



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**  
**CAMPUS CURITIBA**  
**DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA**  
**CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM QUÍMICA AMBIENTAL**

**MARIA CAROLINA MENDES SCHÖN**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DOS DIFERENTES MEIOS DE SUPORTE DE UMA  
ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE EFLUENTES POR ZONA DE RAÍZES DE FLUXO  
VERTICAL**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**CURITIBA**

**2011**

**MARIA CAROLINA MENDES SCHÖN**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DOS DIFERENTES MEIOS DE SUPORTE DE UMA  
ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE EFLUENTES POR ZONA DE RAÍZES DE FLUXO  
VERTICAL**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso Superior de Tecnologia em Química Ambiental do Departamento de Química e Biologia – DAQBI – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo.

Orientadora: Profa. Dra. Tamara Simone van Kaick

Co-orientador: Bruno Dias

**CURITIBA**

**2011**

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**MARIA CAROLINA MENDES SCHÖN**

### **ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DOS DIFERENTES MEIOS SUPORTES DE UMA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE EFLUENTES POR ZONA DE RAÍZES DE FLUXO VERTICAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do grau de TECNÓLOGO EM QUÍMICA AMBIENTAL do Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBI) do Câmpus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR e APROVADO pela seguinte banca examinadora:

**Membro 1** – PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. CLAUDIA REGINA XAVIER  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)  
Departamento Acadêmico de Química e Biologia

**Membro 2** – PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. ADRIANE MARTINS DE FREITAS  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)  
Departamento Acadêmico de Química e Biologia

**Orientadora** – PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. TAMARA SIMONE VAN KAICK  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)  
Departamento Acadêmico de Química e Biologia

**Coordenadora de Curso** – PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. VALMA MARTINS BARBOSA

Curitiba, 05 de dezembro de 2011

## RESUMO

SCHÖN, Maria Carolina M. Avaliação microbiológica dos estratos de uma estação de tratamento de efluentes por zona de raízes de fluxo vertical. 2011. 44 p. Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia em Química Ambiental) – Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2001

A Estação de Tratamento de Esgoto - ETE por zona de raízes é um *wetland* construído, composto por meios suporte e com vegetação em sua superfície. Próximo as raízes das plantas ocorre a adesão de microrganismos formando um biofilme que auxilia na depuração do esgoto, e é nesta região que ocorrem associações e reações importantes, o que dá o nome do sistema como zona de raízes. O objetivo do trabalho foi estimar a densidade de microrganismos de uma estação de tratamento por zona de raízes em seus diferentes meios suporte: zona de raízes, brita e areia, para compreender a dinâmica dos microrganismos no sistema. Os resultados das análises de contagem de placas para fungos e bactérias heterotróficas apontaram diferenças na densidade desses microrganismos nos diferentes meios suporte. O método do número mais provável indicou pouca variação para *E. coli* e Coliformes totais. Os resultados relativos as bactérias sulforedutoras variaram apenas em uma coleta apresentando densidades baixas, as bactérias redutoras de nitrato também apresentaram valores baixos em relação as bactérias desnitrificantes. Os fungos e as bactérias heterotróficas foram encontrados em maior densidade no meio suporte da zona de raízes; e as bactérias desnitrificantes, sulforedutoras, *Escherichia Coli* e Coliformes totais não apresentaram variações significativas em relação a sua densidade nos diferentes meios suporte, variando de forma similar e regular nos mesmos. As bactérias redutoras de nitrato variaram a sua densidade de forma irregular nos diferentes meios de suporte, indicando que provavelmente é a relação de oxigênio que induz esta variação.

Palavras chave: *Wetlands*. Zona de raízes. Tratamento de efluentes. Microrganismos.

## ABSTRACT

SCHON, Maria Carolina M. Microbiological evaluation of the layers of a wastewater treatment plant by the root zone of vertical flow. 2011. 44 P. Completion of coursework (Technology in Environmental Chemistry) - Academic Department of Chemistry and Biology, Federal Technological University of Parana. Curitiba, 2001.

The Sewage Treatment Plant - WTP root zone is a constructed wetland, composed of substrate and with vegetation on its surface. Next plant roots is the adhesion of microorganisms forming a biofilm that aids in the clearance of sewage, and is occurring in this region associations and important reactions, which gives the name of the system as the root zone. The objective of this study was to estimate the density of microorganisms from a treatment plant for the root zone at different media support: the root zone, gravel and sand, to understand the dynamics of microorganisms in the system. The results of the analysis of plate count for fungi and heterotrophic bacteria showed differences in the density of these organisms in different media support. The most probable number method indicated little variation for *E. coli* and total coliforms. The results for bacteria sulforeductoras varied only in a collection featuring low densities, the nitrate-reducing bacteria also showed low values in relation to the denitrifying bacteria. Fungi and heterotrophic bacteria were found in greater density in the middle of the root zone support, and denitrifying bacteria, sulforeductoras, total coliforms and *Escherichia coli* did not show significant variations with respect to their density in different media support, varying similarly and regulate the same. The nitrate-reducing bacteria varied the density of irregular shape in the different means of support, indicating that probably is the ratio of oxygen that induces this variation.

Keywords: *Wetlands*. Root zone. Wastewater treatment. Microorganisms

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema simplificado de escoamento superficial.....	19
Figura 2: Esquema simplificado de escoamento sub-superficial.....	19
Figura 3: Esquema simplificado de um sistema de tratamento por zona de raízes.....	21
Figura 4: Esquema da ETE por zona de raízes utilizada no estudo.....	27
Figura 5: Fluxograma dos componentes do sistema por zona de raízes.....	28
Figura 6: Esquema de amostragem no sistema.....	29
Figura 7: Comparação entre as raízes de <i>Zantedeschia</i> sp.....	30

## LISTA DE GRÁFICOS

Grafico 1: Densidade de bactérias heterotróficas em todos os pontos por coleta.....	35
Grafico 2: Densidade de fungos totais em todos os pontos por coleta.....	36
Gráfico 3: Densidade de bactérias redutoras de nitrato – Coletas 1, 2, 3, 6 e 7.....	39
Grafico 4: Densidade de bactérias redutoras de nitrato – Coletas 4 e 5.....	39

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Principais sistemas de tratamento biológico de efluentes.....	16
Quadro 2: Principais funções das Macrófitas nos <i>wetlands</i> construídos.....	23

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Datas das coletas e número de pontos .....	30
Tabela 2: Diluições das amostras por pontos .....	30

## LISTA DE ABREVIATURAS

C1- COLETA 1

C2 – COLETA 2

C3 – COLETA 3

C4 – COLETA 4

C5 – COLETA 5

C6 – COLETA 6

C7 – COLETA 7

EB – ESGOTO BRUTO

*E.coli - Escherichia coli*

ET – EFLUENTE TRATADO

ETE – ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO

FAA – FILTRO DE AREIA A

FAB – FILTRO DE AREIA B

FAC – FILTRO DE AREIA C

FV – FLUXO VERTICAL

ZRA – ZONA DE RAÍZES A

ZRB- ZONA DE RAÍZES B

ZRC – ZONA DE RAÍZES C

## LISTA DE SIGLAS

AS- AGAR SABOURAUD

DBO- DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO

DQO- DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO

ETE– ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE EFLUENTES

FUNASA - FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE

IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA

NMP- NÚMERO MAIS PROVÁVEL

PCA - PLATE COUNT AGAR

PH – POTENCIAL HIDROGENIÔNICO

PVC - POLICLORETO DE VINILA

UFC - UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIA

USEPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>1.1. OBJETIVO</b>	<b>15</b>
1.1.1. Objetivos específicos	15
<b>1.2. JUSTIFICATIVA</b>	<b>15</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>16</b>
<b>2.1. ESGOTO</b>	<b>16</b>
<b>2.2. CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO TRATAMENTO DE EFLUENTES DOMÉSTICOS</b>	<b>16</b>
<b>2.3. SISTEMAS WETLANDS</b>	<b>18</b>
2.3.1. Wetlands naturais	19
2.3.2. Wetlands construídos	19
2.3.3. Fluxos hidráulicos	20
<b>2.4. CARACTERÍSTICAS GERAIS DO WETLAND CONSTRUÍDO DO TIPO SISTEMA DE TRATAMENTO EFLUENTES POR ZONA DE RAÍZES</b>	<b>21</b>
2.4.1. Material de recheio dos estratos da ETE por zona de raízes	22
2.4.2. Vegetação	23
2.4.3. Microbiota	24
<b>2.5. MECANISMOS DE RETENÇÃO E REMOÇÃO DE NUTRIENTES DA ETE POR ZONA DE RAÍZES</b>	<b>25</b>
2.5.1. Remoção de material carbonáceo	25
2.5.2. Transformações do Nitrogênio	26
2.5.3. Transformações do fósforo	27
2.5.4. Transformações do enxofre	27
<b>3. METODOLOGIA</b>	<b>28</b>
<b>3.1. LOCALIZAÇÃO DO ESTUDO DE CASO</b>	<b>28</b>
<b>3.2. METODOLOGIA DE AMOSTRAGEM</b>	<b>29</b>
<b>3.3. ESTMATIVA DA DENSIDADE DA MICROBIOTA</b>	<b>31</b>
3.3.1. Estimativa da densidade de bactérias heterotróficas	31
3.3.2. Estimativa da densidade de fungos totais	32
3.3.3. Estimativa de coliformes totais e <i>E. coli</i>	32

3.3.4.	Estimativa de bactérias redutoras de nitrato	33
3.3.5.	Estimativa de bactérias desnitrificantes	33
3.3.6.	Estimativa de bactérias redutoras de sulfato	34
<b>4.</b>	<b>DISCUSSÃO E RESULTADOS</b>	<b>34</b>
4.1.	MÉTODO DE COLETA	34
4.2.	ESTIMATIVA DA DENSIDADE DA MICROBIOTA DOS DIFERENTES MEIOS DE SUPORTE DA ESTAÇÃO.	35
4.2.1.	Estimativa da densidade de bactérias heterotróficas	35
4.2.2.	Quantificação de fungos totais	36
4.3.	RESULTADOS DO MÉTODO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP)	38
4.3.1.	Estimativa do número mais provável de E. coli e Coliformes totais.	38
4.3.2.	Estimativa do número mais provável de bactérias redutoras de nitrato	39
4.3.3.	Estimativa do número mais provável de bactérias desnitrificantes.	41
4.3.4.	Estimativa do número mais provável de bactérias sulforedutoras	41
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>41</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>43</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A falta de saneamento básico é um fato a ser considerado nos países em desenvolvimento. No caso do Brasil, o esgotamento sanitário atende pelo menos 51,6% da população urbana por meio de rede coletora, e 23,3% utilizam fossa séptica, enquanto que na zona rural apenas 3,7% da população possui o esgotamento sanitário sendo realizado por meio de rede coletora, e 12,3% utiliza a fossa séptica (IBGE, 2004).

A carência de saneamento básico implica não só na falta de saúde da população assim como afeta a questão ambiental, sendo responsável pela poluição dos corpos hídricos. Os autores Soares, Bernardes e Netto (2002) afirmam que o esgotamento sanitário inadequado poderá induzir a uma deterioração do corpo receptor (rios, lagos, mares, represas), inviabilizar a vida aquática e ainda prejudicar outros usuários da água e outras espécies de animais e vegetais.

O sistema de Estação de Tratamento de Efluentes - ETE por zona de raízes pode ser uma alternativa para problemas de falta de saneamento básico para o Brasil, pelo fato de apresentar eficiência no tratamento de efluente doméstico, remoção considerável de material orgânico e sólidos suspensos e, além de ocupar pouco espaço, apresenta potencial estético (VAN KAICK, 2002; PHILIPPI & SEZERINO, 2004).

A Estação de Tratamento de Esgoto - ETE por zona de raízes é um sistema *wetland*, no qual os princípios de depuração de águas residuárias por meio da ciclagem dos nutrientes é feita na zona de raízes, e a microbiota existente nos estratos (areia, brita, zona de raízes) possuem diferentes microrganismos que atuam de diversas formas para a ciclagem e remoção de material orgânico (PHILIPPI & SEZERINO, 2004).

O estudo da microbiota atuante no sistema é uma forma de entender como os mesmos atuam e influenciam no processo de depuração dos esgoto no sistema de *wetlands* construídos como é a ETE por zona de raízes, sendo que o papel da microbiota é fundamental uma vez que proporciona redução de material carbonáceo, nitrificação e desnitrificação (bactérias) (PHILIPPI & SEZERINO, 2004). Há também a influência dos protozoários e micrometazoários favorecendo o equilíbrio ecológico do

sistema, reduzindo a turbidez no efluente, aumentando a penetração de oxigênio e auxiliando na produção de floco do material suspenso (BENTO *et al*, 2002).

### 1.1. OBJETIVO

O estudo em questão visa estimar a densidade da microbiota presente no substrato de uma estação de tratamento de efluente por zona de raízes.

#### 1.1.1. Objetivos específicos

- I. Definir um processo apropriado para coleta de amostras para testes microbiológicos do sistema de zona de raízes em seus diferentes meios de suporte.
- II. Relacionar os diferentes meio de suporte da estação de acordo com as variáveis microbiológicas para bactérias heterotróficas, fungos totais, coliformes totais e *E. coli*, redutoras de nitrato, desnitrificantes e sulfobactérias.

### 1.2. JUSTIFICATIVA

O estudo da microbiota presente no sistema de zona de raízes é uma pesquisa relativamente inédita, devido ao fato do sistema de *wetlands* ser recentemente aplicado no Brasil, posto que não existem muitos dados e estudos relacionados ao tema. Considerando que os fatores biológicos deste tipo de sistema são cruciais para seu desenvolvimento, esta pesquisa procura estimar a densidade dos microrganismos presentes nos diferentes meio suporte de uma ETE por zona de raízes de fluxo vertical, que está em atividade há 10 anos.

Além do estudo da microbiota, o presente trabalho visa determinar um método de coleta e avaliação da metodologia de amostragem, a fim de compreender a dinâmica da microbiota nos diferentes meios de suporte da estação de tratamento por zona de raízes. A partir da caracterização microbiológica do sistema em questão pode-se estudar a inclusão de espécies alóctones bem como melhoramentos relativos à eficiência da zona de raízes.

Sendo o Brasil uma nação que ainda sofre com a carência de saneamento e com isto compromete a saúde da população e a degradação dos corpos hídricos, vê-se necessidade em adaptar e implantar sistemas alternativos de tratamento de efluentes para inúmeras comunidades com a finalidade de melhorar as condições ambientais e sanitárias do país. Portanto, este estudo da dinâmica microbiológica da ETE por zona de raízes, trata-se não apenas de uma pesquisa para a melhoria desses sistemas, mas também uma forma de promover os sistemas alternativos de tratamento de efluentes domésticos e torná-los opções viáveis e práticas para a sociedade.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. ESGOTO**

Esgoto são águas servidas dispensadas após sua utilização. São divididos em três grupos: sanitário, industrial e doméstico. O esgoto sanitário trata-se do despejo líquido constituído em sua maior parte de esgotos domésticos e industriais lançados na rede pública, água de infiltração e a parcela de contribuição pluvial parasitária, que se constitui pela vazão extra de origem pluvial absorvida pela rede coletora de esgoto. Esgoto industrial é o resultante de procedimento industrial, com características muito específicas relativas a cada tipo de indústria. Esgoto doméstico é o despejo líquido resultante do uso da água para higiene e necessidades fisiológicas. Compostos basicamente, das águas de banho, urina, fezes, restos de comida, sabões, detergentes e águas de lavagem (FUNASA, 2006).

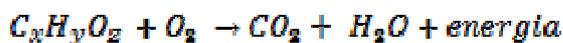
### **2.2. CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO TRATAMENTO DE EFLUENTES DOMÉSTICOS**

O tratamento do efluente doméstico se faz necessário quando não há rede coletora ou em caso de reutilização. Os tratamentos em sua grande maioria são realizados por associações de microrganismos capazes de utilizar a energia disponível no esgoto para seu crescimento (CHEREMISINOFF, 1996; VON

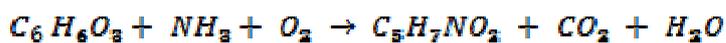
SPERLING, 2005). As bactérias apresentam metabolismo aeróbio (presença de oxigênio) ou anaeróbio (ausência de oxigênio). Existem as facultativas, que apresentam metabolismo anaeróbio e aeróbio. Comparando as duas formas de metabolismo, a aeróbia é energeticamente mais eficiente. Nos sistemas anaeróbios, a maior parte do material orgânico biodegradável é convertida em biogás indisponível para o crescimento da biomassa bacteriana (CHERNICHARO *et al.*, 2001).

Segundo Cheremisinoff (1996) as reações metabólicas que ocorrem no tratamento biológico de efluentes se dividem em oxidação, síntese e respiração endógena. No geral o processo acontece em três fases:

Oxidação da matéria orgânica (respiração)



Síntese do material celular



Oxidação do material celular



Alguns dos principais sistemas de tratamento biológico encontram-se listados a seguir (Quadro 1) bem como uma descrição sucinta do tratamento.

Sistema	Descrição
Filtro Biológico	Substrato (solo, brita, areia ou material sintético) coberto por biofilme
Lodo Ativado	Microrganismos aeróbios suspensos no efluente
Lagoa Aerada	Represamento relativamente raso com aeração mecânica
Lagoa de Estabilização	Represamento raso aerado - crescimento de algas e a simbiose entre bactérias e algas

**Quadro 1: Principais sistemas de tratamento biológico de efluentes**

Fonte: Adaptado de Cheremisinoff (1996);

Basicamente, qualquer sistema de tratamento biológico de águas residuárias consiste em proporcionar um meio ideal para o crescimento do biofilme. Cada sistema tem suas características específicas, mas todos visam à retirada da “energia” presente nessas águas/efluentes (MONTEIRO, 2009).

Os sistemas de tratamento a serem adotados dependem dos poluentes presentes nos efluentes e da quantidade deles que se pretende remover. Os efluentes domésticos apresentam 99,9% de água enquanto que os 0,1% restantes são sólidos (MONTEIRO, 2009). Esses sólidos representam o material orgânico e inorgânico, microrganismos, óleos e graxas, nutrientes, metais e demais elementos. A característica desses efluentes é definida pelos parâmetros: Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Carbono Orgânico Total (COT), nitrogênio (orgânico, amoniacal, nitrito e nitrato), fósforo (solúvel e particulado), enxofre (sulfato e sulfeto), sólidos (fixos e voláteis), material solúvel em hexano (MSH), surfactantes, coliformes totais, coliformes termotolerantes, turbidez, cor, pH, alcalinidade entre outros (MONTEIRO, 2009).

### 2.3. SISTEMAS WETLANDS

As zonas úmidas naturais são utilizadas como ponto de descarga desde o início do século XX. Segundo Salatti (2003), o termo de origem inglesa *wetlands* significa áreas alagáveis e é utilizado para caracterizar inúmeros ecossistemas naturais posto sua parcial ou total inundação durante o ano. A utilização de plantas aquáticas macrófitas para tratamento de esgotos já era conhecida anteriormente pelos Astecas além de literaturas que datam a utilização das zonas úmidas para tal fim, nos Estados Unidos, desde 1912. No entanto, sua utilização como sistema de tratamento de esgoto aplicado ao conceito ecológico iniciou-se nos EUA, a partir de seu monitoramento, na década de 70. Porém, a descarga de efluentes em sistemas naturais como as zonas úmidas apresentava distúrbios na dinâmica natural ecossistêmica o que não caracterizava uma alternativa ecologicamente correta.

A partir daí foram iniciadas pesquisas de sistemas contendo os mesmos elementos (solo, plantas, regime hidráulico e fauna) de forma controlada, e foram chamados de wetlands construídos ou método de zona de raízes, utilizados na remoção de fenóis e no tratamento de efluentes de usinas de processamento de leite, na década de 60, pelos pesquisadores alemães Siedel e Kickuth. Atualmente, países como Alemanha, Inglaterra e Áustria, possuem mais de 300 sistemas de zona de raízes instalados em seus territórios (PHILIPPI & SEZERINO, 2004).

Os sistemas *wetlands* também chamados zona de raízes, na sua forma natural, consistem num ecossistema de transição entre os ambientes terrestre e aquático. Constituem áreas inundáveis, onde há interação de processos e agentes para a ciclagem de nutrientes. Um dos principais elementos desta ciclagem é a estratificação aeróbia e anaeróbia dos sedimentos (PHILIPPI & SEZERINO, 2004).

O tratamento do esgoto envolve duas etapas: o tratamento primário (fossa séptica) e o secundário (ETE por meio de zona de raízes). O efluente resultante do tratamento pode ser devolvido ao meio ambiente, apresentando uma redução de matéria orgânica e sólidos sedimentáveis, evitando a contaminação do corpo d'água ao qual será lançado com estes elementos (VAN KAICK, 2002).

Os *wetlands* construídos são classificados em: sistema de lâmina livre ou escoamento superficial e sistema de escoamento sub-superficial. Outro fator que diferencia os sistemas é o fluxo, que pode ser vertical, horizontal ou misto (PHILIPPI & SEZERINO, 2004).

#### 2.3.1. Wetlands naturais

Os *wetlands* naturais (banhados e pântanos) podem ser utilizados para o tratamento de esgotos uma vez que este é disposto diretamente nas áreas de várzea de forma controlada quanto à infiltração do efluente (PHILIPPI & SEZERINO, 2004).

#### 2.3.2. Wetlands construídos

Os *wetlands* construídos são divididos, basicamente em dois grupos:

Sistemas de lâmina livre ou escoamento superficial:

Consistem de um reservatório construído no solo para suporte e desenvolvimento das raízes de macrófitas. O nível da água e do efluente é controlado. Este tipo de sistema *wetland* se assemelha em algumas propriedades, às lagoas facultativas, porém, em zonas de profundidade tem propriedade em comum com lagoas anaeróbias (PHILIPPI & SEZERINO, 2004).



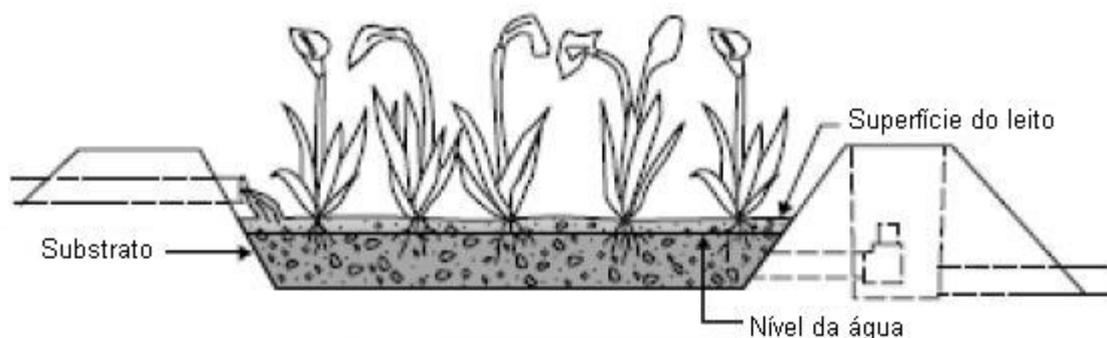
**Figura**

**1: Esquema simplificado de escoamento superficial**

Fonte: Adaptado de Tomaz (2009)

Sistemas de escoamento sub-superficial – filtros plantados com macrófitas:

São sistemas de *wetlands* construídos compostos de material de recheio cuja função é dispor o efluente promovendo sua percolação. O material de recheio funciona como um filtro e também como suporte para as macrófitas ali plantadas (PHIPILLI & SEZERINO, 2004).



**Figura 2: Esquema simplificado de escoamento sub-superficial**

Fonte: Adaptado de Tomaz (2009)

**2.3.3. Fluxos hidráulicos**

Para promover condições específicas de desenvolvimento microbológico e das plantas escolhidas para sistemas de escoamento sub-superficial incluindo também a indução de diferentes vias de depuração, como ambientes aeróbios, anaeróbios e anóxicos, utilizam-se os fluxos hidráulicos para possibilitar tais efeitos no sistema (PHIPILLI & SEZERINO, 2004).

Os *wetlands* construídos de escoamento sub-superficial são classificados conforme:

#### Sistemas de fluxo horizontal

Neste tipo de sistema o efluente a ser tratado é disposto na porção inicial do leito – zona de entrada - percolando vagarosamente através do material filtrante até atingir a porção final do sistema - zona de saída. Esta percolação tende a seguir na horizontal sendo impulsionada por uma declividade de fundo (PHIPILLI & SEZERINO, 2004).

De acordo com Cooper (1999) as camadas mais profundas são anaeróbias e anóxicas enquanto que a camada aeróbia é mais evidente nas raízes uma vez que estas tendem a transportar oxigênio da parte aérea para as raízes.

#### Sistemas de fluxo vertical

Os sistemas de fluxo vertical consistem em módulos escavados no terreno, preenchidos com material de recheio (em geral brita e areia) com impermeabilização de fundo. O efluente é disposto, intermitentemente, sob a superfície, inundando-a e percolando de forma vertical ao longo de todo perfil do sistema sendo coletado no fundo através de um sistema de drenagem ou coleta (PHILIPPI & SEZERINO, 2004). A ETE por zona de raízes, desta pesquisa, faz parte desta classificação dos *wetlands* construídos de fluxo sub superficial vertical.

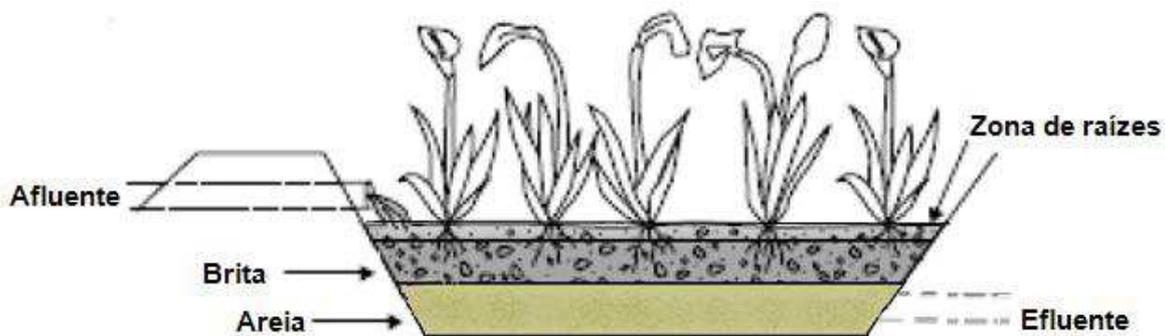
#### Sistemas híbridos

Sistemas híbridos ou combinados são a junção dos sistemas anteriores – vertical e horizontal, de forma a combinar vantagens e desvantagens de ambos para aumentar a eficiência do tratamento.

### 2.4. CARACTERÍSTICAS GERAIS DO WETLAND CONSTRUÍDO DO TIPO SISTEMA DE TRATAMENTO EFLUENTES POR ZONA DE RAÍZES

O sistema de tratamento de efluentes por zona de raízes é um sistema físico-biológico que atua de acordo com a lógica dos biofiltros. O esgoto bruto é lançado

através de uma rede de tubulações perfuradas que é instalada logo abaixo da zona de raízes. A área plantada é dimensionada de acordo com a demanda de esgoto já pré-determinada (VAN KAICK, 2002). Uma vez que a ETE por zona de raízes é um *wetland* construído, sua composição básica compreende material de recheio, plantas com aerênquima desenvolvido e biofilme desenvolvido em torno das raízes (rizosfera). O solo é impermeabilizado com material sintético. Esses componentes são adaptados de acordo com a vazão e o tipo de efluente a ser tratado. Outros componentes de suma importância no estudo das ETE por zona de raízes são o clima e as interações naturais entre todos os aspectos do sistema (USEPA, 1995).



**Figura 3: Esquema simplificado de um sistema de tratamento por zona de raízes.**  
Fonte: Adaptado de Tomaz (2009)

Os sistemas de tratamento por zona de raízes ou *wetlands* contruídos são sistemas passíveis de adaptação para melhor desenvolver o tratamento para o qual é escolhido.

#### 2.4.1. Material de recheio dos estratos da ETE por zona de raízes

O material de recheio possui diversas funções, como: condutividade hidráulica; distribuir o afluente de forma uniformizada; proporcionar área superficial para o crescimento do biofilme; efeito filtrante; substrato para a flora da ETE; sorção de poluentes entre outras (MONTEIRO, 2009). Uma vez que a ETE por zona de raízes se baseia no processo de filtração a escolha do tipo de material de recheio a ser empregado está diretamente relacionada com a finalidade do tratamento (PHILIPPI & SEZERINO, 2004).

É necessário conhecimento com relação às características do material de recheio, pois se idealiza este a fim de que o mesmo possa manter boas condições de fluxo ao longo do tempo (dando longevidade à estação), permeabilidade elevada, alta capacidade de troca catiônica e alta atividade microbiológica. Outro fator de relevância na escolha é a viabilidade de custo do material, já que a ETE por zona de raízes propõem uma alternativa viável de tratamento de efluentes (PHILIPPI & SEZERINO, 2004; SILVA, 2007).

#### 2.4.2. Vegetação

A performance da ETE por zona de raízes depende de interações ecológicas semelhantes a das *wetlands* naturais, conseqüentemente, isso leva a selecionar uma vegetação com boa tolerância a saturação de água tornando as macrófitas indispensáveis para esse sistema de tratamento.

As macrófitas estabilizam a superfície do solo, contêm erosões, proporcionam melhor desempenho para o processo físico de filtração, previnem a colmatação em sistemas Fluxo Vertical- FV, disponibilizam área para aderência da microbiota nas raízes, promovem a aeração da rizosfera e ainda possuem potencial paisagístico (BRIX; 1994; PHILIPPI & SEZERINO; 2004).

Segundo van Kaick (2002), as bactérias se aderem às plantas da estação, recebendo oxigênio e conduzindo-o do caule e folhas até as raízes. Uma parcela do oxigênio pode sair do sistema radicular espalhando-se ao redor da rizosfera, propiciando oxigenação para os sedimentos e criando condições para a degradação da matéria orgânica e para o crescimento de bactérias nitrificantes (PARESCHI, 2004).

Propriedade das macrófitas	Ação de auxílio no tratamento de esgotos
Parte aérea (tecidos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Atenuação da luminosidade = redução do crescimento de fitoplâncton;</li> <li>- Redução da velocidade do vento = redução da resuspensão de material sólido (verificado em <i>wetlands</i> de escoamento superficial);</li> <li>- Potencial estético – embelezamento paisagístico</li> <li>- Armazenamento de nutrientes;</li> </ul>
Tecidos da planta em contato com a água (esgoto)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Promoção da filtração;</li> <li>- Redução da velocidade de escoamento = aumento da taxa de sedimentação e evita a resuspensão de sólidos;</li> <li>- Dispõem grande área para aderência de microrganismos;</li> <li>- Liberação de oxigênio devido a fotossíntese = aumento na taxa de degradação aeróbia da matéria orgânica;</li> <li>- Retirada de nutrientes;</li> </ul>
Raízes e rizomas em contato com o solo	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Prevenção contra erosão;</li> <li>- Prevenção contra a colmatagem em unidades de fluxo vertical;</li> <li>- Liberação de oxigênio = auxílio na degradação aeróbia da matéria orgânica e na nitrificação;</li> <li>- Retirada de nutrientes.</li> </ul>

**Quadro2: Principais funções das Macrófitas nos *wetlands* construídos**  
**Fonte: Olijnyk (2008).**

De acordo com Maier (2007), existem em torno de 150 espécies conhecidas para serem utilizadas nas ETEs por zona de raízes. Dentre elas, as mais utilizadas e de resultados conhecidos são *Phragmites australis*, *Typha latifolia*, *Acorus calamus*, *Íris pseudacorus* e *Schoenoplectus lacustris*.

De acordo com a literatura disponibilizada pela USEPA (1995) a escolha da vegetação pode variar, e espécies locais podem ser utilizadas desde que tenham o perfil para permanecerem ativas na estação.

#### 2.4.3. Microbiota

Sendo a ETE um conjunto de estratos onde ocorrem diferentes reações físicas, químicas e biológicas o papel da microbiota é fundamental no processo de tratamento. Dos inúmeros grupos de microrganismos atuantes na ETE por zona de raízes, as bactérias são as mais representativas, atuando nos processos de decomposição da matéria orgânica, nitrificação e desnitrificação (OLIJNYK, 2008). Além das bactérias há outros microrganismos de importância no processo de tratamento de esgoto, que

seriam, de acordo com Philippi & Sezerino (2004), os componentes da microfauna – protozoários e micrometazoários.

Seguindo a lógica dos filtros biológicos, ocorre, no meio suporte, a formação de um biofilme juntamente as raízes das plantas. O biofilme é formado por colônias de bactérias, protozoários, micrometazoários e outros microrganismos que degradam a matéria orgânica, transformando-a em sais inorgânicos de forma a disponibilizar nutrientes para as macrófitas (MARQUES, 1999). Há também o papel fundamental dos protozoários e micrometazoários favorecendo o equilíbrio ecológico do sistema, reduzindo a turbidez no efluente, aumentando a penetração de oxigênio e auxiliando na produção de floco do material suspenso (BENTO *et al*, 2002).

Segundo van Kaick (2002) a área ao redor das raízes – rizosfera – pode aumentar a densidade de bactérias, não obstante, o fato do fornecimento de água ser proveniente do esgoto também interfere na densidade de bactérias aumentando-a consideravelmente.

## 2.5.MECANISMOS DE RETENÇÃO E REMOÇÃO DE NUTRIENTES DA ETE POR ZONA DE RAÍZES

Os aspectos biogeoquímicos da ETE por zona de raízes são um emaranhado de complexas relações entre o sistema como um todo. Os principais ciclos biogeoquímicos envolvidos no sistema de ETE por zona de raízes são relativos aos principais elementos que permitem ao sistema sua funcionalidade quanto à depuração de efluentes.

### 2.5.1. Remoção de material carbonáceo

De acordo com Ricklefs (1996) três grandes classes de processos são responsáveis pela reciclagem do carbono nos sistemas aquáticos e terrestres. Em primeira estância têm-se a classe de processos assimilativos e desassimilativos de carbono na fotossíntese e na respiração. A segunda classe trata-se de processos que incluem a troca física de dióxido de carbono entre a atmosfera e corpos hídricos e a

terceira trata-se da classe de processos relativa à dissolução e deposição de carbonato como sedimentos.

O ciclo do carbono dentro da ETE funciona, de forma genérica, através da utilização das formas de carbono orgânico como fonte de energia para organismos heterotróficos bem como a utilização do carbono inorgânico como fonte de energia para organismos autotróficos.

De forma geral, o material carbonáceo presente na ETE é degradado em sua maior parte por processos aeróbios através dos microrganismos aderidos ao material filtrante e as raízes da vegetação. A degradação anaeróbia torna-se predominante quando o oxigênio é um fator limitante nas ETEs por zona de raízes (PHILIPPI & SEZERINO; 2004)

### 2.5.2. Transformações do Nitrogênio

O nitrogênio, em sistemas por zona de raízes, encontra-se nas formas orgânicas e inorgânicas e as proporções destes são baseadas no tipo de efluente que alimenta o sistema (REDDY, 2000). A remoção de nitrogênio é realizada por intermédio de bactérias, necessitando de diferentes espécies e metabolismos anaeróbio, aeróbio e anóxico. O ciclo do nitrogênio é dividido em três fases principais: amonificação, nitrificação e desnitrificação.

Quando no domínio biológico o nitrogênio possui mecanismos mais complexos que o ciclo do carbono (RICKLEFS, 1996). O ciclo inicia-se com a amonificação, no qual o N-orgânico é convertido em N-inorgânico através da hidrólise de proteínas e a oxidação de aminoácidos, resultando na produção de amônia, que é realizada por todos os organismos (RICKLEFS, 1996). Segundo Reddy (2000) a taxa de amonificação em *wetlands* é dependente de fatores como a razão C/N (carbono/nitrogênio) residual, pH, temperatura, nutrientes disponíveis no solo bem como as condições deste (textura e estrutura).

A nitrificação consiste na oxidação do nitrogênio. Primeiramente a amônia é oxidada em nitrito em seguida o nitrito é oxidado formando nitrato. Esse processo ocorre através de bactérias específicas e em condições aeróbias. A oxidação do N-amoniaco para nitrito no solo se dá através da *Nitrosomonas*, e a oxidação do nitrito a nitrato se dá através da *Nitrobacter* (RICKLEFS, 1996; PHILIPPI & SEZERINO, 2004):

A desnitrificação ocorre também por processos biológicos, mediante bactérias quimioheterotróficas em ambiente anaeróbio (MONTEIRO, 2009). Uma das principais bactérias responsáveis por esse processo é a *Pseudomonas denitrificans* (RICKLEFS, 1996).

A desnitrificação se divide em duas fases, a primeira consiste na conversão de nitrato a nitrito e a segunda seria a redução do nitrito a óxido nítrico, na sequência, óxido nitroso e por fim, nitrogênio gasoso que é transferido à atmosfera (RICKLEFS, 1996; PHILIPPI & SEZERINO, 2004).

A assimilação de nitrogênio ocorre através das macrófitas, e é o mecanismo utilizado por estas para incorporar nitrogênio na sua biomassa. As formas de nitrogênio utilizadas são a amônia e o nitrato (PHILIPPI & SEZERINO; 2004)

### 2.5.3. Transformações do fósforo

O fósforo apresenta-se na forma particulada e solúvel e é um nutriente essencial para o crescimento de plantas e microrganismos. A remoção de fósforo ocorre por incorporação à biomassa, sendo removida junto com o biofilme. Assim como o nitrogênio, o fósforo pode estar na forma orgânica, e com a decomposição desse material, fica disponível na forma inorgânica.

Quando o sistema de tratamento almeja maior eficiência na remoção de fósforo, essa é alcançada com processos físico-químicos (precipitação e adsorção nos constituintes do material filtrante no caso de ETE por zona de raízes), seleção de bactérias acumuladoras de fósforo em lodos ativados e retenção em material com alta capacidade de troca iônica (cálcio, ferro, ou alumínio) (PHILIPPI & SEZERINO; 2004; MONTEIRO, 2009).

### 2.5.4. Transformações do enxofre

O enxofre tem vários estados de oxidação, isso implica não só na forma como será assimilado pelas plantas como também na interferência deste em outros ciclos de nutrientes (RICKLEFS, 1996). A forma mais oxidada do enxofre é o sulfato; as mais reduzidas são os sulfetos e a forma orgânica (que seriam os tióis).

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. LOCALIZAÇÃO DO ESTUDO DE CASO

A estação localiza-se no Condomínio Resort Fazenda no município de Piraquara e encontra-se em atividade há cerca de dez anos. Geograficamente, situa-se de acordo com as seguintes coordenadas 25°26'10.25"S e 49°02'24.31"O. O município está a 897 m de altitude e seu clima, segundo a classificação de Köppen, é temperado do tipo Cfb (com chuvas de verão e verões brandos).

As dimensões da estação são de 1m de profundidade, 2m de comprimento e 1m de largura totalizando um volume de 2m<sup>3</sup> e, de acordo com a classificação proposta para sistemas *wetlands*, é do tipo escoamento superficial de fluxo vertical. O esquema da ETE (Figura 5) do estudo de caso pode ser visualizado a seguir.

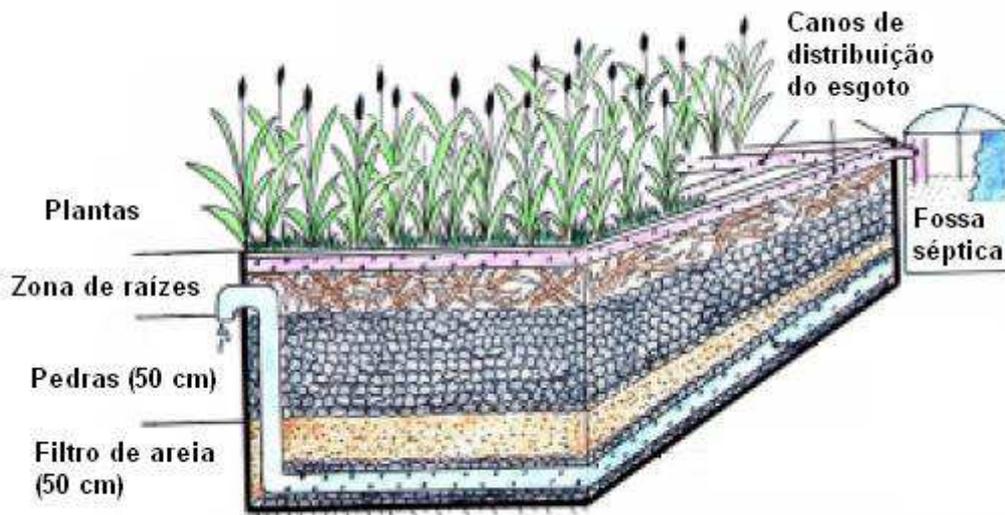


Figura 4: Esquema da ETE por zona de raízes utilizada no estudo.  
Fonte: Adaptado de van Kaick (2002)

A distribuição no sistema é feita através de um único cano que despeja o efluente bruto por toda a superfície da estação. A coleta do efluente tratado se dá através de canos situados abaixo do filtro de areia. O recheio da estação é composto por um estrato de brita nº 2 sobre um estrato de areia grossa, ambos possuem altura de 50 cm. A espécie vegetal utilizada para formação da zona de raízes é o copo de leite (*Zantedeschia ssp*). O copo-de-leite é considerado uma planta ornamental,

frequentemente utilizadas nas ETE por zona de raízes. Segundo Kaick (2002), o tempo de detenção hidráulica é de aproximadamente 3 dias. E o volume aproximado de entrada de 360 litros diários. O efluente tratado desta ETE vai para outra que está na sequência que recebe o efluente tratado da primeira. Desta segunda ETE o efluente vai para uma vala de infiltração no solo. O fluxograma abaixo exemplifica o esquema de passagem do efluente pelo sistema como um todo (Figura 6):



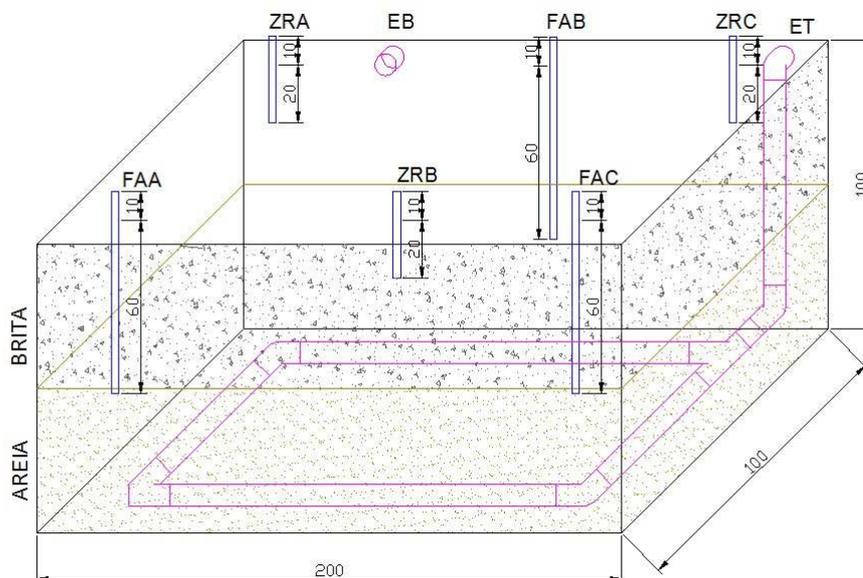
**Figura 5: Fluxograma dos componentes do sistema por zona de raízes.**

**Fonte: Autoria própria**

### 3.2. METODOLOGIA DE AMOSTRAGEM

Para obtenção de um número de coletas que abrangesse os diferentes estratos foram escolhidos oito (8) pontos sendo estes: três (3) pontos na zona de raízes (ZRA, ZRB E ZRC), três (3) no filtro de areia (FAA, FAB e FAC,) um no esgoto bruto (EB) e um no esgoto tratado (ET), sendo os dois últimos coletados diretamente dos seus respectivos canos de distribuição. O sistema de coleta, no geral é composto por 6 canos de PVC. Três dos canos possuem dimensões de 30 cm de comprimento por 20mm de diâmetro e os outros três 70 cm de comprimento por 20mm de diâmetro e

os canos relativos ao esgoto bruto e ao efluente tratado possuem 100 cm de diâmetro. Os canos correspondentes aos pontos da zona de raízes e do filtro de areia foram instalados de forma a proporcionar a coleta do efluente nos diferentes meios de suporte como no esquema (Figura 6) a seguir.



**Figura 6: Esquema de amostragem no sistema: ET (esgoto tratado); ZRA (zona de raízes A); ZRB (zona de raízes B); ZRC (zona de raízes C); FAA (filtro de areia A); FAB (filtro de areia B); FAC (filtro de areia C) e EB (esgoto bruto). As dimensões do esquema estão em centímetros. Fonte: Autoria própria**

Para a coleta do estrato zona de raízes-brita, os canos de 30 cm de comprimento tiveram 20 cm destes dispostos no estrato relacionado a Zona de raízes (ZR), a fim de possibilitar a coleta do líquido/efluente existente neste. Foram feitos 12 furos na parte posterior dos canos (parte esta que permaneceu enterrada no estrato). Na coleta do efluente no estrato correspondente ao filtro de areia foram utilizados canos de 70 cm. Foram enterrados 60 cm estação neste substrato ficando aproximadamente dez centímetros para fora do filtro a fim de possibilitar a coleta.

Os furos feitos nas extremidades inferiores têm 6 mm de diâmetro distando de 1 a 2,5 cm entre si. As extremidades superiores dos tubos permaneceram fechadas com copos plásticos pequenos durante os períodos onde não eram realizadas as coletas.

O período de amostragem iniciou-se em 21 de outubro de 2009 e seu término foi em 12 de novembro de 2010. As coletas foram bimestrais. A primeira coleta foi de quatro pontos para testar as diluições.

**Tabela 1:** Datas da coletas e número de pontos

Coletas (C)	Data	Pontos
C1	17/11/09	4
C2	03/12/09	8
C3	02/02/10	8
C4	30/04/10	8
C5	02/07/10	8
C6	03/09/10	8
C7	12/11/10	8

Fonte: Autoria própria

A análise das coletas realizadas para esta pesquisa foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Química e Biologia – DAQBI, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UTFPR do Câmpus Curitiba.

### 3.3. ESTMATIVA DA DENSIDADE DA MICROBIOTA

#### 3.3.1. Estimativa da densidade de bactérias heterotróficas

Para tal análise utilizou-se a técnica de espalhamento em meio sólido PCA (Plate Count Agar - Himedia) em triplicata. Com auxílio de micropipeta mecânica HTC (CI), 0,1 mL a amostra foi diluída de acordo com o ponto coletado, depositada em placa de Petri contendo meio sólido PCA e em seguida espalhado com alça de Drigalsky em ambiente estéril e incubada a 25°C. A temperatura de 25°C foi sugestão dada durante o pré-projeto, para tentar chegar a uma temperatura mais próxima da temperatura ambiente. As leituras foram feitas 24 horas depois do espalhamento. A unidade utilizada nos resultados foi a UFC.mL<sup>-1</sup> (NEDER, 1992; RIBEIRO & SOARES, 2002; APHA, 2005). Segue tabela apresentando as diluições utilizadas para cada ponto:

**Tabela 2:** Diluições das amostras para bactérias heterotróficas e fungos

Região de amostragem/Estrato		Diluições
Efluente Tratado	ET	Sem diluição (a), 10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup>
continua		

continua		
Zona de Raízes	ZRA	10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> , 10 <sup>-4</sup>
	ZRB	
	ZRC	
Filtro de Areia	FAA	10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup>
	FAB	
	FAC	
Esgoto Bruto	EB	10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> , 10 <sup>-4</sup>

Fonte: Autoria própria

### 3.3.2. Estimativa da densidade de fungos totais

Para análise de fungos totais, foi utilizada a técnica do espalhamento com alça de Drigalsky (em triplicata) em meio sólido Agar Sabouraud Cloranfenicol (Himedia). As placas foram incubadas a 25°C por 5 dias tendo o resultado expresso em UFC.mL<sup>-1</sup> (NEDER, 1992; RIBEIRO & SOARES, 2002; APHA, 2005). Na tabela 2 encontram-se os valores utilizados nas diluições para cada ponto.

### 3.3.3. Estimativa de coliformes totais e *E. coli*

A estimativa do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *E. coli* foi realizada através da técnica dos tubos múltiplos (APHA, 2005) utilizando-se Caldo Hicoliformes Rápido. Com auxílio de uma pipeta 10 mL, 1 mL e 0,1 mL do inóculo foram distribuídos em séries de 5 tubos contendo 10 mL do meio de cultivo. Os tubos foram incubados a 35-37°C por 18-24 horas. Após esse período o resultado foi positivo para coliformes totais quando o meio apresentou coloração verde-azulada.

Para *E. coli* o resultado positivo foi indicado por fluorescência sob luz UV e pode ser confirmado pela adição de Reativo de Kovacs o qual forma uma camada vermelha sob a superfície do caldo na presença de *E. Coli*. O NMP de coliformes totais e *E. coli* foi obtido através do número de tubos positivos e negativos utilizando-se tabelas de NMP específicas (APHA, 2005; FUNASA, 2006).

#### 3.3.4. Estimativa de bactérias redutoras de nitrato

A estimativa do Número Mais Provável de bactérias redutoras de nitrato foi realizada através da técnica dos tubos múltiplos utilizando-se o Caldo Nitrato. O fato das bactérias redutoras de nitrato serem facultativas possibilita utilizar o meio em condições aeróbias. Em condições anaeróbicas microrganismos da família Enterobacteriaceae reduzem o nitrato a nitrito que reage com ácido sulfanílico e N-dimetil 1-naftilamino produzindo uma coloração vermelha numa reação denominada reação de Griess a qual confirma a presença de bactérias redutoras de nitrato (HIMEDIA, 2010).

Com auxílio de uma pipeta 10 mL, 1 mL e 0,1 mL do inoculo foram distribuídos em séries de 5 tubos contendo 10 mL do meio de cultivo. Os tubos foram incubados a 35-37°C por 18-24 horas. Para a leitura dos resultados foram preparadas duas soluções, a primeira dissolvendo-se 8 g de ácido sulfanílico em 1 L de ácido acético 5 N e a segunda dissolvendo-se 5 g de alfa-naftilamino em 1 L de ácido acético 5 N. Após o período de incubação 5 gotas de cada um dos reagentes foram adicionadas aos tubos. O aparecimento de uma cor vermelha ou rosa indicou a redução de nitrato (resultado positivo). O NMP de bactérias redutoras de nitrato foi obtido através do número de tubos positivos e negativos utilizando-se tabelas do NMP específicas (APHA, 2005).

#### 3.3.5. Estimativa de bactérias desnitrificantes

A estimativa do NMP de bactérias desnitrificantes foi realizada através da técnica dos tubos múltiplos utilizando-se um caldo à base de meio nutriente e nitrato de sódio, utilizado por Mendonça (2002) e adaptado por Lohmann (2011) na determinação de bactérias desnitrificantes em um tratamento por zona de raízes. Os tubos foram incubados a 30°C por 15 dias. Após o período de incubação foi adicionado aos tubos uma solução de difenilamina [ $(C_6H_5)_2NH$ ] e ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ). A ausência de coloração após a reação indicou ausência de nitrato e possível presença de bactérias desnitrificantes (resultado positivo) e a coloração azul indicou nitrato remanescente e, conseqüentemente, ausência de desnitrificação (resultado negativo). O NMP de bactérias desnitrificantes foi obtido através do número

de tubos positivos e negativos utilizando-se tabelas do NMP específicas (APHA, 2005).

### 3.3.6. Estimativa de bactérias redutoras de sulfato

A estimativa do NMP de bactérias redutoras de sulfato foi realizada com a técnica dos tubos múltiplos utilizando-se o meio Walksman Sulfur sugerida por Lohmann (2011) com metodologia adaptada de ATLAS (2005). Os tubos foram incubados a 37°C por 24-48 horas.

As bactérias redutoras de sulfato degradam o sulfato presente no meio produzindo ácido sulfídrico que é incolor. O ácido sulfídrico reage com os íons férricos presentes no meio resultando em sulfeto ferroso, composto insolúvel que precipita (RIBEIRO & SOARES, 2002).

O resultado do teste, portanto, foi positivo quando se observou a presença de um precipitado negro e negativo na ausência deste. O NMP de bactérias redutoras de sulfato foi obtido através do número de tubos positivos e negativos utilizando-se tabelas do NMP específicas (APHA, 2005).

## 4. DISCUSSÃO E RESULTADOS

### 4.1. MÉTODO DE COLETA

O método de coleta utilizando de canos inseridos na estação mostrou-se eficiente para o volume de coleta amostrado (aproximadamente 1500 mL) para cada ponto de estudo. Com exceção da coleta 7 (C7), cujo ponto ZRC (Zona de raízes C) não pode ser coletado devido ao entupimento do cano de borracha, as demais amostragens e pontos não apresentaram dificuldades para coleta. Pelo fato do ponto ZRC fazer parte dos pontos pertencentes à zona de raízes o entupimento do cano pode ser justificado pela quantidade de lodo no efluente. Uma vez que este estrato possui um valor maior de material orgânico sendo digerido é comum obter um material mais lodoso na amostragem (MONTEIRO, 2009).

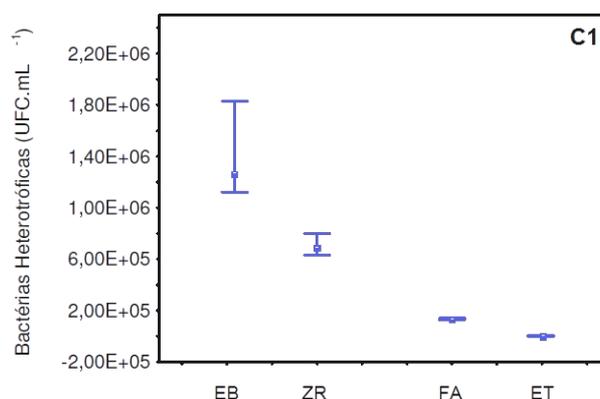
## 4.2. ESTIMATIVA DA DENSIDADE DA MICROBIOTA DOS DIFERENTES MEIOS DE SUPORTE DA ESTAÇÃO.

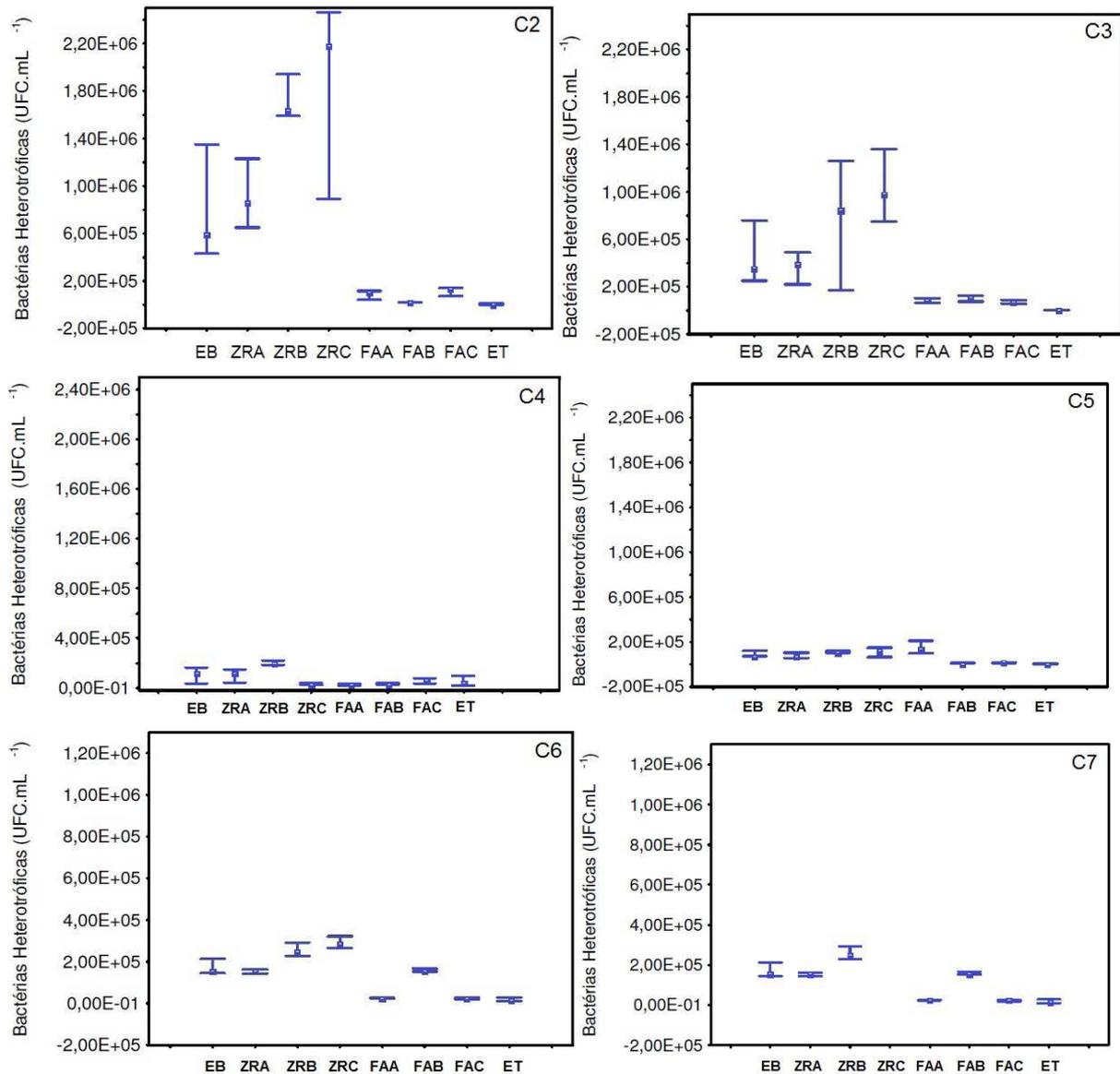
### 4.2.1. Estimativa da densidade de bactérias heterotróficas

Os pontos de maior densidade de bactérias heterotróficas, de forma geral, foram os pontos situados na zona de raízes. ZHOU (2008) associa a densidade de bactérias heterotróficas nesse estrato devido a uma alta concentração de matéria orgânica, possibilitando o crescimento bacteriano. No ponto relativo ao efluente bruto (EB) o número de bactérias heterotróficas foi menor que na região de zona de raízes, isso pode ser explicado pelo fato da estabilidade proporcionada pelo substrato para o crescimento bacteriano (REDDY, 2000). O ponto de maior densidade, dentre todas as coletas foi o ponto ZRC na coleta 2, apresentando valor de  $1,93 \times 10^6$  UFC.mL<sup>-1</sup> numa diluição de  $10^{-3}$  mL. Os menores valores encontrados foram no efluente tratado (ET) das coletas 1 e 7 com valores de  $1,70 \times 10^2$  e  $8,80 \times 10^2$  respectivamente na menor diluição ( $10^0$  mL) para o ponto. A estabilidade do biofilme é um fator que pode explicar a regularidade de determinadas bactérias em um estrato (FAULWETTER et al., 2009; RAMOND et al., 2011).

Nos pontos relativos ao filtro de areia houve muita variação de valores entre as coletas, mas em apenas duas (C1 e C7) das sete coletas a densidade de bactérias heterotróficas no filtro de areia foi maior que na zona de raízes. O valor máximo de densidade de bactérias heterotróficas no filtro de areia foi de  $2,66 \times 10^5$  UFC. mL<sup>-1</sup> na diluição de  $10^{-2}$  mL, o valor mínimo foi de  $1,04 \times 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup> na diluição de  $10^{-2}$  mL.

No esgoto bruto a quantidade de bactérias heterotróficas variou de  $1,00 \times 10^6$  UFC.mL<sup>-1</sup> na diluição  $10^{-3}$  mL e a  $1,25 \times 10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Para melhor compreensão pode-se observar os gráficos a seguir:





**Grafico 1: Densidade de bactérias heterotróficas em todos os pontos por coleta.**

#### 4.2.2. Quantificação de fungos totais

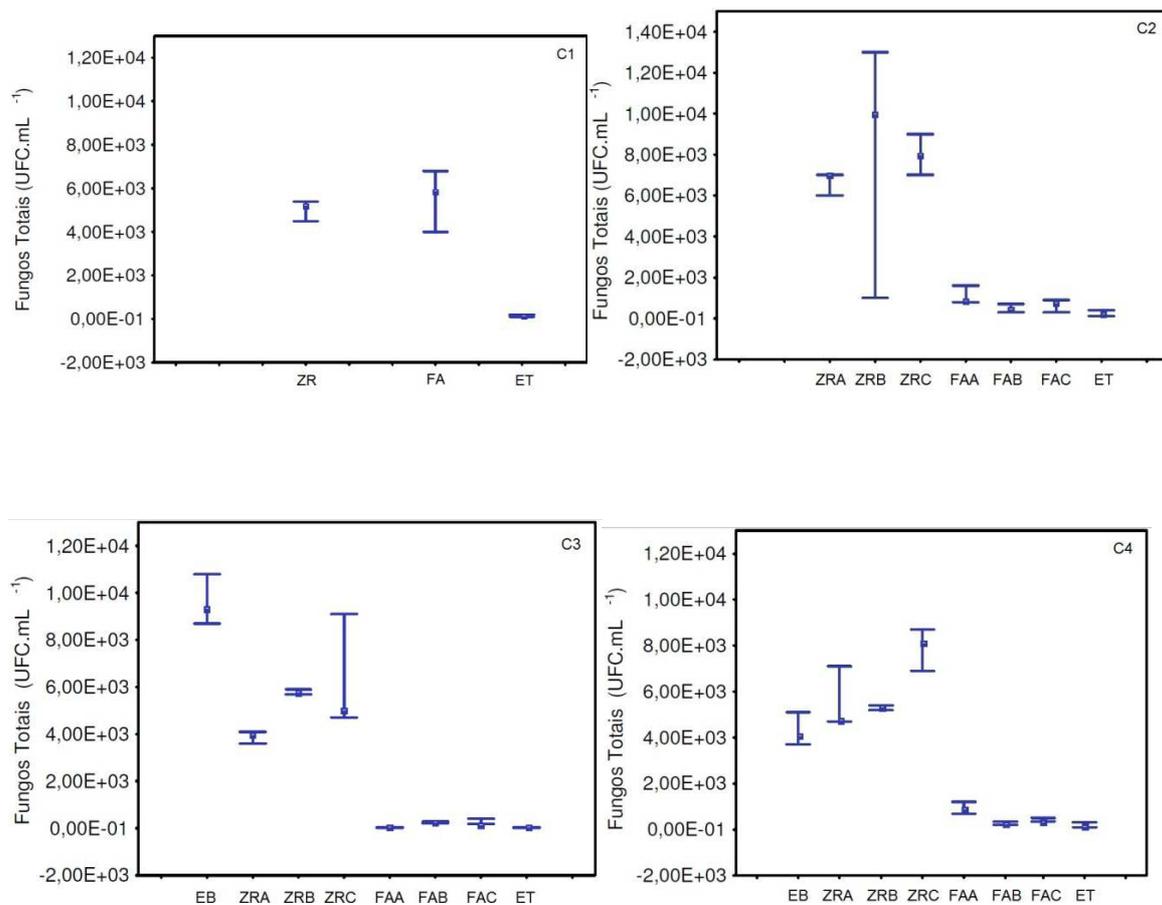
A quantidade de fungos, de modo geral, não apresentou valores muito altos de densidade se comparados aos das bactérias heterotróficas. Também não houve muita variação entre um estrato e outro. O efluente tratado (ET) apresentou os menores valores com relação a densidade de fungos.

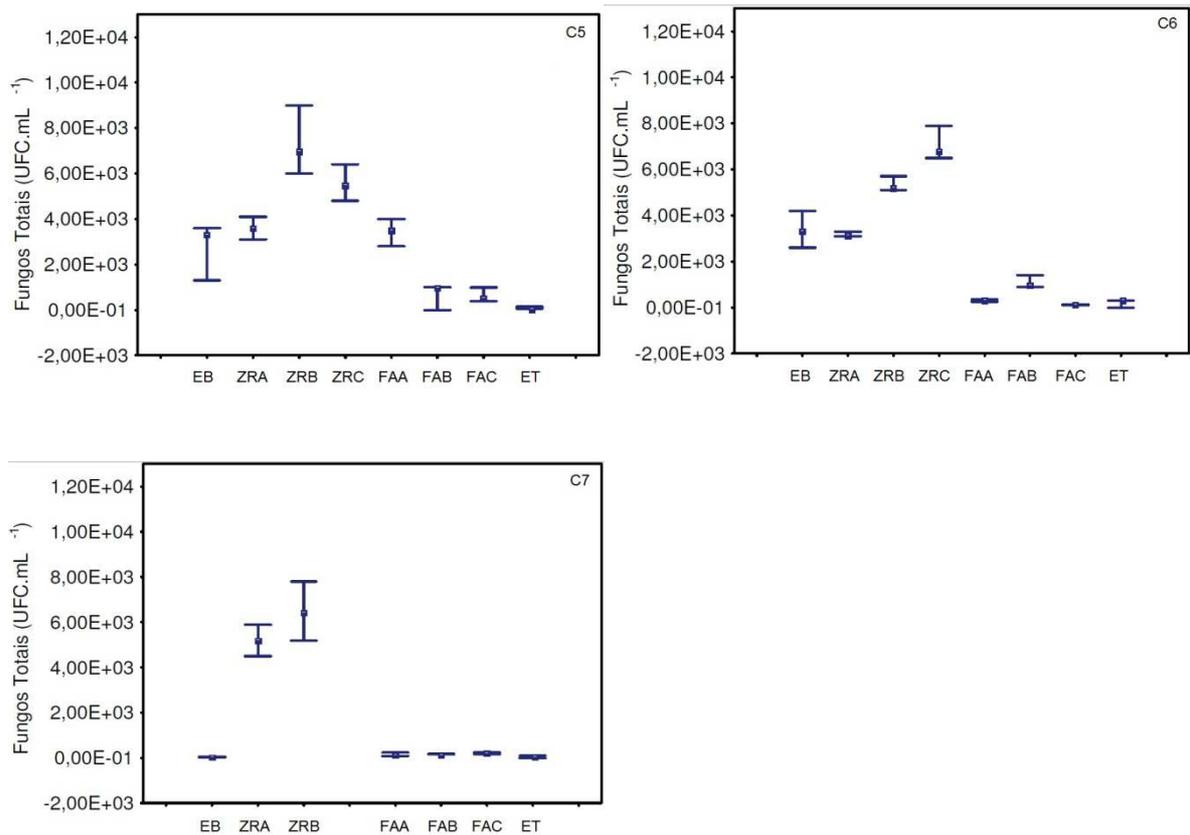
O valores mais representativos em termos de densidades foram dos pontos relativos a zona de raízes, principalmente nas coletas 5, 6 e 7 sendo o maior valor atribuído ao ponto 4 ( $1,43 \times 10^6$  UFC.mL<sup>-1</sup>). Os pontos relativos ao filtro de areia

apresentaram valores mais baixos ( $1,70 \times 10^3 \text{ UFC.mL}^{-1}$ ) mesmo nas menores diluições ( $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ ).

O fato de haver menores quantidades de fungos no estrato do filtro de areia e na amostra do efluente tratado pode estar relacionado com a pouca mobilidade das colônias de fungo na estação. Uma vez que em termos de tamanho os fungos são maiores que as bactérias, pode-se associar a sua estabilidade e maior densidade no estrato de zona de raízes a este fator, além disso o meio suporte da zona de raízes é mais rico em material orgânico.

Segundo Lohmann (2011), a redução de fungos totais na região do filtro de areia parece envolver fatores como retenção no biofilme, retenção no início do filtro de areia ou menor disponibilidade de nutrientes ao longo do tratamento e a ação de predadores. Os gráficos a seguir apresentam os resultados das densidades de fungos para as coletas realizadas:





**Grafico 2: Densidade de fungos totais em todos os pontos por coleta.**

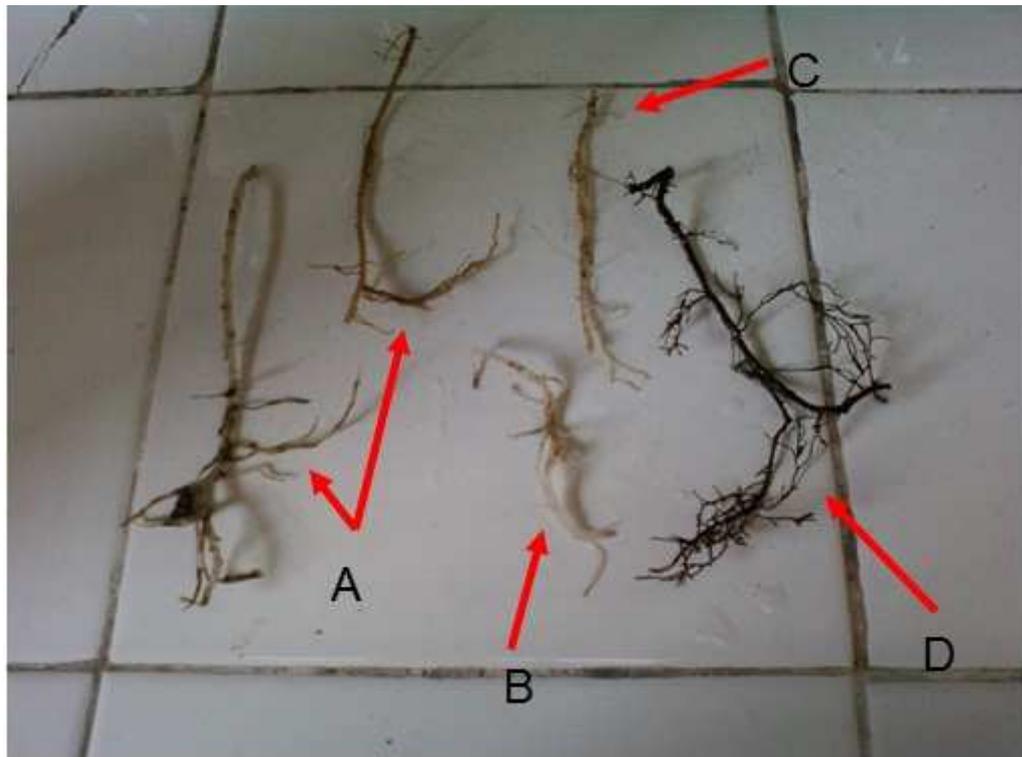
### 4.3. RESULTADOS DO MÉTODO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP)

#### 4.3.1. Estimativa do número mais provável de *E. coli* e Coliformes totais.

A técnica do número mais provável não permitiu a utilização dos dados de forma conclusiva para avaliar a remoção de *E. coli* e Coliformes totais na estação. Houve redução de *E. coli* de 66,25% e 97,94% para as coletas 1 e 7, no entanto, os valores das demais coletas não mostraram variação. Exceto pelo ponto relativo ao efluente tratado nas coletas 1 (540 NPM.mL<sup>-1</sup>), 5 (39 NPM.mL<sup>-1</sup>) e 7(33 NPM.mL<sup>-1</sup>) todas as demais coletas apresentaram valores de 1600 NPM.mL<sup>-1</sup>.

Um fator que pode ter relação com a remoção *E. coli* e coliformes totais é a vitalidade das plantas na estação. Os autores Decamp e Warren (2000) sugerem que os fungos, assim como determinados tipos de bactérias produzam substâncias com princípios antimicrobianos capazes de remover *E.coli* de sistemas de *wetlands* construídos. Não obstante pode-se relacionar o fato idade das plantas e capacidade

de absorção de nutrientes das raízes na estação de estudo. A figura abaixo mostra 5 amostras de raízes com diferentes idades de *Zantedeschia sp.*



**Figura 7: Comparação entre as raízes de *Zantedeschia sp.* Da esquerda para a direita: A) Raízes da planta fora da estação; B) Raiz numa estação de 2 anos, C) Raiz numa estação de nove anos e D) Raiz da estação do estudo.**

Fonte: Autoria própria

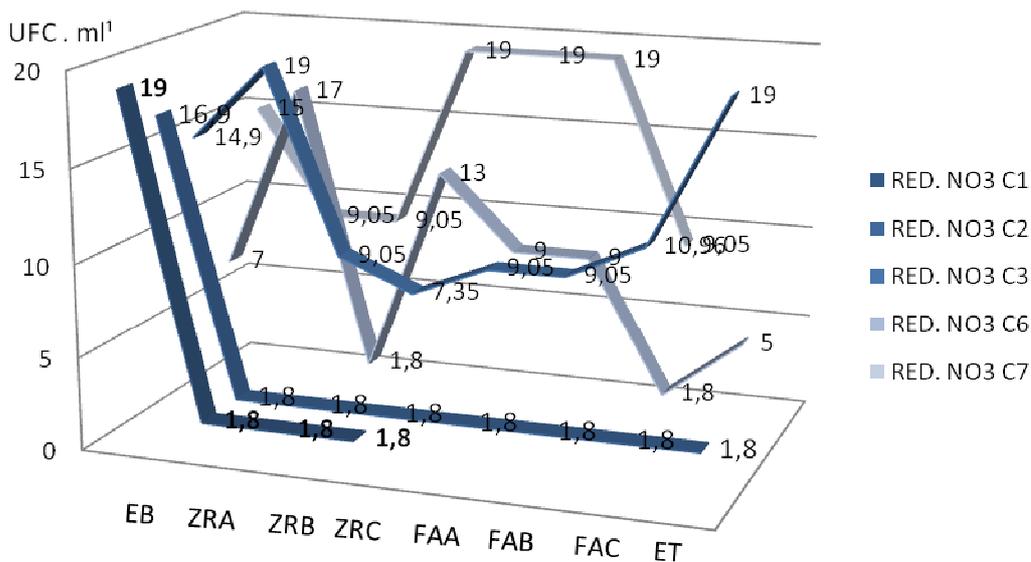
A aparência das raízes indicam que a que estava na ETE por zona de raízes está bastante comprometida, e não aparenta ter uma consistência de uma planta sadia, o que pode ter influenciado na dinâmica dos microrganismos e na remoção destes na estação.

#### 4.3.2. Estimativa do número mais provável de bactérias redutoras de nitrato

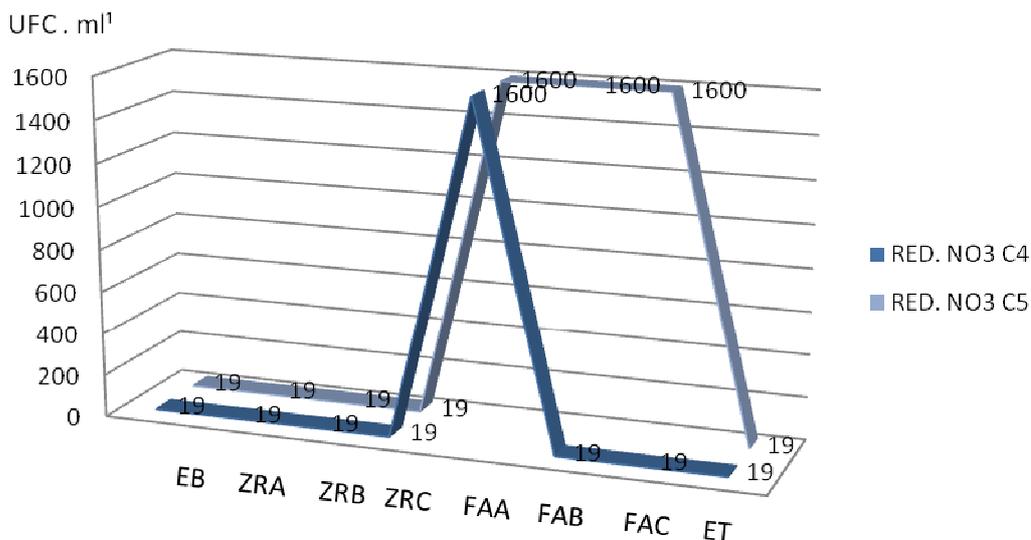
Os resultados obtidos para bactérias redutoras de nitrato confirmam sua presença bem como indicam redução de nitrato a nitrito em meio aeróbico e anaeróbico uma vez que estas bactérias são facultativas. Segundo Li (2009) os *wetlands* construídos de fluxo vertical tem alto poder redox, o que favorece o processo aeróbico, no entanto, a ETE em questão, apesar de ser uma *wetland* construída de fluxo vertical, possui modificações que a tornam inundada no meio suporte do filtro de

areia que se apresenta com uma área afogada, ou seja, alagada, na qual podem ocorrer processos anaeróbios e áreas anóxicas, tal fator poderia justificar os valores baixos destas bactérias no sistema.

Os valores obtidos para as bactérias redutoras de nitrato variaram de acordo com o gráfico a seguir:



**Gráfico 3: Densidade de bactérias redutoras de nitrato – Coletas 1, 2, 3, 6 e 7**



**Gráfico 4: Densidade de bactérias redutoras de nitrato – Coletas 4 e 5**

#### 4.3.3. Estimativa do número mais provável de bactérias desnitrificantes.

O NMP de bactérias desnitrificantes variou apenas na coleta 5 para os pontos ZRA, ZRB e FAA sendo encontrados, respectivamente os valores de 59, 39 e 59 NMP/100 mL. Nos demais pontos e coletas a densidade de bactérias desnitrificantes foi de 1600NMP/100 mL. O desenvolvimento destas bactérias pode ser relacionado com a formação de zonas anóxicas ao longo do período de uso da ETE (LOHMANN, 2011).

#### 4.3.4. Estimativa do número mais provável de bactérias sulforedutoras

O NMP de bactérias redutoras de sulfato não variou na maioria das coletas mantendo-se em 1600 NMP.100mL<sup>-1</sup>. Na coleta 3 todos os pontos analisados apresentaram menor densidade de bactérias redutoras de sulfato no valor de 1,8 NMP.100mL<sup>-1</sup>.

Segundo Faulwetter (2009) e Lohmann (2011), bactérias redutoras de sulfato apresentam metabolismo mais lento do que bactérias heterotróficas, de forma a ocorrer uma forma de competição pelas fontes de carbono, no entanto o metabolismo mais acelerado das sulfobactérias impedindo, assim, a proliferação das sulfobactérias.

## 5. CONCLUSÃO

Ao observar os resultados das coletas, pode-se afirmar, de forma geral, que o meio suporte que apresentou maior densidade de bactérias heterotróficas e fungos foi a zona de raízes - brita. Tal fator demonstra a efetividade da estação com relação a remoção de nutrientes nos primeiros 50 cm da ETE bem como uma maior atividade dos microrganismos nessa região. Pode-se considerar, também, que a densidade microbiana desse meio suporte ocorra devido a formação do biofilme nesta região. Possivelmente, a menor densidade de microrganismos no filtro de areia pode ser associada a remoção por filtração nesse meio suporte bem como o fato de haver uma diminuição da matéria orgânica ao longo do leito filtrante.

A remoção de coliformes totais e *E. coli* mostrou-se inconclusiva pelo fato do método estimativo variar pouco entre as coletas, outro fator que pode ser associado seria a idade das plantas associada a sua baixa absorção de nutrientes.

Quanto as bactérias desnitrificantes os valores também tiveram pouca variedade apresentando valores de 1600 NMP.100mL<sup>-1</sup> em praticamente todos os pontos amostrados indicando remoção de nitrogênio por processo de desnitrificação. Não obstante, pode-se observar também, que as bactérias desnitrificantes, bem como as sulforedutoras apresentaram-se de forma regular em todos os meios suporte.

As bactérias redutoras de nitrato foram encontradas em praticamente todos os meios suporte e coletas em baixa densidade. O baixo valor dessas bactérias pode estar associado ao fato do *wetland* do estudo ter a parte do filtro de areia inundado, favorecendo o processo anaeróbico, o que justificaria, nesse caso, os valores baixos de bactérias redutoras de nitrato. A baixa densidade nos meios suporte pode estar associada, principalmente, a quantidade de oxigênio ao longo da estação.

A estimativa de bactérias redutoras de sulfato variou apenas na coleta C3, provavelmente houve, durante essa amostragem, alguma competição entre as bactérias heterotróficas (de metabolismo mais acelerado) e as redutoras de sulfato (metabolismo mais lento) pelo material orgânico presente na estação.

## **SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Sugere-se como proposta para trabalhos futuros:

Estudo de metodologia para determinação de valores que permita obtenção da densidade real de microrganismos bem como da remoção de enterobactérias;

Avaliação de ETE utilizando diferentes substratos e/ou diferentes plantas;

Estudo das raízes e da rizosfera para uma compreensão da dinâmica de forma a melhorar o rendimento da planta na estação.

## 6. REFERÊNCIAS

APHA - American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21st Edition. USA: Centennial Edition, 2005.

ATLAS, R. M. **Handbook of media for environmental microbiology**. 2ª ed. Boca Raton, FL: Taylor & Frank Group, 2005. 673 p.

BENTO, A. P.; SEZERINO, P. H.; BARBOSA, T. C.; PHILIPPI, L. S. **Comparação entre modelos aplicados ao diagnóstico do tratamento de esgotos por sistemas de lodos ativados, baseados em parâmetros biológicos**. In: IV Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, II-072, 2002. Disponível em: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/sibesa6/odos.pdf> . Acesso em: 6 out. de 2011.

CHEREMISINOFF, Nicholas P. **Biotechnology for waste and wastewater treatment**. p. 213. Noyes publication, New Jersey, 1996.

CHERNICHARO, C. A. de L. **Reatores anaeróbios**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-UFMG, 1997. 246 p. (Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: 5.

COOPER, P. **A review of the design and performance of vertical-flow and hybrid reed bed treatment systems**. Water Science and Technology, v. 40, n.3, p. 1-9, 1999.

DECAMP, O.; WAREN, A. **Investigation of *Escherichia coli* removal in various designs of subsurface flow wetlands used for wastewater treatment**. Ecological Engineering, n.14, p. 293-299, 2000.

FAULWETTER, J.L., GAGNON, V., SUNDBERG, C., CHAZARENC, F., BURR, M.D., BRISSON, J., CAMPER, A.K., STEIN, O.R., 2009. **Microbial processes influencing performance of treatment wetlands: a review**. Ecol. Eng. 35, 987e1004.

FUNASA – Fundação Nacional de Saúde. **Manual de saneamento**. 3ª ed. revista . Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2006. 408 p.

KAICK, T. S. V. **Estação de tratamento de esgoto por meio de zona de raízes: uma proposta de tecnologia apropriada para saneamento básico no litoral do Paraná**. Curitiba, 2002. Dissertação (Mestrado em Tecnologia)-PPGTE, CEFET-PR.

LI, L., LI, Y., BISWAS, D.K., NIAN, Y., JIANG, G. **Potential of constructed wetlands in treating the eutrophic water: evidence from Taihu Lake of China.** *Biores. Technol.* 99, 1656–1663, 2008.

LOHMANN, Gabriele. **Caracterização microbiológica de estação de tratamento de esgoto por zona de raízes de fluxo vertical.** 2011. 91p. Dissertação (Mestrado em Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). UTFPR, Curitiba, 2001.

MAIER, C. **Qualidade de Águas Superficiais e Tratamento de Águas Residuárias por Meio de Zona de Raízes em Propriedades de Agricultores Familiares.** 2007. 94 p. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo). UFMS; Santa Maria, 2007.

MARQUES, D. M. **Terras Úmidas Construídas de Fluxo Subsuperficial.** In: CAMPOS, J. R. **Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo.** Rio de Janeiro: ABES/PROSAB, 1999. p. 409 – 435.

MENDONÇA, L. C. **Microbiologia e cinética de sistema de lodos ativados como pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio de leito expandido.** São Carlos, 2002. 219 p. Tese (Doutorado em Engenharia Civil), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

MONTEIRO, Rodrigo C. M. **Viabilidade técnica do emprego de sistemas tipo “wetlands” para tratamento de água cinza visando reuso não potável.** 2009. 84 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Sanitária). USP, São Paulo, 2009.

NEDER, R.N. **Microbiologia: Manual de Laboratório.** São Paulo. Nobel, 1992.

OLIJNYK, Débora P. **Avaliação da nitrificação e desnitrificação de esgoto doméstico empregando filtros plantados com macrófitas (wetlands) de fluxos vertical e horizontal – sistemas híbridos.** 2008. 112p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). UFSC, Florianópolis, 2008.

PHILIPPI, L. S.; SEZERINO, P. H. **Aplicação de sistemas tipo wetlands no tratamento de águas residuárias: utilização de filtros plantados com macrófitas.** Florianópolis: Editora do autor, 2004.

RAMOND, J.-B., Welz, Pamela J., Cowan, Don A., Burton, Stephanie G.. **Microbial community structure stability, a key parameter in monitoring the development of constructed wetland mesocosms during start-up,** *Research in Microbiology*, doi:10.1016/j.resmic.2011.09.003, 2011.

REDDY, K. R., E. M., D'Angelo and W. G. Harris. **Biogeochemistry of wetlands – Handbook of Soil Science.** P. 89-119, 2000.

RIBEIRO, M. C.; SOARES, M. M. S. R. **Microbiologia prática: roteiro e manual:**

**bactérias e fungos.** São Paulo: Editora Atheneu, 2002.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza.** 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 470 p.

SALATTI, Eneida. **Utilização de sistemas de wetlands construídas para tratamento de águas.** *Biológico*, São Paulo, v. 65, n. 1/2, p. 113-116, jan./dez. 2003. Disponível em: <[www.biologico.sp.gov.br/docs/bio/v65\\_1\\_2/salatti.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/bio/v65_1_2/salatti.pdf)> Acesso em: 20 de jun. 2011.

SILVA, Selma C. **Wetlands construídos de fluxo vertical com meio suporte de solo natural modificado no tratamento de esgotos domésticos.** 2007. 205p. Tese (Doutorado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos). Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

SOARES, Sérgio R. A.; BERNARDES, Ricardo S.; CORDEIRO NETTO, Oscar de M.. **Relações entre saneamento, saúde pública e meio ambiente: elementos para formulação de um modelo de planejamento em saneamento.** *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 18, n. 6, dez. 2002.

SPERLIN, MARCOS VON. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** 3ªed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 2005.

TOMAZ, P. **Curso de Manejo de águas pluviais - Wetland construída para melhoria da qualidade das águas pluviais.** 2009. 112 P.

ZHOU, Q., HE F., ZHANG L., WANG Y., WU Z. **Characteristics of the microbial communities in the integrated vertical-flow constructed wetlands.** *Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, China. Journal of Environmental Sciences* 21(2009) 1261–1267