



Resultados del Estudio Preliminar sobre:

“Parámetros físico-químicos y bacteriológicos de la hidrolización de cadáveres de animales *no rumiantes* con bioactivadores”

GUTIÉRREZ C.¹, FERRÁNDEZ F.², ANDÚJAR M.², MARTÍN J.², CLEMENTE P.³ y LOBERA J.B.⁴

(1) Cátedra de Patología General y Médica de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia

(2) Centro Integrado de Formación y Experimentación Agraria (CIFEA) de Lorca

(3) Ecotrax Ambiental de Lorca

(4) Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA) La Alberca

juanb.lobera@carm.es

■ INTRODUCCIÓN

Los cadáveres animales y otros restos orgánicos como placentas y restos de acciones quirúrgicas, que habitualmente se realizan en las explotaciones ganaderas, como: amputaciones de cola, castraciones, entre otros, constituyen según autores, el segundo residuo de las explotaciones ganaderas detrás de los estiércoles (Babot et al., 2001), o el tercer residuo generado en las ganaderías por orden de importancia en cuanto al volumen generado, por detrás de la emisión de gases (CO₂, Amoníaco, SH₂, Metano, etc.), y después de los estiércoles generados (Lobera, 2002).

La cantidad de cadáveres generados en una explotación ganadera depende del censo de animales y de los índices de mortalidad para cada especie, y dentro de ésta para cada sistema de tenencia de animales y en cada fase productiva de los animales. Según el MAPA, la media anual de residuos de cadáveres en granja se establece en unos valores, que a nuestro juicio, son muy conservadores y están recogidos en la siguiente tabla.

| Tipo de ganado | Toneladas de residuos/año |
|-----------------|---------------------------|
| Vacuno | 89.000 |
| Avícola | 72.000 |
| Ovino y Caprino | 58.000 |
| Porcino | 47.000 |
| Equino | 10.800 |
| Cunícola | 5.750 |
| TOTAL | 282.550 |

Fuente: MAPYA (2003).

Sin embargo, para otros autores como Babot et al. (2001), y sólo referido al ganado porcino, las estimaciones de necesidades mensuales de procesamiento de animales muertos en España son de 12.500 reproductores (a 200 Kg. c.u.), 85.000 lechones (a 6 Kg. c.u.) y unos 163.000 (a 65 Kg. c.u.) cerdos procedentes de crecimiento-cebo. Esto viene a suponer más de 13 millones de kilogramos al mes o si se prefiere, casi unos 160 millones de kilos al año, es decir tres veces más que lo indicado por el MAPA para esta especie doméstica. Si adaptamos los coeficientes empleados por Babot et al., (2001) para el caso de la Región de Murcia, y utilizando las cifras del último censo de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente referido al ganado porcino del año 2000, estaremos hablando de una necesidad de procesamiento de animales muertos que rondarán los 1,4 millones de kilos al mes, o bien, de más de 16 millones de kilogramos de cadáveres animales al año, y esto sólo para la especie porcina.

Los sistemas de destrucción de cadáveres, hasta el pasado 1 de mayo, para todas las especies domésticas, salvo los rumiantes, provenían de unas normas recogidas en el artículo 11 del Decreto 2641/1971 de 13 de agosto, basadas exclusivamente en la eliminación de cadáveres en fosas de paredes impermeables,

cerradas y añadiendo cal viva para coadyuvar a la destrucción de los cadáveres (Torrent, 1982). Y en estos últimos años, desde la entrada de nuestro país en la CEE, la destrucción de cadáveres de animales podían realizarse de dos maneras diferentes:

- ◆ En propia explotación:
 - Enterramiento profundo con cal viva
 - Depósito en Fosa de cadáveres totalmente estanca y cal viva.
 - Digestión del cadáver en digestores comerciales
- ◆ O mediante entrega a Gestores de cadáveres autorizados (obligatorio para todos los rumiantes: MER)
 - Digestión de cadáveres
 - Hidrolización de cadáveres
 - Incineración en Centrales Eléctricas de residuos o en Incineradoras

En el caso de realizar un traslado de cadáveres de rumiantes, las diferentes Comunidades Autónomas tienen legislado, que éste se realizará exclusivamente por Gestor Autorizado y con vehículos inscritos en el Registro de Gestores de Recogida de productos MER. Los vehículos deberán:



1.- Incineradora de residuos

- Ser estancos
- Llevar la documentación en regla
- Llevar el documento de Desinfección del día anterior
- Llevar el libro de Registro del Vehículo (conservado durante dos años).

Desde el pasado 1 de mayo entró en vigor el Reglamento CE 1774/2002 de 3 de octubre, por el que se establecen las normas sanitarias aplicables a los subproductos animales no destinados a consumo humano. El hecho más destacable es que desde esta fecha queda prohibido el enterramiento de todas las especies, no sólo bovino y ovino, sino también porcino, aves, conejos, etc., que mueran en las explotaciones ganaderas. La vigencia de la normativa comunitaria ha creado, en la práctica un grave problema a los nuevos sectores afectados, y este problema es extensible a la mayor parte de los países de la UE, que no cuentan con planes, ni con la infraestructura de recogida e incineración de cadáveres de animales, necesarias para efectuar la eliminación de tales residuos.

■ REFERENCIAS LEGALES ACERCA DE LA ELIMINACIÓN DE CADÁVERES

- Reglamento CE 1774/2002 de 3 de octubre por el que se establecen las normas sanitarias aplicables a los subproductos animales no destinados a consumo humano. Este Reglamento de la UE ha entrado en vigor desde el pasado 1 de mayo, y desde esa fecha queda prohibido el enterramiento de todos los cadáveres animales de todas las especies, que mueran en las propias explotaciones. Este Reglamento da prioridad a la incineración de los cadáveres animales, si bien no descarta el uso de otras tecnologías disponibles.
- El RD 2224/1993, de 17 de diciembre, sobre normas sanitarias de eliminación y transformación de animales muertos y desperdicios de origen animal y protección frente a agentes patógenos en piosos de origen animal. Establece las normas sanitarias y de salubridad que regulan, entre otras la eliminación y transformación de animales muertos y desperdicios de origen animal no destinados al consumo humano. Este RD, clasifica a “todos los bovinos, porcinos caprinos, ovinos, solípedos, aves de corral y todos los demás animales destinados a la producción agrícola que hayan muerto pero que no hayan sido sacrificados para su consumo humano en la granja, incluidos los que hayan nacido muertos o los que no hayan llegado a nacer” como materias de alto riesgo y “serán transformadas en una planta de transformación de materias de alto riesgo autorizada por el órgano competente de las Comunidades Autónomas, o serán eliminadas mediante incineración o enterramiento, si procede y el órgano competente de la Comunidad Autónoma lo autoriza”. Cuando se autorice, el enterramiento se realizará bajo la vigilancia del órgano competente de la Comunidad Autónoma, y se efectuará a suficiente profundidad para que los animales carnívoros no puedan

acceder a los cadáveres o animales muertos y desperdicios, y en terreno adecuado para evitar la contaminación de las capas freáticas o cualquier daño al medio ambiente. Siempre, antes del enterramiento, los cadáveres o los animales muertos y desperdicios deberán rociarse en caso necesario con un desinfectante apropiado y oficialmente autorizado.

- RD 324/2000 (modificado por el RD 3483/2000 de 29 de diciembre) sólo hace referencia en su artículo 5 “Condiciones mínimas de funcionamiento de las explotaciones”, Uno, apartado A sobre equipamiento y manejo, punto 1. “En caso necesario, para conseguir una mayor viabilidad económica o la adaptación de nuevas tecnologías, los órganos competentes de las Comunidades Autónomas podrán autorizar la puesta en práctica, por varias explotaciones, de un mismo programa de destrucción de cadáveres, aprobando a estos efectos un programa específico de gestión compartida”. Y en el Dos, apartado B sobre infraestructura, punto 2 Sanitaria, epígrafe d, que dice “Tienen que disponer de un sistema de recogida o tratamiento y eliminación de cadáveres, con suficientes garantías sanitarias y de protección del medio ambiente”.
- RD 1098/2002, de 25 de octubre, por el que se regula la alimentación de aves rapaces necrófagas con determinados animales muertos y sus productos. Que contempla la posibilidad de utilizar cadáveres animales o sus restos en la alimentación de aves carroñeras, en los términos establecidos en esta normativa. Complementando de esta manera al RD 2224/1993, antes mencionado.
- Por otro lado la certificación de un Sistema de Gestión Medioambiental (SGM) en una explotación se rige por la norma ISO 14001. El establecimiento de un sistema de gestión medioambiental, exige la evaluación inicial de los riesgos de la empresa mediante la norma UNE 150008:2000 EX que permite analizar y evaluar los riesgos medioambientales de una organización con la metodología apropiada (Berga, 2001), y en cuanto a la identificación de los peligros medioambientales referidos a la gestión y producción de residuos dice:
 - Los animales muertos y demás restos de animales se eliminarán de forma adecuada, según la legislación, y asegurando especialmente que no afecte al suelo, vegetación y fauna.
 - La utilización de hornos crematorios, digestores, etc., deberán tener documentado su proceso.
 - No se eliminará ningún tipo de residuo por combustión directa e incontrolada....”

■ OBJETIVO GENERAL DEL ESTUDIO

La Hidrolización de Cadáveres mediante la utilización de Bioactivadores, pretende crear una nueva solución para el problema que presenta la eliminación y/o destrucción de cadáveres y restos de animales no rumiantes en las explotaciones ganaderas. Ya que con la aplicación del alginato sódico integral como favorecedor de la hidrólisis de los cadáveres, estos restos animales se podrán eliminar sin que se generen malos olores, obteniendo como resultado un producto que pueda ser utilizado agronómicamente y sin poder contaminante, ni de riesgo para la salud.

Además, con este sistema no se tendrá que recurrir de forma obligatoria a los Gestores Autorizados para la eliminación de cadáveres, y por lo tanto no se tendrán que transportar cadáveres de animales, con el gasto y el riesgo sanitario que esto comporta, dando una respuesta más económica al problema, ya que el propio ganadero podrá eliminar sus animales muertos, en su propia explotación, a bajo coste y sin riesgo sanitario.

■ MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Debido a la enorme importancia que en nuestra región tiene la ganadería porcina, en este estudio preliminar se ha actuado sobre cadáveres de cerdos, exclusivamente. En este caso se ha actuado sobre un único cadáver de porcino, que en esta fase inicial, ha procedido de una cerda de vientre preñada de unos 200 Kg. de peso vivo, y que ha causado baja por alguna enfermedad habitual de esta especie, cuya declaración no es obligatoria y no está sometido a un proceso de eliminación de cadáveres concreto, obligado por ley.

Cuba de hidrolización

Se trata de una pieza esférica, totalmente estanca, con un diámetro de 2.350 mm y con una capacidad para 6.500 litros, y un peso en vacío de unos 150 Kg.. Está equipada con los siguientes elementos: una boca de acceso de 700 mm de diámetro con tapa de cierre; un tubo sonda de 160 mm \varnothing para la extracción de



2.- Cuba de hidrolización instalada para su uso.

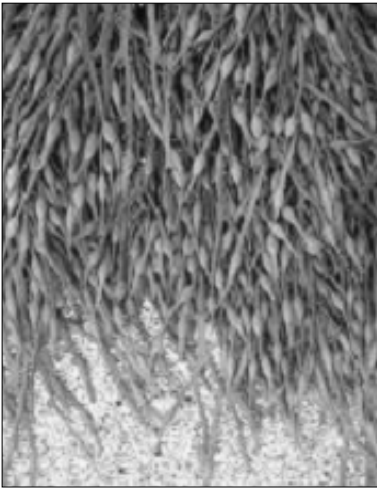
líquidos y muestras, con tapa de cierre; un tubo de extracción de aire de 110 mm \varnothing que va equipado con un aspirador o rotor eólico para favorecer la ventilación interior y con ello mejorar el rendimiento del equipo; y además, 3 orejetas de elevación para la manipulación de la cuba en vacío. Consta además de una toma de agua, y de una sonda eléctrica que regula el funcionamiento de una resistencia eléctrica, que en forma de anillos tapizan la primera mitad de la cuba, cuyo objeto es mantener la temperatura alrededor de los 40°C, en los primeros momentos de actividad de la cuba y favorecer la acción enzimática.

Este digestor es de la marca RESMAT® y está construido en poliéster y fibra de vidrio termoestable. Los componentes del material son:

- Resina de tipo bisfenólica ATLAC 382 en solución de estireno, con alta resistencia química frente a ácidos y álcalis, y que constituye una verdadera barrera química.
- Resina ortoftálica, que es un tipo de resina de uso general, utilizada para conferir a los laminados altos grados de resistencia mecánica, constituyendo un refuerzo mecánico.
- Fibra de vidrio clase C con una densidad de 70 gr/m², que se encuentra en contacto con el producto, en la cara interna de la cuba.
- Fibra de vidrio de la clase E y un liante del tipo M4 con un peso específico de entre 450 y 600 gr/m².

Todo el proceso de fabricación de la cuba de hidrolización es el de contacto manual "Hand Lay-Up", en el que se aplican sobre el molde las diferentes capas que componen el laminado, impregnándose la fibra de vidrio, que se aplica, con la resina de forma manual.

Bioactivador



3.- Detalle del *Ascophyllum nodosum*.

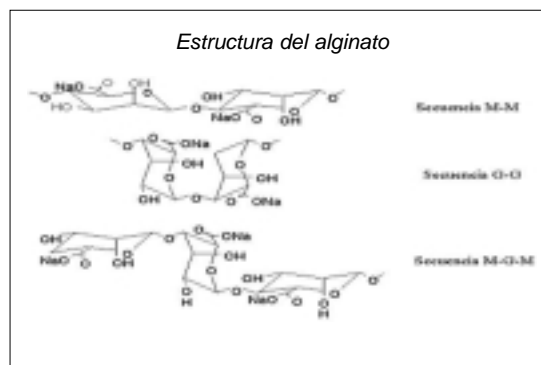
Para la mejora del proceso natural de hidrolización de cadáveres animales se utilizará un bioactivador, que consiste en un producto hecho a base de algas marinas Feofíceas o algas pardas (*Ascophyllum nodosum*), llamado Gel-60® de la firma Biopolym, que potenciará las fermentaciones que se lleven a cabo en la cuba de hidrolización de cadáveres.

El Gel-60® es una dispersión líquida concentrada de alginato sódico integral que actúa como un activador microbiano, y que se pretende utilizar para licuar restos orgánicos de actividades agrícolas y ganaderas. La formulación está presentada como un gel fibroso con partículas de hasta 1 mm, de color pardo, que se dispersa muy bien en agua tibia. En el envase se presenta con dos estratos gelificados, que deben ser homogeneizados antes de su uso, mediante agitación con un mezclador. Está compuesto de un alto contenido en fibras solubles, proteínas de alta calidad, polisacáridos con una estructura polimera (ácidos polimanurónico y poligulurónico), oligosacáridos y un alto contenido en yodo bioactivo. Los azúcares y la estructura del producto, una vez hidrolizado, sirven de soporte y de alimento inmediato que activa y favorece la proliferación de la flora micro-

biana, tanto en rectores aeróbicos como anaeróbicos, según la información facilitada por la firma Byopolim.

El componente más importante de este producto natural es el ácido algínico (en forma de alginato sódico también llamado algin). Esta sustancia es un carbohidrato que se obtiene de varias especies de algas marinas de color marrón (Feofíceas), por extracción alcalina. Éste es un ácido orgánico de alto peso molecular (PM: 200.000) que se presenta en forma de un copolímero compuesto de numerosas cadenas de ácido polimanurónico y de ácido poligulurónico, de forma alterna y sin frecuencia, con un alto número de grupos carboxilos, lo que le confieren su alta capacidad de intercambio catiónico. Por lo tanto, el ácido algínico y por supuesto los alginatos, actúan como un intercambiador orgánico de iones, con una alta capacidad de intercambio iónico, que se puede estimar en unas 30.000 mval/cm² (Catálogo Byopolim). Los radicales de los polímeros que contiene el producto, actúan sosteniendo y englobando el amoníaco, sulfhídrico, mercaptanos y los ácidos grasos volátiles (AGV), bajando las concentraciones de estos elementos en el ambiente, y de esta forma, los malos olores de la granja y sus alrededores son prácticamente inapreciables.

El ácido alginico es un polvo o un granulado soluble en agua (incluso fría) y en disolventes orgánicos. Se trata de un producto muy higroscópico que actúa en contacto con el agua. Potencia los procesos de fermentación aeróbica en animales “no rumiantes”, tanto en el tracto digestivo como posteriormente sus deyecciones en la fosa de purines. Actúa sobre la degradación proteica y quelando oligoelementos, con lo que se mejora su asimilación. En la industria alimentaria se usa como espesante, estabilizante y agente gelificante (también se usa en cremas, geles y máscaras faciales).



El alginato sódico activa el proceso de descomposición de los cadáveres de animales, acelerando el proceso de autólisis total en fase líquida. En un reducido período de tiempo, es capaz de licuar las masas blandas (un mes) y también las óseas (dos meses más). La digestión se produce en fase líquida, por lo que existe la necesidad de incorporar agua para el consumo bacteriano, y por consiguiente la cuba de hidrolización debe tener agua antes de incorporar el Gel-60®, y durante los procesos de descomposición, recebar con agua la cuba, para que los cadáveres animales estén cubiertos al menos en sus dos terceras partes. (Ecotrax Ambiental, 2002).

Manejo de la Cuba de Hidrolización

Se han seguido los siguientes pasos (indicados por la empresa ECOTRAX Ambiental), a la hora del manejo de la cuba de hidrolización:

- Llenado hasta el 25%, aproximadamente, de la capacidad de la cuba de hidrolización, con agua de riego, a la que se añadió una predilución de Gel-60® en agua, preferentemente tibia, a razón de 5 litros de Gel-60® de Biopolym en 20 litros de agua, y una vez hecho esto, se incorporó a la cuba de hidrolización, después se introdujo el cadáver de una cerda de vientre, preñada, de más de 200 Kg. de peso vivo, muerta esa misma mañana en una explotación porcina cercana al lugar de ubicación de la cuba de hidrolización (Diputación de Purias, Lorca). A la cerda, y previamente a la introducción en la cuba se le abrió la cavidad abdominal, con el fin de favorecer la acción de los alginatos, enzimas y bacterias. El cadáver se introdujo por la escotilla prevista para tal fin, de la cuba de hidrolización, y se añadió agua hasta que el cadáver del animal se cubrió en sus 2/3 partes, al menos.
- Recebar la cuba con agua, atendiendo a las pérdidas por evaporación, siempre que sea necesario, es decir cuando el cadáver animal no esté recubierto en sus 2/3 partes.
- En las siguientes reutilizaciones de la cuba de hidrolización, sólo habrá que añadir 1 cc de producto Gel-60® por cada kilo que pesen los cadáveres añadidos, y por supuesto recebar de agua, si fuese necesario. Es muy importante que en ningún momento la cuba de hidrolización se quede sin agua, pues podría paralizar la actividad del alginato, enzimas y bacterias que participan en el proceso.

Recogida de muestras

Durante el tiempo que dure los procesos de hidrolización enzimática del cadáver (3 meses aproximadamente), se han recogido muestras una vez a la semana, lo más asépticas posible del líquido de la cuba de hidrolización, previa agitación y homogeneización de todo su contenido, para su posterior análisis microbiológico en el laboratorio. Los análisis microbiológicos fueron los necesarios para la determinación de presencia de determinadas bacterias tales como: *Escherichia coli* cepa 0157:H7, *Vibrio cholerae*, y las del género *Salmonella*, *Clostridium*, *Shigella* en general.

Para garantizar la máxima fiabilidad de los exámenes microbiológicos previstos, se observarán las siguientes normas que se recogen en la “Guía para la remisión de muestras al Laboratorio Agrario Regional” editado por la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua de la Región de Murcia:

- * Extracción lo más aséptica posibles de las muestras tomadas de la cuba de hidrolización, que se realizará en recipientes de plástico de 50 cc de capacidad, estériles y herméticamente cerrados y/o mediante escobillones estériles con medios de transporte, que en general son válidos los medios Amies y Stuart.
- * Envío de las muestras en condiciones de refrigeración, en un tiempo máximo de 12 horas, y si no es posible esto, se mantendrán refrigeradas entre 4 y 7 °C.

Análisis bacteriológicos

Los análisis bacteriológicos realizados se han llevado a cabo en los Laboratorios del Servicio de Enfermedades Infecciosas de Colectividades de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia mediante la siembra en medios selectivos de aislamiento, tales como:

- Agar SPS (Sulfito-Polimixina-Sulfadiazina) para aislamiento de *Clostridium* sulfito reductores
- Agar Columbia (5% de sangre de cordero)
- Agar McConkey
- Agar Hektoen para aislamiento de *Salmonella-Shigella*
- Agar Verde Brillante
- Agar HD para aislamiento de *E. coli O157*.

Análisis físico-químicos



4.- Toma de datos físico-químicos.

A la vez que se han recogido las muestras microbiológicas, se han tomado datos de diferentes parámetros físico-químicos del caldo de la cuba, tales como: temperatura, pH, potencial REDOX y Conductividad eléctrica, todos ellos mediante aparatos portátiles de la marca Hanna Instrument (mod. HI 8424 y HI 8733), datos que fueron tomados “a pie de cuba”, es decir en el momento de recoger las muestras para su análisis microbiológico.

| Datos físico-químicos: | Rangos medición |
|--------------------------------------|-----------------------------|
| Temperatura cuba | 0 a 100 °C |
| Temperatura líquido | 0 a 100 °C |
| Cond. Eléctrica (dS/m ²) | 0 a 199,9 dS/m ² |
| REDOX (mV) | 1999 a -1999 mV |
| pH | 0 a 14 |

También se tomaron datos de la concentración de gases en el interior y a 5 metros de distancia de la mencionada cuba. Para ello se utilizó la sonda portátil de la marca Dräger modelo MiniWarm, con capacidad para detectar los siguientes tipos de gases: Oxígeno (en %), Metano (en ppm), Sulhídrico (en ppm) y Amoníaco (en ppm).

Y por último señalar que también se ha realizado una observación objetiva, por escrito, y se han tomado unas fotografías del estado de descomposición en que se encuentra el cadáver animal, antes de recoger la muestra, con el fin de documentar perfectamente, todo el proceso de descomposición con este sistema (ver Anexo I).

Resultados

Durante todo este tiempo, y con una periodicidad semanal, se ha procedido a la toma de parámetros físico-químicos y de dos muestras para su posterior análisis bacteriológico en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, con los resultados que se recogen en las siguientes tablas.

Resultados de los parámetros físico-químicos medidos con sondas portátiles.

| | Día 1* | Día 5* | Día 14* | Día 20* | Día 28* | Día 34* |
|---------------------------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|
| T ^a sonda cuba | 27°C | 39°C | 39°C | 40°C | 39°C | 41°C |
| T ^a líquido | 28°C | 37,2°C | 44,2°C | 44,7°C | 46,9°C | 45,6°C |
| C. Eléct. (1) | – | 3,6 | 12,13 | 13,30 | 17,0 | 16,8 |
| REDOX(2) | – | -208,0 | -315,5 | -319,3 | -337,6 | -344,2 |
| PH | – | 6,31 | 6,19 | 6,18 | 6,49 | 6,70 |

Tabla 1b.- Resultados de los parámetros físico-químicos analizados

| | Día 41* | Día 48* | Día 55* | Día 63* | Día 70* | Día 77* |
|---------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Tª sonda cuba | 39°C | 40°C | 39°C | 39°C | 40°C | 39°C |
| Tª líquido | 45,6°C | 46,2°C | 42,2°C | 41,6°C | 40,2°C | 39,3°C |
| C. Eléct. (1) | 17,3 | 17,0 | 17,51 | 18,04 | 17,27 | 14,93 |
| REDOX(2) | -340,2 | -340,5 | -403,0 | -397,0 | -364,0 | -411,0 |
| PH | 6,79 | 7,11 | 7,30 | 7,28 | 7,17 | 7,13 |

Tabla 1c.- Resultados de los parámetros físico-químicos analizados

| | Día 83* | Día 90* | Día 97* | Día 104* |
|---------------|---------|---------|---------|----------|
| Tª sonda cuba | 41°C | 40°C | 39°C | 39°C |
| Tª líquido | 39,4°C | 39,7°C | 40,1°C | 39,1°C |
| C. Eléct. (1) | 12,78 | 12,66 | 11,66 | 10,82 |
| REDOX(2) | -433,0 | -406,0 | -394,3 | -396,0 |
| PH | 7,03 | 7,13 | 7,06 | 7,12 |

(*) Días desde el inicio del Estudio Preliminar.
 (1) Conductividad eléctrica medida en dS/m²
 (2) Índice REDOX, medido a los 3 minutos de introducir la sonda, y expresado en mV.

A continuación, en las siguientes tablas, se expresan los resultados de los análisis bacteriológicos llevados a cabo.

Tabla 2a.- Resultados de los análisis bacteriológicos

| | día 5* | | día 14* | | día 20* | | día 28* | | día 34* | |
|-------------|--------|------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|
| | T.S. | L.C. | T.S. | L.C. | T.S. | L.C. | T.S. | L.C. | T.S. | L.C. |
| E. coli | + | + | - | - | +? | - | - | - | - | - |
| Salmonella | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Shigella | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Clostridium | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| V. coli | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Tabla 2b.- Resultados de los análisis bacteriológicos

| | día 41* | | día 48* | | día 55* | | día 63* | | día 70*(1) | |
|-------------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|------------|------|
| | T.S. | L.C. | T.S. | L.C. | T.S. | L.C. | T.S. | L.C. | T.S. | L.C. |
| E. coli | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Salmonella | +? | - | - | - | +? | +? | - | - | - | - |
| Shigella | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Clostridium | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| V. coli | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Tabla 2c.- Resultados de los análisis bacteriológicos

| | día 77* | | día 83* | | día 90* | | día 97* | | día 104* | |
|-------------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|----------|------|
| | T.S. | L.C. | T.S. | L.C. | T.S. | L.C. | T.S. | L.C. | T.S. | L.C. |
| E. coli | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Salmonella | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Shigella | - | - | - | - | - | - | +? | - | - | - |
| Clostridium | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| V. coli | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

(*) Días desde el inicio del Estudio Preliminar.
 T.S.: muestra recogida del tubo sonda de la cuba de hidrolización.
 L.C.: muestra recogida del líquido en contacto directo con los cadáveres.
 +: presencia de gérmenes en la muestra. -: ausencia de gérmenes en la muestra.
 +?: posible contaminación de la muestra.

En la siguiente tabla se expresan los resultados obtenidos de la medición de la concentración de gases.

Tabla 3.- Resultados de los análisis de concentración de gases

| | día 55* | | día 70* | | día 83* | | día 97* | | día 104* | |
|-------------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|----------|------|
| | 5m | B.C. | 5m | B.C. | 5m | B.C. | 5m | B.C. | 5m | B.C. |
| Oxígeno | 20,9 | 15,6 | 20,9 | 18,8 | 21,2 | 19,4 | 20,9 | 19,2 | 20,9 | 19,9 |
| Metano | 0 | 14 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 5,5 | 0 | 4 |
| Sulfhídrico | 0 | 22 | 0 | 4 | 0 | 3 | 0 | 2 | 0 | 4 |
| Amoníaco | 0 | 63 | 0 | 50 | 0 | 100 | 0 | 81 | 0 | 94 |

(*) Días desde el inicio del Estudio Preliminar.
 5m.: muestra recogida a 5 m. de la cuba.
 B.C.: muestra recogida a boca de cuba. El Oxígeno está expresado en %, el resto de gases en ppm.



5.- Aparato para la medición de la concentración de gases.

Además hay que reseñar, que el día 8 de julio de 2003, que coincide con el día 90 del estudio, se envió una muestra al Laboratorio privado “Centro de Análisis de Aguas S.A.” sito en el Polígono Industrial de Lorquí (Murcia) para su análisis mineralógico y bacteriológico, resultando los siguientes valores:

Análisis Bacteriológico:

- Colonias a 22°C : 48.800 UFC en 1 ml.
- Bacterias Coliformes: 0 UFC en 100 ml.
- Clostridium S. Reductores: 7.000 en 100 ml.

Análisis mineralógico:

- Aniones:

- Bicarbonatos: 2.161,29 mg/l
- Cloruros: 481,41 mg/l
- Sulfatos: 30,91 mg/l
- Carbonatos: 0,00 mg/l
- Nitratos: 0,00 mg/l
- Nitritos: 0,00 mg/l

- Cationes:

- Calcio: 401,20 mg/l
- Sodio: 360,47 mg/l
- Potasio: 156,40 mg/l
- Magnesio: 117,95 mg/l
- Amonio: 46,40 mg/l
- Manganeso: 1,55 mg/l
- Plomo: 1,400 mg/l
- Boro: 0,95 mg/l
- Hierro: 0,16 mg/l
- Cobre: 0,154 mg/l
- Cadmio: < 0,010 mg/l



6.- Estado del cadáver a los 28 días del inicio de la hidrolización.

Por último, y como observaciones recogidas en las Hojas de Campo utilizadas en el estudio, caben reseñar las siguientes cuestiones. Durante todo el proceso sólo se ha apreciado mal olor (como “a rancio”) entre los días 14 al 48, y esto sólo en las cercanías inmediatas de la cuba (\pm 5 metros) sin destapar, a partir de esta distancia, no se apreciaba ningún tipo de olor extraño, sólo se apreciaba mal olor cuando ésta se destapaba, desapareciendo cuando volvía a cubrirse. Por otro lado, en ningún momento del estudio se ha apreciado que el cadáver fuera colonizado por ningún tipo de insecto, no siendo atacado por ninguna larva, estando la piel sobrenadante intacta hasta su disolución. El día 97 ya sólo se notaban pequeños restos del cadáver por debajo de la espuma que todo lo cubría.

A partir del día 14 apareció una sustancia de consistencia grasa y color marrón oscuro, que lo impregnó todo. Más tarde, el día 41, se aprecia la formación alrededor del cadáver de una espuma de color blanco. Esta espuma creció durante los siguientes días hasta alcanzar los 25 cm de espesor el día 70, pero entonces

esta espuma se volvió de un color gris, manteniéndose en ese espesor hasta el día 83, volviendo a crecer el día 90 para volver a decrecer en días sucesivos, aunque todavía se mantiene.



7.- Capa de espuma formándose alrededor del cadáver (T +55).

El cadáver ha sufrido las lógicas alteraciones aunque estas han sido aceleradas por el bioactivador, siendo los fetos de lechones ya formados los primeros en desaparecer el día 20. En cuanto al cadáver de la cerda se puede decir que ha desaparecido el día 97, en el que sólo se notaban pequeños restos por debajo de la capa de espuma blanquecina que lo cubría todo.

En el líquido que se ha ido obteniendo como muestras se ha apreciado un oscurecimiento continuo, aumentando el número de partículas en suspensión desde el inicio.

El agua utilizada en la cuba de hidrolización al comienzo del estudio, y la utilizada en los recibidos sucesivos, presentó los siguientes parámetros físico-químicos medios:

| | |
|--------------------------------------|---------|
| Temperatura líquido | 27,7°C |
| Cond. Eléctrica (dS/m ²) | 1,29 |
| REDOX (3 min.) (mV) | +130,05 |
| pH | 7,73 |

Solamente se recibió la cuba de hidrolización con agua los días 14 y 41, y con Gel-60 el día 14, en el que se añadió 2 litros más a la cuba.

■ DISCUSIÓN

Parámetros físico-químicos

En cuanto a los parámetros físico-químicos se pueden apreciar varias cuestiones. En primer lugar la temperatura: la temperatura que recoge la sonda que lleva incorporada la cuba, se mantiene estable a todo lo largo de la duración del estudio entre los 39-42 °C, aunque como vemos en las tablas 1a, 1b y 1c, las temperaturas obtenidas del líquido en su interior sí que han variado a lo largo de la experiencia, desde los 28°C del día 1 hasta los 46,9°C del día 28 (posiblemente alrededor de esos días se alcanzaran temperaturas un poco más altas, rondando los 50°C, aunque lamentablemente, no se recogieron), luego se aprecia un período de tiempo de unas 4 semanas de duración, en el que la temperatura está estabilizada entorno a los 45 °C, para posteriormente bajar y estabilizarse otra vez entorno a los 40°C. Los días de máximas temperaturas coinciden con los períodos de máxima actividad bacteriana, que en esos momentos llevan a cabo la degradación de los principios inmediatos, en los que de manera resumida, podemos decir, que los glúcidos se van a escindir en ácido láctico y alcoholes; los lípidos, mediante procesos de oxidación van a dar lugar a ácido butírico y acético; y los prótidos en aminoácidos que a su vez pueden llegar a formar aminas ácidas, ácido fosfórico y bases púricas y por último amoníaco. Todos estos procesos se acompañan de la aparición de gases como el amoníaco, el sulfhídrico, nitrógeno libre y anhídrido carbónico (González, 1997), e incluso en condiciones de falta de oxígeno se produce metano, por la acción de bacterias metanogénicas anaerobias, cuestión que se ha repetido en nuestro estudio, tal y como se desprende del análisis de gases a partir del día 55 del comienzo del trabajo.

Por otro lado, la conductividad eléctrica, que nos da una idea de la concentración de sales de una solución, mantiene niveles superiores a 17 dS/m² durante un gran período de tiempo, entre los días 28 y 70 (ambos inclusive), alcanzando el nivel máximo el día 63, con un valor de 18,04. Esto es esperable, pues estas sales provienen de la actividad del alginato, enzimas y bacterias sobre el cadáver, en su labor de hidrolización. Por lo que resulta lógico que unos días después de la máxima actividad hidrolítica se corresponda con un aumento de la concentración de iones primero y luego de sales (debido a sus interacciones) en el líquido resultante, y el consiguiente aumento de la conductividad eléctrica del mismo. Además este hecho lleva aparejado otro, como es el descenso del potencial REDOX, que alcanza su punto más bajo, unos días más tarde, el día 83, con un valor de -433,0 mV, alcanzando, en ese momento el líquido de la cuba, su mayor capacidad reductora de todo el período bajo control.

En cuanto al pH, decir que éste parámetro se ha mantenido prácticamente estable durante todo el período y en valores cercanos a la neutralidad, entre 6,18 (ligeramente ácido) y 7,30 (ligeramente básico) el día 55.

Parámetros bacteriológicos

En cuanto a los resultados bacteriológicos, y según reflejan los datos de la tabla 2a, 2b y 2c, obtenidos de los análisis realizados en los Laboratorios del Servicio de Enfermedades Infecciosas de Colectividades de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, los gérmenes de los géneros *Salmonella* y *Shigella*, así como los *Escherichia coli*, desaparecen de la cuba de hidrólisis a partir de las dos semanas de iniciado el estudio (14 días), con la única persistencia de los gérmenes del género *Clostridium*, los cuales, debido a su especial característica a esporular cuando se encuentran en condiciones ambientales adversas, hace que sea muy difícil su eliminación de los resultados de los análisis. En efecto las bacterias del género *Clostridium* comprenden hasta 83 especies (Cato et al., 1986), siendo además microorganismos extraordinariamente ubicuos, resultando algunos de ellos patógenos para el hombre y los animales (Smith, 1975). De hecho hay especies de *Clostridium* que actúan de manera natural en la descomposición de los cadáveres, sobretudo en condiciones de anaerobiosis. Es conocido por los médicos forenses, que el proceso de descomposición de los tejidos orgánicos está propiciado de forma preponderante por bacterias (generalmente anaerobias) presentes en el interior del propio individuo, algunas de ellas pertenecientes al género *Clostridium*, y que no son patógenas. En líneas generales, los grupos bacterianos más importantes implicados en el proceso de descomposición de un cadáver son los que componen la flora intestinal habitual del individuo en vida, sin olvidar los que se encuentran en otras vísceras huecas (vías respiratorias altas, árbol bronquial, etc.). También tienen interés los hongos saprofitos del cadáver y las bacterias mineralizantes. Así que durante la hidrólisis del cadáver se producen fermentaciones y desprendimientos de gases y cuerpos volátiles: desde sulfhídrico, hidrógeno, hidrocarburos, hidrógeno fosforado, pasando por el amoníaco, el indol y el escatol y diversos mercaptanos, todo ello acelerado, en nuestro estudio por la utilización del bioactivador.

Se sabe que el predominio de la flora saprofita, responsable de la putrefacción o descomposición microbiana de los tejidos orgánicos, determina la anulación de los gérmenes patógenos, a medida que avanza la putrefacción. Sin embargo, existen microbios con cierta resistencia (esporulados) que puede sobrevivir a esta acción (Torrent, 1982). Esto coincide con los resultados bacteriológicos obtenidos, tanto los realizados en los Laboratorios del Servicio de Enfermedades Infecciosas de Colectividades de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, como el realizado en el Laboratorio privado "Centro de Análisis de Aguas S.A." sito en el Polígono Industrial de Lorquí (Murcia), en la ausencia de bacterias coliformes y en la presencia de *Clostridium*, y en éste último laboratorio, además se cuantifica el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de *Clostridium* sulfito reductores en 7.000 UFC por 100 ml.

Debido a que no se han encontrado datos sobre la bacteriología del líquido resultante de la hidrólisis de cadáveres en la bibliografía consultada, se han comparado con los datos microbiológicos de los purines de cerdo, toda vez que propugnamos su utilización conjunta como fertilizante agrícola.

Así vemos que, para Strauch y Ballarini (1994), la aplicación del purín puede tener implicaciones en la salud humana sobre todo cuando se aplica en cultivos de consumo en crudo o en los que las partes comestibles hayan estado en contacto con él. Y esto se puede aplicar también al líquido resultante de la hidrólisis de cadáveres, en su utilización agronómica, aunque las cifras de este último, son ostensiblemente más bajas. Otros estudios realizados, como el realizado con purín en bruto sobre cultivos en la Región de Murcia (Tortosa et al., 2002), se informa sobre los recuentos para cada uno de los grupos microbianos estudiados en el suelo (bacterias, actinomicetos, mohos, levaduras y coliformes) mostrando a los coliformes como los más destacados tras la incorporación de los purines de cerdo al suelo (pasando de 3 NMP/ml. a 2.200 NMP/ml. después de una tercera aplicación de purines al terreno), con recuentos de bacterias del suelo que llegaban hasta 10^7 UFC/ml. (muy semejante a la cifra observada en el trabajo de Daudén [1995] que es de 10^6 UFC/ml.), pero aunque los coliformes evolucionaron de forma espectacular a medida que se aumentaba la dosis de purín de cerdo, los niveles descendían de igual manera después de recolectado el cultivo. Por otro lado, cifra de UFC de clostridios obtenida en el líquido de la hidrólisis (70 UFC/ml) es menor (unas 100 veces menor) a la observada en otros estudios realizados sobre purín de cerdo, que estiman la población de clostridios sulfito reductores entre $2 \cdot 10^3$ y $7 \cdot 10^3$ /ml. (Rodríguez Moure et al., 1989; Tarrafeta, 1991; Daudén, 1995). Normalmente, algunos gérmenes como el *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y algunas *Salmonellas*, entre otros, disminuyen rápidamente su número por la necesidad de competir por nutrientes del tipo de los carbohidratos con las bacterias metanogénicas, mientras que otras bacterias como los clostridios (*Cl. jejuni*) utilizan aminoácidos y vitaminas liberados durante la degradación del material proteico y de células muertas, siendo baja la competencia por esos sustratos, por lo que la persistencia es mayor (Picot y Amigot, 2001).

Parámetros mineralógicos

De los resultados del análisis llevado a cabo por el Laboratorio privado “Centro de Análisis de Aguas S.A.” sito en el Polígono Industrial de Lorquí (Murcia), se desprende que el líquido de la cuba de hidrolización puede ser considerado como un agua bicarbonatada cálcica, pero con una gran cantidad de bacterias (48.800 UFC en 1 ml.), y que además presenta 3.823,99 mg/l de sólidos disueltos, con un pH neutro, con cantidades de cloruros y de sodio mucho menores que el que presentan los purines (de 481 mg/l y 360 mg/l respectivamente en el caso del líquido de la hidrolización, frente a los 910 mg/l para los cloruros y entre 410mg/l – 920 mg/l para el caso del sodio, en los purines [Lobera et al., 1998]), presentando cantidades inferiores también en el caso de los otros minerales analizados, contando además este líquido con 474,27 mg/l. de CO² libre, y que presentando una dureza total de 148,75° Francés.

Conclusiones

- * Alrededor del día 14 comienzan a ser atacadas las partes blandas (carne, grasa y vísceras) del cadáver comenzando la fermentación butírica de la grasa corporal, que hace que aparezca un mal olor penetrante. Después aparece a partir del día 48 una fermentación caseica de la proteína (olor “a rancio”), y a partir del día 83 aparece la fermentación amoniacal, según los datos obtenidos de la medición de gases y de las observaciones realizadas. Todo ello coincide con lo apuntado en los manuales de medicina forense, aunque sucede de manera más acelerada en el caso de la hidrolización con bioactivadores.
- * Las partes duras comienzan a ser atacadas por las enzimas el día 41, como lo demuestra la aparición de esa espuma blanca alrededor del cadáver, y que continua hasta el día 104 y siguientes.
- * El líquido resultante de la hidrolización de cadáveres, con los resultados obtenidos hasta el momento, es semejante al purín que se obtiene en una granja de cerdos convencional tanto por sus características físico-químicas como bacteriológicas (aunque con niveles más bajos en los conceptos bacteriológicos y mineralógicos), por lo que cabe esperar su posibilidad de empleo conjunto (purín-líquido de la hidrolización) como abono orgánico, toda vez que este líquido lleva en su composición aminoácidos simples (consecuencia directa de la hidrolización), muy utilizados en la agricultura, y no contiene proporciones alarmantes de metales pesados, ni de bacterias, que puedan ocasionar perjuicio en el medio ambiente, si se utiliza en dosis agronómicas adecuadas.
- * Sin embargo, sería conveniente la realización de un proyecto de investigación más ambicioso que este estudio, en el que se abarcara el estudio de más variables (relativas a más gérmenes, concentración de gases eliminados, presencia de aminoácidos libres, mayor número de presencia de metales pesados, etc) y con una rutina de muestreos mayor, y por supuesto con otros tipos de cadáveres animales.

■ BIBLIOGRAFÍA

- BABOT D., MARTÍNEZ L. y TEIRA M.R. 2001 "Gestión de subproductos y residuos porcinos" Rev. Mundo Ganadero mayo: 34-7.
- BERGA A. 2001 "Gestión medioambiental en la explotación ganadera" Rev. Mundo Ganadero mayo: 32-3.
- CATÁLOGO BIOPOLYM PLUS FZ GRANULADO (Schulze & Hermsen, GmbH) Línea Bioalgeen. Catálogo.
- CATO E.P., GEORGE W.L. y FINEGOLD S.M. 1986 "Genus *Clostridium Proszkowski 1880*" En "Bergey's Manual of systematic Bacteriology (Sneath P.H., Mair N.S., Sharpe M.E. y Holt J.G. eds), vol 2 Williams & Wilkins, Blatimore, pp: 1141-96.
- DAUDÉN A. 1995 "Estudio de la microflora bacteriana aeróbica y fúngica de interés sanitario y medioambiental, en los purines generados en la provincia de Teruel" Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza. pp: 1-297.
- ECOTRAX AMBIENTAL "Hidrolización de cadáveres". Presentación 2002.
- EQUIPO DEL L.A.R. 1993 "Guía para la remisión de muestras al Laboratorio Regional Agrario" Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua de la Región de Murcia. 65 págs.
- GONZÁLEZ C.F. 1997 "Los insectos y la muerte" En "Los artrópodos y el Hombre" Boletín SEA nº 20. Zaragoza.
- LOBERA J.B., MARTÍNEZ RANGEL P., FERRÁNDEZ F. y MARTÍN J. 1998 "Reutilización agronómica de los purines del cerdo" Serie Técnica y de Estudios de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia nº 21 pp: 1- 81.
- LOBERA J.B. 2002 "Los otros residuos en las explotaciones porcinas" 1º Premio del Colegio Oficial de Veterinarios de Murcia. pp: 1-25.
- PICOT A. y AMIGOT J.A. 2001 "Aspectos sanitarios de la producción y utilización de los residuos de ganado porcino. Legislación" ITEA vol 97A nº 3: 180-203.
- RD 2224/1993, de 17 de diciembre, sobre normas sanitarias de eliminación y transformación de animales muertos y desperdicios de origen animal y protección frente a agentes patógenos en piensos de origen animal.
- RD 324/2000 (BOE nº 58 de 3 de marzo de 2000) sobre normas básicas de ordenación de las explotaciones porcinas.
- RD 1098/2002 de 25 de octubre, por el que se regula la alimentación de aves rapaces necrófagas con determinados animales muertos y sus productos.
- REGLAMENTO CE 1774/2002 de 3 de octubre por el que se establecen las normas sanitarias aplicables a los subproductos animales no destinados a consumo humano.
- RODRÍGUEZ MOURE A.A., BASCUAS J.A., GASPAS SAN MARTÍN P., TARRAFETA L., PÉREZ ORDOYO L. y PELLICER ALONSO S. 1989 "Microorganismos bacterianos aislados de un ensayo de depuración de purines de cerdo mediante lagunaje profundo" Anaporc 75: 5-7.
- SMITH L.D. 1975 "*Clostridium perfringens*" En "The Pathogenic Anaerobic Bacteria" de Smith L. et al., Publ., Springfield, pp: 115-76.
- STRAUCH D. y BALLARINI G. 1994 "Hygienic Aspects of the Production and Agricultural Use of animal Wastes" J. Vet. Med. B., 41: 176-228.
- TARRAFETA L.A. 1991 "Estudio de un ensayo analítico sobre la depuración de purines en explotaciones industriales" Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza. pp: 1-219.
- TORRENT M. 1982 "Zootecnia Básica Aplicada" Ed. Aedos. España. pp: 482-84.
- TORTOSA J.L., FAZ A., PALOP A., LOBERA J.B., ANDÚJAR M. y MÉNDEZ M.T. 2002 "Evolution of some microbiological properties of soils by the application of pig slurry in semiarid Mediterranean areas: Preliminary Analyses" Sustainable use and management of soils in arid and semiarid regions. SUMASS 2002, vol II: 208-10.