

BETERRABA IRRIGADA COM EFLUENTE TRATADO DE LATICÍNIO-AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Leticia Gavião Ferreira¹, Tamara Maria Gomes², Marta Mitsui Kushida³, Rafael Stefano Pereira⁴,
Fabrício Rossi⁵

¹ Graduanda em Engenharia de Biossistemas, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos -USP, (19)99738-8408, leticciag.ferreira@gmail.com

² Engenheira Agrônoma, Universidade Estadual Paulista, (19) 3565-6709, tamaragomes@usp.br.

³ Engenheira de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, (19) 3565-4342, martakushida@usp.br.

⁴ Engenheiro de Biossistemas, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos -USP, (19) 9811-9356

⁵ Engenheiro Agrônomo, Universidade Federal de Viçosa, (19) 3565- 4189, fabricio.rossi@usp.br.

Apresentado no

XLIV Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA 2015

13 a 17 de setembro de 2015- São Pedro – SP, Brasil

RESUMO: A irrigação com águas residuárias é uma alternativa para substituir águas de boa qualidade. Os produtos processados de origem agroindustrial geram resíduos ricos em matéria orgânica, nutrientes e sais, que mesmo após tratamento, apresentam potencial de poluição às águas. O fornecimento desses efluentes aos cultivos precisa ser avaliado do ponto de vista nutricional e microbiológico para garantir a produtividade e a qualidade bacteriológica. A pesquisa foi realizada para avaliar o comportamento microbiológico de beterraba sob a irrigação por gotejamento com três fontes de águas: água de torneira; efluente de laticínio tratado por sistema anaeróbio e por sistema aeróbio, sendo os efluentes desinfetados por radiação ultravioleta, em três porcentagens de lâmina de irrigação (50%, 100% e 150% da evapotranspiração da cultura). Os parâmetros avaliados foram coliformes totais e *Escherichia coli* para fontes de água e amostras de beterraba, além de mesófilos e psicrófilos totais, bolores e leveduras, *Staphylococcus aureus* para beterraba. Os resultados das análises microbiológicas confirmam a eficiência do sistema de ultravioleta para desinfecção, com redução na contagem microbiológica em pelo menos um ciclo logaritmo em ambos os efluentes aeróbio e anaeróbio, garantindo a segurança alimentar ao produto final da beterraba.

PALAVRAS-CHAVE: Hortalica, Reuso agrícola, Segurança alimentar

COMMON BEET IRRIGATED WITH DAIRY TREATED EFFLUENT - MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT

ABSTRACT: The irrigation with wastewater is an alternative to replace good quality waters. The processed products with agroindustrial origin generates residues rich in organic material, nutrients and salts that, even after treatment, presents potential pollution to the water. The supply of these effluents to crops needs to be evaluated nutritionally and microbiologically to guarantee the productivity and bacteriologic quality. This research was conducted to evaluate the microbiologic behavior of the beet under drip irrigation with three water sources: tap water; dairy effluent treated with anaerobic and aerobic system, disinfected by ultraviolet radiation, in three percentage of irrigation depth (50%, 100% and 150% of the evapotranspiration of the crop). The parameters evaluated were total coliforms and *Escherichia coli* to water and beet samples, in addition to mesophilic and total psychrophiles, mold and yeast, *Staphylococcus aureus* for beet. The microbiologic analysis result confirms the ultraviolet disinfection system efficiency, with reduction on microbiologic count on at least one log cycle in both effluents, aerobic and anaerobic, ensuring the food security to the final product of beet.

KEYWORDS: Vegetable, Agricultural Reuse, Food Security

INTRODUÇÃO:

O crescente aumento populacional e as mudanças climáticas contradizem o principio que a disponibilidade hídrica é abundante e ilimitada. Esse paradigma leva as reflexões sobre a qualidade e quantidade da água, tornando cada vez mais importante as discussões no âmbito da gestão ambiental e da engenharia da irrigação. Como substituição a água de boa qualidade e considerando a preservação

dos mananciais, muitos países adotam a utilização de efluentes provenientes de estações de tratamento como fonte de água e nutrientes na irrigação das culturas.

Além da preservação dos recursos hídricos, o reuso agrícola apresenta-se como fonte de água e nutrientes às culturas. No que se refere ao desenvolvimento nutricional das plantas, o efluente apresenta características agronomicamente desejáveis como a presença dos macronutrientes (N,P,K) (FONSECA, 2001). Sobre as implicações do reuso agrícola, vários aspectos têm sido amplamente avaliados e discutidos. Um dos aspectos relevantes, de ordem sanitária, relaciona-se às diretrizes microbiológicas recomendadas para uso de esgotos na agricultura (CHANG et al., 2002; WHO, 2006), onde as preocupações concentram-se nos cuidados com a saúde do agricultor e dos consumidores dos produtos agrícolas. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os aspectos microbiológicos do produto final da beterraba de mesa cultivados em ambiente protegido e sob a irrigação por gotejamento com três tipos de águas: água de abastecimento; efluente de laticínio tratado por sistema anaeróbio; efluente de laticínio tratado por sistema aeróbio, sendo os efluentes desinfetados por radiação ultravioleta, em três porcentagens de lâmina de irrigação (50%, 100% e 150% da evapotranspiração da cultura). Os parâmetros avaliados foram coliformes totais, *Escherichia coli*, bactérias heterotróficas, mesófilos e psicrófilos totais, bolores e leveduras, *Staphylococcus aureus*.

MATERIAL E MÉTODOS:

Área de estudo e delineamento experimental: O experimento foi conduzido em uma casa de vegetação com área total de 210 m², do tipo arco e sem controle ambiental, na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo, localizado no município de Pirassununga/SP, Brasil. A condução do experimento foi realizada no período considerado outono-inverno do ano de 2014, após um primeiro cultivo da beterraba na estação primavera-verão. O delineamento empregado foi de blocos casualizados, em esquema fatorial 3 x 3 + 1, com quatro repetições. Os tratamentos consistiram de três tipos de água: (1) efluente anaeróbio- EAN, tratado por um reator anaeróbio sequencial em batelada, com biofilme; (2) efluente aeróbio - EA, reator combinado anaeróbio / aeróbio de leito fixo e (3) a água da torneira - AT, tratado por filtração direta seguida por cloração. Três lâminas de irrigação, W1, W2 e W3, reposição de 50%, 100% e 150% da estimativa de evapotranspiração da cultura (ETc). A beterraba plantada foi a cultivar híbrida Cabernet, adquirida da empresa Horticitrus. O plantio foi realizado no dia 30/04/2014 em 40 parcelas experimentais, totalizando 24 mudas de beterraba por parcela em 4 linhas, com espaçamento de 25 cm entre linhas e 15 cm entre plantas. A colheita ocorreu 83 dias após o plantio das mudas (22/07/2014).

Análises Microbiológicas: O efluente utilizado para irrigação da beterraba foi proveniente da Estação Experimental de Tratamento de Efluentes do Laticínio Escola da FZEA tratado por reator anaeróbio sequencial em batelada e reator combinado anaeróbio / aeróbio de leito fixo, estes foram filtrados por um sistema de manta geotêxtil e desinfetados por sistema ultravioleta (SUV). As amostras para as diferentes fontes de águas, para análise microbiológica foram coletadas em frascos estéreis de forma asséptica e a seguir analisadas para a presença de coliformes totais e *Escherichia coli*.

Para as amostras de beterraba (25g) foram colocadas em sacos de amostragem estéreis nos quais foram adicionados 225 mL de Água Peptonada Tamponada (APT) estéril e a seguir homogeneizadas em Stomacher. A partir desta diluição, considerada 10⁻¹, foram realizadas diluições decimais seriadas em 9 mL de APT, até 10⁻³, nas quais foi analisada a presença dos microrganismos alvos, em duplicata, também para coliformes totais e *Escherichia coli*, além de mesófilos totais, psicrófilos totais, bolores e leveduras e *Staphylococcus aureus*.

A quantificação de *Escherichia coli* e coliformes totais foi realizada pela inoculação em placas com meio cromogênico Petrifilm® EC (3M®), Método Oficial AOAC nº 991.14, com procedimentos realizados de acordo com a recomendação do fabricante. O volume de 100 mL de água de cada tipo de água foram filtrados pelo método de membrana filtrante em membrana filtrante de 47 mm de diâmetro em acetato de celulose com porosidade de 0,45µm (Millipore®). Cada membrana foi transferida para placa Petrifilm® EC (3M®), previamente hidratada em solução salina 0,9% e incubada a 35°C ± 2°C por 24 a 48 horas (CONSOLI et al., 2006; CONSTANTINO, 2011;). No caso da beterraba, 1 mL de cada diluição selecionada foi adicionada no centro de uma placa de Petrifilm® EC (3M) e incubada a 35°C ± 2°C por 24 horas. Foram contadas separadamente as colônias vermelhas com formação de gás (características do grupo coliforme) e azuis com formação de gás (características de *E. coli*). A soma das colônias azuis e vermelhas foi multiplicada pela recíproca da diluição utilizada, e o resultado

expresso como UFC/mL de coliformes totais. O mesmo cálculo foi utilizado para as colônias azuis e o resultado como UFC/mL de *Escherichia coli*.

A análise dos mesófilos totais foi realizada em placas de Petri contendo Agar Padrão para contagem (PCA) e incubadas a $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 48\text{h}$, de acordo com Silva et al. (2007).

A quantificação de Bolores e Leveduras, nas amostras de beterrabas, foi realizada em placas de Petri contendo Agar dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC), incubadas a $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 3\text{-}5$ dias de acordo com Silva et al. (2007).

Quanto a presença de *Staphylococcus aureus* foi realizada pela inoculação em placas com meio Petrifilm® STX – Staph Express Count System, para *Staphylococcus* (3M), Método Oficial no 981.15 com procedimentos realizados de acordo com a recomendação do fabricante. Volume de 1 mL de cada diluição selecionada foi adicionada no centro de uma placa de Petrifilm STX (3M) e incubada a $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ por 24 horas. Foram contadas separadamente as colônias vermelho-violeta características. A soma das colônias características foi multiplicada pela recíproca da diluição utilizada, e o resultado expresso como UFC/mL de *Staphylococcus aureus*.

A quantificação de Psicrófilos totais foi realizada em placas de petri contendo agar padrão para contagem (PCA), incubadas a $7\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ por 10 dias, de acordo com Silva et al. (2007).

Os resultados para amostras de beterrabas foram processados pela análise da variância, as médias foram comparadas pelo teste paramétrico Kruskal-Wallis ($P < 0,05$), utilizando o software Action 2.7, desenvolvido pela empresa Estatcamp (EQUIPE ESTATCAMP, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Análise Microbiológica nos Efluentes: A presença de coliformes totais nos efluentes é evidenciada por colônias vermelhas, devido ao indicador cloreto de trifeniltetrazolio (TTC), com formação de bolhas causadas pelo aprisionamento do gás pela película superior do Petrifilm. Já a presença de coliformes fecais (*Escherichia coli*) é evidenciada por colônias de coloração azul ou vermelho-azulada, por conta da hidrólise do substrato cromogênico pela enzima β -glucuronidase, e formação de bolhas de gás associadas às colônias. Os resultados foram qualitativos (presença/ausência) e podem ser notados pela Foto 1.

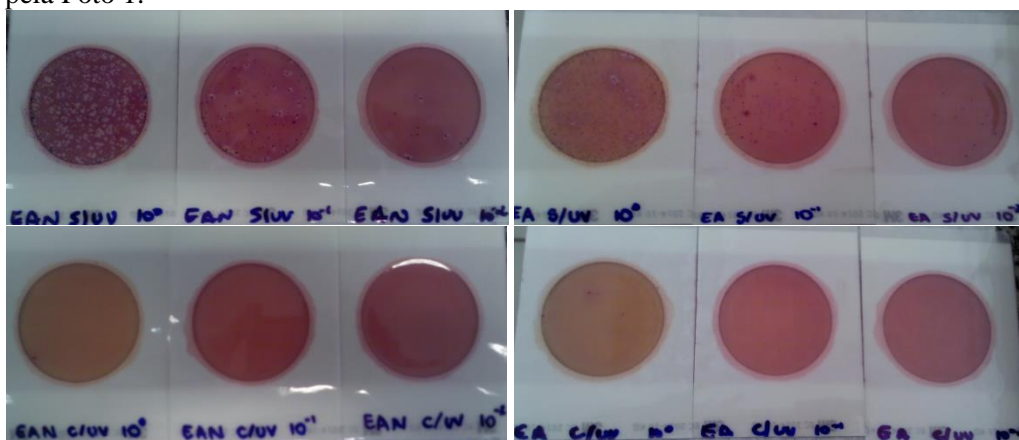


FOTO 1. Análise microbiológica nos efluentes tratados com reator anaeróbio (EAN) e reator combinado anaeróbio / aeróbio (EA) antes e após o sistema ultravioleta (SUV).

Portanto, as análises microbiológicas confirmam a eficiência do sistema de ultravioleta para desinfecção, pois houve uma redução na contagem microbiológica em pelo menos um ciclo logarítmico em ambos os efluentes aeróbio e anaeróbio, mostrando que podem ser atingidos níveis seguros relacionados à contagem microbiológica.

Análise Microbiológica na Planta: A Tabela 1 apresenta os resultados das análises microbiológicas de todos os tratamentos estudados, em relação à testemunha, para psicrófilos totais e bolores e leveduras. Na análise de microrganismos mesófilos totais todas as placas apresentaram contagens superiores a $6,5 \times 10^5$ UFC mL⁻¹. No entanto para a contagem de *Staphylococcus aureus* e coliformes totais não foram detectadas a presença de ambos nas amostras, assim como *Escherichia coli*, sugerindo que não houve contaminação de origem fecal. As diferentes fontes de água e lâminas de irrigação não influenciaram a presença dos microorganismos analisados, nas raízes da beterraba, em

comparação com a testemunha. A aplicação de luz ultravioleta foi efetiva na desinfecção dos efluentes tratados de laticínio, principalmente quanto à presença de coliformes.

Os valores encontrados nas análises de psicrófilos e bolores e leveduras estão de acordo com os padrões exigidos pela legislação RDC 12 de 2001 (BRASIL, 2001), para beterraba, garantindo a qualidade microbiológica do produto final para consumo humano.

TABELA 1. Contagem de microorganismos na raiz de beterraba, para diferentes tratamentos. FZEA/USP, Pirassununga/SP, 2014.

Tratamento	Psicrófilo	Bolores e leveduras	
		UFC mL ⁻¹	
T	3,68E+04 a	1,70E+04	a
ATW1	5,20E+07 a	1,39E+04	a
ATW2	6,58E+07 a	2,07E+04	a
ATW3	3,77E+07 a	2,25E+04	a
EAW1	5,30E+04 a	1,79E+04	a
EAW2	2,60E+04 a	2,13E+04	a
EAW3	5,17E+05 a	1,41E+04	a
EANW1	7,35E+06 a	2,27E+04	a
EANW2	6,33E+05 a	9,93E+03	a
EANW3	6,92E+06 a	9,53E+03	a

UFC=Unidade formadora de colônias. Letras iguais nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). T=testemunha; AT= água de torneira; EA= efluente aeróbio; EAN= efluente anaeróbio; W1= 50% da evapotranspiração da cultura (ETc); W2= 100% da ETc; W3= 150% da ETc.

CONCLUSÕES

A análise microbiológica realizada nos efluentes foi bastante promissora e confirmaram a eficiência do sistema ultravioleta para desinfecção microbiológica dos efluentes tratados de laticínio, principalmente em relação à redução dos coliformes totais e *Escherichia coli*, tanto na planta, quanto no efluente. O resultado obtido está dentro da legislação de segurança alimentar, o que garante a qualidade microbiológica do produto final para consumo humano.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de amparo à pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP, auxílio pesquisa, processo N° 2012/19239-0 e a Pró-reitoria de pesquisa da Universidade de São Paulo, bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. **Resolução RDC nº 12**, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**.
- CHANG, A. C.; PAN, G.; PAGE, A. L.; TAKASHI, A. Developing human health-related chemical guidelines for reclaimed water and sewage sludge applications in agriculture. Geneva: WHO, 2002.
- CONSOLI, M. A. F.; BRAGA, M. J. S.; FREITAS, S. L.; SILVA, A. C. P.; AMORIM, P. S. BATALHA, A. A.; DORNELLAS, S. Estudo introdutório sobre o uso de Petrifilm como meio base para a utilização de membrana filtrante na análise de água. *Revista Analytica*. N. 25, out-nov, 2006.
- CONSTANTINO, C. A. Avaliação da técnica 3MTM PetrifilmTM para análises microbiológicas de água de consumo humano na região de Campinas. 2011. 93f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências de Alimentos, Unicamp, Campinas, 2011.
- EQUIPE ESTATCAMP. **Software Action**. Estatcamp- Consultoria em estatística e qualidade, São Carlos - SP, Brasil. URL <http://www.portalaction.com.br/>. 2014.
- FONSECA, A. F. Disponibilidade de nitrogênio, alterações nas características químicas do solo e do milho pela aplicação de efluente de esgoto tratado. Piracicaba, 2001. 110p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C.; SILVEIRA, N. F. A. Manual de Métodos de Análise microbiológica de alimentos. 3. ed., São Paulo: Varela, 2007. 552p.