

EFFECTE DE LA UTILITZACIÓ DE FANGS DE DEPURADORA COM A ADOB SOBRE ELS MICROORGANISMES INDICADORS DE LA FERTILITAT I DE LA CONTAMINACIÓ DEL SÒL

Àngel De la Riva Vegas
Roser Romero del Castillo Shelly
*Àrea de Química Agrícola
Escola Superior d'Agricultura*

RESUM

S'ha estimat la qualitat microbiològica d'un fang utilitzat com a adob, mitjançant el seguiment continu durant el cicle de conreu de Rye-Grass dels següents paràmetres indicadors: microflora aeròbica total, fongs aeròbics totals, estreptococs del grup D fecal, coliforms i *Escherichia coli* en el sòl i puntualment en la planta. Els resultats s'han comparat amb una altra parcel·la adobada amb fertilitzant químic.

Es va observar una predominància de microorganismes aeròbics totals i fongs aeròbics

totals en la parcel·la adobada amb fang. Així mateix al màxim de població microbiana s'hi arriba abans en la parcel·la adobada amb fertilitzant químic. Quant als paràmetres indicadors de la contaminació, els estreptococs desapareixen a les poques setmanes en ambdós casos, els coliforms presenten una certa superioritat numèrica en la parcel·la adobada amb fang, però no així *Escherichia coli*. No apareix evidència, amb aquests indicadors de contaminació fecal persistent, causada per l'aplicació de fangs de depuradora.

SUMMARY

The Microbiological Quality of the Sewage Sludge used like manure has been estimated by means of continuous control during the cultivation of rye-grass. The indicator parameters were total aerobic microflora, total aerobic fungi, streptococcus group D, co-

liforms and *Escherichia coli* in the soil and punctually on the plants.

The results have been compared with those of chemical fertilizer plot.

The high number of total aerobic microflora and total aerobic fungi has been obser-

ved in the plot manured with sewage sludge. The microbiological population peak was reached also before in the plot manured with chemical fertilizer. From the point of view of the pollution indicator parameters the *Streptococcus* disappear in few weeks in both cases, the coliforms present a certain numerical superiority in the plot manured

with sewage sludge. But *Escherichia coli* does not show the same behaviour.

With the indicators used, there has not appeared evidence of persistent fecal pollution caused by the application of sewage sludge.

Key words: Fang de depuradora, qualitat microbiològica, adobat, rye-grass.

INTRODUCCIÓ

La utilització dels fangs de depuradora com a adob pot presentar dues limitacions importants: la presència d'elements potencialment tòxics i la contaminació per microorganismes; aquest treball tracta sobre el segon aspecte.

Encara que durant el procés de depuració hi ha una desaparició important de microorganismes infectants, els fangs surten de la depuradora amb una càrrega de microorganismes notable. PIKE (1980) indica una mitjana

de 100 salmonel·les per 100 ml. de fang líquid després d'un procés normal de digestió anaeròbica mesofílica i SCUFLAIRE (1977) troba *Salmonella* en l'11% dels fangs estudiats procedents de diferents tractaments, *Pseudomonas aeruginosa* en el 35% i paràsits en el 14%. Tot això obliga a prendre mesures durant el maneig i l'aplicació en el sòl, per evitar perills sanitaris als agricultors i per l'obtenció de productes vegetals sense contaminació fecal.

OBJECTIUS

En aquest treball s'ha realitzat una estimació de la qualitat microbiològica d'un fang, mitjançant el seguiment continu dels paràmetres que millor poden informar de les conseqüències de la seva aplicació com a adob, tant en el sòl com en els vegetals.

L'experiència va consistir en un seguiment i comparació de paràmetres indicadors microbiològics durant el cicle de conreu de rye-grass (*Lolium multiflorum*). Atès que la via d'infecció: sòl → planta → animal → espècie humana, pot ser important, s'ha volgut també avaluar la presència dels indicadors microbiològics en les plantes.

Els organismes indicadors vàlids que s'han

escollit es poden classificar sota els aspectes de la:

Contaminació del sòl i la planta

Es troben com a indicadors prioritaris (REDDY i cols. 1981, HAVELAAR 1980, BERON P. i cols. 1980) els estreptococs del grup D i com a complement els enterobacteris del grup dels coliforms (REDDY i cols. 1980, BERRON, P. i cols. 1980), determinacions tradicionals de contaminació fecal que tenen doble interès: gran nombre de coliforms i estreptococs viuen en abundància en els materials fecals dels animals i de l'home i pre-

senten una resistència als agents antisèptics molt semblant a la d'altres bacteris patògens. Per pal·liar el fet que els coliforms no siguin exclusius de l'hàbitat fecal, s'ha de recórrer a la determinació d'*Escherichia coli* indològen.

Respecte dels patògens més resistents, *Mycobacterium* i *Salmonella*, (YAZIZ i LLOYD 1979, MORRISON i MARTIN 1976), el primer es presenta difícilment en els fangs i el segon desapareix amb l'estabilització de

la microflora banal i el procés d'assecat del fang. És per aquesta raó que no els vam determinar.

Activitat microbiana del sòl

Per estudiar les variacions quantitatives de la població microbiana s'ha fet un recompte de la microflora aeròbica mesòfila total i de fongs aeròbics totals, pel mètode clàssic de les dilucions en plaques.

MATERIAL I MÈTODES

Situació de l'experiència

La dimensió de les dues parcel·les era de 20 m² (4 × 5 m) i estaven situades a l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona. Les parcel·les estaven convenientment aïllades. Es va utilitzar *fang de depuradora* com a adob a la parcel·la que anomenarem *F* i *adob químic* a la parcel·la que anomenarem *Q*. A la Taula 1 hi ha les característiques del sòl utilitzat.

Característiques del fang

El fang provenia de la planta depuradora d'aigües residuals de Figueres (Girona). El tractament al qual va estar sotmès va ser d'estabilització aeròbica i condicionat durant diverses setmanes en plataforma d'assecat amb posterior trituració i tamisat a 2 mm. L'anàlisi detallada es troba a la Taula 2.

Dosi d'adobatge

A la parcel·la *Q*. De fons: sulfat amònic: 1 Kg. equivalent a 105 UF (unitats fertilitzants) de N; superfosfat 16%: 1.5 Kg equivalents a 120 UF de P₂O₅; sulfat potàssic 50%: 0.75 Kg equivalents a 190 UF de K₂O.

De cobertura: quan les plantes van assolir una alçada de 20 cm. s'hi van afegir: 0.38 Kg de nitrosulfat amònic 26% (50 UF de

N/Ha) i després de cada dall 1 Kg de nitrosulfat amònic (130 UF de N/Ha).

A la parcel·la *F*: 175 Kg de fang equivalents a 3.600 Kg de matèria orgànica per Ha incorporats de fons.

Característiques del conreu

Lolium multiflorum de l'ecotip Westworld, varietat Tewera, de cicle anual. La dosi de sembra equivalia a 30 Kg/Ha. Els dalls es van realitzar de la següent manera:

- 1r. dall als 90 dies del cicle
- 2n. dall als 160 dies del cicle
- 3r. dall als 200 dies del cicle
- 4t. dall als 222 dies del cicle.

Mostreig de terra

Es va realitzar seguint els criteris normals de representativitat i asèpsia, sobre els 15 cm. superficials.

Mostreig de les plantes

Es van tallar a 10 cm. per sobre de la superfície del sòl i en condicions d'asèpsia.

Tècniques d'anàlisi utilitzades al laboratori

- Mètode de les suspensions-dilucions:

Es realitzaren dilucions successives a partir de la suspensió-dilució de la mostra 10⁻¹

(10 g/100 ml d'aigua estèril o solució de Ringer diluïda 1:4).

- Microflora aeròbia total: (PONCHON i TARDIEUX, 1962).

El medi emprat és l'agar de recompte en placa comercial. Se sembra des de la dilució 10^{-3} fins la 10^{-8} . La incubació es va fer a 29°C i les lectures als 6 i als 12 dies sobre 3 càpsules de les 5 repeticions efectuades per cada dilució.

- Fongs aeròbics totals: (GUINEA, SANCHE, PARÉS, 1979).

El medi emprat conté extracte de malta, peptona i agar. Les dilucions, sembra, incubació i lectures es van fer igual que en el cas de la microflora total. L'inhibidor bacterià utilitzat va ser àcid cítric al 0,4%.

- Estreptococs fecals del grup D: (RODIER 1975).

Les dilucions es fan sobre aigua de tripton, de 10^{-1} a 10^{-5} . La sembra s'efectua sobre medi de Slanetz-Bartley, no esterilitzat, que conté azida sòdica com a inhibidor d'enterobacteris. La incubació es realitza a 37°C i la lectura a les 48h. No es realitzaran tests de confirmació.

- Coliforms totals: (RODIER 1975).

Es va utilitzar el medi lactosat-biliat verd brillant esterilitzat en tubs d'assaig que con-

tenien una campana de Durham invertida. La sembra es va efectuar per les dilucions 10^{-1} fins a 10^{-6} i per triplicat. La incubació va durar 48h. a una temperatura de 30°C . Es consideren positius els tubs en què es produeix desprendiment de gas visible a la campana. El recompte es fa pel mètode del nombre més probable (NMP).

- *Escherichia coli*: (RODIER 1975).

De cada tub positiu dels coliforms totals es recull una petita mostra per repicar-la sobre altres dos tubs. El primer conté el mateix medi lactosat-verd brillant i el segon aigua de tripton. Aquests tubs sembrats es porten a incubar a 44°C durant 48 hores. La lectura es fa considerant positius aquells tubs en els quals es produeix simultàniament desprendiment de gas per fermentació de la glucosa i aparició d'indol en afegir reactiu de Kovacs en el medi de tripton.

Les mostres de terra es porten al laboratori immediatament i s'analitzen sense cap manipulació prèvia de secat o tamisat. Se separa una mínima part per determinar-ne la humitat (assecat a l'estufa a $100-105^{\circ}\text{C}$ durant 24h.).

Les mostres de plantes es col·loquen en bosses de plàstic i s'agiten en medi de Ringer per portar a l'estat de suspensió la flora microbiana.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

Sobre l'activitat microbiana total en el sòl

L'evolució dels microorganismes es manifesta amb un increment notable de la microflora total i dels fongs totals al començament del cicle de conreu.

S'arriba al major desenvolupament quantitatiu entre la 3a. i la 5a. setmana a la parcel·la *F*, mentre que a la parcel·la *Q* el desenvolupament més gran s'assoleix entre la 2a. i la 3a. setmana.

Considerant els intervals de confiança calculats a partir de la dispersió dels resultats i del nombre de repeticions de cada mostra, s'aprecia que els valors de les mitjanes experimentals del nombre total de microorganismes són superiors a la parcel·la *F* però només fins a la 4a. setmana. Durant les deu setmanes següents les poblacions poden ser sensiblement iguals des del punt de vista quantitatiu.

A la setmana 18 torna a predominar de manera significativa la quantitat de microorganismes de *F* sobre *Q*.

Quant al nombre total de fongs, a partir de la 5a.-6a. setmanes es produeix un descens proporcional. Només s'han pogut constatar diferències quantitatives d'aquesta població durant els primers quinze dies, i és superior en la parcel·la adobada amb fang (*F*).

Sobre l'activitat dels microorganismes indicadors de la contaminació fecal en el sòl

S'observa que els estreptococs s'inhibeixen abans que els coliforms totals. Els primers presenten un nombre més gran de colònies durant les tres primeres setmanes en la parcel·la adobada amb fang (*F*), però a partir de les set setmanes desapareixen totalment en ambdós casos.

El descens del nombre d'*E. coli* es produeix de forma irregular en les dues parcel·les i sembla no tenir relació directa amb el comportament dels coliforms totals ni amb el de la microflora total. Les diferències dels valors d'aquesta columna a la taula 4 no són significatives, és a dir, no apareixen símptomes de contaminació fecal causada pels fangs.

Es pot parlar d'activitat mínima dels enterococs d'origen fecal coincidint amb el primer dall d'herba (als 90 dies).

Sobre l'activitat dels microorganismes indicadors de la contaminació en el conreu

Les mostres vegetals es van recollir als 130 dies (entre el primer i el segon dall). No s'hi han detectat contaminacions d'origen fecal (Taula 4), només un petit nombre d'estreptococs s'observa a la parcel·la *F*.

TAULA 1
ANÀLISI DEL SÒL EXPERIMENTAL

<i>Paràmetre</i>	<i>Resultat</i>	<i>Tècnica</i>
pH actual	8.10	H ₂ O 1:2.5
pH potencial	7.20	KCl 1:2.5
Conductivitat	0.80 mmhos/cm ⁻¹	H ₂ O 1:5
Carboni oxidable	0.86 %	
Matèria orgànica	1.47 %	
Nitrogen total	0.95 %	
Relació C/N	9.00	
Carbonats (% CO ₃ Ca)	12.20 %	
Fòsfor assimilable	46 ppm	
Calci intercanviable	2,286 ppm	
Magnesi intercanviable	328 ppm	
Potassi intercanviable	11 ppm	

TAULA 2

ANÀLISI DEL FANG DE LA PLANTA DEPURADORA DE FIGUERES

<i>Paràmetre determinat</i>	<i>Resultat obtingut</i>
Humitat	14.60% s. mat. tot.
Matèria orgànica total	47.40% s. mat. sec.
Carboni orgànic oxidable	24.66% s. mat. sec.
Àcids húmics i fúlvics	31.10% s. mat. org.
Nitrogen total	4.57% s. mat. sec.
Nitrogen orgànic	4.57% s. mat. sec.
Nitrogen insoluble en aigua	98.00% s. nit. tot.
Fósfor total (P_2O_5)	3.71% s. mat. sec.
Potassi total (K_{20})	0.52% s. mat. sec.
Calci	0.59% s. mat. sec.
Magnesi	0.12% s. mat. sec.
Ferro	0.25% s. mat. sec.
Coure	156 ppm mat. sec.
Zenc	445 ppm mat. sec.
Crom	173 ppm mat. sec.
Niquel	9.5 ppm mat. sec.
Cadmi	2.5 ppm mat. sec.
Plom	513 ppm mat. sec.

TAULA 3

MICROORGANISMES INDICADORS DE L'ACTIVITAT MICROBIANA GLOBAL

<i>EN EL SÒL</i>				
<i>Nombre de dies</i>	<i>Microflora total</i>		<i>Fongs totals</i>	
	Q	F	Q	F
2	1.7.10 ³ a	3.3.10 ⁴ b	—	—
13	1.7.10 ⁶ a	1.2.10 ⁷ b	7.0.10 ⁴ a	3.2.10 ⁵ b
27	8.5.10 ⁵ a	2.1.10 ⁶ b	4.5.10 ⁵ a	—
40	5.9.10 ⁵ a	2.1.10 ⁶ a	2.2.10 ⁵ a	3.8.10 ⁵ a
89	1.5.10 ⁶ a	1.6.10 ⁶ a	—	—
130	1.2.10 ⁶ a	3.1.10 ⁷ b	5.2.10 ³ a	2.0.10 ³ a
222	6.4.10 ⁴ a	1.6.10 ⁵ a	—	—

<i>EN LA PLANTA</i>				
<i>Nombre de dies</i>	<i>Microflora total</i>		<i>Fongs totals</i>	
	Q	F	Q	F
130	5.8.10 ³ a	2.6.10 ⁴ b	6.0.10 ² a	1.3.10 ³ b

a, b: Dins d'un mateix grup de microorganismes, els valors seguits de la mateixa lletra no són significativament diferents, al nivell de confiança del 90%.

Els resultats estan expressats en nombre de cèl·lules/g. de terra seca o d'herba seca.

TAULA 4

MICROORGANISMES INDICADORS DE CONTAMINACIÓ FECAL

EN EL SÒL						
Nombre de dies	<i>Estreptococs grup-D</i>		<i>Coliforms totals</i>		<i>Escherichia Coli</i>	
	Q	F	Q	F	Q	F
13	2.0.10 ² a	3.0.10 ² a	5.3.10 ² a	1.1.10 ³ a	—	—
18	2.6.10 ² a	5.3.10 ⁴ b	5.5.10 ³ a	1.5.10 ⁴ a	—	—
25	76a	1.2.10 ³ b	2.8.10 ³ a	3.0.10 ⁴ b	5.6.10 ² a	1.4.10 ³ a
34	4a	34a	5.2.10 ² a	1.8.10 ³ a	1.8.10 a	1.1.10 a
45	—	—	8.9.10 a	5.3.10 ² b	5.3.10 a	1.1.10 ² a
82	—	—	4.9.10 ² a	5.2.10 ² b	1.1.10 ² a	2.9.10 a
130	—	—	11a	1.3.10 ² a	11a	9a

EN LA PLANTA						
Nombre de dies	<i>Estreptococs grup-D</i>		<i>Coliforms totals</i>		<i>Escherichia Coli</i>	
	Q	F	Q	F	Q	F
130	0a	10a	0	0	0	0

a, b: Dins d'un mateix grup de microorganismes, els valors seguits de la mateixa lletra no són significativament diferents, al nivell de confiança del 95%.

Els resultats estan expressats en nombre de cèl·lules/g. de terra seca o d'herba seca.

CONCLUSIONS

— La microflora aeròbica total i els fongs aeròbics totals continuen l'evolució normal després d'una aportació d'adob; el màxim s'assoleix abans a la parcel·la *Q* que a la parcel·la *F*. I predomina en general el nombre

total de microorganismes de *F* sobre *Q* en ambdós casos.

— Els estreptococs desapareixen abans que els coliforms en ambdós casos. El descens d'*Escherichia coli* es produeix de for-

ma irregular i no es relaciona amb els altres paràmetres indicadors. El moment del primer dall d'herba coincideix amb la presència d'un mínim nombre de coliforms i nul·la presència d'estreptococs.

— En cap cas no s'han observat indicis de contaminació fecal deguts a l'ús del fang.

— En les plantes (entre el 1r. i el 2n. dall no es detecta contaminació fecal de cap tipus).

BIBLIOGRAFIA

- BERRON, P.; GEOFFRAY, C.; VIAL, J. (1980) - *Aspect sanitaire des epandages de boues résiduaire: Cinétique de regresssion sur terrains agricoles de quelques germes test. A: Characterization, treatment and use of sewage sludge. Proc. 2n. Europ. Symposium Vienna: P. 389-397.*
- GUINEA, J.; SANCHO, J.; PARÉS, R. (1979) - *Análisis microbiológico de aguas. Ed. Omega. Barcelona.*
- HAVELAAR, A. (1980) - *Monitoring sewage sludge sanitation by bacterial indicators. A: Characterization, treatment and use of sewage sludge. Proc. 2n. Europ. Symp. Vienna: p. 350-360.*
- MORRISON, S.; MARTIN, K. (1976) - *Pathogen survival in soils receiving wastes. Land as a waste management alternative. A: Proc. Cornell agricultural waste manag. Conf. núm. 20: p. 371-389.*
- PIKE, E. (1980) - *The control of salmonellosis in the use of sewage sludge on agricultural land. A: Characterization, treatment and use of sewage sludge. Proc. 2n. Europ. Symp. Vienna: p. 315-329.*
- POCHON, J.; TARDIEUX, P. (1962) - *Tecniques d'analyse en microbiologie du sol. Editions de la Tourelle. St. Mandé.*
- REDDY, K.; KHALEEL, R.; OVERCASH, M. (1981) - *Behaviour and transport of microbial pathogens and indicator organism in soil treated with organic wastes. J. Environ Qual. 10 (4).*
- RODIER, J. (1975) - *L'Analyse de l'Eau. Vol. 2. Dunod Technique. 5a. ed. Paris.*
- SCUFLAIRE, R. (1977) - *Dosage et recherche de l'évolution des pesticides, de détergents, et de quelques pathogènes dans les déchets solides (boues de station d'épuration et composts urbains). Soils et déchets solids. Ministère de l'Environnement et du Cadre de Vie. Mission des Études et de la Recherche.*
- YAZIZ; LLOYD, B. (1979) - *The removal of salmonella in conventional sewage treatment processes. J. Appl. Bact. 46 p. 131-142.*