, la CIC, las bases de cambio (Ca, Mg, Na y K), los metales totales (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn), el índice de yodo, el C_{K₂Cr₂O₇}, el N_{Kjeldahl}, el fósforo y los análisis inmediato y elemental fueron determinados siguiendo los procedimientos descritos en el Capítulo 3 (apartado 3.2.3).

La MOT, la Cc, el Pm y el A_{útil} se determinaron siguiendo los procedimientos descritos en el apartado 4.2.1 de este capítulo.

La superficie BET se determinó mediante un análisis de adsorción de nitrógeno en un equipo Micromeritics Tristar 3000.

Las sustancias fenólicas se determinaron usando el reactivo de Folin-Ciocalteu (Martín-Lara et al., 2009). Se preparó una disolución a partir de 0.5 g de muestra y 100 mL de agua destilada y se agitó durante 2 horas. Transcurrido ese tiempo, se filtró y se tomó 1 mL de la solución filtrada para transferirla a un vaso de precipitado, en el cual se adicionaron 0.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu, 10 mL de Na₂CO₃ al 7.5 % y 13.5 mL de agua destilada. Se agitó durante 5 minutos y se dejó reposar durante 1 hora. Finalmente, las muestras se midieron con el fotómetro a una longitud de onda de 670 nm, utilizando patrones de ácido gálico de 1.5, 5, 10 y 14 ppm.

Todos los procedimientos descritos anteriormente se realizaron por triplicado.

4.2.3 Tratamientos y respiración del suelo

El suelo seleccionado se enmendó con una dosis de *biochar* del 8% (SBI, SBII, SBIII, SPC, SPC300, SPC500). Los tratamientos correspondientes al estudio A se incubaron durante 45 días, mientras que los tratamientos correspondientes al estudio B fueron incubados durante 219 días. Las incubaciones se realizaron a una temperatura de 28 ± 2 °C y a una humedad del 60 % de la Cc.

Para evaluar el efecto *priming*, se incubaron individualmente y bajo las mismas condiciones experimentales el suelo sin enmendar y cada una de las enmiendas (S, BI, BII, BIII, PC, BPC300 y BPC500).

Figura 4.5. Detalle del procedimiento para determinar las emisiones de CO₂; a) Incubación, b) Valoración.

Cada muestra se introdujo en un frasco hermético, en el que a su vez se introdujo un vaso de precipitado con 50 mL de NaOH 0.3N. El CO₂ producido durante la incubación reaccionó con el NaOH. Para determinar la cantidad de NaOH que no reaccionó, se realizó una valoración en retroceso con HCl 0.3N, adicionando previamente BaCl₂ para precipitar los carbonatos.

Todos los tratamientos se realizaron por triplicado y las emisiones de CO₂ se calcularon de acuerdo a la ecuación [26].

$$mg\ CO_2/100g = \left(\frac{(V_b - V_m) \times N_{HCl} \times f \times 6}{P} \right) \times 100 \quad [26]$$

Donde: V_b es el volumen de HCl gastado en la valoración del blanco, V_m es el volumen del HCl gastado en la valoración de la muestra, N_{HCl} es la normalidad del HCl, f es el factor de la relación entre la normalidad real y la normalidad verdadera, 6 es el peso equivalente del carbono y P es el peso de la muestra en gramos.

En el estudio A, el C_{K₂Cr₂O₇} se determinó en los *biochars* iniciales (antes de la incubación) y finales (después de la incubación). Tras la incubación, también se determinaron el pH, la CE, la CIC, la Cc, el Pm y el contenido A_{útil} del suelo y el suelo enmendado.

Finalmente, se realizó un análisis termogravimétrico (TG, dTG y DTA) del suelo con y sin *biochar* siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo 3 (apartado 3.2.3).

Todos los procedimientos descritos anteriormente se realizaron por triplicado.

4.2.4 Modelo de mineralización

En el estudio A, las emisiones de CO₂-C acumuladas se ajustaron con un modelo cinético de primer orden, el cual ha sido usado en investigaciones previas con datos de emisiones de CO₂ del suelo (Méndez et al., 2013). Dicho modelo, se describe siguiendo la ecuación [27].

$$Y = C \times t^m \quad [27]$$

Donde: Y es el CO₂-C acumulado (mg de CO₂-C 100g⁻¹ de suelo), t es el tiempo de incubación acumulado (días), C y m son constantes de mineralización, $C * m$ representa el ratio inicial de mineralización. La convexidad de Y está definida por m , con $m \leq 1$ y $C \geq 0$.

De acuerdo a la formulación del modelo, es posible obtener un ajuste lineal para los datos de emisiones teóricas y experimentales tal como se observa a continuación:

$$\sqrt[m]{Y} = \sqrt[m]{C \times t^m} \quad [27.1]$$

$$\left(\frac{Y}{C}\right)^{1/m} = t \quad [27.2]$$

$$\left(\frac{1}{C}\right)^{1/m} \times Y^{1/m} = t \quad [27.3]$$

$$\log\left(\left(\frac{1}{C}\right)^{1/m} \times Y^{1/m}\right) = \log(t) \quad [27.4]$$

$$\boxed{\left(\frac{1}{C}\right)^{1/m} = K_1} \quad [27.5]$$

$$\log(K_1 \times Y^{1/m}) = \log(t) \quad [27.6]$$

$$\log(K_1) + \log(Y^{1/m}) = \log(t) \quad [27.7]$$

$$\boxed{\log(K_1) = K_2} \quad [27.8]$$

$$K_2 + \log(Y^{1/m}) = \log(t) \quad [27.9]$$

$$\log(Y^{1/m}) = \log(t) - K_2 \quad [27.10]$$

$$\frac{1}{m} \times \log(Y) = \log(t) - K_2 \quad [27.11]$$

$$\log(Y) = (m \times \log(t)) - (m \times K_2) \quad [27.12]$$

La constante de mineralización C se ha calculado a partir de las ecuaciones [27.5], [27.8] y [27.12] tal como se observa a continuación:

$$K_2 = \log\left(\left(\frac{1}{C}\right)^{1/m}\right) \quad [27.13]$$

$$K_2 = \frac{1}{m} \times \log\left(\frac{1}{C}\right) \quad [27.14]$$

$$K_2 = \frac{1}{m} \times (\log(1) - \log(C)) \quad [27.15]$$

$$K_2 = \frac{1}{m} \times (-\log(C)) \quad [27.16]$$

$$\log(C) = b \quad [27.17]$$

$$C = 10^b \quad [27.18]$$

Para cuantificar el efecto *priming* de los tres *biochars*, el modelo fue ajustado para los datos experimentales y teóricos. Los datos teóricos se obtuvieron mediante la sumatoria de las emisiones del suelo sin enmendar con cada uno de los *biochars*, tal como se muestra en la ecuación [28]. Además, se calculó el parámetro C_{10} que es el CO₂-C emitido tras los 10 primeros días de incubación.

$$mg\ CO_2/100g = \left[\left[46 \times \left(\frac{(V_b - V_m) \times N_{HCl} \times f \times 6}{50} \right) \right] + \left[4 \times \left(\frac{(V_b - V_m) \times N_{HCl} \times f \times 6}{4} \right) \right] \right] \times 2 \quad [28]$$

Donde: 46 son los gramos de suelo usado en las mezclas, 50 son los gramos de suelo sin enmendar incubado y 4 son los gramos de *biochar* adicionados a las mezclas e incubados individualmente.

4.2.5 Actividades enzimáticas

En el estudio B se determinaron las actividades enzimáticas en el suelo con y sin enmienda tras los 219 días de incubación:

- La deshidrogenasa
- La fosfomonoesterasa
- La fosfodiesterasa
- La β -glucosidasa

Figura 4.6. Detalle del procedimiento para determinar la actividad enzimática, tubos de ensayo con las muestras.

La deshidrogenasa se determinó siguiendo la modificación del método de Von Mersi y Schinner (Camiña et al., 1998) y los resultados se expresaron como μmol iodonitrotetrazolium formazan (INTF) $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$. Se introdujo 1 g de muestra en un tubo de ensayo con 1.5 mL de solución tampón tris-HCl 1M pH 7.5 y 2 mL de INT 0.5 %. La muestra se incubó a 40 °C durante 1 hora en un baño de agua con agitación; transcurrido este tiempo, se añadieron 10 mL de etanol:DMF 1:1 y se agitó. La muestra se dejó en reposo durante 10 minutos a temperatura ambiente y se filtró. Finalmente, se midió la absorbancia a 490 nm. La cantidad de INTF formado se calculó por referencia a la curva de calibrado mediante la ecuación [29].

$$\mu\text{mol INTF/g h} = \frac{\mu\text{g/mL}}{471.3 \times P} \quad [29]$$

Donde: $\mu\text{g/mL}$ es la lectura del fotómetro ajustada con respecto a la curva de calibrado y P es el peso de la muestra en gramos.

La fosfomonoesterasa, fosfodiesterasa y β -glucosidasa se determinaron tras la incubación del suelo con un sustrato que contenía *p*-nitrophenil fosfato. En un tubo de ensayo se adicionó 1 g

de muestra y 4 mL de solución tampón, que en el caso de la fosfomonoesterasa y la β -glucosidasa fue solución MUB pH 6; mientras que para la fosfodiesterasa fue solución THAM 0.05 M pH 8. Posteriormente, se añadió 1 mL de solución *p*-nitrophenil fosfato, bis-*p*-nitrophenil fosfato y *p*-nitrophenol para la fosfomonoesterasa, fosfodiesterasa y β -glucosidasa respectivamente. Las muestras fueron incubadas a 37 °C en un baño de agua con agitación durante 1 hora. Transcurrido el tiempo de incubación para el caso de la fosfomonoesterasa se añadió 1 mL de CaCl₂ 0.5 M y 4 mL de NaOH 0.5, para la fosfodiesterasa y la β -glucosidasa se añadió 1 mL de CaCl₂ 0.5 M y 4 mL de solución extractante THAM-NaOH pH 12. Las muestras se agitaron y filtraron para, posteriormente, medir la intensidad del color en un espectrofotómetro Shimadzu UV-1203 a una longitud de onda de 400 nm. La actividad de cada una de estas enzimas se expresó como $\mu\text{mol } p\text{-nitrophenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y se calculó a partir de la ecuación [30].

$$\mu\text{mol } p\text{-nitrophenol / g h} = \frac{\mu\text{g}}{139 \times P} \quad [30]$$

Donde: μg es la lectura del fotómetro ajustada con respecto a la curva de calibrado de la respectiva enzima y para cada tratamiento y P es el peso de la muestra en gramos.

La adsorción del producto de la reacción enzimática puede ocurrir en la superficie del *biochar*, dando lugar a una medida incorrecta de la actividad enzimática del suelo. De acuerdo a estudios previos, los dos productos de las actividades enzimáticas (INTF y *p*-nitrophenol) difieren en su habilidad de ser adsorbidos por el suelo y el suelo enmendado con *biochar* (Paz-Ferreiro et al., 2012). Por este motivo, se usaron diferentes curvas de calibración para cada tratamiento para así garantizar una medida más exacta de la actividad enzimática.

Finalmente, a partir de la ecuación [31] se calculó la media geométrica (MGae), que es un índice que integra información de variables con diferentes unidades y rangos de variación. Paz-Ferreiro et al. (2009) usaron este índice como índice de calidad para expresar todos los valores del conjunto de enzimas del suelo en un único valor.

$$MGae = (Dh * \beta glu * Fosmo * Fosdi)^{(1/4)} \quad [31]$$

Donde Dh, β glu, fosmo y fosdi son la actividad de la deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfomonoesterasa y fosfodiesterasa respectivamente.

4.2.6 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza utilizando el software estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI. El análisis ANOVA se usó para determinar si existen diferencias entre las medias de los grupos de datos o si por el contrario sus medias no difieren. Una vez rechazada la hipótesis nula de igualdad, considerando un nivel de significación o p-valor ≤ 0.05 , se examinaron las medias de las muestras para poder establecer cuáles de ellas son diferentes, utilizando la Prueba de Rangos Múltiples. Para ello, se aplicaron los Test de Tukey y Duncan.

En el Test de Tukey se establece un umbral y se calculan todas las diferencias de las medias muestrales. Las diferencias que estén por encima de ese umbral se considerarán diferencias significativas, las que no lo estén se considerarán diferencias no significativas. Por otra parte, el Test de Duncan ordena las medias de forma ascendente y las separa en grupos homogéneos dentro de los cuales no hay diferencias significativas.

La diferencia entre los Test de Tukey y Duncan es que el primero trabaja con un umbral fijo, mientras que el Test de Duncan trabaja con un umbral cambiante en función del número de medias a comparar. Además, el Test de Duncan tiene mayor potencia que el Test de Tukey, ya que presenta un umbral más pequeño, por lo tanto, es más fácil encontrar diferencias entre las medias comparadas.

4.3 Resultados y discusión

4.3.1 Evaluación de las emisiones de CO₂ y el efecto *priming* -Estudio A-

La Tabla 9 incluye las principales propiedades de las muestras S, BI, BII y BIII. La textura del suelo S es arenosa-franca, con un pH ligeramente alcalino. La CE indica que el suelo no presenta riesgo de salinización y su contenido en materia orgánica es de 6.30 %.

Por otra parte, los *biochars* BI y BII mostraron un pH básico, mientras que el *biochar* BIII tuvo un pH cercano a 7. El *biochar* BIII presentó la CE y el contenido en metales más alto, lo cual era de esperarse pues, como ya se comentó, para su producción se utilizaron lodos de depuradora. Sin embargo, la concentración de metales (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn) de los *biochars* estuvo por debajo de los valores límite de concentración establecidos por la Unión Europea para la aplicación directa de lodos de depuradora en los suelos (European Community, 1986). En cuanto al contenido en sustancias fenólicas, este fue bastante bajo presentando valores inferiores a los obtenidos por Martín-Lara et al. (2009) en residuos procedentes de la industria del aceite de oliva.

Todos los *biochars* presentaron una CIC similar, lo cual podría relacionarse con la temperatura de preparación que fue parecida en los tres casos. Dichos valores de CIC fueron ligeramente más altos que los obtenidos en el suelo. Por otra parte, los *biochars* presentan una alta Cc lo cual se relaciona con un posible incremento en el porcentaje de A_{útil} del suelo enmendado, especialmente al usar las muestras BI y BII como enmienda orgánica. El porcentaje de A_{útil} también puede verse influenciado por las propiedades físicas de los *biochars* tales como la porosidad, el área superficial, etc.

En cuanto a la estructura porosa de los *biochars*, esta se crea durante la pirólisis como resultado de las transformaciones que tienen lugar en su estructura, así como a la producción de materia volátil que se desprende al aumentar la temperatura, formando poros en la superficie del *biochar* (Abdel-Fattah et al., 2014). Teniendo en cuenta que las temperaturas de producción de los *biochars* son parecidas, los diferentes valores de superficie de área BET de las muestras BI, BII y BIII se deben fundamentalmente a las diferencias en las características de las materias primas empleadas.

Tabla 9. Propiedades del suelo (S) y de los biochars (BI, BII y BIII).

	S	BI	BII	BIII
pH	7.66±0.10	10.19±0.12	9.40±0.19	7.66±0.13
CE (dS m⁻¹, 25°C)	0.07±10	1.77±44	2.33±50	3.70±157
MOT (%)	6.30±0.15	87.71±0.71	59.90±0.89	25.15±0.40
CIC (cmol_(c) kg⁻¹)	15.87±0.25	23.77±0.36	20.97±0.24	24.19±0.30
Cd (mg kg⁻¹)	-	0.29	0.2	3.45
Cr (mg kg⁻¹)	-	19.7	16	71
Cu (mg kg⁻¹)	-	11.5	29.3	484
Ni (mg kg⁻¹)	-	10.2	7.5	60.8
Pb (mg kg⁻¹)	-	2.26	17.94	138
Zn (mg kg⁻¹)	-	36.9	51.5	2316
Sustancias fenólicas (mg g⁻¹)	-	0.92±0.2	0.98±0.34	0.49±0.09
Arena (%)	77.78	-	-	-
Limo (%)	17.78	-	-	-
Arcilla (%)	4.44	-	-	-
Textura (USDA)	Arenosa-franca	-	-	-
Cc (%)	13.54±0.27	113±1	122±1	36±1
Pm (%)	11±0.53	52±1	63±1	31±1
A_{útil} (%)	2.4±0.8	61±1	59±1	5±1
Area BET (m² g⁻¹)	-	332.14	92.61	59.16

-: Valor desconocido.

El análisis inmediato de los *biochars* (Tabla 10) mostró importantes diferencias en su composición. El contenido en cenizas siguió la tendencia BIII > BII > BI, lo cual está relacionado con la materia prima empleada para su preparación. Para la producción del *biochar* BI se utilizaron astillas de madera, en el *biochar* BII lodos de papel y cascaras de trigo, mientras que el *biochar* BIII se preparó a partir de lodos de depuradora los cuales tienen un alto contenido en materia mineral. Como se comentó en el capítulo 3 de esta tesis, los *biochars* con altos contenidos en ceniza suelen presentar bajos contenidos en carbono fijo (CF), esta tendencia puede observarse claramente en las muestras BI y BIII. Además, es el *biochar* BI la muestra con mayor contenido en CF lo cual podría ser consecuencia del alto contenido en lignina de la materia prima usada para su producción (Windeatt et al., 2014).

El contenido en materia volátil (MV) siguió la tendencia BII > BI > BIII, la MV de los tres *biochars* presenta similitudes que están relacionadas con las temperaturas de 500 a 620 °C empleadas durante el proceso de pirólisis. A partir de la relación CF/(CF+MV) se puede determinar la estabilidad de los *biochars*. Los resultados indican que el *biochar* BI es un material carbonoso muy recalcitrante, mientras que el *biochar* BIII tuvo el índice de termoestabilidad más bajo.

Tabla 10. Análisis inmediato de las muestras BI, BII y BIII.

	BI	BII	BIII
MV (%)	14.88	22.43	13.68
CF (%)	77.25	42.72	12.77
Cenizas (%)	7.87	34.85	73.55
CF/(CF+MV)	0.84	0.66	0.48

La Tabla 11 muestra los resultados del análisis elemental de los *biochars*. La relación molar H/C es una medida del grado de aromatización y siguió la tendencia BI < BII < BIII, mientras que la relación O/C mide el grado de carbonización, el cual siguió la misma tendencia que la relación H/C, BI < BII < BIII. Generalmente, los *biochars* con una relación O/C > 0.2, como es el caso del *biochar* BIII tienen una vida media en los suelos entre 100 y 1000 años, mientras que, los *biochars* con una relación molar O/C < 0.2, tienen una vida media en los suelos mayor a 1000 años (Abdel-Fattah et al., 2014). De acuerdo a esto, se espera que la estabilidad de las muestras BI y BII una vez adicionadas al suelo sea mayor que la estabilidad de la muestra BIII.

Tabla 11. Análisis elemental de las muestras BI, BII y BIII.

	BI	BII	BIII
C (%)	82	50.75	18.45
H (%)	1.49	1.73	1.19
N (%)	0.33	1.36	2.10
O (%)	5.76	12.08	7.69
H/C (relación atómica)	0.22	0.41	0.70
O/C (relación atómica)	0.05	0.18	0.31

La Tabla 12 muestra los cambios en el pH, la CE, la CIC, la Cc, el Pm y el A_{útil} del suelo enmendado (SBI, SBII, SBIII) tras los 45 días de incubación del experimento.

El uso de *biochar* como enmienda orgánica suele producir aumentos en el pH del suelo. Por ejemplo, Méndez et al. (2012) observaron un incremento en el pH de un Cambisol tras la adición de un *biochar* producido a partir de lodos de depuradora. De igual forma, Kloss et al. (2014) observaron un incremento del pH en un suelo ácido tras la adición de un *biochar* producido a partir de astillas de madera y Jien y Wang (2012) observaron un incremento en el pH de un Ultisol de 3.9 a 5.1 tras la adición de un *biochar* preparado a partir de restos de

madera de una especie de *leucaena*. Contrario a esto, la aplicación de los *biochars* BI, BII y BIII en el suelo no produjo cambios significativos en el pH. En efecto, el tratamiento SBI tuvo un pH 2 décimas mayor en comparación con el pH del suelo control, mientras que el tratamiento SBIII tuvo un pH 2 décimas menor. Es importante tener en cuenta que tanto la composición del suelo como la del *biochar* influyen en los cambios del pH.

La adición de *biochar* incrementó la CE del suelo, aunque el riesgo de salinización fue despreciable para la dosis aplicada (Richards, 1954; USDA, 1999). Es muy común el incremento de la CE en suelos tratados con *biochars* producidos a partir de lodos (Hossain et al., 2011), como ocurre con las muestras BII y BIII.

La aplicación de *biochar* no tuvo un efecto relevante sobre la CIC en el suelo, lo cual se corresponde con otros trabajos (Méndez et al, 2012). Este hecho podría estar relacionado con la baja CIC de los *biochars* con respecto al valor de CIC del suelo S (Lehmann, 2007).

Tabla 12. Valores de pH, CE y CIC tras el montaje de incubación.

	pH	CE (dS m ⁻¹)	CIC (cmol _(c) kg ⁻¹)	Cc (%)	Pm (%)	A _{útil} (%)
S	7.45±0.05ab	0.49±48.79a	15.71±0.18a	-	-	-
SBI	7.68±0.14b	0.53±28.99a	16.28±0.25a	20.41±0.36b	13.79±0.25a	6.6±0.51b
SBII	7.47±0.06ab	0.62±14.85b	16.08±0.25a	20.24±0.64b	13.91±0.52a	6.33±0.16b
SBIII	7.29±0.08a	0.76±25.46c	17.07±0.31a	16.31±0.8a	12.72±0.11a	3.55±0.75a

*Valores en la misma columna seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) usando el test de Duncan.

La Cc y el Pm del suelo aumentaron tras la adición de *biochar* siguiendo la secuencia $S < \text{SBIII} < \text{SBI} \approx \text{SBII}$ en las dos propiedades. Además, cuando el suelo fue tratado con los *biochars* BI y BII se observó un incremento significativo en su contenido de $A_{\text{útil}}$. Esta mejora en la retención de agua del suelo tras la adición de *biochar* se corresponde con los resultados anteriormente obtenidos por Méndez et al. (2012), quienes encontraron la misma tendencia en un suelo con un contenido similar en arena, el cual fue enmendado con un *biochar* preparado a partir de lodos de depuradora tratados a 600 °C. El mayor incremento para la Cc, el Pm y el $A_{\text{útil}}$ se observó en los tratamientos SBI y SBII, lo cual puede estar relacionado con los altos valores de Cc y Pm de dichos *biochars* y con su mayor área superficial (Tabla 9).

En los últimos años, el análisis termogravimétrico ha sido propuesto como una técnica interesante en la caracterización de los procesos de estabilización de la materia orgánica. En estudios previos se han usado estos análisis como parte de la caracterización del suelo. Por ejemplo, para determinar las porciones lábiles y recalcitrantes de la materia orgánica (Plante et al., 2009) y para evaluar su evolución en suelos enmendados (Barriga et al., 2010; Gascó et al., 2012). El análisis térmico tiene la ventaja de proporcionar información sobre las características químicas de la materia orgánica del suelo sin realizar ninguna extracción que podría modificar su composición.

La Figura 4.7 incluye la dTG (Figura 4.7a) y la DTA (Figura 4.7b) de las muestras S, SBI, SBII y SBIII tras los 45 días de incubación. La comparación de las muestras en las Figuras 4.7a y 4.7b refleja la influencia de los diferentes *biochars* en la composición de la materia orgánica del suelo. Tras la adición de *biochar* en el suelo aumentó la cantidad de materia orgánica más humificada o más estable térmicamente, la cual, de acuerdo a la Figura 4.7a, se oxida a temperaturas mayores que 500 °C siguiendo la secuencia $\text{SBI} > \text{SBII} > \text{SBIII}$. Es interesante observar que el tratamiento SBIII presenta un comportamiento térmico parecido a la muestra S indicando una composición en cuanto a la materia orgánica similar a la composición del suelo original.

Figura 4.7. Análisis termogravimétrico del suelo y del suelo enmendado tras el periodo de incubación; a) dTG, b) DTA.

La Figura 4.8 muestra que las emisiones de CO₂ de los *biochars* fueron mayores en el *biochar* BI, mientras que los *biochars* BII y BIII no presentaron diferencias significativas. Este hecho puede atribuirse al elevado contenido en MOT de la muestra BI (87.71 %) con respecto a las muestras BII (59.90 %) y BIII (25.15 %). Sin embargo, para explicar la similitud entre las emisiones de CO₂ de los *biochars* BII y BIII, se deben tener en cuenta otros factores (Jones et al., 2011) como la proporción de fracciones lábiles y recalcitrantes en las muestras de *biochar*.

Figura 4.8. Mineralización acumulada de C-CO₂ de los biochars.

Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) usando el test de Duncan.

La Figura 4.9 muestra los resultados del porcentaje de C_{K2Cr2O7}. Se puede observar como el contenido en carbono lábil de la muestra BIII es más alto que en las muestras BI y BII. Estos resultados se corresponden con el bajo índice de termoestabilidad y las altas relaciones H/C y O/C del *biochar* BIII observadas previamente.

Tras la incubación, el carbono lábil del *biochar* BI disminuye, mientras que en los *biochars* BII y BIII aumenta ligeramente indicando que parte de las estructuras orgánicas más estables son transformadas en carbono lábil. Sin embargo, las diferencias en la evolución del carbono orgánico de las muestras BI y BIII no son estadísticamente significativas. Los cambios observados en el contenido de carbono de los *biochars* BII y BIII se corresponden con los encontrados por Gascó et al. (2012) quienes hicieron un análisis térmico de un *biochar* producido a partir de lodos de depuradora y encontraron que tras la incubación de un suelo enmendado con dicho *biochar* las estructuras orgánicas más recalcitrantes dan lugar a estructuras orgánicas lábiles.

Figura 4.9. Evolución del carbono orgánico fácilmente oxidable con dicromato.

Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) usando el test de Duncan.

La adición de los *biochars* aumentó las emisiones de CO₂ del suelo entre un 23 y un 27 % aproximadamente (Figura 4.10). Sin embargo, dicho aumento no es estadísticamente significativo en ninguno de los tratamientos. Estos resultados se corresponden con los observados por Zavalloni et al. (2011) quienes no encontraron diferencias significativas en la respiración de un suelo enmendado con *biochar* con respecto al suelo control.

Los resultados de emisión están fuertemente relacionados con diferentes propiedades del suelo y del *biochar*. Por lo tanto, en ellos influyen diferentes factores tales como el contenido en materia orgánica, la porosidad, el área superficial, la CE, los metales, las sustancias fenólicas, etc. En estudios previos se ha observado una relación entre las emisiones de CO₂ y la estabilidad del *biochar* produciéndose un aumento en las emisiones de CO₂ en *biochars* con altos contenidos en MV y bajos índices de termoestabilidad CF/(MV+CF) (Méndez et al., 2013; Bruckman et al., 2015). Además, la porosidad del *biochar* es un factor importante ya que la reducción en las emisiones de CO₂ podría atribuirse a la adsorción química del CO₂ en la superficie del *biochar* (Thies y Rillig, 2009).

La reducción en las emisiones experimentales del tratamiento SBI con respecto a las emisiones teóricas puede estar relacionada con algunas propiedades observadas en este *biochar*. Por ejemplo, su superficie BET es mayor y su contenido en carbono lábil es menor

en comparación con los *biochars* BII y BIII. De igual forma, las relaciones H/C, O/C y CF/(MV+CF) indican la alta estabilidad del *biochar* BI.

Figura 4.10. Mineralización acumulada de C-CO₂ y efecto priming de las muestras S, SBI, SBII y SBIII.

Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) usando el test de Duncan.

La Tabla 13 muestra los parámetros estimados para el ajuste de la mineralización del carbono en el suelo (S), en los biochars (BI, BII, BIII) y en el suelo enmendado con los tres *biochars* (SBI, SBII, SBIII).

Las emisiones de CO₂ se ajustaron bien al modelo propuesto, presentando coeficientes de correlación (r^2) entre 0.97 y 0.99. Si se comparan las emisiones experimentales con las teóricas se puede determinar el efecto *priming* ejercido por los *biochars* en cada tratamiento debido a la bondad de ajuste del modelo (r^2 entre 0.996 y 0.997 para las emisiones teóricas y 0.998 y 0.999 para las emisiones experimentales).

Zimmerman et al. (2011) concluyeron que las discrepancias en la mineralización del carbono de los suelos tratados con *biochar* probablemente se deben tanto a las propiedades del suelo y del *biochar* como a la duración del experimento y las dosis de *biochar* usadas. No obstante, en esta parte de la tesis, el suelo, la dosis de *biochar* y la duración del experimento fue igual en los tres tratamientos, por lo tanto, las diferencias se deben a las diferentes propiedades de los *biochars*.

En el tratamiento SBI los resultados experimentales (57.1 mg C-CO₂ 100 g⁻¹) y los teóricos (63.0 mg C-CO₂ 100 g⁻¹) indican que la aplicación del *biochar* BI tiene un efecto *priming* negativo, ya que las emisiones registradas son menores que las esperadas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Zimmerman et al. (2011), quienes encontraron que los *biochars* producidos a altas temperaturas a partir de madera, como es el caso del *biochar* BI, tienen un efecto *priming* negativo.

Tras enmendar el suelo con los *biochars* BII y BIII se observó un efecto *priming* positivo. Estos resultados se corresponden con los obtenidos en investigaciones previas como las de Smith et al. (2010) y Méndez et al. (2012) quienes tras la adición en el suelo de *biochars* producidos a una temperatura de 500 °C a partir de lodos de depuradora y de *Panicum virgatum* respectivamente, observaron un aumento en la mineralización de la materia orgánica que dio lugar a un efecto *priming* positivo. En contraste al efecto *priming* positivo observado en el tratamiento SBIII, Paz-Ferreiro et al. (2012) obtuvieron un efecto *priming* negativo tras la aplicación de un *biochar* que también se produjo a partir de lodos de depuradora a una temperatura de 650 °C.

Es importante destacar que el contenido en carbono lábil de los *biochars* BII y BIII aumentó durante la incubación individual, aunque dicho aumento solo es significativo en la muestra BII podría estar relacionado con el incremento en la mineralización de la materia orgánica original del suelo. Sin embargo, en el caso del *biochar* BI el contenido en carbono lábil disminuyó ligeramente (Figura 4.9).

Finalmente, el parámetro C₁₀, es decir el CO₂-C emitido tras 10 días de incubación de acuerdo al modelo, está relacionado con la fracción de carbono lábil del *biochar* la cual es emitida como resultado de la actividad biológica del suelo. En términos generales, los resultados muestran que los datos experimentales de los tratamientos SBI, SBII y SBIII son muy similares entre si.

Con respecto a las diferencias observadas entre los datos experimentales y teóricos del parámetro C₁₀ en el tratamiento SBI, es posible que estas diferencias sean resultado de un efecto tóxico del *biochar*, o bien, de la inhibición en la actividad microbiana por cambios en el ecosistema del suelo (Zimmerman et al., 2011). De igual forma, y en concordancia con la hipótesis planteada por Zimmerman et al. (2011) posiblemente dichas diferencias entre los datos teóricos y experimentales estarían relacionadas con la gran superficie BET del *biochar* BI, en la cual se adsorbe parte del CO₂-C emitido.

Tabla 13. Parámetros de modelización del CO₂ emitido durante el periodo de incubación.

Tratamiento	CO ₂ emitido	<i>m</i>	C	RMSD	r ²	C ₁₀
S	45.8a	0.5524	5.81	1.23	0.996	20.72
BI	261.2a	0.5513	32.15	10.94	0.989	114.41
BII	120.1b	0.4092	25.51	6.69	0.975	65.46
BIII	125.6b	0.5046	19.34	6.26	0.985	61.79
SBI	Experimental	57.1a	0.5606	6.83	0.94	24.83
	Teórico^a	63.0	0.5521	7.91	1.34	28.22
SBII	Experimental	58.3a	0.5987	6.07	0.86	24.10
	Teórico	51.7	0.5262	7.22	1.22	24.25
SBIII	Experimental	56.1a	0.5872	6.08	0.82	23.50
	Teórico	52.2	0.5434	6.87	1.40	23.99

* El CO₂ emitido y el C₁₀ están expresados en mg C-CO₂ 100 g⁻¹. ^a Sumatoria de los datos experimentales realizada teniendo en cuenta la dosis del 8 %.

Valores seguidos por la misma letra diferenciado las enmiendas y el suelo con y sin enmiendas, no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) usando el test de Duncan.

La Tabla 14 muestra un resumen cualitativo de diferentes factores que pueden influir sobre las propiedades de los suelos y las emisiones de CO₂, dando así una orientación acerca de los posibles efectos de diversas propiedades de los *biochars* sobre la respiración del suelo.

Es importante destacar que los cambios ocasionados tras la adición de *biochar* en el suelo son resultado de la combinación de diferentes factores, por lo cual no deben ser atribuidos a un único factor.

Los límites de pH han sido fijados siguiendo las clases de pH de los suelos según el USDA (1999) y las directrices para la producción de *biochar* establecidas por la EBC (2012). Es importante considerar que un rango de pH entre 6.0 a 7.5 es favorable para las actividades microbianas que contribuyen a la disponibilidad de nitrógeno, sulfuros y fósforo en el suelo (USDA, 1999). Un *biochar* con pH mayor que 10 puede producir efectos negativos en el pH del suelo. Sin embargo, tan solo la adición de grandes cantidades de *biochar* ($> 42.5 \text{ t ha}^{-1}$) puede producir cambios significativos en el pH del suelo (EBC, 2012; Galinato et al., 2011).

Con respecto a la CE los valores límite se han fijado de acuerdo a los establecidos por Richards (1954) donde el valor más alto (4 dS m^{-1} , $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$) es el límite entre lo normal y un suelo salino. Los límites de carbono orgánico han sido fijados de acuerdo a las recomendaciones del International *Biochar* Initiative (2012) y de la EBC (2012) quienes establecieron que el contenido en carbono orgánico de los *biochars* varía entre el 10 % y el 95 % de la materia seca, dependiendo de la materia prima y la temperatura de proceso. Para establecer si el contenido en metales es alto, medio o bajo se han seguido las especificaciones de la UE para el uso agrícola de lodos de depuradora (European Community, 1986). Los valores límite de las sustancias fenólicas se han establecido según las observaciones de Kuiters y Sarink (1986) y de Martín -Lara et al. (2009). Con respecto a la MV y al CF valores sobre el 20 % y el 40 % respectivamente pueden ser considerados altos de acuerdo a los *biochars* preparados a partir de diferentes materias primas como lodos de depuradora (Gascó et al., 2012; Méndez et al., 2012), cascaras de arroz (Kalderis et al., 2014), madera de eucalipto o gallinaza (Paz-Ferreiro et al., 2012; Lu et al., 2014a). Finalmente, según la EBC (2012) los valores del área BET deben ser preferiblemente mayores que $150 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$.

Tabla 14. Influencia de las propiedades del biochar sobre las emisiones de CO₂.

Valor	pH	CE	C _{orgánico}	Metales mg kg ⁻¹						Sustancias	MV %	CF %	Área BET m ² g ⁻¹
		dS m ⁻¹	%	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn	Hg	Fenólicas mg g ⁻¹			
Alto	> 10	> 4	> 50	> 40	> 1750	> 400	> 1200	> 4000	> 25	> 10	> 20	> 40	> 750
Normal	6-10	4-2	30-60	20-40	1000-1750	300-400	750-1200	2500-4000	16-25	1-10	20-10	40-20	750-150
Bajo	< 6	< 2	< 10	< 20	< 1000	< 300	< 750	< 2500	< 16	< 1	< 10	< 20	< 150

4.3.2 Evaluación de las emisiones de CO₂ y el efecto *priming* -Estudio B-

A continuación, se muestran los resultados del estudio de las emisiones de CO₂ en un suelo tratado con purín de cerdo (PC) y dos *biochars* obtenidos por tratamiento térmico de dicho residuo ganadero a 300 y 500 °C (BPC300 y BPC500, respectivamente).

La Tabla 15 muestra las propiedades del suelo, del PC y de los *biochars* BPC300 y BPC500. La caracterización completa de los materiales empleados como enmienda orgánica en este estudio se encuentra en el Capítulo 3 (apartado 3.3).

El pH de PC disminuyó pasando de un pH fuertemente alcalino a 7.8 y 8.2 en el caso de BPC300 y BPC500, respectivamente. La CE de la muestra PC disminuyó con la temperatura de pirólisis un 16.66 % y un 50 % para las muestras BPC300 y BPC500 respectivamente. En cuanto a la CIC, esta disminuyó ligeramente tras el proceso de pirólisis en un 19.27 % para el *biochar* BPC300 y en un 25.85% para el *biochar* BPC500.

El contenido en P aumentó un 21.73 % con la temperatura de pirólisis a 300 °C, mientras que a 500 °C este contenido se redujo en un 47.82 %. El contenido en Ca y Mg también disminuyó con la temperatura al igual que el N_{Kjeldhal}, cuyo contenido se redujo en un 52.59 % en el *biochar* BPC500 °C con respecto a la materia prima usada para su producción, lo cual se corresponde con investigaciones previas en las que se ha encontrado que el N es el macronutriente más sensible al aumento de la temperatura (Wang et al., 2012).

La fracción de carbono lábil en el *biochar* disminuyó en un 41.48 % y un 62.96 % con respecto al material original para los *biochars* BPC300 y BPC500 respectivamente. Esta reducción se corresponde con la disminución del contenido en MV y el aumento del contenido en CF, incrementando en conjunto el índice de termoestabilidad CF/(MV+CF) en un 76.19 % para el BPC300 y en un 257 % para el BPC500.

Finalmente, de acuerdo a los resultados de índice de yodo observados los dos *biochars* presentaron una porosidad baja.

Tabla 15. Propiedades del suelo, del purín de cerdo y de los biochars.

	S	PC	BPC300	BPC500
pH	7.66±0.10	9.0±0.1	7.8±0.1	8.2±0.1
CE (dS m ⁻¹ , 25 °C)	0.7±10	0.12±3	0.10±11	0.06±3
CIC (cmol _(C) kg ⁻¹)	15.87±0.25	44.1±0.3	35.6±0.1	32.7±3.6
Índice de yodo (g I 100 g ⁻¹)	-	-	9.55±1.04	11.67±1.49
N _{Kjeldhal} (%)	0.15±0.007	2.51±0.22	2.24±0.04	1.19±0.14
P (mg kg ⁻¹)	0.14±86	2.3±0.2	2.8±0.2	1.2±0.1
C _{K2Cr2O7} (%)	0.82±0.06	13.5±0.7	7.9±0.4	5.0±0.3
Ca (mg kg ⁻¹)	1.07	1.5±0.2	1.3±0.2	0.8±0.1
Mg (mg kg ⁻¹)	0.12	0.7±123	0.9±128	0.8±107
Na (mg kg ⁻¹)	0.09	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1
K (mg kg ⁻¹)	1.69	0.7±0.1	0.8±0.1	0.8±0.1
Zn (mg kg ⁻¹)	u	0.98±96	1.2±101	1.3±107
Ni (mg kg ⁻¹)	u	0.011±1	0.017±1	0.015±1
Cu (mg kg ⁻¹)	u	0.2±6	0.34±8	0.31±12
Arena (%)	77.78	-	-	-
Limo (%)	17.78	-	-	-
Arcilla (%)	4.44	-	-	-
MOT (%)	6.30±0.15	-	-	-
MV (%)	-	41.72	31.25	6.50
CF (%)	-	11.06	18.50	19.62
Cenizas (%)	-	47.22	50.25	73.88
CF/(MV+CF)	-	0.21	0.37	0.75

* u: Valor por debajo del límite de detección; -: Valor desconocido.

La mineralización del carbono siguió la secuencia PC > BPC300 > BPC500 tal como se observa en la Figura 4.11. Esto implica una reducción del 34.45 % para el *biochar* BPC300 y del 49.88 % para el *biochar* BPC500 con respecto a la muestra PC. Dicha reducción se corresponde con la disminución en el contenido en MV y el aumento del CF, del contenido en cenizas y del índice de termoestabilidad.

Como se ha comentado anteriormente, en estudios previos se ha observado la reducción en las emisiones de CO₂ de *biochars* en comparación con las materias primas usadas para su producción (Méndez et al., 2013) debido a la mayor estabilidad de las estructuras de carbono en el *biochar* que en el residuo original. Los resultados del análisis inmediato de las muestras sugieren que la producción de *biochar* a partir de PC a altas temperaturas (temperaturas $\geq$ 500 °C) resultaría apropiada para su aplicación en suelos con el objetivo de fijar carbono debido a la alta estabilidad de dicho material.

Figura 4.11. Mineralización acumulada de C-CO₂ de las enmiendas.

Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) usando el test de Tukey.

La Figura 4.12 muestra los resultados de las emisiones experimentales y teóricas de cada tratamiento. Los resultados indican que las emisiones de CO₂ del suelo tratado con el *biochar* BPC500 son un 63.28 % más bajas en comparación con las emisiones del suelo tratado con purín de cerdo (SPC). No se observaron diferencias significativas en los valores de

respiración de las muestras S y SPC500, además el efecto *priming* en este tratamiento es negativo.

El mismo efecto, aunque en menor proporción, fue observado tras adicionar el *biochar* BPC300 al suelo el cual disminuye las emisiones de CO₂ un 42.19 % con respecto al tratamiento SPC. En este caso, las emisiones registradas son menores que las esperadas y por lo tanto se podría decir que tras adicionar esta enmienda al suelo se produce un efecto *priming* negativo. Aun así, existen diferencias estadísticamente significativas entre las emisiones de las muestras S y SPC300, siendo las emisiones teóricas un 20.18 % mayores que las experimentales. Por lo tanto, es necesario evaluar otros factores que puedan influir en la mineralización del carbono para poder confirmar el efecto ejercido tras la adición de esta enmienda al suelo.

En los tratamientos SPC y SPC300 hubo un aumento del 229 % y 90.16 % en las emisiones con respecto a las del suelo control. Sin embargo, solo en el caso del tratamiento SPC se observó una clara tendencia que indica un efecto *priming* positivo; tal como se observó con los *biochars* BII y BIII utilizados en la experimentación del estudio A de este capítulo, y en la investigación realizada por Troy et al. (2013b), quienes observaron un efecto *priming* positivo tras usar un *biochar* producido a partir de purín de cerdo como enmienda orgánica.

Los resultados obtenidos en este estudio se correspondieron con las observaciones de Zimmerman et al. (2011) quienes concluyeron que la mineralización del carbono suele disminuir en suelos tratados con *biochars* preparados a temperaturas entre 500 °C y 600 °C. Por el contrario, dicha mineralización aumenta en los suelos que han sido tratados con *biochars* producidos a bajas temperaturas (250 °C – 400 °C).

Figura 4.12. Mineralización acumulada de C-CO₂ y efecto priming de las muestras S, SPC, SPC300 y SPC500.

Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) usando el test de Tukey.

Las enzimas cumplen un papel muy importante en el suelo, ya que son las responsables de la formación de moléculas orgánicas y tienen una participación vital en los ciclos del nitrógeno, del fósforo y del carbono, debido a que forman parte de procesos tales como la mineralización, inmovilización y fijación biológica de nutrientes, etc. (Henriquez et al., 2014).

Los resultados sobre las actividades enzimáticas se muestran en la Tabla 16. La actividad de la deshidrogenasa en los tratamientos SPC y SPC300 se vio incrementada un 72.72 % y un 118.18 % respectivamente en comparación con el suelo sin enmendar. En el caso del tratamiento SPC500 no se observaron diferencias significativas con respecto al suelo sin enmendar. Estos resultados podrían estar relacionados con el alto contenido en carbono lábil de las muestras PC y BPC300 debido a que representa una fuente de carbono fácilmente degradable para los microorganismos del suelo. Por el contrario, el *biochar* BPC500 es la enmienda más estable y por lo tanto con un menor contenido en carbono lábil. Serra-Wittling et al. (1996) observaron un aumento de esta enzima tras la adición de materia orgánica lábil en el suelo, al igual que los resultados obtenidos en la investigación de Ameloot et al. (2013) tras enmendar un suelo con un *biochar* producido a partir de purín de cerdo a una temperatura de 350 °C.

Tanto la fosfomonoesterasa como la fosfodiesterasa son enzimas inducibles⁵ (Acosta-Martínez y Tabatabai, 2000), por lo tanto, su expulsión por las raíces de la planta y los microorganismos está regulada entre otros factores por los requerimientos de fosfatos y por el pH del suelo.

En estudios previos, se han observado aumentos en la actividad de la fosfomonoesterasa tras la aplicación de un *biochar* preparado a partir de *miscanthus* y gallinaza a temperaturas entre 400 °C y 450 °C (Paz-Ferreiro et al., 2012, 2014; Liang et al., 2014). Los cambios en el contenido en fósforo tras el proceso de pirólisis se corresponden con los resultados de la fosfomonoesterasa, cuya actividad aumentó significativamente al usar PC como enmienda orgánica. No obstante, en el tratamiento SPC300 el aumento en la actividad de la fosfomonoesterasa fue menor y en el tratamiento SPC500 dicha actividad se redujo con respecto al suelo sin enmendar. Aun así, los mecanismos tras esta observación no están del

5 Enzima sintetizada por la célula en cantidades muy pequeñas y cuya velocidad de síntesis puede ser aumentada por otra molécula.

todo claros, pero podrían relacionarse con las diferencias en la movilidad y biodisponibilidad del fósforo en el suelo, el suelo enmendado con PC y el suelo enmendado con los *biochars*.

En cuanto a la actividad de la fosfodiesterasa, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos a excepción del tratamiento SPC500 cuyo valor fue inferior al del suelo sin enmendar llegando a estar por debajo del límite de detección.

La glucosidasa tiene un papel importante en la degradación de los compuestos orgánicos, tales como los residuos agrícolas y ganaderos en los suelos. Además, la β -glucosidasa ha sido usada para monitorizar los cambios rápidos en la materia orgánica como resultado de la gestión de los suelos (Bandick y Dick, 1999). Por lo tanto, se podría decir que esta enzima está fuertemente relacionada con el contenido en materia orgánica del suelo. De acuerdo a los resultados obtenidos, el tratamiento SPC500 produjo una reducción aproximada del 82.21 % de la actividad de la β -glucosidasa en comparación con los tratamientos restantes (S, SPC y SPC300). En este caso, no se observaron diferencias significativas tras la adición de las enmiendas PC y BPC300.

Finalmente, el parámetro denominado MGae es un índice de calidad que ha sido usado para resumir en un único valor la respuesta de diferentes enzimas en el suelo tras la adición de *biochar* u otras enmiendas (Paz-Ferreiro et al., 2012; 2014). Los resultados de la MGae indican un aumento del 115 % en el tratamiento SPC en comparación con el suelo control, mientras que las muestras S y SPC300 no presentaron diferencias significativas. En el tratamiento SPC500 la MGae no se pudo calcular, ya que el valor de la actividad de la fosfodiesterasa estuvo por debajo del límite de detección. Sin embargo, es de esperar que dicho índice tenga una reducción significativa, debido a que tras la adición del *biochar* BPC500 se observó una disminución en la actividad de todas las enzimas.

En general, los resultados indican un aumento favorable de las actividades metabólicas de los microorganismos tras la adición de la enmienda PC y en menor medida tras la adición del *biochar* BPC300, lo cual confirma el efecto *priming* positivo causado por dichas enmiendas. Sin embargo, la adición del *biochar* BPC500 tuvo efectos adversos, disminuyendo la actividad de todas las enzimas, estos resultados se corresponden con la disminución en las emisiones de CO₂ y el efecto *priming* negativo previamente observado.

Tabla 16. Índice de calidad (MGae) y actividad de la deshidrogenasa, fosfomonoesterasa, fosfodiesterasa y β -glucosidasa en el suelo control y en los tratamientos.

	Deshidrogenasa $\mu\text{mol INTF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	Fosfomonoesterasa $\mu\text{mol p-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	Fosfodiesterasa $\mu\text{mol p-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	B-glucosidasa $\mu\text{mol PNF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	MGae
S	0.011 $\pm$ 0.002ab	17.413 $\pm$ 3.97b	2.316 $\pm$ 1.09a	9.756 $\pm$ 3.19b	1.398a
SPC	0.019 $\pm$ 0.005bc	46.443 $\pm$ 7.38c	8.086 $\pm$ 5.46a	12.346 $\pm$ 1.57b	3.004b
SPC300	0.024 $\pm$ 0.0009c	23.376 $\pm$ 4.12b	1.28 $\pm$ 1.20a	12.616 $\pm$ 3.43b	1.652a
SPC500	0.009 $\pm$ 0.005a	3.366 $\pm$ 1.85a	u	1.736 $\pm$ 0.42a	-

*Valores seguidos por la misma letra y en la misma columna no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) usando el test de Tukey.

u: Valor por debajo del límite de detección.

-: Valor desconocido.

4.4 Conclusiones

1. La adición del *biochar* preparado a partir de astillas de madera a 620 °C (BI) produce un efecto *priming* negativo como resultado de su mayor estabilidad (bajos contenidos en materia volátil, en C_{K2Cr2O7} y elevado contenido en carbono fijo) y de su gran superficie BET, en la cual se puede adsorber parte del CO₂ generado por el suelo. Con los *biochars* preparados a partir de lodos de papel y cascara de trigo a 500 °C (BII) y lodos de depuradora a 600 °C (BIII) se observó un efecto *priming* positivo que coincide con sus menores índices de termoestabilidad, con un menor contenido en carbono fijo y con una reducción en el contenido de C_{K2Cr2O7} tras el proceso de incubación.
2. A partir del modelo cinético de primer orden, se obtuvo un buen ajuste de los datos de emisión en los *biochars* BI, BII y BIII y sus respectivos tratamientos.
3. El purín de cerdo es más estable tras el proceso de pirólisis. Por esta razón, tras usar *biochar* de purín de cerdo (BPC300 y BPC500) como enmienda orgánica se evidencia una reducción en la mineralización del carbono. En las emisiones del tratamiento SPC500 no se observaron diferencias significativas con respecto a las emisiones del suelo control.
4. El purín de cerdo y en menor medida el *biochar* BPC300 generan un efecto *priming* positivo; mientras que el *biochar* BPC500 produjo un efecto *priming* negativo relacionado con su mayor estabilidad (bajo contenido en materia volátil y C_{K2Cr2O7}).
5. La adición del *biochar* BPC300 a un suelo arenoso-franco produjo un aumento significativo en la actividad enzimática de la deshidrogenasa. Mientras que, tras enmendar el mismo suelo con *biochar* BPC500 se redujo la actividad de las enzimas deshidrogenasa, fosfomonoesterasa, fosfodiesterasa y β-glucosidasa. Estos resultados se correspondieron con el respectivo efecto *priming* observado en cada enmienda.

5 CAPÍTULO 5. EFECTO DEL *BIOCHAR* EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y EL DESARROLLO DE LAS PLANTAS

5.1 Introducción

El objetivo principal de este capítulo es evaluar la viabilidad del uso de *biochar* como enmienda orgánica mediante su influencia en la germinación de semillas y el desarrollo de las plantas. Con este fin, se realizaron dos estudios de forma independiente. En el primero (estudio A), se utilizaron dos tipos de suelo distintos y tres *biochars* producidos por pirólisis de diversos residuos orgánicos (BI, BII y BIII). En el segundo estudio (estudio B), se utilizó un solo suelo y un hollín producido en una planta piloto de gasificación de biomasa a partir de madera de pino.

En la actualidad, el uso de fuentes de energía renovable está en aumento y es la biomasa el único material a partir del cual se puede producir calor, electricidad y aceites (Park et al., 2012). Además, si se usa de forma sostenible la biomasa podría considerarse un material de ciclo de carbono neutro (Park et al., 2012). A pesar de esto, la producción energética a partir de biomasa podría generar graves problemas sociales y ambientales, como la destrucción de los bosques y el aumento de cultivos energéticos en relación a los cultivos de alimentos (Jacobson, 2009).

El *biochar* se puede obtener como subproducto en las industrias de producción de energía a partir del tratamiento térmico de la biomasa. En estas industrias también puede producirse un residuo carbonoso conocido tradicionalmente como hollín. Si este hollín se adiciona al suelo con fines agrícolas o ambientales es considerado *biochar* según se comentó en la introducción.

El uso de *biochar* en la agricultura representa una opción para el aprovechamiento de aquellos residuos ricos en carbono aromático resultantes de procesos de pirólisis o de gasificación de la materia orgánica. Por esta razón, resulta interesante evaluar los efectos de la adición del hollín producido durante el proceso de gasificación de la biomasa, siempre y cuando sus propiedades cumplan los parámetros sugeridos por instituciones e investigadores que han estudiado los efectos del *biochar* en los suelos (EBC, 2012; Wang et al., 2015c; Liu et al., 2013).

Los *biochars* obtenidos mediante procesos de gasificación suelen presentar altos contenidos en carbono recalcitrante y una mayor área superficial, en comparación con aquellos producidos por pirólisis, como resultado de las altas temperaturas típicas de este proceso térmico (Colantoni et al., 2015). Shackley et al. (2011) calcularon el contenido en fracciones lábiles y recalcitrantes de carbono en un *biochar* producido a partir de la gasificación de cáscaras de arroz, y encontraron que aproximadamente el 7 % del contenido en carbono del *biochar* de gasificación es inestable en el tiempo mientras que alrededor del 92 % del carbono puede ser considerado muy recalcitrante.

Las diferencias en el contenido en metales de los *biochars* producidos por gasificación también podrían estar condicionados por la temperatura que suele estar por encima del punto de fusión y volatilización de algunos compuestos metálicos como el Zn, el Cd, el As, el Se, el K, el Na y el Mg (Shackley et al., 2011). Por lo tanto, es posible que la concentración en metales del *biochar* disminuya y que en los efluentes gaseosos emitidos durante la gasificación aumente.

Es indispensable evaluar previamente las propiedades tanto de los *biochars* producidos con fines agrícolas como de aquellos residuos carbonosos con potencial para ser usados como enmienda orgánica. De esta forma, se pueden determinar los posibles impactos derivados del uso de *biochars* concretos en sistemas agrícolas específicos (Liu et al., 2013), debido a que existen estudios en los que se evidencian claros impactos negativos (Quilliam et al., 2012; Buss y Ondrej, 2014) y otros en los que se han observado efectos positivos (Paz-Ferreiro et al., 2014) sobre la productividad de cultivos.

Las diferentes respuestas de los cultivos tras la adición de *biochar*, están condicionadas por distintos factores como las propiedades de los *biochars*, las propiedades del suelo y la especie vegetal empleada (Ameloot et al., 2013; Paz-Ferreiro et al., 2014). Además, algunos estudios indican la posible relación entre las respuestas de los cultivos y el efecto hormético⁶ producido por el *biochar* (Jaiswal et al., 2014).

6 En toxicología la hormesis se define como un fenómeno de relación entre la dosis y la respuesta, caracterizado por estimulación a bajas dosis e inhibición con dosis altas.

5.2 Materiales y métodos

5.2.1 Selección y caracterización de los suelos -Estudio A-

Se emplearon dos muestras de suelo, la primera (ST) fue tomada del noroeste de la provincia de Toledo (Castilla La Mancha, España) y la segunda (SA) de la provincia de Ávila (Castilla y León, España). Las muestras fueron secadas y tamizadas a través de una malla de 2 mm previamente a los análisis.

En estas muestras se determinaron el pH, la conductividad eléctrica (CE), la capacidad de intercambio catiónico (CIC), el contenido en bases de cambio (Ca, Mg, Na, K), el contenido en carbono orgánico fácilmente oxidable ($C_{K2Cr2O7}$), el contenido en nitrógeno Kjeldahl ($N_{Kjeldahl}$) y el contenido en fósforo (P). Todas estas propiedades se determinaron siguiendo los procedimientos descritos en el Capítulo 3 (apartado 3.2.3).

También se determinaron la capacidad de campo (Cc), el punto de marchitez (Pm), el porcentaje de agua útil (A_{util}), la textura y el contenido en materia orgánica total (MOT). Todas estas propiedades se determinaron siguiendo los procedimientos descritos en el Capítulo 4 (apartado 4.2.1).

Todos los procedimientos descritos anteriormente se realizaron por triplicado.

5.2.2 Selección y caracterización del suelo -Estudio B-

Se empleó una muestra de suelo (SV) tomada del municipio de Valdeolmos (Comunidad de Madrid, España). La muestra fue secada y tamizada a través de una malla de 2 mm previamente a los análisis.

En esta muestra se determinó el pH, la conductividad eléctrica (CE), la capacidad de intercambio catiónico (CIC), el contenido en bases de cambio (Ca, Mg, Na, K), el contenido en carbono orgánico fácilmente oxidable ($C_{K2Cr2O7}$), el contenido en nitrógeno Kjeldahl ($N_{Kjeldahl}$) y el contenido en metales totales (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn). Todas estas propiedades se determinaron siguiendo los procedimientos descritos en el Capítulo 3 (apartado 3.2.3).

También se determinaron la capacidad de campo (Cc), el punto de marchitez (Pm), el porcentaje de agua útil ($A_{\text{útil}}$) y la textura. Todas estas propiedades se determinaron siguiendo los procedimientos descritos en el Capítulo 4 (apartado 4.2.1).

Finalmente, se determinó la concentración de metales biodisponibles (Zn, Cd, Cu, Ni) en el suelo con y sin enmienda, mediante un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 2280 tras extraer la muestra por digestión con DTPA 0.1M.

Todos los procedimientos descritos anteriormente se realizaron por triplicado.

5.2.3 Caracterización de los *biochars* -Estudio A-

Los tres *biochars* (BI, BII, BIII) utilizados en el estudio A son los mismos que se utilizaron en el desarrollo experimental del Capítulo 4.

En estas muestras se determinaron el pH, la conductividad eléctrica (CE), la capacidad de intercambio catiónico (CIC), el contenido en carbono orgánico fácilmente oxidable ($C_{K_2Cr_2O_7}$), el contenido en nitrógeno Kjeldahl ($N_{Kjeldahl}$), el contenido en fósforo (P), el contenido en metales totales (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn) y los análisis inmediato y elemental siguiendo las metodologías descritas en el Capítulo 3 (apartado 3.2.3).

La capacidad de campo (Cc), el punto de marchitez (Pm), el contenido en materia orgánica total (MOT) y el contenido en sustancias fenólicas se determinaron siguiendo los procedimientos descritos en el Capítulo 4 (apartados 4.2.1 y 4.2.2).

La información sobre el contenido total de Ca, Fe, K, Mg, Mn y Na y la concentración en hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's) fue determinada y proporcionada por otros grupos de investigación de COST action, quienes estimaron el contenido en metales mediante espectroscopía de plasma y el contenido de HAP's por cromatografía de gases (GS-MS).

5.2.4 Caracterización del hollín -Estudio B-

En el estudio B se trabajó con un hollín (HM) producido a partir de madera de pino en una planta de gasificación de biomasa a escala de demostración, en la cual se producen alrededor de 45 kg h⁻¹ de hollín a una temperatura aproximada de 900 °C. Según San Miguel et al. (2012), el hollín HM está compuesto en mayor proporción por partículas formadas mediante

reacciones de condensación de la fracción gaseosa y en menor proporción por partículas formadas directamente tras la gasificación de la biomasa.

En esta muestra se determinaron el pH, la conductividad eléctrica (CE), la capacidad de intercambio catiónico (CIC), el contenido en bases de cambio (Ca, Mg, Na, K), el contenido en carbono orgánico fácilmente oxidable ($C_{K2Cr2O7}$), el contenido en nitrógeno Kjeldahl ($N_{Kjeldahl}$), la capacidad de campo (Cc), el punto de marchitez (Pm), el contenido en fósforo (P), el contenido en metales totales (Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn) y se realizó un análisis inmediato y un análisis termogravimétrico siguiendo las metodología descritas en el Capítulo 3 (apartado 3.2.3).

El análisis elemental y el contenido en hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's) del hollín HM fue realizado previamente por San Miguel et al. (2012), quienes hicieron el análisis elemental según el método ASTM D 5373 y determinaron el contenido en HAP's por cromatografía de gases (GS-MS).

La concentración de metales biodisponibles (Zn, Cd, Cu, Ni) se determinó siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 5.2.2 de este Capítulo.

5.2.5 Mediciones en plantas -Estudio A-

Para determinar los posibles impactos fitotóxicos del *biochar* sobre la germinación de especies vegetales se realizó un ensayo de germinación siguiendo la metodología del test de Zucconi (Zucconi et al., 1981). Con este fin, se utilizaron 30 semillas por especie y por tratamiento, las especies seleccionadas fueron:

- *Lens esculenta* (nombre común lenteja)
- *Nasturtium officinale* (nombre común berro)
- *Cucumis sativus* (nombre común pepino)
- *Solanum lycopersicum* (nombre común tomate)
- *Lactuca sativa* (nombre común lechuga)

Figura 5.1. Detalle del ensayo de germinación; a) semillas de *Nasturtium officinale*, b) semillas de *Lens esculenta*, c) semillas de *Cucumis sativus*.

Para ello, 10 semillas de cada especie se pusieron sobre papel filtro en placas petri con 5 mL de un extracto acuoso preparado a partir de una relación muestra:agua de 1:10 para cada muestra de *biochar* (BI, BII, BIII).

Todas las muestras fueron incubadas en la oscuridad a 28 °C durante 48 horas. Todos los tratamientos se hicieron por triplicado.

El índice de germinación (IG) se calculó de acuerdo a la ecuación [32].

$$IG = \left(\left(\frac{\%Gm}{\%Gb} \right) * \left(\frac{Lm}{Lb} \right) \right) * 100 \quad [32]$$

Donde: % Gm es el porcentaje de germinación de las semillas en la muestra, % Gb es el porcentaje de germinación de las semillas en el blanco o control, Lm es la longitud de las raíces de las semillas germinadas en la muestra y Lb es la longitud de las raíces de las semillas germinadas en el blanco o control.

Para evaluar la producción de masa vegetal se sembraron semillas de *Lens esculenta* y *Lactuca sativa* en macetas con los suelos SA y ST. Las enmiendas orgánicas fueron los

biochars BI, BII y BIII. A partir de las mezclas de suelo con *biochar*, se obtuvieron 8 tratamientos distintos denominados: SA, SABI, SABII, SABIII, ST, STBI, STBII y STBIII.

La dosis de *biochar* fue del 8 % en peso. Se sembraron 10 semillas por especie y por tratamiento en cada maceta las cuales fueron incubadas con ciclos de luz cada 12 horas a una temperatura constante de 28 °C durante 1 mes. Durante este periodo de tiempo se adicionó regularmente la misma cantidad de agua destilada y se contabilizó el número de semillas germinadas por maceta. No se adicionaron pesticidas ni fertilizantes antes ni durante el estudio para evaluar únicamente el efecto de la adición de *biochar*.

Finalizado el tiempo de incubación se separó la parte aérea de las raíces. Posteriormente, las hojas, tallos y raíces fueron secadas a 80 °C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo se determinó el peso de la masa vegetal (hojas y tallos) y de las raíces de forma separada. Además, se midió la longitud de cada uno de los tallos.

Todos los tratamientos se hicieron por triplicado.

Figura 5.2. Detalle del procedimiento para medir la producción de masa vegetal; Separación parte aérea de la planta y raíces.

Finalmente, se realizó un análisis foliar, para ello las muestras de hojas, tallos y raíces fueron introducidas en una mufla, se incrementó la temperatura durante 2 horas a una velocidad de calentamiento de $4\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta alcanzar una temperatura final de $480\text{ }^{\circ}\text{C}$ el tiempo de residencia fue de 4 horas. Posteriormente, se hizo una extracción por digestión ácida con HCl concentrado de las cenizas para determinar las concentraciones de Zn, Cd, Cu y Ni en la masa aérea (hojas y tallos) y en la masa de raíces. Los metales se midieron en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer 2280 (Gerard et al., 2000).

El análisis estadístico se realizó según la metodología descrita en el Capítulo 4 (apartado 4.2.6).

5.2.6 Mediciones en plantas -Estudio B-

Para evaluar el uso potencial del hollín HM como *biochar* y su efecto sobre las plantas, el suelo SV fue enmendado con la muestra de hollín dando lugar al tratamiento SVHM.

En el suelo con y sin enmienda se sembraron semillas de *Lens esculenta*, *Nasturtium officinale*, *Lactuca sativa* y *Cucumis sativus*.

La producción de masa vegetal y el análisis foliar se realizaron siguiendo la metodología descrita en el apartado 5.2.5 de este capítulo.

5.3 Resultados y discusión

5.3.1 Caracterización inicial de las enmiendas y los suelos

La Tabla 17 resume las principales características de las enmiendas y suelos empleados tanto en el estudio A como en el B. La discusión detallada referente a las propiedades de los *biochars* BI, BII y BIII y del suelo ST se encuentra en el Capítulo 4 (apartado 4.3.1).

Según el USDA (1999) valores de pH entre 6.0 y 7.5 son óptimos para el crecimiento de la mayoría de los cultivos, como es el caso de los suelos SA y ST que presentaron pHs neutro y ligeramente alcalino respectivamente, en comparación con el suelo SV el cual tuvo un pH fuertemente ácido. En cuanto a la CE las tres muestras de suelo presentan valores bajos (Richards, 1954).

La CIC del suelo SA ($7.19 \text{ cmol}_{(\text{C})} \text{ kg}^{-1}$) es menor en comparación con las muestras de suelo ST ($15.87 \text{ cmol}_{(\text{C})} \text{ kg}^{-1}$) y SV ($13.26 \text{ cmol}_{(\text{C})} \text{ kg}^{-1}$). Sin embargo, todos los valores de CIC son típicos de suelos minerales (Sposito, 1989). La baja CIC del suelo SA está relacionada con su bajo contenido en materia orgánica. Este hecho unido a su bajo porcentaje de $A_{\text{útil}}$ hace prever que este suelo no será un medio óptimo para el desarrollo de la mayoría de los cultivos.

Los suelos presentan bajos contenidos en $\text{C}_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$ ($\text{SA} < \text{ST} < \text{SV}$) y $\text{N}_{\text{Kjeldahl}}$ ($\text{SV} < \text{SA} < \text{ST}$). La relación C/N puede ser un índice de la actividad biológica del suelo, pues cuanto mayor sea dicha relación será mayor la actividad microbiana y la demanda de nitrógeno. En términos generales, la productividad de los cultivos tiende a aumentar en suelos con relaciones $\text{C/N} < 9$, como es el caso de los suelos ST y SA (Liu et al., 2013).

Con respecto al contenido en $A_{\text{útil}}$, el suelo SV presentó el porcentaje más alto entre los suelos empleados (8.35 %), mientras que el suelo SA tuvo un porcentaje de 0.1 %. De acuerdo a estudios previos, el uso de *biochar* como enmienda orgánica mejora la capacidad de retención de agua del suelo (Lehmann y Joseph, 2009; Abel et al., 2013). Sin embargo, dicha mejoría es muy variable llegando a ser irrelevante tras el uso de algunos *biochars* (Ojeda et al., 2015).

Con respecto a las enmiendas, el pH indica un carácter alcalino en los *biochars* y en el hollín que se corresponde con la mayoría de *biochars* estudiados previamente, los cuales suelen ser alcalinos debido a que el pH aumenta a medida que aumenta la temperatura de pirólisis (Janus et al., 2015). El pH fue ligeramente alcalino para el *biochar* BIII y fuertemente alcalino para las muestras BI, BII y HM.

Los valores de CE tanto de los *biochars* como del hollín los clasifica como materiales no salinos con CE entre 1.38 dS m^{-1} en el caso de HM y 3.70 dS m^{-1} para la muestra BIII, además se observan similitudes entre las muestras BI y HM.

El valor de CIC más bajo correspondió al hollín ($17.97 \text{ cmol}_{(\text{C})} \text{ kg}^{-1}$) la CIC de los *biochars* también fue muy baja en comparación con otros materiales aplicados previamente en suelos como los *biochars* producidos a partir de residuos ganaderos usados por Cely et al. (2015) cuyas CIC oscilaban entre 32.7 y $137.6 \text{ cmol}_{(\text{C})} \text{ kg}^{-1}$ o las muestras de *biochar* comercial y compost usadas por Liu et al. (2012) cuyas CIC fueron $87.5 \text{ cmol}_{(\text{C})} \text{ kg}^{-1}$ y $110.5 \text{ cmol}_{(\text{C})} \text{ kg}^{-1}$ respectivamente. Las diferencias en la CIC están relacionadas con los contenidos en materia

orgánica de cada enmienda y por lo tanto con la materia prima y la temperatura usada para su producción, ya que la CIC aumenta cuando hay un mayor contenido en materia orgánica.

El contenido en carbono lábil de los *biochars* está asociado con la fracción de carbono más fácil de degradar por los microorganismos del suelo representando una fuente de energía para los mismos (Marks et al., 2014). Una medida de dicho carbono lábil puede ser el contenido en carbono fácilmente oxidable con dicromato u otros agentes químicos. Aunque el contenido en $C_{K_2Cr_2O_7}$ de las muestras HM y BIII es más alto en comparación con las muestras BI y BII, dicho contenido, tanto en los *biochars* como en el hollín, es muy bajo en comparación con otros *biochars* como los usados por Wang et al. (2012) que presentaron contenidos en $C_{K_2Cr_2O_7}$ entre 9.1 y 68.6 %. Para la producción de dichos *biochars*, Wang et al. (2012) pirolizaron una mezcla de lodos de depuradora con astillas de eucalipto y estiércol con astillas de eucalipto a temperaturas de 250, 350, 450 y 550 °C. El bajo contenido en $C_{K_2Cr_2O_7}$ de las muestras BI, BII, BIII y HM indica una mayor estabilidad de las estructuras carbonosas de estas enmiendas.

El contenido en $N_{Kjeldahl}$ siguió la tendencia $BI < BII < HM < BIII$. La relación C/N en enmiendas es usada para calcular el grado de mineralización o inmovilización de nitrógeno en el suelo. En términos generales, las relaciones $C/N < 25$ liberan N inorgánico en el medio indicando una mineralización neta⁷, como es el caso de las muestras BIII y HM (Wang et al., 2012), mientras que las relaciones $C/N > 25$, como es el caso de los *biochars* BI y BII, indican un mayor consumo de amonio que el que se produce durante la degradación microbiana de la materia orgánica y el resultado es una inmovilización neta del nitrógeno.

El contenido en nutrientes de las enmiendas fue muy variable como resultado de las diferentes materias primas usadas y los diferentes procesos de producción. El *biochar* BII tiene un alto contenido en Ca, lo cual se ha observado previamente en *biochars* producidos a partir de lodos de papel (Lin et al., 2012). El *biochar* BIII tiene un alto contenido en Mg y Na, mientras que el hollín HM es muy rico en K.

7 La mineralización es la transformación de nitrógeno orgánico a nitratos o amonio, mientras que la inmovilización es el proceso contrario, por medio del cual las formas inorgánicas son transformadas por los microorganismos en N orgánico al absorber el N mineral y transformarlo en el N constituyente de sus células y tejidos. Como mineralización e inmovilización actúan en sentido opuesto, su balance se conoce como mineralización neta.

Tabla 17. Propiedades de los suelos y de los biochars.

	ST	SA	SV	BI	BII	BIII	HM
pH	7.66±0.10	7.17±0.95	5.21±0.01	10.19±0.12	9.40±0.19	7.66±0.13	9.30±0.25
CE (dS m ⁻¹)	0.07±10	0.06±7.42	0.035±2	1.77±44	2.33±50	3.7±157	1.38±142
MOT (%)	6.30±0.15	1.12±0.21	-	87.71±0.71	59.90±0.89	25.15±0.40	-
C _{K2Cr207} (%)	0.82±0.06	0.50±0.09	1.23±0.05	2.96±0.08	2.20±0.32	4.42±0.24	4.14±1.6
CIC (cmol _C kg ⁻¹)	15.87±0.25	7.19	13.26±2.25	23.77±0.36	20.97±0.24	24.19±0.30	17.97
Textura (USDA)	Arenosa-Franca	Arenosa	Franca	-	-	-	-
Arena (%)	77.78	87.23	46	-	-	-	-
Limo (%)	17.78	9.58	34	-	-	-	-
Arcilla (%)	4.44	3.19	20	-	-	-	-
Cc (%)	13.54±0.27	5.97±0.02	17.43	113±1.1	123±36.5	36.7±0.1	57.38±0.95
Pm (%)	11±0.53	5.92±0.05	9.08	52.14±0.35	63.42±1.23	31.1±0.21	51.09±10
A _{útil} (%)	2.4±0.8	0.1	8.35	-	-	-	-
N _{Kjeldhal} (%)	0.15±0.007	0.08±0.002	0.064±0.05	0.02±0.01	0.03±0.01	1.06±0.08	0.31±0.02
P (mg kg ⁻¹)	142.2±86	194.6±31.85	-	851	6000	62632	89.97±7.76
K (mg kg ⁻¹)	1690	1493±61.1	102±3	3372±167	3749±191	450	12145±220
Ca (mg kg ⁻¹)	1070	815±55.1	387±50	18240	60837	32394	5407±335
Mg (mg kg ⁻¹)	124	111±1.7	109±8	2107	3210	8850	520.65±446
Na (mg kg ⁻¹)	92.33	104±2.55	125±20	253	459	1239	623±2.23
Cd (mg kg ⁻¹)	-	-	0.38±0.03	0.29	0.20	3.45	0.80
Cr (mg kg ⁻¹)	-	-	109±6	19.70	16	71	10.30
Cu (mg kg ⁻¹)	-	-	9±1	11.50	29.30	484	88
Fe (mg kg ⁻¹)	-	-	-	1509	1483	31775	553
Mn (mg kg ⁻¹)	-	-	-	360	119	546	-
Ni (mg kg ⁻¹)	-	-	18.6±1.6	10.20	7.50	60.80	11
Pb (mg kg ⁻¹)	-	-	24.8±1.1	2.26	17.94	138	8
Zn (mg kg ⁻¹)	-	-	17±1	36.90	51.50	2316	64
C/N	5.47	6.25	19.22	148	73.33	4.17	13.35

-: Valores desconocidos.

La Cc de las enmiendas siguió la tendencia BII > BI > HM > BIII. Los *biochars* no presentan similitudes en los valores de Cc. Mientras que, la Cc del hollín es similar a la de algunos *biochars* comerciales usados en investigaciones previas como la de Yargicoglu et al. (2015), quienes emplearon diferentes tipos de *biochars* entre los que cabe destacar un *biochar* con una Cc de 54.7 % producido a partir de madera de pino en un proceso de pirólisis lenta a una temperatura entre 350 a 600 °C y un *biochar* con una Cc de 58.7 % producido a partir de pellets de madera de pino en un proceso de gasificación a una temperatura de 520 °C. Estas similitudes indican que la materia prima usada para la producción de *biochar* podría influir en la Cc final de las enmiendas.

La Tabla 18 muestra los resultados correspondientes al análisis inmediato y elemental de los *biochars* y el hollín. El *biochar* BI presenta el contenido en cenizas más bajo (7.87 %) y el contenido en CF más alto (77.25 %). Dichos resultados coinciden con estudios previos como el de Mitchell et al. (2013) quienes encontraron una correlación negativa entre los contenidos en ceniza y en CF. Estos resultados sugieren que los residuos lignocelulósicos proporcionan una fuente estable de carbono aromático lo cual resultaría muy útil para la producción de *biochar* con fines de captura de carbono. Teniendo en cuenta que el CF puede usarse para estimar la recalcitrancia del *biochar* (Zhao et al., 2013), los elevados contenidos en CF de los *biochars* BI y BII, sugieren que su uso para la fijación de carbono en suelos podría resultar apropiado. En cuanto al hollín HM, a pesar de haber sido producido a partir de un residuo lignocelulósico a altas temperaturas, tras el proceso de gasificación esta muestra presenta una composición casi idéntica en ceniza (45.91) y en CF (45.78), siendo su contenido en CF menor que el de BI y parecido al de BII. En el *biochar* BIII, se observa el contenido en CF más bajo y el contenido en ceniza más alto representando una fuente de nutrientes inorgánicos esenciales para el desarrollo de los cultivos.

Según Zhao et al. (2013) los cambios en el contenido en MV suelen atribuirse a cambios en la temperatura de producción. Por esta razón, los *biochars* BI (620 °C) y BIII (600 °C) presentan un contenido en MV similar en comparación con las muestras BII (500 °C) y HM (900 °C). Aunque las variaciones en el contenido en ceniza se presentan principalmente en función de la materia prima utilizada (Zhao et al., 2013), no se observaron similitudes entre los contenidos en ceniza de las muestras BI (7.87 %) y HM (45.91 %), para cuya producción se utilizaron residuos de madera.

Tabla 18. Análisis inmediato y elemental de las enmiendas.

<i>Biochar</i>	Análisis inmediato (%)			Análisis elemental (%)				H/C	O/C
	Ceniza	CF	MV	C	H	N	O		
BI	7.87	77.25	14.88	82	1.49	0.33	5.76	0.22	0.05
BII	34.85	42.72	22.43	50.75	1.73	1.36	12.08	0.41	0.18
BIII	73.55	12.77	13.68	18.45	1.19	2.10	7.69	0.77	0.31
HM	45.91	45.78	8.30	88.20	0.57	0.53	4.11	0.08	0.03

En los resultados del análisis elemental también se evidencia la importancia de la materia prima seleccionada para la producción de *biochar*. Por ejemplo, el uso de residuos de madera en la producción del *biochar* BI y del hollín HM estaría relacionado con las similitudes en los contenidos de C, N y O de estas muestras. De igual forma, el *biochar* BIII tuvo el contenido más alto en N como resultado del uso de lodos de depuradora para su producción lo cual indica que dicho *biochar* tiene gran potencial para ser usado como enmienda orgánica mejorando la calidad de los suelos e incrementando la productividad de los cultivos (Azargohar et al., 2013).

La relación molar H/C se ha usado como un indicador del grado de aromatización, mientras que la relación molar O/C es una medida del grado de carbonización (Abdel-Fattah et al., 2014; Oleszczuk et al., 2012). Tanto la relación H/C como la O/C siguieron la tendencia $HM < BI < BII < BIII$. Según Hammes et al. (2006) una relación $H/C \leq 0.3$, como es el caso de las muestras BI y HM, indica una alta condensación de anillos aromáticos. En el caso del *biochar* BI este resultado podría estar relacionado con el bajo contenido en cenizas que da lugar a un mayor porcentaje de CF. Mientras que la alta aromaticidad del hollín HM es consecuencia de las altas temperaturas del proceso de gasificación. Así mismo Schimmelpfenning y Glaser, (2012) establecieron que las relaciones O/C y H/C más adecuadas para la captura de carbono en el suelo son $O/C \leq 0.4$ y $H/C \leq 0.6$, como es el caso de las muestras HM, BI y BII. La baja

aromaticidad y carbonización del *biochar* BIII está relacionada con su alto contenido en ceniza y bajo contenido en CF.

En el caso del hollín HM tanto la relación H/C como la relación O/C son bajas en comparación con los *biochars* usados en el estudio de Hansen et al. (2015), los cuales fueron producidos a partir de madera (H/C = 1.61, O/C = 0.59) y paja (H/C = 1.46, O/C = 0.61) mediante procesos de gasificación. Sin embargo, las temperaturas de producción fueron más bajas en el caso de los *biochars* usados en dicho estudio, por esta razón las relaciones H/C y O/C del hollín HM son más pequeñas.

5.3.2 Evaluación de los *biochars* y su efecto sobre algunas especies vegetales -Estudio A-

La Figura 5.3 muestra el contenido en HAP's de los *biochars*. En la actualidad no existen regulaciones que establezcan los niveles admisibles de HAP's en *biochars* para su aplicación en suelos. No obstante, algunas propuestas realizadas por la UE indican que, dependiendo del propósito, la sumatoria del contenido total de HAP's no debería exceder el rango de 6000 a 20000 ng g⁻¹ (Oleszczuk et al., 2013).

Los *biochars* BI (2830 ng g⁻¹), BII (2181 ng g⁻¹) y BIII (803 ng g⁻¹) tienen una sumatoria de HAP's menor que el límite más pequeño establecido en esa propuesta (Oleszczuk et al., 2013). Teniendo en cuenta que la formación y el aumento en las concentraciones de HAP's de los *biochars* están relacionados con el incremento de la temperatura de producción (Lehmann y Joseph, 2009). Es interesante observar que, a pesar de que los *biochars* BI y BIII fueron producidos a partir de temperaturas muy similares (620 y 600 °C respectivamente), la sumatoria de HAP's del *biochar* BI es mucho mayor en comparación con la del *biochar* BIII, lo cual indica una posible influencia entre el tipo de biomasa empleada y el contenido final de HAP's en los *biochars*.

La naftalina fue el HAP más abundante en las muestras de *biochar*. Este compuesto presentó un contenido del 45.3 % y 52.82 % en los *biochars* BI y BII respectivamente con respecto a la sumatoria de HAP's. En estudios previos se observó que entre el contenido en HAP's de los *biochars* predominaban los compuestos de 2 anillos como es el caso de la naftalina (Gómez-Eyles et al., 2011; Lu et al., 2015). Aunque, en los *biochars* BI, BII y BIII también se observó

un contenido importante en compuestos de 3 anillos como el fenantreno y de 4 anillos como el fluoranteno y el pireno (Figura 5.3).

Figura 5.3. Contenido en HAP's de los biochars.

Σ HAP's (ng g⁻¹): BI 2830, BII 2181, BIII 803.

1. Acenafteno, 2. Acenaftileno 3. Antraceno, 4. Benzo [a] antraceno, 5. Benzo [a] pireno, 6. Benzo [b] fluoranteno, 7. Benzo [k] fluoranteno, 8. Benzo [ghi] perileno, 9. Criseno, 10. Dibenzo [a,h] antraceno, 11. Fluoranteno, 12. Fluoreno, 13. Indeno [1.2.3-cd] pireno, 14. Naftalina, 15. Fenantreno, 16. Pireno.

Es importante destacar que a mayor número de anillos la solubilidad de los HAP's en agua disminuye. Además, la estabilidad de los HAP's varía en función de su estructura. Por ejemplo, la naftalina que fue el HAP presente en mayor proporción en los *biochars* tiene una estructura lineal y por lo tanto su estabilidad es baja (European Commission, 2006). Otros HAP's como el pireno presente en todas las muestras (BI > BII > BIII), poseen una estructura esférica lo cual les confiere más estabilidad en comparación con la naftalina u otros compuestos de estructura lineal.

Estas propiedades influyen en los posibles efectos tóxicos que se pueden producir en los suelos como resultado de la aplicación de *biochars* con altos contenidos en HAP's. Aun así, es posible que la definición generalizada de los HAP's como compuestos de degradación muy

lenta, altamente recalcitrantes, de baja movilidad y por lo tanto de difícil extracción o eliminación (Smith et al., 2006) indique una baja biodisponibilidad de dichos compuestos.

La Figura 5.4 muestra el contenido en polifenoles de los *biochars*. Una alta concentración de polifenoles puede inhibir el desarrollo de las plantas. Mientras que, las bajas concentraciones de estos compuestos estimulan el desarrollo y crecimiento de las mismas (Milla y Huang, 2013). Los polifenoles tienen el potencial de afectar procesos biogeoquímicos, como la formación de la materia orgánica o los ciclos de nutrientes, así como aumentar o reducir la biodisponibilidad de metales traza, su quelación, precipitación y reacciones redox (Halvorson et al., 2011; Milla y Huang, 2013).

En comparación con estudios previos, el contenido en polifenoles de los *biochars* fue muy bajo ($< 1 \text{ mg g}^{-1}$) como para considerarlos una fuente de toxicidad (Martín -Lara et al., 2009; Kuiters y Sarink, 1986). Los *biochars* BI y BII tuvieron una concentración en polifenoles mayor en comparación con la muestra BIII. Dicho contenido en los *biochars* BI y BII fue 0.92 y 0.98 mg de ácido gálico g^{-1} respectivamente, mientras que en la muestra BIII el contenido en polifenoles fue 0.49 mg de ácido gálico g^{-1} .

Figura 5.4. Contenido en polifenoles de los *biochars*.

Los ensayos de germinación constituyen una forma simple y común de test ecotoxicológicos para estimar el impacto de las enmiendas de *biochar* sobre el desarrollo de los cultivos

(Zuconi et al., 1981). Tradicionalmente se han usado semillas de *Nasturtium officinale* para evaluar la fitotoxicidad y no existen especies de semillas estandarizadas para su utilización en este tipo de ensayos. Por ello, en este estudio, con el fin de determinar los posibles efectos fitotóxicos del *biochar* durante la germinación se utilizaron semillas de *Cucumis sativus*, *Nasturtium officinale*, *Lens esculenta*, *Solanum lycopersicum* y *Lactuca sativa*.

Según Zuconi et al. (1981) y Emino y Warman (2004), valores del IG por debajo del 50 % sugieren una alta fitotoxicidad, valores entre el 50 % y el 80 % sugieren una fitotoxicidad moderada, mientras que valores por encima del 80 % no indican efectos fitotóxicos, cuando el índice de germinación sobrepasa el 100 % la enmienda orgánica, en este caso el *biochar* es considerado un fitonutriente o fitoestimulante. Según Ragoyska et al. (2012) la longitud de las raíces suele ser el parámetro más sensible a la hora de medir la respuesta de la planta a la fitotoxicidad del *biochar* en extractos acuosos.

Los resultados del ensayo de germinación (Tabla 19) sugieren que la fitotoxicidad depende de las características del *biochar* y de la especie de semilla utilizada. En el caso de las semillas de *Lens esculenta*, los tres *biochars* actuaron como fitoestimulantes y el índice de germinación más alto se obtuvo con el extracto del *biochar* BII. Es importante considerar que este cultivo se adapta fácilmente a distintos tipos de suelos con pHs entre 5.5 y 9.0 aproximadamente (Cubero et al., 2004). Además, aunque la tolerancia de la *Lens esculenta* a la salinidad es baja, todos los *biochars* presentaron una CE por debajo del límite (4 dS m^{-1}) establecido por Richards (1954).

En el caso del *Nasturtium officinale* se observaron más diferencias, ya que los extractos de las muestras BII y BIII tuvieron un efecto fitoestimulante, siendo el *biochar* BII la única muestra que aumentó el porcentaje de germinación. Por otra parte, el *biochar* BI tuvo un efecto fitotóxico moderado.

Aunque el *Nasturtium officinale* tolera una baja alcalinidad, las condiciones óptimas para su desarrollo se dan en medios con un pH neutro y una alta disponibilidad de agua (FAO, 2011). Por lo tanto, en el caso del *biochar* BI, el pH de 10.19 debe considerarse como una posible causa del efecto fitotóxico moderado observado. En cuanto a la muestra BII, el pH de 9.40 parece estar dentro del rango de tolerancia de este cultivo, en el cual se alcanzaron los valores

de IG y % G más altos. Finalmente, en el caso del *biochar* BIII, su pH de 7.66 proporcionó un medio óptimo para la germinación del *Nasturtium officinale*.

En la germinación del *Cucumis sativus*, el extracto del *biochar* BII fue el único que no presentó ningún efecto fitotóxico, mientras que los extractos de los *biochars* BI y BIII generaron un efecto fitotóxico moderado. Entre las condiciones óptimas para el desarrollo del *Cucumis sativus* cabe destacar un pH entre 5.5 y 7.0 con una tolerancia de 2.5 dS m⁻¹ a los entornos salinos (FAO, 2002). Por lo tanto, los efectos fitotóxicos observados según el alcance de este estudio, son consecuencia del pH fuertemente alcalino en el caso del *biochar* BI y de la alta CE del *biochar* BIII. Además, es probable que haya una mayor sensibilidad de este cultivo a compuestos fitotóxicos presentes en los *biochars*, como metales, sustancias fenólicas y HAP's, aunque sus concentraciones sean bajas.

Las semillas de *Solanum lycopersicum* mostraron una alta sensibilidad en el test de fitotoxicidad. En este caso, los *biochars* BI y BII produjeron una fitotoxicidad moderada, como resultado de su alto pH, ya que el *Solanum lycopersicum* se desarrolla mejor en ambientes ligeramente ácidos y neutros (Infoagro, 2015). Por otra parte, aunque el *biochar* BIII no presentó efectos tóxicos, el porcentaje de germinación del *Solanum lycopersicum* en el extracto de dicho *biochar* fue bajo.

Finalmente, en la germinación de las semillas de *Lactuca sativa* se observaron distintos efectos. Con el *biochar* BI no hubo efectos fitotóxicos, el *biochar* BII produjo una alta fitotoxicidad, mientras que el *biochar* BIII actuó como fitoestimulante. Teniendo en cuenta que el pH óptimo para el desarrollo de la *Lactuca sativa* está alrededor de 7, es entendible que su germinación fuera mejor en presencia del *biochar* BIII.

Las tres enmiendas presentaron efectos fitotóxicos en la germinación de al menos una de las especies vegetales estudiadas en este capítulo. Por ejemplo, el *biochar* BIII presentó fitotoxicidad en la germinación del *Cucumis sativus*. Sin embargo, los *biochars* BI y BII fueron las enmiendas con efectos adversos más notorios. Aunque se podría pensar que dicha fitotoxicidad está relacionada con el mayor contenido en HAP's y en sustancias fenólicas de las muestras BI y BII con respecto a la muestra BIII, las concentraciones tanto de HAP's como de polifenoles en los *biochars* son muy bajas indicando que la fitotoxicidad observada podría ser resultado de otros factores como el pH.

Es importante resaltar que, a pesar del alto contenido en metales del *biochar* BIII, producido a partir de lodos de depuradora, esta enmienda solo presenta una fitotoxicidad moderada para una de las especies de semillas, siendo un fitoestimulante para tres tipos de semillas, mientras que el *biochar* BI producido a partir de astillas de madera presenta bajos IG, siendo fitotóxico para la mayoría de semillas evaluadas.

Tabla 19. Ensayo de germinación: Estudio A.

		BI	BII	BIII
<i>Lens esculenta</i>	IG	115.1±10.7	124±15.7	122.5±22.4
	% G	100	96.5±5.8	100
<i>Nasturtium officinale</i>	IG	74.62±24.6	110.4±31.7	100.2±13.6
	% G	70±10	80±0	66±11.5
<i>Cucumis sativus</i>	IG	78.7±22.7	92.3±20.7	73.6±7.6
	% G	96.5±5.8	96.5±5.8	100
<i>Solanum lycopersicum</i>	IG	58.45±46.2	73.8±31.1	83.4±39.2
	% G	54.3±20.8	67.1±28.3	79.6±10
<i>Lactuca sativa</i>	IG	81.4±29.7	48.8±16.7	140.3±132.3
	% G	38.7±14.1	22.9±5.8	46.4±5.8

De acuerdo a los resultados obtenidos en el ensayo de germinación, las especies *Lens esculenta* y *Lactuca sativa* fueron seleccionadas como las semillas que tuvieron una mejor y una peor respuesta a cada tratamiento respectivamente y, por esta razón, fueron utilizadas en la evaluación de la producción de biomasa vegetal.

Las Figuras 5.5 y 5.7 muestran fotografías del desarrollo de la *Lens esculenta* y de la *Lactuca sativa* en los tratamientos de los suelos SA y ST. Los resultados de producción de biomasa vegetal se muestran en las Figuras 5.6 y 5.8. Dichos resultados indican que los efectos del *biochar* en el crecimiento de las especies vegetales evaluadas dependen del tipo de cultivo lo cual se corresponde con resultados previos como los reportados por Liu et al. (2013) donde encontraron que la productividad de cultivos tras el uso de *biochar* como enmienda orgánica varía en función del tipo de planta. En general, Liu et al. (2013) observaron que las respuestas positivas aumentan al usar cultivos de leguminosas, verduras y hierbas.

Figura 5.5. Macetas con plantas de *Lens esculenta*; a) Tratamientos del suelo ST, b) Tratamientos del suelo SA.

En cuanto al crecimiento de la *Lens esculenta*, los resultados indican que el peso de la parte aérea y la longitud de los tallos, es mayor en los tratamientos del suelo ST en comparación con los del suelo SA (Figuras 5.6). Estos resultados están relacionados con las propiedades del suelo ST las cuales proporcionan un mejor entorno para el desarrollo de las plantas, entre dichas propiedades se destacan, su alto contenido en nitrógeno, su mayor CIC, su contenido

en MOT y su mayor disponibilidad de agua. En contraste, en el suelo SA se observó un mayor crecimiento de las raíces de la *Lens esculenta*, este crecimiento se interpretó como el resultado de los bajos valores de C_c y $A_{\text{útil}}$ de dicho suelo, razón por la cual, las raíces tuvieron que explorar una mayor área de suelo en busca de agua.

En el suelo ST la adición de *biochar* no supuso un aumento significativo de la producción de *Lens esculenta*. Incluso, en el tratamiento STBI se observa una disminución en la producción en peso de la parte aérea y un mayor crecimiento de raíces. La baja biodisponibilidad de N es un aspecto a considerar para entender la reducción de la producción de *Lens esculenta*, ya que, en cantidades adecuadas, este macronutriente favorece el crecimiento vegetativo. Aun así, el balance C/N del *biochar* BI indica una inmovilización neta del nitrógeno que se traduce en una reducción en el contenido del N inorgánico que pueden absorber las plantas.

Estas observaciones se corresponden con los resultados encontrados por Van Zwieten et al. (2010) quienes observaron una reducción significativa en la producción de trigo tras la adición de un *biochar* producido a partir de mezclas de lodos de papel y astillas de madera en un proceso de pirólisis lenta. Van Zwieten et al. (2010) tampoco observaron mejoría en la producción de soja en los tratamientos de dos suelos distintos con *biochar*. Los resultados de Van Zwieten et al. (2010) fueron muy variables en función del tipo de suelo, de *biochar* y de las especies vegetales empleadas. Sin embargo, es posible que la reducción en la producción vegetal observada sea resultado de la baja biodisponibilidad de nutrientes tras enmendar el suelo con *biochar* (Kim et al., 2015; Novak et al., 2010).

Para los tratamientos del suelo SA solo en el tratamiento SABII hubo un aumento de la producción de masa aérea y de raíces de la *Lens esculenta*. Aunque, de acuerdo a la Figura 5.6, en los tratamientos restantes se observan valores que aumentan o disminuyen con respecto a los suelos sin enmiendas, dichas diferencias no son estadísticamente significativas.

Figura 5.6. Producción de *Lens esculenta* en los tratamientos de los suelos SA y ST; a) Peso de masa aérea y de raíces, b) Longitud de los tallos.

Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) usando el test de Tukey.

En cuanto a las plantas de *Lactuca sativa* (Figuras 5.7 y 5.8), no se observan diferencias significativas en el peso de masa aérea de las plantas para ninguno de los tratamientos. Mientras que, la longitud de los tallos fue mayor en los tratamientos con el suelo ST en comparación con los del suelo SA.

En el suelo ST disminuye la longitud de los tallos tras la adición de los *biochars*, además tras la adición de los *biochars* BI y BIII disminuye también el crecimiento de las raíces. Por otra parte, en los tratamientos del suelo SA el único cambio observado es un aumento de la longitud de los tallos de las plantas de *Lactuca sativa* sembradas en las macetas del tratamiento SABIII.

Figura 5.7. Macetas con plantas de *Lactuca sativa*; a) Tratamientos del suelo ST, b) Tratamientos del suelo SA.

Figura 5.8 Producción de *Lactuca sativa* en los tratamientos de los suelos SA y ST; a) Peso de masa aérea y de raíces, b) Longitud de los tallos.

Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) usando el test de Tukey.

Los resultados del análisis foliar se muestran en la Figura 5.9. El contenido en Cd, Cu y Ni de las plantas estuvo por debajo del límite de detección en todos los tratamientos. En cuanto al Zn, se observa que este metal tiende a acumularse en las raíces de la *Lens esculenta* y de la *Lactuca sativa* sembradas en los tratamientos STBIII y SABIII. Además, en los tratamientos del suelo SA la concentración de dicho metal es menor con respecto a los tratamientos del suelo ST.

Figura 5.9. Análisis foliar en los tratamientos de los suelos SA y ST; a) hojas y tallos, b) raíces.

Las concentraciones de Cd, Cu y Ni estuvieron por debajo del límite de detección en todos los tratamientos.

El Ni es considerado un micronutriente esencial para las plantas ya que desempeña un rol importante en su actividad enzimática, particularmente en la actividad de la ureasa. Si bien, en ausencia de Ni el contenido de ureasa en los tejidos vegetales aumentaría alcanzando niveles

tóxicos (Fabiano et al., 2015). Su presencia en altas concentraciones inhibe el crecimiento de las plantas y puede llegar a producir clorosis⁸ y necrosis (Sreekanth et al., 2013).

El Cu también es un micronutriente e interviene en los procesos de fotosíntesis y respiración. Además, ayuda a fijar y distribuir el nitrógeno en las plantas (Da Silva et al., 2016). Aunque, a altas concentraciones dicho micronutriente degrada el contenido interno de los cloroplastos, afectando la producción de clorofila y el proceso de fotosíntesis (Almeida et al., 2015).

En cuanto al Zn, este micronutriente es un componente esencial de miles de proteínas en las plantas, por esta razón, interviene en varios procesos relacionados con el metabolismo de las especies vegetales (Da Silva et al., 2016). Sin embargo, su acumulación en los tejidos a concentraciones mayores que 300 mg kg⁻¹ produce efectos tóxicos en las plantas como alteraciones fisiológicas o la inhibición del crecimiento (Barrameda-Medina et al., 2014).

En resumen, micronutrientes como el Ni, el Cu o el Zn son responsables de regular diversos procesos en las células vegetales. Por lo tanto, son absorbidos por las raíces de las plantas y se encuentran en bajas concentraciones en los tejidos vegetales (Da Silva et al., 2016). Dichos micronutrientes contribuyen a suplir las exigencias nutricionales de las plantas. Por esta razón, y, en consecuencia de las bajas concentraciones de Ni, Cu y Zn medidas en los tejidos de la *Lens esculenta* y de la *Lactuca sativa*, es probable que la presencia de estos elementos en los *biochars* BI, BII y BIII represente una fuente de nutrientes para las plantas y no una fuente de compuestos fitotóxicos.

Cabe destacar que el Cd es un metal pesado no esencial, el cual interfiere en la absorción, transporte y utilización de elementos esenciales, del agua y de los nitratos, provocando desequilibrios nutricionales e hídricos en las plantas, además de clorosis (Rodríguez-Serrano et al., 2008). De cualquier modo, la concentración de Cd en los tejidos vegetales estuvo por debajo del límite de detección, debido a que la biodisponibilidad de metales disminuye cuando se usa *biochar* como enmienda orgánica en relación con el uso directo del residuo original (Cely et al., 2015; Glaser et al., 2014). Por lo tanto, las concentraciones de este elemento en los *biochars* no parecen constituir un riesgo de contaminación ni para el suelo ni para las plantas.

8 Enfermedad de las plantas en la que la producción de clorofila es insuficiente.

5.3.3 Evaluación del hollín y su efecto sobre algunas especies vegetales al ser usado como *biochar* -Estudio B-

A continuación, se muestran los resultados de la evaluación del hollín y su efecto sobre el desarrollo de las especies *Lens esculenta*, *Nasturtium officinale*, *Lactuca sativa* y *Cucumis sativus* al ser usado como *biochar*.

La Figura 5.10 muestra los resultados del análisis termogravimétrico del hollín HM, las curvas TG y dTG indican los cambios en el peso de la muestra con respecto a la temperatura, en las cuales se observa un bajo contenido de humedad y de carbono lábil, mientras que a temperaturas mayores que 500 °C hay una pérdida de peso asociada a la combustión de la fracción más recalcitrante del carbono (Sharara y Sadaka, 2014; Cely et al., 2015). Estos resultados junto con los del análisis térmico diferencial (DTA) confirman la alta estabilidad de la muestra HM.

Figura 5.10. Análisis termogravimétrico del hollín HM; a) TG y dTG, b) DTA.

La Figura 5.11 muestra el contenido en HAP's del hollín HM, dicho contenido es alto y supera ampliamente las concentraciones observadas previamente en los *biochars* BI, BII y BIII utilizados en el estudio A de este capítulo. De igual forma, la sumatoria de HAP's del hollín HM (105370 ng g^{-1}) es mucho más alta que el límite superior (20000 ng g^{-1}) para la sumatoria de HAP's en *biochars* propuesto por la UE (Oleszczuk et al., 2013).

Las altas concentraciones de HAP's en el Hollín HM se corresponden con la elevada temperatura con la que este material fue producido y con las investigaciones previas en las que se han observado altas concentraciones de HAP's en *biochars* producidos a partir de madera mediante procesos de gasificación (Hansen et al., 2015).

Figura 5.11. Contenido en HAP's del hollín.

Σ HAP's (ng g^{-1}):105370

1. Acenaftileno, 2. Antraceno, 3. Benzo [b] fluoranteno, 4. Criseno, 5. Fluoreno, 6. Naftalina, 7. Pireno, 8. Metilnaftaleno, 9. Naftalenodiol, 10. Acetil naftaleno, 11. Chrisenodione, 12. Benzo[a] fluoranteno, 13. Benzopireno, 14. Indeno pireno, 15. Oxy-benzofluoranteno, 16. Benzopireno diones, 17. Indeno pireno, 18. Dibenzoantraceno, 19. Benzoperileno, 20. Dibenzopireno, 21. Oxy [a] indeno pireno, 22. Oxy [b] indeno pireno, 23. Oxy- benzoperileno.

En el hollín hubo un alto contenido en HAP's con estructuras formadas por 2 hasta 6 anillos, siendo el criseno el HAP presente en mayor concentración, cuyo contenido representó un 83.10 % con respecto a la sumatoria de HAP's. Este compuesto tiene una estructura angular que le proporciona una alta estabilidad y es resultado de las altas temperaturas del proceso de gasificación (European Commission, 2006).

Las Figuras 5.12 y 5.13 muestran fotografías del desarrollo de las especies vegetales *Lens esculenta*, *Nasturtium officinale*, *Lactuca sativa* y *Cucumis sativus*.

Figura 5.12. Macetas con plantas de *Lens esculenta*; tratamientos del suelo SV.

Figura 5.13. Macetas de los tratamientos del suelo SV; a) plantas de *Lactuca sativa*, b) plantas de *Nasturtium officinale*, c) plantas de *Cucumis sativus*.

La Figura 5.14 muestra los resultados de producción vegetal. El desarrollo de las plantas de *Lens esculenta* es similar al observado en los dos tratamientos del estudio A para la misma especie vegetal. La adición de la enmienda HM en el suelo no supuso un aumento en la producción de *Lens esculenta*, por el contrario, la producción de masa aérea es igual en los tratamientos SV y SVHM y tanto la longitud de los tallos como el crecimiento de las raíces disminuyeron en el suelo enmendado (SVHM).

En cuanto al desarrollo de las plantas de *Lactuca sativa*, *Nasturtium officinale* y *Cucumis sativus*, la respuesta es opuesta a la observada tanto en los tratamientos del estudio A como en el desarrollo de la especie *Lens esculenta* de este estudio (estudio B). De acuerdo a esto, el peso de masa aérea y de raíces, y la longitud de los tallos de la *Lactuca sativa*, del *Nasturtium officinale* y del *Cucumis sativus* se vieron considerablemente incrementados tras la adición del hollín HM en el suelo (SVHM).

A partir de los resultados obtenidos, se puede inferir que el alto contenido en HAP's del hollín HM no inhibe ni reduce el crecimiento y desarrollo de las plantas, y por lo tanto, es probable que su biodisponibilidad sea muy baja tal y como se ha observado previamente tras el uso de algunos *biochars* como enmienda orgánica. Con respecto a esto, Brennan et al. (2014) encontraron que el contenido en HAP's absorbido por las raíces de las plantas disminuyó considerablemente cuando el suelo fue tratado con un *biochar* producido a partir de rastrojo de maíz y con carbón activo, en comparación con el uso de un *biochar* producido a partir de madera de pino donde no se observó una reducción en la absorción de estos compuestos.

Figura 5.14. Producción de *Lens esculenta*, *Nasturtium officinale*, *Lactuca sativa* y *Cucumis sativus* en los tratamientos del suelo SV; a) masa parte aérea, b) masa de raíces, c) longitud de tallos.

Valores seguidos por la misma letra y clasificados por especie de semilla, no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) usando el test de Tukey.

Como ya se ha comentado, la movilidad y biodisponibilidad de metales disminuye en los suelos tratados con *biochar* como resultado de diversos procesos entre los que se destacan los cambios en la CIC, el aumento en la capacidad de adsorción, las interacciones electrostáticas o el aumento en el contenido de carbono orgánico que facilita la formación de complejos entre iones libres y ligandos orgánicos (Zeng et al., 2015). Dichos procesos podrían estar relacionados con la baja biodisponibilidad de Zn, Cd y Ni en el hollín HM (Tabla 20) con respecto a su contenido total (Tabla 17), así como, a su baja biodisponibilidad en el suelo SVHM con respecto al suelo sin enmienda (SV) y al hollín HM.

Tabla 20. Metales biodisponibles del suelo con y sin enmienda y del hollín.

	Zn (mg kg ⁻¹)	Cd (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Ni (mg kg ⁻¹)
SV	0.06±0.04a	0.86±0.45a	3.29±1.71a	1.40±0.39a
HM	7.31±1.87b	0.69±0.61a	101±9.02b	u
SVHM	0.35±0.06a	0.86±0.01a	5.38±3.40a	2.20±0.94a

*Los valores en la misma columna seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) usando el test de Tukey.

u: Valor por debajo del límite de detección.

Las Tablas 21 y 22 muestran los resultados de análisis foliar en los que se observa que el Zn tiende a acumularse en las raíces de la *Lactuca sativa* sembrada en el suelo con y sin enmienda.

Una posible explicación a la presencia de Zn y ausencia de Cu en hojas, tallos y raíces de la mayoría de tratamientos es el fuerte antagonismo entre estos dos metales, lo cual hace que la presencia de uno inhiba la absorción del otro (Alloway, 1995).

También se observó un incremento de Cu en las raíces del *Nasturtium officinale* y del *Cucumis sativus* tras enmendar el suelo con hollín. Este resultado es similar al obtenido por Mackie et al. (2015) quienes observaron altos contenidos de Cu en las plantas tras la adición

de un *biochar* preparado a partir de un 80 % de distintos tipos de maderas duras y un 20 % de astillas de madera de coníferas a una temperatura de 750 °C.

El contenido de Ni en hojas y tallos de la *Lactuca sativa*, del *Nasturtium officinale* y del *Cucumis sativus* disminuye en el tratamiento SVHM. Además, hubo una menor concentración de este elemento en las raíces del *Nasturtium officinale* con respecto a las concentraciones observadas en las hojas y tallos de dicha especie vegetal.

El contenido en Cd estuvo por debajo del límite de detección en todos los casos, excepto en el *Cucumis sativus* cuyo contenido en hojas y tallos fue mayor en el tratamiento con hollín superando los límites establecidos por la Comisión Europea para la concentración de metales en frutas y vegetales (CE 1881/2006). No obstante, se debe tener en cuenta que el contenido en Cd ha sido medido en la planta y no en la verdura.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede establecer que la fitotoxicidad inducida por las enmiendas es originada por diferentes compuestos y/o propiedades, y como consecuencia, la respuesta de cada cultivo es específica.

En este estudio no se pudo diferenciar la influencia de cada compuesto presente en los *biochars* y en el hollín sobre los efectos tóxicos, pero, dadas las bajas concentraciones de metales pesados en los tejidos de las plantas, es probable que éstos no constituyan un factor importante en la evaluación de la toxicidad.

Tabla 21. Análisis foliar: Parte aérea de las plantas en los tratamientos SV y SVHM.

	Hojas y Tallos							
	<i>Lactuca sativa</i>		<i>Nasturtium officinale</i>		<i>Lens esculenta</i>		<i>Cucumis sativus</i>	
	SV	SVHM	SV	SVHM	SV	SVHM	SV	SVHM
Zn (mg kg⁻¹)	7.22±0.01	16.57±5.03	13.79±1.14	59.09±7.23	40.82±10.5	28.53±3.97	20.82±8.45	18.88±3.47
Cd (mg kg⁻¹)	u	u	u	u	u	u	14.31±2.13	17.09±1.04
Cu (mg kg⁻¹)	u	u	u	u	u	u	u	u
Ni (mg kg⁻¹)	33.22±9.52	17.37±3.21	131.03±27.8	44.60±25.8	46.56±45.87	48.69±67.85	39.89±22.84	27.60±3.37

* u: Valor por debajo del límite de detección.

Tabla 22. Análisis foliar: Raíces de las plantas en los tratamientos SV y SVHM.

	Raíces							
	<i>Lactuca sativa</i>		<i>Nasturtium officinale</i>		<i>Lens esculenta</i>		<i>Cucumis sativus</i>	
	SV	SVHM	SV	SVHM	SV	SVHM	SV	SVHM
Zn (mg kg⁻¹)	15.60±2.20	20.03±1.56	11.03±0.11	21±0.36	14.56±1.35	15.53±2.05	11.92±5.19	15.55±2.66
Cd (mg kg⁻¹)	u	u	u	u	u	5.09±0.02	0.19±0.01	u
Cu (mg kg⁻¹)	u	u	u	24.73±14.26	u	u	u	17.66±6.07
Ni (mg kg⁻¹)	24.56±0.56	26.46±0.74	44.39±9.26	28.72±6.08	24.55±4.01	29.30±2.95	18.52±1.45	28.41±3.79

* u: Valor por debajo del límite de detección.

5.4 Conclusiones

1. Los *biochars* de astillas de madera a 620 °C (BI), lodos de papel y cáscaras de trigo a 500 °C (BII) y lodos de depuradora a 600 °C (BIII) presentan bajas concentraciones de HAP's y polifenoles. Por lo tanto, estos compuestos no constituyeron un factor importante en la evaluación de la toxicidad. En el mismo sentido, el alto contenido en HAP's del hollín HM no produjo inhibición ni reducción en la germinación y crecimiento de las especies *Lactuca sativa*, *Nasturtium officinale* y *Cucumis sativus* lo cual indica una baja biodisponibilidad de estos compuestos orgánicos.
2. Propiedades de los *biochars* BI, BII y BIII como el pH o la conductividad eléctrica fueron de gran importancia durante la germinación de las especies *Lens esculenta*, *Lactuca sativa*, *Solanum lycopersicum*, *Nasturtium officinale* y *Cucumis sativus* teniendo en cuenta los requerimientos específicos de cada planta.
3. Tras la adición de una concentración del 8 % de los *biochars* BI, BII y BIII no se observó un incremento representativo en la producción de la *Lens esculenta* ni de la *Lactuca sativa*. La misma tendencia se observó para la *Lens esculenta* sembrada en el suelo tratado con el hollín HM lo cual puede estar asociado a la baja biodisponibilidad de los nutrientes Zn, Cu y Ni con respecto a su contenido total, así como, a la inmovilización neta del nitrógeno observada en los *biochars* BI y BII.
4. El uso del hollín HM como enmienda orgánica incrementó el peso de la masa aérea, de la masa de raíces y la longitud de los tallos de las especies *Lactuca sativa*, *Nasturtium officinale* y *Cucumis sativus* confirmando la viabilidad del hollín HM para ser usado como *biochar* con el fin de mejorar la germinación y el desarrollo de las plantas.
5. Las bajas concentraciones de los micronutrientes Ni, Cu y Zn, así como, el bajo contenido en Cd en los tejidos vegetales indican que estos compuestos no son una causa importante de efectos fitotóxicos.

6 CONCLUSIONES GENERALES

1. Es posible producir *biochars* de buena calidad y con diferentes propiedades agronómicas variando parámetros de producción como el uso de distintos tipos de residuos ganaderos a temperaturas de 300 y 500 °C.
2. Tras el proceso de pirólisis de los residuos ganaderos a 500 °C, el pH tiende a aumentar, mientras que los contenidos en N_{kjeldhal} y $C_{K2Cr2O7}$ disminuyen indicando una mayor estabilidad con el incremento de la temperatura.
3. El contenido total de Fe, Zn, Ni, Cu y Cd en los *biochars* producidos a partir de residuos ganaderos tiende a aumentar con respecto al material original. Sin embargo, la fracción móvil de dichos metales disminuye reduciendo el riesgo de lixiviación y contaminación.
4. Tras el proceso de pirólisis la biomasa alcanza mayor estabilidad. Por lo tanto, el uso de los *biochars* de astillas de madera a 620 °C (BI), lodos de papel y cáscaras de trigo a 500 °C (BII), lodos de depuradora a 600 °C (BIII), purín de cerdo a 300 °C (BPC300) y purín de cerdo a 500 °C (BPC500) como enmienda orgánica disminuye la mineralización de carbono.
5. Los *biochars* con alta estabilidad y áreas superficiales grandes como es el caso de los *biochars* BI y BPC500 producen un efecto *priming* negativo, mientras que los *biochars* BII, BIII y BPC300 cuyos índices de termoestabilidad y contenidos en carbono fijo fueron más bajos, presentaron un efecto *priming* positivo.
6. La adición de los *biochars* producidos a partir de purín de cerdo no incrementaron de forma significativa la actividad enzimática del suelo, incluso los *biochars* producidos a altas temperaturas como es el caso del *biochar* BPC500 reducen dicha actividad.
7. Para predecir los efectos de los *biochars* BI, BII y BIII en la germinación y el desarrollo de las plantas resultó útil la realización de pruebas ecotoxicológicas empleando diversos tipos de semillas como *Cucumis sativus*, *Nasturtium officinale*, *Lens esculenta*, *Solanum lycopersicum* y *Lactuca sativa*.

8. El uso de residuos carbonosos procedentes de procesos de gasificación de la biomasa tales como el hollín HM tienen un gran potencial para ser usados como *biochar* con el fin de mejorar la producción vegetal de las especies *Lactuca sativa*, *Nasturtium officinale* y *Cucumis sativus*.
9. El contenido en HAP's y polifenoles de los *biochars* BI, BII, BIII y el contenido en HAP's del hollín HM parecen no representar un factor importante en la evaluación de la toxicidad.
10. La biodisponibilidad de Zn, Cd y Ni en el suelo tratado con el hollín HM disminuyó con respecto a su contenido total. De igual forma las concentraciones de metales en los tejidos vegetales tras el uso de los *biochars* BI, BII, BIII y del hollín HM como enmienda orgánica fueron muy bajas.

7 LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

A partir de los trabajos realizados se pueden plantear diversas líneas futuras de investigación, entre las cuales se destacan la evaluación ambiental del *biochar* mediante el análisis de ciclo de vida y la evaluación de las implicaciones sociales que constituiría su uso en el sector agrícola.

7.1 Estudios a largo plazo y en campo de la aplicación de *biochars* producidos a partir de residuos ganaderos

Evaluación del uso de *biochar* como enmienda orgánica mediante estudios a largo plazo y en campo que permitan confirmar la viabilidad del uso de *biochar* como sustituto de fertilizantes minerales en la mejora de las propiedades del suelo y el aumento de la productividad de cultivos.

7.2 Análisis de ciclo de vida

A partir de esta herramienta se podrían determinar los impactos ambientales en cada una de las etapas del ciclo de vida del *biochar*. Por ejemplo, un aspecto interesante a evaluar mediante esta metodología son las emisiones en cada una de sus etapas para calcular si la disminución de emisiones de CO₂ tras la aplicación de *biochar* en el suelo es realmente significativa como para compensar las emisiones de las etapas restantes. También se podrían establecer comparaciones en términos de impactos ambientales con otro tipo de enmiendas orgánicas o fertilizantes minerales usados tradicionalmente en la agricultura.

7.3 Implicaciones sociales

Debido a los cambios sociales y económicos actuales, es importante realizar investigación considerando la aplicabilidad y los impactos sobre las comunidades. En el caso del *biochar*, al constituir una alternativa de producción agrícola, se podrían evaluar los efectos en términos de empoderamiento de las comunidades campesinas y de los posibles aportes para garantizar la soberanía alimentaria.

8 REFERENCIAS

- Abdel-Fattah, T., Mahmoud, M., Ahmed, S., Huff, M., Lee, J., Kumar, S., 2014.** Biochar from woody biomass for removing metal contaminants and carbon sequestration. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 22, 103-109.
- Abel, S., Peters, A., Trinks, S., Schonsky, H., Facklam, M., Wessolek, G., 2013.** Impact of biochar and hydrochar addition on water retention and water repellency of sandy soil. *Geoderma* 202 (203), 183-191.
- Acosta-Martínez, V., Tabatabai, M.A., 2000.** Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biology and Fertility of Soils* 31, 85-91.
- Agirre, I., Griessacher, T., Rösler, G., Antrekowitsch, J., 2013.** Production of charcoal as an alternative reducing agent from agricultural residues using a semi-continuous semi-pilot scale pyrolysis screw reactor. *Fuel Processing Technology* 106, 114-121.
- Alloway, B., 1995.** Heavy Metals in Soils. Second edition ed. London: Blackie Academic & Professional.
- Almeida, N., Ademar, P., Hildebrand, H., Brunetto, G., Teixeira, F., Antonioli, Z., Seminoti, R., 2015.** Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost on copper phytoremediation in a sandy soil. *Applied Soil Ecology* 96, 172-182.
- Ameloot, N., Graber, E., Verheijen, F., De Neve, S., 2013.** Interactions between biochar stability and soil organisms: review and research needs. *European journal of soil science* 64, 379-390.
- Anawar, H., Akter, F., Solaiman, Z., Strezov, V., 2015.** Biochar: An Emerging Panacea for Remediation of Soil Contaminants from Mining, Industry and Sewage Wastes. *Pedosphere* 25 (5), 654-665.
- Anderson, C., Condrón, L., Clough, T., Fiers, M., Stewart, A., Hill, R., Sherlock, R., 2011.** Biochar induced soil microbial community change: Implications for biogeochemical cycling of carbon, nitrogen phosphorus. *Pedobiologia - international journal of soil biology* 54, 309-320.
- ASTM, 1995.** Standard Test Method for Determination of Iodine Number of Activated Carbon.. Philadelphia: D 4607-94.

- Azargohar, R., Jacobson, K., Powell, E., Dalai, A., 2013.** Evaluation of properties of fast pyrolysis products obtained, from Canadian waste biomass. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 104, 330-340.
- Balat, M., Balat, M., Kirtay, E., Balat, H., 2009.** Main routes for the thermo- conversion of biomass into fuels and chemicals. Part 1: Pyrolysis systems. *Energy Conversion and Management* 50, 3147-3157.
- Bandick, A.B., Dick, R.P., 1999.** Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 1471-1479.
- Barrameda-Medina, Y., Montesinos-Pereira, D., Romero, L., Ruiz, J., Blasco, B., 2014.** Comparative study of the toxic effect of Zn in *Lactuca sativa* and *Brassica oleracea* plants: I. Growth, distribution, and accumulation of Zn, and metabolism of carboxylates. *Environmental and Experimental Botany* 107, 98-104.
- Barriga, S., Méndez, A., Cámara, J., Guerrero, F., 2010.** Agricultural valorisation of de-inking paper sludge as organic amendment in different soils: thermal study. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 99, 981-986.
- Barrow, C.J., 2012.** Biochar: Potential for countering land degradation and for improving agriculture. *Applied Geography* 34, 21-28.
- Bjorkman, E., Stromberg, B., 1997.** Release of chlorine from biomass at pyrolysis and gasification conditions. *Energy and Fuels* 11, 1026-1032.
- Blázquez, G., Calero, M., Martínez, C., Cotes, M., Ronda, A., Martín, M., 2014.** Characterization and modeling of pyrolysis of the two-phase olive mill solid waste. *Fuel Processing Technology* 126, 104-111.
- Bouyoucos, G., 1962.** Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. *Agronomy Journal* 54, 464-465.
- Bremmer, J., Mulvaney, C., 1982.** Nitrogen-total, In: *Chemical and Microbiological Properties*. In: *Methods of Soil Analysis*. Madison: ASA, SSSA, A.L. Page, R.H. Miller, D.R. Keeney, (Eds.), Part 2. p. 595-624.

- Břendová, K., Tlustoš, P., Száková, J., 2015.** Can Biochar From Contaminated Biomass Be Applied Into Soil for Remediation Purposes?. *Water Air and Soil Pollution* 226: 193. DOI 10.1007/s11270-015-2456-9
- Brennan, A., Moreno-Jiménez, E., Alburquerque, J., Knapp, C., Switzer, C., 2014.** Effects of biochar and activated carbon amendment on maize growth and the uptake and measured availability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and potentially toxic elements (PTEs). *Environmental Pollution* 193, 79-87.
- Bruckman, V., Terada, T., Uzun, B., Apaydin-Arol, E., Liu, J., 2015.** Biochar for climate change mitigation: Tracing the in-situ priming effect on a forest site. *Energy Procedia* 76, 381-387.
- Bucheli, T., Hilber, I., Schmidt, H., 2014.** Polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated aromatic compounds in biochar. *Biochar for Environmental Management*, Chapter 21, 593-622.
- Buss, W., Ondrej, M., 2014.** Mobile organic compounds in biochar - A potential source of contamination - Phytotoxic effects on cress seed (*Lepidium sativum*) germination. *Journal of environmental management* 137, 111-119.
- Calvelo Pereira, R., Kaal, J., Camps Arbestain, M., Pardo Lorenzo, R., Aitkenhead, W., Hedley, M., Macías, F., Hindmarsh, J., Maciá-Agulló, J.A., 2011.** Contribution to characterisation of biochar to estimate the labile fraction of carbon. *Organic Geochemistry* 42, 1331-1342.
- Camiña, F., Trasar-Cepeda, C., Gil-Sotres, F., Leirós, M.C., 1998.** Measurement of dehydrogenase activity in acid soils rich in organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1005-1011.
- Cantrell, K., Hunt, P., Uchimiya, M., Novak, J., Ro, K., 2012.** Impact of pyrolysis temperature and manure source on physicochemical characteristics of biochar. *Bioresource Technology* 107, 419-428.
- Case, S., McNamara, N., Reay, D., Whitaker, J., 2012.** The effect of biochar addition on N₂O and CO₂ emissions from a sandy loam soil - The role of soil aeration. *Soil Biology & Biochemistry* 51, 125-134.

- Cely, P., Gascó, G., Paz-Ferreiro, J., Méndez, A., 2015.** Agronomic properties of biochars from different manure wastes. *Journal of analytical and applied pyrolysis* 111, 173-182.
- Cely, P., Tarquis, A.M., Paz-Ferreiro, J., Méndez, A., Gascó, G., 2014.** Factors driving carbon mineralization priming effect in a soil amended with different types of biochar. *Solid Earth* 5, 585-594.
- Choi, H., Sudiarto, S., Renggaman, A., 2014.** Prediction of livestock manure and mixture higher heating value based. *Fuel* 116, 772-780.
- Ciais, P., Sabine, C., Bala, G., Bopp, L., Brovkin, V., Canadell, J., Chhabra, A., DeFries, R., Galloway, J., Heimann, M., Jones, C., Le Quéré, C., Myneni, R.B., Piao S., Thornton, P., 2013.** Carbon and Other Biogeochemical Cycles. In: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Colantoni, A., Longo, L., Evic, N., Gallucci, F., Delfanti, L., 2015.** Use of Hazelnut's Pruning to Produce Biochar by Gasifier Small Scale Plant. *International Journal of Renewable Energy Research* 5, 873-878.
- Comisión Europea., 2006.** Por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios.
- Corá, J., Lopes, P., Baretta, D., Nogueira, E., 2015.** Ecotoxicological evaluation of swine manure disposal on tropical soils in Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 122, 91-97.
- Cubero, J., Moreno, M., Nadal, S., 2004.** Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Mundi-Prensa. ISBN 9788484762133. pp 27-247.
- Da Rosa, R., Comin, J., Fonsêca, C., Belli, P., Benedet, L., Pires, M., Brunetto, G., Beber, C., 2013.** Microbiological and chemical attributes of a Hapludalf soil with swine manure fertilization. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 48, 774-782.
- Da Silva, A., Alvino, E., Guedes, E., Mascarenhas, G., Marques, D., 2016.** Abiotic and Biotic Stress in Plants - Recent Advances and Future Perspectives. Chapter 9: Tolerance of

Plants to Toxicity Induced by Micronutrients. (Open Access) ISBN 978-953-51-2250-0. DOI: 10.5772/62046.

De La Rosa, J., Paneque, M., Miller, A., Knicker, H., 2014. Relating physical and chemical properties of four different biochars and their application rate to biomass production of *Lolium perenne* on a Calcic Cambisol during a pot experiment of 79 days. *Science of the Total Environment* 499, 175-184.

Dell'Abate, M., Benedetti, A., Sequi, P., 2000. Thermal methods of organic matter maturation monitoring during a composting process. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 61, 389-396.

Directiva 2008/98/CE. Del Parlamento Europeo y del Consejo de la Unión Europea. Sobre los residuos y por la que se derogan determinadas directivas.

Duku, M., Gu, S., Hagan, E., 2011. Biochar production potential in Ghana-A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15, 3539-3551.

Dume, B., Berecha, G., Tulu, S., 2015. Characterization of Biochar Produced at Different Temperatures and its Effect on Acidic Nitosol of Jimma, Southwest Ethiopia. *International Journal of soil science* 10, 63-73.

EBC 2012. European biochar certificate - Guidelines for a sustainable production of biochar. European biochar foundation (EBC), Arbaz, Switzerland. [En línea] Disponible en: <http://www.european-biochar.org/en/download>. [Último acceso:05/07/2015]

Edenborn, S.L., Edenborn, H.M., Krynock, R.M., Zickefoose Haug, K.L., 2015. Influence of biochar application methods on the phytostabilization of a hydrophobic soil contaminated with lead and acid tar. *Journal of Environmental Management* 150, 226-234.

Emino, E., Warman, P., 2004. Biological assay for compost quality. *Compost Science & Utilization* 12(4), 342-348.

Enders, A., Hanley, K., Whitman, T., Joseph, S., Lehmann, J., 2012. Characterization of biochars to evaluate recalcitrance and agronomic performance. *Bioresource Technology* 114, 644-653.

EPA, 2014. Climate change indicators in the United States, 2014. Third edition. EPA 430-R-14-004. [En línea] Disponible en: www.epa.gov/climatechange/indicators. [Último acceso: 18/11/2015]

European Commission., 2006. Evaluation of the relevance of organic micro-pollutants in sewage sludge, Part I. [En línea] Disponible en: http://eusoils.jrc.ec.europa.eu/esdb_archive/eusoils_docs/other/EUR22265_1.pdf [Último acceso: 20/03/2015].

European Community, 1986. Council Directive of 12 June 1986 on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. Directive 86/278/CEE. Official Journal of the European Communities L 181, pp. 6-12.

EUROSTAT, 2012. EUROSTAT. [En línea] Disponible en: <http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/> [Último acceso: 24-02-2015].

Fabiano, C., Tezotto, T., Favarin, J., Polacco, J., Mazzafera, P., 2015. Essentiality of nickel in plants: a role in plant stresses. *Frontiers in Plant Science* 6, 1-4.

FAO, 1996. Rome declaration on world food security, World Food Summit, Rome, Food and Agriculture Organization, Deputy Director general (operations). [En línea] Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/003/w3613e/w3613e00.HTM> [Último acceso: 24-10-2014].

FAO, 2002. El cultivo protegido en clima mediterráneo. Manual preparado por el Grupo de Cultivos Hortícolas, Dirección de Producción y Protección Vegetal, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Capítulo 5: Medios y técnicas de producción. [En línea] Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/005/s8630s/s8630s07.htm> [Último acceso: 02/04/2016].

FAO, 2003. Programa de lucha contra el hambre: enfoque de doble componente para la reducción del hambre: prioridades para la actuación a nivel nacional e internacional, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Departamento económico y social. [En línea] Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/j0563s/j0563s00.htm> [Último acceso: 24-10-2014].

FAO, 2011. Manual técnico: Producción artesanal de semillas de hortalizas para la huerta familiar, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Oficina

regional para América Latina y el Caribe. [En línea] Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/019/i2029s/i2029s.pdf> [Último acceso: 02/04/2016].

Fernandez-Akarregi, R., Makibar, J., Lopez, G., Amutio, M., Olazar, M., 2013. Design and operation of a conical spouted bed reactor pilot plant (25 kg/h) for biomass fast pyrolysis. *Fuel Processing Technology* 112, 48-56.

Galinato, S., Yoder, J., Granatstein, D., 2011. The economic value of biochar in crop production and carbon sequestration. *Energy Policy* 39, 6344-6350.

García, R., Pizarro, C., Lavín, A., Bueno, J., 2014a. Spanish biofuels heating value estimation. Part I: Ultimate analysis data. *Fuel* 117, 1130-1138.

García, R., Pizarro, C., Lavín, A., Bueno, J., 2014b. Spanish biofuels heating value estimation. Part II: Proximate analysis data. *Fuel* 117, 1139-1147.

Gascó, G., Paz-Ferreiro, J., Méndez, A., 2012. Thermal analysis of soil amended with sewage sludge and biochar from sewage sludge pyrolysis. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 108, 769-775.

Gérard, E., Echevarria, G., Sterckman, T., Morel, J.L., 2000. Cadmiun availability to three plant species varying in cadmiun accumulation pattern. *Journal of Environmental Quality* 29, 1117-1123.

Glaser, B., Wiedner, K., Seelig, S., Schmidt, H., Gerber, H., 2014. Biochar organic fertilizers from natural resources as substitute for mineral fertilizers. *Agronomy for Sustainable Development* 35, 667-678.

Gomez-Eyles, J.L., Sizmur, T., Collins, C.D., Hodson, M.E., 2011. Effects of biochar and the earthworm *Eisenia Fetida* on the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons and potentially toxic elements. *Environmental Pollution* 159, 616-622.

Hagner, M., Hallman, S., Jauhiainen, L., Kemppainen, R., Rämö, S., Tiilikkala, K., Setälä, H., 2015. Birch (*Betula* spp.) wood biochar is a potential soil amendment to reduce glyphosate leaching in agricultural soils. *Journal of Environmental Management* 164, 46-52.

Halvorson, J.J., Gonzalez, J.M., Hagerman, A.E., 2011. Repeated applications of tannins and related phenolic compounds are retained by soil and affect cation exchange capacity. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1139-1147.

- Hammes, K., Smernik, R.J., Skjemstad, J.O., Herzog, A., Vogt, U.F., Scminidt, M.W.I., 2006.** Synthesis and characterization of laboratory-charred grass straw (*Oryza sativa*) and chestnut wood (*Castanea sativa*) as reference materials for black carbon quantification. *Organic Geochemistry* 37, 1629-1633.
- Hansen, V., Müller-Stöver, D., Ahrenfeldt, J., Holm, J., Henriksen, U., Hauggaard-Nielsen, H., 2015.** Gasification biochar as a valuable by-product for carbon sequestration and soil amendment. *Biomass & Bioenergy* 72, 300-308.
- Henríquez, C., Uribe, L., Valenciano, A., Nogales, R., 2014.** Actividad enzimática del suelo -deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa y ureasa- bajo diferentes cultivos. *Agronomía Costarricense* 38 (1), 43-54.
- Hossain, M., Strezov, V., Chan, K., Ziolkowski, A., Nelson, P., 2011.** Influence of pyrolysis temperature on production and nutrient properties of wastewater sludge biochar. *Journal of Environmental Management* 92, 223-228.
- Info Agro., 2015.** El cultivo del pepino. [En línea] Disponible en: <http://www.infoagro.com/hortalizas/tomate.htm> [Último acceso: 02/04/2016].
- International Biochar Initiative, 2015.** Climate change and biochar. [En línea] Disponible en: <http://www.biochar-international.org/biochar/carbon> [Último acceso: 12/09/2015]
- International Biochar Initiative, 2012.** Standardized product definition and product testing guidelines for biochar that is used in soil, Westerville, United States of America: s.n.
- Jacobson, M.Z., 2009.** Review of solutions to global warming, air pollution, and energy security. *Energy and Environmental Science* 2, 148-73.
- Janus, A., Pelfrêne, A., Heymans, S., Deboffe, C., Douay, F., Waterlot, C., 2015.** Elaboration, characteristics and advantages of biochars for the management of contaminated soils with a specific overview on *Miscanthus* biochars. *Journal of Environmental Management* 162, 275-289.
- Jien, S., Wang, C., 2012.** Effects of biochar on soil properties and erosion potential in a highly weathered soil. *Catena* 110, 225-233.

- Jones, D.L., Murphy, D.V., Khalid, M., Ahmad, W., Edwards-Jones, G., DeLuca, T.H., 2011.** Short-term biochar-induced increase in soil CO₂ release is both biotically and abiotically mediated. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1723-1731.
- Kalderis, D., Kott, M., Méndez, A., Gascó, G., 2014.** Characterization of hydrochars produced by hydrothermal carbonization of rice husk. *Solid Earth* 5, 477-483.
- Kim, H., Kim, K., Kim, H., Yoon, J., Yang, J., Ok, Y., Owens, G., Kim, K., 2015.** Effect of biochar on heavy metal immobilization and uptake by lettuce (*Lactuca sativa* L.) in agricultural soil. *Environmental Earth Sciences* 74, 1249-1259.
- Kim, K., Kim, J., Cho, T., Choi, J., 2012.** Influence of pyrolysis temperature on physicochemical properties of biochar obtained from the fast pyrolysis of pitch pine (*Pinus rigida*). *Bioresource Technology* 118, 158-162.
- Kloss, S., Zehetner, F., Oburger, E., Buecker, J., Kitzler, B., Wenzel, W., Wimmer, B., Soja, G., 2014.** Trace element concentrations in leachates and mustard plant tissue (*Sinapis alba* L.) after biochar application to temperate soil. *Science of the Total Environment* 481, 498-508.
- Kong, L., Liu, W., Zhou, Q., 2013.** Biochar: An Effective Amendment for Remediating Contaminated Soil. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 228, 83-99.
- Kuiters, A.T., Sarink, H.M., 1986.** Leaching of phenolic compounds from leaf and needle litter of several deciduous and coniferous trees. *Soil Biology and Biochemistry* 18, 475-480.
- Kung, C., McCarl, B., Cao, X., 2013.** Economics of pyrolysis-based energy production and biochar utilization: A case study in Taiwan. *Energy Policy* 60, 317-323.
- Lehmann, J., 2007.** A handful of carbon. *Nature* 447, 143-144.
- Lehmann, J., Joseph, S., (eds), 2009.** Biochar for environmental management: science and technology. Earthscan, London, pp 1-29, 85-102, 227-243.
- Leonel, S., Tecchio, M., 2009.** Cattle manure fertilization increases fig yield. *Scientia Agricola* 66, 806-81.
- Liang, C.F., Zhu, X., Fu, S., Méndez, A., Gascó, G., Paz-Ferreiro, J., 2014.** Biochar alters the resistance and resilience to drought in a tropical soil. *Environmental Research Letters* 9 (6).

- Lin, Y., Munroe, P., Josep, S., Kimber, S., Van Zwieten, L., 2012.** Nanoscale organo-mineral reactions of biochars in ferrosol: an investigation using microscopy. *Plant Soil* 357, 369-380.
- Liu, J., Schulz, H., Brandl, S., Miehtke, H., Huwe, B., Glaser, B., 2012.** Short-term effect of biochar and compost on soil fertility and water status of a Dystric Cambisol in NE Germany under field conditions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 000, 1-10.
- Liu, X., Zhang, A., Ji, C., Joseph, S., Bian, R., Li, L., Pan, G., Paz-Ferreiro, J., 2013.** Biochar's effect on crop productivity and the dependence on experimental conditions a meta-analysis of literature data. *Plant Soil* 373, 583-594.
- Lomas, J., Urbano, C., Merino, J., Camarero, L., 2001.** Valorización de la biomasa en el País Vasco. Departamento de Ingeniería Química y del Medio Ambiente, Universidad del País Vasco. pp. 25-27.
- Lu, H., Li, Z., Fu, S., Méndez, A., Gascó, G., Paz-Ferreiro, J., 2014a.** Can biochar and phytoextractors be jointly used for cadmium remediation?. *PLoS ONE* 9(4): e95218. doi:10.1371/journal.pone.0095218.
- Lu, H., Li, Z., Fu, S., Méndez, A., Gascó, G., Paz-Ferreiro, J., 2015.** Combining phytoextraction and biochar addition improves soil biochemical properties in a soil contaminated with Cd. *Chemosphere* 119, 209-216.
- Lu, W., Ding, W., Zhang, J., Li, Y., Luo, J., Bolan, N., Xie, Z., 2014b.** Biochar suppressed the decomposition of organic carbon in a cultivated sandy loam soil: A negative priming effect. *Soil Biology & Biochemistry* 76, 12-21.
- Macías, F., Camps, M., 2010.** Soil carbon sequestration in a changing global environment. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* 15, 511-529.
- Mackie, K.A., Marhan, S., Ditterich, F., Schmidt, H.P., Kandeler, E., 2015.** The effects of biochar and compost amendments on copper immobilization and soil microorganisms in a temperate vineyard. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 201, 58-69.
- María, T., Muñoz, S., Zúñiga, R., 2009.** Valorización Agrícola de Purines Porcinos Procesados con Aserrín de Pino. *Información Tecnológica* 20, 85-92.

- Martín-Lara, M.A., Hernáinz, F., Calero, M., Blazquez, G., Tenorio, G., 2009.** Surface chemistry evaluation of some solid wastes from olive-oil industry used for lead removal from aqueous solutions. *Biochemical Engineering Journal* 44, 151–159.
- McHenry, M., 2009.** Agricultural bio-char production, renewable energy generation and farm carbon sequestration in Western Australia: Certainty, uncertainty and risk. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 129, 1-7.
- Méndez, A., Gómez, A., Paz-Ferreiro, J., Gascó, G., 2012.** Effects of sewage sludge biochar on plant metal availability after application to mediterranean soil. *Chemosphere* 89, 1354-1359.
- Méndez, A., Tarquis, A.M., Saa-Requejo, A., Guerrero, F., Gascó, G., 2013.** Influence of pyrolysis temperature on composted sewage sludge biochar priming effect in a loamy soil. *Chemosphere* 93, 668-676.
- Meng, J., Wang, L., Liu, X., Wu, J., Brookes, P., Xu, J., 2013.** Physicochemical properties of biochar produced from aerobically composted swine manure and its potential use as an environmental amendment. *Bioresource Technology* 142, 641-646.
- Meszáros, E., Jakab, E., Várhegyi, G., Bourke, J., Manley-Harris, M., Nunoura, T., Antal, M., 2007.** Do all carbonized charcoals have the same chemical structure? Implications of thermogravimetry-mass spectrometry measurements. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 46, 5943-5953.
- Milla, O., Huang, W., 2013.** Identifying the Advantages of Using Municipal Solid Waste Bottom Ash in Combination with Rice Husk and Bamboo Biochar Mixtures as Soil Modifiers: Enhancement of the Release of Polyphenols from a Carbon Matrix. *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste* 17, 204-210.
- Mitchell, P.J., Dalley, T.S.L., Helleur, R.J., 2013.** Preliminary laboratory production and characterization of biochars from lignocellulosic municipal waste. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 99, 71-78.
- Mosley, L., Willson, P., Hamilton, B., Butler, G., Seaman, R., 2015.** The capacity of biochar made from common reeds to neutralise pH and remove dissolved metals in acid drainage. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 15113-15122.

- Mustin, M., 1987.** Le compost - gestion de la matière organique. Editions François Dubusc ed. Paris.
- Nelissen, V., Saha, B., Ruyschaert, G., Boeckx, P., 2014.** Effect of different biochar and fertilizer types on N₂O and NO emissions. *Soil Biology & Biochemistry* 70, 244-255.
- Nelson, D., Sommers, L., 1996.** Total carbon, organic carbon and organic matter. In: *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical Methods.* Madison, Wisconsin: J.M. Bigham, pp. 961-1010.
- Novak, J.M., Busscher, W.J., Watts, D.W., Laird, D.A., Ahmedna, M.A., Niandou, M.A.S., 2010.** Short-term CO₂ mineralization after additions of biochar and switchgrass to a Typic Kandudult. *Geoderma* 154, 281-288.
- Ojeda, G., Mattana, S., Àvila, A., Alcañiz, J., Volkmann, M., Bachmann, J., 2015.** Are soil-water functions affected by biochar application?. *Geoderma* 249 (250), 1-11.
- Oleszczuk, P., Joško, I., Futa, B., Pasieczna-Patkowska, S., 2014.** Effect of pesticides on microorganisms, enzymatic activity and plant in biochar-amended soil. *Geoderma* 214, 10-18.
- Oleszczuk, P., Joško, I., Kuśmierz, M., 2013.** Biochar properties regarding to contaminants content and ecotoxicological assessment. *Journal of hazardous materials* 260, 375-382.
- Oleszczuk, P., Rycaj, M., Lehmann, J., Cornelissen, G., 2012.** Influence of activated carbon and biochar on phytotoxicity of air-dried sewage sludges to *Lepidium sativum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80, 321-326.
- Omar, R., Robinson, J., 2014.** Conventional and microwave-assisted pyrolysis of rapeseed oil for bio-fuel production. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 105, 131-142.
- Otero, M., Calvo, L.F., Estrada, B., Garcia, A.I., Moran, A., 2002.** Thermogravimetry as a technique for establishing the stabilization progress of sludge from wastewater treatment plants. *Thermochimica Acta* 389, 121-132.
- Parikh, J., Channiwala, S., Ghosal, G., 2005.** A correlation for calculating HHV from proximate analysis of solid fuels. *Fuel* 84, 487-494.
- Park, Y.K., Yoo, M., Lee, H., Park, S., Jung, S.C., Park, S.S., Kim, S.C., 2012.** Effects of operations conditions on pyrolysis characteristics of agricultural residues. *Renewable Energy* 42, 125-130.

- Paz-Ferreiro, J., Gascó, G., Gutierrez, B., Méndez, A., 2012.** Soil biochemical activities and the geometric mean of enzyme activities after application of sewage sludge and sewage sludge biochar to soil. *Biology and Fertility of Soils* 48, 511–517.
- Paz-Ferreiro, J., Shenglei, F., Méndez, A., Gascó, G., 2014.** Interactive effects of biochar and the earthworm *Pontoscolex corethrurus* on plant productivity and soil enzyme activities. *Journal of soils and sediments* 14, 483-494.
- Paz-Ferreiro, J., Trasar-Cepeda, C., Leirós, MC., Seoane, S., Gil-Sotres, F., 2009.** Biochemical properties in managed grassland soils in a temperate humid zone: modifications of soil quality as a consequence of intensive grassland use. *Biology and Fertility of Soils* 45, 711-722.
- Peng, X., Ye, L.L., Wang, C.H., Zhou, H., Sun, B., 2011.** Temperature- and duration-dependent rice straw-derived biochar: Characteristics and its effects on soil properties of an Ultisol in southern China. *Soil & Tillage Research* 112, 159-166.
- Plante, A., Fernández, J., Leifeld, J., 2009.** Application of thermal analysis techniques in soil science. *Geoderma* 153, 1-10.
- Pratt, K., Moran, D., 2010.** Evaluating the cost-effectiveness of global biochar mitigation potential. *Biomass and Bioenergy* 34, 1149-1158.
- Qiao, Y., Crowley, D., Wang, K., Zhang, H., Li, H., 2015.** Effects of biochar and Arbuscular mycorrhizae on bioavailability of potentially toxic elements in an aged contaminated soil. *Environmental Pollution* 206, 636-643.
- Qiu, M., Sun, K., Jin, J., Han, L., Sun, H., Zhao, Y., Xia, X., Wu, F., Xing, B., 2015.** Metal/metalloid elements and polycyclic aromatic hydrocarbon in various biochars: The effect of feedstock, temperature, minerals, and properties. *Environmental Pollution* 206, 298-305.
- Quilliam, R., Marsden, K., Gertler, C., Rousk, J., DeLuca, T., 2012.** Nutrient dynamics, microbial growth and weed emergence in biochar amended soil are influenced by time since application and reapplication rate. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 158, 192-199.
- Ragovska, N., Laird, D., Cruse, R.M., Trabue, S., Heaton, E., 2012.** Germination Tests for Assessing Biochar Quality. *Journal of Environmental Quality* 41, 1-9.

- Raj, T., Kapoor, M., Gaur, R., Christopher, J., Lamba, B., Tuli, D., Kumar, R., 2015.** Physical and chemical characterization of various Indian agriculture residues for biofuels production. *Energy & Fuels* 29, 3111-3118.
- Rhoades, J., 1996.** Salinity. Electrical conductivity and total dissolved solids, *Chemical Methods*. In: *Methods of soil analysis. Part 3*. Madison, United States of America: SSSA.
- Richards, L., 1954.** Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils. In: *Handbook 60*. Washington, USA: USDA.
- Rodríguez-Serrano, M., Martínez-de la Casa, N., Romero-Puertas, M.C., Del Río, L.A., Sandalio, L.M., 2008.** Toxicidad del cadmio en plantas. *Revista Ecosistemas* 17, 139-146.
- Rodríguez-Vila, A., Asensio, V., Forján, R., Covelo, E., 2015.** Chemical fractionation of Cu, Ni, Pb and Zn in a mine soil amended with compost and biochar and vegetated with *Brassica juncea* L. *Journal of Geochemical Exploration* 158, 74-81.
- San Miguel, G., Domínguez, M.P., Hernández, M., Sanz-Pérez, F., 2012.** Characterization and potential applications of solid particles produced at a biomass gasification plant. *Biomass & Bioenergy* 47, 134-144.
- Schimmelpfennig, S., Glaser, B., 2012.** One Step Forward toward Characterization: Some Important Material Properties to Distinguish Biochars. *Journal of Environmental Quality* 41 (4), 1001-13.
- Scholz, S., Sembres, T., Roberts, K., Whitman, T., Wilson, K., Lehmann, J., 2014.** Biochar systems for smallholders in developing countries. *The world bank*. Washington. pp. 115-128.
- Serra-Wittling, C., Houot, S., Barriuso, E., 1996.** Modification of soil water retention and biological properties by municipal solid waste compost. *Compost Science & Utilization* 4, 44-52.
- Shabangu, S., Woolf, D., Ficher, E., Angenent, L., Lehmann, J., 2014.** Techno-economic assessment of biomass slow pyrolysis into different biochar and methanol concepts. *Fuel* 117, 742-748.
- Shackley, S., Carter, S., Knowles, T., Middelink, E., Haefele, S., Sohi, S., Cross, A., Haszeldine, S., 2011.** Sustainable gasification-biochar systems? A case-study of rice-husk

gasification in Cambodia, Part I: Context, chemical properties, environmental and health and safety issues. *Energy Policy* 42, 49-58.

Sharara, M., Sadaka, S., 2014. Thermogravimetric Analysis of Swine Manure Solids Obtained from Farrowing, and Growing-Finishing Farms. *Journal of Sustainable Bioenergy Systems* 4, 75-86.

Shen, J., Cui, Z., Miao, Y., Mi, G., Zhang, H., Fan, M., Zhang, C., Jiang, R., Zhang, W., Li, H., Chen, X., Li, X., Zhang, F., 2013. Transforming agriculture in China: From solely high yield to both high yield and high resource use efficiency. *Global Food Security* 2, 1-8.

Sizmur, T., Palumbo-Roe, B., Watts, M.J., Hodson, M., 2011. Impact of the earthworm *Lumbricus terrestris* (L.) on As, Cu, Pb and Zn mobility and speciation in contaminated soils. *Environmental Pollution* 159, 742–748.

Smider, B., Singh, B., 2014. Agronomic performance of a high ash biochar in two contrasting soils. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 191, 99-107.

Smidt, E., Lechner, P., 2005. Study on the degradation and stabilization of organic matter in waste by means of thermal analysis. *Thermochimica Acta* 438, 22-28.

Smith, J., Collins, H., Bailey, V., 2010. The effect of young biochar on soil respiration. *Soil Biology & Biochemistry* 42, 2345-2347.

Smith, M.J., Flowers, T.H., Duncan, H.J., Alder, J., 2006. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on germination and subsequent growth of grasses and legumes in freshly contaminated soil and soil with aged PAHs residues. *Environmental Pollution* 141, 519-525.

Sohi, S., Lopez-Capel, E., Krull, E., Bol, R., 2009. Biochar, climate change and soil: A review to guide future research. CSIRO Land and Water Science Report series. ISSN: 1834-6618.

Song, W., Guo, M., 2012. Quality variations of poultry litter biochar generated at different pyrolysis temperatures. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 94, 138-145.

Sposito, G., 1989. The chemistry of soils. New York: Oxford University Press.

Sreekanth, T.V.M., Nagajyothi, P.C., Lee, K.D., Prasad, T.N.V.K.V. 2013. Occurrence, physiological responses and toxicity of nickel in plants. *International Journal of Environmental Science and Technology* 10, 1129-1140.

- Sumner, M. & Miller, W., 1996.** Cation exchange capacity and exchange coefficients. In: Methods of soil analysis. Part 3. Chemical Methods. Madison: J.M Bigham, pp. 1201-1229.
- Thies, J., Rillig, M., 2009.** Characteristics of biochar: biological properties. In: Biochar for Environmental Management: Science and Technology. London: Earthscan.
- Thomas, G., 1996.** Soil pH and soil acidity, Chemical Methods. In: Methods of soil analysis. Part 3. Madison, United States of America: SSSA.
- Troy, S., Nolan, T., Leahy, J., Lawlor, P., Healy, M., Kwapinski, W., 2013a.** Effect of sawdust addition and composting of feedstock on renewable energy and biochar production from pyrolysis of anaerobically digested pig manure. *Biomass and Bioenergy* 49, 1-9.
- Troy, S., Lawlor, P., O' Flynn, C., Healy, M., 2013b.** Impact of biochar addition to soil on greenhouse gas emissions following pig manure application. *Soil Biology & Biochemistry* 60, 173-181.
- Tsai, W., Liu, S., Chen, H., Chang, Y., Tsai, Y., 2012.** Textural and chemical properties of swine-manure-derived biochar pertinent to its potential use as a soil amendment. *Chemosphere* 89, 198-203.
- UC Davis Biochar Database 2015.** Department of land, air and water resources. University of California, Davis. [En línea] Disponible en: <http://biochar.ucdavis.edu>. [Último acceso: 20/03/2015].
- Udikovic-Kolic, N., Wichmann, F., Broderick, N., Handelsman, J., 2014.** Bloom of resident antibiotic-resistant bacteria in soil following manure fertilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. DOI: 10.1073/pnas.1409836111.
- Ure, A., Davidson, C., Thomas, R., 1965.** Single and sequential extraction schemes for trace metal speciation in soil and sediment. In: *Quality Assurance for Environmental Analysis*. Elsevier Science B.V., pp. 505-523.
- USDA, 1999.** Soil Quality Test Kit Guide, Washington, USA: USDA.
- USEPA, 1997.** Method 3051a: Microwave assisted acid dissolution of sediments, slugs, soils and oils. Washington, United States of America.

- Van Zwieten, L., Kimber, S., Morris, S., Chan, K.Y., Downie, A., Rust, J., Joseph, S., Cowie, A., 2010.** Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility. *Plant Soil* 327, 235-246.
- Wang, J., Xiong, Z., Kuzyakov, Y., 2015c.** Biochar stability in soil: meta-analysis of decomposition and priming effects. *Global Change Biology Bioenergy* 8, 512-523.
- Wang, S., Gao, B., Zimmerman, A., Li, Y., Ma, L., Harris, W., Migliaccio, K., 2015b.** Physicochemical and sorptive properties of biochars derived from woody and herbaceous biomass. *Chemosphere* 134, 257-262.
- Wang, T., Camps Arbestain, M., Hedley, M., Bishop, P., 2012.** Chemical and bioassay characterisation of nitrogen availability in biochar produced from dairy manure and biosolids. *Organic Geochemistry* 51, 45-54.
- Wang, X., Zhou, W., Liang, G., Song, D., Zhang, X., 2015a.** Characteristics of maize biochar with different pyrolysis temperatures and its effects on organic carbon, nitrogen and enzymatic activities after addition to fluvo-aquic soil. *Science of the Total Environment* 538, 137-144.
- Watanabe, F., Olsen, S., 1965.** Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO_3 extracts from soils. *Soil Science Society of America Journal* 29, 677-678.
- Wei, L., Xu, G., Shao, H., Sun, J., Chang, S., 2012.** Regulating Environmental Factors of Nutrients Release from Wheat Straw Biochar for Sustainable Agriculture. *Clean Soil, Air, Water* 41 (7), 697-701.
- Whitman, T., Lehmann, J., 2009.** Biochar-One way forward for soil carbon in offset mechanisms in Africa?. *Environmental Science & Policy* 12, 1024-1027.
- Wilson, K., 2014.** How Biochar Works in Soil. *The Biochar Journal* 32, 25-33.
- Windeatt, J., Ross, A., Williams, P., Forster, P., Nahil, M., Singh, S., 2014.** Characteristics of biochars from crop residues: Potential for carbon sequestration and soil amendment. *Journal of Environmental Management* 146, 189-197.

- Wnetrzak, R., Kwapinski, W., Peters, K., Sommer, S.G., Jensen, L.S., Leahy, J.J., 2013.** The influence of the pig manure separation system on the energy production potentials. *Bioresource Technology* 136, 502-508.
- Woolf, D., Amonette, J., Street-Perrott, A., Lehmann, J., Joseph, S., 2010.** Sustainable biochar to mitigate global climate change. *Nature Communications* 1:56 DOI: 10.1038/ncomms1053.
- Wu, L., Zhang, X., Liu, D., Peng, H., Long, T., 2014.** Activated Carbons Derived from Livestock Sewage Sludge and Their Absorption Ability for the Livestock Sewage. *IERI Procedia* 9, 33-42.
- Yargicoglu, E., Sadasivam, B., Reddy, K., Spokas, K., 2015.** Physical and chemical characterization of waste wood derived biochars. *Waste Management* 36, 256-268.
- Yoder, J., Galinato, S., Granatstein, D., Garcia-Pérez, M., 2011.** Economic tradeoff between biochar and bio-oil production via pyrolysis. *Biomass and Bioenergy* 35, 1851-1862.
- Yu, X., Ying, G., Kookana, R., 2009.** Reduced plant uptake of pesticides with biochar additions to soil. *Chemosphere* 76, 665-671.
- Zavalloni, C., Alberti, G., Biasiol, S., Vedove, G., Fornasier, F., Liu, J., Peressotti, A., 2011.** Microbial mineralization of biochar and wheat straw mixture in soil: a short-term study. *Applied Soil Ecology* 50, 45–51.
- Zeng, G., Wu, H., Liang, J., Guo, S., Huang, L., Xu, P., Liu, Y., Yuan, Y., He, X., He, Y., 2015.** Efficiency of biochar and compost (or composting) combined amendments for reducing Cd, Cu, Zn and Pb bioavailability, mobility and ecological risk in wetland soil. *Royal Society of Chemistry* 5, 34541-24548.
- Zhang, A., Cui, L., Pan, G., Li, L., Hussain, Q., Zhang, X., Zheng, J., Crowley, D., 2010.** Effect of biochar amendment on yield and methane and nitrous oxide emissions from a rice paddy from Tai Lake plain, China. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 139, 469-475.
- Zhao, L., Cao, X., Masek, O., Zimmerman, A., 2013.** Heterogeneity of biochar properties as a function of feedstock sources and production temperatures. *Journal of Hazardous Materials* 256-257, 1-9.

- Zimmerman, A., Gao, B., Ahn, M., 2011.** Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar amended soils. *Soil Biology Biochemistry* 43, 1169-1179.
- Zornoza, R., Moreno-Barriga, F., Acosta, J.A., Muñoz, M.A., Faz, A., 2015.** Stability, nutrient availability and hydrophobicity of biochars derived from manure, crop residues, and municipal solid waste for their use as soil amendments. *Chemosphere* 144, 122-130.
- Zucconi, F., Mónaco, A., Forte, M., De Bertoldi, M., 1981.** Evaluating toxicity of immature compost. *Biocycle* 22, 54-57.

ANEXOS

9 ANEXOS: PUBLICACIONES

9.1 Artículos publicados en revistas con índice de impacto

G. Gascó, J. Paz-Ferreiro, P. Cely, C. Plaza and A. Méndez, 2016. Influence of pig manure and its biochar on soil CO₂ emissions and soil enzymes. Ecological Engineering. Aceptado. DOI 10.1016/j.ecoleng.2016.06.039

G. Gascó, P. Cely, J. Paz-Ferreiro, C. Plaza and A. Méndez, 2016. Relation between biochar properties and effects on seed germination and plant development. Biological Agriculture & Horticulture, <http://dx.doi.org/10.1080/01448765.2016.1166348>

P. Cely, G. Gascó, J. Paz-Ferreiro and A. Méndez, 2015. Agronomic properties of biochars from different manure wastes. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis 111, 173-182.

P. Cely, A.M. Tarquis, J. Paz-Ferreiro, A. Méndez y G. Gascó, 2014. Factors driving carbon mineralization priming effect in a soil amended with different types of biochar. Solid Earth 5, 585-594.

9.2 Artículos en preparación

Parte de los resultados obtenidos en esta tesis doctoral están siendo usados para la realización de un quinto artículo el cual podría titularse: *Potential use of carbonaceous residues from gasification plant as biochar organic amendment*.

9.3 Congresos

Méndez A, Cely P, Plaza C, Paz-Ferreiro J, Gascó G. (2015). *Prediction of the biochar carbon stability by thermal analysis*. Geophysical Research Abstracts. Vol. 17, EGU2015-3850. European Geosciences Union General Assembly 2015, Vienna.

Cely P, Méndez A, Rodríguez F, García S, Paz-Ferreiro J, Gascó G. (2015). *Viability of the biochar production from different manure wastes in the Ambles Valley (Avila, Spain)*, Geophysical Research Abstracts. Vol. 17, EGU2015-3796. European Geosciences Union General Assembly 2015, Vienna.

Cely P, Méndez A, Paz-Ferreiro J, Gascó Gabriel. (2015). *Plant development effects of biochars from different raw materials*, Geophysical Research Abstracts. Vol. 17, EGU2015-3774. European Geosciences Union General Assembly 2015, Vienna.

Gascó G, Cely P, Tarquis A, Paz-Ferreiro J, Saa-Requejo A, Mendez A. (2014). *Effects of biochar prepared from organic waste on soil properties*, Geophysical research abstracts. Vol. 16, EGU2014 – 12491. European Geosciences Union General Assembly 2014, Vienna.

Méndez A, Cely P, Gascó G. (2014). *Thermal analysis of soil treated with biochars from different raw materials*, Geophysical research abstracts. Vol.16, EGU2014 – 17012. European Geosciences Union General Assembly 2014, Vienna.

Gascó G, Cely P, Saa-Requejo A, Mendez A, Antón J, Sánchez E, Moratíel R, Tarquis A. (2014). *Design of a soil science practical exercise to understand the soil carbon sequestration after biochar addition*, Geophysical research abstracts. Vol.16, EGU2014 – 16796. European Geosciences Union General Assembly 2014, Vienna.

Rubio A, Cely P, Gascó G, Méndez A. (2013). *Estudio de la fijación de carbono en suelos mediante la adición de diferentes tipos de biochars*, XII reunión grupo español de carbón, Madrid.