



## ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

### STABILIZED PRODUCTION OF HUMAN FECES FOR USE AS AN AGRICULTURAL AMENDMENT

### PRODUCCION DE UN ESTABILIZADO A PARTIR DE HECES HUMANAS PARA SU USO COMO ENMIENDA AGRÍCOLA

Elías Mindreau Ganoza<sup>1,2</sup>; Juan Juscamaita Morales<sup>1</sup>; Marta Williams León de Castro<sup>3</sup> & Guillermo Aguirre Yato<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología Animal y Bioremediación. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Agraria La Molina. Av. La Molina s/n, Lima 12, Perú. 349-5647.

<sup>2</sup>eliasmin@gmail.com

<sup>3</sup>Profesora Principal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Agraria La Molina. <sup>4</sup>Departamento Académico de Suelos. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Agraria La Molina.

The Biologist (Lima), 14(2), jul-dec: 287-295.

#### ABSTRACT

The agronomical parameters of stabilized “T9” (Mindreau, 2016) human fecal waste treated with lactic acid bacteria (LAB) from a solution called “Biolac”, and enriched with molasses, were evaluated. A phytotoxic assay was performed in triplicate and followed by a lettuce seed protocol in order to assess the salinity level which would allow tentative use in the field as a low cost strategy for recovering green areas.

**Keywords:** Agricultural amendment – “Biolac” – human feces – lactic acid bacteria (LAB) – phytotoxicity – recovery of green areas – stabilization

#### RESUMEN

Se evaluaron los parámetros de interés agronómico de un estabilizado “T9” (Mindreau, 2016) de residuos con excretas humanas tratadas con bacterias ácido lácticas (BAL) de una solución denominada “Biolac” y enriquecida con melaza. Se realizó un ensayo de fito-toxicidad por triplicado y siguiendo un protocolo con semillas de lechuga para comprobar el nivel de salinidad para su uso tentativo en el campo como una estrategia de bajo costo para recuperar áreas verdes.

**Palabras clave:** Bacteria ácido láctica (BAL) – “Biolac” – enmienda agrícola – estabilización – excretas humanas – fitotoxicidad – recuperación de áreas verdes

#### INTRODUCCIÓN

Un ser humano saludable produce cada día excretas que poseen los elementos químicos que se necesitan para su uso como fertilizante de plantas, las cuales podrían producir

alimento, forraje, leña, fibras naturales, hierbas medicinales, vegetación ornamental, brindar madera y sombra (Heinomen-Tanski & Van Wijk-Sijbesma 2005).

Según Wolgast (1993), citado por Malkki (1999), la cantidad anual de excreta de una persona corresponde a la cantidad de

fertilizante requerido para producir 250 kg de cereal que a su vez es la cantidad de cereal que una persona necesita consumir al año.

Según se ha registrado una persona produce 41-93 g de heces por día (sólidos secos totales) y 0,6-1,2 L de orina por día (Schouw *et al.* 2002). Cantidades combinadas de orina y heces producidas por una persona por día se han registrado en ser más o menos constantes alrededor del mundo pero su composición de nutrientes varía dependiendo de sus dietas (Schouw *et al.* 2002). En Dinamarca 12-19 g N, 1,8-3,7 g P y 0,2-0,3 g K son excretados por persona por día, mientras que en el sur de Tailandia 5,5-10,5 g N, 1,07-1,95 g P y 1,41-3,65 g K son excretados por persona por día.

Las heces humanas son bajas en N pero tienen un relativamente alto contenido de P disponible (Mnkeni & Austin 2008); mientras que es a la inversa con el caso de la orina. Las cantidades de nutrientes hallados en la orina y en las heces varía de persona a persona y de región en región dependiendo del contenido nutricional del alimento que se consume (Vinneräs & Jönsson 2002). La orina tiene una cantidad elevada de nitrógeno, fósforo y potasio disponible, y su efecto fertilizante ha sido reportado como similar a aquellos fertilizantes químicos ricos en nitrógeno. Por otro lado, las heces tienen alto contenido en fósforo y potasio en su forma iónica pero el nitrógeno es sólo liberado lentamente ya que está enlazado orgánicamente en los restos de comida no digeridos (Kirchmann & Petterson 1995). Ambos materiales de desecho, sin embargo, tienen un gran potencial para desarrollar la fertilidad de suelos empobrecidos, y también su efecto combinado ha sido estudiado, por ejemplo, en espinaca (Kuttu *et al.* 2010).

Estudios comparativos de la composición de la excreta humana también se han hecho, utilizando por ejemplo excretas de cabra (Mnkeni & Austin 2008), donde se ve que los

valores de conductividad eléctrica (CE) son bajos, sugiriendo que al aplicarse éstas al suelo como fertilizante no causarían problemas de salinidad. El pH de ambas excretas es relativamente alcalino por lo que su aplicación a suelos ácidos podría tener un efecto de enmienda.

El presente estudio evaluó el tratamiento de las heces humanas por medio de la fermentación ácido láctica para poder producir un estabilizado respecto al pH con capacidad de ser aprovechado como enmienda agrícola. A la excreta humana se la inoculó con un consorcio bacteriano denominado "Biolac", enriquecido con melaza como suplemento energético, el cual resultó efectivo gracias a su contenido de *Lactobacillus* sp., entre otras cepas presentes en el consorcio microbiano. Este proceso se perfila como un tratamiento optimizado para generar un estabilizado capaz de ser irrigado en áreas que puedan ser recuperadas como zonas de reforestación y paisajismo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Análisis de interés agronómico

Se analizó una muestra de excreta (día 0) y una muestra del estabilizado T9 (Biolac: 2,5%, Melaza: 10%, Excreta pre-tratada: 87,5%) por triplicado por medio del Laboratorio de Análisis Agua, Suelo y Medio Ambiente (LAASMA) del Departamento de Recursos Hídricos (DRH) de la Facultad de Ingeniería Agrícola de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), para obtener los análisis de composición nutricional y fisicoquímica. Para el estabilizado se evaluó el pH, conductividad eléctrica, sólidos totales, materia orgánica en solución, concentración de Nitrógeno total, Fósforo total, Potasio total, Calcio, Magnesio, Sodio, Hierro, Cobre, Zinc, Manganeso y Boro según sus metodologías respectivas mostradas en la Tabla 1, como las han detallado Chapman & Pratt (1973).

**Tabla 1.** Metodologías empleadas para la medición de los macro y micro nutrientes presentes en las muestras.

Analito	Metodología
pH	Potenciometría. Determinación en pasta saturada.
CE (dS/m)	Medición indirecta del contenido de sales solubles en el extracto acuoso obtenido de la pasta saturada.
MO (%)	Determinación del carbono orgánico por el método de Walkley y Black o del Dicromato de potasio, mediante el cual se estima la materia orgánica así: % Corg. X 1.724 = % Materia orgánica.
N (%)	Método de Kjeldahl
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	Método del azul de molibdeno. Método alternativo: Amarillo del Vanadato Molibdato.
K <sub>2</sub> O (%)	Espectrofotometría de absorción atómica.
CaO (%)	Espectrofotometría de absorción atómica.
MgO (%)	Espectrofotometría de absorción atómica.
Hd (%)	Diferencia de peso, gravimetría.
Na (%)	Espectrofotometría de absorción atómica.
Fe (ppm)	Espectrofotometría de absorción atómica.
Cu (ppm)	Espectrofotometría de absorción atómica.
Zn (ppm)	Espectrofotometría de absorción atómica.
Mn (ppm)	Espectrofotometría de absorción atómica.
B (ppm)	Método colorimétrico empleando la curcumina disuelta en ácido acético glacial.

### Prueba del efecto del producto de la excreta estabilizada en semillas de lechuga

Se procedió a realizar el ensayo del efecto del estabilizado seleccionado en semillas de "lechuga" *Lactuca sativa L.* var. *Butterhead*. Para ello se consideró una planta que sea un cultivo sensible a la concentración de sales y de rápida germinación.

Las condiciones que se usaron para evaluar el efecto del estabilizado fueron las recomendadas para las pruebas de toxicidad con *L. sativa* (Sobrero & Ronco 2004) en la germinación, crecimiento y desarrollo de las plántulas de lechuga en sus primeros estadios, estas fueron:

- Temperatura, 22 ± 2°C
- Calidad de luz, en oscuridad
- Tiempo de duración, 120 h
- Efecto medido: Inhibición en elongación de la radícula e hipocótilo
- Inhibición en la germinación
- Aceptabilidad de los resultados:

germinación > 90 %

- Índice de germinación

Se usaron en total 480 semillas de lechuga *L. sativa*, las cuales fueron distribuidas en 24 placas Petri o unidades experimentales (UE) con 20 semillas cada una, y tres repeticiones por tratamiento. Los tratamientos ensayados tuvieron diferentes dosis de estabilizado diluidas en agua de pozo del Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral de la UNALM, mientras que al control positivo se le aplicó solamente agua de pozo (sin el producto estabilizado). Al agua de pozo (Control) así como a cada una de estas diluciones se les evaluó el pH y la conductividad eléctrica respectivamente con una medición directa por medio de un pHmetro HANNA HI 98128 y de un conductímetro WTW 3210.

Los tratamientos fueron:

T1: Tratamiento Control (Agua de pozo)

T2: Dilución del estabilizado seleccionado al 0,1/100

T3: Dilución del estabilizado seleccionado al 1/100  
 T4: Dilución del estabilizado seleccionado al 5/100  
 T5: Dilución del estabilizado seleccionado al 7,5/100  
 T6: Dilución del estabilizado seleccionado al 8,8/100  
 T7: Dilución del estabilizado seleccionado al 10/100  
 T8: Dilución del estabilizado seleccionado al 50/100

Para evaluar el efecto en la elongación de la radícula e hipocótilo se midieron dichas partes de las plántulas de lechuga utilizando una hoja de papel milimetrado, para cada una de las plántulas correspondientes a cada tratamiento y control. Así, para la medida de elongación de radícula se consideró desde el nudo (región más engrosada de transición entre la radícula y el hipocótilo) hasta el ápice radicular.

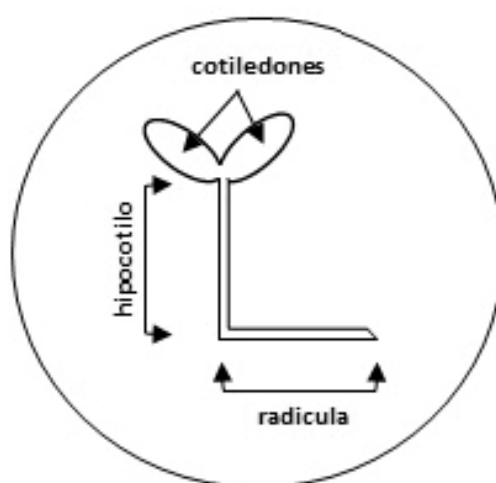


Figura 1. Esquema de una plántula de lechuga al finalizar el periodo de exposición.

### Cálculo del Índice de Germinación (IG):

Según la metodología descrita por Tiquia (2000) citado por Varnero *et al.* (2007) se calculó previamente dos índices: el porcentaje de germinación relativo (PGR) y el crecimiento de radícula relativo (CRR) de cada tratamiento teniendo al tratamiento control como testigo.

La comparación del porcentaje de germinación de 7 diferentes dosificaciones del tratamiento comparadas con el blanco control fue realizada mediante un Análisis de Varianza ( $p < 0,05$ ) para un Diseño Completamente al Azar (DCA) con tres repeticiones. Para realizar estos análisis estadísticos se utilizó el Statistical Analysis Software (SAS) versión 8.2.

$$\text{PGR} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de semillas germinadas en el extracto}}{\text{N}^\circ \text{ de semillas germinadas en el testigo}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{CRR} = \frac{\text{Elongación de radícula en el extracto}}{\text{Elongación de radícula en el testigo}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{IG} = \frac{\text{PGR} \times \text{CRR}}{100} \quad (3)$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

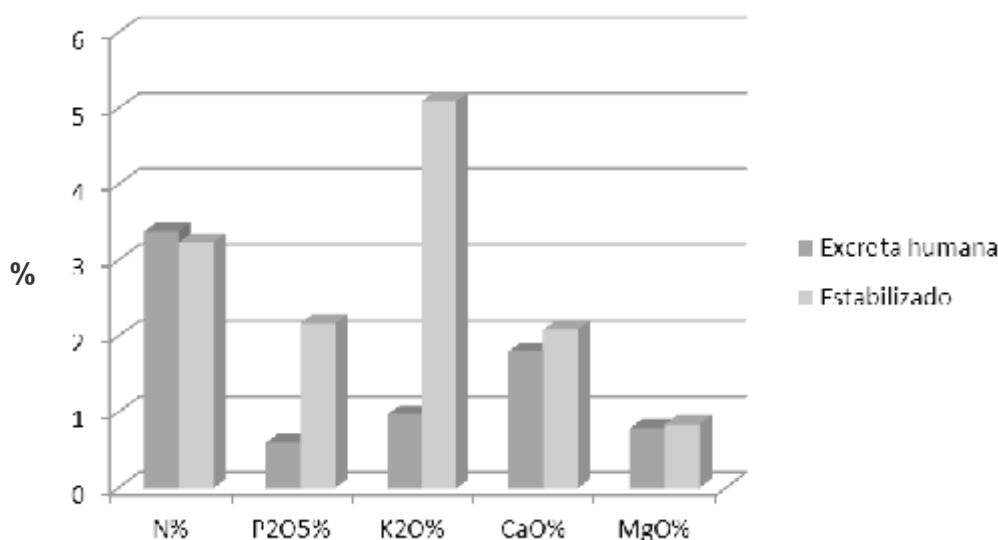
### Análisis químico de interés agronómico

En la Tabla 2 se detallan los resultados del análisis químico de la excreta humana y del estabilizado con BAL del consorcio Biolac.

**Tabla 2.** Materia orgánica en la excreta humana y en el estabilizado T9.

Variabes	Excreta	Estabilizado T9
pH	5,94	4,21
CE (dS/m)	7,81	21,5
MO%	91,42	83,47
N%	3,38	3,24
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> %	0,60	2,17
K <sub>2</sub> O%	0,97	5,10
CaO%	1,80	2,09
MgO %	0,79	0,84
Hd %	84,94	84,22
Na %	0,42	0,67
Fe ppm	295	200
Cu ppm	32	34
Zn ppm	225	165
Mn ppm	79	61
B ppm	15	24

En la figura 2 se puede apreciar el panorama atractivo que ofrece el estabilizado donde el P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O, CaO y MgO aumentan por sobre la excreta humana.

**Figura 2.** Perfil de variación para los macronutrientes en la excreta humana y en el estabilizado T9.

La concentración de N descendió ligeramente, mientras que el P y K subieron notoriamente, así como el Ca. El Mg y Na subieron ligeramente. En cuanto a los micronutrientes, el Fe, Zn y Mn bajaron de forma regular o

mínima, mientras que el Cu y el B tuvieron un valor ligeramente mayor.

Ante estos resultados se destaca la mayor presencia de P, K y Ca, debido por un lado al

contenido propio de la excreta humana de P y K (Mnkeni & Austin 2009) y adicionalmente, al enriquecimiento con melaza, que además de brindar una fuente energética para las BAL, propició un aporte en estos nutrientes, según se puede corroborar en su composición, ya detallada por Peralta (2010). Es así que el estabilizado T9 ofrece un perfil interesante como producto para el riego y la fertilización de suelos en la recuperación forestal.

### **Evaluación del efecto de la excreta humana estabilizada en la germinación de las semillas de lechuga.**

En la Tabla 3 se muestran los tratamientos dosis-respuestas preparados observándose las condiciones fisicoquímicas de pH y conductividad eléctrica (CE) según las diluciones ensayadas en condiciones de laboratorio.

**Tabla 3.** Condiciones fisicoquímicas de las diferentes concentraciones dosis-respuesta.

Diluciones	pH	Conductividad Eléctrica dS/m
Control (Agua de pozo)	7,45	0,60
0,1/100	6,77	1,06
1/100	5,08	1,99
5/100	4,22	2,66
7,5/100	4,18	3,67
8,8/100	4,16	4,29
10/100	4,15	4,66
50/100	4,08	14,87

En cuanto al pH la variación fue mínima dado que las diluciones son próximas, sobre todo en las diluciones 5/100, 7,5/100, 8,8/100, 10/100 y 50/100; en cuanto a la C.E se observa un aumento abrupto en la dilución de 50/100 y un valor menor homogéneo conforme la dosis es más diluida indicando la disminución de la concentración de sales.

Siguiendo la metodología de Tiquia (2000) citado por Varnero *et al.* (2007), los resultados en cuanto al Porcentaje de Germinación Relativo (PGR) en las concentraciones del

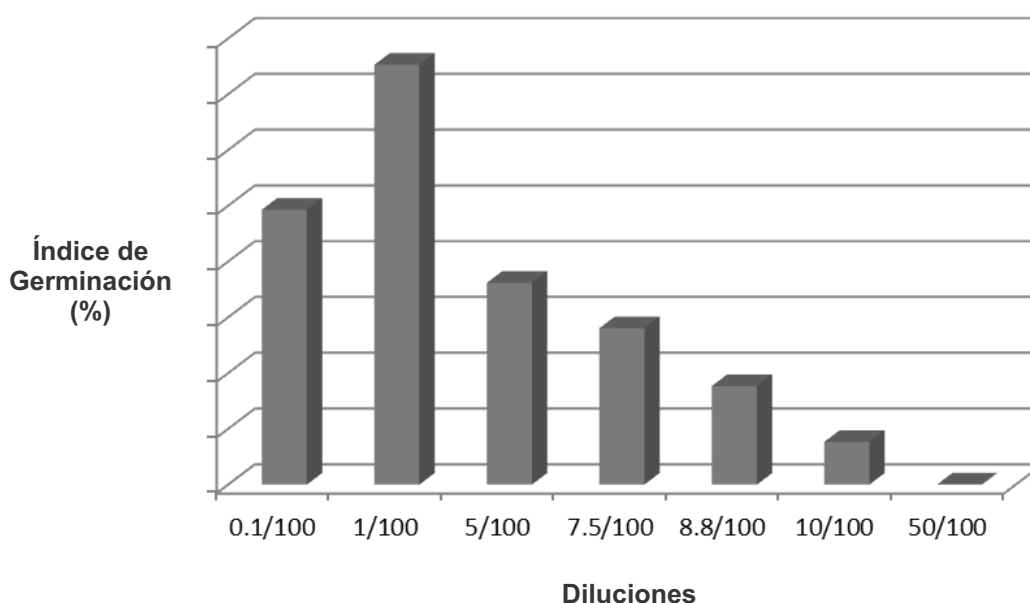
estabilizado en las diluciones de 5/100 fueron del 100%; no obstante, a las concentraciones de 5/100 si bien no impidieron la germinación de las semillas, el desarrollo de las radículas se vieron limitadas, como se muestra en el Crecimiento de Radícula Relativo (CRR) en la Tabla 4. Por el contrario, para el caso de las concentraciones 0,1/100 y 1/100 se tuvieron valores de CRR superiores al del control, lo cual resulta interesante por el mejor efecto positivo que tuvo la aplicación del estabilizado T9 como diluido para favorecer el crecimiento de la lechuga.

**Tabla 4.** Índice de germinación de semillas de lechuga.

Diluciones	N° de semillas germinadas	Porcentaje de germinación Relativo (%)	Elongación de la radícula (mm)	Crecimiento de radícula relativo	Índice de germinación (%)
Control	20		47,15±5,48 <sup>1)</sup>		
0.1/100	19,7	98,33	47,28±1,44	100,28	98,61
1/100	19,7	98,33	72,20±4,69	153,13	150,58
5/100	20	100	34,12±3,23	72,36	72,36
7,5/100	19,7	98,33	26,90±1,82	57,05	56,10
8,8/100	19,3	96,67	17,25±3,72	36,59	35,37
10/100	19	95	7,62±1,68	16,15	15,35
50/100	0	0	0	0	0

<sup>1)</sup>Media±DS

En la Figura 3 se muestra el Índice de Germinación (I.G) de las semillas de lechuga en las distintas diluciones dosis-respuesta del estabilizado a las 120 h.

**Figura 3.** Índice de Germinación (%) en semillas de lechuga bajo el efecto del estabilizado T9.

El Índice de Germinación del estabilizado T9 en la dilución de 0,1/100 fue de 98,61% y en la de 1/100 fue de 150,58%. Al respecto, Zucconi *et al.* (1981) citado por Varnero *et al.* (2007) mencionan que valores de IG  $\geq 80\%$  indicarían que no hay sustancias tóxicas o están a muy

bajas concentraciones. En el caso del estabilizado T9, más que tratarse de sustancias tóxicas sería la concentración óptima, necesaria para el normal desarrollo de las plántulas, y especialmente en la de 1/100 se estaría desarrollando un efecto positivo sobre



el estándar normal. En las diluciones 5/100 y 7,5/100 su IG fue de 72,36% y 56,10% respectivamente, estando dentro de los valores de I.G entre 50% y 80%, lo que indicaría presencia moderada de las sustancias fitotóxicas, mostrando altas concentraciones de ácido láctico por el pH ligeramente ácido, siendo un pH por debajo del indicado por Kupper *et al.* (2002) afectando con ello en la absorción de los requerimientos de las plántulas de lechuga.

Igualmente la CE fue elevándose conforme la dilución se hace menor, mostrando que el concentrado del estabilizado es rico en la presencia de sales.

El IG en las diluciones  $\geq$  de 8,8/100 del estabilizado, resultaron ser menores del 50%, lo cual indica que las concentraciones de los nutrientes, valores de pH ácidos menores a 4, así como la alta concentración de sales, impiden el normal crecimiento de las plántulas en cuanto a longitud y forma de las radículas, así como la germinación normal de las semillas de lechuga mediante la emergencia de la radícula y posterior crecimiento y desarrollo del hipocótilo en los primeros estadios de crecimiento de las plántulas de lechuga.

El estabilizado de excretas humanas tratadas con bacterias ácido lácticas (BAL) por medio de la inoculación de “Biolac” y enriquecidas con melaza tuvo una concentración mayor de P (de 0,2 % a 2,17 %), K (de 0,97 % a 5,10 %) y Ca (de 1,8 % a 2,09 %), lo cual le da un perfil interesante como producto para el riego y la fertilización de suelos. Se demostró por medio de ensayos de fitotoxicidad que la dosis óptima del estabilizado es de 1/100, la cual no genera efecto adverso en el poder germinativo ni en la germinación de las semillas de lechuga variedad tipo *Butterhead*, antes bien ejerció un Índice de Germinación (I.G) de 150,58%. Por lo tanto, puede considerarse su uso como enmienda agrícola y también su aplicación potencial en otros tipos de cultivos incluso

alimentarios como sugieren Guzha *et al.* (2005) mediante una adecuada sanitización (Fidjeland 2010, Mindreau 2016).

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Asociación Sanisol por permitir recoger muestras de sus instalaciones para los tratamientos y análisis que se llevaron a cabo y a todos sus colaboradores del área de acopio de residuos por su apoyo y buena fe para el proyecto. A Eberth Vicente Armas y a los asistentes de investigación del Laboratorio de Fisiología Animal y Bioremediación “Luis Basto Acosta” de la UNALM por el apoyo en el trabajo de laboratorio. Agradecemos también a Roberto Ramos por sus sugerencias y críticas al borrador de este trabajo en su versión de tesis de grado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chapman, H.D. & Pratt, P.F. 1973. *Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas*. Trad. del inglés por: Contin. A. Ed. Trillas. México. 195 pp.
- Fidjeland, J. 2010. *Quantitative microbial risk assessment of agricultural use of fecal matter treated with urea and ash*. Universitetet for miljø- og biovitenskap Institutt for matematiske realfag og teknologi.
- Guzha, E.; Nhapi, I. & Rockstrom, J. 2005. An assessment of the effect of human faeces and urine on maize production and water productivity. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 30: 840-845.
- Heinonen-Tanski, H. & Van Wijk-Sijbesma, C. 2005. Human excreta for plant production. *Bioresource Technology*, 96: 403-411.
- Kirchmann, H. & Pettersson, S. 1995. Human



- urine – chemical composition and fertilizer efficiency. *Fertilizer Research*, 40:149-154.
- Kupper, H.; Setlik, I., Spiller, M.; Kupper, F.C. & Prasil, O. 2002. Heavy metal induced inhibition of photosynthesis: targets of *in vivo* heavy metal chlorophyll formation. *Journal of Phycology*, 38: 429-441.
- Kuttu, F.R.; Muchaonyerwan P. & Mnkeni, P.N. 2010. Complementary nutrient effects of separately collected human faeces and urine on the yield and nutrient uptake of spinach (*Spinacia oleracea*). *Waste Management & Research*, 29: 532–539.
- Malkki, S. 1999. *Human faeces as a resource in agriculture*. TTS- Institute, Finland.
- Mindreau, E.I. 2016. *Estabilización de heces humanas provenientes de baños secos por un proceso de fermentación ácido láctica*. Tesis Biólogo. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Mnkeni, P.N.S. & Austin, L.M. 2008. *Effectiveness of human manure from ecological sanitation toilets as a source of nutrients for cabbage*. In: Haneklaus, S.; Hera, C.; Rietz, R.M. & Schnug, E. (eds.) *Fertilizer and Fertilization for Sustainability in Agriculture: The First World meets the Third World – Challenges for the Future*. Proceedings of the 15<sup>th</sup> International Symposium of the International Scientific Centre for Fertilizers, Pretoria, South Africa, 379–392, 27–30 September 2004, Terra Nostre: Israel.Mnkeni, P.N.S & Austin, L.M. 2009. Fertiliser value of human manure from pilot urine-diversion toilets. *Water SA*, 35: 133-138.
- Peralta, V.R.L. 2010. *Determinación de parámetros óptimos en la producción de fast biol usando las excretas del ganado lechero del establo de la UNALM*. Tesis Biólogo. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Sobrero, M.C. & Ronco, A. 2004. *Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (Lactuca sativa L.)*. pp. 71-79. En: *Ensayos Toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas*. Castillo, G. (Ed.). México IMTA.
- Schouw, N.L.; Danteravanich, S.; Mosbaek, H. & Tjell, J.C. 2002. Composition of human excreta— A case study from Southern Thailand. *Science of the Total Environment*, 286: 155–166.
- Varnero, M.; Rojas, CY. & Orellana, R. 2007. Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Revista de Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, 7:28-37.
- Vinnerås, B. & Jönsson, H. 2002. The performance and potential of faecal separation and urine-diversion to recycle plant nutrients in household wastewater. *Bioresource Technology*, 84: 275-282.

Received June 17, 2016.

Accepted July 23, 2016.