

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOLÓGICOS EM MÉTODO DE COMPOSTAGEM CASEIRA

Isabella Maria de Castro Filogônio, Jacqueline Rogéria Bringhenti, Adriana Marcia Nicolau Korres

Coordenadoria de Engenharia Sanitária e Ambiental
Campus Vitória
Instituto Federal do Espírito Santo - Ifes

isabella_mcf@hotmail.com, jaquelineb@ifes.edu.br, adrianak@ifes.edu.br

Resumo - A compostagem constitui uma forma de valorização das políticas de gestão integrada de resíduos sólidos. É um processo biológico de degradação da matéria orgânica realizado espontaneamente por micro-organismos. O estudo da microbiota presente no composto pode gerar valiosas informações que contribuem para o aprimoramento desta técnica. Foram realizadas análises de compostos em diferentes estágios para avaliar os parâmetros biológicos durante a operação da compostagem caseira. O método utilizado para indicar a presença de coliformes totais e termotolerantes foi a técnica do Número Mais Provável; para a enumeração de micro-organismos aeróbios heterotróficos mesófilos, foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônia por grama UFC/g, através da contagem em placa, com o meio PCA; e para a detecção de colônias típicas de *Escherichia coli*, o uso de meios selerivos e diferenciais e a técnica do Gram.

Para a amostra retirada da composteira com 90 dias, o NMP/g de coliformes totais foi de 210 e de coliformes termotolerantes foi menor que 3; o número de UFC de micro-organismos aeróbios mesófilos heterotróficos por grama foi de $3,0 \times 10^6$, sendo que não houve identificação de colônias típicas de *E. coli*, enquanto na amostra com 120 dias de compostagem, o NMP/g de coliformes totais foi de 460 e o de coliformes termotolerantes, 9; o número de UFC de micro-organismos aeróbios mesófilos heterotróficos por grama foi de $1,7 \times 10^8$, sendo constatada a presença de colônias típicas de *E. coli*.

Palavras-chave: Compostagem, *Escherichia coli*, Análise microbiológica, Coliformes termotolerantes.

Abstract - Composting is a way of increasing importance in the valuation of policy integrated of solid waste management. It is a natural biological process of organic matter degradation performed spontaneously in the environment by micro-organisms. The study of the microbiota present in the compound can generate valuable information contributing to the improvement of this technique. So, analyzes were performed at different stages of compounds to assess biological parameters during operation of homemade compost. The method used to indicate the presence of total and fecal coliforms was the Most Probable Number; for the enumeration of heterotrophic aerobic mesophilic micro-organisms the method of colony count was used with the culture medium PCA, and for the detection of typical colonies of *Escherichia coli*, the culture was spread in differential and selective media and the Gram technique was used. For the sample in 90 days of composting, the most probable number of total coliforms per gram was 210 and fecal coliforms was less than 3, the CFU of heterotrophic aerobic micro-organisms per gram was 3.0×10^6 , and typical colonies of *E. coli* were not identified, while the sample with 120 days of composting, the most probable number of total coliforms per gram was 460 and of fecal coliform, 9, the CFU of heterotrophic aerobic mesophilic micro-organisms per gram was 1.7×10^8 , and typical *E. coli* colonies were observed.

Key-words: Composting, *Escherichia coli*, Microbiological Analysis, Coliforms Thermotolerant.

INTRODUÇÃO

A problemática dos resíduos sólidos vem se destacando entre as crescentes demandas da sociedade brasileira e das comunidades locais, seja pelos aspectos ligados à veiculação de doenças e, portanto, à saúde pública; seja pela contaminação de cursos d'água e lençóis freáticos, na abordagem ambiental; seja pelas questões sociais ligadas aos catadores ou ainda pelas pressões advindas das atividades turísticas [1].

A compostagem é uma alternativa de tecnologia para a destinação adequada de resíduos orgânicos. Como forma de contribuir para o aprimoramento de critérios de projeto, planejamento e operação de métodos de compostagem caseira de resíduos, foram realizadas análises microbiológicas no sentido de quantificar micro-organismos aeróbios mesófilos heterotróficos, coliformes totais e termotolerantes em amostras de material com 90 e 120 dias de compostagem, como contribuição para proposição de minimização da geração de resíduos sólidos.

METODOLOGIA

As variáveis microbiológicas avaliadas foram a determinação do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes e a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios heterotróficos, em amostras de material orgânico em processo de compostagem aos 90 e 120 dias.

Determinação do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes (NMP/g)

Esta técnica, conhecida como técnica do Número Mais Provável é uma forma de estimar a quantidade de micro-organismos presentes na amostra. Baseia-se na probabilidade estatística de certo número de micro-organismos estarem presentes na amostra quando uma série de resultados positivos ocorre [2]. Para esta estimativa, foram realizados procedimentos para o teste presuntivo para coliformes, teste confirmativo para coliformes totais e termotolerantes e teste para verificação de colônias típicas de *Escherichia coli*.

Utilizando a combinação de números de tubos positivos e a tabela do número mais provável [2], foi possível concluir o número mais provável de coliformes por grama do composto analisado.

Técnica de detecção de colônias típicas de *Escherichia coli*

A partir de tubos positivos no caldo EC, uma alçada foi estriada em meios seletivos e diferenciais - Eosina Azul de Metileno (EMB, do inglês *Eosine Methylene Blue*) e MacConkey - em busca de colônias típicas de *E. coli* em cada meio de cultura. A partir das colônias típicas, foram preparadas lâminas pela técnica do Gram e observadas no microscópio ótico Leica BM 500, câmera Leica ICC 50 HD, com sistema de captura com software Leica Applications E2 para constatar a existência ou não de bacilos gram-negativos através da observação de lâminas preparadas pela técnica da coloração diferencial de Gram.

Enumeração de micro-organismos aeróbios heterotróficos mesófilos

Essa técnica parte do princípio de que a presença de uma célula microbiana na amostra irá gerar uma colônia na placa de cultivo, o que permite a contagem do número de unidades formadoras de colônias por grama da amostra (UFC/g).

Nesta etapa, foi colocado 25 g em 225 mL de água peptonada, 0,1% esterilizada. A partir daí realizou-se diluições decimais adicionando 1 mL da mistura em 9 mL de água peptonada até a obtenção da diluição 10^{-6} . De cada diluição foi realizada semeadura em placas de Petri pipetando 0,1 mL do inóculo sobre o meio de cultura Agar Padrão para Contagem (PCA) e com auxílio da alça de Drigalsky, o inóculo foi espalhado sobre a placa. O experimento foi realizado duas vezes em duplicata e as placas foram incubadas na estufa a 37°C durante 24 horas. Para a determinação do número de UFC/g, deve-se considerar as placas onde haja o crescimento de no mínimo 30 e no máximo 300 colônias.

O número de unidades formadoras de colônias na amostra, é realizado utilizando-se a fórmula:

$$\text{UFC/g} = \frac{\text{média do número de colônias na diluição} \times \text{fator de diluição}}{\text{volume inoculado}}$$

RESULTADOS

Os resultados obtidos nas análises das amostras do composto orgânico com 90 e 120 dias de compostagem estão expressos na TAB. 1.

Tabela 1 – Resultados das amostras

Tempo do Composto	Coliformes Totais (NMP/g)	Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	UFC/g	Colônias Típicas de <i>E. coli</i>
90 dias	210	<3	$3,0 \times 10^6$	Não
120 dias	460	9	$1,66 \times 10^8$	Sim

Como houve resultados positivos no teste para coliformes termotolerantes, foi realizada a verificação da presença de colônias típicas de *Escherichia coli* através da semeadura em meios seletivos e diferenciais. Através da observação das placas do ágar MacConkey, foi possível constatar colônias que possuíam uma coloração avermelhada, revelando a presença de colônias típicas de *Escherichia coli*. Já no ágar EMB, não houve crescimento de colônias que apresentavam a coloração verde com brilho metálico e, desta forma, não foi observado, neste meio, colônias típicas de *E. coli*. Um dos possíveis erros para este resultado foi a utilização de meio EMB com mais de 30 dias de armazenamento depois de pronto.

Através da técnica do Gram foi possível constatar a existência de bacilos gram-negativos, já que apresentavam uma coloração rósea (FIG. 1). Podemos concluir, portanto, que as colônias são típicas de *Escherichia coli*.

Ao utilizar o sistema de captura com o software Leica Applications E2, houve alteração na coloração da imagem de modo que, no computador, os bacilos apresentavam coloração roxa. Um dos possíveis motivos para a ocorrência desta falha é a diferença entre a paleta de cores do microscópio e a do computador resultando nesta modificação das cores.

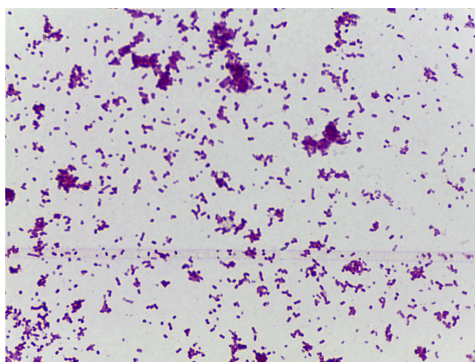


Figura 1. Bacilos gram-negativos

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Comparando os resultados obtidos na primeira e na segunda análise, foi possível observar um considerável aumento do número de micro-organismos mesófilos aeróbios heterotróficos. Um dos possíveis fatores determinantes para essa elevação é a chamada sucessão microbiana, onde há um envolvimento de diversas comunidades microbianas e suas atividades durante as fases específicas do processo de compostagem [3].

O abastecimento constante da composteira está diretamente ligado à elevação do nível da matéria orgânica e, portanto, à quantidade de micro-organismos presentes no composto. Além disso, a diversificação e a concentração de nutrientes na composteira estão relacionadas à intensidade da atividade dos micro-organismos decompositores nos processos de compostagem [3]. Desta forma, observando os resultados obtidos, podemos concluir que,

possivelmente, foi adicionada uma maior quantidade e diversidade de resíduos orgânicos na composteira que possuía um tempo de vida de 120 dias (segunda análise) resultando, portanto, em uma elevação da contagem global de micro-organismos.

Além disso, foi possível constatar que na primeira análise não houve formação de colônias típicas de *E. coli* enquanto que na segunda, houve. Uma das possíveis argumentações relacionadas ao resultado positivo está ligada a permanência da composteira aberta, ou seja, sem tampa. Durante a etapa de decomposição da matéria orgânica, a composteira foi mantida aberta devida a proliferação de fungos no composto, favorecendo a visita de diversos tipos de pássaros no local e, desta forma, houve possibilidade de contaminação pelo contato de fezes dos animais com o composto.

REFERÊNCIAS

- [1] MONTEIRO et al., 2001. Manual de Gerenciamento Integrado de Resíduos Sólidos. Rio de Janeiro: IBAM. Disponível em: <<http://www.resol.com.br/cartilha4/manual.pdf>>. Acesso em: 12 fev. 2013.
- [2] SILVA et. al., 1997. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. São Paulo: Varela.
- [3] VALENTE et al., 2009. Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos. Disponível em: <http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/07_18_48_1395REVISIONFactoresValente1.pdf>. Acesso em: 14 abr. 2013.