



## II-328 – QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA BIOMASSA PRODUZIDA EM UM SISTEMA DE WETLANDS CONSTRUÍDAS

**Alyne Duarte Pereira**<sup>(1)</sup>

Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Viçosa (UFV).

**Paula Dias Bevilacqua**

Médica Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Especialização em Epidemiologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Mestre em Epidemiologia pela UFMG, Doutora em Epidemiologia pela UFMG. Professora Associada, Departamento de Veterinária da UFV.

**Rafael Kopschitz Xavier Bastos**

Engenheiro Civil pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Especialização em Engenharia de Saúde Pública (ENSP/FIOCRUZ). PhD em Engenharia Sanitária pela University of Leeds, UK. Professor Associado, Departamento de Engenharia Civil da UFV.

**Geanne Moreira Brito**

Graduanda em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Viçosa (UFV).

**Rodrigo Viana Sepúlveda**

Graduando em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa (UFV).

**Endereço**<sup>(1)</sup>: Rua Virgílio Val, 08 – apto 604 - Centro - Viçosa - MG - CEP: 36570-000 - Brasil - Tel: (31) 3892-9261 - e-mail: [alyne\\_duarte@yahoo.com.br](mailto:alyne_duarte@yahoo.com.br)

### RESUMO

O presente trabalho apresenta os resultados de, aproximadamente, um ano de monitoramento de um sistema *wetlands* construídas (WC) utilizado como pós-tratamento de efluente de reator UASB e com vista ao aproveitamento da biomassa produzida para alimentação animal. O sistema, instalado na Unidade Experimental de Tratamento de Esgotos e Utilização de Efluentes da Violeira, Viçosa-MG, era composto por um reator UASB, cujo efluente era utilizado para alimentar quatro WC com dois tipos de fluxo (superficial e subsuperficial) e vegetadas com dois tipos de macrófitas (*Brachiaria arrecta* e *Typha* spp.). Foram realizadas análises microbiológicas do efluente do reator e da cobertura vegetal, incluindo a pesquisa de coliformes totais, *E. coli*, (oo)cistos de protozoários e ovos de helmintos. O efluente do reator apresentou concentrações elevadas para todos os parâmetros analisados, resultando em contaminação das macrófitas, na pior das hipóteses, de  $10^4$  *E. coli*, 228 cistos de *Giardia*, 321,4 oocistos de *Cryptosporidium* e 147,2 ovos de helmintos por 100 g (peso úmido).

**PALAVRAS-CHAVE:** *Brachiaria arrecta*, *E.coli*, enteroparasitas, *Typha* sp, *wetlands* construídas.

### INTRODUÇÃO

Em regiões de clima tropical como o Brasil, processos anaeróbios são considerados uma alternativa segura e econômica para o tratamento de esgotos domésticos, podendo alcançar elevada remoção de DBO, DQO e sólidos; entretanto tais sistemas requerem pós-tratamento para remoção complementar de matéria orgânica e, principalmente, de nutrientes e de organismos patogênicos.

*Wetlands* construídas (WC) podem constituir uma boa opção para o pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios e, adicionalmente, apresentam capacidade de produzir biomassa a qual pode ser destinada à alimentação animal, o que pode conferir a esses sistemas um caráter integrado de tratamento e utilização de esgotos sanitários.

WC consistem na construção de áreas alagadas artificiais, constituídas por um canal preenchido com meio suporte (usualmente cascalho, areia ou brita) ao crescimento de biofilme e macrófitas, onde, por meio de diversos processos físicos, químicos e biológicos, ocorre a remoção de matéria orgânica, nutrientes e sólidos. Quanto ao tipo de fluxo, as WC podem ser classificadas como unidades de fluxo vertical ou horizontal, podendo esse último ser subdividido em fluxo superficial (FS) e fluxo subsuperficial (FSS) (USEPA, 2000).



No que diz respeito à possibilidade do uso para alimentação animal da biomassa produzida em WC, os aspectos sanitários devem ser criteriosamente avaliados, tendo em vista os riscos potenciais à saúde humana (risco ocupacional ou de transmissão secundária a consumidores de produtos animais) e animal.

Para a utilização de esgotos sanitários na irrigação, a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda os seguintes parâmetros microbiológicos: (i) irrigação irrestrita de plantas que se desenvolvem rente ao solo  $\leq 10^3$  *E. coli*/100mL e  $\leq 1$  ovo/L de helmintos (nematóides intestinais humanos), tendo em vista a proteção à saúde dos trabalhadores e dos consumidores; (ii) irrigação restrita  $10^4$ – $10^6$  *E. coli*/100mL (dependendo do cenário de exposição: agricultura com levado grau de mecanização ou com mão de obra intensiva, ou irrigação subsuperficial) e  $\leq 1$  ovo/L de helmintos, tendo em vista a mitigação de riscos ocupacionais (WHO, 2006). Depreende-se que a irrigação de pastagens e forrageiras estaria incluída na categoria de irrigação restrita, entretanto, todos esses critérios têm por finalidade proteção à saúde humana, levando em consideração evidências epidemiológicas, no caso do critério de ovos de helmintos, e a abordagem de risco tolerável no caso do padrão bacteriológico (expresso em termos de carga tolerável de doença na população, definida como  $\leq 10^{-6}$  DALY pppa) (WHO, 2006).

Por sua vez, a US *Environmental Protection Agency* (USEPA) explicita um padrão para a irrigação de pastagens e forrageiras de  $\leq 200$  coliformes termotolerantes (CTer) por 100 mL, em conjunto com outras culturas não-alimentícias (por exemplo, cereais, fibras e grãos), portanto, em categorização similar a de ‘irrigação restrita’ da OMS. Porém, no caso da irrigação de pastagens para rebanhos de leite, e se não for observado intervalo mínimo de 15 dias entre a última aplicação de esgotos e a permissão para pastagem, o critério deve ser mais rigoroso:  $\leq 14$  CTer / 100 mL. Novamente, tais critérios parecem estar dirigidos à proteção à saúde humana - risco do trabalhador e de consumidores de produtos animais (USEPA, 2004).

Observa-se assim que, além da disparidade de abordagens quando se trata de proteção à saúde humana, os critérios vigentes não abordam direta ou explicitamente o risco à saúde da população animal consumidora de produtos irrigados com esgotos sanitários. Por outro lado, há que se reconhecer que tais riscos são incertos ou pouco conhecidos.

Por fim, observa-se também que as informações sobre a qualidade microbiológica de macrófitas cultivadas em WC são escassas e que estas são informações importantes em termos de avaliação de risco, principalmente quando se pretende utilizar a biomassa produzida para alimentação animal.

Neste sentido, esse trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica de macrófitas cultivadas em um sistema em escala piloto de WC. O trabalho envolveu o fornecimento da biomassa para alimentação de caprinos, porém o presente artigo restringe-se à apresentação e à discussão de riscos potenciais à saúde humana e animal com base na qualidade microbiológica das macrófitas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Unidade Experimental de Tratamento de Esgotos e Utilização de Efluentes da Viçosa, situada na cidade de Viçosa-MG, implantada em 2001, no âmbito do Edital 3 do PROSAB (Programa de Pesquisa em Saneamento Básico, financiado pela FINEP) e posteriormente ampliada com recursos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do CNPq.

A unidade de tratamento era constituída por um reator UASB, em escala real, pré-fabricado em aço ( $Q_{med} = 115 \text{ m}^3 \text{ dia}^{-1}$ , volume =  $48 \text{ m}^3$ , altura = 5,70 m e TDH = 7 h), seguido de um sistema composto por quatro unidades em paralelo de WC em escala piloto (Figura 1). Duas WC foram operadas com fluxo superficial (W1 e W2) e duas com fluxo subsuperficial (W3 e W4) durante a Fase 1 do experimento, sendo que todas as unidades passaram a operar com fluxo subsuperficial durante a Fase 2. As *wetlands* foram cultivadas com dois tipos de macrófitas: *Brachiaria arrecta* (braquiária do brejo) e *Typha sp.* (taboa) (Figura 1), sendo a braquiária produzida utilizada para a alimentação de cabras em lactação. Detalhes operacionais do sistema estão apresentados na Tabela 1.

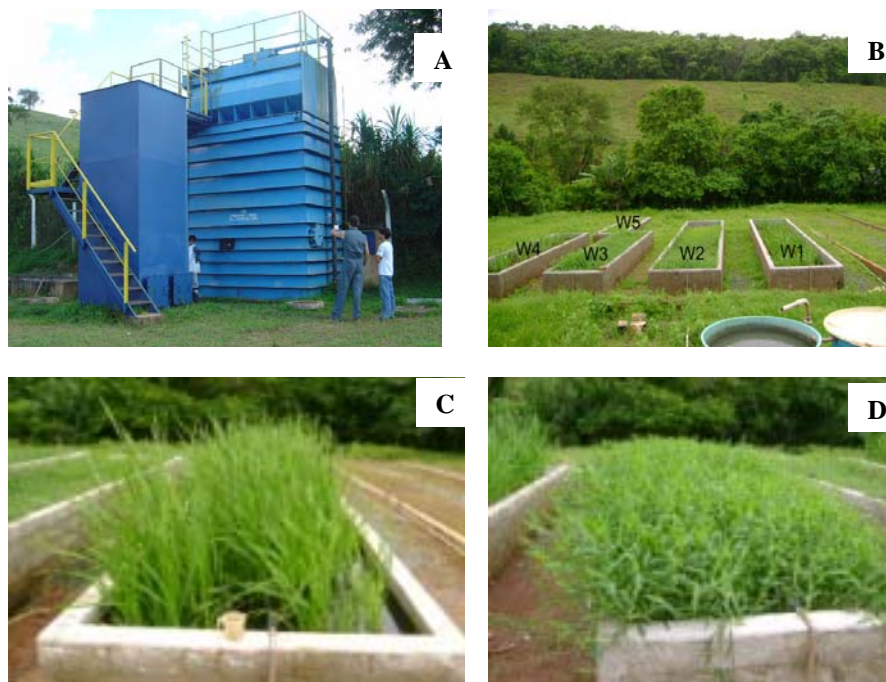


Figura 1: (A) reator UASB; (B) vista geral do sistema de *wetlands* construídas; (C) WC de fluxo superficial cultivada com *Typha* sp.; (D) WC de fluxo subsuperficial cultivada com *Brachiaria arrecta*. Unidade Experimental de Tratamento de Esgotos e Utilização de Efluentes da Viçosa, Viçosa-MG.

Tabela 1: Características construtivas e operacionais das unidades *wetlands*, Unidade Integrada de Tratamento de Esgotos e Utilização de Efluentes da Viçosa, Viçosa-MG.

Parâmetro	W1	W2	W3	W4
Fase 1 (novembro de 2006 a agosto de 2007)				
Tipo de fluxo	Superficial (FS)	Superficial (FS)	Sub-superficial (FSS)	Sub-superficial (FSS)
Vegetação	<i>Typha</i> sp.	<i>Brachiaria arrecta</i>	<i>Brachiaria arrecta</i>	<i>Typha</i> sp.
Largura (m)	2,0	2,0	1,7	1,7
Comprimento (m)	12,0	12,0	8,6	8,6
Área (m <sup>2</sup> )	24,0	24,0	14,6	14,6
TDH (d)	4,5	4,5	2,9	2,9
TDH real (d)	6,5	7,0	3,4	3,3
Q (m <sup>3</sup> /d)	1,5	1,5	1,5	1,5
Fase 2 (setembro a dezembro de 2007)				
Parâmetro	W1	W2	W3	W4
Tipo de fluxo	Sub-superficial (FSS)	Sub-superficial (FSS)	Sub-superficial (FSS)	Sub-superficial (FSS)
Vegetação	<i>Typha</i> sp.	<i>Brachiaria arrecta</i>	<i>Brachiaria arrecta</i>	<i>Typha</i> sp.
Largura (m)	2,0	2,0	1,7	1,7
Comprimento (m)	12,0	12,0	8,6	8,6
Área (m <sup>2</sup> )	24,0	24,0	14,6	14,6
TDH (d)	5,3	5,3	3,2	3,2
TDH real (d)	6,7	7,1	4,1	4,0
Q (m <sup>3</sup> .d <sup>-1</sup> )	1,0	1,0	1,0	1,0

As análises laboratoriais incluíram a pesquisa de coliformes totais, *E. coli*, ovos de helmintos, (oo)cistos de protozoários no efluente do reator anaeróbio e na cobertura vegetal das *wetlands*. Em geral, as amostras eram coletadas mensalmente.

Nas amostras do efluente, a pesquisa de coliformes totais e *E. coli* foi realizada utilizando-se o método cromogênico-fluorogênico (Colilert®) (APHA, AWWA, WEF, 1998). Para a determinação do número de ovos

de helmintos, utilizou-se a metodologia de Bailenger modificada (AYRES e MARA, 1996); já a pesquisa de (oo)cistos de protozoários foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Vieira (1999).

Nas amostras da cobertura vegetal, a pesquisa de coliformes totais e *E. coli* também foi realizada utilizando-se o método cromogênico-fluorogênico (Colilert®). A detecção e enumeração de ovos de helmintos e (oo)cistos de protozoários foram realizadas de acordo com a metodologia descrita em Oliveira e Germano (1992) com modificações.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta as concentrações médias de coliformes totais, *E. coli*, cistos de *Giardia*, oocistos de *Cryptosporidium* e ovos de helmintos no efluente do reator UASB e na parte aérea das macrófitas, ao longo de dois períodos de monitoramento do sistema (Fase 1 e Fase2).

**Tabela 2: Concentração de coliformes totais e *E. coli* (média geométrica), ovos de helmintos, cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* (média aritmética) no efluente do reator UASB e na cobertura vegetal das wetlands (1)**

Fase 1					
Organismo	Reator UASB	W1	W2	W3	W4
Coliformes totais <sup>(2)</sup>	$1,0 \times 10^7$	$3,4 \times 10^4$	$3,2 \times 10^4$	$3,2 \times 10^4$	$3,4 \times 10^4$
<i>E. coli</i> <sup>(2)</sup>	$3,4 \times 10^6$	$2,0 \times 10^2$	$2,7 \times 10^4$	$2,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^3$
<i>Giardia</i> <sup>(3)</sup>	207	83,3	228,6	ND <sup>(4)</sup>	3,3
<i>Cryptosporidium</i> <sup>(5)</sup>	172	83,3	321,4	ND	33,3
Helmintos <sup>(6)</sup>	16,1	15,2	73,6	56,9	25,4
Fase 2 <sup>(7)</sup>					
Organismo	Reator UASB	W1	W2	W3	W4
Coliformes totais <sup>(2)</sup>	$3,3 \times 10^7$	$2,6 \times 10^2$	$2,4 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	$2,9 \times 10^2$
<i>E. coli</i> <sup>(2)</sup>	$3,2 \times 10^6$	$1,2 \times 10^1$	6,0	1,0	1,0
<i>Giardia</i> <sup>(4)</sup>	71	ND	ND	ND	ND
<i>Cryptosporidium</i> <sup>(5)</sup>	104	100	ND	ND	ND
Helmintos <sup>(6)</sup>	18,1	66,7	44,4	147,2	ND

NOTAS: (1) os resultados da qualidade microbiológica da cobertura vegetal estão expressos em peso úmido. (2) NMP/100 mL para o efluente do reator UASB e NMP/100 g para as macrófitas. (3) Cistos/L para o efluente do reator UASB e cistos/100 g para as macrófitas. (4) Não detectado. (5) Oocistos/L para o efluente do reator UASB e oocistos/100 g para as macrófitas. (6) ovos/L para o efluente do reator UASB e ovos/100 g para as macrófitas. (7) Na Fase 2 foram feitas apenas uma coleta para pesquisa de coliformes e duas para protozoários e helmintos na cobertura vegetal das wetlands.

Durante a Fase 1, as WC receberam efluente do reator UASB com cerca de  $10^7$  CT/100mL e  $10^6$  *E. coli*/100mL, o que resultou em contaminação das macrófitas da ordem de  $10^4$  CT/100g e entre  $10^2$ - $10^4$  *E. coli* /100g. Em geral, a unidade que apresentou maior valor médio para *E. coli* foi a W2 ( $2,7 \times 10^4$  NMP/100g), de fluxo superficial e cultivada com braquiária.

Ao longo da Fase 1, a pesquisa de (oo)cistos de protozoários na cobertura vegetal demonstrou nitidamente menor contaminação nas unidades onde o fluxo era subsuperficial (W3 e W4) em relação às unidades de fluxo superficial (W1 e W2) e a presença de ovos de helmintos foi observada em valores mais elevados na W2. Essa unidade (W2) foi a que apresentou os piores valores de contaminação para todos os parâmetros analisados durante a Fase 1, o que pode estar associado ao tipo de fluxo (superficial) e ao fato da braquiária se desenvolver de modo mais denso e próximo à lâmina d'água do que a taboa.

Observa-se que na Fase 2, quando a W2 passou a operar com fluxo subsuperficial, a contaminação da braquiária por coliformes e protozoários reduziu consideravelmente, o que contribui em parte para validar a afirmação acima. No entanto, os dados da Fase 2 devem ser interpretados com ressalvas, devido ao número reduzido de amostras da cobertura vegetal analisadas (uma para coliformes e duas para protozoários e helmintos).





Cabe ressaltar que a água residuária (efluente do reator UASB) utilizada para alimentar as WC apresentou qualidade inferior àquela recomendada pela OMS para irrigação restrita e cenário de agricultura de baixo nível tecnológico e com mão de obra intensiva ( $\leq 10^4$  CT/100mL e  $\leq 1$  ovo de helmintos ovo/L). Os valores de *E. coli* encontrados no efluente do reator UASB ( $\approx 10^6$  organismos /100 mL) somente seriam compatíveis com aqueles recomendados quando a irrigação estivesse relacionada a técnicas de tratamento de esgoto com reduzida capacidade de remoção de patógenos (por exemplo, tanques sépticos ou reatores UASB), mas associada ao emprego de técnicas de irrigação com elevado potencial de minimização da exposição (irrigação subsuperficial), o que implica maior proteção à saúde dos trabalhadores (WHO, 2006). Entretanto, essas recomendações da OMS foram desenvolvidas considerando uma carga de doença tolerável de  $\leq 10^{-6}$  DALY pppa em um cenário de exposição por ingestão voluntária de solo por trabalhadores envolvidos no cultivo de culturas irrigadas. O cenário de exposição deste trabalho seria distinto, ou seja, a ingestão involuntária de gotículas de esgoto durante o trabalho de corte das plantas nas unidades WC, ainda não explorado na literatura.

Se a qualidade do efluente do reator UASB apresentou qualidade inferior às diretrizes da OMS, naturalmente se encontra ainda mais distante dos critérios adotados pela USEPA ( $\leq 200$  CTer / 100 mL) para a irrigação de forrageiras e de pastagens para rebanhos de leite, o que, de acordo com diretrizes norte-americanas não garantiria a segurança de trabalhadores e de consumidores de produtos animais.

De toda forma, observa-se que se, por um lado, as WC parecem não proteger de toda a contaminação da parte aérea das macrófitas (nem mesmo nas unidades onde o fluxo era subsuperficial), por outro, constata-se que a contaminação resultante nas plantas (ao menos em termos de *E. coli*) não foi elevada ( $2,7 \times 10^2$  *E. coli* / g), ao se considerar, para efeito comparativo, que o limite aceito na legislação brasileira para hortaliças frescas para consumo humano é de  $10^2$  CTer/g (ANVISA, 2001).

Adicionalmente, a utilização da braquiária em experimentos para alimentação de caprinos não resultou em infecção dos animais; também, os trabalhadores envolvidos no manejo e coleta de amostras do sistema não apresentaram infecção por enteroparasitas (dados não apresentados nesse trabalho). Trabalhos anteriores conduzidos por Bastos *et al* (2005) no mesmo local, em que braquiária e milho forrageiro foram irrigados com efluente de reator UASB contendo  $10^6$ - $10^7$  *E. coli* /100mL, resultou em contaminação das forrageiras da ordem de  $10^4$ - $10^5$  *E. coli*/100g e na detecção de *Salmonella* em populações reduzidas. A forrageira, que era utilizada para alimentação de caprinos, também não foi capaz de provocar alterações no quadro clínico dos animais.

## CONCLUSÃO

Os resultados indicam que o tipo de ambiente formado nas *wetlands* construídas não protege por completo a contaminação da parte aérea das macrófitas, nem mesmo nas unidades onde o fluxo era subsuperficial. A existência de microrganismos patogênicos nas macrófitas produzidas constituem, portanto, risco potencial à saúde humana, no que diz respeito aos operadores do sistema, e animal, eventual consumidor da biomassa produzida.

Entretanto, tais riscos necessitam de melhor apropriação, com base em evidências epidemiológicas ou na estimativa de risco, a partir da elaboração de cenários específicos de exposição e a aplicação de técnicas de Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico (AQRM). Para tanto, os resultados aqui apresentados (sobre contaminação da macrófitas) ou relatados (sobre medida de impactos à saúde em populações de animais e humanos), constituem apenas ponto de partida a serem complementados em estudos adicionais.

Contudo, ainda que presente trabalho tenha carecido de um procedimento mais sistemático de coleta e análises de amostras da cobertura vegetal dos *wetlands*, julga-se que os resultados reunidos permitam antecipar questionamentos em relação a critérios exigentes de qualidade de efluentes para irrigação de forrageiras e pastagens para rebanho de leite, a exemplo dos critérios norte-americanos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pela concessão de recursos financeiros e de bolsas de Iniciação Científica que viabilizaram a



implementação da unidade experimental e a realização deste trabalho. Ao Serviço Autônomo de Água e Esgotos (SAAE) de Viçosa-MG, pelo apoio logístico e parceria na realização dos experimentos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA) Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. D.O.U. - *Diário Oficial da União*; Poder Executivo, de 10 de janeiro de 2001.
2. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION/AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION/WATER ENVIRONMENT FEDERATION (APHA/AWWA/WEF). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20th ed., Washington DC, APHA/AWWA/WEF, 1998.
3. AYRES, R. M.; MARA, D. D. Analysis of wastewater for use in agriculture. A laboratory manual of parasitological and bacteriological techniques. Geneva: WHO, 1996.
4. BASTOS, R. K. X.; BEVILACQUA, P. D.; SILVA, C. A. B.; DORNELAS, F. L.; ASSUNÇÃO, F. A. L.; RIOS, E. N.; SILVA, A. F. S.; FREITAS, A. S.; COSTA, G. S. Tratamento de esgotos sanitários e usos múltiplos de efluentes. *Revista Brasileira de Engenharia agrícola e Ambiental*. v. 9, p. 164-170, 2005.
5. OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. I- pesquisa de helmintos. *Revista de Saúde Pública*. V. 26, n. 4, p.283-289, 1992.
6. USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, *Constructed wetlands treatment of municipal wastewater*. Cincinnati, Ohio-USA: USEPA, Office of Research and Development, 2000, 166p (EPA/625/R-99/010). Disponível em: <<http://www.epa.gov/owow/wetlands/watersheds/cwetlands.html>> Acesso em: 15 fev. 2009.
7. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). *Guidelines for water reuse*. 2nd ed. Washington DC: USEPA, 2004. (Report No. EPA/625/R-04/108). Disponível em: <<http://www.epa.gov/ord/NRMRL/pubs/625r04108/625r04108.pdf>>. Acesso em 20 abr. 2009.
8. VIEIRA, M. B. C. M.; BRITO, L. L. A.; MACHADO, P. M. R.; HELLER, L. Verificação da ocorrência de cistos de *Giardia*, oocistos de *Cryptosporidium* e indicadores bacterianos nos Esgotos Sanitários da Bacia do Ribeirão Arrudas, Belo Horizonte, MG. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 20, 1999, Salvador – BA. *Anais...* Rio de Janeiro: ABES, 1999 (CD ROM).
9. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. Volume 2: Wastewater use in agriculture*. Geneva: WHO. 2006. 213p.