

# Mikrobiologiczne badania osadów pościekowych higienizowanych tlenkiem wapnia

ZBIGNIEW PALUSZAK, MONIKA BAZELI, JANUSZ HERMANN\*,  
JUSTYNA BAUZA-KASZEWSKA

Katedra Mikrobiologii, \*Katedra Chemii Środowiska Wydziału Rolniczego ATR, ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Paluszak Z., Bazeli M., Hermann J., Bauza-Kaszewska J.

## Microbiological investigation of sludge treated with quick lime

### Summary

The aim of the investigation was to study the inactivation of selected bacteria and parasite ova in sludge treated with 5, 10 and 20% of CaO. The elimination rate of pathogens varied and depended on lime doses. When sludge was treated with 20% CaO all *Ascaris* eggs were destroyed after 6 hours, and, additionally, bacterial pathogens after 0.5-1 hour. The hygienization of sludge with 5 and 10% CaO was inefficient because only 6-9% of *A. suum* eggs were destroyed during the 24 hour period; most bacterial pathogens, however, were eliminated. Only sludge treated with 20% CaO and stored for 24 hours may be used for agricultural purposes.

**Keywords:** eggs, *Salmonella*, liming, sludge

Osady pościekowe przed nawozowym wykorzystaniem w rolnictwie muszą zostać poddane procesom higienizacji w celu inaktywacji zawartych w nich patogennych bakterii, wirusów i jaj pasożytów żołądkowo-jelitowych (14). Szczególnie niebezpieczne dla ludzi i zwierząt są pałeczki *Salmonella* oraz jaja *Ascaris*, *Trichuris* i *Toxocara* zawarte w osadach (23, 24). Obok procesu kompostowania oraz metod termicznych (pasteryzacja) stosowanych do utylizacji osadów pościekowych istnieje możliwość ich higienizacji w oparciu o zastosowanie preparatów wapniowych (6, 7, 15, 20). Zwłaszcza wapno palone (CaO) jest skutecznym środkiem dezynfekcyjnym, ponieważ, obok podwyższenia pH > 12,5, zwiększa również temperaturę mieszaniny.

Poza higienicznym oddziaływaniem, tlenek wapnia wpływa pozytywnie na strukturę osadów, poprawia ich wartość nawozową, a także zwiększa zawartość suchej masy. W związku ze zmiennym składem osadów oraz przypadkami wykrywania zarówno jaj pasożytów, jak i drobnoustrojów patogennych w osadach przeznaczonych do celów nawozowych (9), podjęto modelowe badania w skali laboratoryjnej mające na celu – poprzez określenie kinetyki inaktywacji wybranych bakterii i jaj pasożytów żołądkowo-jelitowych – sformułowanie warunków efektywnej higienizacji osadu przy użyciu wapna palonego.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono w pojemnikach, w których umieszczono 4,5 l odwodnionego, stabilizowanego bez-

tlenowo osadu pościekowego o zawartości 20% s.m. Osad pochodził ze ścieków komunalnych. Następnie osad kontaminowano 100 ml zawiesiny pałeczek *Salmonella senftenberg* W775 o koncentracji  $10^{7-8}$  NPL·ml<sup>-1</sup>. Po okresie 12 godzin, niezbędnym dla zaadsorbowania tych bakterii na cząstkach osadu, dodawano wapno palone w ilości gwarantującej końcowe stężenie 5%, 10% i 20% CaO. Zawartość naczynia mieszano starannie mieszadłem mechanicznym, po czym pobierano próbki do badań po 0,5, 1, 3, 6 i 24 godz.

W próbkach oznaczono koncentrację *E. coli*, pałeczek *Salmonella senftenberg* W775 (szcep termooporny i mało zjadliwy) oraz paciorkowców kałowych grupy D. W procesie izolacji pałeczek *Salmonella* wykorzystano dwa podłoża namnażające: wodę peptonową (37°C, 24 h) oraz podłoże selektywne według Rappaporta (43°C, 24 h). Następnie przenoszono materiał eż na podłoże stałe według Kaufmana. W końcowej fazie identyfikacji użyto surowicy poliwalentnej HM.

Do izolacji i oznaczenia liczby paciorkowców kałowych grupy D wykorzystano bulion z glukozą i azydkiem sodu oraz podłoże stałe z kanamycyną. Kończącą identyfikację oparto na zastosowaniu testu serologicznego (Phadebact-Test). Liczbę pałeczek *E. coli* określono w hodowli na płynnym podłożu LPB oraz selektywnym podłożu ENDO. Następnie sprawdzano wyizolowane *E. coli* na pochodzenie fekalne, określając zdolność rozkładu laktozy z wydzielaniem gazu (44°C przez 48 h). W przypadkach wątpliwych stosowano test Api E.

NPL bakterii wyznaczono w oparciu o układ 3-probowkowy, wykorzystując tablice Mc Cradego.

Ponadto określono wpływ zastosowanych dawek CaO na inaktywację jaj *Ascaris suum*. Do osadu wkładano noś-

niki w formie perforowanych perlonowych woreczków zawierających 1 ml zawiesiny jaj *Ascaris suum* uzyskiwanych z macicy dojrziałych płciowo osobników żeńskich. Ściany nośnika zawierały otwory o średnicy 28  $\mu\text{m}$ , które nie pozwalały na przemieszczanie się jaj przez nośnik. Po wyciągnięciu woreczków ich zawartość umieszczano w wodzie w płytkach Petriego, które poddawano inkubacji przez 21 dni w temperaturze 28°C. Po okresie inkubacji liczone odsetki jaj zawierających żywe larwy (19). Uzyskane wyniki zweryfikowano i opracowano statystycznie metodą analizy wariancji, a istotność różnic między średnimi oceniono testem t-Studenta ( $P = 0,95$ ) w programie Statistica.

### Wyniki i omówienie

Wyniki badań dotyczące przeżywalności badanych bakterii i jaj w osadach pościekowych poddanych działaniu wapna palonego przedstawiają tab. 1, 2 i 3.

Badania dowiodły, że inaktywacja badanych bakterii przebiegała najpewniej przy zastosowaniu 20% wapna palonego. Pałeczki *E. coli* eliminowane były już po 1 godzinie. Zaobserwowano również skuteczne oddziaływanie na pałeczki *E. coli* 10% dawki CaO, która inaktywowała je po 12 h. Już w 6. godzinie trwania eksperymentu liczebność ich spadała o 6 log. Wapno palone 5%, jakkolwiek wyraźnie ograniczało liczebność pałeczek *E. coli*, to jednak w okresie 24 h nie doprowadzało do ich pełnej eliminacji. Spadek liczebności po 24 h wynosił 4 log (tab. 1).

Znacznie bardziej wrażliwe na CaO okazały się zastosowane w badaniach pałeczki *Salmonella senftenberg W775*. Dawka 20% CaO likwidowała pałeczki *Salmonella senftenberg W775* po 0,5 h, 10% po 1 h.

Jak wynika z danych tab. 1, efekt higienizujący tlenu wapnia w odniesieniu do paciorkowców kałowych był również zadowalający. W osadzie zawierającym 20% CaO pełna eliminacja paciorkowców następowała po 3 godzinach, natomiast dawka 10% CaO likwidowała paciorkowce po 12 godzinach. Po 24 h nie stwierdzono paciorkowców w osadach poddanych wapnowaniu. Godzinne tempo inaktywacji wahało się od 0,29 do 0,39 log.

Badania dowiodły, że wysokość dawki CaO istotnie wpływa na liczebność badanych bakterii (tab. 2).

Tab. 1. Liczebność badanych drobnoustrojów po zastosowaniu CaO w osadzie odwodnionym o zawartości 20% s.m. (n = 3)

Dawka CaO	Czas						
	0	0,5 h	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h
<i>Escherichia coli</i> (NPL·g <sup>-1</sup> )							
20% (1 kg CaO·kg <sup>-1</sup> s.m.)	1,1 × 10 <sup>7</sup>	2,0 × 10 <sup>0</sup>	ni	ni	ni	ni	ni
10% (0,5 kg CaO·kg <sup>-1</sup> s.m.)	2,4 × 10 <sup>6</sup>	2,4 × 10 <sup>5</sup>	1,9 × 10 <sup>2</sup>	1,9 × 10 <sup>2</sup>	6,0 × 10 <sup>1</sup>	ni	ni
5% (0,25 kg CaO·kg <sup>-1</sup> s.m.)	2,4 × 10 <sup>6</sup>	7,0 × 10 <sup>5</sup>	2,4 × 10 <sup>5</sup>	2,4 × 10 <sup>4</sup>	1,3 × 10 <sup>3</sup>	1,3 × 10 <sup>2</sup>	1,3 × 10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella senftenberg W<sub>775</sub></i> (NPL·g <sup>-1</sup> )							
20% (1 kg CaO·kg <sup>-1</sup> s.m.)	2,4 × 10 <sup>7</sup>	ni	ni	ni	ni	ni	ni
10% (0,5 kg CaO·kg <sup>-1</sup> s.m.)	1,1 × 10 <sup>7</sup>	1,1 × 10 <sup>1</sup>	ni	ni	ni	ni	ni
5% (0,25 kg CaO·kg <sup>-1</sup> s.m.)	1,1 × 10 <sup>7</sup>	2,4 × 10 <sup>4</sup>	1,1 × 10 <sup>2</sup>	ni	ni	ni	ni
paciorkowce kałowe grupy D (NPL·g <sup>-1</sup> )							
20% (1 kg CaO·kg <sup>-1</sup> s.m.)	1,1 × 10 <sup>6</sup>	3,0 × 10 <sup>2</sup>	1,0 × 10 <sup>0</sup>	ni	ni	ni	ni
10% (0,5 kg CaO·kg <sup>-1</sup> s.m.)	1,8 × 10 <sup>5</sup>	2,0 × 10 <sup>4</sup>	4,0 × 10 <sup>3</sup>	2,0 × 10 <sup>2</sup>	4,0 × 10 <sup>1</sup>	ni	ni
5% (0,25 kg CaO·kg <sup>-1</sup> s.m.)	2,4 × 10 <sup>5</sup>	3,0 × 10 <sup>4</sup>	2,6 × 10 <sup>4</sup>	2,3 × 10 <sup>4</sup>	2,4 × 10 <sup>2</sup>	1,8 × 10 <sup>1</sup>	ni

Zastosowane dawki tlenu wapnia, które szybko eliminowały bakterie, nie zawsze okazały się skuteczne w procesie likwidacji jaj *Ascaris suum* (tab. 3). Odsetek jaj żywych w osadach po upływie 24 h w przypadku stosowania dawki 10% CaO wahał się od 97% do 65%, natomiast pod wpływem dawki 5% ilość jaj inwazyjnych spadła jedynie z 97% do 92,30%. Dopiero 20% dodatek CaO skutecznie likwidował jaja glisty świńskiej już po 6 godzinach.

Z przeprowadzonych badań wynika, że wapnowanie osadów oddziaływało higienizująco znacznie skuteczniej na zawarte w nim bakterie niż na jaja pasoży-

Tab. 2. Istotność różnic pomiędzy oddziaływaniem poszczególnych dawek CaO na badane populacje dla średnich wyrażonych w postaci logarytmu

Grupa bakterii	Dawka CaO		
	I dawka (20%)	II dawka (10%)	III dawka (5%)
<i>E. coli</i>	1,04*	2,59*	4,19*
<i>Salmonella senftenberg W<sub>775</sub></i>	1,05*	1,15*	1,92*
Paciorkowce kałowe grupy D	1,22*	2,59*	4,19*

Objaśnienia: \*oznaczone wartości liczbowe w wierszach różnią się istotnie (NIR dla  $p = 0,05$ )

Tab. 3. Odsetek żywych larw *Ascaris suum* po zastosowaniu CaO w osadzie odwodnionym o zawartości 20% s.m. (n = 3)

Dawka	Czas							
	0	0,5 h	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h	średnio
20% (1 kg CaO·kg <sup>-1</sup> s.m.)	87,00	31,50	3,50	1	0	0	0	17,6*
10% (0,5 kg CaO·kg <sup>-1</sup> s.m.)	97,00	94,10	91,30	88,50	88,30	89,60	87,50	90,9*
5% (0,25 kg CaO·kg <sup>-1</sup> s.m.)	97,00	94,50	93,30	94,10	91,60	92,30	92,30	93,6*

Objaśnienia: \*oznaczone wartości liczbowe w kolumnach różnią się istotnie (NIR dla  $p = 0,05$ )

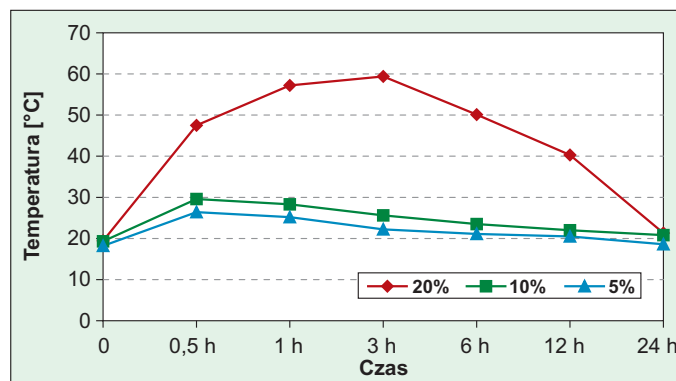
tów żołądkowo-jelitowych. Dopiero zastosowanie wysokich dawek wapna palonego skutkowało pełną i szybką higienizacją osadów, umożliwiając ich zastosowanie do celów rolniczych (22, 23).

Należy podkreślić, że usprawnienie i doskonalenie metod higienizacji osadów pościekowych zawierających drobnoustroje patogenne jest ważne ze względów sanitarno-higienicznych, bowiem ogranicza transmisję patogenów do gleby i wód gruntowych. Bakteriobójcze działanie CaO znane jest od dawna i coraz częściej na skalę przemysłową preparaty wapnia wykorzystywane są do higienizowania osadów. Zdarza się, że ze względów ekonomicznych stosuje się zbyt niskie jego dawki. Efektywność higienizacyjna CaO zależy nie tylko od stosowanej dawki, ale także od zawartości suchej masy osadów oraz czasu oddziaływania (12, 13). Czynnikiem higienizującym jest podwyższenie pH i temperatury osadów. Ponadto uwolniony w czasie wapnowania amoniak skutecznie likwiduje zawarte w osadach patogeny (4).

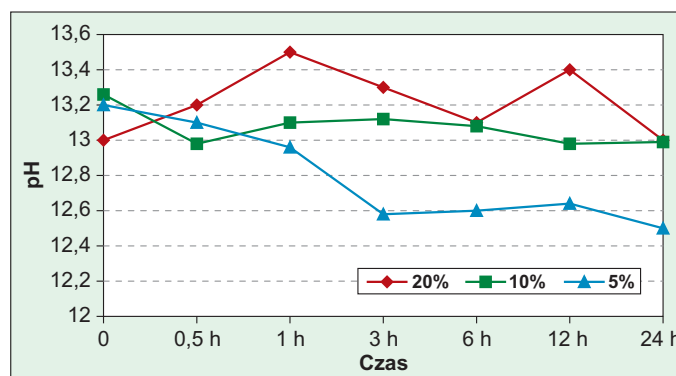
W badaniach własnych uzyskany efekt termiczny był zróżnicowany i zależał od dawki tlenku wapnia. Dawka 5 i 10% CaO powodowała nieznaczny wzrost temperatury odpowiednio do 26,5 i 30°C. Dopiero w stężeniu 20% CaO powodował wzrost temperatury badanych osadów do ponad 55°C (ryc. 1). Uzyskane wyniki były zgodne z wyliczeniami teoretycznymi opracowanymi przez Böhnke i Weiling (5). Głównym czynnikiem bakteriobójczym przy stosowaniu niskich dawek i braku podwyższonej temperatury osadów był wzrost pH mieszaniny. Bez względu na ilość dodawanego wapna, pH biomasy osiągało wartość 12. Warto podkreślić, że pH osadu > 13 występowało po zastosowaniu dawki 10 i 20% CaO, i było ono znacznie bardziej stabilne niż w przypadku dawki 5% CaO (ryc. 2).

Skuteczne oddziaływanie pH > 12,5 na likwidację flory patogennej w osadach obserwowali Wasmus (24) i Krzywy (16), którzy uzyskiwali w takich warunkach pełną jego higienizację. W badaniach własnych dobry efekt w zakresie eliminacji drobnoustrojów uzyskano także stosując 5 i 10% CaO (tab. 1). Wszystkie badane bakterie podlegały inaktywacji w ciągu 24 godzin. Najszybciej, bo po 0,5 h, eliminowane były pałeczki *Salmonella senftenberg* W775, natomiast *E. coli* i paciorkowce kałowe ginęły po 12 h (tab. 1). Szybka eliminację pałeczek *Salmonella senftenberg* W775 pod wpływem wapna palonego obserwował również Berg (3) i Ostertag (18). Zależnie od szczepu, pełna inaktywacja następowała w czasie od 2 do 5 godzin.

Dobry efekt higienizacyjny uzyskano również stosując dawkę 5% CaO w zakresie eliminacji pałeczek *Salmonella senftenberg* W775 i paciorkowców kałowych D (od 6 do 24 h). Wydaje się, że szybkiej redukcji populacji badanych bakterii w doświadczeniu laboratoryjnym sprzyjało zapewne dobre wymieszanie i prawidłowa konsystencja osadu. W przypadku wapnowania dużej ilości osadów występują zwykle trud-



Ryc. 1. Wartości temperatury po zastosowaniu CaO w osadzie odwodnionym o zawartości 20% s.m. (średnia z 3 powtórzeń)



Ryc. 2. Wartość pH po zastosowaniu CaO w osadzie odwodnionym o zawartości 20% s.m. (średnia z 3 powtórzeń)

ności z jego właściwym wymieszaniem. Pojawiać się może efekt brzeżny polegający na występowaniu gorszej higienizacji w niektórych fragmentach mieszaniny. Może to skutkować wydłużonym okresem przeżywalności drobnoustrojów. Według niektórych autorów, w takich warunkach, mimo stosowania wysokich dawek CaO, pałeczki *Salmonella* mogą przeżywać i zachować inwazyjność nawet w osadach po 8 tygodniach (1, 10, 21).

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że podwyższenie pH nie wpływa w krótkim czasie na inaktywację jaj pasożytów jelitowych. Dawki 5 i 10% CaO powodowały nieznaczny spadek odsetka larw inwazyjnych nawet przy pH > 12,5. Spadek liczebności jaj inwazyjnych wahał się jedynie od 5,2% do 9%. Z danych piśmiennictwa (2, 9, 11) wynika, że w osadach o pH 12, które nie podlegają zagrzaniu, jaja *Ascaris suum* zachowywać mogą żywotność nawet do 10-12 tygodni składowania. Jest to szczególnie ważne spostrzeżenie, bowiem w praktyce zdarza się, że osady słabo wapnowane w krótkim czasie są wykorzystywane do celów nawozowych, co sprzyjać może skażeniu środowiska.

Wykazano, że czynnikiem decydującym o szybkiej eliminacji pasożytów żołądkowo-jelitowych była przede wszystkim podwyższona temperatura osadu, którą stwierdzono po dodaniu dawki 20% CaO. Spadek odsetka jaj aktywnych był bardzo wyraźny, bo-

wiem już po 6 godzinach nie obserwowano form inwazyjnych. Jest to zgodne z wynikami Lang (17) i Paluszaka (19), którzy stwierdzili pełną inaktywację jaj pasożytów żołądkowo-jelitowych w temperaturze 50°C po 1 godzinie, przy temperaturze 55°C po 20 minutach, a w 60°C już po 15 minutach.

Z przeprowadzonych badań wynika, że tlenek wapnia oddziałuje na zawarte w osadach patogeny w sposób zróżnicowany. Ze względu na dużą chemooporność jaj *Ascaris suum* (8), stężenie CaO w osadach przeznaczonych do użytku rolniczego nie powinno być w praktyce mniejsze niż 20%. Prawidłowo przeprowadzony proces wapnowania osadów poprawia biobezpieczeństwo środowiska i eliminuje rozprzestrzenianie patogenów w glebie i wodach gruntowych.

### Piśmiennictwo

1. Amer A. A.: Destruction of sludge pathogenic bacteria using quicklime and cement dust. Egypt J. Soil Sci. 1997, 37, 343-354.
2. Andreadakis A. D.: Treatment and disinfection of sludge using quicklime. DGE/JRCEC European commission Workshop around sludge. Italy 1999, 31-37.
3. Berg Th.: Untersuchungen über die entseuchende Wirkung von Verfahren zur Pasteurisierung, Kompostierung und Verfestigung von Klärschlamm. Praca dokt., Hohenheim 1978.
4. Bień B. J.: Osady ściekowe – teoria i praktyka. Wyd. Politech. Częstochowskiej, Częstochowa 2002.
5. Böhnke B., Weiling R.: Untersuchungen zur Erzeugung und Anwendung eines Klärschlammkalkdüngers. Forschungsbericht 10304054 BMI; Institut für Siedlungswasserwirtschaft der RWTH, Aachen 1980.
6. Capizzi-Banas S., Deloge M., Remy M., Schwartzbrod J.: Liming as an advanced treatment for sludge sanitisation : helminth eggs elimination – *Ascaris* eggs as model. Wat. Res. 2004, 38, 3251-3258.
7. Eriksen L., Andreassen P.: Inactivation of *Ascaris suum* eggs during storage in time treated sewage sludge. Wat. Res. 1995, 30, 1026-1029.
8. Gantzer C., Gaspard P., Galvez L., Huyard A., Dumouthier N., Schwartzbrod J.: Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatment of sludge. Wat. Res. 2001, 35, 3763-3770.
9. Gaspard P. G., Wiart J., Schwartzbrod J.: Sludge hygienization: helminth eggs (*Ascaris ova*) destruction by lime treatment. Rec. Res. Dev. Microbiol. 1997, 1, 77-83.
10. Gaspard P.: Contamination parasitaire dans l'environnement: prospective pour une gestion des risques sanitaires. Praca dokt., Universite Henri Poincare, Nancy I 1995.
11. Gaspard P. G., Wiart J., Schwartzbrod J.: Urban sludge reuse in agriculture: waste treatment and parasitological risk. Bioresour. Technol. 1995, 52, 37-40.
12. Hermann J., Kluczek J. P.: Przydatność rolnicza biomasy bakteryjnej z oczyszczalni ścieków zakładów celulozowych. Pr. Kom. Nauk Rol. Biol. 1995, 31, 161-169.
13. Hermann J.: Uwarunkowania i kryteria rolniczej przydatności odpadów. Ekologia i Technika 1995, 4, 17-21.
14. Johnson P. W., Dixon R., Ross A. D.: An in vitro test for assessing the viability of *Ascaris suum* eggs exposed to various sewage treatment processes. Intern. J. Parasitol. 1998, 28, 627-633.
15. Wong J. W. C., Fang M.: Effects of lime addition on sewage sludge composting process. Wat. Res. 2000, 34, 3691-3698.
16. Krzywy E.: Przyrodnicze zagospodarowanie ścieków i osadów. Wyd. AR Szczecin 1999.
17. Lang A.: Mikrobiologische Untersuchungen über die Eignung verschiedener Indikatororganismen zur seuchenhygienischen Beurteilung von Klärschlamm. Praca dokt., Univ. Hoheinheim 1987.
18. Ostertag S.: Mikrobiologisch – hygienische Untersuchung über die Anwendung von Brannt- und Löschkalk zur Klörschlammseuchung. Praca dokt., Univ. Hoheinheim 1987.
19. Paluszak Z., Ligocka A., Olszewska H.: Inaktywacja jaj *Ascaris suum* w kompostowanych osadach ściekowych. Medycyna Wet. 2003, 59, 154-157.
20. Paluszak Z., Bauza-Kaszewska J., Ligocka A.: Przeżywalność pałeczek *Salmonella senftenberg* W775 w osadach pościekowych poddanych procesowi kompostowania. Medycyna Wet. 2003, 59, 239-243.
21. Reimers R. S., Desocio E. R., Bonkston W. S., Oleszkiewicz J. A.: Proc. Weftec.: Current future advances in biosolids disinfection processing. Orlando 1998, 445-459.
22. Strauch D.: Ursachen und mögliche Auswirkungen des Vorkommens pathogener Agentien in kommunalen Klärschlamm. Schweiz. Arch. Tierh. 1983, 125, 621-659.
23. Strauch D.: Survival of pathogenic micro-organisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 1991, 10, 813-846.
24. Wasmus A.: Untersuchungen zur Anwendung von niedrigen Branntkalkmengen bei Siebbandpressenschlamm aus seuchenhygienischer Sicht. Praca dokt. Giessen 1985.

Adres autora: prof. dr hab. Zbigniew Paluszak, ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz; e-mail: paluszak@atr.bydgoszcz.pl