

## LA MICROFAUNA DEI FANGHI ATTIVI

La depurazione biologica a fanghi attivi è conosciuta da più di 80 anni ed ora è utilizzata nella maggioranza delle situazioni per il trattamento dei liquami civili ed industriali (il primo impianto iniziò la sua attività nel 1927 a Milwaukee negli Stati Uniti); in Italia trova vastissime applicazioni (oltre 4000 impianti), a differenza di altre tipologie.

E' necessario descrivere il processo e le sue fasi: nel reattore biologico avvengono fenomeni di bioflocculazione e di metabolismo batterico che richiedono un equilibrio tra biomassa (MLSS), quantità di substrato (BOD), ossigeno disciolto (OD), volume e tempo relativo al completamento delle reazioni biochimiche; nel sedimentatore secondario invece avviene la separazione tra acqua chiarificata e fango biologico che viene poi rimandato nel reattore attraverso il ricircolo.

Il processo biologico si basa sull'attività di microrganismi di vario tipo (principalmente batteri ma non solo) rivolta alla decomposizione di composti organici; il liquame subisce la depurazione ad opera di una flora batterica ed in particolare avviene l'ossidazione biologica del substrato organico biodegradabile da parte di una popolazione di microrganismi (biomassa) e l'inglobamento delle sostanze sospese non sedimentabili nei fiocchi della biomassa stessa.

I **protisti** sono importanti costituenti delle comunità implicate nella rimozione di sostanza organica biodegradabile e di batteri dispersi nella miscela aerata in questo tipo di processo di trattamento dei liquami. I trattamenti biologici, infatti, si basano sul processo di autodepurazione tipico dei corsi d'acqua quale risultato dell'attività delle comunità microbiche.

Il processo di trattamento a fanghi attivi, tuttavia, differisce dai corsi d'acqua per le seguenti caratteristiche:

- elevato flusso di sostanza organica all'interno del sistema;
- accelerata attività dei processi di decomposizione;
- prevalenza di organismi eterotrofi e, quindi, della catena trofica del detrito;
- breve turnover della biomassa.

Queste caratteristiche influenzano profondamente gli organismi in grado di vivere in questi sistemi artificiali, tanto che tra gli organismi eterotrofici solo i protisti e i piccoli metazoi con cicli vitali più corti del tempo di residenza del fango possono colonizzare il fango attivo.

Gli impianti biologici per il trattamento dei liquami possono essere considerati come ecosistemi artificiali sottoposti a condizioni estreme. Come in ogni altro sistema biologico, la biocenosi che si sviluppa nella vasca di aerazione di un impianto a fanghi attivi, ha una peculiare struttura (componenti e fattori) e segue esatte dinamiche (nel tempo e nello spazio).

Nei fanghi attivi la componente biotica è rappresentata dai **decompositori** (batteri, funghi) che prendono l'energia per il loro sviluppo dalla sostanza organica disciolta nel liquame, e dai **consumatori** (flagellati eterotrofici, ciliati, rizopodi, e piccoli metazoi) che predano i batteri dispersi e altri organismi.

I protozoi ciliati sono molto numerosi in tutti i tipi di processi di trattamento aerobico dei liquami; essi normalmente raggiungono la densità di: 10.000 cellule per ml di miscela aerata di fango attivo. Ciò comporta che essi rappresentino circa il 9% dei solidi sospesi nel mixed-liquor.

La maggior parte dei ciliati presenti negli impianti di trattamento biologico dei liquami si nutre di batteri dispersi. Alcuni ciliati, tuttavia, sono predatori di altri ciliati; altri ancora si alimentano di una varietà di organismi comprendente ciliati, flagellati e batteri dispersi.

I ciliati batteriofagi dei fanghi attivi possono essere suddivisi in tre gruppi funzionali sulla base del loro comportamento:

Il processo a fanghi attivi si basa sulla forma di aggregati batterici (fiocchi di fango) su cui altri microrganismi possono svilupparsi. Perciò una popolazione di organismi con la capacità di attaccarsi (o di rimanere strettamente associata) al fango ha un distinto vantaggio su altre popolazioni di organismi che nuotano liberamente nella frazione liquida e che sono quindi soggetti ad essere dilavati fuori dal sistema attraverso l'effluente.

Altra importante caratteristica dei ciliati nei fanghi attivi è il loro comportamento alimentare.

E' già stato precedentemente evidenziato che la maggior parte dei ciliati dei fanghi attivi si nutre di batteri dispersi nella miscela aerata. Tuttavia, vi sono ciliati come gli **ipotrichi** *Aspidisca* e *Euplotes* ed altri come *Chilodonella* che, avendo la bocca posta in posizione ventrale, possono "raschiare" i batteri adagiati sulla superficie del fiocco.



**Figura 1: Aspidisca**

Tutti i ciliati batteriofagi creano delle correnti ciliari per incanalare i batteri sospesi nella frazione liquida verso la regione orale.

Così, mentre ciliati natanti e sessili entrano in competizione per i batteri dispersi nella frazione liquida, i mobili, che sono in stretta prossimità della superficie del fiocco di fango occupano una differente nicchia ecologica nutrendosi di particelle che sono solo lievemente adagate sul fiocco e che vengono asportate facilmente attraverso le correnti ciliari.

Gli impianti di trattamento dei liquami possono ospitare anche **protozoi parassiti** come *Giardia* e *Cryptosporidium* che sono la causa di malattie sia nell'uomo che negli animali.

*Cryptosporidium* è largamente diffuso ed è un patogeno che provoca diarrea nell'uomo e negli animali. Le vie di contagio sono il contatto con elementi infetti e le acque inquinate. Tuttavia, la trasmissione attraverso l'acqua di questo parassita è stata individuata solo da pochi anni.

*Giardia* è un protista ben noto per la sua capacità di causare infezioni intestinali croniche nell'uomo. Le acque contaminate da feci sono la via di diffusione di questo patogeno.

Le cisti di questi organismi spesso rimangono vitali per diversi mesi nelle acque; hanno inoltre mostrato una più alta resistenza al trattamento dei liquami rispetto ad altri indicatori di contaminazione batterica.

Tra i protozoi **sarcodini** sono state osservate negli impianti a fanghi attivi alcune specie di amebe libere potenzialmente patogene, tutte appartenenti al genere *Acanthamoeba*.

La presenza di *Acanthamoeba* nei fanghi attivi rappresenta un potenziale rischio dal momento che questi protisti possono diffondersi nell'atmosfera attraverso i fenomeni di aerosol che si sviluppano sopra le vasche di aerazione.



**Figura 2: Euplotes**

### Ruolo della microfauna nei fanghi attivi

E' stato dimostrato che i protozoi ciliati migliorano la qualità dell'effluente attraverso la predazione della maggior parte di batteri dispersi nella miscela aerata che continuamente entrano nel sistema con il liquame.

In assenza di ciliati, infatti, l'effluente del sistema è caratterizzato da BOD più elevato e da alta torbidità per la presenza di molti batteri dispersi. I ciliati, inoltre, predano anche i batteri patogeni e quelli fecali. Negli effluenti di impianti a fanghi attivi in cui non vi erano ciliati la presenza di *Escherichia coli* risultava essere, in media, il 50% di quella osservata nel liquame in ingresso alla vasca di aerazione. In presenza di ciliati tale percentuale scendeva però al 5%.



Figura 3: Vorticella Microstoma

Nella vasca di aerazione degli impianti a fanghi attivi si stabilisce una vera e propria rete trofica.

I sistemi biologici di questi impianti consistono di popolazioni in continua competizione per il cibo. La crescita dei *decompositori*, prevalentemente batteri eterotrofici, dipende dalla qualità e quantità di sostanza organica disciolta nella miscela aerata. Per i *predatori*, invece, la crescita dipende dalla disponibilità di prede. I batteri dispersi sono quindi il cibo per i flagellati eterotrofici e per i ciliati batteriofagi che a loro volta diventano preda degli organismi carnivori.

Le relazioni di competizione e predazione creano oscillazioni e successioni di popolazioni sino al raggiungimento di una stabilità dinamica. Ciò è strettamente dipendente dalle manovre gestionali e dalle caratteristiche progettuali dell'impianto atte a garantire la maggior efficienza depurativa.

Ricerche effettuate sulla modalità di colonizzazione e sulla successione delle popolazioni nei fanghi attivi, hanno evidenziato il ruolo dei protozoi come indicatori di efficienza degli impianti e hanno dimostrato l'effetto determinante delle condizioni ambientali nella vasca di aerazione sulla comunità di ciliati. In particolare è stato osservato che in vasche di aerazione identiche sia in termini di costruzione che di funzionamento (carico organico, liquame, aerazione, età del fango) si sviluppano comunità di protozoi ciliati molto simili per struttura in specie. Questo a conferma degli effetti determinanti delle condizioni ambientali nella vasca di aerazione sulla struttura della comunità di ciliati.

Un altro importante risultato ottenuto dalle ricerche sulla dinamica di colonizzazione della microfauna, è l'identificazione di tre fasi distinte che si susseguono dalla fase di innesco del sistema sino alla fase di stabilizzazione.

- La *fase iniziale* dell'impianto è caratterizzata dalla presenza di specie tipiche del liquame da trattare. Queste specie "pioniere" sono rappresentate principalmente da ciliati natanti e da piccoli flagellati che sono indipendenti dalla presenza di fango; esse non possono essere considerate tipiche componenti dell'ecosistema "vasca di aerazione". Con il formarsi del fango attivo, infatti, esse devono competere con specie meglio adattate all'ambiente e rapidamente declinano.
- La *seconda fase* è caratterizzata dal forte sviluppo di ciliati tipici della vasca di aerazione; in questa fase la comunità presenta un'alta ricchezza in specie, ma la composizione della comunità varia con il progressivo aumento della quantità di fango. Le forme natanti sono presenti solo durante i primi giorni di colonizzazione e sono gradualmente sostituite dalle forme sessili e mobili.
- La *fase finale* è caratterizzata da una microfauna la cui struttura in specie riflette le condizioni stabili raggiunte nella vasca di aerazione con un bilanciamento tra carico organico e fango prodotto, rimosso e riciclato.

Ciascuna delle tre fasi è caratterizzata da una tipica struttura in specie.



**Figura 4: Colpidium**

carico organico in ingresso.

Tuttavia, alcune condizioni operative dell'impianto possono condizionare pesantemente sulla struttura in specie della microfauna. Un veloce passaggio del liquame (o una breve età del fango) attraverso il sistema può rimuovere diversi organismi della comunità microbica e alcune specie che non possono riprodursi abbastanza velocemente da compensare tale perdita potranno essere perse dal sistema. Quindi, i fanghi attivi con tempi di contatto troppo veloci tenderanno a favorire specie con rapidi tassi di riproduzione, generalmente i protozoi più piccoli come i flagellati eterotrofici e i piccoli ciliati (<30µm). Gli impianti a fanghi attivi con lenti flussi idraulici e alta età del fango ospiteranno la più alta diversità di organismi comprendendo anche i piccoli metazoi che, contrariamente alla maggior parte dei protozoi, hanno lunghi tempi di generazione.

I sistemi ad alto carico organico richiedono una più alta quantità di ossigeno e in caso di carenza di ossigenazione, saranno favoriti gli organismi quali flagellati eterotrofici, amebe nude e piccoli ciliati natanti che normalmente si trovano in habitat inquinati da sostanza organica. Al diminuire del carico organico, la diversità degli organismi che possono colonizzare la miscela aerata nella vasca di aerazione aumenta.

La struttura in specie della microfauna è quindi un valido strumento diagnostico ad integrazione dei parametri con cui solitamente si valuta la efficienza biologica di un impianto. Secondo il criterio generale degli indicatori biologici, la presenza o la scomparsa di specie particolari, così come l'intera composizione della microfauna, può essere considerata buon indicatore dell'efficienza biologica di depurazione del fango attivo.



**Figura 6: Opercularia**

Ciliati natanti batteriofagi come *Colpidium*, *Cyclidium* e *Paramecium*, sono tipici della prima fase di colonizzazione, mentre i peritrichi sessili come *Epistylis*, *Vorticella* e ciliati mobili come *Aspidisca*, sono tipici della terza fase.

Un impianto a regime non dovrebbe ospitare specie caratteristiche della fase di colonizzazione, a meno di malfunzionamenti che provochino un regresso nelle condizioni ambientali come perdite di fango, carenze di ossigenazione, variazioni nel tempo di ritenzione del liquame e dell'età del fango, variazioni importanti nel



**Figura 5: Carchesium**

Ciascuna specie è in grado di aggiungere informazioni più dettagliate rispetto a quelle ottenute dai soli gruppi funzionali. Un esempio ci è fornito dai ciliati sessili *Vorticella convallaria* e *V. microstoma*.

Questi due ciliati peritrichi sono in diretta competizione nel fango attivo. La *V. microstoma* si osserva soprattutto durante la prima fase di colonizzazione e poi viene sostituita dalla *V. convallaria* che raggiunge alte densità quando l'impianto è a regime. In condizioni di scarsa aerazione, tuttavia, si osserva l'alternanza tra le due specie dovuta alla loro differente tolleranza alla carenza di ossigeno.

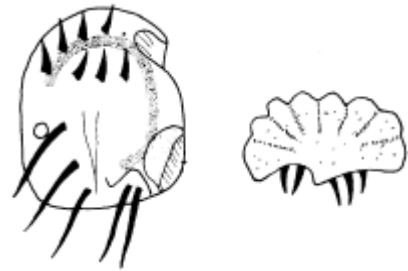
## PROTOZOI

Con il termine Protozoi si indicano degli organismi eucariotici unicellulari che, pur non costituendo un gruppo naturale, presentano strutture cellulari tipiche.

I protozoi, appunto perché unicellulari, ordinariamente sono di piccole dimensioni e la taglia tra 10 e 100  $\mu\text{m}$  può essere considerata una delle dimensioni che di solito si osserva più comunemente. In molti flagellati e nei ciliati il corpo è rivestito da una cuticola resistente, che costituisce la membrana cellulare. Inoltre vi sono degli organelli di movimento che sono i *flagelli* nel caso dei Flagellati e le *ciglia* nel caso dei Ciliati.

Queste ciglia sono presenti durante tutta la vita o nell'adulto possono sparire (Acineti). I flagelli sono lunghi e mobili prolungamenti protoplasmatici con movimenti paragonabili a quelli di una frusta quando viene agitata; di regola sono uno o pochi sul corpo di ciascun flagellato. Le ciglia sono invece delle corte appendici protoplasmatiche che sporgono come sottili setole sul corpo dei ciliati e che si muovono come tanti piccoli remi.

Alcuni protozoi come i Sarcodini, presentano il corpo nudo che può emettere e retrarre degli speciali prolungamenti citoplasmatici che servono alla locomozione e che prendono il nome di pseudopodi.



### Flagellati

I flagellati presentano un solo tipo di nucleo e sono dotati di uno o più flagelli. Tra questi protozoi vi sono organismi che si alimentano in modo autotrofico con l'aiuto di pigmenti fotosintetici (fitoflagellati) ed altri con alimentazione eterotrofica (zooflagellati). Alcune forme sono in grado di comportarsi da autotrofi o eterotrofi a seconda delle condizioni ambientali. Nei fanghi attivi i piccoli flagellati eterotrofici sono in genere molto comuni e spesso molto numerosi. Piccole quantità di flagellati di larghe dimensioni possono essere osservate in fanghi attivi che ricevono liquami diluiti o che presentano un basso carico del fango.

### Amebe

Sono protozoi privi di membrana cellulare che si muovono per mezzo di pseudopodi. Questi sono delle proiezioni del citoplasma che consentono alla cellula di avanzare sul substrato e di catturare nel contempo, fagocitandolo, il cibo che è costituito prevalentemente da particelle di detrito e da batteri. Alcune amebe posseggono una teca di materiale organico o di particelle inorganiche saldate intorno al corpo, in cui gli pseudopodi fuoriescono da speciali aperture.

### Ciliati

I ciliati sono un gruppo di protozoi microconsumatori che colonizzano la maggior parte degli ambienti acquatici e terrestri. Le loro dimensioni, relativamente grandi rispetto agli altri protozoi (mediamente 20-200  $\mu\text{m}$ ), i loro veloci movimenti, e la loro varietà di forme, li rendono particolarmente evidenti all'osservazione microscopica.

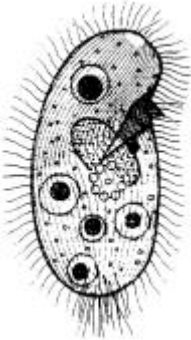
Le ciglia di cui sono dotati, sono strutturalmente identiche ai flagelli, ma sono più corte in rapporto alla lunghezza della cellula. Le ciglia possono essere arrangiate in gruppi (cirri) come nei ciliati Ipotrichi, e in tal caso, questi aggregati diventano essenziali per la locomozione. Nei ciliati, generalmente, si distinguono le ciglia disposte lungo il corpo (ciliatura somatica) da quelle situate intorno alla bocca (ciliatura orale) che sono usate per la cattura del cibo.

I principali gruppi di ciliati utilizzano la ciliatura orale per filtrare l'acqua circostante e trattenerne le particelle sospese (soprattutto batteri dispersi). Alcune specie di questo gruppo sono in grado di ingerire grosse particelle di cibo (alghe, filamenti), e vi sono anche molte altre specie predatrici di altri ciliati o di piccoli metazoi. La bocca nei ciliati è assai variabile da gruppo a gruppo sia per quanto riguarda forma e dimensione che la sua collocazione. La bocca dei ciliati che si nutrono di alghe o detrito è generalmente dotata di un tubo di rigidi stecche (nematodesmi) che consente loro di introdurre il cibo dentro la cellula.

Alcuni ciliati come i Suttori, non hanno un citostoma vero e proprio. Essi sono dotati però di una serie di lunghi e rigidi tentacoli provvisti di ventosa terminale con cui catturano altri ciliati.

- **Forme mobili**

***Colpidium***



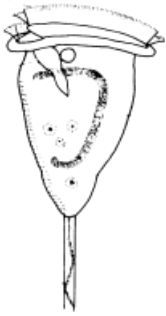
Ciliato ovoidale o leggermente reniforme allungato lungo 60-100  $\mu\text{m}$ , con ciliatura uniforme, macronucleo sferico e vacuolo contrattile sub-terminale. Specie molto comune nelle acque inquinate da sostanza organica come quelle dei liquami che entrano nell'impianto

Nel fango attivo a regime si sviluppa solo in condizioni di inefficienza biologica di depurazione

***Aspidisca cicada***

Ciliato di piccole dimensioni (25-40  $\mu\text{m}$ ), di forma tondeggiante fornito di una rigida pellicola. Superficie dorsale convessa e provvista di 6 solchi; superficie ventrale piatta, portante 7 cirri frontoventrali e 5 trasversali. La cavità orale si apre nella parte posteriore del margine sinistro. Vacuolo contrattile vicino al margine destro. Si muove in continuazione sul fiocco di fango per mezzo dei cirri. Molto comune e abbondante nei fanghi attivi.

- **Forme sessili**



I peritrichi sono ciliati sessili a forma di coppa o campana rovesciata che si attaccano al substrato per mezzo di un peduncolo. Essi mancano della ciliatura somatica e sono dotati di una zona adorale di membranelle solo intorno al polo apicale sul quale si apre il citostoma. I peritrichi possono essere singoli o coloniali; il loro peduncolo può essere rigido o contrattile.

***Vorticella convallaria***

Lunghezza 40-120  $\mu\text{m}$ , lunghezza peduncolo 200-500  $\mu\text{m}$ . Corpo a forma di coppa in cui il diametro massimo della cellula è al peristoma. Citoplasma lievemente giallo, presenza di macronucleo. I vacuoli alimentari sparsi nel citostoma hanno il contorno leggermente ovale. Molto comune nei fanghi attivi.

***Carchesium***

Ciliati coloniali le cui colonie possono raggiungere dimensioni superiori al millimetro; i singoli individui hanno dimensioni medie di 80-140  $\mu\text{m}$ . La forma a campana è molto simile a quella di *V.comvallaria*, con ampio peristoma. Il macronucleo è a forma di C, la pellicola esterna non è striata, ogni individuo della colonia può contrarsi indipendentemente.



***Opercularia***

Ciliati coloniali dal peduncolo non contrattile. La ciliatura oralesi estende intorno ad una struttura che fuoriesce dal peristoma (opercolo) all'apice anteriore del corpo. Le colonie non sono mai formate da numerosi individui, solitamente non più di 4-8. Le dimensioni delle cellule variano da specie a specie. Nei fanghi attivi sono molto comuni.

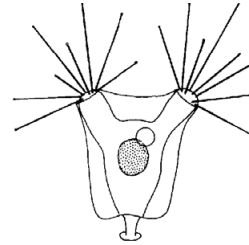


- **Suttori**

I Suttori formano una sottoclasse che raggruppa i ciliati che nella forma adulta non hanno ciglia bensì tentacoli che vengono usati a scopi alimentari. Sono tutti carnivori e si riproducono dando origine, per gemmazione, a larve ciliate. Molte specie sono sessili.

### *Acineta*

Ciliati sessili. Cellula adulta di forma conica o cilindrica racchiusa entro una lorica che è sostenuta da un peduncolo rigido. I tentacoli sono normalmente disposti in due gruppi. Nucleo tondeggiante situato centralmente, vacuolo contrattile terminale. Come in tutti i suttori, all'apice dei tentacoli si trovano delle ventose che hanno lo scopo di fissare le prede che inavvertitamente urtano il tentacolo e di estrarre il citoplasma di cui si nutrono. Dimensioni molto variabili da specie a specie (30-300 µm).



## **METAZOI**

Sono animali costituiti da più cellule riunite a formare tessuti e organi. La loro complessità organizzativa è tale per cui, generalmente, il loro ciclo riproduttivo è più lento di quello dei protozoi. Per questo motivo la loro presenza negli impianti di depurazione a fanghi attivi è limitata ad alcune forme semplici con tempi di generazione minori dell'età del fango.

I metazoi con effettiva possibilità di svilupparsi all'interno della vasca di aerazione sono: rotiferi, nematodi e gastrotrichi. Altre forme come crostacei, larve di insetti, oligocheti, ecc., possono essere osservate sporadicamente nel fango attivo; tuttavia queste forme entrano passivamente nell'impianto attraverso il liquame, senza avere reali possibilità di riprodursi prima di uscirne attraverso l'effluente finale.



### *Nematodi*

Vermiformi, lunghi da 300 a 1.000 µm, si muovono con un caratteristico movimento a frusta. I sessi sono generalmente separati. I nuovi individui si sviluppano da uova

### *Rotiferi*

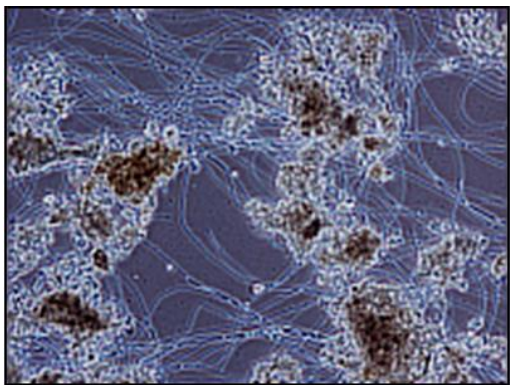
Animali dalla forma assai variabile da specie a specie; negli impianti di depurazione sono più frequenti quelli appartenenti al genere *Rotaria*. Questi sono allungati ed estensibili come un telescopio, di lunghezza media 200-500 µm, dotati apicalmente di un apparato rotatorio con cui filtrano l'acqua circostante. Possiedono un apparato masticatore che macina continuamente.



## BATTERI FILAMENTOSI

Una delle cause dei problemi di sedimentabilità del fango attivo in un impianto è il bulking dovuto ai batteri filamentosi; è di conseguenza importante l'identificazione e la stima delle specie di microorganismi filamentosi presenti nel fiocco, per poter risalire alle cause del fenomeno e predisporre degli interventi correttivi.

Il loro sviluppo è dovuto ad una serie di fattori tra cui la carenza di nutrienti nei liquami, al basso tenore di ossigeno disciolto all'interno del fiocco, età elevata del fango, al pH basso e alla presenza di influente settico ricco di solfuri.



**Figura 8: batteri filamentosi**

La concentrazione di ossigeno misurata nella miscela aerata spesso non equivale a quella presente dentro il fiocco di fango, quindi l'ossigeno fornito al sistema deve essere commisurato al carico del fango e deve garantire una sufficiente ossigenazione in ogni punto del fiocco.

E' stata appurata la conflittualità tra fiocco-formatori e batteri filamentosi; i fiocco-formatori hanno la capacità di immagazzinare attivamente sostanza organica (zuccheri semplici), inoltre questi possono crescere e riprodursi velocemente quando la disponibilità di nutrimento è elevata.

I filamentosi non hanno bisogno, normalmente, di immagazzinare il substrato poiché hanno coefficienti di mantenimento molto bassi che contribuiscono alla loro capacità di resistenza in condizioni di cronica carenza di nutrimento.

*Nocardia*: è il genere maggiormente responsabile degli episodi di foaming<sup>1</sup>. E' presente in impianti con aerazione a bolle o ad ossigeno puro, nei reflui domestici, industriali e misti, reflui ricchi di grassi e olii, con alte temperature (maggiori di 18 °C), pH bassi (6.5-7.1), alte età del fango (maggiori di 9 giorni).

*Microthrix parvicella*: è presente in impianti con alte età del fango, è comune nei reflui domestici ed è favorita dalla presenza di grassi e dalle basse temperature; proprio per queste temperature le particelle grasse si concentrano sulla superficie della miscela aerata, dove si possono formare schiume.

Funghi: richiedono basso pH nella vasca d'ossidazione (minore di 6.5) dovuto a liquami fortemente acidi; difficilmente provocano bulking.

---

<sup>1</sup> Il meccanismo del foaming invece lo associamo in particolare all'azione di microorganismi quali la *Nocardia* e la *Microthrix parvicella*; non è però sufficiente la sola presenza di questi batteri a causare il foaming, bensì il formarsi di una schiuma densa, spessa, marrone e difficile da rompere meccanicamente è dovuto ad una eccessiva presenza di questi microorganismi.