

**EFFECTES DEL PROCÉS DE COMPOSTATGE EN LA TOXICITAT PER A
ORGANISMES DEL SÒL D'ADOBES DERIVATS DE FANGS DE
DEPURADORA**

Projecte Fi de Carrera de Ciències Ambientals
2007 - 2008

Laura Solà i Sau

Dirigit per:
Josep Maria Alcañiz Baldellou
Xavier Domene Casadesús

Bellaterra, a 3 de juliol de 2008

Aquest treball ha estat imprès en paper lliure de clor

Als meus pares i a la Berta

AGRAÏMENTS

Amb la presentació d'aquest projecte es tanca una etapa plena de bons moments i estones per oblidar. Al llarg dels anys de carrera he aconseguit adquirir una actitud científica, en la mesura del necessari, per poder desenvolupar-me en el món exterior, que temps enrere veia tant llunyà. La realització d'aquest projecte ha suposat una gran satisfacció personal dins les meves pròpies històries. Així que no podria acabar sense recordar totes aquelles persones que d'alguna manera o altra han contribuït a que a dia d'avui pugui estar escrivint aquestes ratlles:

Primer de tot, agrair a Applus Agroambiental (Sidamón, Lleida) per la realització dels anàlisis fisicoquímics dels fangs i compostos.

El meu tutor, en Josep Maria, per oferir-me l'oportunitat de realitzar el, així com pel suport que m'ha donat en tot moment.

D'altra banda, recordar el suport físic, virtual i moral, que m'ha donat en Xavi des del primer dia que vaig entrar al laboratori. Ell més que ningú has estat testimoni de la meva fabulosa i excitant experiència amb els meus amics els cucs.

Especialment, els meus pares, perquè han cregut en mi en tot moment i han sabut estar-hi sempre quan ho necessitava. Perquè sentir la seva veu de l'altre banda del telèfon ha estat l'energia que he necessitat en tot moment per tirar endavant.

La Berta. Ha estat d'una gran sort poder-la tenir tant a prop quan les distàncies eren més llargues. És ben cert que sense ella aquest projecte no existiria.

I el Valentí, senzillament per compartir amb mi aquesta experiència. Gràcies per per estar al meu costat i agafar-me la mà.

Laura

Barcelona, juliol del 2008

ÍNDIX

CONTEXTUALITZACIÓ I OBJECTIUS	9
1. INTRODUCCIÓ	11
1.1. EL RECICLATGE DE RESIDUS ORGÀNICS I LA PROTECCIÓ DEL SÒL.....	13
1.1.1. Protecció del sòl a la unió europea	13
1.1.2. Producció i regulació dels residus municipals	14
1.1.3. Producció i composició dels residus orgànics.....	15
1.1. 3.1. Producció de fangs.....	16
1.1. 3.2. Tractament de fangs.....	17
1.1. 3.3. Composició del fang	19
1.1.4. Utilització dels residus orgànics al sòl.....	21
1.1.4.1. Usos dels residus orgànics	21
1.1.4.2. Efectes contaminants del fang en aplicacions agrícoles.....	26
1.1.4.3. Tractaments aplicables als fangs per millorar les propietats agrícoles	30
1.2. ANÀLISIS ECOTOXICOLÒGICS COM A EINES DE PREVENCIÓ DE LA CONTAMINACIÓ.....	34
1.2.1. Risc ecològic dels residus orgànics	34
1.2.2. Bioassaigs ecotoxicològics aplicats a residus orgànics.....	35
1.2.3. Importància dels organismes del sòl en els bioassaigs.....	37
2. MATERIALS I MÈTODES	41
2.1. MATERIALS TESTATS.....	43
2.1.1 Obtenció i preparació de les mostres de compost: temporització i mètode.....	43
2.1.2 Obtenció i preparació del sòl	45
2.1.3 Preparació de les mescleres: quantitats.....	46
2.2. REALITZACIÓ DELS BIOASSAIGS	48
2.2.1. <i>Folsomia candida</i>	48
2.2.1.1. Descripció de l'espècie	48

2.2.1.2. Establiment i manteniment dels cultius.....	50
2.2.1.3. Preparació del test de reproducció	51
2.2.1.4. Realització del test de reproducció.....	51
2.2.2 <i>Enchytraeus crypticus</i>	52
2.2.2.1. Descripció de l'espècie	53
2.2.2.2. Establiment i manteniment dels cultius.....	54
2.2.2.3. Preparació del test de reproducció	54
2.2.2.4. Realització del test de reproducció.....	55
2.2.3 <i>Eisenia fetida</i>	56
2.2.3.1. Descripció de l'espècie	56
2.2.3.2. Establiment i manteniment dels cultius.....	58
2.2.3.3. Preparació del test de reproducció	59
2.2.3.4. Realització del test de reproducció.....	59
2. 3. TRACTAMENT ESTADÍSTIC	61
3. RESULTATS	63
3.1. EVOLUCIÓ DELS PARÀMETRES FÍSICOQUÍMICS AMB EL TEMPS DE COMPOSTATGE ..	65
3.1.1. Contingut de nutrients	65
3.1.2. Contingut de matèria orgànica.....	66
3.1.3. Contingut de metalls pesants.....	67
3.2. RESULTATS DELS TESTS DE TOXICITAT.....	68
3.2.1. Resultats del test amb <i>Folsomia candida</i>	68
3.2.2. Resultats del test amb <i>Enchytraeus crypticus</i>	71
3.2.3. Resultats del test amb <i>Eisenia fetida</i>	72
3.3. RELACIÓ DE LA TOXICITAT AMB ELS PARÀMETRES FÍSICOQUÍMICS I METALLS PESANTS	75
3.3.1. Toxicitat per a <i>Folsomia candida</i>	75
3.3.2. Toxicitat per a <i>Enchytraeus crypticus</i>	75
3.3.3. Toxicitat per a <i>Eisenia fetida</i>	75

4. DISCUSSIÓ	77
4.1. INFLUÈNCIA DEL PROCÉS DE COMPOSTATGE EN LES PROPIETATS FISCOQUÍMIQUES DEL FANG I COMPOST.....	79
4.2. TOXICITAT DEL COMPOST EN ELS ORGANISMES DEL SÒL.....	83
4.2.1. Efecte del temps de compostatge en la toxicitat per a la fauna del sòl	83
4.2.2. Efecte de la dosi d'aplicació de residus en la toxicitat per a la fauna del sòl	85
4.3. INFLUÈNCIA DE LES PROPIETATS FISCOQUÍMIQUES EN LA TOXICITAT DELS RESIDUS EN ELS ORGANISMES.....	86
5. CONCLUSIONS I PERSPECTIVES	89
5.1 CONCLUSIONS.....	91
5.2. PERSPECTIVES DE FUTUR	93
6. BIBLIOGRAFIA	95
ANNEX	103

CONTEXTUALITZACIÓ I OBJECTIUS

El present estudi s'ha realitzat dins l'assignatura de Projectes de la Llicenciatura de Ciències Ambientals a la Universitat Autònoma de Barcelona. S'emmarca dins del Projecte Nacional: "Ecotoxicidad, micotoxines y degradación de nonilfenoles en lodos de depuradora y suelos tratados (TOXIFENOL)" (CTM2006-14163-C02-01/TECNO) del Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) que es desenvolupa entre el CREAM-UAB (Centre de Recerca Ecològica i Agro-Forestal de la Universitat Autònoma de Barcelona) i IQS-URL (Institut Químic de Sarrià de la Universitat Ramon Llull) al llarg del període 2007-2009.

Aquest estudi està vinculat al projecte que desenvolupa el CREAM-UAB, destinat a estudiar la degradació i toxicitat dels nonilfenols (contaminant orgànic) presents en els fangs de depuradora i el seu comportament en el sòl. Mitjançant l'aplicació del tractament de compostatge s'aconsegueix millorar les propietats del fang residual, així com degradar els contaminants orgànics més persistents. La idea de l'estudi sorgeix de la determinació de l'eficàcia del procés de compostatge en l'estabilització dels fangs, avaluant la variació dels paràmetres fisicoquímics del fang i el nivell de toxicitat pels organismes del sòl. La metodologia d'estudi es basa en la utilització al laboratori de bioassaigs ecotoxicològics amb espècies representatives del sòl

L'objectiu principal de l'estudi és determinar els efectes del procés de compostatge en la millora de la toxicitat dels fangs de depuradora utilitzats com a fertilitzant orgànic en camps agrícoles. Un segon objectiu és determinar la quantitat de fang de depuradora i de compost aplicats als sòls agrícoles sense implicacions sobre els organismes representatius del sòl. S'han desenvolupat una sèrie d'objectius específics per donar resposta als objectius plantejats que consisteixen en:

1. Estudiar la variació de les propietats fisicoquímiques del fang de depuradora durant el procés de compostatge.
2. Utilitzar bioassaigs ecotoxicològics amb organismes del sòl per determinar la toxicitat del fang i compost quan és aplicat al sòl.
3. Determinar la toxicitat del fang i del compost sobre els organismes de *Folsomia candida*, *Enchytraeus crypticus* i *Eisenia fetida* mitjançant l'estudi dels paràmetres de supervivència, reproducció i biomassa total.
4. Avaluat la sensibilitat de les diferents espècies del sòl davant substàncies tòxiques per demostrar, a la vegada, la seva eficàcia en els bioassaigs.

5. Comprovar l'eficàcia dels bioassaigs ecotoxicològics en la determinació de la toxicitat del fang i compost.
6. Establir correlacions entre els paràmetres fisicoquímics del fang i compost i els efectes de toxicitat sobre els organismes per determinar la causa principal de toxicitat.
7. Determinar la dosi de fang i de compost amb menys efectes negatius sobre la biota del sòl.

1. INTRODUCCIÓ

1.1. EL RECICLATGE DE RESIDUS ORGÀNICS I LA PROTECCIÓ DEL SÒL

1.1.1 Protecció del sòl a la unió europea

El sòl és la fina capa de material fèrtil que recobreix la superfície de la Terra. Està format per partícules minerals, matèria orgànica, aigua, aire i organismes vius. Es tracta d'un sistema molt dinàmic i complex on s'hi desenvolupen nombrosos processos físics, químics i biològics. El sòl representa un recurs no renovable a escala humana on s'hi desenvolupen moltes funcions vitals pels organismes que hi habiten i en depenen, com l'alimentació i producció de biomassa, servint a la vegada com a emmagatzement de moltes substàncies com l'aigua, carboni i nitrogen que es veuen subjectes a diverses transformacions (EC, 2001).

El sòl realitza un paper molt important com a hàbitat i suport dels organismes vius, servint de plataforma per activitats humanes (edificació, carreteres) i constituint, a la vegada, una font de recursos minerals molt important. Per tal de protegir-ne les funcions ambientals i socio-econòmiques que aporta, és important conservar les propietats del sòl evitant impactes com l'erosió, la contaminació, la sobreexplotació i l'empobriment de la seva fertilitat, la degradació biològica i la pèrdua irreversible per recobriments artificials, entre d'altres.

La legislació específica a la Unió Europea pel que fa a la protecció del sòl s'està desenvolupant. Així, com a primer intent per incorporar la protecció global del sòl en la legislació europea, el 2004 es va publicar la directiva 2004/35/EC aplicant prevenció i remediació als danys ambientals a l'aigua, terra, espècies protegides i hàbitats naturals.

Actualment, s'està implementant l'Estratègia Temàtica del Sòl dins el *Sisè programa d'acció comunitària en matèria de medi ambient* ⁽¹⁾, amb l'objectiu de protegir-lo en tots els països membres de la EU (EC, 2006b). A Espanya, per exemple, la protecció dels sòls front a la contaminació es contempla al RD 9/2005 que pretén la identificació dels llocs potencialment contaminats i estableix uns criteris per poder determinar si un sòl està legalment contaminat. També hi ha tot un seguit de mesures agroambientals que pretenen la protecció del sòl.

1. Decisió n° 1600/2002/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de julio de 2002 por la que se establece el Sexto Programa de Acción Comunitario en Materia de Medio Ambiente (DO L 242 de 10.9.2002).

1.1.2. Producció i regulació dels residus municipals

En les darreres dècades, s'ha produït un fort increment de població en els països membres de la comunitat europea així com un desenvolupament econòmic i d'indústries químiques, industrials i agroalimentàries. Aquest fet ha provocat un augment desmesurat de residus municipals arribant a l'any 2006 a incrementar en un 13% la producció de l'any 1995, amb 255 milions de tones. Representa una mitjana de 517kg de residus per càpita (un augment del 9% respecte el 1995) (EC, 2008).

El destí d'aquests residus ha estat sempre un problema degut als impactes que els diferents usos impliquen pel medi ambient i la salut de les persones. Dades del 2006 de la EC (EC, 2008) mostren una disminució d'un 62% al 1995 a un 41% en la ubicació dels residus urbans en abocadors. Mentre països com Alemanya, Holanda, Suècia, Dinamarca i Bèlgica han abolit la utilització d'abocadors, en altres països com la República Txeca, Polònia i Lituània encara representen el 90% de la destinació de residus. Pel que fa al reciclatge d'aquests residus s'ha doblat entre el 1995 i el 2006 arribant a 101 milions de tones.

Amb tot, l'augment en la producció de residus implica un increment en les problemàtiques relacionades amb la contaminació de l'aigua, de l'aire i del sòl. Davant això, s'ha posat de manifest la necessitat d'establir mesures de control de la producció i de la utilització dels residus municipals per garantir així una protecció del medi.

Legislació europea respecte residus

La legislació europea ha establert diverses directives referents als residus: la Directiva 75/442/EEC de residus, la Directiva 75/439/EEC sobre olis residuals, la Directiva 86/278/EEC d'aplicació de fangs residuals a sòls agrícoles, la Directiva 91/271/EEC de protecció del medi davant efectes adversos de les descàrregues d'aigües residuals, la Directiva 91/689/EEC sobre residus perillosos, on per primera vegada es parla d'"ecotoxicitat", la Directiva 1999/31/EC sobre deposició de residus en abocadors que pretén reduir la quantitat de residus biodegradables que s'enviïn als abocadors, i la Directiva 2000/76/EC d'incineració de residus en la qual es regulen els nivells de dioxines emesos.

De totes aquestes, però, tan sols dues fan referència a la regulació de residus orgànics i fangs residuals: la directiva 91/271/EEC i la directiva 86/278/EEC.

Directiva 91/271/EEC del consell del 21 de maig del 1991 **sobre el tractament de les aigües residuals urbanes** (*Urban Waste Water Treatment*)

Fa referència a la protecció del medi ambient davant els efectes adversos de les descàrregues d'aigua residual determinant unes àrees sensibles. Estableix la

obligatorietat de reutilitzar el fang resultant del tractament de les aigües residuals minimitzant els efectes adversos que es poden generar vers el medi ambient.

Directiva 86/278/EEC del consell del 12 de juny del 1986 *de la utilització dels fangs en l'agricultura*

L'objectiu de la directiva és regular l'ús dels fangs de depuradora en la seva aplicació als sòls agrícoles per evitar els efectes perjudicials en el sòl, la vegetació, els animals i les persones i fomentar, així, un ús correcte d'aquests residus. Determina uns estàndards de qualitat definint valors màxims de concentració de metalls pesants del fang i del sòl i càrregues màximes anuals de metalls en l'aplicació dels fangs al sòl (Annex I).

Els estats membres son els encarregats d'establir límits addicionals com és el cas de determinats contaminants orgànics. Determinats països com Àustria, Bèlgica, Dinamarca, Alemanya, França i Suècia han incorporat a la legislació nacional límits de components orgànics, mentre que d'altres, entre els quals hi ha Espanya, no especifiquen cap requeriment

Actualment s'està revisant aquesta directiva en el Working Document on Sludge, 3rd Draft, on es proposen límits per a determinats contaminants orgànics presents en el sòl.

La legislació espanyola, mitjançant el *RD 1310/1990* (transposició de la directiva 86/278/EEC), regula els procediments de control de qualitat del fang a través de les comunitats autònomes establint uns valors límit de fang per a l'ús agrícola, sense desenvolupar cap requeriment específic en silvicultura, restauració de sòls i àrees verdes. D'altra banda les autoritats nacionals determinen mesures per la purificació i tractament de les aigües residuals urbanes mitjançant el *RD 11/1995* pel qual es transposa la directiva 91/271/EEC.

1.1.3. Producció i composició dels residus orgànics

En les darreres dècades s'ha produït un augment dels residus orgànics a la unió europea, tant pel que fa a les dejeccions ramaderes (degut a l'increment de granges) com als fangs residuals (Domene et al., 2007).

Amb la implementació de la Urban Waste Water Treatment Directive (UWWTD) 91/271/EEC, cada cop més aigua residual és tractada amb l'objectiu de reduir els xenobiòtics i les substàncies que produeixen eutrofització del medi aquàtic (Jenssen 1998). Aquest resultat ha portat a un augment en la producció de fangs de gairebé un 50% a l'any 2005 respecte el 1992, produint actualment uns 8 milions de tones anuals (Magoarou, 2000).

Taula 1. Àrea, població i producció de fang als estat membres a l'any 2005 (Magoarou, 2000). Alemanya, Regne Unit, França i Espanya s'estimava que fossin encara els països amb una utilització més gran de fangs en agricultura. Irlanda, Finlàndia i Regne Unit són els que utilitzen més fang en agricultura (>70%)

	Area [km ²]	Population		Sludge destination [1000 t dm/a] in 2005			Relative sludge production
		[Million]	Density	total	reuse	percentage	[kg/person/a]
FIN	338.000	5,1	15	160	115	72%	31
S	450.000	8,9	20	-	-	-	-
IRL	70.000	3,7	53	113	84	74%	31
E	504.782	39,4	78	1088	589	54%	28
GR	131.957	10,5	80	99	7	7%	9
A	88.945	8,1	91	196	68	35%	24
F	550.000	60,4	110	1172	765	65%	19
P	92.072	10,8	117	359	108	30%	33
DK	43.094	5,3	123	200	125	63%	38
L	2.586	0,4	166	14	9	64%	35
I	301.263	57,6	191	-	-	-	-
D	356.854	82,0	230	2786	1.391	50%	34
UK	242.500	58,6	242	1583	1.118	71%	27
B	30.158	10,2	338	160	47	29%	16
NL	41.864	15,8	377	401	110	27%	25

El destí i la utilització d'aquests residus ha estat sempre de gran problemàtica, ja que generen impactes als ecosistemes, medi ambient, i a la salut dels animals i les persones (Düring i Gäth, 2002). És per això, que des de la unió Europea s'han adoptat polítiques per regular els diferents usos d'aquests residus.

1.1.3.1. Producció de fangs

Durant el tractament de les aigües residuals urbanes, ja siguin d'origen domèstic com industrial, es produeix un residu sòlid orgànic a partir dels productes residuals recollits en les diferents etapes del procés de depuració i purificació de les aigües. Aquest residu s'anomena fang i el seu origen es troba en les diferents etapes que formen part del procés de depuració de les aigües (EC, 2001b).

Inicialment es du a terme un pre-tractament de les aigües on s'hi inclouen diverses operacions físiques i mecàniques per tal d'extreure els elements més voluminosos com sorres i greixos. D'aquest procés se n'obtenen uns residus que no són considerats fangs i que es dipositen a l'abocador. Seguidament es desenvolupa el tractament primari on, mitjançant processos físics, com la sedimentació i flotació, i processos químics, com la coagulació i

floculació, s'aconsegueix separar el material insoluble en suspensió de l'aigua com les partícules sedimentàries, les grasses i les escumes, generant un nou residu anomenat fang primari. En el tractament secundari s'apliquen mètodes biològics de degradació de les restes de material orgànic que encara es mantenen a l'aigua mitjançant l'activitat descomponedora de determinats microorganismes, majoritàriament bacteris, que consumeixen matèria orgànica pel seu creixement. El material descompost flocula i sedimenta formant els fangs secundaris. Finalment, en algunes EDARs es realitza un tractament addicional terciari en el qual, mitjançant processos bacterians o químics, s'aconsegueix eliminar els contaminants més resistents a la degradació, com determinats compostos orgànics i inorgànics, nitrogen i fòsfor, que serveixen de nutrients pels organismes aquàtics. De manera que se n'obté un fang residual terciari.

1.1.3.2. Tractament de fangs

El fang resultant del procés de depuració és de consistència líquida, amb un 90-95% d'aigua (ACA). L'aplicació directa dels fangs líquids al sòl està prohibida a Espanya de manera que cal un tractament previ a la seva utilització o eliminació, per tal de complir amb els requisits de protecció de la salut humana i ambiental (Domene, 2007). Els principals processos de tractament són els d'estabilització i deshidratació dels fangs.

a) Estabilització

Consisteix en una sèrie de processos que comporten l'estabilització de la matèria orgànica disminuint la seva capacitat per descomposar-se, així com una eliminació dels organismes patògens creant unes condicions hostils pel seu creixement. D'aquesta manera també s'aconsegueix eliminar les olors provocades pels processos de descomposició i fermentació. Existeixen diversos mètodes d'estabilització, però el més habitual en la majoria de les EDAR és el de **digestió anaeròbica**, que representa el 50% dels fangs produïts a Europa (Thornton et al, 2001). Es basa en confinar el fang en uns tancs tancats a una temperatura de 35°C on els bacteris anaerobis degraden la matèria orgànica generant diòxid de carboni, amoni i metà. Aquest últim constitueix un biogàs que és utilitzat per produir electricitat a la planta i per escalfar les calderes i mantenir la temperatura del tanc (EC, 2001b). Aquest procés es pot desenvolupar a temperatures més elevades, de 55°C, si es vol reduir encara més els sòlids i el contingut de patògens (U.S. EPA, 1995). Es tracta d'un procés senzill i molt comú perquè aconsegueix reduir molt el volum del fang i implica un gran estalvi energètic respecte els altres processos (EC, 2001b). Per exemple, en la digestió aeròbica, un dels altres processos per estabilitzar la matèria orgànica, els microorganismes aeròbics requereixen temperatures

de 70°C, de manera que el cost energètic arriba a ser de 5 a 10 vegades superior que en la digestió anaeròbica (EC,2001b).

b) Deshidratació:

Consisteix en un tractament tèrmic que elimina gran part de l'aigua continguda en el fang mitjançant processos d'assecatge que permeten reduir el volum del fang (EC,2001c). D'aquesta manera s'en facilita la manipulació ja que la pèrdua de pes i volum redueix els costos d'emmagatzamatge i transport. Els mètodes més utilitzats en aquest tractament són l'assecatge a l'aire i diversos sistemes mecànics com premses de filtre (injecció d'aire a pressió en el fang) i centrífugues (separació del contingut d'aigua utilitza del fang mitjançant la força centrífuga), els més utilitzats a Catalunya. Prèviament a aquest procés els fangs s'acondiionen i s'espasseixen mitjançant l'addició de compostos químics que faciliten l'agregació de les partícules més petites i posteriorment s'elimina l'aigua continguda en aquestes partícules concentrant els materials sòlids. Finalment s'obté un nou material anomenat fang deshidratat, amb un contingut de matèria seca d'entre el 20-45% (Domene, 2007). Amb aquesta tractament s'aconsegueix també eliminar determinats patògens que han inhibit el seu creixement perquè s'ha reduït el nivell d'humitat que necessiten per créixer (EC, 2001b).

Amb l'aplicació d'aquests tractaments s'aconsegueix reduir el volum del fang del 25 al 40% (U.S. EPA, 1995), disminuir el contingut d'aigua entre un 15 i 35 % aproximadament (ACA), eliminar les olors, estabilitzar la matèria orgànica i reduir la càrrega de patògens. De manera que s'obté un fang apte per a ser reutilitzat en determinades aplicacions o bé eliminat del tot. De totes maneres, prèviament a la reutilització d'aquests fangs, existeixen altres post-tractaments per higienitzar-los més i eliminar aquells components resistents als processos realitzats. Els principals post-tractaments desenvolupats a Catalunya són el compostatge i l'assecatge tèrmic (veure més endavant).

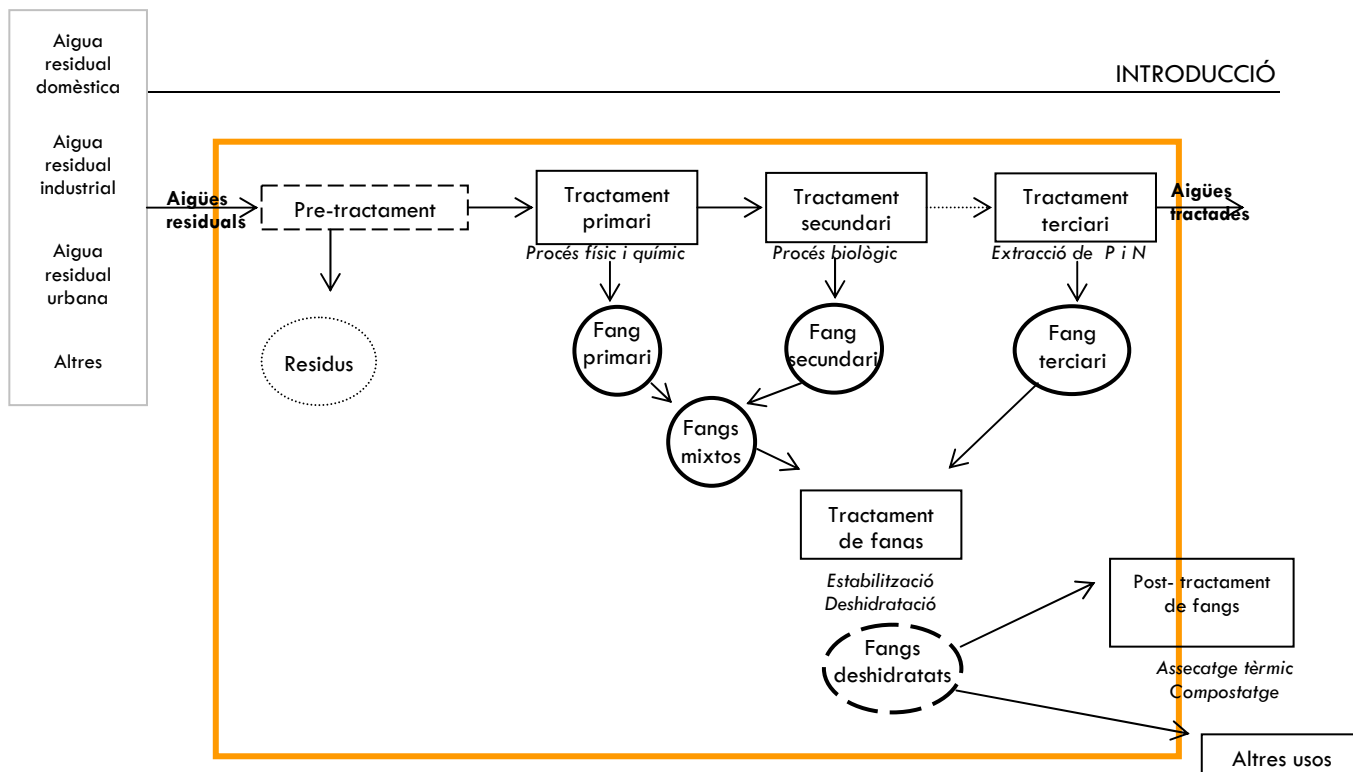


Figura 1. Esquema dels processos de depuració d'aigua que generen fangs residuals. L'àrea marcada representa tot allò que es dur a terme en una mateixa EDAR.

1.1.3.3. Composició del fang

Les característiques i la quantitat de fang depenen de la càrrega de contaminant inicial de l'aigua residual a tractar, així com també de les característiques tècniques dels tractaments de les aigües i del fang. De manera que a vegades fang d'una mateixa EDAR pot tenir composició diferent depenent de l'època de l'any que s'ha produït (U.S. EPA 1995). De totes maneres la seva composició es basa en dos components principals, d'una banda una sèrie d'elements i compostos amb un gran valor agrícola, com matèria orgànica, nitrogen i fòsfor i de l'altra, elements contaminants com els metalls pesants, components orgànics i organismes patògens (EC, 2001b).

Matèria orgànica

La matèria orgànica és un dels components més importants dels fangs residuals, fet que els atorga un considerable interès agrícola. Al voltant d'un 50% del pes sec del fang és matèria orgànica, depenent del post-tractament que s'hi apliqui (EC, 2001b). Es tracta de compostos molt importants per l'estabilitat del sòl, ja que milloren les propietats físiques i l'estructura així com la capacitat de retenció de minerals i aigua, convertint-se en una font d'energia essencial pels microorganismes del sòl. La seva degradació pot augmentar el contingut de nutrients amb un gran valor agrícola pel sòl, com nitrogen, fòsfor, sofre o magnesi (EC, 2001b). La MO del fang, però, és de mineralització i degradació molt ràpides, de manera que no permet un aprofitament total dels nutrients per les plantes.

Nutrients

Un dels altres principals constituents del fang residual són els nutrients com el nitrogen i el fòsfor, entre d'altres, que atribueixen també al fang un gran valor agrícola degut a que són necessaris pel creixement de les plantes (EPA, 2001). Es tracta de macronutrients que les plantes necessiten en grans quantitats pel seu desenvolupament. Si els nivells aportats al sòl d'aquests nutrients són més grans que les quantitats requerides per les plantes es pot produir una contaminació de les aigües subterrànies i superficials. Depenent del tipus de tractament que s'hagin aplicat als fangs, els nivells d'aquests nutrients poden variar significativament (EC, 2001b).

En el cas del nitrogen es tracta d'un constituent del fang que hi pot ser present tant en forma inorgànica, com nitrats (NO_3) o amoni (N-NH_4), o en forma orgànica, majoritàriament en més quantitat. El valor agrícola del fang dependrà de la capacitat de degradació del nitrogen orgànic a formes assimilables per les plantes. La disponibilitat del nitrogen varia d'un 4% a un 60% i depèn també de factors abiòtics com la temperatura, humitat, pH i textura del sòl (EC, 2001b). La forma en que és present el nitrogen al fang en determinarà la disponibilitat per les plantes. D'una banda, el nitrogen amoniacal (NH_3) pot volatilitzar-se quan és aplicat a la superfície del sòl, i de l'altre, els nitrats que es formen al sòl són molt solubles en l'aigua, poden lixiviar-se i contaminar les aigües subterrànies. En ambdós casos es produiria una pèrdua de nitrogen per les plantes (U.S. EPA, 1995).

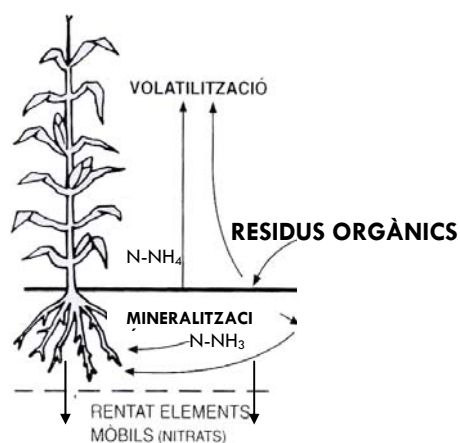


Figura 2. Esquema del destí de les formes de nitrogen en el sòl

Contaminació aigües subterrànies

Referent a un dels altres macronutrients presents en el fang, el fòsfor és utilitzat per les plantes en el seu creixement i desenvolupament del sistema d'arrels. La seva disponibilitat al sòl és majoritàriament en forma mineral i representa entre un 30% i un 98% del total de fòsfor, depenent del tipus de fang (EC, 2001b).

Metalls pesants

Els fangs residuals contenen una gran varietat de metalls pesants com Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb i Zn procedents d'efluents domèstics, d'escorrentia superficial i de les indústries (EC, 2001b). Molts d'ells en baixes concentracions són útils pel creixement de les plantes i sovint s'afegeixen als conreus com a fertilitzants inorgànics (U.S. EPA, 1995). Tot i això, en altes

concentracions poden provocar greus efectes per la salut de les plantes, problemes en les propietats del sòl, als microorganismes, a la salut de les persones i poden acumular-se en el medi ambient incorporant-se a altres ecosistemes (EC, 2001b).

La directiva 86/278/EEC determina uns valors màxims de metalls pesants en el sòl, de manera que les concentracions d'aquests metalls en els fangs dels Estats Membres que s'apliquen a sòls agrícoles s'han de trobar sempre per sota dels llindars establerts (EC, 2001b).

Contaminants orgànics

En els fangs residuals hi ha una gran quantitat de productes químics orgànics de propietats fisicoquímiques molt diferents, procedents de residus industrials, productes domèstics (sobretot detergents) i pesticides (U.S. EPA, 1995). S'incorporen als sistemes d'aigües residuals i s'acaben acumulant als fangs afectant el sòl, plantes, animals i el medi ambient (EC, 2001b) i arribant a introduint-se així a les cadenes alimentàries (Düring 2002). Els principals grups de contaminants que contenen els fangs són: PAH (hidrocarburs aromàtics policíclics), PCB (policlorobifenils), PCDD/F (dioxines i furans), AOX (compostos orgànics halogenats), LAS (alquilbenzens sulfonats lineals) NPE (nonilfenols) i DEHP (dietil-exil-flatat).

Patògens

Els fangs poden contenir microorganismes patògens com bacteris, virus, paràsits i protozous que poden causar impactes sobre les plantes i sobre la salut de les persones i animals si s'incorporen sense tractament als cultius agrícoles i a les aigües superficials i subterrànies. Amb els tractaments d'estabilització dels fangs s'aconsegueix reduir el nombre de patògens en els fangs (U.S. EPA, 1995).

1.1.4. Utilització dels residus orgànics al sòl

1.1.4.1. Usos dels residus orgànics

A partir dels diversos tractaments que s'apliquen al fang generat a les plantes de tractament d'aigües residuals, s'obté un nou fang molt més estable, amb una càrrega molt inferior d'organismes patògens i amb menys contingut d'aigua i, per tant, amb un volum molt més reduït. Es tracta d'un producte que o bé es pot eliminar directament (destí a determinats abocadors) o bé es pot reutilitzar.

Durant els darrers anys hi ha hagut un canvi en la utilització de les diferents vies d'eliminació i reutilització dels fangs. Fins el 1998, els fangs residuals principalment es

dipositaven al fons del mar o bé s'utilitzaven com a adobs en sòls agrícoles (Ødegaard et al., 2002). A partir del 1998, la legislació europea va prohibir l'abocament dels fangs al mar, per tal de protegir el medi marí. Actualment, les principals vies d'eliminació i reutilització són la incineració, el dipòsit en abocadors i l'aplicació a sòls agrícoles. S'estima que el 37% dels fangs produïts a la unió europea s'utilitzen en l'agricultura, l'11% són incinerats, el 40% dipositats en un abocador i el 12% utilitzats en altres pràctiques menys comunes com la restauració de terrenys degradats o la silvicultura (Fytili i Zabanioutou, 2008).

Aplicació al sòl agrícola

L'aplicació dels fangs residuals en sòls destinats a la producció agrícola és una pràctica que es desenvolupa des de segles enrere, quan els pagesos abocaven restes orgàniques en els camps de conreu per aporta'ls-hi aquells nutrients i matèria orgànica que perdien (Jensen 1998). Gràcies al seu contingut en matèria orgànica, nutrients com el nitrogen i el fòsfor i micronutrients (coure, zenc, molibdè, bor, calci, ferro, magnesi i manganès (U.S. EPA, 1995) útils pel creixement de les plantes i altres organismes, el fang té un gran valor fertilitzant per complementar o substituir els fertilitzants minerals millorant així la producció del cultiu. L'encariment dels preus dels fertilitzants minerals fa que s'incrementi la tendència a la reutilització dels fangs en profit de l'agricultura.

La concentració de nutrients en els fangs generalment és més baixa en comparació als fertilitzants comercials. De manera típica, els fangs contenen un 3,2% de nitrogen, un 2,3% de fòsfor i un 0,3% de potassi, mentre que els fertilitzants comercials poden contenir entre un 5 i un 10% de nitrogen, un 10% de fòsfor i entre un 5 i un 10% de potassi (Metcalf & Eddy 1991). Tot i això, l'ús de fangs millora l'estructura del sòl afavorint la capacitat de retenció d'aigua, augmentant la porositat i afavorint la circulació d'aigua i aire, així com el creixement de les arrels de les plantes. De manera que la utilització dels fangs com a adob redueix la necessitat de fertilitzants comercials, reduint l'impacte de l'excés de nutrients introduïts a l'ambient quan s'abusa d'aquests fertilitzants (Domene, 2007).

Tanmateix, el fang conté altres components com metalls pesants i contaminants orgànics que poden ser perjudicials pel sòl i pels productes que se n'obtenen. De totes maneres, la regulació europea estableix límits sobre el contingut de metalls pesants (Directiva 86/276) i, alguns països membres, han determinat límits pels contaminants orgànics (EC, 2001a).

La producció de fangs a les plantes de tractament d'aigües és més o menys constant al llarg de l'any. Ara bé, el seu ús en agricultura és estacional (a l'estiu, després de la collita i a la primavera abans de l'arada i la sembra). Per tant, aquest condicionant pot fer necessari l'emmagatzament dels fangs produïts, fet que, juntament amb el transport d'aquests,

encareixen el procés. Tot i això l'aplicació de fangs als sòls agrícoles resulta ser una via més barata que les altres opcions d'eliminació del fang (EC, 2001b).

Impactes ambientals:

Durant el transport dels fangs es produeixen emissions a l'aire de gasos de combustió dels vehicles, així com també d'aerosols en el cas del transport del fang assecat tèrmicament.

Emissions al sòl d'un excés de nutrients: L'aportació de nutrients del fang supleix els fertilitzants minerals. Tot i això, un excés de nutrients pot portar problemes de contaminació de sòls i d'aigües subterrànies amb la formació de les formes inorgàniques del nitrogen que no són assimilades per les plantes. L'amoni pot volatilitzar-se i passar a l'aire i els nitrats poden infiltrar-se pel sòl i arribar a les aigües subterrànies (EC, 2001b).

Emissions al sòl de contaminants: amb l'aplicació del fang al sòl, s'hi incorporen també elements contaminants continguts en els fangs com metalls pesants, compostos orgànics i patògens. Poden portar efectes de toxicitat a les plantes i organismes i a través de la transferència entre fases, arribar a les aigües i aire i finalment a les cadenes alimentàries.

Incineració

Davant l'aplicació de les normatives que regulen l'ús dels fangs en els sòls agrícoles i el seu dipòsit en abocadors, la incineració ha estat una alternativa molt utilitzada per eliminar els fangs residuals (Malerius i Werther, 2003) en diversos països europeus. Consisteix en una combustió controlada en la qual es barreja el fang amb altres residus i es cremen a altes temperatures d'entre 850°C i 1000°C. Cal que el fang hagi estat prèviament assecat o deshidratat ja que per ser incinerat ha de tenir un contingut mínim de matèria seca d'entre el 30 i 45% (EC, 2001b). En aquest procés es transformen el residu en cendres, escòries (compostos inorgànics), i gas de combustió, reduint així el fang al 20% del volum sec inicial. Durant aquest procés es destrueixen els sòlids volàtils i els patògens, i s'eliminen gran part dels contaminants orgànics. De totes maneres, els metalls pesants queden concentrats en les cendres i en el gas de combustió. Existeixen sistemes de depuració del gas i de l'aigua residual generada en la deshidratació abans de ser alliberats a l'exterior (EC, 2001b) que pretenen reduir-ne el contingut en elements tòxics i contaminants.

Durant el procés de combustió, els fangs alliberen energia que sovint és transformada en electricitat i vapor utilitzats en la mateixa incineradora, de manera que així es pot contrarestar l'energia consumida en el procés (U.S. EPA, 1995). Les cendres són dipositades en abocadors o s'utilitzen en la indústria metal·lúrgica.

La incineració, doncs, és una bona via d'eliminació d'aquells fangs que difícilment poden ser utilitzats en agricultura per la seva manca de qualitat, sempre i quan les condicions d'incineració no permetin l'emissió de contaminants..

Impactes ambientals:

Generació d'emissions al sòl, a l'aire i a l'aigua a través de l'alliberació dels productes de la combustió, com les cendres i el gas. En el cas de les cendres, poden dipositar-se al sòl i a les aigües superficials provocant efectes de toxicitat als organismes i a la salut humana. Pel que fa al gas de combustió, la seva composició depèn del procés realitzat i del tipus de fang incinerat. De totes maneres, acostumen a contenir contaminants com dioxines, metalls pesants, gasos àcids (SO₂, HCl, HF), òxids de nitrogen (NO_x), diòxid de carboni i components orgànics volàtils o adherits a partícules sòlides. Sovint, tot i el post-tractament del gas, determinats contaminants persisteixen en el gas. Una vegada emesos a l'atmosfera, es dispersen a l'aire i poden acabar dipositant-se al sòl i a les aigües superficials arribant així a contaminar també les aigües subterrànies. D'aquesta manera es poden produir greus problemes en els ecosistemes i en els seus organismes, així com també a la salut humana a través de la ingestió d'aigua i aliments contaminats.

Molèsties a la població propera per la generació de soroll, males olors, pols i impacte visual.

Aplicació en abocadors

Durant dècades la deposició dels fangs residuals en abocadors ha estat la principal ruta d'eliminació d'aquests. De totes maneres, amb la implantació de la directiva 1999/31 de la Comissió Europea que regula l'ús d'aquestes instal·lacions pel tractament de residus biodegradables, es preveu una disminució d'aquest ús en els fangs residuals.

L'abocament dels fangs en abocadors controlats consisteix en dipositar-los en àrees de terreny impermeable deixant que vagin degradant-se per l'acció dels microorganismes. El procés d'eliminació dels residus comença amb una fase aeròbica en la que els microorganismes aeròbics van consumint oxigen. Seguidament, A partir d'aquí, apareixen uns altres bacteris anaeròbics, fermentadors i acetogènics que descomponen la matèria fàcilment degradable dels fangs. Durant aquest procés, el pH del medi disminueix i augmenta la solubilitat de les substàncies inorgàniques com metalls pesants. Finalment, els bacteris metanogènics continuen degradant la matèria produïda a la vegada metà. Es necessita més de 30 anys per arribar a descomposar els fangs abocats.

Impactes ambientals:

Emissions a l'aire: El gas generat per l'acció desintegradora dels microorganismes està format bàsicament per metà (50-60%) i diòxid de carboni (40-50%), que poden provocar efectes sobre el clima. En alguns casos el gas és reutilitzat per la generació d'energia. També s'ha trobat elements traça (VOC) en menys de l'1% del volum que poden ser carcinògens i tòxics.

Emissions a l'aigua i al sòl: durant aquest procés es generen líquids lixiviatos que contenen components com ions (Ca^{2+} , K^+ , Na^+ , NH_4^+ , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , Cl^-), metalls pesants, components orgànics i microorganismes. En la majoria de casos aquests són recollits i tractats per evitar que vagin a parar a les aigües superficials o que s'infiltrin en el sòl i vagin a parar a les aigües subterrànies causant greus impactes sobre els ecosistemes i sobre la salut de les persones amb la ingesta d'aigua i de productes contaminats.

Generació de sorolls, pols durant el transport dels vehicles, males olors, presència de petits rosegadors i aus, i pertorbació de la vegetació i del territori.

Existeixen altres aplicacions dels fangs residuals menys utilitzades que les anteriors. Aquestes són la utilització dels fangs en restauració de sòls i en silvicultura.

Restauració de sòls. consisteix en utilitzar els fangs com a adobs per a sòls degradats o a sòls que requereixen protecció davant processos erosius per tal de millorar l'estructura i incrementar la coberta vegetal, aportant un quantitat extra de nutrients (U.S. EPA, 1995). El fang residual significa una alternativa a la utilització de fertilitzants inorgànics i a la importació de coberta vegetal, que pot resultar molt cara depenent de la procedència i de la disponibilitat. És una pràctica que ja s'utilitza en determinats països europeus com Suècia, Finlàndia o Regne Unit (EC, 2001a) i que també ha estat aplicada a Catalunya per a la restauració d'activitats extractives (Alcañiz et al, 2008). No hi ha suficient informació per saber els impactes ambientals i de salut que pot comportar aquesta pràctica. De totes maneres, s'assumeix que aquests impactes són menors que en el cas de l'aplicació agrícola perquè no està relacionat amb la producció alimentària (EC, 2001b)

Silvicultura: consisteix en utilitzar els fangs en la gestió de boscos pel seu aprofitament forestal, bé sigui per reforestació o per producció intensiva. Els beneficis més immediats d'aquest ús són l'increment en el creixement, diàmetre i àrea de cobertura dels arbres. L'aportació de matèria orgànica i nutrients signifiquen una millora del sòl per la disposició d'elements traça sovint molt escassos en sòls forestals, al contrari del què passa en sòls

agrícoles. Tot i això, un aport excessiu de fangs pot portar problemes de degradació de la capa superficial del sòl creant condicions anaeròbiques i lixiviació del nitrogen. A més, es poden produir efectes contaminants per l'acumulació de metalls pesants, tal com passa en l'aplicació agrícola, però en més grau que aquesta perquè les concentracions aplicades en els boscos acostumen a ser superiors a les aplicades en cultius agrícoles. Cal destacar que l'aplicació de fangs en boscos naturals (no de plantació) està totalment prohibit. Es considera que els riscos per la salut humana són inferiors que en l'ús agrícola, ja que els productes forestals ingerits són molt pocs. Tot i això, es pot donar certa transferència de metalls pesants a través d'espècies comestibles o fauna i flora (U.S. EPA, 1995)

1.1.4.2. Efectes contaminants del fang en aplicacions agrícoles

Tal i com ja s'ha comentat, el fang resultant dels tractaments d'aigües residuals té un gran valor agrícola pel seu elevat contingut en matèria orgànica i nutrients essencials pel creixement de les plantes. Tot i això, el fang també conté una sèrie de components contaminants provinents de les aigües tractades que poden causar efectes en les propietats del sòl i en els organismes que hi viuen. D'aquesta manera, poden arribar a alterar diversos ecosistemes i a incorporar-se a les cadenes alimentàries afectant la salut de les persones. Aquests contaminants són bàsicament metalls pesants, contaminants orgànics i organismes patògens (EC, 2001b).

Amb l'augment de la producció de fangs i de l'aplicació d'aquests en l'agricultura sorgeix la necessitat de regular els nivells d'aquests contaminants en el sòl. Des de la comissió europea es va definir la directiva 86/276 sobre utilització dels fangs en l'agricultura en la qual es regula la seva aplicació en funció del contingut en metalls pesants. Pel que fa als altres contaminants, són els propis països, com Àustria, Bèlgica, Dinamarca, Alemanya, França i Suècia, els que han establert nivells de contaminants orgànics (EC, 2001a).

Metalls pesants

El sòl, de manera natural, conté una gran varietat de metalls pesants provinents, principalment, de la mateixa roca mare. Tanmateix, existeixen fonts antropogèniques que contribueixen a augmentar la concentració de metalls al sòl, com per exemple la deposició atmosfèrica, sobretot en sòls propers a zones industrials, la utilització de fertilitzants, les dejeccions animals i l'aplicació de fangs (EC, 2001a).

Amb l'aplicació dels fangs en el sòls agrícoles es produeix un enriquiment de metalls pesants en el sòl com Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Hg i Cr, que, continguts en la dissolució, es

distribueixen entre la fase líquida i la fase sòlid del sòl. Segons evidències científiques, els metalls pesants tendeixen a acumular-se a les capes més superficials del sòl (McGrath and Lane, 1989) i la seva concentració disminueix molt ràpidament amb la profunditat. És per això que el fenomen d'infiltració dels metalls en el sòl es considera pràcticament negligible (EC, 2001b). Ara bé, l'escorrentia juga un paper més important en la transferència de metalls, tot i que no hi ha coneixement suficient sobre els efectes que ocasiona.

La toxicitat dels metalls pesants depèn de la seva biodisponibilitat per les plantes i els microorganismes, és a dir, de la possibilitat de ser presents en la solució del sòl i, per tant, de ser absorbits més fàcilment pels éssers vius; per exemple, els metalls dissolts en forma iònica són més absorbits per les plantes (Düring, 2002). La mobilitat dels metalls varia fàcilment en funció de les tècniques de tractament del fang (Richards et al, 1998). La biodisponibilitat depèn bàsicament del pH i, en menys mesura del contingut de MO, la capacitat d'intercanvi catiònic i de la temperatura, humitat i estructura del sòl. A un pH més baix es produeix més mobilitat dels metalls i, per tant, més biodisponibilitat per les plantes (EC, 2001b). Les plantes necessiten la presència de determinats metalls pel seu creixement. És per això que a concentracions baixes es pot produir una deficiència de metalls, de la mateixa manera que a concentracions altes es pot produir toxicitat dels mateixos (EC, 2001b). Respecte les poblacions microbianes del sòl, molts experiments realitzats se centren en la pèrdua de funcions microbiològiques (Giller et al. 1998), i no en els canvis d'estructura i de diversitat de les comunitats microbianes. Witter et al. (2000) va realitzar un estudi dels canvis en l'estructura de les comunitats microbianes i en la tolerància als metalls i va concloure que l'exposició a metalls pesants provoca impactes negatius a llarg termini per la fertilitat del sòl i pels microorganismes del sòl.

L'absorció dels metalls pesants pels animals passa a través del consum de les plantes contaminades i del sòl. Tot i això, hi ha poca informació disponible sobre les quantitats absorbides i ingerides i, per tant, de la conseqüent toxicitat.

Referent a l'exposició humana als metalls, sembla ser que el consum de productes contaminats n'és la principal causa. Tot i això, s'assumeix que la contribució dels metalls procedents de fangs en la dieta humana és molt baixa, considerant els nivells observats en el sòl (EC, 2001b).

Contaminants orgànics

Quan els components químics orgànics continguts en el fang es disposen en el sòl, es distribueixen entre les tres fases (sòlid, líquid i vapor). La seva distribució no és estàtica i evoluciona amb el temps. La part més fàcilment disponible es troba a la fase aquosa i vapor. Depenent del tipus de contaminants, del tipus de sòl i de les condicions climàtiques, els

contaminants poden experimentar processos de transformació i degradació, processos de retenció (absorció, precipitació, solubilització i volatilització) o bé poden ser transportats per infiltració, escorrentia o volatilització.

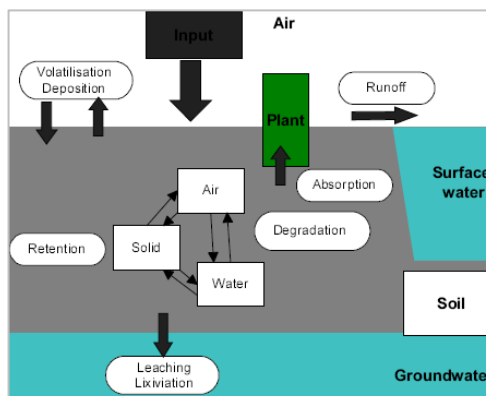


Figura 3. processos implicats en el destí dels contaminants orgànics en el sòl (EC, 2001b)

Amb la degradació d'alguns contaminants orgànics es formen un metabòlits producte de la degradació que poden ser molt més tòxics que la substància original. Cal més consideració d'aquests metabòlits en els protocols analítics (Düring, 2002). S'ha demostrat que l'activitat microbiana és el principal mecanisme de degradació dels contaminants orgànics del sòl (EC, 2001b), essent capaços de degradar fins i tot alguns contaminants que no són presents de forma natural en el medi.

La toxicitat dels components orgànics dependrà de la seva disponibilitat pels organismes vius. Hi ha una sèrie de paràmetres que condicionen el destí d'aquests contaminants: la *solubilitat en aigua* indica la quantitat del component que és capaç de ser dissolta en la fase líquida del sòl i, per tant, infiltrar-se al sòl arribant a contaminar les aigües subterrànies o bé incorporar-se a les aigües d'escorrentia. El *coeficient de partició octanol-aigua* (K_{ow}) i la *constant de Henry* (H) que expressen la tendència del component a localitzar-se a la fase aquosa o orgànica o bé a volatilitzar-se, respectivament. I finalment cal tenir en compte el *temps de vida mitja* que descriu la persistència del component en el sòl i depèn del tipus de contaminant (pot anar d'hores/dies fins a anys/dècades).

Taula 2. Degradabilitat de diferents tipus de components orgànics segons el temps de vida mitja en el sòl. (EC, 2001b)

Mitjana de $T_{1/2}$	Degradabilitat	Components orgànics
>100	Baixa	PCB, PCDD/Fs
$15 < T_{1/2} < 100$	Mitjana	DEHP
<15	Alta	NP/NPE, LAS

La retenció de contaminants orgànics en la fase sòlida del sòl (matèria orgànica) ajuda a reduir la difusió en el medi i, per tant, redueix els seus efectes contaminants. Tot i així, la seva degradació completa és molt més difícil. És el cas, per exemple, dels compostos persistents

com dioxines o PCB, que per la seva gran afinitat a les partícules del sòl fa que s'hi mantinguin sense perdre's per infiltració (EC,2001b). Segons Duarte Davidson et al. 1995, els contaminants amb un temps de vida mitja més curt (menys de 20 dies) es degradaran abans de poder ser infiltrats.

Diversos estudis mostren que hi ha poca transferència dels contaminants orgànics cap a les plantes (O'Connor, 1996) i cap als microorganismes a través del sòl. De totes maneres, sembla ser que la ingestió directa de fang és la principal via de contaminació dels mamífers. Els contaminants es bioacumulen (PCDD, PCH I PAH) en la carn i llet, i el consum d'aquests representa la principal font d'exposició humana als contaminants orgànics dels fangs. Tot i això, igual com passa en el cas dels fangs, la contribució és molt petita (Smith, 2000).

Taula 3. Classificació de substàncies orgàniques (UMK-AG 2000, de EC, 2001b)

Substància	Toxicitat humana / mamífers	Ecotoxicitat	Solubilitat en aigua	Persistència	Nivells de concentració
AOX	-	-	-	-	Alts
LAS	Mitjana	Aq: alta; ter: mitjana; bioac: alta	Alta	Mitjana	Alta
DEHP	Baixa	Aq: mitjana - alta; ter: baixa; bioac: alta	Baixa	Mitjana	Alta
Nonilfenols	Mitjana	Aq: alta; ter: mitjana; bioac: alta	Alta	Mitjana	Alta
PCBs	Mitjana (causant de tumors)	Aq: alta; ter: alta; bioac: alta	Baixa	Alta	Baixa i en continua disminució
PCDD/Fs	Alta, carcinogen	Aq: alta; ter: baixa; bioac: alta	Baixa	Alta	Baixa

La Unió Europea va desenvolupar un esborrany de Directiva, l'anomenat "Working document on sludge" (EU, 2000) per tal de promoure l'ús dels fangs en l'agricultura i a la vegada millorar la seguretat i harmonitzar els estàndards de qualitat. Proposa valors límits de concentracions de metalls pesants i contaminants orgànics (LAS, DEHP, NP(E), PAH, PCB and PCDD/F) en els fangs i promou bones pràctiques en el tractament i ús agrícola.

Organismes patògens

Els organismes patògens observats en els fangs poden ser bacteris, virus, fongs i llevats, paràsits, cucs i protozous. La seva distribució en el sòl es troba bàsicament a la superfície o fins a poca profunditat. La penetració en el sòl depèn de la seva textura, del contingut en MO i de la profunditat efectiva del sòl.

La supervivència dels patògens depèn de factors directes i indirectes com els climàtics (llum solar, temperatura, dessecació o pH), característiques del sòl (textura i humitat), quantitat de fang abocat, contingut de patògens del fang, el seu contingut en MO i la presència d'organismes que competeixin amb els patògens. Es troben adherits a les partícules del sòl i poden ser transportats per l'aigua d'escorrentia provocant, així, contaminació de l'aigua superficial. La seva supervivència a les plantes és molt més curta que en el sòl degut als efectes de la dessecació i de la llum solar.

La transmissió a animals domèstics i de granja es dona via ingestió d'aliments contaminats i de partícules de sòl. D'aquesta manera, l'exposició humana als organismes patògens és a través del consum de productes vegetals o carn crus o semi-cuits.

Tot i això, la concentració de patògens als fangs pot reduir-se durant els tractaments dels fangs abans de la seva aplicació al sòl (U.S. EPA, 1995).

1.1.4.3. Tractaments aplicables als fangs per millorar les propietats agrícoles

Una vegada el fang generat a la depuradora ha estat estabilitzat i deshidratat és quan ja és apte pel seu ús en l'agricultura. Tot i això, tal i com ja s'ha vist anteriorment, aquest fang digerit conté encara concentracions de determinats metalls pesants, de components orgànics i la presència d'organismes patògens. És per això que existeixen post-tractaments per acabar d'higienitzar els fangs com l'assecatge tèrmic i el compostatge.

Assecatge tèrmic

Aquest procés consisteix en eliminar gran part del contingut d'aigua dels fangs sotmetent-los a elevades temperatures. Es pot arribar a perdre més del 90% de l'aigua continguda (Domene, 2007). D'aquesta manera s'aconsegueix reduir el volum i la massa, fet que permetrà una reducció dels costos de transport respecte el fang sense tractar i el compost. D'altra banda, s'aconsegueix també eliminar els patògens que moren quan són sotmesos a aquestes temperatures. Tanmateix, aquestes condicions de calor poden propiciar la formació de substàncies orgàniques contaminants (Tarrasón, 2004). El procés d'assecatge tèrmic requereix una despesa energètica molt elevada respecte els altres tractaments (EC, 2001b) i genera pudors a causa de les altes temperatures.

Compostatge

El compostatge consisteix en un procés biològic aerobi termòfil on l'acció descomponedora dels microorganismes degrada la matèria orgànica continguda en el fang, digerint els

compostos orgànics i transformant-los en d'altres de més simples (Rynk, 1992). Per tal d'aconseguir una diversitat microbiana cal mantenir els requisits que els microorganismes encarregats de transformar la matèria necessiten. D'una banda, la presència d'oxigen necessari pel desenvolupament de l'activitat dels microorganismes i de l'altra la humitat (del 40 al 60%) i la temperatura (Soliva, 2001).

El material per compostar ha d'estar format per una barreja de fangs deshidratats amb un *agent estructurant* (estella de fusta, restes de poda de jardins urbans, closca d'arròs, palla o materials prèviament compostats) que serveix per millorar-ne la porositat i evitar la compactació, facilitant així les condicions aeròbiques necessàries pel procés. El producte resultant del compostatge és un material amb aspecte d'humus anomenat compost amb excel·lents propietats fertilitzants.

El procés de compostatge es pot dur a terme en plantes de compostatge independents o bé en les mateixes EDAR. El procés es desenvolupa en dues fases. Una primera de descomposició en la que els bacteris mesòfils simplifiquen les molècules, fent desaparèixer les més fàcilment degradables. En aquesta fase, es produeix un augment de la temperatura (que pot arribar als 65°C) i disminució del pH per la formació d'àcids orgànics, aconseguint així la destrucció dels agents patògens (Pérez, 2007). Durant aquest període de temps, que pot durar en funció del tipus de compostatge, es produeixen lixiviats i males olors. La segona fase és la de maduració en la que la generació de calor és molt més inferior que en la primera fase i en la que els microorganismes termòfils colonitzen el compost mig madur. La velocitat del procés és molt més lenta. Es genera una intensa competició pels aliments formació d'antibiòtics i aparició d'antagonismes; i al final s'obté un producte més o menys estable, segons la durada (Soliva, 2001). La durada del procés de compostatge pot oscil·lar, depenent de diversos factors (sistema, tecnologia, disponibilitat d'espai, etc.), entre 8 i 14 setmanes.



Figura 4. Producte del procés de compostatge (Aigües de Manresa)

Existeixen tres tipus principals de compostatge diferents: compostatge en pila, en piles airejades estàtiques i compostatge en túnel. El primer cas consisteix en acumular la mescla en piles allargades exposades a l'aire i anar-les voltejant sovint per oxigenar-les, controlant sempre que la humitat i la temperatura siguin constants a totes les parts. Les piles airejades estàtiques són piles de forma rectangular en la qual l'oxigen s'injecta a partir de tubs

perforats a la base de la pila. I finalment, el compostatge en túnel es fa en túnels tancats on la temperatura i els nivells d'oxigen poden ser estrictament registrats i controlats. També permet un control de la velocitat del procés i de l'entrada i sortida d'aire, de manera que pot ser capturat i tractat per eliminar pudors.

Amb el compostatge s'aconsegueix reduir el volum fins a un 50% i el pes inicial fins a un 40% de manera que es facilita la seva manipulació i emmagatzement sense generar olors.

El compost resultant del procés disposa d'un gran valor agrícola i representa una bona alternativa en l'aplicació dels fangs digerits en el sòl. D'una banda, amb la formació de macro-agregats (Düring i Gäth, 2002) es millora les propietats físiques del sòl aportant-li estabilitat i augmentant la seva permeabilitat i capacitat de retenció hídrica, molt importants per la conservació del sòl. De l'altra, representa un aport de micronutrients i macronutrients com el nitrogen, convertint-lo en la seva forma orgànica. D'aquesta manera es produeixen menys pèrdues de nitrogen i es redueix la capacitat de lixiviar-se, evitant la contaminació de les aigües subterrànies. A més, els compostos húmics presents en la matèria orgànica formen complexos augmentant així la possibilitat de ser assimilats per les plantes (Pérez, 2007). És conegut també que el procés de compostatge ajuda a disminuir el contingut de components orgànics que no s'han degradat en els processos anteriors. És el cas dels PCB, que se n'acumulen un 50% menys en el compost que en els fangs residuals (Düring i Gäth, 2002); o el dels PAH, que són definitivament degradats amb el compostatge (Lazzari, et al.,2000 i Potter et al.,1999).

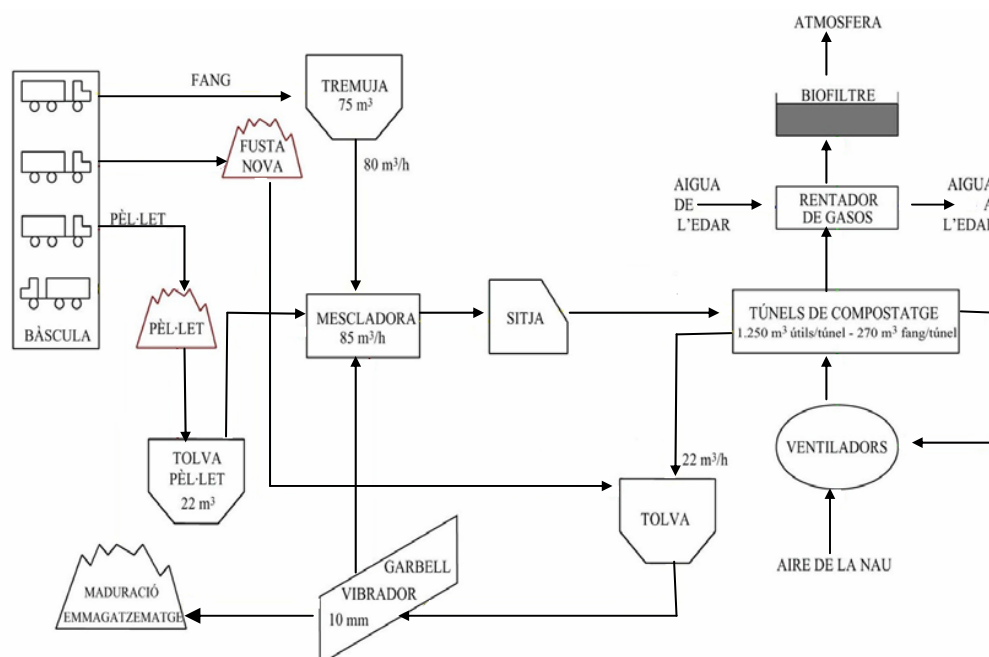


Figura 5. diagrama del funcionament d'una planta de compostatge. [Medi ambient. Generalitat de Catalunya].

El fang i compost utilitzats en el present estudi s'han obtingut de l'EDAR de Blanes i de la de Manresa que, juntament amb Taià, Vila-seca/Salou i Olot, són les úniques plantes de compostatge de fangs que es troben en servei actualment a Catalunya.

EDAR de Blanes

La planta de tractament d'aigües residuals de Blanes, a la comarca de la Selva, està en funcionament des de l'any 1997 i és gestionada pel Consorci de la Costa Brava. El sistema de depuració utilitzat és el de fangs activats. Les aigües d'entrada a la planta provenen de la xarxa d'aigües residuals urbanes del municipi de Blanes. Les aigües resultants del tractament són abocades directament al mar o bé utilitzades per a la recàrrega dels aqüífers i per al reg agrícola (Consorci de la Costa Brava). Els fangs obtinguts són digerits anaeròbicament i tractats posteriorment amb el compostatge mitjançant el sistema en túnel.

Figura 6. imatge de l'EDAR de Manresa (GoogleEarth). Planta de compostatge dels fangs residuals: 1: espesseïdor de fangs; 2: digestor anaerobi; 3: edifici d'assecatge; 4: nau de compostatge; 5: túnels de compostatge; 6: filtres biològics; 7: gasòmetre



EDAR de Manresa

La planta de tractament d'aigües residuals de Manresa, construïda l'any 1985, va ser la primera del Pla de Sanejament de Catalunya. Es troba situada a la comarca del Bages i és gestionada per Aigües de Manresa, SA. L'aigua tractada, mitjançant el sistema de fangs activats, procedeix de la xarxa d'aigües residuals urbanes del municipi de Manresa i de Sant Julià de Vilatorrada. La planta de tractament de fangs tracta tots els fangs generats a les diferents depuradores gestionades per Aigües de Manresa, mitjançant canals equipats amb sistema d'aireig i volteig.



Figura 7. imatge de l'EDAR de Manresa (GoogleEarth). Planta de compostatge dels fangs residuals: 1: recull dels fangs biològics; 2: espesseïdors; 3: digestors; 4: emmagatzament de gas; 5: deshidratació de fangs; 6: compostatge; 7: tractament de l'aire de la planta de compostatge

1.2. ANÀLISIS ECOTOXICOLÒGICS COM A EINES DE PREVENCIÓ DE LA CONTAMINACIÓ

1.2.1. Risc ecològic dels residus orgànics

Optimitzar la producció és un dels objectius principals pel qual s'apliquen al sòl els fangs residuals i el compost, de la mateixa manera que els fertilitzants minerals, pesticides o dejeccions ramaderes. Tanmateix, també s'incorporen al sòl quantitats d'elements contaminants que poden provocar efectes a l'estructura del sòl i als seus organismes, que sovint es negligeix (Bünemann et al.2006). És per això que cal controlar la quantitat i la qualitat dels productes que s'apliquen al sòl (Düring i Gäth, 2002), per tal de no provocar efectes a les seves propietats i, en conseqüència, a la producció agrícola, protegint a la vegada les funcions principals del sòl com a element central de l'ecosistema (Kördel and Römbke 2001).

Per a la determinació de la toxicitat dels fangs habitualment s'utilitzen anàlisis químics que permeten identificar els nivells de contaminants presents en els residus i en el sòl (Domene et al., 2006), tot i presentar certes limitacions. D'una banda requereixen d'una identificació prèvia de la substància a testar, de manera que no permeten aconseguir un coneixement extens de les classes de contaminants potencialment presents. A més, suposen un cost analític molt elevat si es vol cobrir tots els contaminants presents en el sòl. De l'altra, aporten informació sobre la biodisponibilitat dels contaminants o dels seus productes de degradació, però no fan èmfasi en la toxicitat pels organismes del sòl, entre d'altres (Crouau et al., 2001). És per això que és necessari complementar els anàlisis químics amb assaigs biològics, per així assegurar la determinació completa del risc que pot suposar la presència del contaminant (Paton et al., 2005). Els mètodes biològics es basen en la identificació dels efectes ecotoxicològics dels contaminants.

L'ecotoxicologia estudia els efectes tòxics sobre els organismes vius de substàncies químiques i agents físics que són introduïts en un ecosistema. Per tal de determinar la significació ecològica, considera especialment els efectes sobre les poblacions i comunitats de l'ecosistema (Moriarty, 1999). Els efectes ecotoxicològics es determinen mitjançant **bioassaigs ecotoxicològics**, que aporten informació sobre els efectes dels contaminants en paràmetres de rellevància ecològica com la reproducció o la supervivència dels organismes del sòl (Crouau et al., 2001). El principal objectiu dels tests és obtenir dades dels efectes dels contaminants sobre

les espècies estudiades, per tal d'indicar riscos sobre espècies similars i ecosistemes i així obtenir relacions causa-efecte d'allò observat (Domene, 2007).

1.2.2. Bioassaigs ecotoxicològics aplicats a residus orgànics

La realització d'un bioassaig consisteix en testar els efectes de determinat fang o compost, a una determinada dosi, sobre una espècie en concret representativa del sòl per tal de veure efectes en la reproducció i supervivència dels individus. Poden ser espècies vegetals o animals, així com també fongs o d'altres microorganismes. Es pretén crear unes situacions el més similars possibles a les de la realitat, ja siguin al laboratori o al camp.

Els bioassaigs es consideren científicament vàlids, representatius i comprensibles, amb un objectiu final clar a aconseguir que permet la comparació entre indrets diferents. Es tracta d'uns anàlisis sensibles als canvis ambientals, de manera que l'aproximació a la realitat sempre és més real. En comparació als anàlisis químics, els biotests acostumen a ser molt més barats i simples d'utilitzar (Paton et al., 2005).

Tanmateix, l'extrapolació de resultats dels assaigs ecotoxicològics al laboratori amb una sola espècie implica un nombre elevat d'incerteses (Riepert i Kula, 1996) degut a la manca d'interacció d'aquesta espècie amb altres representatives al sòl i degut a la poca representativitat ambiental de les condicions al laboratori. Malgrat tot s'han observat aproximacions ecològiques encertades referents a paràmetres com producció primària o descomposició, a partir de dades de supervivència i creixement (Van Straalen, 2003).

Existeix, però, molta flexibilitat en la realització dels bioassaigs per manca de suficients protocols estandaritzats, sobretot referent als animals del sòl. És per això que nombrosos tests per ambients aquàtics on s'utilitzen bacteris, algues i invertebrats, s'han realitzat seguint protocols estàndards de contaminació de l'aigua (Crouau et al., 2001).

Els bioassaigs ecotoxicològics es poden agrupar en diferents categories: tests al laboratori amb una sola espècie, tests amb múltiples espècies al laboratori (microcosmos) o al camp (macrocosmos) i tests amb múltiples espècies directament al camp (macrocosmos) (CSTEE 2000):

Tests al laboratori amb una sola espècie: es creen unes condicions ambientals de temperatura i humitat en tot moment controlades pel desenvolupament de l'espècie a estudiar. Es realitzen

bioassaigs amb espècies de microorganismes, plantes i invertebrats. Referent a aquest últim grup, s'estudien protozous, nematodes, crustacis, coleòpters, milpeus, àcars, col·lèmbols, enquitreids, cucs de terra i mol·luscs. La determinació de qualsevol efecte en algun d'aquests organismes permet indicar efectes en organismes similars, i, per tant, efectes en les funcions que realitzen al sòl (Domene, 2007).

Existeixen molt pocs tests estandaritzats, i els que ho són, no es consideren alternatives als anàlisis químics dins la legislació europea (Domene, 2007). Els principals protocols estandaritzats a Europa referents a organismes del sòl són el test de reproducció i supervivència en enquitreids (*Enchytraeus sp.*) [ISO 16387:2004], el test de reproducció de cucs de terra (*Eisenia fetida* i *Eisenia andrei*) [ISO 11268-1:1993, 11268-2:1998 i ISO 17512 respectivament] i el test de desenvolupament de la població en col·lèmbols (*Folsomia candida*) [ISO 11267:1999].

Tests microcosmos i mesocosmos: consisteixen en tests amb diferents espècies (Smith, 1991) per tal d'obtenir resultats amb més rellevància ecològica, ja que els canvis en el comportament de les espècies microbianes i d'invertebrats del sòl afecten a la biota total i no només a la seva pròpia espècie (Kapanen i Itävaara, 2001). D'una banda, el microcosmos pretén simular una situació real al laboratori confinant un espai amb condicions similars a l'exterior. Per contra, el mesocosmos es desenvolupa o bé a l'exterior o bé en un laboratori però amb condicions ambientals naturals com pluja i sol, permetent l'intercanvi de gasos, nutrients i aigua. Malgrat tot, els assaigs de multiespècies al laboratori de residus orgànics són encara molt poc utilitzats (Domene, 2007).

Tests directament al camp (macrocosmos): es tracta de processos molt més llargs però més adequats a la realitat, ja que, d'una banda en els testos a escala de laboratori els efectes a l'exposició poden ser molt més grans i, de l'altra, es realitzen sota condicions òptimes pel creixement i reproducció dels organismes sense quedar afectats per factors com la deficiència de nutrients, la sequera o la temperatura (Kapanen i Itävaara, 2001). L'extrapolació dels resultats de laboratori al camp és realment difícil (Van Gestel and Van Straalen, 1994). Malgrat tot, no existeixen protocols estandaritzats per a la realització dels bioassaigs directament al sòl, a excepció de l'ISO 11268-3:1999 per a la determinació dels efectes contaminants en comunitats de cucs de terra (Domene, 2007).

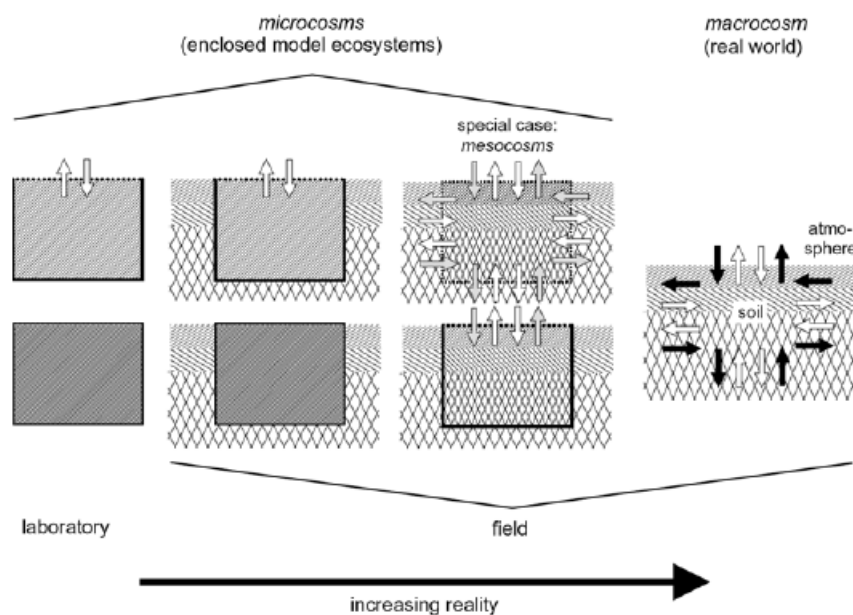


Figura 8. representació de tests microcosmos, mesocosmos i macrocosmos. L'intercanvi de matèria (gas, aigua i nutrients) es representa amb les fletxes blanques. L'intercanvi de fauna entre el mesocosmos i el medi es representa amb fletxes grises, si es tracta de moviments controlats, o fletxes negres, en el cas de moviments ilimitats. (Domene, 2007; reproduït per Kampichler et al., 2001).

1.2.3. Importància dels organismes del sòl en els bioassaigs

Els bioassaigs ecotoxicològics poden ser sobre microorganismes, plantes o bé fauna del sòl.

Tests amb microorganismes: acostumen a ser bioassaigs a curt termini que avaluen els efectes negatius sobre l'activitat microbiana d'un medi que provoca l'exposició a elements tòxics. Els paràmetres que es consideren són, principalment, la inhibició de l'activitat enzimàtica dels organismes (bacteris, fongs, algues i protozous), així com els efectes letals, el creixement de la població i els canvis en la diversitat d'espècies. Els canvis en l'activitat microbiana poden afectar essencialment a les funcions del medi en el que es troben (Kapanen i Itävaara, 2001).

Tests amb plantes terrestres: les plantes, mitjançant la captura d'energia solar i la seva transformació en energia química i la capacitat d'aportar oxigen i sucres al medi, representen un dels components més importants dels ecosistemes (Smith 1991). La sensibilitat de les plantes a substàncies químiques del medi és molt diversa i varia constantment. Els tests de fitotoxicitat són els més utilitzats en les diferents anàlisis ambientals amb plantes. Els paràmetres avaluats són els efectes sobre la germinació i el creixement de plantes i arrels (Boelens et al., 1996; Campbell et al., 1995). L'OECD 208 (1984) ha desenvolupat bioassaigs amb plantes: *Plantes terrestres, test de creixement*.

Tests amb fauna del sòl: els invertebrats del sòl són organismes molt útils per l'avaluació de la toxicitat de substàncies al sòl. Estan exposats als contaminants del sòl per contacte directe (ingestió de sòl i aigua) i transferència per xarxes tròfiques (Sheppard and Evenden, 1994).

Les funcions de la macrofauna del sòl són, bàsicament, processar el material orgànic (cargols, cucs de terra, enquitreids, milpeus, formigues i termites), la predació (aranyes i formigues) i la formació de l'estructura del sòl (cucs de terra). Pel que fa a la microfauna, com protozous, nemàtodes, isòpodes, col·lèmbols i àcars, és l'encarregada de regular les activitats bacterianes i fungicides, de manera que influeixen indirectament en la descomposició de la matèria orgànica. Els cucs de terra milloren la incorporació de MO per sota la superfície del sòl, augmentant el nombre d'agregats estables del sòl i afavorint la infiltració de l'aigua, aireació i penetració de les arrels i activitat microbiana (Pankhurst, 1997).

Existeixen nombrosos mètodes per testar la toxicitat de determinades substàncies, però pocs d'ells estan ben estandaritzats. Prèviament a escollir un bioassaig és important tenir les següents consideracions sobre l'elecció de l'espècie (Paton et al., 2005):

- Que representi un espectre de funcions ecològiques en ambients sans i rellevància ambiental.
- Que visqui dins el sòl o estigui directament relacionada amb el contaminant.
- Que presenti sensibilitat a un rang ampli de contaminants.
- Que reflecteixi la gran diversitat de nínxols ecològics associats al sòl.
- Que desenvolupin els cicles de vida dins del sòl, permetent estudiar el creixement en les diferents fases.

Els organismes que s'utilitzen en els bioassaigs són protozous i nemàtodes, isòpodes, milpeus, àcars, mol·luscs, col·lèmbols, enquitreids i cucs de terra. Malgrat tot són els tres últims grups d'organismes els més utilitzats en bioassaigs ecotoxicològics.

Els protozous i nemàtodes, degut a que viuen en l'aigua continguda en els porus del sòl, molts dels mètodes d'anàlisis dels efectes negatius de la toxicitat estan adaptats a mostres aquàtiques. Sovint existeixen problemes en l'extrapolació dels resultats dels tests, ja que acostumen a realitzar-se en medis artificials, la composició dels quals pot afectar els resultats (Van Straalen i Van Gestel, 1993).

Els isòpodes són un grup de crustacis fàcilment cultivables al laboratori, però amb un cicle de vida molt llarg. No existeixen tests estandaritzats per aquest grup d'organismes (Kapanen i Itävaara, 2001).

Els milpeus representen un altre grup important d'invertebrats del sòl sapròfita (descomponedors). Existeixen, també, molt pocs tests d'ecotoxicitat per aquest grup d'organismes (Val Gestel i Van Straalen, 1994).

Els àcars Oribàtids comprenen nombroses espècies, però la utilitzada en els tests és el *Platynothrus peltifer*. Els paràmetres estudiats són la supervivència, la reproducció i la producció d'ous. Es tracta d'un test molt laboriós i molt llarg de 9 a 12 setmanes (Kapanen i Itävaara, 2001).

Tan sols s'han realitzat tests amb el mol·lusc *Helix aspersa*, exposant-lo via aliment al contaminant i avaluant la supervivència, el comportament reproductiu, el creixement de la closca i el consum d'aliment (Van gestel i Van Straalen, 1994).

Moltes espècies de col·lèmbols es poden utilitzar en els bioassaigs (*Folsomia candida*, *Folsomia metaria*, *Isotoma viridis*, *Onychiurus armatus*, *Onychiurus quadriocellatus*, *Orchesella cincta* i *Tullbergia granulata*). Malgrat tot, existeix tan sols un protocol estandaritzat per l'espècie de *Folsomia candida*. Es tracta d'organismes que representen una part integral dels ecosistemes del sòl i són vulnerables als efectes de la contaminació del sòl. La seva abundància i diversitat ha fet que s'usin àmpliament en l'estudi dels impactes al medi de contaminants del sòl. Poden exposar-se al contaminant a través del sòl i de l'aliment en una bateria de tests que examinin els paràmetres de supervivència, la bioacumulació i els efectes en el comportament (Fountain i Hopkin, 2005).

Els enguitreids poden ser fàcilment cultivats en agar i en substrats artificials. Els organismes del test s'exposen a diferents concentracions de la substància a testar barrejada amb sòl artificial. Aquest test avalua els efectes en la reproducció i supervivència (Kapanen i Itävaara, 2001)

Els cucs de terra són vulnerables a la majoria de factors que afecten a l'ecosistema del sòl, especialment aquells que provenen dels agroquímics. S'utilitzen principalment les espècies *Eisenia andrei* i *Eisenia fetida*. Els cucs responen a molts productes químics de maneres molt diverses, augmentant la seva massa, incrementant la mortalitat i disminuint la reproducció (Callahan, 1988).

Les espècies d'organismes més utilitzades en bioassaigs ecotoxicològics són *Folsomia candida*, *Enchytraeus crypticus* i *Eisenia fetida*. Existeixen protocols estandaritzats per aquests grups d'organismes en la determinació de la toxicitat. Es tracta d'espècies representatives de la fauna del sòl i amb sensibilitat per a un ampli rang de substàncies contaminants. Són fàcilment cultivables al laboratori i tenen un cicle de vida relativament curt, que en facilita el seu estudi.

2. MATERIALS I MÈTODES

2.1. MATERIALS TESTATS

2.1.1 Obtenció i caracterització del compost

El substrat utilitzat en els tests dels diferents organismes va ser una mescla d'un sòl natural al que s'hi va afegir diferents dosis de compost procedent de dues plantes de tractament d'aigües residuals de Catalunya. Per a la realització dels tres tests ecotoxicològics, s'utilitzaren dos fangs de depuradora i els seus corresponents composts obtinguts a les estacions depuradores d'aigües residuals de Blanes i de Manresa. Els composts van ser obtinguts a diferents temps corresponents a les fases principals del procés de compostatge.

Els processos de compostatge de les dues plantes són diferents, de manera que per tal de mostrejar les mateixes etapes en ambdues EDARs, els temps de les mostres de compost preses van ser diferents. (Annex II)

EDAR Blanes

A l'EDAR de Blanes, la fase termòfila del procés de compostatge es realitza en túnel, consistent en cambres tancades amb injecció d'aire que permeten un control relatiu del procés de compostatge. Per tant, l'accés no hi és possible fins que finalitza la fase termòfila, de manera que en aquest cas no es va prendre mostra del mig d'aquesta fase i, per tant, només es van prendre 5 mostres en total. El material estructurant que es va barrejar amb els fangs residuals era estella de fusta.

T0 (0 dies) Inici compostatge. Mostra sense compostar.

T28 (28 dies) Final fase termòfila. Es pren el material ja garbellat a la planta a 10 mm una vegada ha finalitzat la fase termòfila, just a l'inici de la fase de maduració.

T40 (40 dies) 2 setmanes maduració.

T79 (79 dies) 8 setmanes maduració.

T107 (107 dies) 12 setmanes maduració.

EDAR Manresa

A l'estació depuradora d'aigües residuals de Manresa realitzen el tractament de compostatge dels fangs residuals en pila a l'aire lliure. El material estructurant que s'afegeix als fangs per millorar el procés consisteix en marro de cafè i escorça. Es van prendre 6 mostres de compost en diferents temps del procés:

T0 (0 dies) Inici del compostatge. Mostra de fang sense compostar.

T7 (7 dies) Meitat de la fase termòfila. Es va prendre la mostra de les piles obertes a l'aire.

T14 (14 dies) Final de la fase termòfila. Es va prendre la mostra una vegada ha finalitzat el procés termòfil i comença la fase de maduració

T28 (28 dies) 2 setmanes de maduració.

T67 (67 dies) 8 setmanes de maduració.

T95 (95 dies) 12 setmanes de maduració.

Una vegada obtingut el compost necessari, cal aconseguir una mostra homogènia pels bioassaigs per tal de simplificar l'estudi. Per aconseguir-ho la mostra es va assecat durant 48 hores a 80°C i es va garbellar a 10 mm per tal de permetre comparar els diferents materials, ja que tots els composts es garbellen a aquesta mida quan acaba la fase termòfila. Posteriorment, es va fer una trituració lleugera seguida d'un garbellat a 5mm per tal d'assegurar la homogeneïtat de la mostra i permetre major precisió en la preparació de les mescles amb sòl.

Les propietats físico-químiques i el contingut de metalls pesants dels diferents composts tractats es mostren a la taula 4. Cal tenir en compte que difereixen entre les dues EDARs tractades ja que cada una utilitza un procés de compostatge diferent.

L'anàlisi de les propietats físico-químiques el va dur a terme Applus Agroambiental (Sidamón, Lleida). La matèria seca, el pH a l'aigua exterior, la conductivitat elèctrica, el nitrogen total i el contingut de matèria orgànica es van mesurar d'acord a EN 12880 (2000), EN 13037 (1999), EN 13038 (1999), EN 13342 (2000) i EN 12879 (2000), respectivament.

La matèria orgànica no-hidrolitzable estable i el nitrogen no-hidrolitzable han estat mesurats com a percentatge de la matèria orgànica i del nitrogen restants en el residu després d'una hidròlisi àcida, tal i com va descriure Rovira i Vallejo (2002). El nitrogen amoniacal s'ha mesurat a partir de la destil·lació de les mostres fresques.

L'anàlisi dels elements com fòsfor, potassi, crom, níquel, plom, coure, zinc, mercuri i cadmi s'ha dut a terme per l'ICP-MS d'acord amb ISO 11885 (1996).

Taula 4. Propietats físicoquímiques dels residus sotmesos a procés de compostatge procedents de l'EDAR de Blanes i de Manresa

Propietats	unitats	RESIDU BLANES					RESIDU MANRESA					
		T0	T28	T40	T79	T107	T0	T7	T14	T28	T67	T95
Matèria seca	% s.m.f	92,2	92,0	91,0	89,3	94,4	93,2	94,7	92,2	93,9	92,1	92,5
Crom (Cr)	ppm s.m.s	59	130	124	112	63	41	54	70	63	88	66
Niquel (Ni)	ppm s.m.s	28	23	26	30	21	20	21	32	28	29	24
Plom (Pb)	ppm s.m.s	40	41	52	59	38	23	25	43	39	52	37
Coure (Cu)	ppm s.m.s	331	288	338	358	276	127	125	200	186	215	181
Zinc (Zn)	ppm s.m.s	616	775	838	840	492	361	473	768	648	836	697
Mercuri (Hg)	ppm s.m.s	1,12	1,31	1,08	1,24	1,08	0,46	0,83	1,19	1,15	1,24	1,19
Cadmi (Cd)	ppm s.m.s	1,0	1,0	1,1	1,2	0,9	0,5	0,6	1,0	0,9	1,1	0,8
pH a l'aigua ext 1:5		6,7	7,1	7,0	7,2	7,1	6,2	7,0	7,2	7,2	7,2	7,1
Cond. Elec a 25°C ex1:5	dS/m	7,06	8,02	8,54	9,31	8,50	3,26	4,18	4,07	4,25	4,05	4,28
matèria orgànica	% s.m.s.	66,3	54,2	51,7	50,2	53,6	80,2	67,1	62,2	59,2	53,0	59,5
N Kdelkahl m.seca (N)	% s.m.s.	2,49	2,36	3,43	3,26	2,68	2,18	2,21	2,93	2,94	3,06	2,99
N amoniacal m.fres. (N)	% s.m.s.	0,92	1,25	1,51	1,54	1,31	0,59	0,80	0,81	0,78	0,84	0,89
Fósfor (P)	% s.m.s.	2,73	3,57	4,10	3,92	3,42	0,94	1,44	1,69	1,83	2,14	1,84
Potassi (K)	% s.m.s.	0,28	0,35	0,40	0,38	0,40	0,32	0,38	0,39	0,40	0,38	0,43
C:N		13,3	11,5	7,5	7,7	10,0	18,4	15,2	10,6	10,1	8,7	9,9
MO resistent	% s.m.s.	33,5	28,9	26,2	25,5	29,5	55,7	46,1	40,7	40,3	34,1	40,3
Grau d'estabilitat	% s.m.s.	50,6	53,3	50,6	50,7	55,0	69,5	68,7	65,5	68,1	64,3	67,7
Nitrogen (No hidr.)	% s.m.s.	1,69	1,63	1,60	1,59	1,73	1,66	1,84	1,82	1,84	1,83	1,83
Nitrats (NO3) s.m.f.	ppm	25	60	55	180	410	25	30	310	705	795	1438

2.1.2 Obtenció i caracterització del sòl

El sòl utilitzat en la mescla amb el compost es va obtenir als camps experimentals de la Universitat Autònoma de Barcelona. Per les seves propietats físicoquímiques i de composició es considera representatiu de sòls agrícoles formats sobre sediments calcaris, típics a les depresions com el Vallès, Penedès, i comarques de la plana de Lleida (Taula 5).

El sòl es va garbellar amb una malla de 5 mm, es va assecar a l'aire durant dues setmanes i es va defaunar mitjançant l'alternança de dues fases de congelació (4 dies a -20°C) amb un període de 4 dies a 20°C . D'aquesta manera, es va assegurar l'eliminació de fauna natural del sòl que pogués alterar els resultats dels experiments.

Taula 5. Caracterització del sòl procedent dels camps experimentals de la UAB utilitzat en els bioassaigs amb les tres espècies d'invertebrats del sòl.

Propietats		Sòl UAB
Lloc		Camps experimentals UAB
Ús del sòl		Camp de cereals
pH	aigua, 1:5	8,3
Sorres grosses	%	25,8
Sorres fines	%	13,9
Llims	%	44,9
Argiles	%	18,7
Carboni orgànic	%	2,63
Nitrogen total	%	0,18
C/N		14,6
Capacitat d'intercanvi catiònic	cmol/kg	13,9
Capacitat de retenció d'humitat	%	49,5
Cd	mg kg ⁻¹	<0,1
Cr	mg kg ⁻¹	25
Cu	mg kg ⁻¹	121
Ni	mg kg ⁻¹	19
Pb	mg kg ⁻¹	35
Zn	mg kg ⁻¹	104

2.1.3 Preparació de la mescla

Els tres tests ecotoxicològics emprats en el present estudi avaluen els efectes de l'aplicació al sòl de quatre dosis diferents de fang o de compost, comparant-ho amb els efectes que s'observen en una mostra de control. El control correspon al mateix sòl utilitzat per preparar les mescles amb fangs i composts.

La determinació de les dosis de fang o compost s'ha realitzat en funció de les dosis habitualment utilitzades en diferents pràctiques d'aplicació d'aquests materials en els sòls. D'una banda, les dues dosis baixes (3 i 10 T/ha) corresponen a les utilitzades en aplicacions agrícoles com a fertilitzant, mentre que les dues altes (50 i 125 T/ha) corresponen a les que es podrien aplicar per a la restauració de zones degradades.

Dosis agrícoles

Les dosis assajades es van triar en funció dels límits d'aplicació de fangs a sòls marcats per a cada país dins el marc de la Directiva 86/278/EEC (EC, 2001a) (Taula 6). S'ha escollit com a dosi agrícola màxima la del país més permissiu (Dinamarca, 10 T/ha i any), mentre que com a dosi agrícola baixa s'ha triat la dosi màxima mitjana a la Unió Europea (2,99 T/ha i any).

Taula 6. Quantitats màximes de fangs residuals per a ser aplicats al sòl (tones de matèria seca per hectàrea i any) establerts pels països membres de la Comisió Europea. (EC, 2001a)

	T DM ha-1	no years	T / ha & year
Àustria	2,5 / 10	2	1,25 / 5
Bèlgica (Flandes)	4	2	2,00
	2	2	1,00
Bèlgica (Walloon)	12	3	4,00
	6	3	2,00
Dinamarca	10	1	10,00
Alemanya	5	3	1,67
Irlanda	2	1	2,00
Luxemburg	3	1	3,00
Holanda	2	4	0,50
	1	2	0,50
Portugal	6	1	6,00

1,25

5

mitjana	2,99
mediana	2,00

Dosis de restauració

Com a dosis de restauració s'han pres les habitualment utilitzades en aquesta activitat. D'una banda una dosi de compost moderada de 50 T/ha, la màxima recomanada per a l'aplicació de fangs (Alcañiz et al. 2008), mentre que l'altra correspondria a una dosi molt elevada equivalent a 125 T/ha, que s'havia utilitzat en restauració de pedreres i també en la recuperació de terrenys de mineria del carbó (Sopper, 1993). Es tracta en els dos casos d'aplicacions úniques

Al laboratori es van utilitzar les dosis equivalents (g/kg) a aquestes dosis de camp (T/ha), suposant un sòl típic de densitat 1,25 g·cm⁻³ i amb una capa arable de 0,2 m:

$$\frac{\text{T fang}}{\text{ha}} \cdot \frac{1000000\text{g fang}}{1 \text{ T fang}} \cdot \frac{1 \text{ ha sòl}}{2500 \text{ T sòl}} \cdot \frac{1 \text{ T sòl}}{1000 \text{ kg sòl}} = \frac{\text{g fang}}{\text{kg sòl}}$$

Per tant, les dosis finalment utilitzades en el test del laboratori en g/kg de sòl varen ser les següents:

Taula 7. dosis de residus orgànics (g/kg) utilitzades en els bioassaigs d'ecotoxicitat equivalents a les dosis aplicables al sòl (T/ha·any).

	dosis (T/ha·any)	equivalència (g/kg)	
Agrícola	3,0	1,2	mediana UE
Agrícola	10	4,0	max Dinamarca
Restauració	50	20	restauració baixa
Restauració	125	50	restauració alta

A partir de les mostres de compost i de sòl ja preparades, es va preparar la mescla d'ambdós per tal de preparar el substrat dels tests. Tenint en compte els tres bioassaigs a realitzar, es va calcular que es necessitarien 1400 g de mescla de cadascuna de les dosis i temps, dels quals se n'utilitzarien 1000g pel test d'*Eisenia fetida*, 200g pel d'*Enchitreus cripticus* i 200g més pel de *Folsomia candida*.

2.2. REALITZACIÓ DELS BIOASSAIGS

2.2.1. *Folsomia candida*

Amb la realització del test de *Folsomia candida* es pretén aconseguir dades de supervivència i reproducció dels individus quan són exposats a dosis creixents de fang o compost.

2.2.1.1. Descripció de l'espècie

Folsomia candida és una de les espècies d'artròpodes més abundants a la Terra, amb una àmplia distribució geogràfica des de zones d'alta muntanya fins a boscos tropicals i zones litorals. Són abundants en sòls amb un elevat contingut de matèria orgànica com en sistemes agrícoles, boscos, sòls humits, etc. Són els organismes edàfics més utilitzats en ecotoxicologia de sòls.

Taxonomia

Folsomia candida és una espècie de la família Isotomidae, caracteritzada per tenir un òrgan saltador situat a l'abdomen i els tres segments posteriors de l'abdomen fusionats. Es tracta d'un grup d'insectes petits, amb una longitud d'entre 1.5 i 3.0 mm a l'estat madur, sense ales, amb les potes i antenes ben desenvolupades i de coloració blanca o lleugerament

grogosa. Disposa d'un òrgan post-antenal darrera la base de cada antena, per on, probablement, detecta les substàncies químiques de l'aire.

<i>Fílum</i>	Atròpoda
<i>Classe</i>	Insecta
<i>Subclasse</i>	Entognatha
<i>Ordre</i>	Collembola
<i>Família</i>	Isotomidae
<i>Gènere</i>	Folsomia
<i>Espècie</i>	candida



Figura 9. Individus de *Folsomia candida*

Reproducció i desenvolupament

La població de *Folsomia candida* consisteix exclusivament de femelles partenogèniques. Els individus necessiten entre 20 i 24 dies per assolir la maduresa sexual i ser capaços de produir descendència. Cada adult pot generar entre 30 i 50 ous esfèrics, de color blanc i amb un diàmetre de 80-110µm. El temps de maduració d'aquests depèn directament de la temperatura a la que es trobin, de manera que a temperatures baixes l'interval de temps és més gran. La temperatura òptima de maduració és de 21°C en la qual els ous tarden uns 12 dies a incubar-se i produir els juvenils.

La fecunditat es pot veure alterada per una sobrepoblació (>1 animal/cm²) que pot provocar d'una banda un increment en el canibalisme dels ous i, de l'altra, estrès per la falta d'espai, per la producció de feromones o per una contaminació del substrat degut als productes residuals. Tot això podria comportar una reducció del nombre d'ous i malformacions en el desenvolupament d'alguns individus.



Figura 10. cicle biològic del col·lèmbol *Folsomia candida*.

Fisiologia i comportament

Tots els individus de *Folsomia candida* estan adaptats a condicions de sòl sec (Hilligsoe, 2003), per la qual cosa disposen d'una sèrie d'adaptacions fisiològiques a la dessecació i absorció del vapor d'aigua.

Davant la manca de tràquea, l'aportació d'O₂ es duu a terme via cutícula. Degut a les fluctuacions de temperatura i humitat a les que està subjecte la superfície del sòl, es poden donar situacions en les que els nivells de CO₂ al sòl siguin elevats. Davant això, *Folsomia candida* és capaç de sobreviure durant períodes considerables a aquestes condicions i arribar a convertir-se en una espècie dominant en les comunitats de col·lèmbols exposades a molt CO₂ (Fountain, 2004)

Les vies de contacte amb substàncies químiques per aquests col·lèmbols són a través de l'aliment i de la cutícula, per on respiren. És per això que existeixen diverses vies d'exposició, des de l'aigua i aire fins a l'aliment i superfícies contaminades per on es mouen (Fountain, 2004).

2.2.1.2 Establiment i manteniment dels cultius

Per a la realització dels cultius de *Folsomia candida* es van utilitzar recipients rectangulars de polietilè de 17.5 cm x 12.5 cm x 7.5 cm (1200 cc de volum), plens d'un substrat d'un centímetre de gruix, format per una barreja de guix de Paris amb carbó vegetal, proporció 9:1 en volum, i amb un volum aproximadament igual d'aigua destil·lada. La raó de la utilització del carbó vegetal és per absorbir els gasos residuals i productes d'excreció dels organismes i, a la vegada, el seu color negre facilita l'observació dels col·lèmbols de coloració blanca.

El substrat presenta una estructura sòlida, de manera que se li fan uns petits talls per facilitar així la deposició dels ous. Per evitar la dessecació dels cultius cal humitejar el substrat amb aigua en tal quantitat que quedi humit però no inundat.

S'introdueixen uns quants adults dins dels recipients amb substrat de cultiu, juntament amb alguns mil·lígrams de llevat i es mantenen en condicions de foscor i temperatura constant de 21 ± 1°C. Cal anar-los airejant dos cops a la setmana i afegir-hi aigua i aliment setmanalment. El substrat es va renovant i es transfereixen uns quants individus a nous substrats cada 8 setmanes per tal de reduir la densitat i evitar així la sobrepoblació, que pot portar a una disminució en la posta d'ous dels col·lèmbols. Per tal d'aconseguir individus d'una mateixa edat, es transfereixen un nombre determinat d'individus adults a un nou cultiu fresc perquè

posin els ous en dos dies. Es treuen del recipient i al cap de 9-11 dies els primers juvenils ja surten dels ous i 12-15 més tard aquests ja han madurat i poden començar a posar ous.

2.2.1.3 Preparació del test de reproducció

La preparació del test es feu 24 hores abans de l'inici del bioassaig. Per a la realització del test es van utilitzar recipients de plàstic de 100 ml (5 cm de diàmetre), seguint el protocol ISO 11267:1999 que es van omplir de la mescla de sòl i fang o compost. Prèviament, per tal d'aconseguir una textura i estructura adequades per a cada concentració es van anar afegint petites quantitats d'aigua fins assolir una textura òptima. Aquestes quantitats es van determinar tenint en compte la capacitat de retenció d'aigua de la mescla de 49,5%, tal i com indica la ISO 17512 (2005), definida com la quantitat màxima d'aigua que pot absorbir un sòl. De manera que es va ajustar la humitat al voltant del 50-60% (w/dw) del WHC en el cas dels controls i de les dues dosis baixes i al voltant del 55-75% en les dues concentracions de compost més elevades. Així es va aconseguir que totes les concentracions tinguessin una estructura i aparença humida similars.

Es van preparar 5 rèpliques per a cada temps i dosi de compost, seguint l'ISO 11267:1999. Cada rèplica consistia de 62 g de mescla humida en el cas de les dosis baixes i del control i 63 g en el cas de les dosis altes. (Annex III)

2.2.1.4 Realització del test de reproducció

Inici del test

S'introdueixen 10 individus de 10-12 dies d'edat a cada recipient, revisats acuradament per tal de reduir al màxim la mortalitat i evitar errors sistemàtics. Se'ls hi afegeixen 2mg de llevat a la superfície i se'ls hi torna a afegir 14 dies més tard. Es mantenen durant 28 dies a una temperatura de $21 \pm 1^\circ\text{C}$, a condicions de foscor i s'airegen dos cops a la setmana. Durant aquest temps assoleixen la maduresa sexual i produeixen descendència. No hi havia pèrdues d'humitat degut a que els pots estaven tancats hermèticament.

Final del test

Transcorreguts els 28 dies, s'avocà el contingut dels recipients a 500 ml d'aigua, de manera que els adults i juvenils quedaven flotant a la superfície de l'aigua. S'afegia tinta que acoloria l'aigua d'un color fosc que permetia un bon contrast dels adults i juvenils, de color

blanc. Després es pren una fotografia, degut a que salten i es mouen contínuament, de manera que amb la imatge obtinguda es poden comptar amb més facilitat a través del programa software Image Tool 3.0. Es distingeixen els juvenils dels adults per la clara diferència de mida, permetent el càlcul de la supervivència i de la reproducció dels individus amb què es va començar l'experiment.



Figura 11. Final del bioassaig. Fotografia pel recompte dels individus

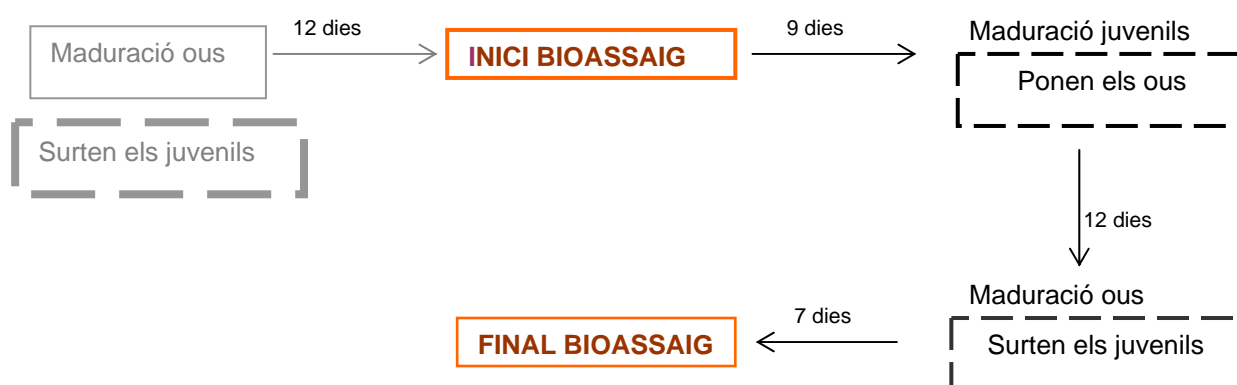


Figura 12. procés de realització del test ecotoxicològic amb *Folsomia candida*, segons l'ISO 11267:1999.

2.2.2 *Enchytraeus crypticus*

A partir de la realització del test d'*Enchytraeus crypticus* s'obtiniran dades de supervivència i de reproducció dels individus afegits quan són exposats a dosis creixents de fang o compost.

2.2.2.1. Descripció de l'espècie

Enchytraeus crypticus és un grup d'anèl·lids edàfics molt utilitzat en ecotoxicologia de sòls. És un grup molt divers d'organismes del sòl que formen grans poblacions, de l'ordre de milers per m² en sòls amb un alt contingut orgànic. La biologia d'aquest grup d'anèl·lids no és ben coneguda (Römke, 2003).

Taxonomia

Es tracta d'un grup d'oligoquets d'una longitud molt més petita que els lumbrícids (*Eisenia fetida*), d'entre 1mm a 5 cm, relativament uniformes en la seva aparença externa. Estan caracteritzats també per la formació del cliteli durant el procés de reproducció i per tenir menys quetes que els poliquets. Presenten una coloració blanca que sovint permet visualitzar el contingut fosc dels seus intestins a través de la pell del cos.

<i>Fílum</i>	Anèl·lids
<i>Classe</i>	Oligochaeta
<i>Subclasse</i>	
<i>Ordre</i>	Tibufida
<i>Família</i>	Enchytraeidae
<i>Gènere</i>	Enchytraeus
<i>Espècie</i>	crypticus



Figura 13. Individus d'*Enchytraeus crypticus*

Reproducció i desenvolupament

Tenen reproducció sexual, tot i que es creu que es reproduïxen fortament per reproducció asexual (fragmentació i posterior regeneració). El procés reproductiu és el mateix que en el cas d'*Eisenia fetida*. El temps necessari per completar una generació és d'uns 20 dies, a una temperatura de 20±2°C (Jänsch et al. 2005).

El seu cicle de vida és més ràpid que en el cas de l'*Enchytraeus albidus*, un altre grup utilitzat en toxicologia de sòls (ISO 16387: 2004)

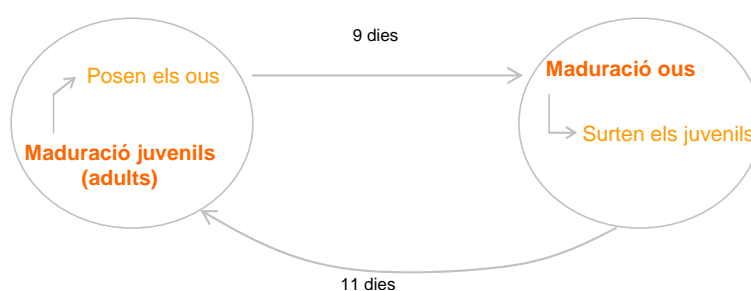


Figura 14. cicle biològic d'*Enchytraeus crypticus*. A partir de Jänsch et al. 2005 i Westheide, 1996.

Fisiologia i comportament

La locomoció es dóna mitjançant els moviments peristàltics de la musculatura del cos. A diferència d'Eisenia, degut a la mida relativament més petita, no produeixen canals i caus ben formats.

S'alimenten de fragments de plantes descomposades i minerals del sòl que són ingerits en quantitats proporcionals a la seva disponibilitat (Römke, 2003).

2.2.2.2. Establiment dels cultius

Els cultius d'*Enchytraeus crypticus* s'han dut a terme en caixes de plàstic de 30 cm x 60 cm x 10 cm el substrat de les quals era una mescla de torba i sòl natural prèviament defaunat a partir de dos cicles de congelació de 4 dies a -20°C , amb cicle intermig de 4 dies a 20°C .

Els cultius es mantien en una cambra climàtica a una temperatura de $21^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ i a condicions de foscor. Una vegada a la setmana s'airejava el substrat i dues vegades a la setmana s'alimentaven amb flocs de civada pulveritzats que es col·locaven a la superfície del substrat. En el cas d'observar un creixement excessiu de fongs al menjar, aquest era retirat.

2.2.2.3. Preparació del test de reproducció

Prèviament a la realització del test (24 hores abans), es va dur a terme el procés de preparació de les mostres, que va consistir ajustar la humitat de la mescla al voltant del 50-60% (w/dw) del WHC (49.5%) en el cas dels controls i de les dues dosis baixes i al voltant del 55-75% en les dues concentracions de compost més elevades per tal d'aconseguir una textura i estructura adequades. Seguidament es van omplir amb la mescla humida els recipients de plàstic de 100 ml de volum i 5 cm de diàmetre utilitzats en aquest assaig. El mètode utilitzat corresponia a una modificació del protocol estandard (ISO DIS 16387: 2004), en termes de la durada del tests, tal com suggereix en Kuperman et al. (2006).

Es van preparar 5 rèpliques per a cada temps i dosi de compost, on s'hi afegien aproximadament 62g de substrat humit per potet en el cas de les dosis baixes i 63g en les dosis altes. Finalment s'afegia a cada rèplica uns 25 mg de civada triturada com aliment. (Annex III)

2.2.2.4. Realització del test de reproducció

Inici del test

Una vegada preparades les mostres, s'introduïren 10 enquitreids adults a cada recipient (visibles pel seu cliteli ben desenvolupat). Els individus es varen obtenir fàcilment dels cultius afegint aliment a un punt concret del cultiu, que va fer que s'hi acumulesin fent molt més fàcil l'extracció. Els individus es recolliren amb pinces entomològiques i foren col·locats en una placa de petri amb aigua destil·lada. Allà, a més del rentat de qualsevol ou que portessin enganxat, era més fàcil identificar i seleccionar les adults.

Els pots utilitzats en el tests es mantenien tancats hermèticament per evitar la pèrdua d'humitat. Es guardaren a una cambra climàtica a condicions de foscor i a una temperatura de $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. S'airejaren dos cops per setmana i van ser alimentats una vegada a la setmana.

Final del test

El test va finalitzar transcorregudes quatre setmanes, temps suficient com perquè els individus hagin donat lloc a la primera generació de descendència. Per a la realització del recompte de la descendència, els individus van ser fixats omplint els recipients amb alcohol al 75% fins a cobrir la terra. Posteriorment els individus eren tenyits amb una dissolució de colorant Rosa de Bengala en alcohol (1:100). S'afegiren unes 30 gotes de colorant a cada recipient, quedant els individus tenyits de color vermell-rosat al cap de 24 hores.

Per a fer el recompte, el contingut de cada pot es va col·locar en un sedàs de 0,05 mm de llum, i fent-hi passar aigua de l'aixeta, va ser rentat de tot material fi que dificultés el recompte dels individus per terbolesa. Un cop rentat, es transvasen petites quantitats de mostra a una placa de petri quadrícula en la qual es feia recompte a ull nu, distingint-se els adults dels juvenils per la seva mida. També es van incloure en el recompte els individus que havien quedat fixats en les parets del recipient. El recompte es va completar 48 h després de la fixació per evitar qualsevol alteració dels individus tenyits.



Figura 15. Final del bioassaig amb *E.crypticus*; recompte dels individus adults i juvenils.

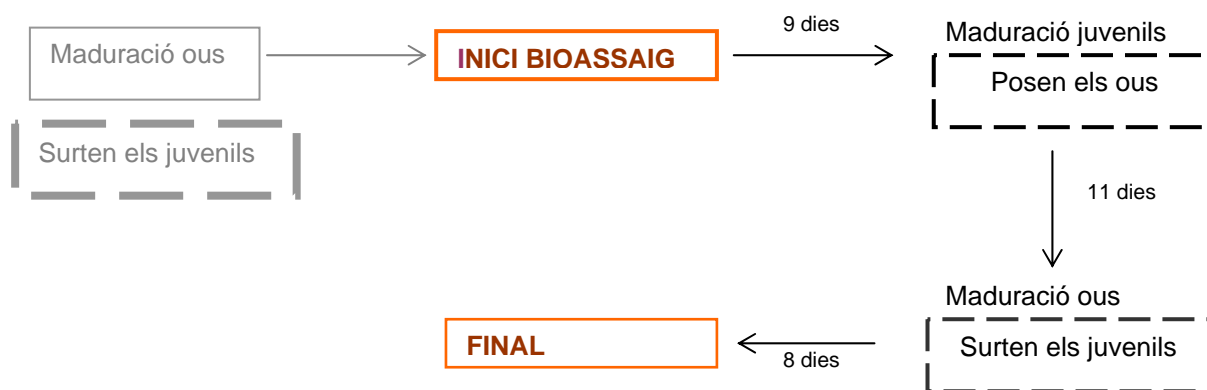


Figura 16. procés de realització del test ecotoxicològic amb *Enchytraeus crypticus*, segons l'ISO 16387:2004.

2.2.3. *Eisenia fetida*

Amb la realització del test d'*Eisenia fetida* es pretén obtenir dades de creixement i mortalitat dels individus adults així com de la reproducció quan són exposats a dosis creixents de fang o compost. És per això que la metodologia de realització del test es va dividir en dues parts. En la primera part, que es fa al cap d'un mes de començar el test, es retiren els adults i es determina la seva supervivència i els canvis en la seva massa. Després de retirar els adults, comença la segona part, consistent en un mes addicional d'incubació en el qual emergeixen juvenils dels ous que han deixat els adults durant el primer mes. Al final d'aquest segon mes, es realitza un recompte dels juvenils.

2.2.3.1. Descripció de l'espècie

Es tracta d'un anèl·lid edàfic, molt present en zones amb una gran acumulació de matèria orgànica en descomposició. És molt utilitzat en els bioassaigs ecotoxicològics pel seu paper fonamental en l'estructura del sòl.

Taxonomia

Eisenia fetida pertany a la classe dels oligoquets caracteritzats per la formació del cliteli en la reproducció i per la poca quantitat de quetes, en comparació als poliquets. De cos vermiforme i cilíndric, tenen una longitud d'entre 8 i 10 cm i de 3 a 5 mm de diàmetre i presenten una pigmentació vermellosa del cos amb un anell dorsal marró a cada segment.

<i>Fílum</i>	Anèl·lids
<i>Classe</i>	Oligochaeta
<i>Subclasse</i>	Haplotaxida
<i>Ordre</i>	Lumbricina
<i>Família</i>	Lumbricidae
<i>Gènere</i>	Eisenia
<i>Espècie</i>	fetida



Figura 17. Individus d'*Eisenia fetida*

Reproducció i desenvolupament

Els individus d'*Eisenia fetida* són hermafrodites, amb gònades diferenciades, produint a la vegada ous i esperma. El desenvolupament és directe, sense fases larvàries, i es dona dins de les càpsules que secreta.

En el moment de la còpula s'uneixen dos individus cap amb cua i realitzen una transferència mútua i dirigida de l'esperma, que emmagatzemen en espermateques fins que se separen. Disposen del cliteli, una estructura reproductora que apareix quan l'individu és madur sexualment. Es tracta de la formació d'un anell mucós al voltant del cos que cobreix parcial o completament els segments, anomenat capoll, a on es desenvoluparan els ous.

Una vegada acabada la còpula és quan l'individu secreta el capoll que es va desplaçant fins a l'extrem anterior recollint els òvuls i l'esperma emmagatzemada. La fecundació és externa i es dona a l'interior del capoll, que finalment se separa del cos formant una estructura en forma de càpsula on es donarà el desenvolupament dels ous.

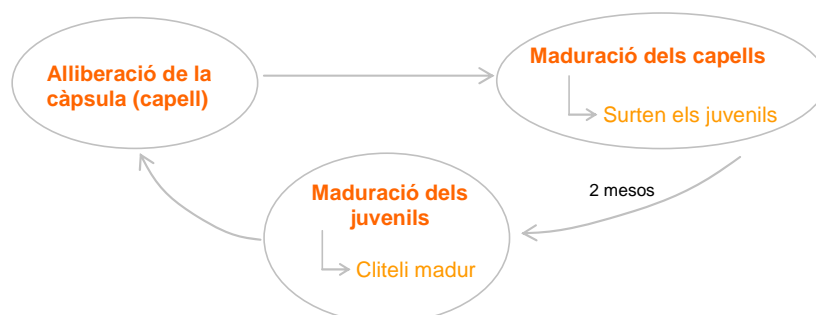


Figura 18. cicle biològic d'*Eisenia fetida*.

Fisiologia i comportament: Importància en el sòl

Els individus d'*Eisenia fetida* es mouen a través del sòl amb moviments peristàltics de contracció de la musculatura de les parets del cos formant una sèrie de canals i caus que afavoreixen l'aireació i el drenatge incrementant la porositat del sòl, a la vegada que

proporcionen canals pels creixement de les arrels. D'altra banda, amb la formació d'aquests canals transporten gran quantitat de matèria orgànica de la superfície del sòl, com restes de plantes mortes, a les parts més profundes, de la mateixa manera que mitjançant la ingestió de minerals del sòl de les zones profundes els transporten a la superfície. Com a resultat d'aquesta activitat, els components minerals i orgànics del sòl es mesclen entre ells i formen complexos organo-minerals, els quals són característics de sòls fèrtils.

S'alimenten de matèria descomposta, mostrant, generalment, preferència per materials rics en nitrogen, excretant com a producte final els residus en forma d'agregats que afavoreixen a l'estabilitat del sòl.

Realitzen un intercanvi de gasos a través de la pell. Els nivells de CO₂ del sòl poden ser varis cents de vegades més elevats que els nivells atmosfèrics degut a la respiració bacteriana. Quan els cucs de terra troben aquests medis, l'eliminació per difusió del seu propi CO₂ respiratori es pot veure dificultada per un gradient de concentració desfavorable, de manera que eliminen el CO₂ de manera digestiva.

La pell del cos és molt fina i permeable, de manera que els protegeix poc de la pèrdua d'aigua i, per tant, pateixen molt risc de deshidratar-se. Per això els ambients en els que viuen tenen un grau d'humitat molt elevat.

2.2.3.2. Establiment i manteniment els cultius

Per al cultiu d'*Eisenia fetida* es van utilitzar caixes de polietilè de 30 litres de capacitat plenes d'un substrat format d'una barreja de fems de cavall i torba a proporció 50:50, humitejada però no molla. Un cop per setmana els cultius eren alimentats amb una cullerada de flocs civada humitejats.

Per a la realització del test es necessiten cucs de terra d'un mínim de 2 mesos i un màxim d'un any. Per això es va renovar de forma continuada els cultius i anotar l'edat dels individus durant els mesos previs a l'experiment per tal d'aconseguir una bona quantitat d'adults i d'edat coneguda. El substrat del cultiu es renova cada dos mesos i la densitat dels adults es va mantenir al voltant d'uns 300-400 individus per caixa, per evitar una sobrepoblació que podria provocar un descens en la reproducció. Retirant els adults d'un cultiu vell s'assegurava la sincronització d'edat dels juvenils presents en el substrat vell. Fent això successivament van produir diversos cultius d'edat sincronitzada que van poder ser utilitzats en els tests.

Els cultius sincronitzats es varen mantenir en cambres climàtiques a 21°C±1°C i a condicions de foscor durant tres o quatre mesos, temps que va permetre el creixement i maduració sexual dels juvenils.

2.2.3.3. Preparació del test de reproducció

Les mescles de sòl i fang o compost així com l'addició d'aigua a la mescla es feu 24 hores abans de l'inici del bioassaig. Aquesta vegada, degut a la mida més gran d'aquests organismes en comparació amb els anteriors, es van utilitzar recipients de plàstic d'un litre amb una tapa transparent foradada que permetia un cert intercanvi de gasos entre el medi i l'atmosfera, així com l'entrada de la llum.

Per la preparació del substrat es va ajustar la humitat de la mescla al voltant del 50-60% (w/dw) del WHC (49.5%) en el cas dels controls i de les dues dosis baixes i al voltant del 55-75% en les dues concentracions de compost més elevades per adequar la textura i estructura. En aquest cas es van preparar 4 rèpliques per a cada dosi i compost i 6 rèpliques en el cas del control que contenien uns 310g de mescla en les dosis baixes i 317 en les altes. (Annex III)

2.2.3.4. Realització del test de reproducció

Inici del test

Un dia abans de l'inici del test de reproducció es van seleccionar individus adults (amb cliteli) amb un pes entre 250 i 600 mg. Es van introduir 6 individus adults a cada recipient, tot i que se'n recomanen 10 en el protocol ISO 11268-2 per manca de cultius suficients. Per tal d'aconseguir una distribució homogènia de pesos en les diferents dosis i reduir l'error degut a una distribució desigual de pesos, la selecció dels individus es feu en grups de 6 en 6, dipositant-los en pots, un per a cada rèplica. A partir del pes mitjà de cada grups, cadascun d'aquests grups es va ordenar de més a menys pes i es van anar assignant primer en les rèpliques número 1 de cada dosi, seguit de les rèpliques número 2 i així successivament fins la rèplica 4.

Abans de cobrir els recipients amb les tapes de plàstic, es va afegir una cullerada de civada humida com a aliment. Els pots es mantingueren en una cambra climàtica fosca durant quatre setmanes a una temperatura de $21^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$. Segons l'ISO 11268-2 se'ls ha d'alimentar un cop cada setmana, però com que es va observar que durant aquest període no es menjaven tot l'aliment, es va optar per alimentar-los un cop cada dues setmanes. Durant aquest temps les pèrdues d'humitat del substrat es van avaluar cada dues setmanes pesant els recipients i afegint-hi l'aigua perduda en cas d'ésser necessari.



Figura 19. Recipients utilitzats en el test d'ecotoxicitat amb *E.fetida*

Final de la fase 1

Passades quatre setmanes des de l'inici del test es treuen els individus adults dels recipients, els quals durant aquest període han deixat descendència. En aquest moment s'analitza la mortalitat dels adults així com la variació en la seva biomassa per pesada de cadascun dels individus.

L'extracció dels adults es va fer abocant tot el contingut del recipient en una plata per tal d'extreure els individus mitjançant unes pinces, retornant la mescla de substrat al pot, la qual conté la descendència dels adults. Posteriorment es van comptar i pesar un per un els adults en una bàscula de precisió, prèviament rentats per tal d'eliminar les restes de sòl incrustades al seu cos que podrien alterar el pes.

Un cop retirats els adults i retornat el substrat al recipient, es va tornar a afegir aliment i a incubar durant quatre setmanes més per tal que la descendència es desenvolupés en les mateixes condicions anteriorment descrites.



Figura 20. Final de la primera fase del bioassaig amb *E.fetida*. Es pesen els individus adults un a un anteriorment rentats amb aigua.

Final de la fase 2

Al cap de quatre setmanes més d'incubació s'arriba al final del test ecotoxicològic, temps suficient perquè tots els juvenils hagin emergit i tinguin una mida prou gran com per ser comptats. Segons l'ISO11268-2 existeixen dues metodologies d'extracció dels individus juvenils. En el cas que el sòl sigui fi es pot passar tot el contingut del recipient per un sedàs i així seleccionar els individus. En el nostre cas vem utilitzat l'altre mètode degut a que la textura del sòl no és suficientment fina com per facilitar el recompte. En concret, consisteix en escalfar els recipients amb un bany d'aigua, cobrint-lo fins més amunt de l'alçada de la mescla a una temperatura de $60 \pm 2^\circ\text{C}$ durant 20 minuts. D'aquesta manera, els juvenils surten al centre de la superfície del substrat fugint de l'escalfor, facilitant així la seva extracció mitjançant unes pinces entomològiques, i posterior col·locació en alcohol. Finalment es feu el recompte de tota la descendència abocant el contingut del pot en una plata gran que en facilitava la seva observació.

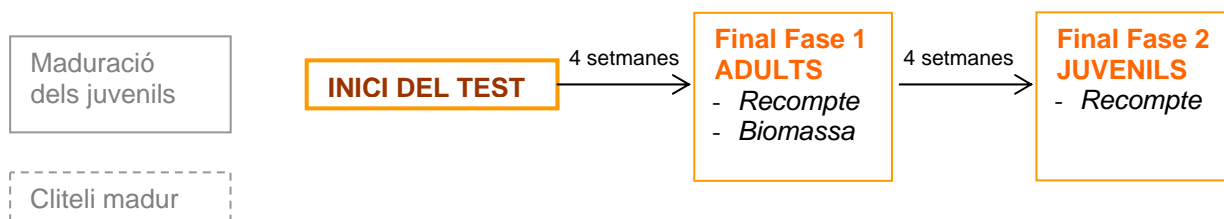


Figura 21. procés de realització del test ecotoxicològic amb *Enchytraeus crypticus*, segons l'ISO 11268.

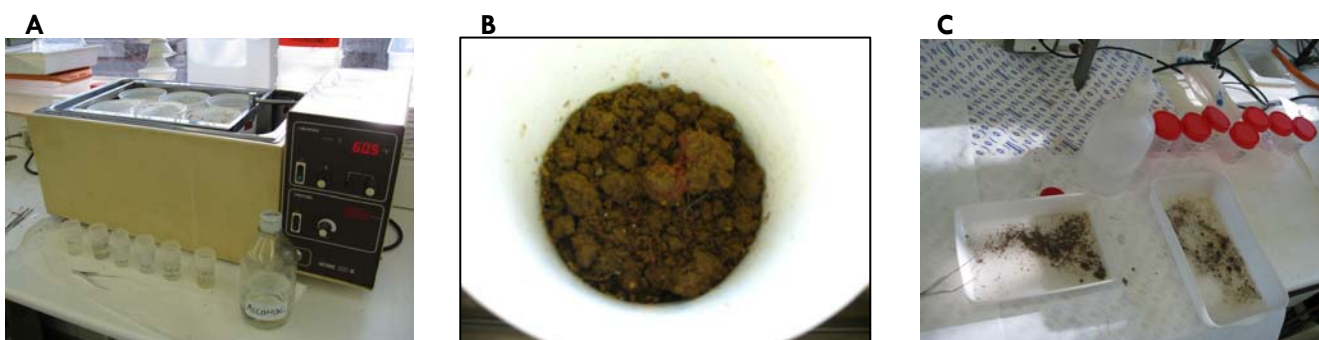


Figura 22. Final del bioassaig amb *E.fetida*. A: extracció dels individus juvenils mitjançant l'escalfament dels recipients en un bany d'aigua. B: els juvenils surten a l'exterior del substrat on són fàcilment recollits. C: recompte dels juvenils.

2.3. TRACTAMENT DE DADES

Amb la realització dels tres bioassaigs ecotoxicològics s'obtenen dades de reproducció i supervivència per a cada organisme, dosi i temps de compostatge, a més de dades de biomassa dels adults d'*Eisenia* per a cada dosi i compost.

Es van determinar si hi havia diferències significatives dels paràmetres seleccionats per cada organisme en les diferents dosis i temps de compostatge respecte al control mitjançant el software SPSS 11.0 For Windows. En disposar de tan sols de cinc dades per a cada grup a comparar s'han utilitzat mètodes d'anàlisi no paramètrics, donat que no teniem assegurada la distribució normal o homogeneïtat en la variància de les dades.

D'una banda, es van comparar totes les dosis i temps de compostatge simultàniament per a cada organisme, mitjançant el test de Kruskal-Wallis (equivalent a l'ANOVA per a dades paramètriques). Quan la $p < 0.05$ es conclou que hi ha diferències significatives en el paràmetre biològic estudiat (reproducció, supervivència o biomassa) per a les diferents dosis o temps de compostatge.

D'altra banda, es van comparar també els paràmetres biològics en els controls i en cadascuna de les combinacions de dosis i temps de compostatge mitjançant el test Mann-Whitney (equivalent a la t de Student per a dades paramètriques). Quan la $p < 0.05$ es conclou que hi ha diferències significatives respecte el control. Es considera efecte tòxic sempre que la reproducció i la supervivència siguin significativament inferiors a la dels controls.

Els gràfics representatius dels resultats dels tests es van elaborar mitjançant el software StatView 5.0.1. for Windows.

En paral·lel, es van buscar possibles correlacions entre els paràmetres fisicoquímics dels diferents residus amb els resultats de reproducció, supervivència i biomassa de les tres espècies d'organismes. En concret, es van calcular correlacions de Pearson mitjançant el software SPSS 11.0 for Windows, amb la qual cosa es van obtenir el coeficient de Pearson (r) i el nivell de significació (p). Quan la $p < 0,05$ es considera que existeix correlació significativa, que és positiva o negativa en funció del signe que presenta el coeficient de Pearson (r). Posteriorment, les correlacions van ser avaluades visualment mitjançant la construcció de la regressió amb el software StatView per tal de descartar qualsevol falsa correlació deguda a valors extrems.

3. RESULTATS

3.1. EVOLUCIÓ DELS PARÀMETRES FÍSICOQUÍMICS AMB EL TEMPS DE COMPOSTATGE

3.1.1. Contingut de nutrients

El contingut de nutrients en el fang i compost es mostra a la figura 23. En els residus de les dues EDARs el nitrogen i el fòsfor són els nutrients més abundants, davant el potassi, inferior a l'1% sobre matèria seca. Amb el procés de compostatge s'aconsegueix incrementar les quantitats de nitrogen, fòsfor i, en menys quantitat, de potassi. Mentre que l'augment de concentració del fòsfor és produït des de l'inici del compostatge, el del nitrogen total comença a partir del segon temps (T28). En el cas del residu de Blanes, el nitrogen total i el fòsfor augmenten fins el temps de 40 dies i disminueixen en els últims temps. En el residu de Manresa, el nitrogen total augmenta progressivament amb el temps de compostatge, mentre el fòsfor experimenta una davallada a l'últim temps.

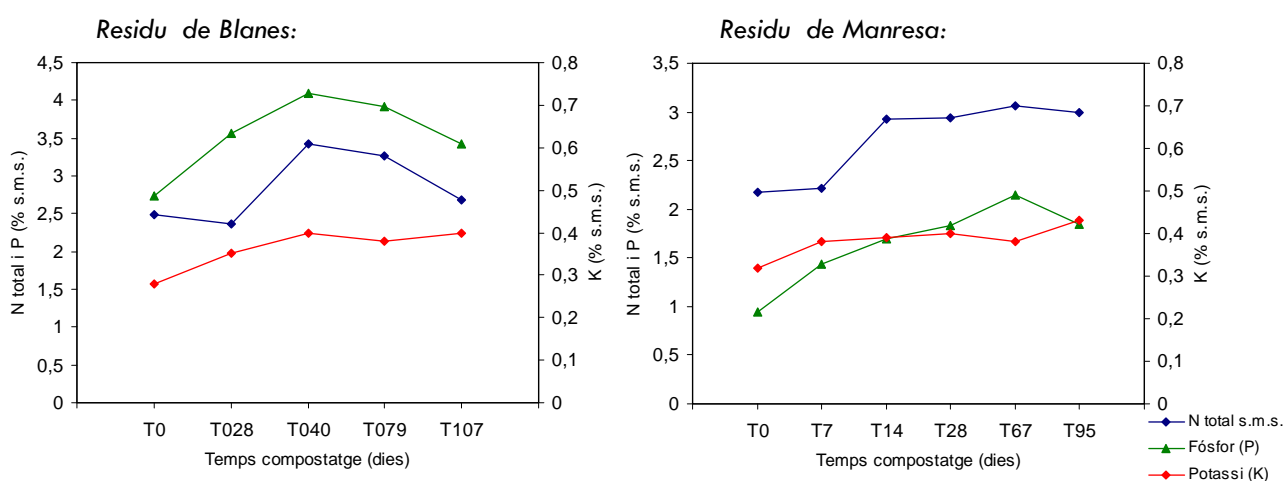


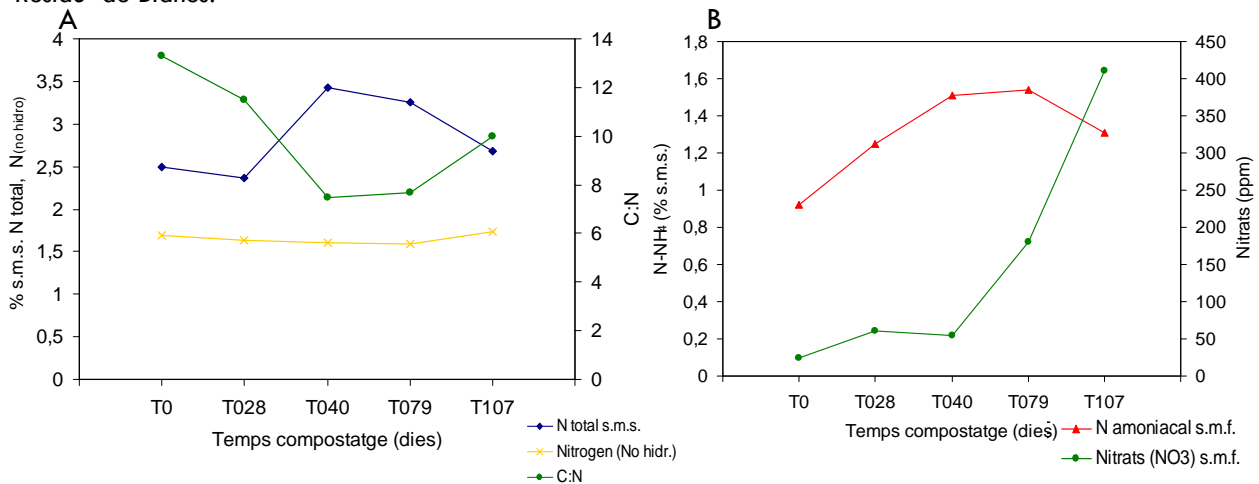
Figura 23. Evolució dels nutrients (nitrogen, fòsfor i potassi) dels residus orgànics procedents de l'EDAR de Blanes i de Manresa amb el temps de compostatge, expressats en % de matèria seca.

L'evolució del contingut de nitrogen amb el procés de compostatge es mostra a la figura 24. D'una banda, tant en el residu de Blanes com en el de Manresa, s'observa que el nitrogen no hidrolitzable (fracció de nitrogen més resistent a la degradació) no presenta variacions considerables. Ara bé, el nitrogen total varia alhora que ho fa la relació C:N. L'augment del nitrogen total està associat a una disminució de la relació C:N. Aquest patró és clar en els

residus de Manresa, però menys en el cas dels de Blanes, on aquesta tendència desapareix en els dos darrers mostrejos (T79 i T107).

Referent a les formes minerals del nitrogen, el N-NH₄ va augmentant la seva concentració progressivament i s'estabilitzen, mentre que els nitrats experimenten un augment més sobtat, especialment a partir del segon temps de compostatge (T40) en el cas del residu de Blanes (de 55 ppm al temps 40 a 180 ppm al temps 79) i a partir del primer temps de compostatge (T7) en el residu de Manresa (de 30 ppm al temps 7 a 310 ppm al temps 14).

Residu de Blanes:



Residu de Manresa:

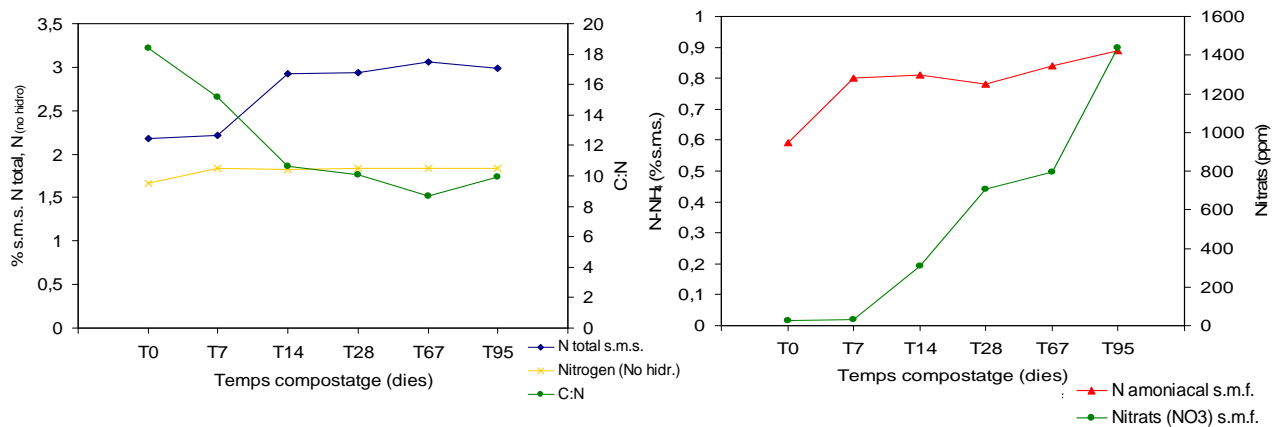


Figura 24. (A) Evolució de la relació C:N i del contingut de nitrogen total dels residus amb el temps de compostatge, procedents de l'EDAR de Blanes i de Manresa; (B) Evolució de les formes minerals de nitrogen.

3.1.2. Contingut de matèria orgànica

L'evolució de la matèria orgànica i del grau d'estabilitat es mostren a la figura 25. En els dos residus, s'observa una disminució del contingut de matèria orgànica, alhora que s'observa

una lleugera disminució del contingut de la matèria orgànica resistent amb el temps de compostatge (de 66,3% s.m.s del fang a 54,2% en el T28, en el cas de Blanes; de 80,2% s.m.s. del fang a 68,7% en el T7, en el cas de Manresa). El grau d'estabilitat es manté més o menys constant durant el procés de compostatge.

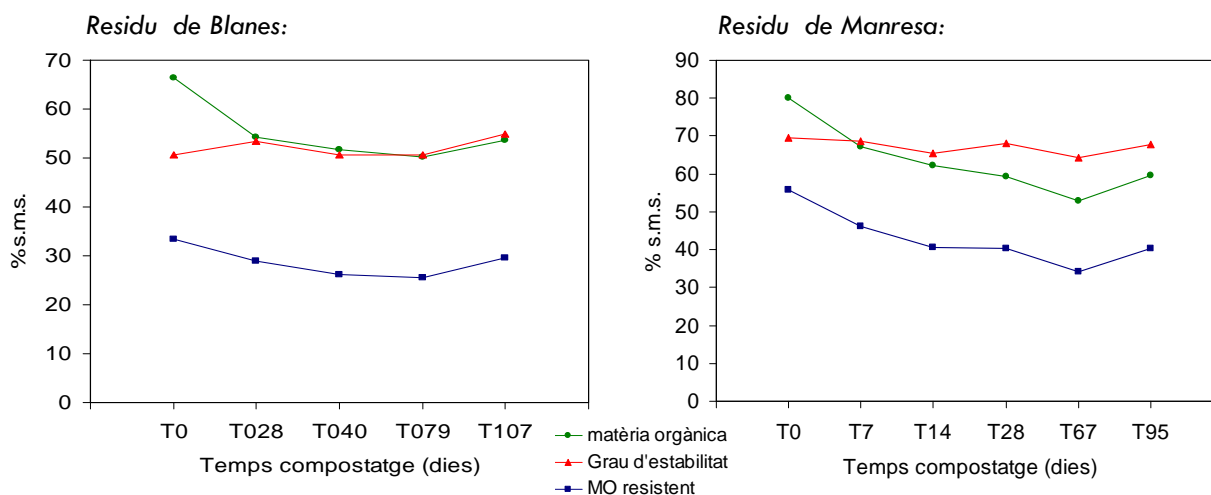


Figura 25. Evolució del contingut de la matèria orgànica i del grau d'estabilitat amb el temps de compostatge dels residus orgànics, procedents de l'EDAR de Blanes i de Manresa, expressat en % s.m.s.

3.1.3. Contingut de metalls pesants

El contingut en metalls pesants dels residus procedents de les EDARs de Blanes i Manresa es mostren a la figura 26. El coure i zinc són els metalls més abundants en els dos residus analitzats. El zinc, amb concentracions inicials de 616 ppm i 361 ppm, respectivament, experimenta un augment de concentració amb el temps de compostatge, disminuint dràsticament en l'últim temps, especialment en el residu de Blanes fet que indica que ha canviat la composició del residu. En el cas del residu de Manresa, les concentracions de la majoria de metalls pesants augmenten amb el temps de compostatge, experimentant una disminució en el temps 95 respecte el temps anterior. El residu de Blanes mostra també una disminució de concentració de metalls pesants en l'últim temps respecte el temps 79. En aquest cas, l'augment de concentració del crom es mostra en el primer temps de compostatge (T28), a partir del qual comença a disminuir.

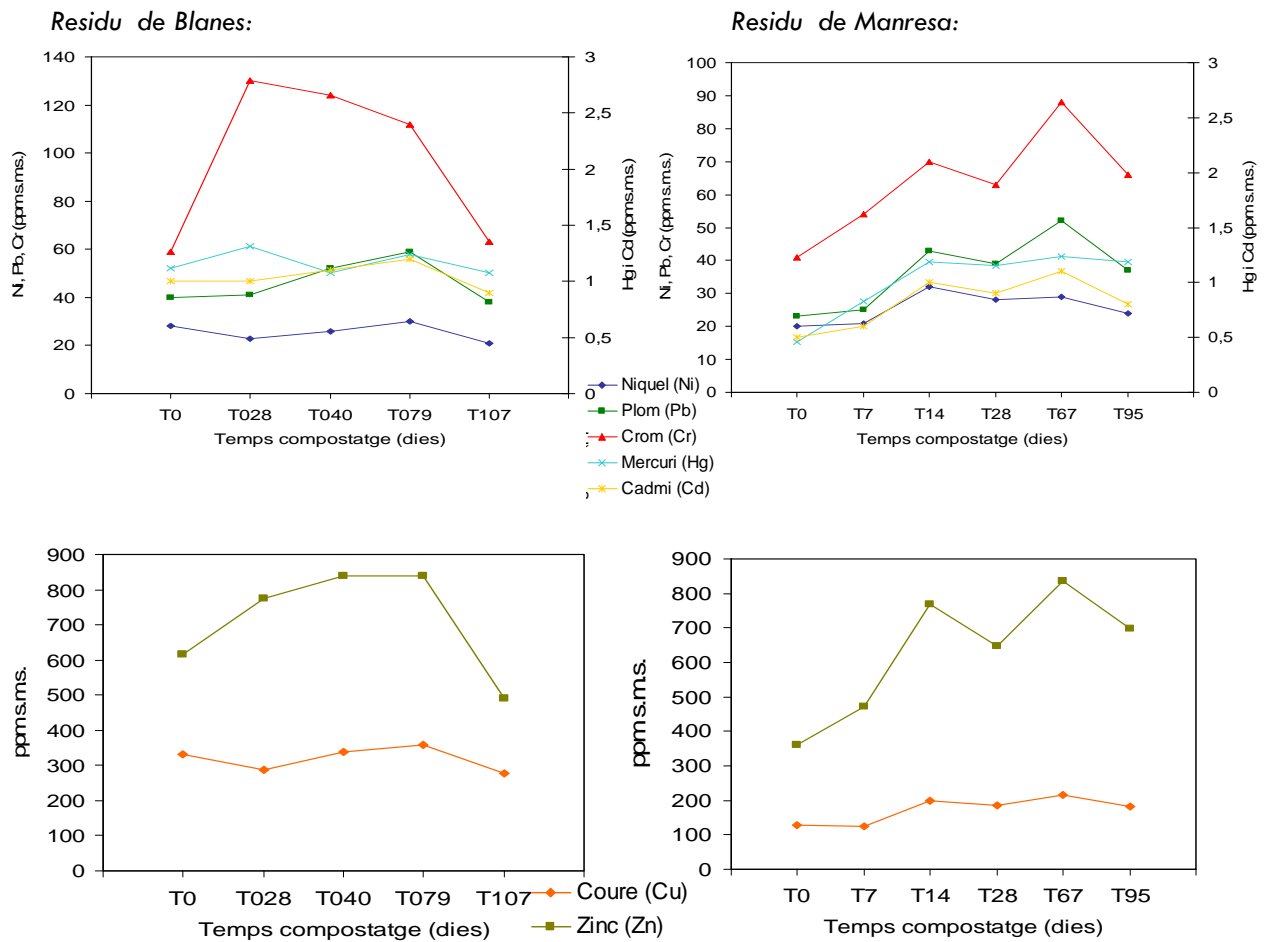


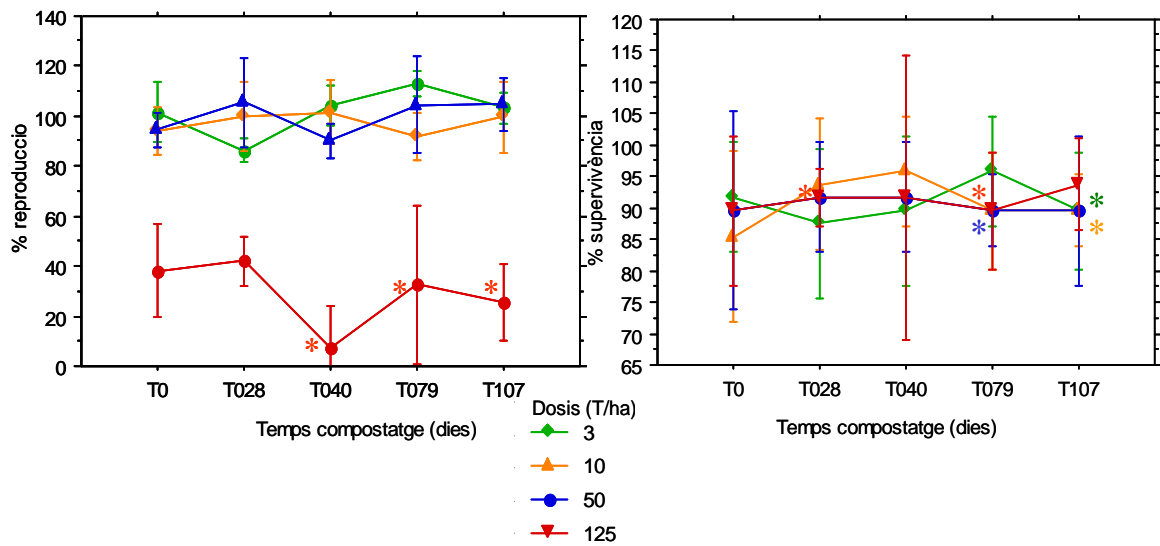
Figura 26. Evolució del contingut de metalls pesants amb el temps de compostatge dels residus orgànics procedents de l'EDAR de Blanes i de Manresa, expressat en ppm s.m.s.

3.2. RESULTATS DEL TEST DE TOXICITAT

3.2.1. Resultats del test amb *Folsomia candida*

Els resultats obtinguts en el bioassaig amb *Folsomia candida* responen als requisits de validesa que estableix la ISO 11267 (1999). En el cas dels residus procedents de l'EDAR de Blanes, la mortalitat dels adults en el control no excedeix del 20% al final del test ($9,6 \pm 0,6$ individus) i la reproducció supera el mínim definit de 100 individus ($790,4 \pm 303,6$). En el cas de l'EDAR de Manresa, la mortalitat dels adults és de $9,4 \pm 0,9$ individus i la reproducció de $975,8 \pm 54,4$ individus, complint també amb els requisits establerts. Els resultats de reproducció i supervivència es mostren a la figura 27.

Residu de Blanes:



Residu de Manresa:

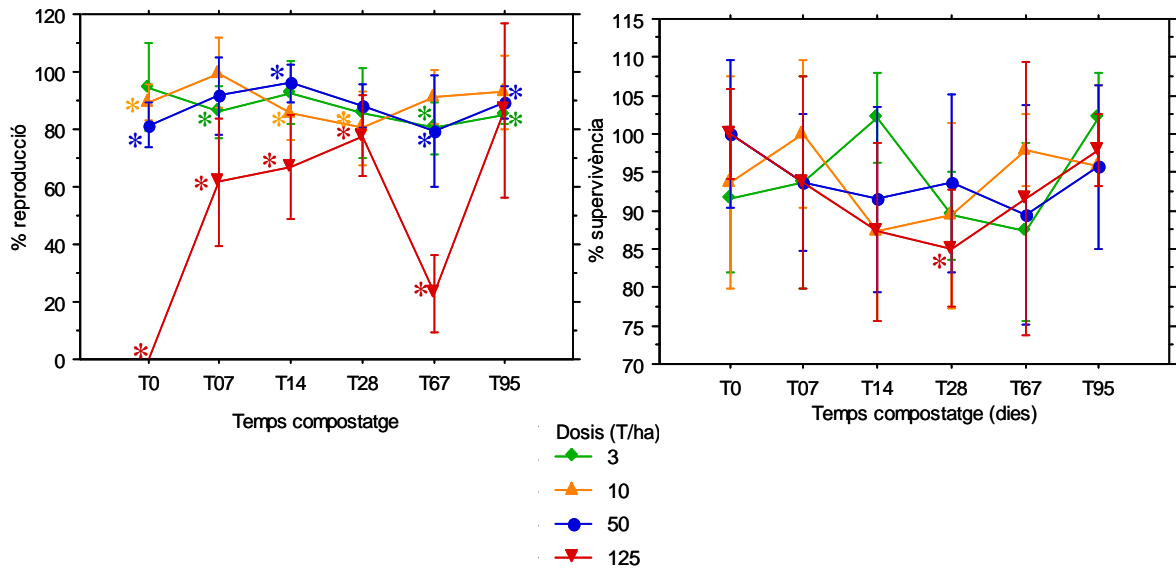


Figura 27. Reproducció i supervivència del test amb *Folsomia candida* exposats a diferents dosis de compost (T/ha) i temps de compostatge (dies), procedents de l'EDAR de Blanes i de Manresa. Els resultats estan expressats en percentatge d'individus respecte el control (100%). L'asterisc (*) indica diferències significatives respecte el control (test de Mann-Whitney, $p < 0.05$).

En el compost de Blanes, s'observa una disminució de la reproducció a l'augmentar la dosi de compost, i que és significativa en els temps de compostatge més elevats (test de Mann-Whitney, $p = 0,013$ a T40, $p = 0,028$ a T79 i $p = 0,016$ a T107). En la concentració de compost equivalent a una aplicació de 125 T/ha, la més elevada, la reproducció s'inhibeix fins un 60%

i 70% (en els últims temps). La supervivència, en canvi, és menys sensible que la reproducció reduint-se només un 20% respecte el control. Destaca, però, una disminució significativa en el temps més elevat a les dosis baixes (Taula 8).

Taula 8. Nivell de significació (p) segons el test de Mann-Whitney dels resultats del bioassaig de *Folsomia candida* en el compost de Blanes. S'ha comparat el control amb cada un dels temps de compostatge per a cada dosi. Els valors ombrejats són els més petits de 0,05 i, per tant, els que presenten diferències significatives.

Dosi	C-T28		C-T40		C-T 79		C-T107	
	ad	desc	ad	desc	ad	desc	ad	desc
3	0,080	0,117	0,119	0,600	0,419	0,465	0,042	0,347
10	0,307	0,251	0,419	0,465	0,077	0,175	0,031	0,347
50	0,118	0,754	0,118	0,117	0,031	0,917	0,119	0,465
125	0,042	0,076	0,814	0,013	0,042	0,028	0,166	0,016

El fang procedent de l'EDAR de Manresa provoca una inhibició de la reproducció (Kruskall-Wallis, $p=0,002$) a mesura que augmenta la seva concentració (Mann-Whitney, $p=0,016$ a dosi 10 T/ha, $p=0,016$ a la dosi 50 T/ha i $p= 0,007$ a la dosi 125 T/ha), reduint-la en un 99% a la dosi més elevada. Tot i això, no s'observen efectes sobre la supervivència dels adults. L'aplicació de compost comporta efectes negatius en la reproducció dels col·lèmbols, provocant una disminució dels juvenils a tots els temps de compostatge (Taula 9). Especialment, s'observen efectes en la concentració més elevada de 125 T/ha on, en la majoria de temps, la reproducció es redueix un 40%, a excepció del temps 67 que es redueix a un 20% respecte els controls. La supervivència es veu afectada tan sols a la dosi més elevada del T28 ($p=0.037$, segons el test de M-W) amb 85% d'individus respecte el control.

Taula 9. Nivell de significació (p) segons el test de Mann-Whitney dels resultats del bioassaig de *Folsomia candida* en el compost de Manresa. S'ha comparat el control amb cada un dels temps de compostatge per a cada dosi. Els valors ombrejats són els més petits de 0,05 i, per tant, els que indiquen diferències significatives.

Dosi	C-T7	C-T14	C-T28	C-T 67	C-T 95
3	0,028	0,117	0,117	0,016	0,009
10	0,754	0,028	0,009	0,117	0,175
50	0,251	0,347	0,021	0,016	0,028
125	0,028	0,009	0,028	0,009	0,602

Tant en el cas dels materials provinents de l'EDAR de Blanes com els de l'EDAR de Manresa la reproducció mostra més variabilitat entre rèpliques que la que s'observa en la supervivència.

3.2.2. Resultats del test amb *Enchytraeus crypticus*

Els resultats del bioassaig amb *Enchytraeus crypticus*, en el cas dels residus procedents de Manresa, s'adeqüen als requisits de validesa establerts a la ISO 16387 (2004). La supervivència dels adults en els controls excedeix del 80% ($9,4 \pm 0,9$ individus) i la reproducció supera els 25 individus ($699,2 \pm 52,9$ individus) marcats en el protocol.

Els resultats de supervivència del test amb el residu procedent de Blanes es van descartar perquè no es van considerar vàlids amb $6,2 \pm 4,8$ adults i $306,2 \pm 420,9$ juvenils en els controls, sense complir amb els requisits establerts en el protocol. S'observa una gran variabilitat entre rèpliques que també es manifesta en la resta de tests de reproducció d'enquitreids.

Cal destacar la dificultat de diferenciació dels individus adults dels juvenils en aquesta espècie, que pel seu ràpid desenvolupament assoleix ràpidament la maduresa, de manera que sovint es fa difícil distingir els adults inicials dels juvenils que ja han assolit la maduresa, fet que pot ser la causa de la gran variabilitat mesurada en la supervivència.

Els resultats de reproducció i supervivència del compost de Manresa es mostren a la figura 28.

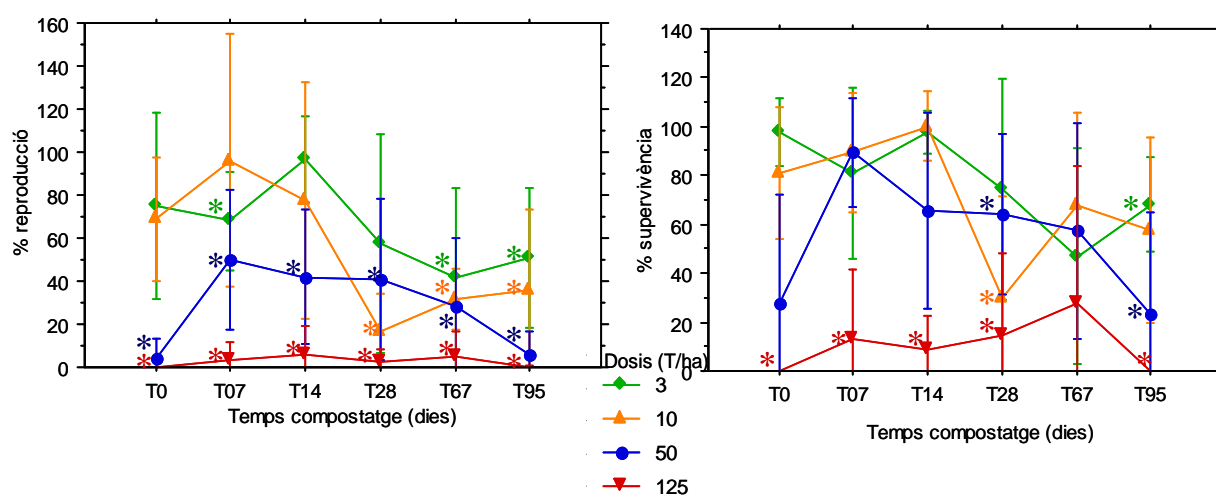


Figura 28. Reproducció i supervivència del test amb *Enchytraeus crypticus* exposats a compost a diferents concentracions (T/ha) i temps de compostatge (dies) procedents de l'EDAR de Manresa. Els resultats estan expressats en percentatge d'individus respecte el control (100%). L'asterisc (*) indica diferències significatives respecte el control (test de Mann-Whitney, $p < 0,05$).

En el compost de Manresa, la reproducció es veu inhibida a dosis baixes en els temps de compostatge més grans (Mann-Whitney, $p = 0,016$ al temps 67 i $p = 0,047$ al temps 95)

arribant a reduir-se en un 42 i 51% respecte el control. Amb l'augment de la concentració de compost, els efectes sobre la reproducció apareixen a tots els temps (Taula 10).

Taula 10. significàncies (p) segons el test de Mann-Whitney dels resultats del bioassaig de *Enchytraeus crypticus* en el compost de Manresa. S'ha comparat el control amb cada un dels temps de compostatge per a cada dosi. Els valors ombrejats són els més petits de 0,05 i, per tant, els que presenten diferències significatives.

Dosi	C-T7	C-T14	C-T28	C-T 67	C-T 95
3	0,028	0,347	0,117	0,016	0,047
10	0,465	0,117	0,009	0,009	0,028
50	0,036	0,009	0,009	0,009	0,008
125	0,009	0,009	0,008	0,009	0,008

Cal destacar els efectes en el major temps de compostatge (95 dies), on disminueix la reproducció a menys del 10% en la dosi de 50 T/ha, i fins a menys de l'1% en la dosi de 125 T/ha.

La supervivència també disminueix amb l'augment de la concentració de compost i de fang (Kruskall-Wallis, $p=0,020$), especialment a la dosi de 125 T/ha, on es redueix fins un 20% el nombre d'adults, arribant a provocar la mortalitat de tots els individus adults en la dosi més elevada (125 T/ha) i en el major temps de compostatge (95 dies).

3.2.3. Resultats del test amb *Eisenia fetida*

Les dades de reproducció i supervivència dels residus procedents de l'EDAR de Blanes compleixen amb els requisits de validesa que marca la ISO 11268-2 (1996). La mortalitat dels adults en els controls no excedeix del 10% ($6,0 \pm 0,0$) i la reproducció supera el 30 individus juvenils marcats al protocol ($74,5 \pm 9,6$). En el cas dels residus de l'EDAR de Manresa, la mortalitat al control no supera el 10% ($6,0 \pm 0,0$), però, en canvi, la reproducció es troba per sota dels requisits establerts ($23 \pm 8,8$) de 30 individus, probablement degut a un error experimental. Malgrat tot, no es descarten les dades de reproducció ja que la resta de test mostra resultats coherents i permeten l'anàlisi dels efectes de l'increment de dosi i de temps de compostatge.

Els resultats de reproducció i supervivència es mostren a la figura 29. La supervivència dels individus adults en els residus de Blanes no es veu afectada per cap dosi de compost ni de fang. El temps de compostatge del fang tampoc influeix en la mortalitat dels adults. Ara bé, s'observen efectes d'inhibició de la reproducció a la dosi més elevada de 125 T/ha i en els temps de compostatge més prolongats (Mann-Whitney, $p= 0,011$ a T40, $p=0,011$ a T79 i

$p=0,011$ a T107, segons el test de Mann-Whitney) reduint-se la reproducció un 21%, 29% i 40% respectivament. També s'observen efectes en l'aplicació de la dosi de 3 T/ha en els dos últims temps de compostatge (Mann-Whitney, $p=0,01$ a T79 i $p=0,042$ a T107). Cal destacar que amb l'aplicació del residu sense compostar, en totes les dosis, es produeix una estimulació de la reproducció, especialment en la dosi de 50 T/ha (Mann-Whitney, $p=0,011$), on la reproducció augmenta en un 60% respecte el control.

Pel que fa als residus de Manresa, la supervivència no es veu afectada en cap moment per l'aplicació de més dosi de compost o fang o bé per l'augment del temps de compostatge del fang. Malgrat tot, s'observa una estimulació de la reproducció amb l'augment del temps de compostatge a la dosi de 50 T/ha (Mann-Whitney, $p=0,004$). També s'observa una reproducció significativament superior a la dels controls en la dosi de 125 T/ha, per bé que es va mantenir estable en els diferents temps de compostatge.

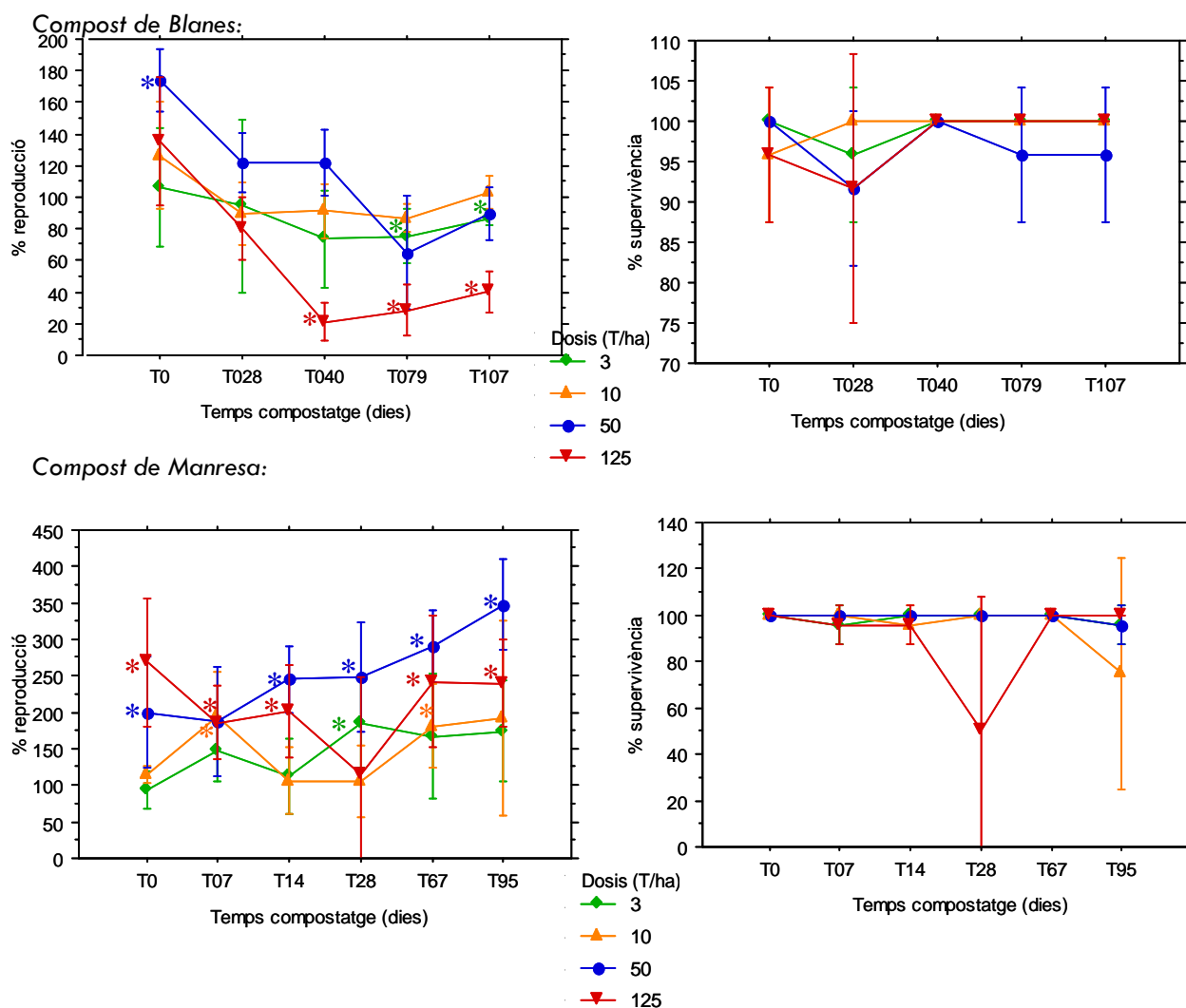


Figura 29. Reproducció i supervivència del test amb *Eisenia fetida* exposats a compost a diferents dosis (T/ha) i temps de compostatge (dies) procedents de l'EDAR de Blanes i de Manresa. Els resultats estan expressats en percentatge d'individus respecte el control (100%). L'asterisc (*) indica diferències significatives respecte el control (test de Mann-Whitney, $p<0.05$).

Els efectes en la biomassa total dels individus adults es mostren a la figura 30. En el compost de Blanes, s'observa un augment de la biomassa amb la dosi de residu, especialment a les dosis més elevades (Mann-Whitney, $p < 0,001$ en ambdós casos), augmentant la biomassa total al voltant del 20% respecte el control. Pel que fa al compost, amb l'aplicació del primer temps de compostatge (T28) s'observen efectes en la biomassa en les dues dosis més elevades (Mann-Whitney, $p = 0,006$ a 50 T/ha i $p = 0,033$ a 125 T/ha). També s'observen augments de la biomassa total respecte els controls en el cas de dels temps de compostatge més prolongats quan els residus s'apliquen en les dosis més baixes (al T79, $p = 0,015$ a la dosi de 3 T/ha i $p = 0,036$ a 10 T/ha; al T107 $p = 0,045$ a la dosi 10 T/ha).

Pel que fa al compost de Manresa, s'observen efectes en la biomassa total amb l'aplicació de les dosis més elevades. D'una banda, a la dosi de 125 T/ha es produeix un augment de la biomassa total dels cucs que han crescut en el fang (Mann-Whitney, $p = 0,005$) i una disminució en els temps 28 i 67 (Mann-Whitney, $p = 0,024$ i $p = 0,033$, respectivament). De l'altra, amb l'aplicació de la dosi de 50 T/ha s'estimula la producció de biomassa total en els temps 28 i 95 (Mann-Whitney, $p = 0,005$ i $p = 0,024$, respectivament).

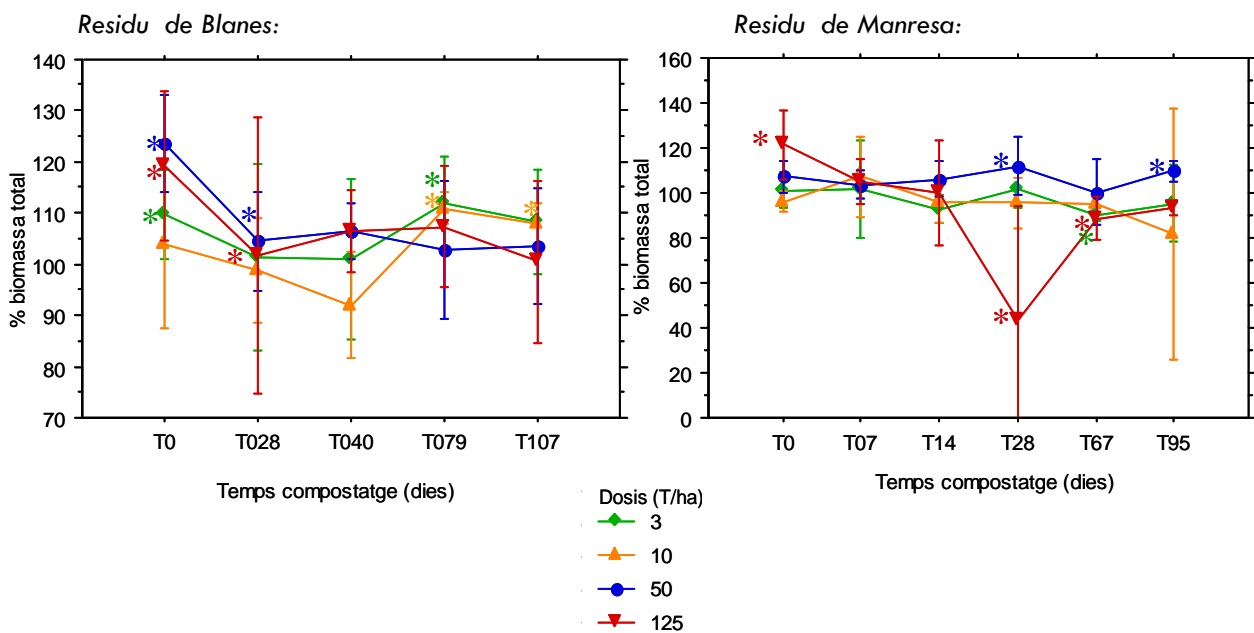


Figura 30. Biomassa total de *Eisenia fetida* exposats a diferents dosis de compost i temps de compostatge procedents de l'EDAR de Blanes i de Manresa. Els resultats estan expressats en percentatge de pes (mesurat en mg) respecte el control (100%). L'asterisc (*) indica diferències significatives respecte el control (test de Mann-Whitney, $p < 0,05$).

3.3. RELACIÓ DE LA TOXICITAT AMB ELS PARÀMETRES FISCOQUÍMICS

3.3.1. Toxicitat a *Folsomia candida*

En els bioassaigs amb col·lèmbols utilitzant residus procedents de la planta de Blanes no s'observen correlacions dels paràmetres fisicoquímics amb la toxicitat, mentre que en el cas de l'EDAR de Manresa, s'observen efectes sobre la reproducció i supervivència dels individus. D'una banda, la supervivència dels adults (expressada en % respecte el control) es correlaciona positivament a la primera dosi de compost (3 T/ha), amb el contingut de matèria orgànica ($r=0,842$, $p=0,035$), amb el grau d'estabilitat ($r=0,868$, $p=0,025$) i amb la matèria orgànica resistent ($r=0,876$, $p=0,022$). De l'altra, s'observa una correlació negativa entre la supervivència i el contingut de fòsfor en el residu ($r=-0,831$, $p=0,041$) així com també amb el contingut de metalls pesants com el crom ($r=-0,902$, $p=0,014$), el zinc ($r=-0,830$, $p=0,041$) i el cadmi ($r=-0,859$, $p=0,028$).

Referent a la reproducció, està altament correlacionada (positivament) amb el contingut de matèria orgànica a la dosi de 3 T/ha ($r=0,813$, $p=0,049$).

3.3.2. Toxicitat a *Enchytraeus crypticus*

No s'observa cap correlació entre la supervivència o la reproducció dels individus de *Enchytraeus crypticus* amb cap propietat fisicoquímica dels fangs i composts estudiats.

3.3.3. Toxicitat a *Eisenia fetida*

S'observen correlacions entre els valors inicials dels paràmetres fisicoquímics dels dos grups de residus i la reproducció dels individus d'*E. andrej*, en especial en el procedent de l'EDAR de Blanes.

Les correlacions entre la supervivència d'*E. fetida* i els paràmetres fisicoquímics dels residus de Blanes es mostren a la taula 10. D'una banda, el contingut de matèria orgànica i de matèria orgànica resistent es correlacionen positivament amb la reproducció dels individus a les dosis de 3T/ha i 10 T/ha. De l'altra, existeix una correlació negativa entre el contingut de nitrogen total i en forma amoniacal amb la reproducció d'*E.fetida* a la dosi de 3 T/ha i 125 T/ha, en el primer cas i a totes les dosis, a excepció de 50 T/ha en el segon. Mentrestant, en

el cas de la relació C:N s'observa una correlació positiva amb la reproducció a les dosis 3 i 125 T/ha.

Finalment, els nutrients com el potassi i fòsfor es troben fortament correlacionats de manera negativa amb la reproducció (dosi 125 T/ha i dosi 3 T/ha, 10 T/ha i 125 T/ha, respectivament), a la vegada que el crom a la dosi de 10 T/ha. Alhora, existeix una correlació positiva entre la reproducció i la concentració de nitrats ($r=0,928$, $p=0,008$) a la dosi de 50 T/ha del residu procedent de Manresa.

Taula 11. Correlacions entre les propietats fisicoquímiques i la reproducció d'*Eisenia fetida* en els residus procedents de l'EDAR de Blanes, amb el seu corresponent coeficient de correlació (r) i nivell de significació (p). Les caselles en blanc indiquen la manca de correlació significativa.

Dosi (T/ha·any)	MO	MO resistent	N total	N-NH4	C:N	Potassi	Fòsfor	Crom
3	$r= 0,886$	$r= 0,950$	$r= -0,910$	$r= -0,965$	$r= 0,996$	-	$r= -0,932$	-
	$p= 0,046$	$p= 0,013$	$p= 0,032$	$p= 0,008$	$p= 0,000$	-	$p= 0,021$	-
10	$r= 0,935$	$r= 0,918$	-	$r= -0,897$	-	-	$r= -0,934$	$r= -0,882$
	$p= 0,020$	$p= 0,028$	-	$p= 0,039$	-	-	$p= 0,020$	$p= 0,048$
50	-	-	-	-	-	-	-	-
125	-	-	$r= -0,889$	$r= -0,944$	$r= 0,976$	$r= -0,906$	$r= -0,899$	-
	-	-	$p= 0,044$	$p= 0,016$	$p= 0,004$	$p= 0,034$	$p= 0,038$	-

No s'observa cap correlació entre les propietats fisicoquímiques i la supervivència dels adults en cap dels residus.

Pel què fa als efectes sobre la biomassa, només s'observa en el cas del residu procedent de Manresa, on existeix una correlació positiva a la dosi de 3 T/ha entre la biomassa total dels adults i el grau d'estabilitat ($r=0,925$, $p=0,008$).

4. DISCUSSIÓ

4.1. INFLUÈNCIA DEL PROCÉS DE COMPOSTATGE EN LES PROPIETATS FÍSICOQUÍMIQUES DEL FANG I COMPOST

El fangs de depuradora procedent de les dues estacions depuradores d'aigües residuals presenten un elevat contingut en matèria orgànica degradable (entre un 60% i un 80%, depenent de l'EDAR). Es tracta de materials inestables que quan són aplicats al sòl es mineralitzen ràpidament alliberant els nutrients en poc temps per que siguin assimilats per les plantes i afavorint així, una pèrdua dels mateixos

Amb el procés de compostatge , i per acció de microorganismes, es produeix la degradació de la fracció més fàcilment degradable (làbil) , de manera que s'aconsegueix l'estabilització de la matèria orgànica (major proporció de material resistent). Tal i com ja s'ha demostrat en altres estudis (Paredes, 2000), gran part de la matèria orgànica és degradada durant la primera fase del compostatge (fase termòfila) en la que els microorganismes mesòfils i termòfils digereixen els compostos orgànics molt ràpidament a temperatures elevades, reduint-se la quantitat de matèria orgànica en un 12%-18%, depenent de la planta de tractament. La degradació dels compostos orgànics continua a la fase de maduració del compostatge on es va estabilitzant més lentament.

Els resultats obtinguts en aquest estudi no mostren una millora de l'estabilitat del fang amb el procés del compostatge, sinó que es manté més o menys constant al llarg de tot el procés. En altres estudis realitzats es posa de manifest la millora de l'estabilitat amb el compostatge (Soliva, 2001; Domene, 2007). Teòricament, amb la degradació de la matèria orgànica s'hauria d'incrementar el grau d'estabilitat del residu i aconseguir així que, una vegada aplicat al sòl, es degradés lentament alliberant els nutrients de manera graduada, evitant les pèrdues de nitrogen. De manera que aquest fet seria un indicador que el compostatge en aquest cas no ha estat del tot efectiu, possiblement degut a la utilització d'un agent bulking amb una forta estabilitat. Això ens podria indicar que el procés de compostatge no ha estat completat o bé que els materials de partida ja presentaven una certa estabilitat.

El principal component de la matèria orgànica és el carboni, de manera que amb la degradació dels compostos orgànics s'està produint també una oxidació del carboni orgànic contingut (figura 31) majoritàriament en forma de CO₂ que s'allibera a l'atmosfera. Per això es produeix una disminució de la relació C:N (trobada també en estudis realitzats per Eiland 2001), especialment durant la fase termòfila, a la vegada que es degrada la matèria

orgànica, estabilitzant-se a la última fase del compostatge. En el cas del residu de Blanes s'observa un augment de la relació C:N a partir del temps 40. Aquest fet indica una probable barreja de partides de compost diferents amb temps de maduració diferents, ja que en aquesta planta, les piles són periòdicament voltejades i canviades d'emplaçament al llarg de la fase de maduració donat la seva mida relativament gran. D'aquesta manera, i malgrat que es va intentar fer un seguiment acurat de la partida de compost al llarg de tot el temps de mostreig, aquesta s'hauria pogut contaminar amb composts, afectant a la coherència dels resultats. És per aquesta raó que els resultats obtinguts amb aquest residu cal que siguin interpretats amb precaució.

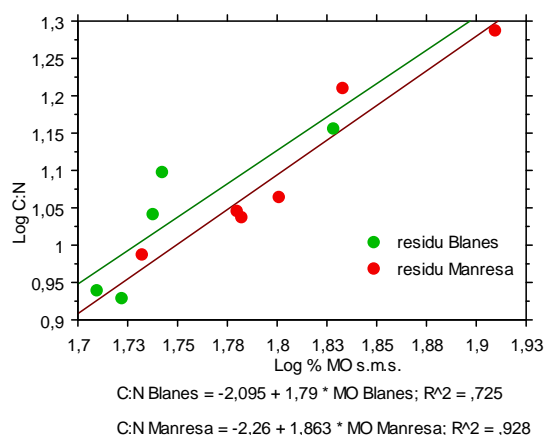
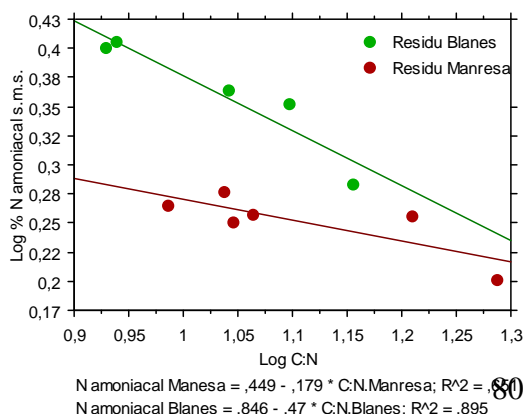
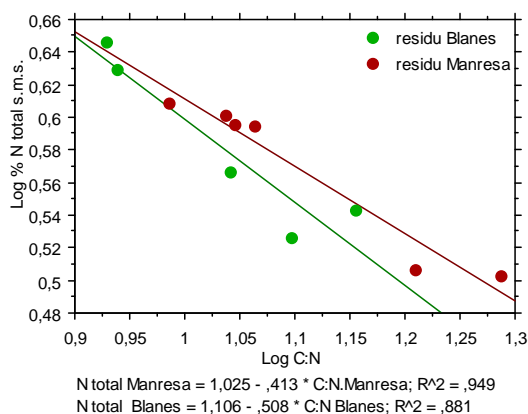


Figura 31. Relació del logaritme del contingut de matèria orgànica total (percentatge referit a matèria seca) amb la relació C:N en els residus de Blanes i de Manresa.

Durant el procés de compostatge es produeix una concentració dels nutrients essencials com nitrogen, fòsfor i potassi. D'una banda, són alliberats de la matèria orgànica amb la descomposició i, de l'altra, al produir-se una disminució del carboni, la relació C:N disminueix pel que augmenta la concentració dels altres nutrients per un fenomen de concentració relativa (a Blanes $p=-0,914$, $p=0,023$) (Figura 32). La concentració d'aquests nutrients s'incrementa especialment durant la primera fase del compostatge, quan la matèria orgànica es degrada més ràpidament, disminuint el ritme d'augment en la fase de maduració, degut a l'alentiment de la degradació i a la disminució de la relació C:N. El fòsfor, majoritàriament en forma mineral, evoluciona al mateix temps que la matèria orgànica o C:N.



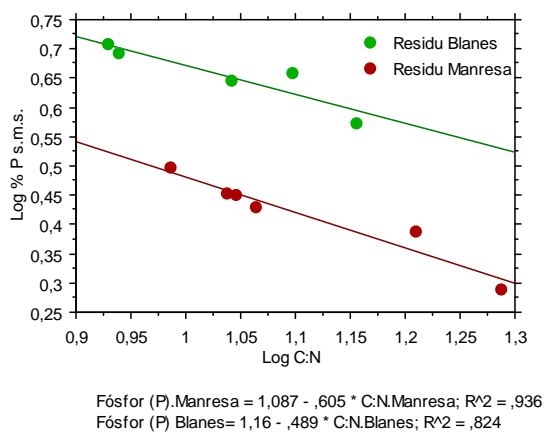


Figura 32. Relació del logaritme de C:N amb el logaritme del percentatge de N total, amoniacal i fòsfor.

El nitrogen és un dels nutrients més importants continguts en la matèria orgànica. Amb la descomposició d'aquesta es produeix una alliberació de nitrogen orgànic que és mineralitzat en les seves formes minerals principals (nitrogen amoniacal i nitrats). En els dos fangs estudiats, s'observa un augment de la concentració de nitrogen al llarg del temps de compostatge, a mesura que disminueix la relació de C/N, de manera que augmenta també la concentració de les formes minerals d'aquest nutrient. D'una banda, el nitrogen amoniacal representa el primer producte de mineralització del nitrogen, per això comença a augmentar amb l'increment del nitrogen total. Malgrat això, es tracta d'una substància que es volatilitza espontàniament en medi bàsic, de manera que el ritme d'augment de la seva concentració evoluciona més lentament. D'altra banda, els nitrats representen el producte final majoritari de la mineralització del nitrogen degut a que no són volàtils i, per tant, hi són presents en més concentració que la forma amoniacal. Malgrat tot, podrien perdre's per lixiviació si es reguessin les piles de compostatge, però aquest no és el cas en cap de les plantes estudiades, ja que les piles no es regaven donat l'elevat contingut en aigua dels fangs de depuradora original, fet que explica que la concentració de nitrats augmenti considerablement al llarg del compostatge.

Taula 12. Correlacions entre la proporció de C:N i el N total, N amoniacal i fòsfor del residu de Blanes, amb el corresponent coeficient de correlació (r) i nivell de significació (p).

		C:N - N total	C:N - N-NH ₄	C:N - P
Blanes	r	-0,914	-0,971	-0,929
	p	0,030	0,006	0,023
Manresa	r	-0,967	-0,834	-0,971
	p	0,002	0,039	0,001

Amb la pèrdua de carboni durant la descomposició de la matèria orgànica, es produeix, també, un augment de la concentració de metalls pesants per un fenomen de concentració, els quals es troben absorbits o formant part de la matèria orgànica (Alonso et al. 2006). Com que no són volàtils, no es produeix pèrdua d'aquests components i, per tant, la seva concentració tendeix a augmentar amb el temps de compostatge, especialment a la primera fase del procés (termòfila). Malgrat tot, s'observa una disminució de la concentració de metalls en l'últim temps, que podria ser degut a la pròpia variabilitat dels materials que poden fer que els metalls no estiguin distribuïts homogèniament en el residu.

Amb el procés de compostatge del fang es posa de manifest la millora de les propietats fisicoquímiques d'aquest. El producte final (compost) és molt més apte per a l'aplicació en sòls degut a la millora de la seva estabilitat (Domene, 2007). L'abundant matèria orgànica làbil continguda en els fangs de depuradora pot fer que, un cop al sòl, la ràpida mineralització alliberi ràpidament nitrogen mineral i altres productes de descomposició que poden arribar a ser tòxics pels organismes del sòl. Amb el compostatge s'aconsegueix que la degradació en el sòl sigui molt més lenta, garantint així l'alliberament progressiu de nitrogen i la resta de nutrients, evitant problemes de toxicitat però també possibles fenòmens de contaminació de les aigües subterrànies.

Malgrat els resultats obtinguts en aquest estudi, amb la degradació de la matèria orgànica del fang durant el procés de compostatge s'aconsegueix una estabilització del residu, de manera que quan el compost és aplicat al sòl, afavoreix la formació de macro-agregats que li aporten permeabilitat i porositat, millorant la capacitat de retenció d'aigua i l'aïració (Soliva, 2001). D'altra banda, en aquest estudi s'ha observat un increment de nutrients del compost respecte el fang inicial que afavoreix una major disponibilitat d'aquests per les plantes, en especial dels nitrats. A la vegada, amb el compost, s'aporta una quantitat de metalls pesants que podrien ser absorbits per les plantes i altres organismes (Düring i Gäth, 2002). Malgrat tot, tant els metalls pesants com els nutrients, han de ser aplicats en funció de les necessitats de les plantes ja que, pel contrari, podrien generar problemes de toxicitat i de contaminació.

4.2. TOXICITAT DEL COMPOST EN ELS ORGANISMES DEL SÒL

A partir dels resultats obtinguts en els diferents bioassaigs amb organismes del sòl, s'observen diferències de toxicitat entre el residu analitzats de procedència diferent. És en el cas del compost procedent de la planta de compostatge de Blanes, on s'observen resultats poc comuns a partir del temps 40. Tal com ha s'ha esmentat prèviament, probablement s'ha produït una barreja de la partida de compost de Blanes amb una altra durant la fase de maduració, degut al propi funcionament de la planta de compostatge. És per aquesta raó que els resultats obtinguts amb aquest residu seran interpretats amb precaució.

D'altra banda, cal indicar que les dades obtingudes amb *Enchytraeus crypticus* en el residu de l'EDAR de Blanes no complien els requisits de validesa del protocol, de manera que no s'han tingut en compte en l'anàlisi dels resultats.

Independentment dels resultats de toxicitat obtinguts amb els bioassaigs, en general s'observa una gran variabilitat entre rèpliques en els tres organismes estudiats. En el cas de *E. crypticus*, la variabilitat s'observa tant a la reproducció com a la supervivència. Cal tenir en compte la dificultat en la identificació dels individus adults inicialment afegits ja que pel seu curt cicle vital curt molt juvenils assoleixen l'estat adult en el moment que el test s'acaba. Pel què fa a *E. fetida* i *F. Candida*, la variabilitat s'observa sobretot en la reproducció, com ja han indicat altres treballs similars (Crouau i Cazes, 2003; Domene, 2007). Segons Crouau et al. (2001), en aquest últim cas podria ser degut a la variació estacional de la fertilitat.

4.2.1. EFECTE DEL TEMPS DE COMPOSTATGE EN LA TOXICITAT PER A LA FAUNA DEL SÒL

Amb la realització dels diferents bioassaigs de toxicitat s'han determinat els efectes sobre tres organismes test de composts en diferents temps de maduració. D'aquesta manera s'ha pogut determinar la importància del temps de compostatge en la millora de la qualitat d'un residu per ser aplicat al sòl. El compostatge és considerat una bona alternativa de post-tractament dels fangs per reduir-ne la toxicitat i millorar-ne les propietats (Domene, 2007).

Efecte en la supervivència

L'aplicació de fang sense compostar en el sòl no implica cap efecte de toxicitat en la supervivència dels adults de les espècies analitzades, a excepció dels enquitreids, on s'observà que amb grans quantitats de fang (125 T/ha) augmenta significativament la mortalitat dels individus adults. Per això, l'aplicació del fang compostat no garanteix una

millora de la toxicitat del fang inicial, sobretot en els individus d'*E. crypticus*, incrementant la inhibició de la supervivència a partir del temps 28, que coincideix amb la fase de maduració del compost. Aquest efecte s'observa també en la supervivència de *F. candida* a partir de l'inici de la segona fase del compostatge en els dos residus de Manresa i Blanes, malgrat en aquest últim cas pugui influir-hi la barreja amb un altre compost a la planta de tractament. Amb tot, la supervivència d'*Eisenia fetida* resulta ser la menys sensible a la toxicitat del fang i compost, sense presentar pràcticament variabilitat entre les rèpliques (supervivència del 100%).

Efecte en la reproducció i biomassa

Tanmateix, la supervivència segueix sent el paràmetre analitzat que presenta menys sensibilitat davant la toxicitat dels residus. Per contra, amb l'aplicació de fang sense compostar es produeixen efectes negatius en la reproducció dels individus d'*E. crypticus* i de *F. candida*, per bé que aquesta última tan sols en el residu procedent de Manresa. El compostatge, en aquest cas, no implica una millora de la toxicitat del fang inicial, sinó que al contrari, augmentant la inhibició de la reproducció especialment en els últims temps de compostatge, que coincideixen novament amb la fase de maduració del procés. Es podria intuir una disminució de la toxicitat durant els primers temps de compostatge, coincidents amb la primera fase del compostatge, sobre els individus de *F. candida*, de manera que el compost només seria tòxic quan fos aplicat en dosis molt elevades.

En canvi, en el cas de *E. fetida*, amb l'aplicació de fang i de compost, s'observen efectes contradictoris quan hi és aplicat el compost. D'una banda, en el residu de Manresa es produeix un augment en la reproducció respecte el fang sense compostar, mentre que en el residu de Blanes, el compost es fa més tòxic a mesura que avança el compostatge, inhibint-se fortament la reproducció sobretot a partir del temps 40. Tot i això, cal tenir en compte que just en aquest punt és on es creu que s'ha produït la barreja de composts, de manera que no es pot confirmar aquest augment de toxicitat del lot de compost inicialment estudiat.

De la mateixa manera que en la reproducció, la presència de fang o compost també va induir un augment en la biomassa dels individus adults respecte els sòls control, especialment en el cas de Blanes, ja que a Manresa l'estimulació apareix quan el fang és aplicat en grans quantitats. Ara bé, aquest increment de biomassa fou màxim amb el fang inicial, però amb el procés de compostatge aquesta estimulació de la biomassa es fa cada cop menys important. Coneixent la preferència dels cucs de terra per a sòls amb elevats continguts de matèria orgànica (Natal-da-luz, 2005), el fet que amb el compostatge se'n produeixi una disminució podria ser la causa de la menor estimulació de biomassa respecte el fang sense compostar. Malgrat tot, en el cas del residu procedent de Manresa, s'observa una forta disminució de la

biomassa dels individus difícil de ser explicada perquè en el compost del mostreig següent la biomassa retorna a nivells coherents amb la resta de temps de compostatge.

Cal considerar que aquest increment d'individus juvenils i de biomassa total en el substrat analitzat pot representar un efecte positiu del fang i compost, sempre i quan l'augment de població no sigui desmesurat. Un augment en la densitat dels individus pot portar efectes negatius sobre la població per la competència d'espai i d'aliment, de manera que esdevindria un factor limitant (ISO 11268-2).

4.2.2. EFECTE DE LA DOSI D'APLICACIÓ DE RESIDUS EN LA TOXICITAT PER A LA FAUNA DEL SÒL

Paral·lelament a la determinació de la toxicitat en funció del temps de compostatge, en aquest estudi s'han testat, també, els efectes de toxicitat que implicava un augment en la concentració de fang i de compost en cada un dels organismes del sòl.

La dosi d'aplicació del residu representa un factor determinant en la toxicitat sobre els organismes del sòl estudiats. Referent al fang sense compostar procedent de les dues plantes de compostatge, no es van observar efectes sobre la supervivència dels organismes estudiats, excepte en el cas del provinent de Manresa, amb inhibició en la supervivència dels enquitreids quan el fang és aplicat a la dosi més elevada (125 T/ha). En termes generals, els organismes presenten diferents sensibilitats davant l'augment de dosi de fang, essent *F. candida* l'espècie que veu inhibida la seva reproducció a una dosi més baixa de residu (a partir de 10 T/ha en el cas del compost dels residus de Manresa). A la vegada, a partir de l'aplicació de 50 T/ha de residus de Manresa, apareixen efectes d'inhibició de la reproducció també en els *E. crypticus*. Per contra, en aquesta mateixa dosi es produeixen efectes estimulants en la reproducció d'*E. fetida*. Un augment de la dosi de fang implica un increment en la quantitat de matèria orgànica, de manera que, coneixent la preferència dels cucs de terra per aquest component, es podria explicar la major reproducció i l'increment en la biomassa total observat en aquesta espècie. S'observen diferències entre els residus amb origen diferent, d'una banda amb una dosi de 125 T/ha es produeixen efectes sobre la biomassa total del residu de Manresa, mentre que a Blanes, aquests efectes s'observen en qualsevol de les dosis aplicades.

Els residus de les dues EDARs presenten clares diferències pel que fa a la toxicitat del compost en la reproducció, sent el residu de Manresa qui mostra més toxicitat. Malgrat això, s'observa una gran influència de la dosi de compostatge en la toxicitat en la reproducció de les tres espècies. Un augment de la dosi de compost implica, d'una banda una estimulació de

la reproducció d'*E. fetida* i, de l'altra, una inhibició de la reproducció de *F. candida* i *E. crypticus*, sobretot a partir de la dosi 50. Tot i això, les dosis baixes de compost també mostren efectes d'estimulació o d'inhibició de la reproducció en funció de l'espècie. De la mateixa manera que s'observa en el fang, amb un augment de la dosi de compost es produeix una estimulació de la biomassa total d'*E. fetida* a la dosi de 50 T/ha. Malgrat això, en el cas del residu de Manresa, quan la dosi aplicada és de 125 T/ha es produeix una inhibició en determinats casos.

Amb l'anàlisi dels efectes de les quantitats testades de fang compostat sobre els organismes, es posa de manifest la clara sensibilitat del paràmetre de la reproducció davant la supervivència. De la mateixa manera que passa amb el fang, quan s'augmenta la dosi de compost no es produeixen efectes sobre la supervivència d'*E. fetida*. Tanmateix, amb l'aplicació de la dosi més elevada (125 T/ha) s'observen efectes d'inhibició de la supervivència en els altres dos organismes estudiats, essent *E. crypticus* qui presenta més sensibilitat ja que en determinats casos es produeix un augment de la mortalitat a partir de 10 T/ha.

4.3 INFLUÈNCIA DE LES PROPIETATS FISICOQUÍMIQUES EN LA TOXICITAT DELS RESIDUS EN ELS ORGANISMES

El compostatge, com a tractament dels residus orgànics, implica una modificació de les propietats fisicoquímiques i de contingut de metalls del fang inicial sense compostar, a la vegada que influeix en la toxicitat dels residus sobre els organismes del sòl estudiats. Sovint els efectes tòxics produïts pel residu orgànic en els organismes poden ser causats per la variació dels paràmetres fisicoquímics del mateix residu i del sòl, de manera que es poden establir relacions causals entre ambdós.

En aquest treball, amb els resultats obtinguts mitjançant correlacions entre toxicitat i propietats fisicoquímiques, no es pot trobar cap propietat que expliqui la toxicitat sobre *E. crypticus*. D'altra banda, sí que s'han trobat correlacions pel que fa als efectes negatius amb els individus de *Folsomia candida*, en especial en el compost procedent de Manresa (Figura 33). En aquesta espècie existeixen correlacions positives entre el contingut de matèria orgànica i els dos paràmetres de toxicitat avaluats, fet que suggereix que la degradació de la matèria orgànica podria ser la causa de la inhibició de la reproducció i de la supervivència, sobretot a dosis elevades de compost. Aquest fet s'ha observat en experiments

realitzats per Domene (2006). També es troben correlacions negatives entre la toxicitat i l'augment de nutrients, en especial el fòsfor, i metalls pesants (Cr, Zn i Cd), més concretament en la supervivència. Domene et al (2007) va trobar una relació directa de l'amoníac (producte final del nitrogen) amb els efectes negatius de la supervivència dels col·lèmbols, fet que s'ha mostrat també per plantes amb l'aplicació de composts no estabilitzats (Katayama et al, 1985). Amb tot, tenint en compte que amb la degradació de la matèria orgànica es produeix un augment de nutrients ($p = -0,874$ $r = 0,013$ en el cas del nitrogen total) i de càrrega de metalls ($p = -0,925$, $r = 0,008$, en el cas del crom), també es podria pensar que aquests fossin els principals causants de la toxicitat.

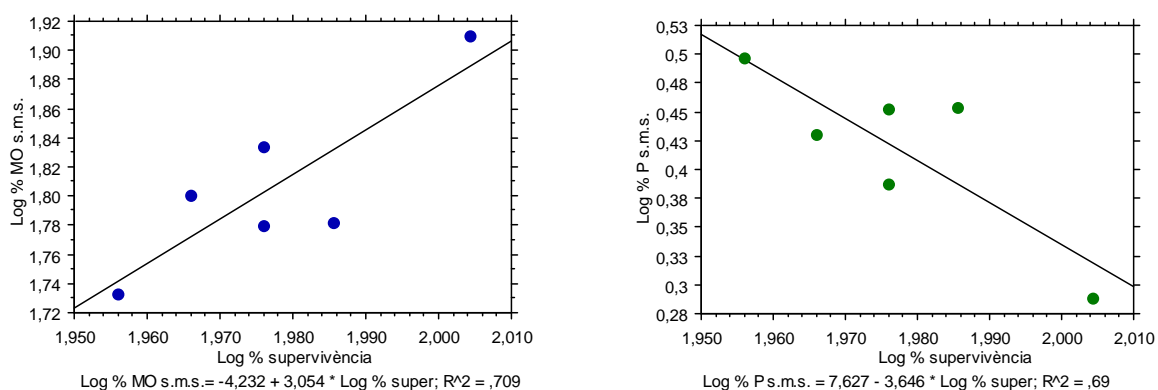
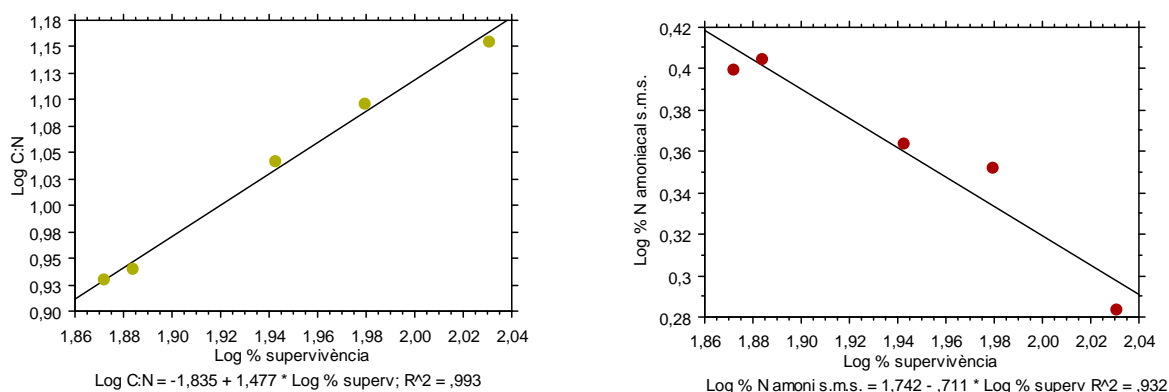


Figura 33. Relació entre la supervivència dels adults de *F.candida* i el percentatge de MO i el percentatge de fòsfor en la dosi de 50 T/ha.

Pel què fa a *E. andrei*, s'observen correlacions similars, ja que s'estableixen correlacions positives entre la reproducció i el contingut de matèria orgànica, així com també amb la relació C:N, a la vegada que apareixen correlacions negatives amb els principals nutrients (N amoniacal, P i K) i determinats metalls pesants com el crom (Figura 34).



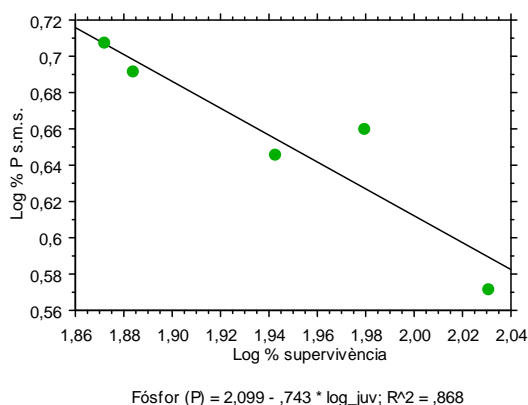


Figura 34. Relació entre la supervivència dels adults de *E.fetida* i la relació entre C:N, el percentatge de N amoniacal i el percentatge de fòsfor en la dosi de 3 T/ha.

Amb la degradació de la matèria orgànica es produeix una disminució del contingut de carboni orgànic que provoca l'augment de la concentració de nutrients i de metalls pesants. Aquests últims es troben absorbits a la matriu orgànica de manera que amb la degradació d'aquesta poden quedar en forma iònica i biodisponibles pels organismes del sòl (Alonso et al, 2006). Si es produeix un excés d'aquests components en el sòl es pot generar toxicitat en els individus, com s'ha pogut demostrar en el present treball. Per altra banda, hi ha treballs que demostren que amb el compost es redueix els contaminants orgànics no persistents continguts en el fang inicial que poden causar toxicitat en els organismes del sòl (Abad et al. 2005; Sanz et al. 2006; Domene, 2007), malgrat que no disposem de dades sobre aquests contaminants en el present estudi i no hem pogut trobar potencials correlacions amb la toxicitat observada.

Amb tot, s'evidencia el doble efecte que produeixen els residus en els organismes del test. D'una banda, la matriu orgànica del residu implica una font d'aliment per aquests organismes que ingereixen compostos orgànics directament del sòl, de manera que els hi hauria de ser favorable l'increment de matèria orgànica estable en el medi. De fet, en diversos estudis s'ha confirmat l'efecte nutritiu dels residus en *F. candida* (Krogh et al, 1997). D'altra banda, simultàniament es dona un aport de nutrients i formes de nitrogen a la vegada que metalls pesants, que per sobre de determinades concentracions poden ser nocius pels organismes, provocant així inhibició de la reproducció i de la supervivència. D'aquesta manera existeix certa dificultat en la interpretació dels resultats (Krogh et al, 1997; Andrés i Domene, 2005).

5. CONCLUSIONS I PERSPECTIVES

5.1. CONCLUSIONS

Per a la determinació de la toxicitat dels residus orgànics és necessari combinar anàlisis químics amb mètodes biològics que permeten l'avaluació dels efectes contaminants sobre la biota del sòl, responsable del funcionament de l'ecosistema.

A partir de la determinació de la toxicitat de diversos fangs i composts aplicats en sòl per a *Folsomia candida*, *Enchytraeus crypticus* i *Eisenia fetida*, es demostra la diferent sensibilitat dels organismes test seleccionats, essent *E. fetida* el menys sensible. Aquest fet posa en evidència la necessitat de la utilització de bateries de tests en els estudis d'ecotoxicitat amb organismes del sòl per obtenir una visió més realista dels potencials efectes en ecosistemes (Domene, 2007).

D'altra banda, també es posa de manifest la diferent sensibilitat a l'exposició tòxica dels paràmetres analitzats (reproducció, supervivència i biomassa total), essent la reproducció el més sensible, davant, especialment, de la supervivència. Aquesta sensibilitat ja ha estat indicada, el cas de *F. candida*, en diferents estudis (Crouau 2001, Domene 2006).

A partir dels resultats obtinguts en els bioassaigs realitzats amb les espècies de *Folsomia candida*, *Enchytraeus crypticus* i *Eisenia fetida*, s'han determinat aquells residus que, una vegada aplicats en el sòl, garantirien la seguretat dels organismes testats (Figura 35). Es considera no tòxic aquell residu que aplicat a una determinada dosi no implica cap impacte de toxicitat en cap dels tres organismes estudiats. Tenint en compte que es tracta d'espècies representatives del sòl per la seva funció ecològica i per la similitud amb altres espècies, poden considerar-se com a indicadores de potencials impactes per l'ecosistema que representen.

DOSI	Residu Blanes				Residu Manresa						
	fang	T 28	T 40	T 79	T 107	fang	T 7	T 14	T 28	T 67	T 95
3											
10											
50											
125											

Figura 35. Combinació de residus obtinguts a diferents temps de compostatge i dosis que no causen toxicitat en cap dels organismes tests utilitzats en l'estudi. Els rectangles ombrejats en verd representen les dosis i temps de compostatge que no impliquen cap efecte en cap dels tres organismes test utilitzats.

El conjunt de resultats del present treball es podrien resumir en diferents conclusions parcials:

D'una banda, es posa de manifest la importància de la dosi d'aplicació del compost com a factor especialment determinant de la toxicitat observada sobre els organismes, sobretot pels impactes que genera en la seva reproducció.

A nivell general, el fang i compost aplicats en dosis baixes (3 T/ha i 10 T/ha) no impliquen efectes de toxicitat ni en la reproducció ni en la supervivència de cap de les espècies utilitzades en els bioassaigs, tal i com s'ha documentat també en diversos estudis (Barrera et al, 2001; Andrés i Domene, 2005). Així, la quantitat de 3 T/ha de residu orgànic aplicable a sòls agrícoles establerta a la legislació europea és segura, fet que es corrobora en altres estudis realitzats per Domene (2007).

Amb un augment de la dosi de fang i compost aplicada es produeix una estimulació de la reproducció i de la biomassa total dels adults d'*Eisenia fetida*, possiblement degut a l'increment de la quantitat de matèria orgànica continguda en el fang.

Finalment, la utilització de compost, en comparació al respectiu fang no tractat, suposa una millora per la reducció de la toxicitat, però tant sols en els primers temps de compostatge, que coincideixen amb la primera fase del procés (termòfila), on es produeix una degradació del contingut orgànic del fang molt ràpidament. En la fase de maduració el ritme de degradació disminueix i el contingut de nutrients i metalls pesants augmenta.

Amb el procés de compostatge del fang es posa de manifest la millora d'algunes propietats fisicoquímiques d'aquest, al transformar-se la matèria orgànica inestable en compostos estables per l'acció desintegradora dels microorganismes, especialment durant la primera fase del procés. A la vegada es produeix una alliberació de metalls pesants i de nutrients entre els que hi ha el nitrogen en forma d'amoni i de nitrats. Probablement, la principal causa de toxicitat per a la majoria d'organismes és l'increment d'amoni i de metalls pesants arran de la descomposició de la matèria orgànica continguda en el fang.

Per tant, es posa de manifest el doble efecte dels residus en el sòl i en els organismes que hi viuen. D'una banda, l'aportació de residus orgànics al sòl implica una font d'aliment per la fauna del sòl i una aportació de nutrients útils pel creixement de les plantes. D'altra banda, un excés d'alguns nutrients i de metalls pesants pot provocar efectes tòxics en les espècies així com pèrdues per volatilització o lixiviació.

Ara bé, les conclusions extretes a partir de l'estudi realitzat poden ser vàlides a curt termini, ja que estan basades en estudis d'un mes de durada i amb un nombre limitat d'espècies.

5.2. PERSPECTIVES DE FUTUR

Si es pretén determinar l'eficàcia del procés de compostatge en la reducció de la toxicitat dels fangs residuals, és necessari, no tant sols avaluar els canvis en els paràmetres fisicoquímics i la càrrega de metalls pesants, sinó també seria important avaluar el contingut en contaminants orgànics i la seva evolució al llarg del procés. D'aquesta manera es podrien corroborar els nivells de referència proposats en l'esborrany del "Working Document on Sludge" (EU2000) elaborat per la Unió Europea.

D'altra banda, considerant les limitacions dels bioassaigs ecotoxicològics que es realitzen habitualment amb una sola espècie, seria interessant utilitzar bioassaigs multiespecífics per determinar els efectes d'interacció entre les espècies testades, així com tests de tipus *mesocosmos*, realitzats en condicions de camp, més aproximats a les condicions reals dels sòls agrícoles.

6. BIBLIOGRAFIA

- Abad, E., Martínez, K., Planas, C., Palacios, O., Caixach, J. i Rivera J. 2005. Priority organic pollutant assessment of sludges for agricultural purposes. *Chemosphere* 61: 1358–1369.
- Agència Catalana de l'Aigua. Instal·lacions de post-tractament de fangs – [Online] Disponible a: <<http://mediambient.gencat.cat/aca>>
- Alcañiz et al. 2008. Utilització de fangs de depuradora en restauració. *Agència Catalana de l'Aigua*. Generalitat de Catalunya),
- Alonso, E., Villar, P., Santos, A., Aparicio, I. 2006. Fractionation of heavy metals in sludge from anaerobic wastewater stabilization ponds in southern Spain. *Waste Manag* 26: 1270-6.
- Andrés, P. i Domene, X. 2005. Ecotoxicological and fertilizing effects of dewatered, composted and dry sewage sludge on soil mesofauna: a TME experiment. *Ecotoxicology* 14: 545-557.
- Barrera, I., Andrés, P. i Alcañiz J.M. 2001. Sewage sludge application on soil: effects on two earthworm species. *Water, Air, and Soil Pollution* 129: 319-332.
- Boelens, J., De Wilde, B. i De Baere, L. 1996. Comparative study on biowaste definition: Effects on biowaste collection, compost process and compost quality. *Compost Sci. ;til.* 4: 60-72.
- Bünemann, EK., Schwenke, G.D. i Van Zwieten, L. 2006. Impact of agricultural inputs on soil organisms – a review. *Australian Journal of Soil Research* 44:379-406.
- Callahan, C. A. 1988. Earthworms as ecotoxicological assessment tools. In *Earthworms in waste and Environmental Management* (C. A. Edwards and E. F. Neuhauser, Eds.), pp. 295-301. SPB Academic, The Hague.
- Campbell, A. G., Zhang, X., i Tripepi, R. R. 1995. Composting and evaluating a pulp and paper sludge for use as a soil amendment/mulch. *Compost Sci. ;til.* 84: 84-95.
- Commission of European Communities. Council Directive 1999/31/EC of 26 April 1999 on the landfill of waste
- Commission of European Communities. Council Directive 2000/76/EC of 4 December 2000 on the incineration of waste
- Commission of European Communities. Council Directive 75/442/EEC of the 25 July 1975 on waste.
- Commission of European Communities. Council Directive 86/278/EEC of the 4 July 1986 on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture.
- Commission of European Communities. Council Directive 91/271/EEC of 21 May 1991 concerning urban waste water treatment.
- Crouau, Y., Cazes, L. 2003. What causes variability in the *Folsomia candida* reproduction test? *Applied Soil Ecology* 22: 175-180.
- Crouau, Y., Gisclard, C. i Perotti, P. 2001. The use of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) in bioassays of waste. *Applied Soil Ecology* 19: 65–70
- CSTEE. 2000. *The Available Scientific Approaches to Assess the Potential Effects and Risk of Chemicals on Terrestrial Ecosystems*. European Commission. Directorate-General Health and Consumer Protection. Brussels.
- Departament de Medi Ambient. Generalitat de Catalunya. [Online] Disponible a <http://mediambient.gencat.net>
- Domene, X. 2007. Methodologies using soil organisms for the ecotoxicological assessment of organic wastes. Tesi Doctoral. Departament de Biologia Animal, Vegetal i Ecologia, Universitat Autònoma de Barcelona.

- Domene, X., Alcañiz, J.M. i Andrés, P. 2006. Ecotoxicological assessment of organic wastes using the soil collembolan *Folsomia candida*. *Applied Soil Ecology* 35: 461–472
- Duarte-Davidson, R., Wilson, S.C., Alcock, R.E. i Jones, K.C. 1995. Identification of priority organic contaminants in sewage sludge Volume 1, UK *Water Industry Research Limited*.
- Düring, R-A. i Gäth, S. 2002. Utilization of municipal organic wastes in agricultura: where do we stand, where will we go?. *Plant Nutr. Soil Sciences* 165: 544-556
- Eiland, F., Klamer, M., Lind A.-M., Leth, M. i Bååth, E. 2001. Influence of initial C/N ratio on chemical and microbial composition during long term composting of straw. *Microb Ecol* 41:272–280
- EN 12879, 2000. Characterization of sludges. In: Determination of the Loss of Ignition of Dry Mass, European Committee for Standardization, Brussels, Belgium.
- EN 12880, 2000. Characterization on sludges. In: Determination of Dry Residue and Water Content, European Committee for Standardization, Brussels, Belgium.
- EN 13037, 1999. Soil improvers and Growing Media – Determinations of Electrical Conductivity, European Committee for Standardization, Brussels, Belgium.
- EN 13038, 1999. Soil improvers and Growing Media – Determinations of pH, European Committee for Standardization, Brussels, Belgium.
- EN 13342, 2000. Characterization of Sludges. In: Determination of Kjeldahl Nitrogen, European Committee for Standardization, Brussels, Belgium.
- Environmental Protection Agency of United States. 1995. Process Design Manual. Land Application of Sewage Sludge and Domestic Septage. Office of Research and Development. Center for Environmental Research Information. Cincinnati, Ohio.
- Environmental Protection Agency of United States. 2001. List of undesirable substances 2000. Environmental Review No. 9. Miljøstyrelsen. Miljø- og energiministeriet
- European Comisión. 2001a. Disposal and recycling routes for sewage sludge. Part 2. Regulatory report. SEDE – Arthur Andersen. Directorate-General Environment. Brussels, Belgium.
- European Comisión. 2001b. Disposal and recycling routes for sewage sludge. Part 3. Scientific and technical sub-component report. SEDE – Arthur Andersen. Directorate-General Environment. Brussels, Belgium.
- European Comisión. 2008. Environment-related indicators - [Online] Disponible a: <<http://ec.europa.eu/environment/indicators/>>
- European Commission. 2001a. Survey of Wastes Spread on Land – Final Report. Report No. CO4953-2/11768-1. European Commission- Directorate-General for Environment. Brussels, Belgium.
- European Commission. 2006 b. Soil protection – The story behind the Strategy. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- Fountain, M. i Hopkin, S. 2005. *Folsomia candida* (Collembola): A “Standard” Soil Arthropod. *Annu. Rev. Entomol.* 50: 201-222
- Fytili, D. i Zabanioutou, A. 2008. Utilization of sewage sludge in EU application of old and new methods – A reveiw. *Renewable & Sustainable energy reviews.* 12: 116 – 140
- Giller. 1998. Toxicity of heavy metals to micro-organisms and microbial processes in agricultural soils - a review. *Soil Biology & Biochemistry* 30: 1389-1414
- Hilligsoe, H. i Holmstrup, M. 2003. Effects of starvation and body mass on drought tolerance in the soil collembolan *Folsomia candida*. *Insect Physiol.* 49: 99-104

- ISO 11267. 1999. Soil quality – Inhibition of reproduction of *Collembola* (*Folsomia candida*) by soil pollutants. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 11268-1. 1993. Soil quality – Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) – Part 1: Determination of acute toxicity using artificial substrate. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 11268-2. 1998. Soil quality – Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) – Part 2: Determination of effects on reproduction. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 11885, 1996. Water Quality-Determination of 33 Elements by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 16378. 2004. Soil quality – Effects of pollutants on Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.) – Determination of effects on reproduction and survival. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 17512. 2005. Soil quality – Avoidance test for testing the quality of soils and effects of chemicals on behaviour – Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Jänsch et al. 2005. Identification of the ecological requirements of important terrestrial ecotoxicological test species. *Environ. Rev.* 13(2): 51–83.
- Jensen, J. 1998. Ecotoxicological effect assessment and risk characterisation of selected contaminants in sewage sludge. PhD Thesis. Department of Analytical Chemistry. Danish University of Pharmaceutical Sciences. Copenhagen, Denmark.
- Kapanen, A. i Itävaara M. 2001. Ecotoxicity Tests for Compost Applications. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 49:1-16
- Kördel, W., Römbke, J. 2001. Requirements on physical, chemical and biological testing methods for estimating the quality of soils and soil substrates. *Journal of Soils and Sediments* 1: 98-104.
- Krogh, P.H., Holmstrup, M., Jensen, J. i Petersen SO. 1997. *Ecotoxicological Assessment of Sewage Sludge in Agricultural Soil.* Ministry of Environment and Energy. Danish Environmental Protection Agency. Working Report no. 69.
- Kuperman, R.G., Checkai, R.T., Simini, M. i Phillips C.T. 2006. Toxicity benchmarks for antimony, barium, and beryllium determined using reproduction endpoints for *Folsomia candida*, *Eisenia fetida*, and *Enchytraeus crypticus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25: 754-762.
- Lazzari, L., Sperti, L., Bertin, P i Pavón, B. 2000. Correlation between inorganic (heavy metals) and organic (PCBs and PAHs) micropollutant concentrations during sewage sludge composting processes. *Chemosphere.* 41: 427 – 435
- Magoarou, P. 2000. Urban waste water in Europe — What about the sludge? Proceedings of the workshop on Problems around Judge, 18–19 November 1999, European Commission Joint Research Centre EUR 19657 EN, pp 9–16
- Malerius, O. i Werther, J. 2003. Modelling the adsorption of mercury in the flue gas of sewage sludge incineration. *Chem Eng J.* 96:197–205.
- McGrath, SP. i Lane PW. 1989. An explanation for the apparent losses of metals in a long-term field experiment with sewage sludge. *Environmental pollution.* 60: 235 – 56
- Metcalf & Eddy. 1999. Wastewater engineering treatment, disposal and reuse. New York; McGraw-Hill, Inc., 1991, xv,1334 p.
- Moriarty, F., 1999. Ecotoxicology. The study of pollutants in ecosystems (3rd edition) Academic Press, 24–28 Oval Road, London NW17DX, UK.. 341 p. ISBN 0-12-506763-1.

- Natal-da-Luz, T. 2005. Avoidance tests with soil organisms as early screening tools for site specific
- O' Connor G. A. 1996. Organic compounds in sludge-amended soils and their potential for uptake by crop plants. *The science of the total environment* 185: 71-81.
- Ødegaard, H., Paulsrud, B. i Karlsson, I. 2002. Wastewater sludge as a resource: sludge disposal strategies and corresponding treatment technologies aimed at sustainable handling of wastewater sludge. *Water Sci Technol* 46: 295–303.
- Palerm J. 2001. Pollutants in Urban Waste. European Commission. Directorate-General Environment.
- Pankhurst CE. 1997. Biodiversity of soil organisms as an indicator of soil health. In Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR (eds) *Biological Indicators of Soil Health*. CAB International. Adelaide, Australia.
- Paredes, C., Roig, A., Bernal, M.P., Sánchez-Monedero, M.A. i Cegarra J. 2000. Evolution of organic matter and nitrogen during co-composting of olive mill wastewater with solid organic wastes. *Biol Fertil Soils* 32:222–227
- Paton, G.I., Killham, K., Weitz, H.J. i Semple, K.T. 2005. Biological tools for the assessment of contaminated land: applied soil ecotoxicology. *Soil Use and Management* . 21: 487–499
- Pérez, N. 2007. El compostaje vs residuos orgánicos. Monografías destacadas [Online] Disponible a <http://www.monografias.com>
- Potter, C.L., Glaser, J.A., Chang, L.W., Meier, J.R., Dosani, M.A. i Herrmann, R.F. 1999. Degradation of polynuclear aromatic hydrocarbons under bench-scale compost conditions. *Environ.Sci.Technol.* 33: 1717 – 1725
- Real Decreto-Ley 11/1995 del 28 de diciembre del 1995, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas, ratificado por Real Decreto 509/1996 del 15 de marzo del 1996, BOE No.77 del 29-03-96
- Real Decreto-Ley 1310/1990 del 29 de Noviembre del 1990 por el que se regula la utilización de lodos de depuradora en agricultura, BOE No. 262 del 1-11-90
- Richards, B.K., T.S. Steenhuis, J., Peverly, J.H i McBride M.B. 1998. Metal mobility at an old, heavily loaded sludge application site. *Environ. Pollut.* 99: 365 – 377.
- Riepert F. i Kula C., 1996. Development of laboratory methods for testing effects of chemicals and pesticides on Collembola and earthworms. *Mittlungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft*, p. 82.
- risk assessment of contaminated soils. Master Thesis. Departamento de Zoologia. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade de Coimbra, Portugal.
- Römbke, J. 2003. Ecotoxicological laboratory tests with enchytraeids. *Pedobiologia* 47: 607-616
- Rovira, P. i Vallejo, V.R. 2002. Labile and recalcitrant pools of carbon and nitrogen in organic matter decomposing at different depths in soil: an acid hydrolysis approach. *Geoderma* 107: 109 – 141.
- Rynk, R. 1992. On-farm Composting Handbook. Northeast Regional Agricultural Engineering Service. Publication 54. Ithaca NY, [Online] Disponible a: <http://www.cfe.cornell.edu/compost/onFarmHandbook>
- Sanz, E., Prats, D., Rodríguez, M. i Camacho, A. 2006. Effect of temperature and organic nutrients on the biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) during the composting of anaerobically digested sludge from a wastewater treatment plant. *Waste Manage.* 26, 1237-1245.
- Sheppard, S. C., i Evenden, W. G. 1994. Simple whole-soil bioassay based on microarthropods. *Bull. Environ. Contam. toxicol.* 52: 95-101.

- Smith B. M. 1991. An inter- and intra-agency survey of the use of plants for toxicity assessment. In *Plants for toxicity Assessment: Second volume* (W. Gorsuch, W. R. Lower, W. Wang, and M. A. Lewis, Eds.), ASTM STP1115 pp. 41}59. ASTM, Philadelphia.
- Smith, S. R. 2000. Are controls on organic contaminants necessary to protect the environment when sewage sludge is used in agriculture?.- *Prog. In Environ.*, 2: 129-146.
- Soliva, M. 2001. Compostatge i gestió de residus orgànics. Estudis i Monografies 21. Diputació de Barcelona, Àrea de Medi Ambient, Barcelona.
- Tarrasón D. 2004. Alternatives de fertilització per a la rehabilitació de sòls degradats: aplicació de fang fresc, compostat i d'assecatge tèrmic. . Tesis. Unitat d'ecologia - CREAF.
- Thornton, I., Butler, D., Docx, P., Hession, M., Makropoulos, C., McMullen, M., Nieuwenhuijsen, M., Pitman, A., Rautiu, R., Sawyer, R., Smith, S., White, D., Wilderer, P., Paris, S., Marani, D., Braguglia, C. i
- Van Gestel, C. A. M. i Van Straalen, N. M. 1994. Ecotoxicological test systems for terrestrial invertebrates. In *Ecotoxicology of Soil Organisms* (M. H. Donker, H. Eijsackers, and F. Heimbach, Eds.), pp. 205}229. A special publication of SETAC.
- Van Straalen. 2003. Ecotoxicology becomes stress ecology. *Environmental Science and Technology*. 37: 324A-330A.
- Westheide, W. i Müller, MC. 1996. Cinematographic documentation of enchytraeid morphology and reproductive biology. *Hydrobiologia* 334: 263-267
- Witter. 2000. A study of the structure and metal tolerance of the soil microbial community six years after cessation of sewage sludge application; *Environmental Toxicology and chemistry*. 19: 1983-19910

ANNEX

Valors límits de metalls pesants en fangs (mg/kg DM). (Les àrees obrejades representen valors límit per sota del requerit en la Directiva 86/278/EEC). [EC, 2001 a]

	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn	As	Mo	Co
Directive 86/278/EEC	20 - 40	-	1000 - 1750	16 - 25	300 - 400	750 - 1200	2500 - 4000	-	-	-
Austria	2 ^a 10 ^b 10 ^c 4 ^d 10 ^e 0,7 - 2,5 ^f	50 ^a 500 ^b 500 ^c 300 ^d 500 ^e 70 - 100 ^f	300 ^a 500 ^b 500 ^c 500 ^d 500 ^e 70 - 300 ^f	2 ^a 10 ^b 10 ^c 4 ^d 10 ^e 0,4 - 2,5 ^f	25 ^a 100 ^b 100 ^c 100 ^d 100 ^e 25 - 80 ^f	100 ^a 400 ^b 500 ^c 150 ^d 500 ^e 45 - 150 ^f	1500 ^a 2000 ^b 2000 ^c 1800 ^d 2000 ^e 200 - 1800 ^f	20 ^e	20 ^e	10 ^a 100 ^e
Belgium (Flanders)	6	250	375 ^f	5	100	300	900 ^f	150	-	-
Belgium (Walloon)	10	500	600	10	100	500	2000		-	-
Denmark - dry matter basis - total phosphorus basis	0,8 100	100	1000	0,8 200	30 2500	120 ^g 10 000 ^g	4000	25 ^h	-	-
Finland	3 1,5 ⁱ	300	600	2 1 ⁱ	100	150 100 ⁱ	1500	-	-	-
France	20 ^j	1000	1000	10	200	800	3000	-	-	-
Germany	10	900	800	8	200	900	2500	-	-	-
Greece	20 - 40	500	1000 - 1750	16 - 25	300 - 400	750 - 1200	2500 - 4000	-	-	-
Ireland	20	-	1000	16	300	750	2500	-	-	-
Italy	20	-	1000	10	300	750	2500	-	-	-
Luxembourg	20 - 40	1000 - 1750	1000 - 1750	16 - 25	300 - 400	750 - 1200	2500 - 4000	-	-	-
Netherlands	1,25	75	75	0,75	30	100	300	-	-	-
Portugal	20	1000	1000	16	300	750	2500	-	-	-
Spain - soil pH < 7 - soil pH > 7	20 40	1000 1750	1000 1750	16 25	300 400	750 1200	2500 4000	- -	- -	- -
Sweden	2	100	600	2,5	50	100	800	-	-	-
UK	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Accession countries</i>										
Estonia	15	1200	800	16	400	900	2900	-	-	-
Latvia	20	2000	1000	16	300	750	2500	-	-	-
Poland	10	500	800	5	100	500	2500	-	-	-

^a Lower Austria (grade II)

^b Upper Austria

^c Burgenland

^d Vorarlberg

^e Steiermark

^f Carinthia

^g These values are reduced to 125 (Cu) and 300 (Zn) from 31/12/2007

^h For private gardening, lead value is reduced to 60 mg/kg DM or 5000 mg/kg P

ⁱ For private gardening

^j Target limit values for 1998

^k 15 mg/kg DM from January 1, 2001 and 10 mg/kg DM from January 1, 2004

Valors límits de metalls pesants en sòls (mg/kg DM). (Les àrees obrejades representen valors límit per sota del requerit en la Directiva 86/278/EEC). [EC, 2001 a]

	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn	As	Mo	Co
Directive 86/278/EEC (6<pH<7)	1 - 3	-	50 - 140	1 - 1.5	30 - 75	50 - 300	150 - 300	-	-	-
Austria	1.5 ^a 1 ^b 2 ^c 2 ^d 2 ^e 0.5 - 1.5 ^f	100 ^a 100 ^b 100 ^c 100 ^d 100 ^e 50 - 100 ^f	60 ^a 100 ^b 100 ^c 100 ^d 100 ^e 40 - 100 ^f	1 ^a 1 ^b 1.5 ^c 1 ^d 1 ^e 0.2 - 1 ^f	50 ^a 60 ^b 60 ^c 60 ^d 60 ^e 30 - 70 ^f	100 ^a 100 ^b 100 ^c 100 ^d 100 ^e 50 - 100 ^f	200 ^a 300 ^b 300 ^c 300 ^d 300 ^e 100 - 200 ^f	-	10 ^e	50 ^e
Belgium (Flanders)	0.9	46	49	1.3	18	56	170	22	-	-
Belgium (Walloon)	2	100	50	1	50	100	200	-	-	-
Denmark	0.5	30	40	0.5	15	40	100	-	-	-
Finland	0.5	200	100	0.2	60	60	150	-	-	-
France	2	150	100	1	50	100	300	-	-	-
Germany	1.5	100	60	1	50	100	200	-	-	-
Greece	1 - 3	-	50 - 140	1 - 1.5	30 - 75	50 - 300	150 - 300	-	-	-
Ireland	1	-	50	1	30	50	150	-	-	-
Italy	1.5	-	100	1	75	100	300	-	-	-
Luxembourg	1 - 3	100 - 200	50 - 140	1 - 1.5	30 - 75	50 - 300	150 - 300	-	-	-
Netherlands	0.8	100	36	0.3	35	85	140	-	-	-
Portugal								-	-	-
- soil pH < 5.5	1	50	50	1	30	50	150			
- 5.5 < soil pH < 7	3	200	100	1.5	75	300	300			
- soil pH > 7	4	300	200	2	110	450	450			
Spain										
- soil pH < 7	1	100	50	1	30	50	150	-	-	-
- soil pH > 7	3	150	210	1.5	112	300	450	-	-	-
Sweden	0.4	60	40	0.3	30	40	100 - 150	-	-	-
UK								-	-	-
- 5 < soil pH < 5.5	3	-	80	1	50	300	200			
- 5.5 < soil pH < 6	3	-	100	1	60	300	250			
- 6 ≤ soil pH ≤ 7	3	-	135	1	75	300	300			
- soil pH > 7	3	-	200	1	110	300	450			
Estonia	3	100	50	1.5	50	100	300	-	-	-
Latvia	0.3 - 1	15 - 30	10 - 25	0.1 - 0.15	8 - 30	15 - 30	35 - 100	-	-	-
Poland	1 - 3	50 - 100	25 - 75	0.8 - 1.5	20 - 50	40 - 80	80 - 180	-	-	-
^a Lower Austria ^b Upper Austria ^c Burgenland ^d Vorarlberg ^e Steiermark ^f Carinthia										

Any 2007

GENER						
dilluns	dimarts	dimecres	dijous	divendres	dissabte	diumenge
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31				

FEBRER						
dilluns	dimarts	dimecres	dijous	divendres	dissabte	diumenge
			1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28				

MARÇ						
dilluns	dimarts	dimecres	dijous	divendres	dissabte	diumenge
			1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	

ABRIL						
dilluns	dimarts	dimecres	dijous	divendres	dissabte	diumenge
						1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30						

MAIG						
dilluns	dimarts	dimecres	dijous	divendres	dissabte	diumenge
	1	2	3	4	5	6
7	7	8	9	10	11	12
14	13	14	15	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31			

JUNY						
dilluns	dimarts	dimecres	dijous	divendres	dissabte	diumenge
				1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	

MOSTREIG COMPOSTS

CBLA1

T0 (14/02/2007) Inici compostatge

T28 (14/03/2007). Final fase termòfila / Inici fase maduració.

T40 (30/03/2007). 2 setmanes maduració.

T79 (08/05/2007). 8 setmanes maduració.

T107 (06/06/2007). 12 setmanes maduració.

CMAN1

T0 (28/02/2007) Inici compostatge.

T7 (07/02/2007). Mig de la fase termòfila.

T14 (14/03/2007). Final fase termòfila / Inici fase maduració.

T28 (30/03/2007). 2 setmanes maduració.

T67 (08/05/2007). 8 setmanes maduració.

T95 (06/06/2007). 12 setmanes maduració.

BLANES		<i>Falsomia candida</i>		<i>Enchytraeus crypticus</i>		<i>Eisenia fetida</i>	
temps	dosi	rèpliques	individus	rèpliques	individus	rèpliques	individus
Control	0	5	10 x 5	5	10 x 5	6	6 x 6
T0	1,2	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	4	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	20	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	50	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
T28	1,2	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	4	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	20	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	50	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
T40	1,2	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	4	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	20	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	50	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
T79	1,2	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	4	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	20	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	50	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
T107	1,2	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	4	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	20	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	50	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
MANRESA							
Control	0	5	10 x 5	5	10 x 5	6	6 x 6
T0	1,2	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	4	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	20	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	50	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
T7	1,2	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	4	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	20	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	50	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
T14	1,2	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	4	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	20	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	50	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
T28	1,2	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	4	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	20	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	50	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
T67	1,2	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	4	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	20	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	50	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
T95	1,2	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	4	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	20	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
	50	5	10 x 5	5	10 x 5	4	6 x 4
TOTAL recipients		230		230		188	
TOTAL individus			2300		2300		1128

BLANES

Temps compostatge	DOSI (g/kg)	DOSI T/ha	RÈPLICA	núm. ADULTS	mitjana adults	% adults	núm. DESCEND	mitjana descend	% descend
control	0,0	0,0	1	9	9,6	100	890	790,4	100
control	0,0	0,0	2	9			276		
control	0,0	0,0	3	10			1081		
control	0,0	0,0	4	10			887		
control	0,0	0,0	5	10			818		
T0	1,2	3,0	1	9	8,8	91,67	864	803,4	101,64
T0	1,2	3,0	2	9			929		
T0	1,2	3,0	3	10			803		
T0	1,2	3,0	4	8			692		
T0	1,2	3,0	5	8			729		
T0	4,0	10,0	1	10	8,2	85,42	682	745	94,26
T0	4,0	10,0	2	7			654		
T0	4,0	10,0	3	7			820		
T0	4,0	10,0	4	9			809		
T0	4,0	10,0	5	8			760		
T0	20	50,0	1	10	8,6	89,58	712	748,2	94,66
T0	20	50,0	2	7			782		
T0	20	50,0	3	7			779		
T0	20	50,0	4	9			797		
T0	20	50,0	5	10			671		
T0	50	125,0	1	10	8,6	89,58	293	302,2	38,23
T0	50	125,0	2	9			284		
T0	50	125,0	3	8			75		
T0	50	125,0	4	9			396		
T0	50	125,0	5	7			463		
T028	1,2	3,0	1	10	8,4	87,50	702	680,2	86,06
T028	1,2	3,0	2	8			676		
T028	1,2	3,0	3	7			714		
T028	1,2	3,0	4	8			618		
T028	1,2	3,0	5	9			691		
T028	4,0	10,0	1	9	9	93,75	793	788,4	99,75
T028	4,0	10,0	2	10			876		
T028	4,0	10,0	3	8			775		
T028	4,0	10,0	4	10			612		
T028	4,0	10,0	5	8			886		
T028	20	50,0	1	10	8,8	91,67	684	835,6	105,72
T028	20	50,0	2	9			906		
T028	20	50,0	3	9			682		
T028	20	50,0	4	8			970		
T028	20	50,0	5	8			936		
T028	50	125,0	1	9	8,8	91,67	352	331,6	41,95
T028	50	125,0	2	8			313		
T028	50	125,0	3	9			247		
T028	50	125,0	4	9			457		
T028	50	125,0	5	9			289		
T040	1,2	3,0	1	10	8,6	89,58	905	823	104,12
T040	1,2	3,0	2	9			860		
T040	1,2	3,0	3	8			760		
T040	1,2	3,0	4	9			830		
T040	1,2	3,0	5	7			760		
T040	4,0	10,0	1	9	9,2	95,83	816	803,8	101,70
T040	4,0	10,0	2	10			843		
T040	4,0	10,0	3	9			935		
T040	4,0	10,0	4	10			667		
T040	4,0	10,0	5	8			758		
T040	20	50,0	1	8	8,8	91,67	753	712	90,08
T040	20	50,0	2	10			754		
T040	20	50,0	3	9			625		
T040	20	50,0	4	8			705		
T040	20	50,0	5	9			723		
T040	50	125,0	1	10	8,8	91,67	290	58	7,34
T040	50	125,0	2	5			0		
T040	50	125,0	3	10			0		
T040	50	125,0	4	10			0		
T040	50	125,0	5	9			0		
T079	1,2	3,0	1	9	9,2	95,83	904	893	112,98
T079	1,2	3,0	2	9			896		
T079	1,2	3,0	3	10			859		
T079	1,2	3,0	4	8			955		
T079	1,2	3,0	5	10			851		
T079	4,0	10,0	1	9	8,6	89,58	685	725,8	91,83
T079	4,0	10,0	2	8			731		
T079	4,0	10,0	3	10			830		
T079	4,0	10,0	4	8			756		
T079	4,0	10,0	5	8			627		

ANNEX IV: Resultats dels bioassaigs

T079	20	50,0	1	9	8,6	89,58	741	825	104,38	
T079	20	50,0	2	9			613			
T079	20	50,0	3	9			945			
T079	20	50,0	4	8			840			
T079	20	50,0	5	8			986			
T079	50	125,0	1	7	8,6	89,58	615	257,8	32,62	
T079	50	125,0	2	9			400			
T079	50	125,0	3	9			210			
T079	50	125,0	4	9			11			
T079	50	125,0	5	9			53			
T107	1,2	3,0	1	9	8,6	89,58	851	816,2	103,26	
T107	1,2	3,0	2	7			872			
T107	1,2	3,0	3	9			763			
T107	1,2	3,0	4	9			773			
T107	1,2	3,0	5	9			822			
T107	4,0	10,0	1	8	8,6	89,58	870	787,8	99,67	
T107	4,0	10,0	2	9			736			
T107	4,0	10,0	3	8			846			
T107	4,0	10,0	4	9			874			
T107	4,0	10,0	5	9			613			
T107	20	50,0	1	8	8,6	89,58	744	827,8	104,73	
T107	20	50,0	2	9			846			
T107	20	50,0	3	7			958			
T107	20	50,0	4	9			784			
T107	20	50,0	5	10			807			
T107	50	125,0	1	9	9	93,75	155	201,6	25,51	
T107	50	125,0	2	10			119			
T107	50	125,0	3	9			141			
T107	50	125,0	4	9			419			
T107	50	125,0	5	8			174			
MANRESA										
Temps	DOSI	DOSI		núm.	mitjana	%	núm.	mitjana	%	
compostatge	(g/kg)	T/ha	RÈPLICA	ADULTS	adults	adults	DESCEND	descend	descend	
control	0,0	0,0	1	10	9,4	100	905	975,8	100	
control	0,0	0,0	2	10			1054			
control	0,0	0,0	3	9			987			
control	0,0	0,0	4	8			952			
control	0,0	0,0	5	10			981			
T0	1,2	3,0	1	10	8,6	91,49	1088	923,2	94,61	
T0	1,2	3,0	2	8			968			
T0	1,2	3,0	3	8			823			
T0	1,2	3,0	4	9			1019			
T0	1,2	3,0	5	8			718			
T0	4,0	10,0	1	10	8,8	93,62	900	870	89,16	
T0	4,0	10,0	2	8			870			
T0	4,0	10,0	3	9			792			
T0	4,0	10,0	4	10			951			
T0	4,0	10,0	5	7			837			
T0	20	50,0	1	8	9,4	100,00	910	795,2	81,49	
T0	20	50,0	2	10			833			
T0	20	50,0	3	10			713			
T0	20	50,0	4	10			742			
T0	20	50,0	5	9			778			
T0	50	125,0	1	9	9,4	100,00	4	0,8	0,08	
T0	50	125,0	2	9			0			
T0	50	125,0	3	10			0			
T0	50	125,0	4	10			0			
T0	50	125,0	5	9			0			
T07	1,2	3,0	1	10	8,8	93,62	707	839	85,98	
T07	1,2	3,0	2	7			954			
T07	1,2	3,0	3	10			839			
T07	1,2	3,0	4	9			853			
T07	1,2	3,0	5	8			842			
T07	4,0	10,0	1	10	9,4	100,00	835	970,4	99,45	
T07	4,0	10,0	2	10			1013			
T07	4,0	10,0	3	8			929			
T07	4,0	10,0	4	10			1151			
T07	4,0	10,0	5	9			924			
T07	20	50,0	1	10	8,8	93,62	986	895,2	91,74	
T07	20	50,0	2	9			973			
T07	20	50,0	3	8			974			
T07	20	50,0	4	8			869			
T07	20	50,0	5	9			674			
T07	50	125,0	1	8	8,8	93,62	481	602,2	61,71	
T07	50	125,0	2	10			569			
T07	50	125,0	3	9			588			
T07	50	125,0	4	10			966			
T07	50	125,0	5	7			407			

ANNEX IV: Resultats dels bioassaigs

T14	1,2	3,0	1	10	9,6	102,13	1088	905	92,74
T14	1,2	3,0	2	10			901		
T14	1,2	3,0	3	9			857		
T14	1,2	3,0	4	9			852		
T14	1,2	3,0	5	10			827		
T14	4,0	10,0	1	9	8,2	87,23	926	837,8	85,86
T14	4,0	10,0	2	7			735		
T14	4,0	10,0	3	7			769		
T14	4,0	10,0	4	9			947		
T14	4,0	10,0	5	9			812		
T14	20	50,0	1	10	8,6	91,49	990	937	96,02
T14	20	50,0	2	9			823		
T14	20	50,0	3	8			948		
T14	20	50,0	4	7			951		
T14	20	50,0	5	9			973		
T14	50	125,0	1	9	8,2	87,23	596	650,6	66,67
T14	50	125,0	2	7			718		
T14	50	125,0	3	9			414		
T14	50	125,0	4	7			896		
T14	50	125,0	5	9			629		
T28	1,2	3,0	1	8	8,4	89,36	782	836,2	85,69
T28	1,2	3,0	2	9			762		
T28	1,2	3,0	3	8			747		
T28	1,2	3,0	4	9			1106		
T28	1,2	3,0	5	8			784		
T28	4,0	10,0	1	9	8,4	89,36	853	786	80,55
T28	4,0	10,0	2	8			885		
T28	4,0	10,0	3	8			862		
T28	4,0	10,0	4	7			747		
T28	4,0	10,0	5	10			583		
T28	20	50,0	1	10	8,8	93,62	936	859,6	88,09
T28	20	50,0	2	9			905		
T28	20	50,0	3	7			774		
T28	20	50,0	4	9			785		
T28	20	50,0	5	9			898		
T28	50	125,0	1	7	8	85,11	976	758	77,68
T28	50	125,0	2	8			783		
T28	50	125,0	3	8			731		
T28	50	125,0	4	8			698		
T28	50	125,0	5	9			602		
T67	1,2	3,0	1	8	8,2	87,23	917	784,4	80,39
T67	1,2	3,0	2	8			725		
T67	1,2	3,0	3	7			727		
T67	1,2	3,0	4	10			717		
T67	1,2	3,0	5	8			836		
T67	4,0	10,0	1	9	9,2	97,87	959	889,8	91,19
T67	4,0	10,0	2	9			845		
T67	4,0	10,0	3	9			749		
T67	4,0	10,0	4	10			918		
T67	4,0	10,0	5	9			978		
T67	20	50,0	1	10	8,4	89,36	828	775,2	79,44
T67	20	50,0	2	9			439		
T67	20	50,0	3	7			865		
T67	20	50,0	4	9			834		
T67	20	50,0	5	7			910		
T67	50	125,0	1	10	8,6	91,49	435	223,2	22,87
T67	50	125,0	2	6			221		
T67	50	125,0	3	10			224		
T67	50	125,0	4	9			132		
T67	50	125,0	5	8			104		
T95	1,2	3,0	1	10	9,6	102,13	809	828,4	84,89
T95	1,2	3,0	2	9			794		
T95	1,2	3,0	3	10			875		
T95	1,2	3,0	4	9			842		
T95	1,2	3,0	5	10			822		
T95	4,0	10,0	1	10	9	95,74	884	906,4	92,89
T95	4,0	10,0	2	9			907		
T95	4,0	10,0	3	8			871		
T95	4,0	10,0	4	8			1105		
T95	4,0	10,0	5	10			765		
T95	20	50,0	1	9	9	95,74	826	873,2	89,49
T95	20	50,0	2	8			858		
T95	20	50,0	3	10			963		
T95	20	50,0	4	8			873		
T95	20	50,0	5	10			846		
T95	50	125,0	1	10	9,2	97,87	1075	846,4	86,74
T95	50	125,0	2	9			695		
T95	50	125,0	3	9			764		
T95	50	125,0	4	9			1216		
T95	50	125,0	5	9			482		

BLANES										
Temps compostatge	DOSI (g/kg)	DOSI T/ha	RÈPLICA	núm. ADULTS	mitjana adults	% adults	núm. DESCEND	mitjana descend	% descend	
control	0,0	0,0	1	10	6,2	100,00	609	306,2	100,00	
control	0,0	0,0	2	9			898			
control	0,0	0,0	3	1			6			
control	0,0	0,0	4	10			14			
control	0,0	0,0	5	1			4			
T0	1,2	3,0	1	10	4,4	70,97	660	329,8	107,71	
T0	1,2	3,0	2	10			511			
T0	1,2	3,0	3	0			8			
T0	1,2	3,0	4	1			5			
T0	1,2	3,0	5	1			465			
T0	4,0	10,0	1	9	7,6	122,58	616	460,4	150,36	
T0	4,0	10,0	2	8			654			
T0	4,0	10,0	3	8			631			
T0	4,0	10,0	4	9			301			
T0	4,0	10,0	5	4			100			
T0	20	50,0	1	3	2,6	41,9	11	8,2	2,7	
T0	20	50,0	2	0			0			
T0	20	50,0	3	8			30			
T0	20	50,0	4	2			0			
T0	20	50,0	5	0			0			
T0	50	125,0	1	2	0,8	12,9	9	3,0	1,0	
T0	50	125,0	2	0			0			
T0	50	125,0	3	2			6			
T0	50	125,0	4	0			0			
T0	50	125,0	5	0			0			
T028	1,2	3,0	1	2	5,6	90,32	171	325,4	106,27	
T028	1,2	3,0	2	9			154			
T028	1,2	3,0	3	8			399			
T028	1,2	3,0	4	9			899			
T028	1,2	3,0	5	0			4			
T028	4,0	10,0	1	10	4,8	77,42	322	238,8	77,99	
T028	4,0	10,0	2	0			0			
T028	4,0	10,0	3	4			416			
T028	4,0	10,0	4	10			456			
T028	4,0	10,0	5	0			0			
T028	20	50,0	1	0	2,0	32,3	13	96,6	31,5	
T028	20	50,0	2	1			14			
T028	20	50,0	3	9			442			
T028	20	50,0	4	0			13			
T028	20	50,0	5	0			1			
T028	50	125,0	1	7	2,0	32,3	11	2,2	0,7	
T028	50	125,0	2	1			0			
T028	50	125,0	3	2			0			
T028	50	125,0	4	0			0			
T028	50	125,0	5	0			0			
T040	1,2	3,0	1	5	7,0	112,90	399	544,0	177,66	
T040	1,2	3,0	2	6			336			
T040	1,2	3,0	3	10			472			
T040	1,2	3,0	4	9			1126			
T040	1,2	3,0	5	5			387			
T040	4,0	10,0	1	10	6,8	109,68	920	567,8	185,43	
T040	4,0	10,0	2	5			330			
T040	4,0	10,0	3	4			381			
T040	4,0	10,0	4	10			969			
T040	4,0	10,0	5	5			239			
T040	20	50,0	1	10	6,8	109,7	510	454,2	148,3	
T040	20	50,0	2	7			512			
T040	20	50,0	3	6			244			
T040	20	50,0	4	3			535			
T040	20	50,0	5	8			470			
T040	50	125,0	1	0	2,0	32,3	0	51,6	16,9	
T040	50	125,0	2	0			26			
T040	50	125,0	3	6			98			
T040	50	125,0	4	4			129			
T040	50	125,0	5	0			5			
T079	1,2	3,0	1	10	9,8	158,06	643	485,6	158,59	
T079	1,2	3,0	2	10			529			
T079	1,2	3,0	3	9			461			
T079	1,2	3,0	4	10			476			
T079	1,2	3,0	5	10			319			
T079	4,0	10,0	1	1	8,0	129,03	4	512,0	167,21	
T079	4,0	10,0	2	10			412			
T079	4,0	10,0	3	10			684			
T079	4,0	10,0	4	10			1129			
T079	4,0	10,0	5	9			331			

ANNEX IV: Resultats dels bioassaigs

T079	20	50,0	1	8	7,4	119,4	230	392,8	128,3
T079	20	50,0	2	9			300		
T079	20	50,0	3	10			397		
T079	20	50,0	4	7			581		
T079	20	50,0	5	3			456		
T079	50	125,0	1	0	1,2	19,4	145	44,8	14,6
T079	50	125,0	2	0			2		
T079	50	125,0	3	0			16		
T079	50	125,0	4	5			61		
T079	50	125,0	5	1			0		
T107	1,2	3,0	1	9	7,2	116,13	724	403,2	131,68
T107	1,2	3,0	2	9			212		
T107	1,2	3,0	3	4			200		
T107	1,2	3,0	4	10			382		
T107	1,2	3,0	5	4			498		
T107	4,0	10,0	1	0	7,6	122,58	19	589,6	192,55
T107	4,0	10,0	2	10			503		
T107	4,0	10,0	3	9			836		
T107	4,0	10,0	4	9			1028		
T107	4,0	10,0	5	10			562		
T107	20	50,0	1	10	7,0	112,9	1057	655,2	214,0
T107	20	50,0	2	0			11		
T107	20	50,0	3	9			810		
T107	20	50,0	4	6			376		
T107	20	50,0	5	10			1022		
T107	50	125,0	1	9	4,0	64,5	112	150,8	49,2
T107	50	125,0	2	0			3		
T107	50	125,0	3	9			637		
T107	50	125,0	4	1			0		
T107	50	125,0	5	1			2		

MANRESA

Temps compostatge	DOSI (g/kg)	DOSI T/ha	RÈPLICA	núm. ADULTS	mitjana adults	% adults	núm. DESCEND	mitjana descend	% descend
control	0,0	0,0	1	9	9,4	100	678	9,4	100,00
control	0,0	0,0	2	10			623		
control	0,0	0,0	3	10			701		
control	0,0	0,0	4	10			761		
control	0,0	0,0	5	8			733		
T0	1,2	3,0	1	10	9,2	97,87	227	9,2	75,20
T0	1,2	3,0	2	10			829		
T0	1,2	3,0	3	7			782		
T0	1,2	3,0	4	9			607		
T0	1,2	3,0	5	10			184		
T0	4,0	10,0	1	10	7,6	80,85	483	7,6	69,02
T0	4,0	10,0	2	5			551		
T0	4,0	10,0	3	5			256		
T0	4,0	10,0	4	8			347		
T0	4,0	10,0	5	10			776		
T0	20	50,0	1	10	2,6	27,66	142	2,6	4,262
T0	20	50,0	2	1			3		
T0	20	50,0	3	0			0		
T0	20	50,0	4	0			4		
T0	20	50,0	5	2			0		
T0	50	125,0	1	0	0,0	0	0	0,0	0,0858
T0	50	125,0	2	0			2		
T0	50	125,0	3	0			1		
T0	50	125,0	4	0			0		
T0	50	125,0	5	0			0		
T07	1,2	3,0	1	2	7,6	80,85	679	7,6	67,992
T07	1,2	3,0	2	10			429		
T07	1,2	3,0	3	8			562		
T07	1,2	3,0	4	8			242		
T07	1,2	3,0	5	10			465		
T07	4,0	10,0	1	10	8,4	89,36	1341	8,4	95,967
T07	4,0	10,0	2	10			740		
T07	4,0	10,0	3	5			409		
T07	4,0	10,0	4	7			295		
T07	4,0	10,0	5	10			570		
T07	20	50,0	1	9	8,4	89,36	701	8,4	50,286
T07	20	50,0	2	5			91		
T07	20	50,0	3	8			228		
T07	20	50,0	4	10			340		
T07	20	50,0	5	10			398		
T07	50	125,0	1	0	1,2	12,77	0	1,2	3,6613
T07	50	125,0	2	0			2		
T07	50	125,0	3	0			2		
T07	50	125,0	4	6			124		
T07	50	125,0	5	0			0		

ANNEX IV: Resultats dels bioassaigs

T14	1,2	3,0	1	9	9,2	97,87	545	9,2	96,796
T14	1,2	3,0	2	9			684		
T14	1,2	3,0	3	10			577		
T14	1,2	3,0	4	8			902		
T14	1,2	3,0	5	10			676		
T14	4,0	10,0	1	7	9,4	100	90	9,4	77,46
T14	4,0	10,0	2	10			572		
T14	4,0	10,0	3	10			466		
T14	4,0	10,0	4	10			1147		
T14	4,0	10,0	5	10			433		
T14	20	50,0	1	8	6,2	65,96	293	6,2	42,077
T14	20	50,0	2	7			571		
T14	20	50,0	3	6			186		
T14	20	50,0	4	0			0		
T14	20	50,0	5	10			421		
T14	50	125,0	1	3	0,8	8,511	207	0,8	6,2357
T14	50	125,0	2	0			1		
T14	50	125,0	3	1			10		
T14	50	125,0	4	0			0		
T14	50	125,0	5	0			0		
T28	1,2	3,0	1	10	7,0	74,47	396	7,0	57,551
T28	1,2	3,0	2	6			172		
T28	1,2	3,0	3	9			513		
T28	1,2	3,0	4	0			0		
T28	1,2	3,0	5	10			931		
T28	4,0	10,0	1	6	2,8	29,79	247	2,8	16,505
T28	4,0	10,0	2	0			18		
T28	4,0	10,0	3	0			59		
T28	4,0	10,0	4	0			0		
T28	4,0	10,0	5	8			253		
T28	20	50,0	1	6	6,0	63,83	0	6,0	40,904
T28	20	50,0	2	1			4		
T28	20	50,0	3	6			526		
T28	20	50,0	4	9			504		
T28	20	50,0	5	8			396		
T28	50	125,0	1	0	1,4	14,89	0	1,4	2,8318
T28	50	125,0	2	0			7		
T28	50	125,0	3	7			92		
T28	50	125,0	4	0			0		
T28	50	125,0	5	0			0		
T67	1,2	3,0	1	10	4,4	46,81	232	4,4	41,648
T67	1,2	3,0	2	7			626		
T67	1,2	3,0	3	1			31		
T67	1,2	3,0	4	0			0		
T67	1,2	3,0	5	4			567		
T67	4,0	10,0	1	5	6,4	68,09	104	6,4	31,665
T67	4,0	10,0	2	10			301		
T67	4,0	10,0	3	2			124		
T67	4,0	10,0	4	10			253		
T67	4,0	10,0	5	5			325		
T67	20	50,0	1	5	5,4	57,45	4	5,4	28,204
T67	20	50,0	2	9			325		
T67	20	50,0	3	3			146		
T67	20	50,0	4	10			511		
T67	20	50,0	5	0			0		
T67	50	125,0	1	0	2,6	27,66	0	2,6	5,1773
T67	50	125,0	2	0			3		
T67	50	125,0	3	1			3		
T67	50	125,0	4	0			0		
T67	50	125,0	5	12			175		
T95	1,2	3,0	1	4	6,4	68,09	73	6,4	50,915
T95	1,2	3,0	2	6			309		
T95	1,2	3,0	3	9			325		
T95	1,2	3,0	4	6			367		
T95	1,2	3,0	5	7			706		
T95	4,0	10,0	1	6	5,4	57,45	117	5,4	35,841
T95	4,0	10,0	2	10			690		
T95	4,0	10,0	3	6			240		
T95	4,0	10,0	4	0			0		
T95	4,0	10,0	5	5			206		
T95	20	50,0	1	0	2,2	23,4	0	2,2	6,1499
T95	20	50,0	2	9			176		
T95	20	50,0	3	2			39		
T95	20	50,0	4	0			0		
T95	20	50,0	5	0			0		
T95	50	125,0	1	0	0,0	0	0	0,0	0,286
T95	50	125,0	2	0			2		
T95	50	125,0	3	0			8		
T95	50	125,0	4	0			0		
T95	50	125,0	5	0			0		

BLANES

Temps compostatge	DOSI (g/kg)	DOSI T/ha	RÈPLICA	núm. ADULTS	mitjana		Mitjana pes (mg)	Biomassa total (mg)	Mitjana		núm. DESCEND	mitjana	
					adults	% adults			Biomassa (mg)	% biomassa total		descend	% descend
control	0,0	0,0	1	6	6	100,0	426,88	2561,30	2446,6		72	74,5	100,0
control	0,0	0,0	2	6			433,93	2603,60			74		
control	0,0	0,0	3	6			398,90	2393,40			91		
control	0,0	0,0	4	6			396,08	2376,50			79		
control	0,0	0,0	5	6			409,13	2454,80			65		
control	0,0	0,0	6	6			381,62	2289,70			66		
T0	1,2	3,0	1	6	6	100,0	440,35	2642,10	2685,0	109,74	40	79,25	106,4
T0	1,2	3,0	2	6			498,15	2988,90			85		
T0	1,2	3,0	3	6			416,30	2497,80			85		
T0	1,2	3,0	4	6			435,17	2611,00			107		
T0	4,0	10,0	1	5	5,75	95,8	445,42	2227,10	2540,5	103,84	118	94,25	126,5
T0	4,0	10,0	2	6			388,97	2333,80			68		
T0	4,0	10,0	3	6			519,95	3119,70			114		
T0	4,0	10,0	4	6			413,57	2481,40			77		
T0	20	50,0	1	6	6	100,0	502,52	3015,10	3025,5	123,66	127	129,75	174,2
T0	20	50,0	2	6			547,52	3285,10			125		
T0	20	50,0	3	6			512,23	3073,40			151		
T0	20	50,0	4	6			454,72	2728,30			116		
T0	50	125,0	1	6	5,75	95,8	467,77	2806,60	2916,2	119,20	78	100,75	135,2
T0	50	125,0	2	6			540,47	3242,80			121		
T0	50	125,0	3	6			525,50	3153,00			72		
T0	50	125,0	4	5			492,50	2462,50			132		
T028	1,2	3,0	1	6	5,75	95,8	507,65	3045,90	2480,0	101,37	127	70,25	94,3
T028	1,2	3,0	2	6			415,35	2492,10			55		
T028	1,2	3,0	3	6			403,35	2420,10			32		
T028	1,2	3,0	4	5			392,38	1961,90			67		
T028	4,0	10,0	1	6	6	100,0	450,57	2703,40	2416,7	98,78	48	67	89,9
T028	4,0	10,0	2	6			390,58	2343,50			77		
T028	4,0	10,0	3	6			351,53	2109,20			63		
T028	4,0	10,0	4	6			418,47	2510,80			80		
T028	20	50,0	1	6	5,5	91,7	476,47	2858,80	2557,5	104,54	111	91	122,1
T028	20	50,0	2	5			492,32	2461,60			86		
T028	20	50,0	3	6			435,20	2611,20			78		
T028	20	50,0	4	5			459,70	2298,50			89		
T028	50	125,0	1	6	5,5	91,7	490,88	2945,30	2488,2	101,70	68	59,75	80,2
T028	50	125,0	2	6			499,17	2995,00			76		
T028	50	125,0	3	6			408,18	2449,10			47		
T028	50	125,0	4	4			390,88	1563,50			48		
T040	1,2	3,0	1	6	6	100,0	400,57	2403,40	2471,5	101,02	65	54,75	73,5
T040	1,2	3,0	2	6			328,23	1969,40			22		
T040	1,2	3,0	3	6			442,52	2655,10			58		
T040	1,2	3,0	4	6			476,33	2858,00			74		
T040	4,0	10,0	1	6	6	100,0	382,50	2295,00	2249,8	91,96	70	68	91,3
T040	4,0	10,0	2	6			312,72	1876,30			69		
T040	4,0	10,0	3	6			406,22	2437,30			51		
T040	4,0	10,0	4	6			398,42	2390,50			82		
T040	20	50,0	1	6	6	100,0	451,32	2707,90	2604,0	106,43	108	90,75	121,8
T040	20	50,0	2	6			455,07	2730,40			91		
T040	20	50,0	3	6			408,02	2448,10			70		

T040	20	50,0	4	6			421,57	2529,40			94		
T040	50	125,0	1	6	6	100,0	446,93	2681,60	2606,6	106,54	9	15,75	21,1
T040	50	125,0	2	6			398,55	2391,30			12		
T040	50	125,0	3	6			473,32	2839,90			29		
T040	50	125,0	4	6			418,90	2513,40			13		
T079	1,2	3,0	1	6	6	100,0	464,52	2787,10	2741,5	112,06	37	56,25	75,5
T079	1,2	3,0	2	6			501,58	3009,50			62		
T079	1,2	3,0	3	6			414,07	2484,40			63		
T079	1,2	3,0	4	6			447,50	2685,00			63		
T079	4,0	10,0	1	6	6	100,0	440,27	2641,60	2713,2	110,90	70	64,75	86,9
T079	4,0	10,0	2	6			451,13	2706,80			58		
T079	4,0	10,0	3	6			447,25	2683,50			60		
T079	4,0	10,0	4	6			470,15	2820,90			71		
T079	20	50,0	1	6	5,75	95,8	485,73	2914,40	2514,3	102,77	29	48,5	65,1
T079	20	50,0	2	6			426,43	2558,60			79		
T079	20	50,0	3	5			422,36	2111,80			23		
T079	20	50,0	4	6			412,07	2472,40			63		
T079	50	125,0	1	6	6	100,0	412,48	2474,90	2625,0	107,29	31	21,25	28,5
T079	50	125,0	2	6			384,78	2308,70			13		
T079	50	125,0	3	6			459,47	2756,80			32		
T079	50	125,0	4	6			493,23	2959,40			9		
T107	1,2	3,0	1	6	6	100,0	404,12	2424,70	2648,1	108,24	63	64,5	86,6
T107	1,2	3,0	2	6			441,85	2651,10			65		
T107	1,2	3,0	3	6			420,78	2524,70			69		
T107	1,2	3,0	4	6			498,65	2991,90			61		
T107	4,0	10,0	1	6	6	100,0	416,08	2496,50	2636,3	107,75	67	77	103,4
T107	4,0	10,0	2	6			442,62	2655,70			85		
T107	4,0	10,0	3	6			455,52	2733,10			80		
T107	4,0	10,0	4	6			443,28	2659,70			76		
T107	20	50,0	1	6	5,75	95,8	438,07	2628,40	2534,2	103,58	75	66,75	89,6
T107	20	50,0	2	6			468,32	2809,90			78		
T107	20	50,0	3	6			423,58	2541,50			50		
T107	20	50,0	4	5			431,40	2157,00			64		
T107	50	125,0	1	6	6	100,0	407,55	2445,30	2457,9	100,46	35	30	40,3
T107	50	125,0	2	6			321,78	1930,70			31		
T107	50	125,0	3	6			438,23	2629,40			38		
T107	50	125,0	4	6			471,00	2826,00			16		

MANRESA

Temps compostatge	DOSI (g/kg)	DOSI T/ha	RÈPLICA	núm. ADULTS	mitjana adults	% adults	Mitjana pes (mg)	Biomassa total (mg)	Mitjana		núm. DESCEND	mitjana descend	% descend
									Biomassa (mg)	% biomassa total			
control	0	0	1	6	6	100	482,15	2892,9	2781,73333	100	20	23	100
control	0	0	2	6	6		442,333333	2654			30		
control	0	0	3	6	6		490,2	2941,2			13		
control	0	0	4	6	6		474,216667	2845,3			19		
control	0	0	5	6	6		455,25	2731,5			19		
control	0	0	6	6	6		437,583333	2625,5			37		
T0	1,2	3	1	6	6	100	499,266667	2995,6	2811,625	101,07457	15	21,5	93,4782609
T0	1,2	3	2	6	6		416,183333	2497,1			29		
T0	1,2	3	3	6	6		479,6	2877,6			22		
T0	1,2	3	4	6	6		479,366667	2876,2			20		
T0	4	10	1	6	6	100	455,8	2734,8	2667,65	95,8988401	23	26,25	114,130435
T0	4	10	2	6	6		440,683333	2644,1			28		
T0	4	10	3	6	6		416,8	2500,8			25		
T0	4	10	4	6	6		465,15	2790,9			29		
T0	20	50	1	6	6	100	483,6	2901,6	2985,1	107,310789	60	46	200
T0	20	50	2	6	6		458,616667	2751,7			47		
T0	20	50	3	6	6		530,666667	3184			56		
T0	20	50	4	6	6		517,183333	3103,1			21		
T0	50	125	1	6	5,833333	97,2222	533,35	3200,1	3374,875	121,322736	36	61,75	268,478261
T0	50	125	2	6	6		643,483333	3860,9			59		
T0	50	125	3	6	6		594,25	3565,5			68		
T0	50	125	4	6	6		478,833333	2873			84		
T07	1,2	3	1	6	5,833333	97,2222	519,716667	3118,3	2829,025	101,700079	48	34	147,826087
T07	1,2	3	2	5	6		372,2	2233,2			32		
T07	1,2	3	3	6	6		407,9	2447,4			27		
T07	1,2	3	4	6	6		586,2	3517,2			29		
T07	4	10	1	6	6	100	495,95	2975,7	2986,525	107,362016	56	45	195,652174
T07	4	10	2	6	6		393,45	2360,7			25		
T07	4	10	3	6	6		595,583333	3573,5			49		
T07	4	10	4	6	6		506,033333	3036,2			50		
T07	20	50	1	6	5,833333	97,2222	505,583333	3033,5	2877,95	103,458875	54	43,25	188,043478
T07	20	50	2	6	6		443,333333	2660			54		
T07	20	50	3	6	6		470,283333	2821,7			18		
T07	20	50	4	6	6		499,433333	2996,6			47		
T07	50	125	1	5	5,833333	97,2222	528,04	2640,2	2925,925	105,183519	50	42,75	185,869565
T07	50	125	2	6	6		522,566667	3135,4			41		
T07	50	125	3	6	6		457,866667	2747,2			53		
T07	50	125	4	6	6		530,15	3180,9			27		
T14	1,2	3	1	6	6	100	405,833333	2435	2583,2	92,8629631	27	25,75	111,956522
T14	1,2	3	2	6	6		426,183333	2557,1			16		
T14	1,2	3	3	6	6		417,55	2505,3			18		
T14	1,2	3	4	6	6		472,566667	2835,4			42		
T14	4	10	1	6	5,833333	97,2222	467,233333	2803,4	2661,425	95,6750587	33	24,5	106,521739
T14	4	10	2	6	6		442,766667	2656,6			10		
T14	4	10	3	5	6		384,016667	2304,1			24		
T14	4	10	4	6	6		480,266667	2881,6			31		
T14	20	50	1	6	6	100	481,066667	2886,4	2954,35	106,205364	67	56,5	245,652174
T14	20	50	2	6	6		536,483333	3218,9			64		
T14	20	50	3	6	6		499,616667	2997,7			49		

T14	20	50	4	6			452,4	2714,4			46		
T14	50	125	1	6	5,83333	97,2222	455,766667	2734,6	2786,7	100,178546	43	46,25	201,086957
T14	50	125	2	6			582,266667	3493,6			67		
T14	50	125	3	5			385,24	1926,2			33		
T14	50	125	4	6			498,733333	2992,4			42		
T28	1,2	3	1	6	6	100	417,816667	2506,9	2838,675	102,046985	35	42,5	184,782609
T28	1,2	3	2	6			510,366667	3062,2			43		
T28	1,2	3	3	6			487,95	2927,7			62		
T28	1,2	3	4	6			476,316667	2857,9			30		
T28	4	10	1	6	6	100	409,166667	2455	2655,4	95,4584671	18	24,25	105,434783
T28	4	10	2	6			516,25	3097,5			40		
T28	4	10	3	6			406,116667	2436,7			24		
T28	4	10	4	6			438,733333	2632,4			15		
T28	20	50	1	6	5	83,3333	472,216667	2833,3	3114,275	111,954477	55	57,25	248,913043
T28	20	50	2	6			519,233333	3115,4			82		
T28	20	50	3	6			482,45	2894,7			48		
T28	20	50	4	6			602,283333	3613,7			44		
T28	50	125	1	0	4	66,6667	0	0	1209,325	43,4737933	0	26,5	115,217391
T28	50	125	2	6			380,9	2285,4			56		
T28	50	125	3	0			0	0			0		
T28	50	125	4	6			425,316667	2551,9			50		
T67	1,2	3	1	6	6	100	429,483333	2576,9	2511,575	90,2881297	66	38,5	167,391304
T67	1,2	3	2	6			399,916667	2399,5			38		
T67	1,2	3	3	6			425,433333	2552,6			21		
T67	1,2	3	4	6			419,55	2517,3			29		
T67	4	10	1	6	6	100	439,333333	2636	2648,9	95,2247999	44	41,75	181,521739
T67	4	10	2	6			455,516667	2733,1			56		
T67	4	10	3	6			459	2754			43		
T67	4	10	4	6			412,083333	2472,5			24		
T67	20	50	1	6	6	100	460,683333	2764,1	2785,6	100,139002	69	66,75	290,217391
T67	20	50	2	6			541,416667	3248,5			67		
T67	20	50	3	6			376,066667	2256,4			79		
T67	20	50	4	6			478,9	2873,4			52		
T67	50	125	1	6	5,83333	97,2222	390,138333	2340,83	2465,6325	88,6365516	37	55,75	242,391304
T67	50	125	2	6			479,333333	2876			58		
T67	50	125	3	6			385,9	2315,4			44		
T67	50	125	4	6			388,383333	2330,3			84		
T95	1,2	3	1	5	4,83333	80,5556	395,62	1978,1	2652,825	95,365899	41	40	173,913043
T95	1,2	3	2	6			459,983333	2759,9			35		
T95	1,2	3	3	6			459,133333	2754,8			23		
T95	1,2	3	4	6			519,75	3118,5			61		
T95	4	10	1	0	4,83333	80,5556	0	0	2271,275	81,6496309	0	44,25	192,391304
T95	4	10	2	6			425,166667	2551			55		
T95	4	10	3	6			537,7	3226,2			70		
T95	4	10	4	6			551,316667	3307,9			52		
T95	20	50	1	5	5,83333	97,2222	585,96	2929,8	3052,5	109,733739	94	80	347,826087
T95	20	50	2	6			528,716667	3172,3			78		
T95	20	50	3	6			494,133333	2964,8			87		
T95	20	50	4	6			523,85	3143,1			61		
T95	50	125	1	6	6	100	426,183333	2557,1	2600,775	93,4947635	64	55,25	240,217391
T95	50	125	2	6			444,2	2665,2			35		
T95	50	125	3	6			449,316667	2695,9			61		
T95	50	125	4	6			414,15	2484,9			61		