

ESTUDIO MICROBIOLÓGICO Y PARASITOLÓGICO DE EXCRETAS DE CERDO SOMETIDAS A BIODIGESTION ANAERÓBICA EN LABORATORIO

Fernando Núñez S. (MV, LSP), Felipe Urrutia S. (MV),
Santiago Urcelay V. (MV, LSP, MPVM), Pilar Oviedo H. (MV)

MICROBIOLOGICAL AND PARASITOLOGICAL STUDY IN SWINE MANURE TREATED BY ANAEROBIC BIODIGESTION

The viability of some bacterial and parasitic agents existing in pig's manure was studied, when it was subjected to anaerobic biodigestion at different temperatures and substrate dilutions. The methodology consisted in: two-temperatures, 35°C (mesofilic) and 15°C (psicrofilic), with 3,6 and 10% solids in the substrate, and with a maintenance time of 45 and 75 days.

The results indicated that at 35°C, the agents viability was lower than at 15°C. At 35°C with 3% and 6% solid concentrations, the coliform population was eliminated. The Ascaris eggs viability at 35°C with 3% solid concentration, was reduced by 78% and the oocysts disappeared in both trials.

En Chile, son escasos los planteles que cuentan con sistemas eficientes de tratamiento de excretas y desechos. Por lo general, éstos son evacuados directamente a través de ríos y canales, cuyas aguas son usadas posteriormente en regadíos u otros planteles aguas abajo, provocando así la consiguiente propagación y contaminación de suelos y aguas, con múltiples agentes patógenos. Es en esta forma como se crean condiciones epidemiológicas de alto riesgo a la salud de animales y personas. La situación descrita ha estimulado la búsqueda de nuevos métodos y técnicas apropiadas, que permitan controlar este tipo de daño al medio ambiente rural y, a su vez, ofrecer soluciones viables y económicas al productor. Uno de los métodos de tratamiento de desechos es la biodigestión anaeróbica, como proceso de descomposición y estabilización de la materia orgánica, que permite eliminar la contaminación biológica de excretas y otros desechos (Cardoen, 1983). En este aspecto, la biodigestión anaeróbica cumple una excelente función para el tratamiento de excretas y aguas residuales, eliminando el olor desagradable de los desperdicios y evitando la presencia de roedores y moscas. Con este proceso, la

materia orgánica reduce su peso en un 30 a 50%, el peso específico baja y disminuye la cantidad de sólidos suspendidos. De este modo, este tipo de tratamiento provee una solución sanitaria para disponer los desperdicios humanos y animales (Mc Garry y Statinforth, 1978; Bryant, 1979; Smith y Cols., 1979; Carothers, 1980; NAC, 1981).

El proceso de saneamiento obtenido mediante la digestión anaeróbica es provocado, tanto por la falta de oxígeno y presencia de amoníaco libre como por efecto de temperatura; estos factores causan una drástica reducción en el número de bacterias patógenas y huevos de parásitos existentes en el sustrato (Carothers, 1980).

El amoníaco libre es producido por la descomposición de materiales orgánicos, a través de la fermentación bacteriana, pudiendo penetrar la membrana celular y las envolturas de los organismos patógenos, provocando su eliminación. Con un nivel de 0,2% de amoníaco libre, los huevos de *Schistosoma* y *Ascaris* mueren entre 2 a 3 semanas. Sin embargo, los niveles de amoníaco de digestores rurales corresponden a 0,07% y ésto podría explicar por qué estos huevos sobreviven considerablemente más tiempo (McGarry y Statinforth, 1978; Carothers, 1980; United Nations, 1981).

Por el ambiente anaeróbico en el digestor, muchos microorganismos aeróbicos, tales como *Leptospiras* y *Mycobacterium*, no pueden desarrollarse, destruyéndose o perdiendo su virulencia. Bajo

Departamento de Medicina Preventiva Animal.
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.
Universidad de Chile, Casilla 2, Correo 15.
Santiago, Chile.

estrictas condiciones anaeróbicas, los huevos de *Ascaris* a pesar de ser aerobios obligados, mueren después de 100 días de retención (McInnis y Voge, 1970; Carothers, 1980; UNEP, 1981). Los investigadores indican que los huevos de parásitos más resistentes, corresponden a los de *Ascaris* (Soulsby, 1965; FAO, 1978; Fitzgerald y Ashley, 1977).

En relación a temperatura, la capacidad infectiva de un organismo depende mucho de ella, sobreviviendo mayor número de microorganismos a bajas temperaturas (< 5°C) e, inversamente, muriendo rápidamente a altas temperaturas (> 40°C) (Feachem y Cols., 1980). En general, la temperatura óptima para la sobrevivencia y crecimiento de bacterias y huevos de parásitos es de 22-30°C. Si la temperatura aumenta, la sobrevivencia y crecimiento de los organismos será inhibida, muriendo rápidamente (UNEP, 1981). Así por ejemplo, el índice *Escherichia coli* es reducido a cero a una temperatura de 30°C, con un tiempo de retención de 30 días (CIDERE, 1978).

Los huevos de *Ascaris* pueden sobrevivir hasta 20 min a 50°C y 10 min a 55°C y mueren inmediatamente a 60°C (McGarry y Statinforth, 1978; NAC, 1981; UNEP, 1981; Plym, 1982). Los ooquistes de *Coccidias* mueren en 1,5 hr a 50°C y en 15 seg a 60°C. Las *Leptospiras* mueren a 50°C en 10 min, las *Salmonella sp.* y *Escherichia coli* mueren dentro de 1 hr a 55°C y dentro de 15-20 min, a 60°C (Kheysin, 1972; United Nations, 1981).

Los beneficios sanitarios alcanzados en China con la digestión anaeróbica, han llevado a la conclusión general de que el uso de esta tecnología en áreas rurales ofrecería un mejoramiento en la sanidad animal y salud pública (OPS, 1976). Sin embargo, es necesario precisar algunas condiciones en que se realiza el proceso. Por tanto, el objetivo del presente estudio es determinar el efecto de la biodigestión anaeróbica sobre la viabilidad de algunos agentes patógenos bacterianos y parasitarios, que se encuentran presentes en excretas de cerdo y que actúan como indicadores de contaminación.

MATERIALES Y METODOS

Como sustrato para la biodigestión anaeróbica se utilizó excretas frescas de cerdo (de 4 a 6 meses de edad) que no hubiesen sido previamente sometidos a tratamiento antiparasitario. Estos animales recibieron una ración alimentaria a base de maíz, afretillo y heno.

Las fecas fueron tratadas en un digestor experimental, diseñado sobre la base de equipos descritos por Sievers y Brune (1978); Badger y Cols. (1979); Cardoen (1983). El biodigestor construido correspondió al tipo "batch", el cual se carga de una sola

vez en forma total y la descarga se efectúa una vez completado y terminado el proceso.

El trabajo consistió en dos experimentos a temperaturas de 15°C y 35°C empleando en cada uno tres digestores experimentales idénticos con las siguientes concentraciones: A=10%, B=6% y C=3%. En esta forma se intervino las variables temperaturas y concentración de sólidos totales, considerando el tiempo de retención como una variable dependiente de la temperatura y que para los experimentos a 15°C y 35°C fueron de 75 y 45 días, respectivamente.

Tipos de análisis

Análisis microbiológicos con recuentos pre y posfermentación, cada cinco días en ambos experimentos y según métodos de ICMSF (1982):

- Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables.
- Recuento de bacterias *Coliformes fecales*, mediante técnica del número más probable (NMP).
- Recuento total de hongos y levaduras viables.

Análisis parasitológicos. Determinación de porcentaje de viabilidad de ooquistes de coccidias y huevos de *Ascaris* mediante muestreo pre y posfermentación. Previa detección de huevos y ooquiste en las muestras se efectuó determinación cuantitativa según método McMaster (McInnis y Voge, 1970). Como medio de cultivo para estudio de viabilidad se empleó una solución de bicromato de potasio al 2% la que una vez mezclada con 2 g de muestra, se mantuvo a 27°C durante 45 días; las muestras fueron removidas diariamente para suministrar oxígeno (Contreras, 1971; Kheysin, 1972; Price y Reed, 1973).

Se consideró viables aquellos huevos de *Ascaris* que a los 45 días presentaban larvas y los ooquistes que al cabo de 15 días de incubación, presentaban esporoquistes en su interior.

RESULTADO Y DISCUSION

Recuento total de microorganismos aerobios y mesófilos

El recuento de microorganismos aerobios es un indicador de la calidad sanitaria y útil para comprobar el beneficio sanitario del proceso de digestión anaeróbica.

La disminución de este recuento varió para el experimento N° 1 (35°C) entre 23,7% y 27,4% presentando menores rangos de disminución el experimento N° 2 con porcentajes de decrecimiento entre 15,9% y 20,3% (figura 1).

Los resultados obtenidos no difieren mucho de los obtenidos por otros autores, que señalan disminuciones de microorganismos aerobios totales para

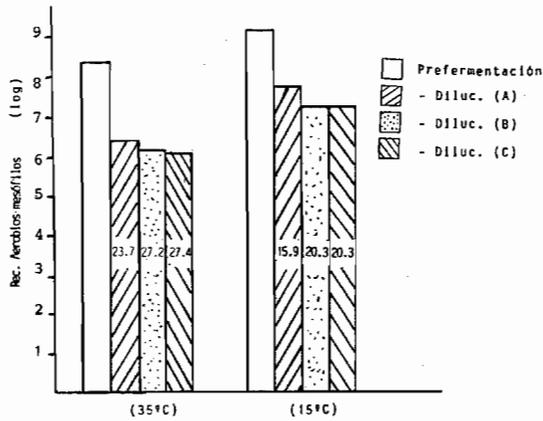


Figura 1. Reducción (%) de microorganismos aeróbicos mesófilos viables en excreta de cerdos sometidos a biodigestión anaeróbica en tres concentraciones a 35 y 15°C.

temperaturas mesófilas, entre 16,2% y 30% (Fischer y Cols., 1979; Lazo y Ugarte, 1983).

Recuento de bacterias Coliformes fecales

En el experimento N° 1 (35°C), se obtuvo reducciones de 76,9% para la dilución (A) y de 100% en las diluciones (B) y (C). La reducción más rápida ocurrió a los 25 días de retención. En general, factores tales como: condiciones de temperaturas altas y persistentes en el tiempo, competencia microbiana y presencia de subproductos tóxicos, favorecen la eliminación de estos microorganismos (Carothers, 1980) (figura 2).

En el experimento N° 2 (15°C), no se logró la eliminación total de los indicadores de contaminación fecal, alcanzando a los 75 días, reducciones de

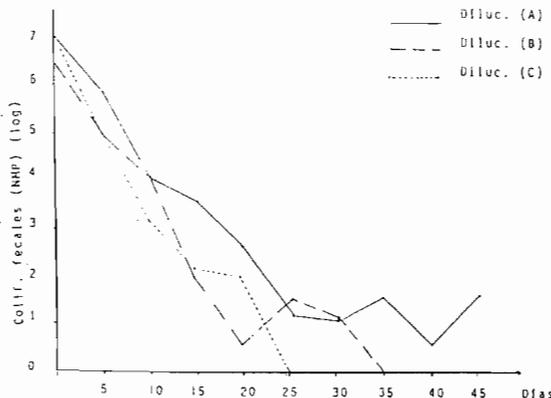


Figura 2. Reducción de coliformes fecales (NNP) en excreta de cerdos sometidos a biodigestión anaeróbica en tres concentraciones a 35°C.

40,7, 45,3 y 52,0%, para las diluciones (A), (B) y (C), respectivamente. Es importante destacar que nuevamente la mayor dilución presentó el porcentaje de disminución más importante (figura 3). Los resultados de otras investigaciones indican que a temperaturas mesófilas los porcentajes de eliminación de *Coliformes fecales* fluctúan entre 97 y 100%, demostrando que los efluentes son altamente saneados (CIDERE, 1978; Fischer y Cols., 1979b).

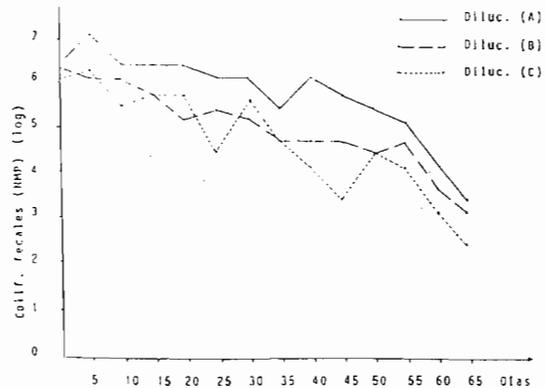


Figura 3. Reducción de coliformes fecales (NNP) en excreta de cerdos sometidos a biodigestión anaeróbica en tres concentraciones a 15°C.

Recuento total de hongos y levaduras viables

Los porcentajes de reducción de hongos y levaduras variaron entre 30,4% y 49,0%, ofreciendo grandes diferencias entre ambos experimentos y sus diluciones. Se esperaba que las reducciones fueran de mayor magnitud, dada las altas exigencias aeróbicas de hongos y levaduras, aunque algunos de ellos pueden crecer en condiciones anaeróbicas (Taber, 1976).

Viabilidad de ooquistes de Coccidias

La reducción de los ooquistes fue de 100% en todas las experiencias y en cada una de sus diluciones. Esta gran mortalidad se produciría por la sensibilidad del ooquiste a la falta de oxígeno para su esporulación y por los efectos tóxicos de subproductos elaborados por las bacterias (Kheysin, 1972).

Viabilidad de huevos de Ascaris

El porcentaje de disminución de la viabilidad de huevos de *Ascaris*, alcanzó al 78,6% en la experiencia que mantuvo una temperatura mesofílica (35°C) y dilución de 3% (C), dando condiciones más adversas para el desarrollo de la larva. Sin embargo,

los porcentajes de reducción fueron menores que en otras investigaciones, en las cuales se obtuvo, en 45 días a 30°C, reducciones del orden de 98 y 92% a 38°C, por igual tiempo de retención (Reyes, 1963). Los porcentajes de reducción observados en el experimento N° 2 (15°C), fluctuaron entre 37,2% para las mayores concentraciones (A) y (B) y 28,8%, en la concentración menor (figura 4).

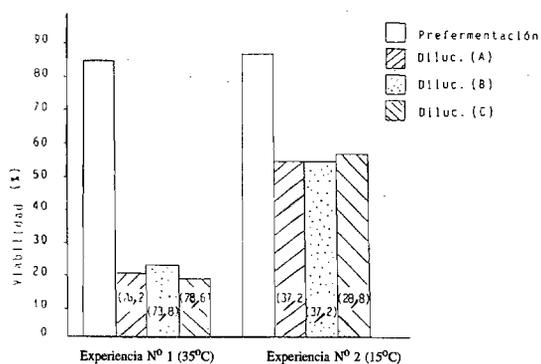


Figura 4. Reducción (%) de viabilidad de huevos de ascaris en excreta de cerdos sometidos a biodigestión anaeróbica en tres concentraciones a 35°C y 15°C.

Los resultados obtenidos indican que sanitariamente el proceso de digestión anaeróbica en laboratorio es más eficaz a 35°C y a concentraciones de 3 a 6% del sustrato. Sería conveniente evaluar estos resultados a la luz de antecedentes obtenidos en procesos de biodigestión anaeróbica en digestores de uso en terreno.

RESUMEN

Se estudió la viabilidad de algunos agentes bacterianos y parasitarios existentes en excretas de cerdo, cuando son sometidas a biodigestión anaeróbica a distinta temperatura y dilución del sustrato. El método se basó en dos experiencias a diferentes temperaturas, 35°C (mesofílica) y 15°C (psicofílica), con variación de la concentración de sólido (3,6 y 10%) en el sustrato, en cada una de ellas, otorgando tiempos de retención de 45 y 75 días a temperaturas mesofílica y psicofílica, respectivamente.

Al efectuar los recuentos microbiológicos y estudiar la viabilidad de los agentes parasitarios se observó que sanitariamente el proceso de digestión anaeróbica es más eficaz a 35°C que a 15°C.

A temperaturas mesofílicas (35°C) y a menores concentraciones de sólidos (6 y 3%) en el sustrato, las bacterias *Coliformes fecales* se redujeron en 100%. La viabilidad de huevos de *Ascaris* con sustratos a 35°C y concentración de 3% se redujo a

78,6%. La reducción de oquistes fue de 100% en ambas experiencias.

REFERENCIAS

- BADGER, D., M. BOGUE, D. STEWART. Biogas production from crops and organic wastes. Result of batch digestion. N.Z.J. Sci. 22: 11-20, 1979.
- BRYANT, M. Microbial methane production-Theoretical aspects. J. Anim. Sci. 48: 193-200, 1979.
- CARDOEN, M. Estudio técnico y económico del proceso de producción de biogas a partir de desecho de ave. Tesis Ing. Civil Ind., mención mecánica. Santiago, Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ingeniería, 115 pp., 1983.
- CAROTHERS, R. Anaerobic digestion as a rural sanitation option. En: Proceeding of a workshop on a training, held in Lobatse, Borswana, 14-20 August. Ottawa, Canada, International Development Research Centre, pp. 34-40, 1980.
- CONTRERAS, J. *Coccidia* (Protozoa: Eimeriidae) de cerdos de cuatro comunas de la provincia de Valdivia. Tesis Med. Vet. de Valdivia, Universidad Austral, Facultad de Medicina Veterinaria, 48 pp., 1971.
- CIDERE-CORPORACIÓN INDUSTRIAL PARA EL DESARROLLO REGIONAL DEL BIOBÍO. Digestores anaeróbicos continuos para guano animal. Concepción, 4 pp., 1978.
- FEACHEM, R., D. BRADLEY, H. GARELICK, D. MARA. Health aspects of excreta and sullage management - a state of art review. Washington, D.C. The World Bank, v. 3, 1980.
- FISCHER, J., N. MEADOR, D. SIEVERS. Design and operation of a farm anaerobic digester for swine manure. Trans. ASAE 22: 1129-1144, 1979.
- FITZGERALD, P., R. ASHLEY. Differential survival of *Ascaris* ova in wastewater sludge. J. wat. Poll. Fed. 49: 1722-1724, 1977.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. China: *azolla* propagation and small-scale biogas technology. Report on an FAO/UNDP study tour to the People's Republic of China. 21 May, 11 Jun, 1978. Roma, pp. 21-70 (FAO soils bulletin N° 41), 1978.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Microorganismos de los alimentos. Técnicas de análisis microbiológicos Zaragoza, Acribia, vol. 1, pp. 128-135, 1982.
- KHEYSIN, Y. Life cycles of *coccidia* of domestic animals. London, University Park Press, pp. 149-162, 1972.
- LAZO, J., M. UGARTE. Evaluación química y microbiológica de la fermentación anaeróbica de excretas animales. Trabajo para optar al título de Técnico en microbiología industrial y de los alimentos. Santiago, Chile. INACAP, Sede Colón, 61 pp., 1983.
- MACLNNIS, A., M. VOGEL. Experiments and techniques in parasitology. San Francisco, W.H. Freeman and Co., pp. 22-23, 1970.
- MCGARRY, M., J. STATINFORTH. Compost, fertilizer and biogas production from human wastes in the People's Republic of China. Ottawa, Canada, International Development Research Centre, 94 pp., 1978.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Methane generation from human, animal, and agricultural wastes. Washington, D.C., 143 pp., 1981.
- ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Riesgos del ambiente humano para la salud. Washington, D.C., 359 pp. (Publicación científica N° 329), 1976.
- PLYM, L. Survival of *Salmonella* bacteria and *Ascaris suum* eggs in a thermophilic biogas plant. En: Hygienic problems of animal manures. Proc. Joint Workshop Communities, DVG and FAO, 11-13 Oct. 1982. Stuttgart, GFR pp. 217-222.

- PRICE, J., J. REED. Parasitología práctica. Técnicas generales de laboratorio y protozoarios parásitos. México, Centro Regional de Ayuda Técnica. Agencia para el Desarrollo Internacional (AID), pp. 74-79, 1973.
- REYES, M. The effect of aerobic and anaerobic digestion on eggs of *Ascaris lumbricoides* var. suum in night soil. Am. Trop. Med. Hyg. 12: 46-55, 1963.
- STEVERS, D., D. BRUNE. Carbon/Nitrogen ratio and anaerobic-digestion of swine waste. Trans ASAE 21: 537-541, 1978.
- SMITH, N., M. HEIN, T. GREINER. Experimental methane production from animal excreta in pilot-scale and farm-size units. J. Anim. Sci. 48: 202-207, 1979.
- SOULSBY, E. Textbook of veterinary clinical parasitology. Philadelphia, F.A. Davis Co., pp. 196-188, 1965.
- TABER, W. Wastewater Microbiology. Ann. Rev. Microbiol. 30: 263-277, 1976.
- UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME. Biogas fertilizer system. Technical report on a training seminar in China. UNEP report and proceedings. Nairobi, Kenya, 86 pp., 1981.

Recibido marzo 1987, aprobado mayo 1987.