



III Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de
Resíduos Agropecuários e Agroindustriais
12 a 14 de março de 2013 – São Pedro - SP

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE SISTEMAS DE TRATAMENTO ANAERÓBIO DE INÓCULOS DE DEJETOS SUÍNO E BOVINO

Eliana de Almeida Mira De Bona¹; Caroliny Matinc¹; Cícero Bley Junior²; Lais de Melo Milani¹;
Tania Menegol¹; Juliana Gaio Somer¹; Leonardo Pereira¹.

¹Laboratório de Biogás, Centro Internacional de Energias Renováveis com ênfase em Biogás, Fundação Parque Tecnológico Itaipu, Foz do Iguaçu-PR-Brasil. E-mail: labiogas@pti.org.br

²Plataforma de Energias Renováveis Itaipu Binacional, Foz do Iguaçu-PR-Brasil.

RESUMO: A suinocultura e a bovinocultura são consideradas pelos órgãos de fiscalização e proteção ambiental como uma atividade potencialmente causadora de poluição ambiental. O tratamento sanitário desses resíduos é possível por degradação em biodigestores anaeróbios e o uso de inóculos apropriados contribuem para a eficácia destes sistemas. O objetivo desse trabalho foi conhecer a diversidade microbiana existente em amostras de inóculos de biodigestores de tratamento de dejetos de suinocultura suíno e dejetos da bovinocultura de leite, pelo isolamento e identificação de micro-organismos de interesse humano e ambiental e ainda verificar a composição dos sólidos totais e voláteis dessas amostras. Coletou-se amostras do biodigestor de uma propriedade em São Miguel do Iguaçu/PR produtora de suínos e do biodigestor de uma propriedade de Marechal Candido Rondon/PR produtora de bovinos, que foram processadas e analisadas para identificação de indicadores de contaminação de origem fecal (*Enterococcus* sp. e coliformes totais) através da técnica de membrana filtrante, clostrídios sulfito redutores através da técnica de tubos múltiplos e a presença de enterobactérias, incluindo produtoras de H₂S, *Pseudomonas*, mesófilos heterotróficos totais, *Bacillus* sp., celulolíticos e bolores e leveduras foram isolados pela técnica de plaqueamento. Verificou-se incidência de coliformes totais, *Enterococcus* sp., *Pseudomonas* sp., clostrídios sulfito redutores, mesófilos heterotróficos totais, bolores e leveduras e *Bacillus* sp. Não foram isolados fungos celulolíticos e gram negativas produtoras de H₂S. Houve alteração na composição dos sólidos entre todas as amostras e verificou-se que a composição da mistura dos inóculos variou durante as semanas observadas.

Palavras-chave: diversidade microbiana, inóculo, biodigestão anaeróbia.

ISOLATION AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF INOCULA OF SYSTEMS ANAEROBIC TREATMENT OF WASTE OF SWINE AND CATTLE

ABSTRACT: The swine and bovine are considered by companies' supervisory boards and environmental protection as an activity potentially causing of environmental pollution. The sanitary treatment of these wastes is possible by degradation in anaerobic digesters and the use of inoculants suitable contribute to the efficiency of these systems. The objective of this study was to know the microbial diversity existing in samples of inocula of digesters treating swine manure and from dairy cattle manure, the isolation and identification of micro-organisms of human and environmental interest and also check the composition of solids. Samples were collected from the biodigester of a property in Sao Miguel do Iguaçu/PR hog producer and a biodigester of property in Marechal Candido Rondon/PR producer of cattle, which were processed and analyzed to identify indicators of fecal contamination



III Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de
Resíduos Agropecuários e Agroindustriais
12 a 14 de março de 2013 – São Pedro - SP

(Enterococcus sp., and total coliforms) through the technique of filter in membrane, sulphite reducing clostridia using the technique of multiple tubes and the presence of enterobacteria, including producing H_2S , Pseudomonas sp., mesophiles heterotrophs total, Bacillus sp., cellulolytic, and yeasts and molds were quantified by plating technique. There was incidence of coliform bacteria, Enterococcus sp., Pseudomonas sp., sulphite reducing clostridia, total heterotrophic mesophiles, molds and yeasts and Bacillus sp. No were isolated cellulolytic fungi and gram negative bacteria that produce H_2S . There was alteration in the composition of the solids between all samples. It was found that the composition of the mixture of inocula ranged during weeks observed.

Keywords: microbial diversity, inoculum, anaerobic biodigestion.

INTRODUÇÃO

A suinocultura e bovinocultura são consideradas pelos órgãos de fiscalização e proteção ambiental como atividades potencialmente causadoras de poluição ambiental, por apresentar grandes produções de resíduos orgânicos, que são altamente poluentes, causando sérios problemas ambientais e de saúde pública.

Para o tratamento sanitário desses efluentes e resíduos sólidos torna-se necessário submetê-los a um processamento composto por uma fase anaeróbica, em biodigestores, durante um determinado tempo de detenção, com o objetivo de obter a redução da carga orgânica bruta do efluente a partir da ação de micro-organismos na total ausência de oxigênio. O tratamento destes efluentes são formas alternativas de energia renováveis, com a conversão da biomassa em energia secundária, destacando-se o seu aproveitamento sob a forma de biogás (metano) e biofertilizantes com redução da carga de micro-organismos patogênicos (BLEY JR *et al.*, 2009).

O processo de digestão anaeróbia dos resíduos sólidos orgânicos pode ser melhorado e acelerado com o uso de inóculos apropriados. Os inóculos geralmente utilizados são de tratamento anaeróbio de materiais de origem animal, como esterco ou outra biomassa residual, ricos em micro-organismos capazes de acelerar o tempo de bioestabilização. O inóculo encontra-se no fundo dos biodigestores anaeróbios, onde há concentrada quantidade de micro-organismos. Pesquisas anteriores e relatos da literatura afirmam que o uso do inóculo melhora substancialmente a digestão anaeróbia e a rentabilidade de produção de biogás (GADELHA, 2005; XAVIER & LUCAS JR, 2010).

O objetivo desse trabalho foi identificar e quantificar a presença de micro-organismos de importância ambiental existentes nos inóculos de biodigestores de tratamento de dejetos da suinocultura e da bovinocultura de leite, bem como, quantificar os sólidos e verificar o comportamento na composição microbiológica e físico-química da mistura dos inóculos.

MATERIAL E MÉTODOS

Coletou-se amostras de inóculo do biodigestor tipo Canadense de uma propriedade em São Miguel do Iguaçu/PR produtora de suínos e de um biodigestor tipo @Biokholer de uma propriedade de Marechal Candido Rondon/PR produtora de bovinos de leite em fase de lactação.

No Laboratório de Biogás do Centro Internacional de Energias Renováveis, os inóculos da biodigestão de dejetos da suinocultura e bovinocultura leite e mistura destes (50:50), foram mantidos separadamente em frascos de PVC com capacidade para 20 l e dois terços preenchidos com amostra previamente peneirada para a separação dos sólidos



III Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de
Resíduos Agropecuários e Agroindustriais
12 a 14 de março de 2013 – São Pedro - SP

com partículas menores do que cinco mm. Os frascos foram imersos em cuba com água em temperatura controlada a 37°C. Alimentou-se o inóculo de mistura a cada dois dias com a adição de 100 ml de inóculo suíno ou bovino, alternadamente e, com uma colher de celulose flocada (aproximadamente duas gramas) uma vez por semana.

Para a caracterização microbiológica, as amostras foram processadas e analisada para identificação de *Enterococcus* sp., e coliformes totais através da técnica de membrana filtrante de acordo com o *Standard Methods* (2012), clostrídios sulfito redutores através da técnica de tubos múltiplos (CETESB, 1993), e a presença de enterobactérias incluindo produtoras de H₂S, *Pseudomonas* sp., mesófilos mesotróficos totais, *Bacillus* spp., fungos celulolíticos e bolores e leveduras foram quantificados pela técnica de plaqueamento (Downes & Ito, 1998; Silva *et al.*, 2007; *Standard Methods*, 2012). Para a caracterização físico-química realizou-se a determinação de pH, sólidos totais, fixos e voláteis, de acordo com a metodologia da norma *Standard Methods* (2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram encontrados na literatura trabalhos semelhantes ao atual trabalho, no entanto, cabe ressaltar que embora estes micro-organismos não sejam diretamente responsáveis pela formação do metano, estão em grande quantidade no dejetos e o comportamento destes influencia no processo de degradação.

Na tabela 1 estão listados os resultados para os inóculos suínos, bovinos e as misturas dos inóculos com três semanas de incubação das amostras.

Verificou-se pela quantificação dos micro-organismos heterótrofos mesófilos que, em geral, os resultados se mantiveram constantes para os inóculos independente do inóculo e da semana, mantendo baixa acidez ocorrendo degradação dos sólidos no decorrer das três semanas demonstrando que o inóculo ainda manteve-se em atividade.

Para as amostras de entrada e saída não houve o crescimento de micro-organismos que realizam a quebra da celulose durante essas três semanas, mesmo com o crescimento de bolores e leveduras e alimentação com celulose. Houve um aumento da presença de bolores e leveduras ao longo do armazenamento do inóculo de mistura que pode ser reflexo da entrada de oxigênio no sistema de armazenamento.

Também, não foi verificado a presença de enterobactérias produtoras de H₂S, gás corrosivo, que pode danificar o sistema de conversão do Biogás, sendo este um aspecto positivo.

CONCLUSÃO

O conhecimento microbiológico de inóculos para o tratamento em biodigestores anaeróbios pode sugerir rotinas que permitam uma melhoria no processo de produção do Biogás. Sugere-se a realização de pesquisa de novos micro-organismos capazes de degradar diferentes biomassas e anaeróbios estritos para a produção de inóculo metanogênico, bem como, a implementação de biorreatores de bancada para manutenção do inóculo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA - *Microbiological Examination of Water*. In: Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington, D.C. 22 edition. 2012.



III Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de
Resíduos Agropecuários e Agroindustriais
12 a 14 de março de 2013 – São Pedro - SP

- BLEY JR. Cícero, *et al.* *Agroenergia da Biomassa Residual: Perspectivas Energéticas, Socioeconômicas e Ambientais*, 2ª Edição, Revista, Foz do Iguaçu/ Brasília. Technopolitik Editora. 2009.
- CASAGRANDE, C.G.; KUNZ, A.; SOARES, H.M.; PRÁ, M.C. *Comparação da partida de reatores com atividade anammox com diferentes concentrações de inóculo*. In: II SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS DE ANIMAIS - II SIGERA, 2010.
- CETESB - Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. Determinação do Número Mais Provável de Clostrídios Sulfito-Redutores (*Clostridium perfringens*): Método de Ensino. CETESB: São Paulo, 1993. 28p. (Norma Técnica L5.213).
- DOWNES, F. P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological examination of foods*, American Public Health Association. 4ª ed., cap. 8, Washington, 2001.
- GADELHA, E.P. (2005). *Avaliação de inóculos metanogênicos na aceleração do processo de degradação da fração orgânica de resíduos sólidos urbanos*. Dissertação de Mestrado, 2005. 95 f. Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2005.
- OLIVEIRA, Paulo A.V. Produção e aproveitamento do biogás. In: OLIVEIRA, Paulo A.V (Org.). *Tecnologias para o manejo de resíduos na produção de suínos: manual de boas práticas*. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2004. p.109.
- SILVA, Neusely *et al.* *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. 3ª ed. São Paulo: Varela, 2007. p. 399.
- XAVIER, C.A.N.; LUCAS J.R, J. Parâmetros de dimensionamento para biodigestores batelada operados com dejetos de vacas leiteiras com e sem uso de inóculo. *Eng. Agríc., Jaboticabal*, v.30, n.2, p.212-223, 2010.

Tabela 1. Caracterização microbiológica e composição dos sólidos dos inóculos bovinos e suínos e inóculo produzido pela mistura de dejetos de bovinos e suínos da digestão anaeróbia

Ensaio	Amostras (semana)*						
	Bovino (1)	Suíno (1)	Mistura (1)	Bovino (2)	Suíno (2)	Mistura (2)	Mistura (3)
Heterótrofos mesófilos totais UFC/ml	5,0x10 ⁶	1,6x10 ⁸	9,2x10 ⁷	1,2x10 ⁷	2,0x10 ⁸	1,0x10 ⁸	2,1x10 ⁸
Enterobactérias UFC/ml	1,6x10 ⁶	4,8x10 ⁶	8,1x10 ⁶	8,0x10 ⁴	8,0x10 ⁶	5,0x10 ⁶	7,4x10 ⁶
Coliformes totais UFC/ml	4,3x10 ¹	>10 ²	<10 ²	<10 ²	>10 ²	<10 ²	9,5x10 ²
<i>Enterococcus</i> UFC/ml	3,3x10 ²	1,7 x 10 ³	2,6x10 ²	<10 ²	1,8x10 ⁵	4,8x10 ²	2,0 x 10 ³
Gram neg. Produtores de H ₂ S UFC/ml	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²
<i>Pseudomonas</i> sp. UFC/ml	<10 ²	3,2x10 ⁵	3,1x10 ⁴	<10 ²	<10 ²	<10 ²	3,3x10 ³
<i>Clostridium</i> sp. NMP/ml	>2,3	>2,3	>2,3	>2,3	1,2	>2,3	0,34
Celulolíticos UFC/m	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²
Bolores e leveduras UFC/m	1,0x10 ²	2,2x10 ²	3,0x10 ²	<10 ²	<10 ²	1,6 x 10 ⁴	7,3x10 ³
<i>Bacillus</i> sp. UFC/m	2,4x10 ³	1,6 x 10 ⁵	1,4x10 ⁴	2,2 x 10 ⁵	8,0x10 ³	3,5x10 ³	9,0x10 ³
<i>Staphylococcus</i> sp UFC/m	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	1,0 x 10 ³	<10 ²
pH	7,65	7,844	8,044	7,61	7,844	7,623	7,786
Sólidos totais (mg/L)	—	—	88100	20100	19200	29900	22700
Sólidos voláteis (mg/L)	—	—	41300	9900	9700	12000	10200

Traço (—) = não determinado; * Amostras de inóculo de suíno e bovino com duas semanas de incubação e mistura destes em três semanas de incubação