



Avaliação quantitativa de grupos representativos de bactérias patogênicas putativas humanas e produção de biogás a partir da biodigestão anaeróbica de dejetos de bovinos leiteiros

Juliana Alves Resende², Tamara Lopes Rocha de Oliveira³, Samuel de Oliveira Fortunato⁴, Marcelo Henrique Otenio⁵, Vânia Lúcia da Silva⁶, Cláudio Galuppo Diniz⁶

¹ Parte de doutorado do primeiro autor, financiado pela CAPES, CNPq, FAPEMIG e EMBRAPA

² Doutorando do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas – UFJF/Juiz de Fora – Bolsista da CAPES. e-mail: juresende2003@yahoo.com.br

³ Graduando de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora. Bolsista do CNPq. e-mail: tamarinhalopes@hotmail.com

⁴ Graduando de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora. Bolsista de Apoio Técnico em Extensão, Embrapa Gado de Leite. e-mail: samuel90@gmail.com

⁵ Embrapa Gado de Leite. e-mail: otenio@cnpq.embrapa.br

⁶ Departamento de Imunologia, Parasitologia e Microbiologia – UFJF – e-mail: vania.silva@ufff.edu.br, claudio.diniz@ufff.com.br

Resumo: O uso de biodigestores é uma das alternativas para o tratamento de dejetos com geração de biogás e biofertilizante, contribuindo para sustentabilidade da cadeia produtiva do leite. Entretanto pouco se discute sobre a segurança microbiológica desses processos considerando-se o gado leiteiro como reservatório de patógenos putativos humanos. Utilizaram-se dois biodigestores de escala laboratorial instalados no laboratório de Resíduos da Embrapa Gado de Leite, alimentados com dejetos de bovinos leiteiros. A carga máxima média útil foi de 57 L, e entre o 15º ao 45º dia foram realizadas cargas diárias de 2 L e após cada abastecimento a retirada do efluente na mesma quantidade. Amostras do afluente e do efluente foram processadas para cultura seletiva de enterobactérias, Gram negativos não fermentadores, estreptococos, enterococos, estafilococos e bactérias anaeróbias de interesse em saúde humana. Analisou-se também a produção de gás individual e média dos biodigestores, os teores dos sólidos totais, a produção de metano e a qualidade do gás. Verificou-se que a biodigestão dos dejetos reduziu a contagem de grupos bacterianos avaliados. Esta mudança populacional se deve pela mudança físico-química e microbiológica e pela produção de metano e gás carbônico em anaerobiose. Houve produção de elevados níveis de metano, com índice crescente ao longo do tempo, e as cargas diárias mantiveram o processo contínuo de produção de biogás.

Palavras-chave: biodigestão anaeróbia, biofertilizante, biogás, quantificação microbiológica

Quantitative evaluation of the representative groups of pathogenic putative human bacteria and production of biogas from the anaerobic biodigestion of the dairy cattle manure

Abstract: The use of digesters is an alternative for the treatment of waste to generate biogas and fertilizer, contributing to sustainability of the milk productive chain. However little is discussed about the microbiological safety of these processes considering dairy cattle as a reservoir of putative human pathogens. It was used two laboratory-scale digesters installed in laboratory wastes from Embrapa Dairy Cattle, fed with dairy cattle manure. The mean maximum useful was 57 L (1st day). From day 15 to day 45 were performed daily load of 2 L and after each refueling, the output of the effluent occurred in the same amount. Samples of affluent and effluent were processed for selective culture of enteric bacteria, Gram negative non-fermenters, streptococci, enterococci, staphylococci and anaerobic bacteria of interest in human health. It was also analyzed and the average of the individual production digesters, the levels of total solids, and the production of methane gas quality, purity of methane. It was verified that the digestion of the waste reduced counting bacterial groups evaluated. This population change is due to the change in its physico-chemical and microbiological analysis and the production of methane and carbon dioxide under anaerobic conditions. There was production of high levels of methane, with increasing index over time, and that the daily loads maintains continuous process for the production of biogas.

Keywords: anaerobic digestion, biofertilizer, biogas, microbial quantification

Introdução

O Brasil destaca-se mundialmente por ser um dos maiores produtores de leite, porém com aumento da produção, a geração de resíduos torna-se um problema ambiental. Adicionado a isso, quando manuseados ou tratados de forma inadequada, esses dejetos podem causar poluição de águas superficiais e/ou subterrâneas. Também por conter microrganismos capazes de disseminar doenças no rebanho, para outras espécies e para o homem, além de favorecer a proliferação de insetos (Adhikari et al., 2005).

Desta forma, o processo de biodigestão anaeróbica é uma das alternativas utilizadas para o tratamento destes resíduos, pois reduz o potencial poluidor, produz biogás e permite o uso do efluente com biofertilizante (Gunaseelan, 1997).



O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do processo de digestão anaeróbica realizado em biodigestores em escala laboratorial, operados em contínuo, abastecidos com dejetos de bovinos leiteiros, sob tempo de retenção hidráulico de 60 dias, sobre o número de microrganismos, analisando-se ainda os teores de sólidos totais, a produção e a qualidade do biogás produzido.

Material e Métodos

Foram realizados ensaios de biodigestão anaeróbica em 2 biodigestores de escala de bancada com volume útil médio de 57L, instalados no Laboratório de Resíduos da Embrapa Gado de Leite, operados com tempo de retenção hídrico (TRH) de 60 dias. Os dejetos utilizados no carregamento inicial, assim como para nos abastecimentos diários, foram coletados no Campo Experimental José Henrique Brusqui, em Coronel Pacheco - MG. Para substrato utilizou-se diluição de fezes bovinas frescas + água de lavagem dos pisos (água de reuso) do *free stall*, até teor de sólidos totais de 2 a 3%. A produção inicial de metano nos biodigestores foi verificada pelo acendimento de chama diariamente na saída dos gasômetros (teste da queima). Após o início da produção, foram realizadas cargas diárias de 2 L e após cada abastecimento, ocorreu a saída do efluente na mesma quantidade.

Foram coletadas uma amostra do afluente (carregamento inicial), no 1º dia, e três amostras do efluente (biofertilizante), para cada biodigestor nos 15º, 30º e 60º dias, e assim procedidas as diluições seriadas. A partir de 1 mL do afluente ou efluente em 9 mL de solução salina 0,9%, procedeu-se diluição seriada (10^{-1} até 10^{-6}). Aliquotas (100 µl) foram semeadas nos seguintes meios de cultura seletivos para aeróbios, ágar eosina azul de metileno (EMB), ágar hipertônico manitol (MA) e ágar bile esculina (BE) (suplementado com 0,01% de azida sódica) e para anaeróbios, ágar *Bacteroides* bile esculina (BBE) e ágar Omata e Disraely. Em seguida, incubados estufa bacteriológica ou câmara de anaerobiose, ambos a 37°C, por 24 horas. Após o período de incubação, foram realizadas a contagem e a observação das características morfológicas dos grupos microbianos predominantes.

Semanalmente foram retiradas amostras (25 mL) do afluente e dos efluentes de ambos os biodigestores, para a determinação dos teores de sólidos totais. Amostras de gás (0,08 cm³), retidas no gasômetro, foram coletadas para determinação do teor de metano do biogás por cromatografia gasosa. Os teores de sólidos totais foram obtidos pela secagem dos afluentes e efluentes em estufa de secagem à 65°C por 24 horas no mínimo ou até obter peso constante (APHA et al., 2000). O volume de biogás produzido diariamente nos biodigestores foi determinado medindo-se o deslocamento vertical (altura) dos gasômetros e multiplicando-se pela área da seção transversal interna 0,049m². A correção do volume de biogás para as condições de 1atm e 20°C, foi efetuada segundo Caetano (1985).

Para as análises microbiológicas e para a determinação da qualidade do biogás, foram utilizadas três repetições. As comparações de médias foram realizadas pelo teste de Tukey, $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

A análise microbiológica quantitativa das amostras (afluente e efluente) é apresentada na Figura 1. Verificou-se diminuição do número de CGP (cocos Gram-positivos), *Staphylococcus* sp e *Enterococcus* sp. nos meios seletivos para estes microrganismos (ágar manitol e BE). Observou-se também a variação no aumento do número de BGN (Bastonetes Gram-negativos) fermentadores e não fermentadores nos efluentes, ambos isolados em ágar EMB. Com relação à quantificação nos meios anaeróbios, ágar BBE e ágar Omata e Disraely, houve diminuição do número de bactérias anaeróbicas facultativas e/ou estritas quando comparados à carga (tempo inicial). Embora não tenha sido realizada, ainda a identificação específica dos microrganismos recuperados, considera-se que os isolados nestes meios de cultura seletivos possam ser representativos de populações bacterianas de interesse clínico humano e animal. Não houve diferença significativa nas reduções entre os biodigestores ($p > 0,05$). Isto decorre pela conversão da matéria orgânica, pela ação de microrganismos anaeróbios, a metano e dióxido de carbono na ausência de oxigênio. Esta degradação da matéria orgânica pode ser observada pela redução dos teores de sólidos totais. Ocorreu uma redução média de 87,40%.

As bactérias atuam simbiótica e sinergicamente, utilizando a matéria orgânica de forma assimilativa para o crescimento da microbiota presente. Desta forma, a alteração nos grupos bacterianos anaeróbios facultativos e/ou estritos ocorreu pelo aumento de microrganismos metanogênicos, que são não cultiváveis, não só por limitações metodológicas, mas também por falta de conhecimento das respectivas necessidades metabólicas e nutricionais (Kirk et al., 2004).

O teste da queima foi positivo (produção do biogás) a partir do 15º dia indicando também a necessidade de realimentação diária de substrato. A Figura 2 mostra a porcentagem de metano produzido ao longo do tempo. A realização de cargas diárias propicia a oferta de matéria orgânica no sistema. A produção de biogás foi baixa até aproximadamente o 20º dia, período onde se obteve o primeiro pico de produção. Após essa fase a produção de biogás atingiu sua estabilidade com valores de produção de metano variando de 55 a 70%. O conhecimento da faixa de maior produção de biogás é fundamental para o dimensionamento do aproveitamento do biogás gerado, na determinação dos volumes de recarga, por exemplo.

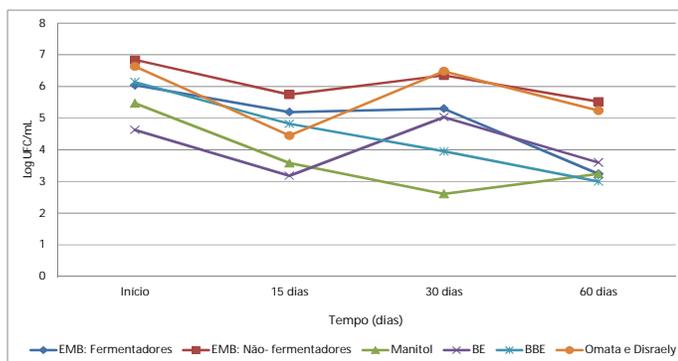


Figura 1. Avaliação quantitativa da recuperação bacteriana após cultura seletiva das amostras do afluente (carga inicial) e efluentes (dias 15, 30 e 60) do biodigestor. EMB = ágar eosina azul de metileno; Manitol = ágar hipertônico manitol; BE = ágar bile esculina; BBE = ágar Bacteroides bile esculina; Omata = ágar Omata e Disraely.

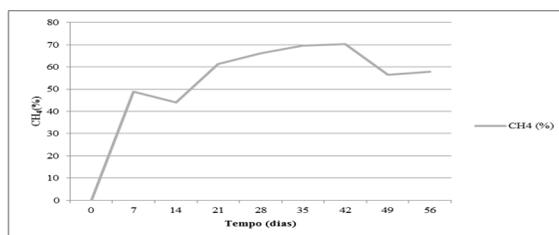


Figura 2. Composição média do biogás ao longo do tempo. Dados expressos em média dos valores avaliados nos dois sistemas de biodigestores.

Conclusões

Com a análise quantitativa verificou-se a diminuição das populações bacterianas no decorrer da digestão anaeróbia. Este resultado indica a eliminação das bactérias patogênicas dos resíduos, o que permite a redução do potencial poluidor e dos riscos sanitários dos dejetos.

Concluiu-se também que a biodigestão anaeróbia produz elevados níveis de metano e que as cargas diárias são fundamentais na disponibilização de sólidos totais no sistema.

Literatura citada

- ADHIKARI, M.; PAUDEL, K.P.; MARTIN JR. N.R. et al. Economics of dairy waste use as fertilizer in central Texas. **Waste Management**, v.25, p.1067-1074, 2005.
- AMARAL, C.M.C.; AMARAL, L.A.; LUCAS JUNIOR, J. Biodigestão anaeróbias de dejetos de bovinos leiteiros submetidos a diferentes tempos de retenção hidráulica, **Ciência Rural**, v.34, p.1897-1902, 2004.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION - AWWA; WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION - WPCF. **Standart methods for the examination of water and wastewater**. 20th ed. Washington: American Public Health Association, 2000. 1085p.
- CAETANO, L. **Proposição de um sistema modificado para quantificação de biogás**. 1985. 75f. Dissertação (Mestrado em Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1985.
- GUNASEELAN, V.N. Anaerobic digestion of biomass for methane production: a review. **Biomass and Bioenergy**, v.13, p.83-114, 1997.