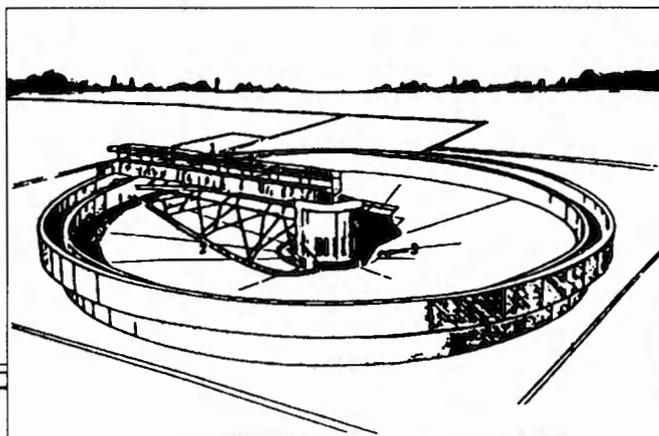


DEPURAZIONE



ALLEVAMENTO DI ORGANISMI ACQUATICI DETRITIVORI CON I FANGHI DI DEPURATORI BIOLOGICI

Enrica Montanini, Roberto Antonietti^(*)

SOMMARIO

Fanghi di depuratori municipali sono stati utilizzati per l'allevamento di *Paracyclops fimbriatus* (Crustacea, Copepoda) e di *Moina macrocopa* (Crustacea, Cladocera).

P. fimbriatus ha mostrato un tempo di sviluppo che varia tra i 13-14 giorni a 27 °C e i 23-25 giorni a 16°C. I risultati ottenuti con *M. macrocopa* sono stati più incoraggianti: a 20 °C la maturità sessuale è stata raggiunta dopo 3-4 giorni e la deposizione di 25-35 piccoli si mantiene per circa un mese con un numero complessivo di circa 250-300 nuovi nati. La mortalità è estremamente ridotta: meno del 5% dei piccoli non raggiunge l'età adulta. Cu e Zn hanno mostrato concentrazioni (173 e 617 µg/g d.w. rispettivamente) in *M. macrocopa* simili a quelle presenti nei fanghi. Il Cr presenta invece concentrazioni significativamente più elevate nei fanghi (66 µg/g d.w.) che nella biomassa (<5 µg/g d.w.).

INTRODUZIONE

La depurazione delle acque ha avuto come obiettivo principale la rimozione della sostanza organica; solo in tempi recenti l'attenzione si è rivolta anche al contenimento di azoto e fosforo, considerati i due principali fattori responsabili del processo di eutrofizzazione dei corpi idrici. Per questo scopo sono state proposte diverse tecnologie, di tipo sia chimico-fisico sia biologico: queste ultime, pur dovendo fare i conti con la maggior complessità propria dei sistemi viventi, testimoniano la vitalità del pensiero biologico e la sua potenzialità applicativa anche nel settore depurativo.

L'impiego di *Acinetobacter* per l'accumulo intracellulare di P (luxury uptake) in condizioni aerobiche e il suo rilascio in anaerobiosi (MARAIS e DOLD, 1985), il potenziamento delle attività cellulolitiche (ANTONIETTI et al., 1987) nonché l'impiego di microalga (PIRET, 1979;

^(*) Istituto di Ecologia, Università di Parma

SHELEF et al., 1979; DE LA NOUE et al., 1986) e di macrofite (GHETTI, 1983) in stadi terziari sono esempi concreti di un approccio meno riduttivo alle problematiche della depurazione.

In questa stessa logica si colloca l'esigenza di individuare percorsi alternativi a quelli attuali (caratterizzati da tecnologie scarsamente innovative quali lo stoccaggio in discarica o la combustione in forni inceneritori) per lo smaltimento dei fanghi prodotti durante il processo di depurazione. I fanghi sono quindi considerati "un rifiuto" anche se, di fatto, presentano un elevato contenuto di materiali organici (tabella 1) e di elementi costitutivi (N e P in particolare) che ne potrebbero consentire l'impiego, quali fertilizzanti ed ammendanti del suolo. Questa via di utilizzazione dei fanghi è attualmente oggetto di discussione a ragione dei rischi potenziali derivanti dalla presenza di sostanze tossiche o bioaccumulabili.

Tabella 1: valori di alcuni parametri di interesse biologico nei fanghi di depuratori

costituenti	campo di variazione
solidi sospesi (S.S.)	4-10 mg/l
sostanza organica (come % dei S.S.)	40-65 mg/l
proteine (come % dei S.S.)	18-25 mg/l
cellulosa (come % dei S.S.)	8-12 mg/l
rapporto C/N	6/16

E' evidente che il mancato utilizzo dei fanghi si concretizza in perdita di materiali pregiati da un punto di vista biologico. Questa scelta contrasta in modo stridente con quanto avviene nell'area biotecnologica, dove si riscontra una forte tendenza al recupero di molti sottoprodotti agricoli ed industriali attraverso la produzione di proteine microbiche (single cell protein o SCP) (SANDHYA et al., 1984; TANAKA e MATSUNO, 1985). E' necessario comprendere per quale motivo il settore biotecnologico e quello depurativo abbiano operato in modo diametralmente opposto. A nostro avviso esso è da ricercarsi nelle diverse caratteristiche dei prodotti di questi due processi: da un lato vi sono

le SCP ottenute con microorganismi selezionati e cresciuti su un substrato con un elevato grado di purezza, dall'altro gli aggregati eterogenei (i fanghi) costituiti da una varietà enorme di microorganismi, di detrito e di sostanze organiche ed inorganiche di varia origine.

Il nostro obiettivo è stato quindi quello di individuare dei sistemi biologici in grado di utilizzare, come fonte di energia, le sostanze organiche presenti nei fanghi e di convertirne una parte in biomassa pregiata (ANTONIETTI et al., 1989): per questo abbiamo rivolto l'attenzione a quegli organismi acquatici che già in natura svolgono il ruolo di "detritivori".

Una simile proposta potrà essere trasferita ad un sistema di acquacoltura solo dopo la verifica di alcuni presupposti:

- 1) la mancanza di accumulo di elementi o sostanze tossiche negli organismi;
- 2) la mancanza di fattori patogeni per gli organismi della catena alimentare;
- 3) la fattibilità tecnologica.

Lo scopo di questo lavoro è quello di presentare alcuni risultati ottenuti impiegando i fanghi di depuratore quale alimento per l'allevamento di *Paracyclops fimbriatus* (Crustacea, Copepoda, Cyclopodida) e di *Moina macrocopa* (Crustacea, Cladocera).

MATERIALI E METODI

Gli organismi utilizzati per le diverse esperienze provengono da allevamenti mantenuti in laboratorio ed alimentati da oltre un anno esclusivamente con fanghi del depuratore urbano di Parma. Le popolazioni originali erano state rinvenute, in tempi successivi, in un impianto pilota funzionante presso detto depuratore urbano. Le esperienze sono state eseguite mantenendo gli organismi al buio allo scopo di evitare lo sviluppo di alghe.

Per l'allevamento di *P. fimbriatus* entro la vasca di ossidazione di un impianto di depurazione sono stati utilizzati recipienti di plastica

nera da 250 ml con le aperture inferiore e superiore chiuse da un retino con maglie da 25 μm . Tali contenitori erano mantenuti flottanti nel mixed liquor mediante un anello di polistirolo esterno.

Sono stati altresì prodotti fanghi artificiali, inoculando -con 100 ml di fango di depuratore urbano- n° 4 contenitori con 15 litri di acqua e 250 grammi di materiale celluloso micronizzato (TPT Technologies S.p.A., Milano). A tempi successivi sono state aggiunte, separatamente, aliquote di rame, zinco e cromo a tre contenitori, lasciandone uno come controllo. Sono state in tal modo raggiunte concentrazioni superiori ai limiti previsti dalla normativa CEE per i fanghi degli impianti civili (REGIONE PIEMONTE, 1988): Cu = 3,57 mg/kg d.w.; Zn = 5,94 mg/kg d.w. e Cr = 3,22 mg/kg d.w.

Le analisi del COD sono state effettuate con reagenti Nanocolor (Macherey-Nagel) dopo due ore di trattamento in termodigestore VEP Scientifica (Milano); il fosforo ortofosfato è stato determinato usando reagenti Nanocolor (Macherey-Nagel). Cu, Zn e Cr sono stati misurati mediante analizzatore al plasma ICP Philips.

RISULTATI

I risultati relativi all'effetto della temperatura sulla crescita di *Paracyclops fimbriatus* sono illustrati in figura 1: è evidente come la temperatura di 27 °C sia quella alla quale la femmina impiega 13-14 giorni per passare dallo stadio di uovo a quello di ovigera. A 16 °C il tempo richiesto sale a 23-25 giorni. In figura sono indicati gli stadi di uovo (A), nauplius I + II (B: lunghezza media 99 μm su 23 individui, C.V. = 11%), copepodite I (C: 330 μm su 14 individui, C.V. = 6%), femmina adulta (D: 718 μm su 21 individui, C.V. = 6%). Il rapporto sessi nelle tre condizioni sperimentali è risultato simile alle diverse temperature (circa 53 femmine/47 maschi).

Relativamente elevata la mortalità alle di-

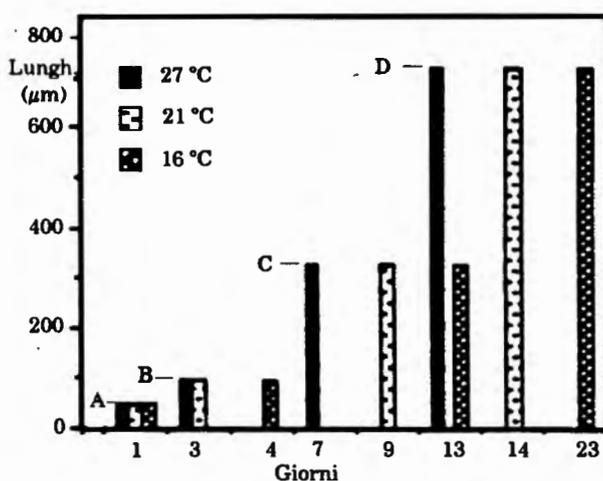


Fig. 1: effetto della temperatura sullo sviluppo di *Paracyclops fimbriatus* allevato con fanghi di depuratore.

verse temperature: mediamente solo il 62% circa dei 110 nauplii I ha raggiunto l'età adulta, anche a causa dei ripetuti stress causati dalla osservazione e dalla misurazione al microscopio.

E' stato tentato l'allevamento di *P. fimbriatus* entro la vasca di ossidazione di un impianto di depurazione: i risultati ottenuti sono dati in figura 2. E' evidente come l'allevamento sia ben lontano dalla ottimizzazione anche se è da ritenersi già un successo aver mantenuto l'organismo presente, seppure con basse densità, per oltre 5 mesi, con temperature comprese tra i 10 e i 20 °C.

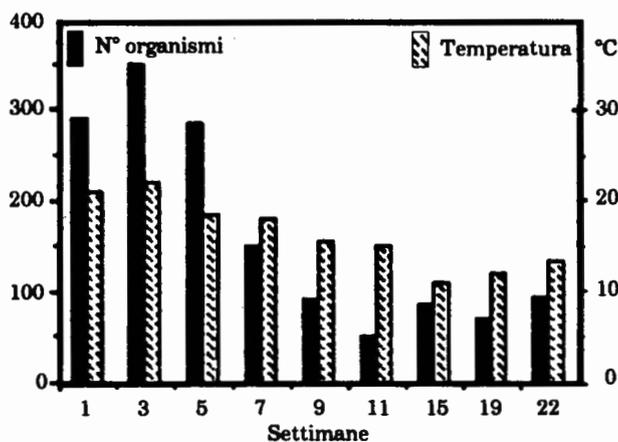


Fig. 2: Variazioni numeriche di *P. fimbriatus* in micro-enclosure nella vasca di ossidazione di un impianto di depurazione.

I risultati ottenuti con *Moina macrocopa* hanno dimostrato che a 20 °C essa impiega 3-4 giorni per passare dallo stadio di neonato alla prima deposizione di 25-30 piccoli. La deposizione continua, con intervalli di circa 3 giorni e con 30-35 piccoli per volta, per circa 25-30 giorni.

Per poter valutare la biomassa degli organismi si è fatto ricorso alla determinazione del COD, che è risultato strettamente correlato alla lunghezza degli animali (figura 3).

L'attività di *M. macrocopa* sui fanghi è notevole: a 20 °C, una popolazione pari a 64 µg di COD consuma, in una settimana, una quantità di fanghi pari a circa 42 µg di COD. La figura 4 illustra l'incremento della biomassa a 20 °C e gli effetti degli animali sul COD e sul fosforo disciolto nel sistema. La densità raggiunta dalla popolazione dopo 17 giorni è stata di circa 3500 individui per litro.

La tolleranza di *M. macrocopa* ai diversi parametri ambientali è un aspetto determinante al fine di realizzare la conversione dei fanghi in biomassa. Per esempio, una salinità dello 0,5% causa, in 24 ore, una mortalità del 50% degli stadi giovanili: da ciò la necessità di controllare con attenzione questo parametro nelle vasche di allevamento.

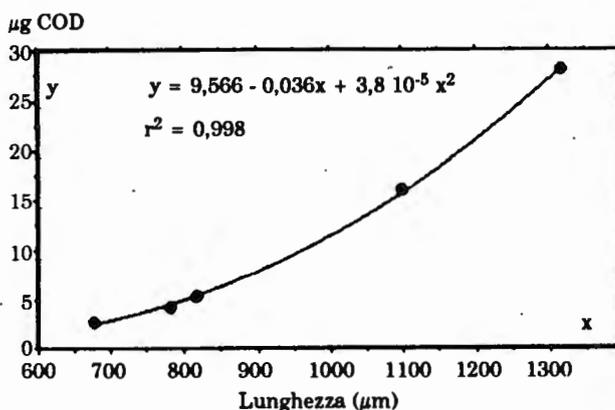


Fig. 3: relazione tra biomassa individuale (stimata come COD) e lunghezza di *Moina macrocopa*.

E' tuttora in fase di studio la possibilità di controllare la schiusa delle uova durature. Si è infatti riscontrata una costante produzione di uova efippiate nelle colture a 20 °C: tali uova possono essere facilmente recuperate mediante un retino con maglie da 125 µm. L'interesse per queste uova è rappresentato, da un punto di vista strettamente pratico, dalla loro conservabilità e, di conseguenza, dal poterle utilizzare per approntare nuovi allevamenti. Seppure in via preliminare, è stata ottenuta una buona produzione di nuovi nati mantenendo gli efippi a 4 °C per 10 giorni e riportandole a 20 °C: dopo 7 giorni la frequenza di

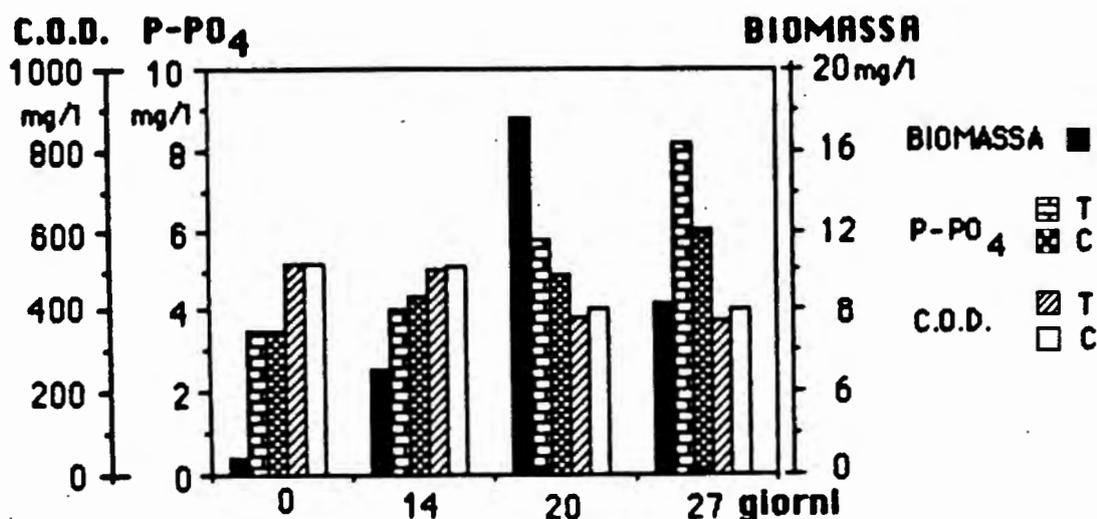


Fig. 4: Incremento della biomassa di *M. macrocopa* ed effetti sia sul P-PO₄, sia sulla biomassa dei fanghi (stimata come COD). T (= trattati): colture con organismi; C (= controlli): colture senza organismi.

schiusa delle uova è stata del 42%. Il mantenimento di uova efippiate a temperature costanti di 4 e di 20 °C ha invece portato alla schiusa rispettivamente del 2 e del 4% delle uova.

Uno dei maggiori vincoli alla possibilità di impiego di questi organismi in acquacoltura è connesso alla presenza dei metalli pesanti nei fanghi di depuratore a ragione sia del loro potenziale bioaccumulo che della loro tossicità. E' stata quindi avviata una valutazione della concentrazione di Cr, Zn e Cu nei fanghi utilizzati per l'alimentazione di *M. macrocopa* e nella biomassa dell'animale. I risultati ottenuti, seppure preliminari, sembrano confermare che il Cr non viene assimilato dall'organismo, mentre Cu e Zn sono presenti a concentrazioni simili a quelle rilevate nei fanghi (tab. 2).

Tabella 2: concentrazioni medie e C.V.% relativi a Cu, Zn e Cr nei fanghi e in *Moina macrocopa*.

	<i>M. macrocopa</i>		fanghi	
	conc. media	CV%	conc. media	CV%
Cu	192	5	153	2
Zn	579	2	655	5
Cr	<5	-	66	4

Usando fanghi artificiali, contenenti singoli metalli alle concentrazioni di 3,57 - 5,94 - 3,22 mg/g d.w. rispettivamente per Cu, Zn e Cr, sono state approntate colture con 11 piccoli. Dopo 10 giorni la biomassa iniziale di *M. macrocopa* (di 29 µg di COD) era salita a 563 µg nella coltura di controllo, a 636 in quella con Cr, a 388 in quella con Cu ed a 328 in quella con Zn.

DISCUSSIONE

I risultati, seppure incompleti, confermano la possibilità di convertire i fanghi di depuratore in biomassa di organismi detritivori. In particolare *Moina macrocopa*, una specie considerata rara nel nord Italia in quanto descritta precedentemente solo in Lazio e Campania (MARGARITORA, 1983), sembra esprimere una

capacità di crescita e di riproduzione tale da renderla interessante sotto il profilo applicativo.

Paracyclops fimbriatus presenta, a parità di condizioni di laboratorio, velocità di crescita inferiori a quelle di *M. macrocopa*; degna di nota ci pare invece la possibilità di un suo allevamento direttamente nella vasca di ossidazione degli impianti. Al momento attuale però, la proposta di un suo impiego quale indicatore di drastiche alterazioni del sistema depurativo necessita di ulteriori approfondimenti e di valutazioni più complete. Pare opportuno sottolineare che, al di là della possibilità di dare applicazione pratica alla conversione dei fanghi in biomassa di *M. macrocopa* e di *P. fimbriatus*, i risultati ottenuti hanno permesso di ampliare le conoscenze sull'autoecologia di queste due specie.

E' opportuno rimarcare come la fattibilità tecnologica di questo tipo di approccio necessita di ulteriori conferme: in particolare è indispensabile approfondire le interazioni tra i metalli pesanti, generalmente presenti nei fanghi, e la biologia degli organismi. Sarà inoltre necessario acquisire un quadro più dettagliato sulle potenzialità riproduttive delle specie in relazione alle condizioni ambientali e alla loro ottimizzazione. Rimane, infine, ancora da definire l'aspetto igienico sanitario dell'impiego di queste biomasse nella realizzazione di catene alimentari in acquacoltura.

E' nostro auspicio che questo approccio possa contribuire a fare in modo che le potenzialità delle catene alimentari basate sul detrito ricevano anche in ecologia applicata quella stessa considerazione che già era stata auspicata nell'ambito dell'ecologia di base da MANN (1972).

RINGRAZIAMENTI

Ricerca parzialmente realizzata con contributo finanziario della Provincia di Parma. Si ringrazia l'AMNU di Parma per la cortese collaborazione.

BIBLIOGRAFIA

- ANTONIETTI R., CADONICI R., FAVALI G., MELCHIORRI SANTOLINI U., VIAROLI P., 1987. Biological phosphate and nitrogen removal using fluidized interactive supports.
in Biological phosphate removal from wastewaters (R. RAMADORI ed.), *Pergamon Press*.
- ANTONIETTI R., MONTANINI E., TAROZZI L., BENASSI G., CAVALCA M., 1989. I fanghi dei depuratori biologici: una fonte di SCP utilizzabile in acquacoltura?
Atti del Congresso Nazionale "Impatto ambientale dei fanghi", Taormina, Naxos (Italy) 14-18 marzo 1988 (in stampa).
- DE LA NOUE J., PROULX D., GUAY R., POULIOT Y., TURCOTTE J., 1986. Algal biomass production from wastewaters and swine manure: nutritional and safety aspects.
In Microbial biomass proteins (MOO-YOUNG M., GREGORY K.F. eds.).
- GHETTI P.F., 1983. Fitodepurazione ed impieghi delle biomasse prodotte.
CRPA, Reggio Emilia, 368 pp.
- MANN, K.H., 1972
in Detritus and its role in aquatic ecosystems (MELCHIORRI & HOPTON eds.)
Mem. Ist. Ital. Idrob., 29 suppl.
- MARAI G.V.R., DOLD P.L., 1985. Biological removal of carbon, nitrogen and phosphorus in single sludge system.
IRSA-CNR. Atti del Seminario sui trattamenti biologici avanzati, Roma (Italy) 28-29 novembre 1985: 2-20.
- MARGARITORA F., 1983. Cladoceri (Crustacea, Cladocera). Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne.
CNR, Roma.
- MURRAY A.U., MARCHANT R., 1986. Nitrogen utilization in rainbow trout fingerlings (*Salmo gairdneri* Richardson) fed mixed microbial biomass.
Aquaculture, 54 (4): 263-265.
- PIRET T., 1979. Les algues nouvelles sources de proteines.
Ann. Gebloux, 85 (2): 83-90.
- REGIONE PIEMONTE, 1988. Impiego in agricoltura dei fanghi di depurazione delle acque reflue urbane.
Ed. Regione Piemonte, Collana ambiente, 2.
- SANDHYA S., JOSHI S.R., SWAMINATAN T., 1984. Bioconversion of cellulosic wastes. An appraisal of processes and potential.
J. Scient. and Ind. Research, 43: 452-458.
- SHELEF G., ORON G., MORAIN R., 1979. Economic aspects of microalgae production on sewage.
Ergeb. Limnol., 11: 281-284.
- TANAKA M., MATSUNO R., 1985. Conversion of lignocellulosic materials to single-cell protein (SCP): recent developments and problems.
Enzym. Microb. Technol., 7: 197-206.
