

INFLUÊNCIA DO OXIGÊNIO E DO DIÓXIDO DE CARBONO NO COMPORTAMENTO DE FUNGOS TOTAIS NO PROCESSO DEGRADATIVO DE RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS

Naiara Angelo Gomes (*), Marbara Vilar de Araújo Almeida, Kellianny Oliveira Aires, Thiago Almeida Medeiros, Márcio Camargo de Melo

* Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, naiaraangelocz@hotmail.com.

RESUMO

O processo de biodegradação de resíduos sólidos urbanos em aterro sanitário consiste na ação conjunta de diferentes comunidades microbianas que degradam resíduos orgânicos e inorgânicos presentes na massa aterrada. Os principais microrganismos existentes neste processo são os fungos e as bactérias. Entretanto, a maioria dos estudos desenvolvidos nesta temática aborda somente o papel desempenhado pelas bactérias, contudo, os fungos são fundamentais na degradação dos RSU, pois, são estes organismos que propiciam a digestão inicial destes resíduos. Sendo assim, os resíduos ao serem biodegradados geram alguns subprodutos, entre eles o biogás, que dependendo de suas concentrações podem influenciar o desenvolvimento dos fungos. Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência das concentrações de oxigênio e dióxido de carbono no comportamento dos fungos totais em uma célula experimental preenchida com RSU da cidade de Campina Grande-PB. As concentrações de oxigênio e dióxido de carbono foram medidas *in situ* utilizando o detector portátil e automático de gases com infravermelho Dräger X-am 7000. Para o ensaio de fungos foi feito um extrato das amostras de resíduos dos diferentes níveis de profundidade da célula experimental. Deste extrato, preparou-se diluições sucessivas de 10^{-1} a 10^{-5} para cada um dos níveis de profundidade do sistema experimental, e posteriormente, retirou-se 0,1 mL da diluição 10^{-4} de todos os níveis e inoculou-se na superfície do meio de cultura previamente preparado. Os resultados indicaram que o crescimento dos fungos totais foi satisfatório nos diferentes níveis de profundidade do sistema experimental com o passar do tempo se comparado a outros estudos com condições similares a estudada, porém, ocorreu um decaimento da ordem de 10^7 a 10^5 UFC/g, o qual não interferiu no processo biodegradativo dos RSU. Deve-se ressaltar que concentrações de oxigênio e dióxido de carbono analisadas não inibiram o desenvolvimento dos organismos fúngicos. Diante disso, o referido estudo pode ser utilizado para direcionar o processo biodegradativo de RSU, já que a atividade fúngica pode acelerar o processo inicial da degradação de macromoléculas.

PALAVRAS-CHAVE: Resíduos sólidos urbanos, Biodegradação, Organismos fúngicos.

1. INTRODUÇÃO

Existem diversos fatores que podem influenciar de modo significativo o crescimento e reprodução das diferentes linhagens de fungos que se fazem presentes no processo biodegradativo de Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) em aterros sanitários.

Melo (2003) relata que embora seja um processo natural, a biodegradação dos resíduos é um processo complexo e para que os fungos cresçam de maneira satisfatória, eles necessitam de condições mínimas para sobrevivência e posterior reprodução. Portanto, parâmetros como pH, umidade, fonte de nutrientes, temperatura e substratos metabólicos ideais são fatores essenciais para a sua reprodução.

Os fungos em sua grande maioria são organismos aeróbios obrigatórios (UFSC, 2006), mas quando esse substrato metabólico se torna ausente ou em faixas muito baixas no ambiente, estes são capazes de utilizar outros subprodutos em sua respiração.

Entre os subprodutos formados no processo de degradação biológica dos RSU, os fungos estão aptos a utilizarem para o seu crescimento e reprodução o nitrogênio, o dióxido de carbono, além do oxigênio que apresenta-se em baixos teores. Com relação ao dióxido de carbono, Taniwaki et al. (2009), ressaltam que dependendo das concentrações este substrato pode tornar-se um inibidor no seu desenvolvimento.

No sentido de conhecer melhor o comportamento biodegradativo dos resíduos sólidos urbanos, surge como alternativa o estudo em células experimentais. Através dessa técnica, os dados obtidos podem ser utilizados para elaboração de projetos, dimensionamento e construção de aterros em escala real, além de proporcionarem o controle direto das variáveis a serem estudadas o que facilita a obtenção e tratamento de dados. Desta maneira foi construída uma célula

experimental, localizada na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), onde são desenvolvidos diversos estudos, relacionados a variadas temáticas que englobam o processo biodegradativo dos RSU. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência do oxigênio e do dióxido de carbono no comportamento de fungos totais no processo da biodegradação dos RSU.

2. METODOLOGIA

2.1 Caracterização do local de estudo

O estudo foi realizado em uma célula experimental, localizada nas dependências da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em Campina Grande-PB, e situa-se nas coordenadas geográficas 7°12'58,67"S e 35°54'35,71" W.

A célula experimental (Figura 1) foi preenchida com RSU da cidade de Campina Grande, e possui um formato circular com dimensões de 3,5 m de altura, 2,0 m de diâmetro interno e 11 m³ de volume, sendo dotada de 12 pontos de coleta, distribuídos diametralmente nos seguintes níveis de profundidades: superficial, superior, intermediário e inferior. Estes níveis são distanciados, entre si, 0,7 m em sentido vertical. Além disso, esta célula possui uma camada de 0,30 m de solo compactado com permeabilidade de 10⁻⁷m.s⁻¹ na base e de 0,20 m deste mesmo solo na camada de cobertura, para assim, evitar a percolação de líquidos e gases para o ambiente externo, e dessa forma, impedir a contaminação do ar atmosférico, solo e corpos hídricos. A célula experimental, ainda é dotada ainda de um conjunto de instrumentos tais como: medidores de temperatura (termopares), medidores de líquidos em seu interior (piezômetros), um sistema de drenagem de gases e um sistema de drenagem de lixiviado, além de placas de recalque em superfície e em profundidade. Estes instrumentos instalados no sistema experimental tem por finalidade complementar o monitoramento ambiental e geotécnico dos RSU aterrados.

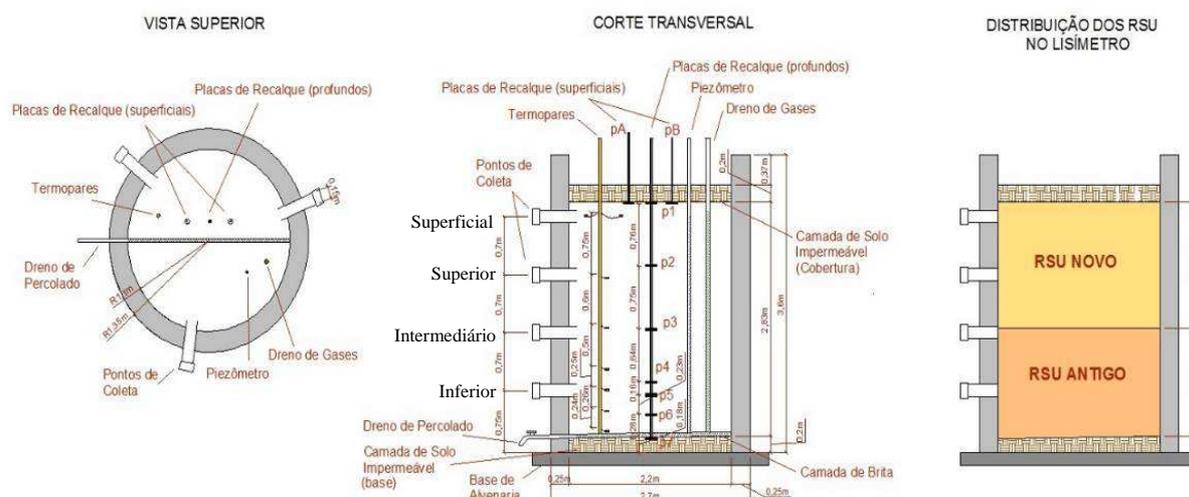


Figura 1: Croqui da célula experimental. Fonte: Grupo de Geotecnia Ambiental (GGA), 2015.

A distribuição dos resíduos na célula experimental consiste de resíduos antigos e novos (Figura 1). Os resíduos antigos correspondem ao enchimento realizado em setembro de 2011, e devido à ocorrência de recalques primários e secundários associados ao processo biodegradativo dos RSU, ocorreu uma redução na massa de RSU disposto nesta célula, inviabilizado dessa forma, o monitoramento deste sistema experimental. Em função disso, houve então, a necessidade da inserção de uma nova camada de resíduos sólidos urbanos na célula experimental. Este processo de preenchimento foi denominado de retroalimentação, o qual foi realizado em abril de 2015.

Os pontos referentes ao nível superficial foram desativados logo na primeira coleta de amostras de RSU, isso aconteceu devido ao recalque imediato ocorrido, ou seja, deformações verticais imediatas na massa de resíduos, ocasionadas pelo peso do próprio resíduo e o peso da camada de solo compactado usado na cobertura dos resíduos. Vale salientar que os pontos de coletas do nível superficial, foram desativados apenas para as coletas, sendo que estes não foram removidos, permanecendo na célula estudada. Portanto, o monitoramento dos RSU com relação à quantificação dos fungos totais, concentração de oxigênio e dióxido de carbono foi realizado para os três níveis (superior, intermediário e inferior) da célula experimental (Figura 1), e ocorreu durante o período de pós-retroalimentação até o mês de março de 2016, totalizando 336 dias de monitoramento.

2.2 Monitoramento dos Resíduos Sólidos Urbanos (RSU)

O monitoramento dos RSU presentes no interior da célula experimental foi realizado por meio dos ensaios de fungos totais, concentração de oxigênio e concentração de dióxido de carbono. As concentrações de oxigênio e dióxido de carbono foram realizadas *in situ* utilizando o detector portátil e automático de gases com infravermelho Dräger X-am 7000. O equipamento é dotado de uma pequena bomba que faz a sucção dos gases e direciona o fluxo para os sensores de leitura. O resultado é obtido em torno de 5 minutos com as faixas de medição de 0 a 20,9% para o O₂ e de 0 a 100% de CO₂ (AIRES, 2013).

Para a execução do ensaio de fungos totais foram realizadas coletas de RSU na célula experimental com uma periodicidade mensal, onde por meio de cada nível (superior, intermediário e inferior) foi amostrado cerca de 1,0 Kg de resíduos. Em seguida, os resíduos coletados foram conduzidos ao Laboratório de Geotecnia Ambiental (LGA) pertencente à UFCG. No LGA, os RSU foram picotados manualmente com auxílio de tesouras, e posteriormente uma alíquota de 10 gramas foi pesada e utilizada para a execução do referido ensaio.

2.2.1 Ensaio de Fungos totais

As análises foram realizadas para quantificar as colônias de fungos totais (leveduriformes e filamentosos). Esta quantificação foi feita com base nas recomendações do APHA (2012).

- Diluição da Amostra

A amostra de RSU destinada às análises de fungos (10 g) foi diluída em um béquer estéril de capacidade de 100 ml, dotado de 90 ml de água destilada. A amostra foi agitada manualmente com um auxílio de um bastão de vidro, durante cinco minutos, feito isto, a porção líquida da solução foi separada da sólida e diluída em tubos de ensaios sucessivamente, obtendo-se diluições decimais de 10⁻¹ até 10⁻⁵.

Este procedimento foi realizado para todos os níveis da célula experimental, ou seja, fizeram-se diluições de 10⁻¹ a 10⁻⁵ para o nível superior, intermediário e inferior. Porém, para o desenvolvimento desta pesquisa foi utilizado somente a diluição 10⁻⁴ (pertencente a todos os níveis) por ser a mais representativa em relação aos resultados obtidos.

- Condições de Cultivo

Os fungos foram cultivados em placas de *Petri* contendo 10 ml do meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose com adição do antibiótico cloranfenicol, onde foi inoculado 0,1 ml da diluição 10⁻⁴ (pertencente aos níveis de profundidades: superior, intermediário e inferior da célula experimental) sobre o meio de cultura. A amostra de RSU foi espalhada com o auxílio de uma alça de Drigalski e depois as placas foram incubadas em estufa de cultivo de microrganismos a uma temperatura de 25°C.

Passado o período de incubação (7 dias) fez-se a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) dos fungos totais (Figura 2).



Figura 2: Fungos totais cultivados em placas de Petri. Fonte: GGA, 2015.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Quantificação dos Fungos Totais

A Figura 3 ilustra o comportamento dos fungos totais (colônias de leveduras e bolores) no interior da célula experimental em estudo, variando no tempo e profundidade.

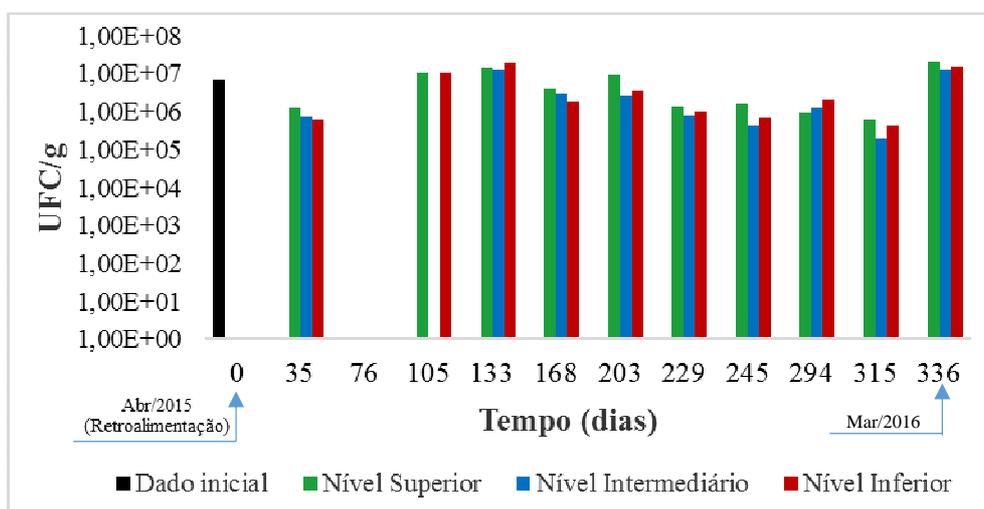


Figura 3: Comportamento dos fungos totais no interior da célula experimental. Fonte: GGA, 2016.

Ao analisar a Figura 3, observa-se que o crescimento dos fungos totais variou numa ordem de grandeza de 10^5 a 10^7 UFC/g para os diferentes níveis de profundidade (superior, intermediário e inferior) da célula experimental. Em um estudo realizado por Araújo et al. (2011), onde analisou-se a quantificação de fungos totais no processo da biodegradação de RSU em uma célula com dimensões semelhantes ao sistema experimental estudado foi observado um crescimento similar, na ordem de 10^6 a 10^8 UFC/g.

Com base na Figura 3, verifica-se que aos 76 dias de o crescimento dos fungos totais correspondente aos três níveis (superior, intermediário e inferior) analisados não foram apresentados no gráfico. Isso ocorreu pelo fato da quantificação das colônias de fungos durante este dia ultrapassar a quantidade máxima recomendada por APHA (2012) que são 300 UFC/g. Ao acontecer esta situação utiliza-se a terminologia “impossível fazer a contagem”, comportamento semelhante foi verificado aos 105 dia de monitoramento.

De modo geral, percebe-se um leve decaimento das UFC (Unidades Formadoras de Colônias) dos fungos totais com o passar do tempo em todas as profundidades da célula experimental, porém não houve diferença significativa deste decaimento com o tempo entre as diferentes camadas ou níveis estudados da célula, o que contribuiu positivamente no processo biodegradativo dos RSU (GOMES et al., 2016), uma vez que esses microrganismos são essenciais na degradação de compostos recalcitrantes.

É importante ressaltar que apesar da rápida utilização do oxigênio em sistemas de aterro sanitário e experimentais, observa-se na Figura 3 que o decaimento das UFC pode ser considerado não significativo. Isto pode ser explicado devido os fungos totais utilizarem, além do oxigênio, outros substratos gerados na biodegradação dos resíduos como fonte metabólica, e um destes substratos é o nitrogênio em suas diferentes formas.

De acordo com Takaya (2002), os fungos se adequam a diferentes concentrações de oxigênio livre até fontes de oxigênio combinado, e dependendo das concentrações de oxigênio no meio em que estão inseridos, estes organismos podem utilizar fontes metabólicas como a desnitrificação e amonificação e isto, provavelmente, favoreceu o crescimento de fungos no tempo e nas diferentes profundidades estudadas.

3.2 Concentração de oxigênio

O oxigênio é um fator importante para o crescimento e reprodução dos organismos fúngicos. O comportamento deste gás no interior da célula experimental durante o mesmo período de monitoramento da quantificação dos fungos totais (Figura 3) encontra-se ilustrado na Figura 4.

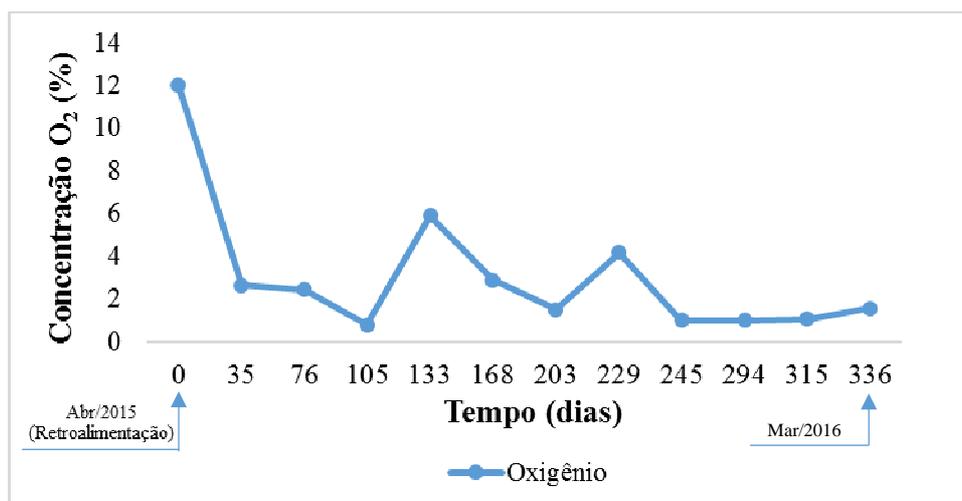


Figura 4: Comportamento do oxigênio no interior da célula experimental. Fonte: GGA, 2016.

Segundo Tchobanoglous et al. (1993) o oxigênio, geralmente, só é medido com maior frequência em sistemas de aterro sanitário na fase aeróbia e na fase de maturação, onde as concentrações mensuradas podem chegar a uma porcentagem de 20%.

Ao observar a Figura 4, verifica-se que durante todo o período de monitoramento (0 aos 336 dias) foi constatado a presença de oxigênio no interior da massa de resíduos, variando entre 0,77% a 12%, porém com o passar do tempo houve um decaimento deste parâmetro, fato já esperado, uma vez que, o aterro sanitário na maior parte do tempo funciona como um reator anaeróbio.

Inicialmente (0 dias), percebe-se a maior concentração de O₂ (12%) durante o período de monitoramento, este acontecimento pode ser explicado pela inserção de uma nova camada de resíduos na célula experimental, denominada de retroalimentação, a qual trouxe para este sistema uma quantidade significativa de oxigênio e também fontes de nutrientes, o que contribuiu para o desenvolvimento dos fungos totais nesse mesmo período de tempo, como observado na Figura 3.

Aos 133 e 229 dias de monitoramento, podem ser observados também os maiores picos referentes à concentração de oxigênio (Figura 4) encontradas no interior da célula estudada, o que favoreceu o crescimento dos organismos fúngicos, como observado no mesmo tempo de monitoramento na Figura 3. Essa entrada de oxigênio pode ter ocorrido por meio das fissuras encontradas na camada de cobertura dos resíduos ou pelos pontos de coletas, beneficiando dessa forma o desenvolvimento desses microrganismos.

Durante grande parte do monitoramento, aos 35, 105, 168, 203 e 245 à 336 dias, foram medidas baixas concentrações de O₂, mas apesar disso, verifica-se na Figura 3, um desenvolvimento satisfatório das UFC dos fungos totais ao se comparar com o estudo realizado por Araújo et al. (2011), o que pode ser explicado, segundo Filtenborg et al. (1996) e Medina et al. (2006), pelo fato destes organismos crescerem em ambientes que outros microrganismos são incapazes de colonizar devido a capacidade que eles têm de utilizar os mais diversificados substratos para o seu crescimento e desenvolvimento.

Dessa maneira, pode-se dizer que independentemente das baixas concentrações de oxigênio medidas, estes valores não interferiram no desenvolvimento das UFCs dos fungos totais, como também no processo de degradação biológica dos RSU, visto que estes microrganismos são adaptados para se desenvolverem em diversos ambientes, inclusive, com flutuações significativas nas concentrações de oxigênio (GOMES et al, 2016).

3.3 Concentração de Dióxido de Carbono

O dióxido de carbono (CO₂) é outro substrato que os fungos podem utilizar como rota metabólica para o seu desenvolvimento, e age no seu comportamento ora os estimulando, ora os inibindo. Na Figura 5 é mostrado o comportamento deste gás no interior da célula experimental.

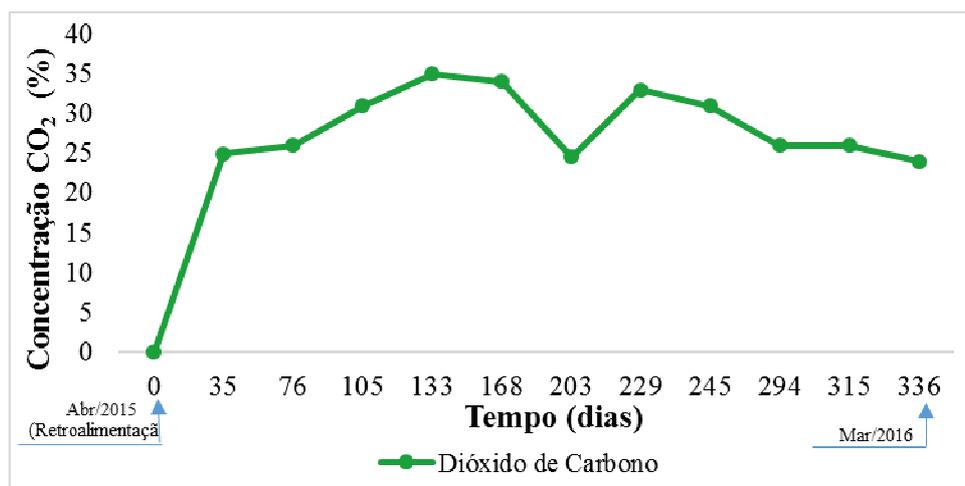


Figura 5: Concentrações de CO₂ no interior da célula experimental. Fonte: GGA (2016).

As concentrações de dióxido de carbono no interior da célula experimental variavam entre 0-35% durante o período de monitoramento. De acordo com Tchobanoglous et al. (1993), as mais elevadas concentrações de CO₂ no processo de bioestabilização de RSU se fazem presentes na fase ácida deste processo e tendem a reduzir com o passar do tempo. No início, aos 35, 76, 203, 294, 315 e 336 dias de monitoramento do sistema experimental, verificam-se concentrações de CO₂ entre 0-24% o que favoreceu o desenvolvimento de diversas colônias de fungos totais (Figura 3), isso porque, conforme Gibb e Walsh (1980), níveis de dióxido de carbono entre 4-20% podem ser estimulantes para o crescimento de fungos em diversas atmosferas, inclusive, contendo baixos níveis de O₂, como é o caso da célula experimental estudada (Figura 4).

Segundo Zardetto (2005) e Taniwaki et al. (2009), concentrações maiores que 40% de CO₂ em diferentes ambientes podem inibir substancialmente o desenvolvimento da maioria dos fungos. Observando a Figura 5, percebe-se que concentrações como estas não foram mensuradas, beneficiando dessa forma o desenvolvimento destes organismos no interior da célula experimental, e assim contribuindo para o processo biodegradativo dos RSU, uma vez que, conforme Santaella et al. (2005), os fungos são organismos que vem se mostrando hábeis em degradar compostos xenobióticos e outros de grandes cadeias moleculares que, em geral, são de difícil degradação.

4. CONCLUSÃO

- Apesar das baixas concentrações aferidas de oxigênio e as elevadas concentrações de dióxido de carbono obtidas, pode-se concluir que em todos os níveis de profundidade da célula experimental o crescimento dos fungos totais com o passar do tempo aconteceu de forma satisfatória comparado a estudos desenvolvidos em condições semelhantes as estudadas nesse trabalho.

- O oxigênio se fez presente durante todo o período de monitoramento, porém com o passar do tempo tendeu à reduzir-se, e mesmo nos dias em que foram aferidas baixas concentrações desse gás, houve a presença de fungos leveduriformes e filamentosos.

- O dióxido de carbono apresentou durante o monitoramento concentrações variando entre 0-35%, e estes valores não inibiram o desenvolvimento dos fungos totais no interior da massa de resíduos aterrada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aires, K. O. **Monitoramento das concentrações de gases em uma célula experimental de resíduos sólidos urbanos na cidade de Campina Grande – PB**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, 2013. 118 p.
2. Araújo, M. V. et al. **A influência da temperatura no crescimento fúngico em um biorreator de resíduos sólidos urbanos na cidade de Campina Grande-PB**. In: 26º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Porto Alegre/RS. ABES, 2011. 5 p.
3. APHA; AWWA; WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22 edition. Washington: APHA, 2012. 1496 p.

4. Castilhos Jr, A. B. et al. **Principais processos de degradação de resíduos sólidos urbanos. Resíduos sólidos urbanos: aterro sustentável para municípios de pequeno porte.** Rio de Janeiro: ABES, Projeto PROSAB, 2003.
5. Filtenborg, O. et al. **Moulds and food spoilage.** International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 33, n. 1, p. 85-102, 1996.
6. Gibb, E.; Walsh, J. H. **Effect of nutritional factors and carbon dioxide on growth of Fusarium moniliforme and other fungi in reduced oxygen concentrations.** Transactions of the British Mycological Society, v. 74, n. 1, p. 111-118, 1980.
7. Gomes, N. A. et al. **Comportamento de Fungos Totais na degradação de resíduos sólidos urbanos em uma célula experimental.** In: I Congresso Nacional de Pesquisa e Ensino em Ciências (CONAPESC). Campina Grande/PB, 2016. 12 p.
8. Medina, A. et al. **Survey of the mycobiota of Spanish malting barley and evaluation of the mycotoxin producing potential of species of Alternaria, Aspergillus and Fusarium.** International Journal Food Microbiology, Amsterdam, v. 108, n. 2, p. 196-203, 2006.
9. Melo, M. C. **Uma análise de recalques associada à biodegradação no aterro de resíduos sólidos da Muribeca.** 2003. 141fls. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Civil), Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.
10. Santaella, S. T. et al. **Remoção de fenol em reatores biológicos com fungos (RBF) utilizando meio suporte e água residuária sintética.** In: 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental (CBESA). Campo Grande/MS. ABES, 2005. 5 p.
11. Takaya, N. **Dissimilatory nitrate reduction metabolisms and their control in fungi.** Journal of Bioscience and Bioengineering, v. 94, n. 6, p. 506-510, 2002.
12. Taniwaki, M. H. et al. **Growth and mycotoxin production by food spoilage fungi under high carbon dioxide and low oxygen atmospheres.** International journal of food microbiology, v. 132, n. 2, p. 100-108, 2009.
13. Tchobanoglous, G. et al. **Integrated Solid Waste Management: Engineering Principles and Management Issues.** Part V. Closure, Restoration and Rehabilitation of Landfills. Ed. McGraw-Hill. 1993.
14. Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). **Fungos.** Disponível em: <http://enq.ufsc.br/labs/probio/disc_eng_bioq/trabalhos_pos2003/const_microorg/fungos.htm>. Acesso em 29 de mai. 2016.
15. Zardetto, S. **Effect of modified atmosphere packaging at abuse temperature on the growth of Penicillium aurantiogriseum isolated from fresh filled pasta.** Food microbiology, v. 22, n. 4, p. 367-371, 2005.