

ALGUNS ASPECTES MICROBIOLÒGICS DE LA UTILITZACIÓ AGRÍCOLA DELS FANGS DE DEPURADORA

ALFRED COHÍ i RAMON

Àrea de Química Agrícola, E.U. d'Enginyeria
Tècnica Agrícola de Barcelona

RESUMEN

Algunos aspectos microbiológicos de la utilización agrícola de los lodos de depuradoras.

La utilización de los lodos resultantes de la depuración de aguas residuales como abono requiere un control y un conocimiento profundo de los aspectos potencialmente nocivos, uno de los cuales es el microbiológico. El nivel de contaminación de los lodos obtenidos por un sistema de lodos activados —que es

el más extendido en Cataluña— dependerá de la buena marcha de la planta depuradora y del tratamiento terciario a que sean sometidos los fangos.

Para concretar estos aspectos sanitarios, se ha estudiado la evolución de algunos índices microbiológicos —microflora aerobia total, coliformes totales, estreptococos fecales y salmonelas— durante el proceso de digestión aerobia y el posterior secado sobre lecho de arena de los fangos resultantes de la digestión.

ABSTRACT

Some microbiological aspects of agricultural use of sewage sludge.

The utilisation of sewage sludge on crop fields as a fertilizer is based on a knowledge and control of potentially hazardous aspects, such as microbiological implications. The fate of bacterial contamination of wastes from activated sludge plants —the more extended system in Catalonia— will depend of good plant operation and se-

wage sludge treatment.

In order to specify this health aspects, we have studied the variation in time of some microbiological parameters —total aerobic bacterial count, total coliforms, fecal streptococci and salmonela— during wastewater aerobic digestion and latter drying of sludges on sand bed.

La utilització de grans quantitats d'aigua per a l'eliminació de residus urbans i industrials, juntament amb la necessitat ineludible de preservar l'entorn natural, ha portat a una proliferació de plantes de depuració d'aigües residuals al nostre país. Un cop depurada l'aigua, però, queda el problema de l'eliminació dels fangs. Una alternativa especialment interessant és la seva utilització al camp com a producte fertilitzant, sempre que això es faci sota un control rigorós en tots els aspectes, un

dels quals és el microbiològic.

Dels diferents sistemes de depuració biològica que existeixen —autodepuració, abocament directe al sòl, llacunes de sedimentació, digestió anaeròbica, llits bacterians i sistema de llots activats— és aquest últim que serà objecte d'estudi, ja que és el més estès a Catalunya per a la depuració d'aigües residuals domèstiques, que són les que poden donar un subproducte utilitzable en agricultura.

DEPURACIÓ BIOLÒGICA AERÒBIA

El procés de depuració biològica és, en essència, un conjunt de complexos processos microbiològics en el qual intervenen gran nombre de microorganismes. Veurem primer quins són aquests microorganismes i com intervenen en els diversos passos de la depuració.

Classificació dels microorganismes

segons la font d'energia utilitzada

— *Fotòtrofs*: utilitzen l'energia lluminosa. Aquest grup el formen les algues i els bacteris fotosintètics. Sintetitzen tots llurs constituents cel·lulars a partir del CO_2 i una font de nitrogen mineral. Desprenen oxigen en quantitats notables.

— *Quimiolitòtrofs*: són, sobretot, bacteris que obtenen l'energia de l'oxidació de substàncies minerals. Són molt especialitzats, llur font d'energia està directament lligada a l'oxidació d'un producte determinat. En aquest grup hi ha alguns bacteris del cicle del sofre (oxidació de sulfurs, tiosulfats, tiocianats) i els bacteris nitrificants (*Nitrosomonas* i *Nitrobacter*). Quantitativament són poc importants en els sistemes de llots activats.

— *Quimioorganotrofs*: ho són la gran majoria dels microorganismes que intervenen en la depuració: bacteris, fongs i

protozous. Obtenen l'energia de reaccions d'oxidació i reducció en les quals els donadors de protons i d'electrons són substàncies orgàniques. En el cas dels organismes aerobis, aquests electrons arriben a l'oxigen a través de la cadena respiratòria. Donat que aquest procés és el de major rendiment energètic, els microorganismes aerobis poden convertir entre el 35 i el 50 % del carboni orgànic dels residus en cèl·lules microbianes, i la resta es desprèn en forma de CO₂. Així, l'acumulació final de productes és mínima. Els fangs decantats, doncs, estaran formats principalment de cossos microbianes.

Llots activats

L'aireació continuada de les aigües brutes produeix un precipitat floconós, seguit de la clarificació de l'aigua per efecte dels bacteris aerobis i de l'oxigen. Aquests microorganismes es troben associats en floccs, que tenen la facultat d'absorbir la matèria orgànica contaminant, metabolitzar-la i decantar-se fàcilment quan para l'agitació.

El nombre de bacteris en els llots activats és de l'ordre de 10.000 milions per mil·lilitre, però d'aquests, tan sols un 1 o 2 % són viables. La major part pertanyen a l'ordre Eubacterials, aerobis o anaerobis facultatius (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*). Hi ha també algunes soques dels gèneres *Arthrobacter*, *Micrococcus* i *Bacillus*, així com alguns gèneres d'actinomicetals (*Mycobacterium*, *Nocardia*, *Streptomyces*). Hi ha una espècie particular, *Zooglea ramige-*

ra, que sembla que és la responsable de la síntesi de la substància gelatinosa que uneix els floccs.

A causa de la terbolesa del medi, les algues hi són poc nombroses. No passa el mateix amb els protozous, que representen fins a un 5 % de les matèries en suspensió. Són, sobretot, ciliats i alguns flagel·lats, i el seu paper és fonamental en la depuració, ja que són els encarregats de mantenir el "turnover" de la població bacteriana, que sinó degeneraria.

En el tanc de decantació primària, a més de la separació de sorra, llim i altres sòlids decantables, s'eliminen les matèries flotants (greixos, ceres, etc.). Aquest efluent primari passa al tanc d'aireació, on té lloc la digestió aeròbia, seguida de la decantació secundària, ja sigui en el mateix tanc, aturant l'agitació, o bé en un decantador secundari, si es tracta d'un procés continu. El temps de retenció pot variar àmpliament, segons si és

un procés semicontinu —on oscil·la més endavant)— o algunes hores en els entre uns quants dies i algunes setmanes sistemes continus amb reciclatge de (és el cas de la depuradora estudiada llots (figura 1).

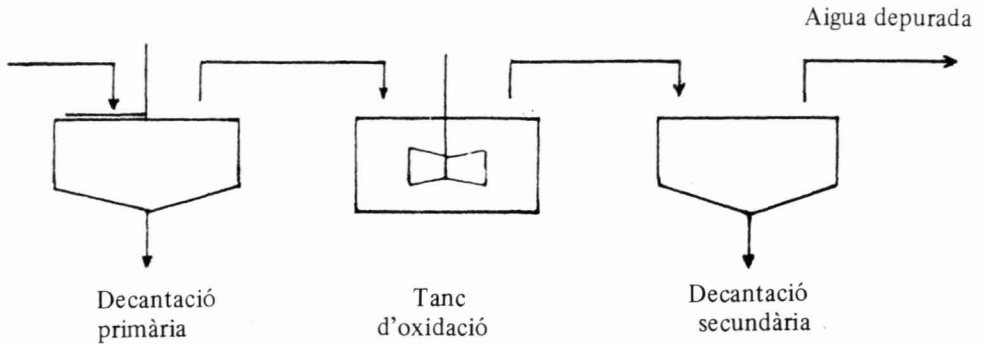


FIGURA 1 - Esquema del sistema de depuració d'aigües per llots activats.

Microorganismes patògens

Dins d'aquest apartat cal distingir dos aspectes diferents: per una banda, la qualitat sanitària de l'aigua depurada —problema aquest àmpliament tractat a la bibliografia— i, per l'altra, el nivell de contaminació microbiològica dels fangs residuals, ja que la seva utilització agrícola suposa un contacte més o menys directe amb les persones i les plantes.

A la sortida del tanc d'oxidació, acabat el tractament i realitzada la decantació secundària, hi ha una reducció del 90 al 99 % de bacteris intestinals banals a l'aigua. No obstant, alguns patògens hi queden (*Salmonella*, *Shigella*, *Leptospira*) i surten amb l'efluent. La reducció d'enterovirus és de l'ordre del 98 al 99 %, ja que són absorbits pels flocs. Especialment important és la supervivència de *Salmonella*; l'elimina-

ció qualitativa per tractaments biològics és pràcticament nul·la, tot i que des del punt de vista quantitatiu pot variar entre un 50 i un 90 % de reducció.

La reducció d'organismes patògens a l'aigua s'aconsegueix essencialment per dos camins: la depredació a què són sotmesos per protozous i bacteriòfags i per la seva decantació amb els fangs. Aquest segon procés és el que interessa des de la perspectiva de la utilització dels llots residuals. Repassem, doncs, quin pot ser el destí dels principals bacteris patògens que entren en l'efluent.

— *Salmonella*: Ja hem dit que una bona part queda a l'aigua després de la decantació secundària. La supervivència d'aquest microorganisme es veu afavorida per la matèria orgànica del residu,

però és seriosament afectada per la competència de poblacions microbianes elevades.

— *E. coli*: la major part són absorbits pels flocs i decantats. Són sotmesos a una forta depredació per part dels protozoous.

— *Mycobacterium tuberculosis*: pràcticament, tota la població d'aquesta espècie és decantada amb els fangs.

— *Pseudomonas, Vibrio, Shigella, etc.*: el destí d'aquests patògens és poc conegut, però sembla que la seva supervivència és limitada en els fangs, depèn del

tipus de tractament terciari que aquests sofreixin.

En el cas particular estudiat a continuació, el tractament dels fangs abans de sortir de la planta depuradora consisteix en un procés sobre un llit de sorra durant un temps que depèn de les condicions meteorològiques i de la mateixa marxa de la depuradora. Com a principals factors que afecten la supervivència dels bacteris patògens, en aquest cas, cal assenyalar la reducció d'humitat —que pot passar d'un 95 a un 10-15 %—, la radiació solar i l'estabilització de les poblacions microbianes més ben adaptades a les noves condicions.

EVOLUCIÓ D'ALGUNS ÍNDEXS MICROBIOLÒGICS

Material d'estudi

Les proves han estat fetes sobre dos tipus de materials: el contingut del tanc d'aireació des del moment d'emplenar-lo fins a l'hora de la decantació, i el contingut d'una era d'assecat des del dia d'omplir-la amb els fangs decantats (92 % d'humitat) fins a la seva eliminació (15 % d'humitat). Ambdós productes eren originaris de l'estació depuradora de Roses (Alt Empordà), que rep un afluent de tipus mixt, però fonamentalment d'origen domèstic. Les

Mètodes

Han estat estudiats en total quatre paràmetres: la microflora aeròbia mesòfila total, els gèrmens coliformes totals, els estreptococs fecals (grup D) i les salmonel·les (qualitatiu).

mostres del primer grup eren líquids que contenien entre un 1 i un 3 % de sòlids en suspensió. Les del segon grup eren sòlides o semisòlides. La digestió aeròbia va durar 12 dies, durant els quals es van extreure quatre mostres. El fang decantat va romandre 27 dies a l'era, ja que el procés d'assecat es va retardar com a conseqüència de la pluja que va caure als quinze dies d'haver emplenat l'era.

La microflora total es va determinar pel mètode de dilució en placa de Petri, sobre un medi de cultiu col·lectiu ("Total Plate Count Agar").

Els gèrmens coliformes van ser deter-

minats pel mètode del nombre més probable, pel despreniment de gas després de 48 h en un medi a base de sals biliars i verd brillant que contenia lactòsa, i sense cap mena de confirmació posterior.

Per als estreptococs s'utilitzà el mètode de dilució en placa sobre agar de Slanetz i Bartley, i posterior confirmació de les colònies sospitoses per les característiques de creixement a 45°C, en presència de 6,5 % de NaCl, en presència del 4 % de sals biliars, a pH 9,6 i

absència d'activitat catalàssica.

La presència o absència de *Salmonella* es va provar en 50 ml per a les mostres líquides i en 30 gr per a les sòlides. El mètode passa per una fase de pre-enriquiment, enriquiment sobre medi selenit i tetracionat, aïllament sobre agar SS i agar Kligler, i posterior identificació bioquímica i serològica. (per a més detalls sobre mètodes i composició dels medis de cultiu, vegeu RODIER, 1975).

Resultats i discussió

El conjunt dels resultats obtinguts, juntament amb el pH de totes les mos-

tres i la humitat de les mostres sòlides, es troben al Quadre I.

	Temps (dies)	Microflora total x 10 ⁷	Coliformes totals x 10 ³	Estreptoc. fecals x 10 ³	Salmonel.	Humitat %	pH
DIGESTOR	1	1,50	45	70	+	-	7,51
	5	2,80	4,5	1,9	+	-	7,81
	8	5,27	9,5	10,5	+	-	7,11
	12	15,2	4,6	3,1	+	-	6,51
ERA	1	119	56	53	+	91,2	7,76
	5	135	38	21	+	70,7	6,72
	14	255	103	7,2	+	62,6	6,22
	20	225	1100	1560	0	59,1	6,43
	27	41,4	530	13	0	14,8	—

QUADRE I - Evolució dels quatre paràmetres microbiològics en el temps. En el digestor, els resultats són expressats en nombre de gèrmens per ml.; Salmonel.les buscades en 50 ml. A l'era, en nombre de gèrmens per gram de matèria seca; Salmonel.les buscades en 30 gr.

Microflora total

Inclou la majoria dels gèneres esmentats a la primera part, però tenint en compte que en un medi de cultiu artificial difícilment creixeran totes les espècies bacterianes presents en un material tan heterogeni com els fangs.

En el tanc de digestió, la població bacteriana creix de forma exponencial (lineal en escala logarítmica) amb el pas del temps. Assistim, doncs, a la fase de desenvolupament dels bacteris aerobis responsables de la depuració, desenvolupament que es veu afavorit per l'aïreació i per l'elevada càrrega de matèries biodegradables que conté l'aigua residual. Calia esperar que cap al final de la digestió s'estabilitzés el nombre de gèrmen total, però resulta que es va buidar el digestor abans del temps normal, a causa de problemes tècnics que van impedir de completar el procés.

Pel que fa a la relació entre la microflora total i el pH, els resultats obtinguts (figura 4) demostren que no hi ha cap influència entre aquests paràmetres, és a dir que l'interval de pH que es dona en el digestor no és limitant per al creixement bacterià.

L'evolució de la població microbiana total a l'era d'assecat és una mica més complicada, ja que sembla anar molt lligada al contingut d'humitat del fang. En efecte, el nombre de gèrmen creix durant les dues primeres setmanes (figura 3), en les quals la humitat es manté per sobre del 60 %. Aquí sembla establir-se la població, per baixar notablement —al voltant d'un 80 % de reducció— quan el fang és pràcticament sec. La pluja no sembla que hagi afectat significativament la població micro-

biana global. El pH tampoc no es manifesta com a agent influent.

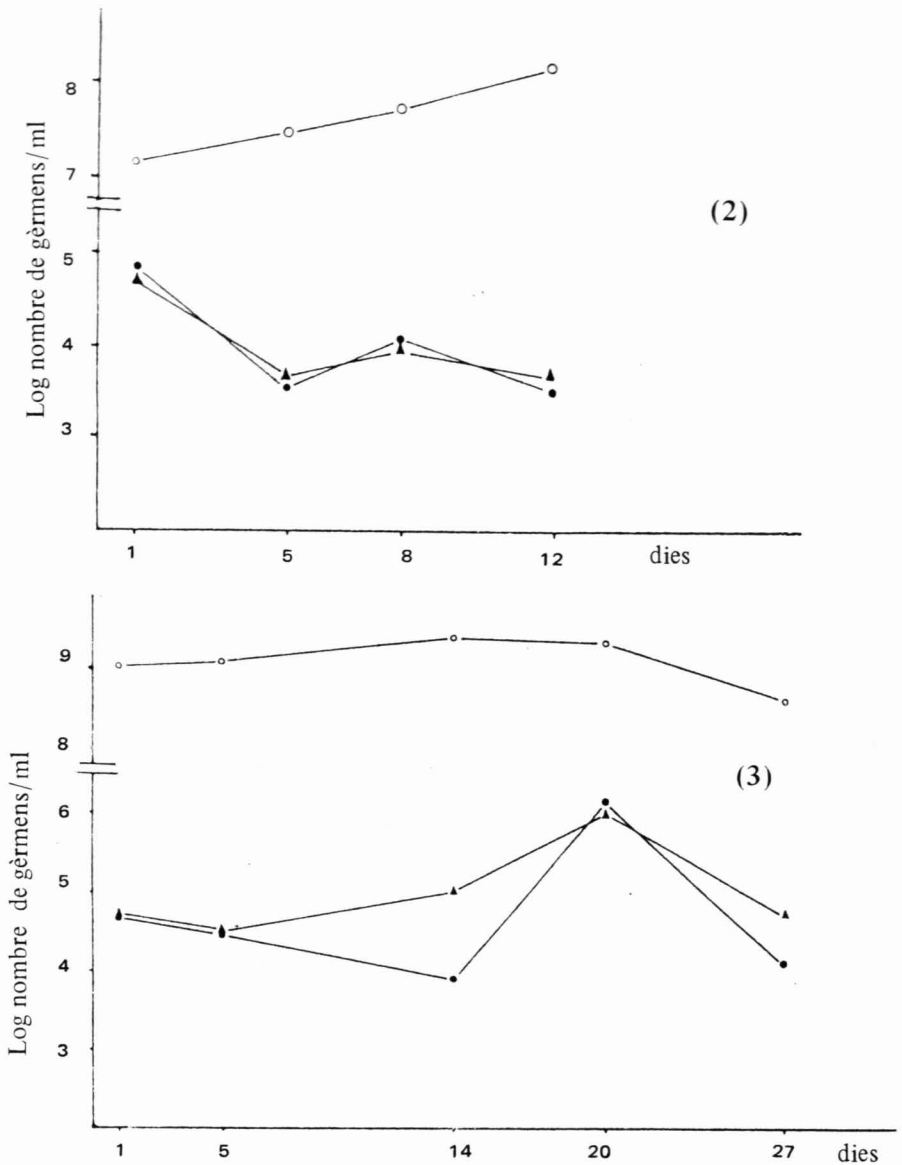
Coliformes totals

El recompte de coliformes és un dels exàmens bacteriològics més importants i dels més practicats per al control sanitari de molts materials.

La denominació de gèrmen coliformes engloba un cert nombre d'espècies bacterianes de la família de les enterobacteriàcies, i, dins d'aquesta família, aquelles que fermenten la lactosa amb producció de gas en menys de 48 hores. La fermentació de la lactosa no és un criteri característic de determinats gèrmen, i per això els coliformes constitueixen un conjunt bastant heteròclit des del punt de vista taxonòmic. Les principals espècies, a més de l'*Escherichia coli*, pertanyen als gèneres *Klebsiella*, *Citrobacter* i *Enterobacter*.

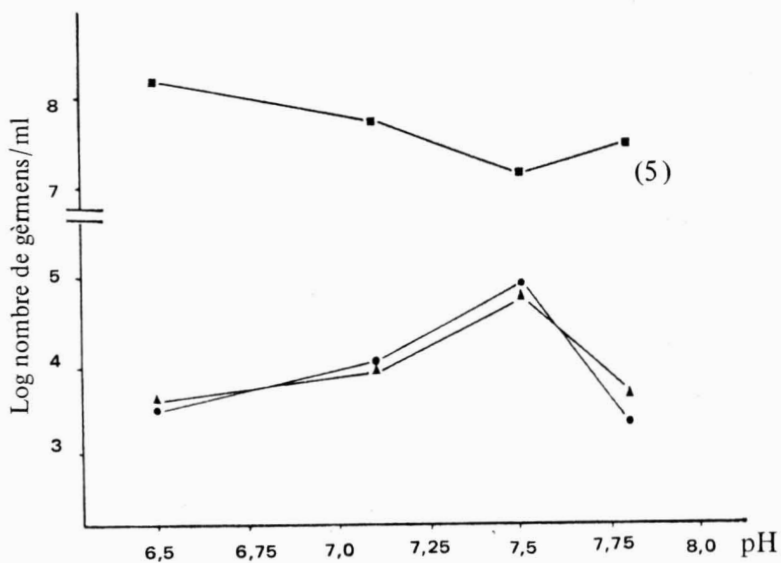
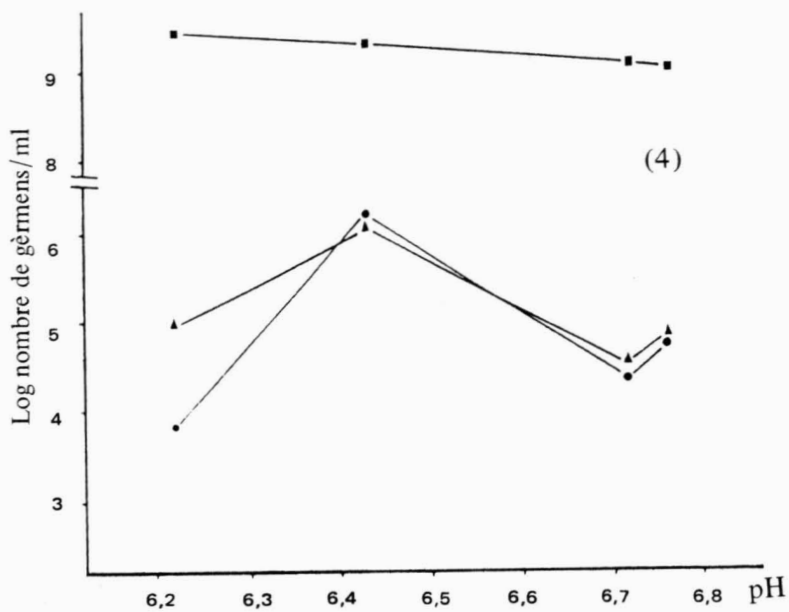
En relació amb el digestor, hi ha una forta disminució de coliformes en els primers cinc dies d'aïreació, de l'ordre del 90 %. A partir d'aquest moment hi ha una estabilització, amb un petit augment al cap de vuit dies, que no pot considerar-se significatiu. El pH tampoc no sembla influir en aquest cas.

En el fang sòlid, la població de coliformes sembla estabilitzada des del principi, i l'explicació del fort augment que s'observa al cap de 20 dies cal buscar-la, sens dubte, en la pluja que va caure. El sobtat augment de la humitat ha afavorit el relleu del creixement dels gèrmen coliformes atenuats, tant per la millora de les mateixes condicions d'humitat com per l'efecte de dilució dels metabolits tòxics.



FIGURES 2 i 3 - Evolució de tres índexs microbiològics en el digestor (2) i en l'era d'assecat (3):

- Microflora total ○
- Coliformes totals ▲
- Estreptococs ●



FIGURES 4 i 5 - Influència del pH sobre el nombre de microorganismes totals (■) coliformes (▲) i estreptococs (●), a l'era (4) i al digester (5)

Streptococs fecals

Aquesta denominació inclou el conjunt d'estreptococs que tenen la substància antigènica característica del grup D de Lancefield: *Streptococcus faecalis* (varietats *liquefaciens* i *zimogenes*), *Streptococcus faecium*, *S. durans*, *S. bovis* i *S. equinus*.

Els estreptococs fecals, quasi al mateix nivell que els coliformes, són indicadors d'una contaminació fecal, qualsevol que sigui l'espècie detectada. La seva presència, doncs, es traduirà sempre en un risc de microorganismes patògens.

Un primer punt important que es desprèn de l'observació de les figures 1 i 2 és el marcat paral·lelisme entre el nombre d'estreptococs i el de coliformes. El nivell de correlació es tradueix per uns coeficients de 0,999 en el cas del digestor, i de 0,892 en l'era, ambdós alta-

ment significatius. Això ens pot donar una idea de l'origen de les matèries fecals responsables de la contaminació. En efecte, en el cas de l'home, el nombre de coliformes és 4 vegades superior al d'estreptococs, mentre que és 6 vegades inferior en les vaques, i 20 vegades en els porcs.

Salmonel·les

La seva presència en el digestor cal considerar-la normal, i tan sols indica que són presents a l'afluent. Ja hem dit que una bona part d'aquests patògens queda a l'aigua. No obstant, queda demostrat que un cert nombre se'n decanta amb el fang, en donar positiu el test a l'inici de l'assecat. La seva desaparició durant aquest procés cal associar-la a la pèrdua d'humitat i a l'estabilització de la microflora banal.

CONCLUSIONS

Durant el procés de digestió hi ha un creixement de la microflora total aeròbia, si més no durant els primers dotze dies, alhora que es redueix molt el nombre de coliformes i d'estreptococs. Aquestes poblacions tendeixen a establir-se al cap de pocs dies de digestió.

Per als altres tres índexs estudiats quantitativament en el temps d'assecat a l'era, la humitat és el factor limitant més important. Aquesta relació, però, no és lineal, ja que un petit augment de la humitat en un moment en què les poblacions de coliformes i d'estreptococs estaven en una fase de latència

va produir un creixement important d'aquests gèrmens.

El pH del medi no sembla influir sobre els paràmetres estudiats, almenys en els intervals 6,5-7,8 en el digestor, i 6,2-6,8 a l'era d'assecat.

No s'ha detectat la presència de *Salmonella* en 30 gr en el fang quan el contingut en humitat ha estat inferior al 60 %. El procés d'aireació no ha afectat aquests patògens, si més no des del punt de vista qualitatiu.

Tot això ens porta a la conclusió que el menor risc de contaminació micro-

biològica en el maneig dels fangs es donà quan aquests estan en un estat de sequestat màxima. En l'ordre sanitari, doncs, caldrà recomanar la utilització de fangs secs sempre que això sigui possible.

BIBLIOGRAFIA

- BURGE, W.D. - *Destruction of pathogens in sewage sludge by composting*. Transactions of the ASAE 21: 510-514. 1978
- LANCE, J.C. - *Fate of Bacteria and Viruses in sewage applied to soil*. Transactions of the ASAE 21: 1.114-1.118. 1978
- LECLERC, H. - *Aspects épidémiologiques liés à l'usage de l'eau*, I.N.A., Paris, 1979.
- MITCHELL, M.J. - *Rôle of invertebrates and microorganisms in sludge decomposition*. Conference proceedings on Utilization of soil Organisms in Sludge Management. R. Hartenstein (ed.), SUNY CESF, Syracuse 1978.
- POCHON, J. y TARDIEUX, P. - *Techniques d'analyse en microbiologie du sol*, Col. "Techniques de base", Ed. De la Tourelle, Saint Mandé. 1962.
- RIVIERE, J. - *Épuration des eaux résiduaires par voie biologique*, I.N.A., Paris, 1979.
- RODIER, J. - *L'analyse de l'eau, eaux résiduaires, eaux de mer*. Tome II, Ed. Bordas-Dunod, Paris, 1975.
- SEDITA, S.J. et al. - *Public health aspects of digested sludge utilization*, Ann Arbor Science Publishers, Michigan 1977,
- UNZ, R.F. - *Microbiology of waste treatment*, Journal Water Pollution Control Federation, June 1978, 1.344-1.361.

Agraïment

A en Josep M. Mestres, que es va encarregar de les determinacions d'estreptococs fecals i de salmonel·les.