

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS AMBIENTAIS

BRUNO DALLA NORA SANTOS

**EFEITO DA INOCULAÇÃO DA BACTÉRIA *Bacillus subtilis* EM PROCESSO
DE VERMICOMPOSTAGEM DE RESÍDUOS VEGETAIS FRESCOS DO
RESTAURANTE UNIVERSITÁRIO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO 2

CURITIBA

2016

BRUNO DALLA NORA SANTOS

EFEITO DA INOCULAÇÃO DA BACTÉRIA *Bacillus subtilis* EM PROCESSO DE VERMICOMPOSTAGEM DE RESÍDUOS VEGETAIS FRESCOS DO RESTAURANTE UNIVERSITÁRIO

Trabalho de conclusão de curso apresentado à mesma disciplina como requisito para a formação no curso superior de Processos Ambientais do Departamento Acadêmico de Química e Biologia – DAQBi – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR.

Orientador: Prof^o. Dr. Gustavo Henrique Couto.

CURITIBA

2016

BRUNO DALLA NORA SANTOS

EFEITO DA INOCULAÇÃO DA BACTÉRIA *Bacillus subtilis* EM PROCESSO DE VERMICOMPOSTAGEM DE RESÍDUOS VEGETAIS FRESCOS DO RESTAURANTE UNIVERSITÁRIO

Trabalho de Conclusão de Curso **aprovado** como requisito parcial à obtenção do grau de Tecnólogo em Processos Ambientais pelo Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBi) do campus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, pela seguinte banca examinadora:

Membro 1 – Prof. Esp^o. Gregório Jedy

Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

Membro 2 – Prof^a. Dr^a. Tamara Simone Van Kaick

Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

Orientador – Prof^o. Dr^o. Gustavo Henrique Couto

Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

Coordenador do Curso – Prof^o. Dr^o. Alessandro Machado Feitosa

Curitiba, 10 de Junho de 2016

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente á meus familiares, que sempre me apoiaram em todas as minhas escolhas, principalmente minha mãe, meu pai e minha irmã, como também os outros parentes que vibraram com cada avanço na minha vida.

Fico grato também ao Departamento Acadêmico de Química e Biologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, que me proporcionou toda a dedicação para que se pudesse estabelecer uma vida acadêmica meritória, como também tudo o que foi necessário para a conclusão deste ciclo.

Á minha banca examinadora, constituída pela Prof^a. Dr^a. Tamara Van Kaick e pelo Prof^o. Esp^o. Gregório Jedy, que proporcionaram excelentes sugestões e conselhos quanto aos resultados de meu experimento.

Principalmente, a Ana Cláudia Nuernberg, que além de referência para o estudo, foi quem possibilitou todo o desenvolvimento do experimento. Todos os funcionários da universidade envolvidos direta ou indiretamente, seja na triagem e separação dos resíduos orgânicos, ou no recolhimento de folhas secas das árvores da região.

Ao Prof^o. Dr^o. Gustavo Couto, que além de me orientar, foi o responsável pela escolha da bactéria que seria utilizada no experimento, visto seu conhecimento na área microbiológica.

Agradeço especialmente aos professores e professoras que contribuíram positivamente para o meu desenvolvimento pessoal e acadêmico durante a minha vida dentro da universidade. São os Professores: Gregório Jedy, Markus Mau, Júlio César Azevedo, José Carlos Bianchi, Jonas Golart, Alessandro Feitosa, Marcelo Real Prado, Alessandro Bail, Pedro Ramos Neto, Paulo Roberto e Thomaz Pagioro. E as professoras: Marlene Soares, Erika Felix, Tamara Van Kaick, Marcela Mohallem, Valma Martins, Jana Magaly e Juliana Kloss.

Aos meus colegas universitários que contribuíram com a minha vida acadêmica na UTFPR: Davy Iacoponi, Débora Martins, Herbert Leitner, Ribamar Teixeira, Gustavo Rochemback, Guilherme Sabetzki, Eduarda Guimarães, Francine Leal, Conrado Weber e Bruno Pires.

À todos meus outros amigos, universitários ou não, que contribuíram de alguma forma para a conclusão deste experimento.

Finalmente, agradeço ao ex-presidente Luis Inácio Lula da Silva, pela transformação do Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná (Cefet-PR) em Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), em 2006. Sem essa ação, nada disso teria sido possível. Sou muito grato também á atual presidente da República Dilma Vana Rousseff, que disponibilizou uma bolsa acadêmica através de um programa educacional de graduação (PROGRAD), que foi fundamental para a conclusão do meu estudo.

RESUMO

A Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), criada em dois mil e dez, propôs alterações nos métodos de destinação e disposição final dos resíduos sólidos no Brasil. A Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) procurando adaptar-se as novas regras, estabeleceu estudos recentes que permitiram uma disposição para todos os seus resíduos de maneira próxima da ideal. Além da triagem dos resíduos recicláveis, é proposto um contrato com uma empresa terceirizada que destina corretamente os resíduos gerados na universidade. Este estudo procurou gerir os referidos resíduos de modo que toda refeição produzida tivesse um vermicompostor respectivo para recebê-lo diariamente. Diante disso, este estudo tem como objetivo estudar a viabilidade da adição da bactéria *Bacillus subtilis* (BS) em um processo comum de vermicompostagem, com os mesmos resíduos vegetais frescos não cozidos do referido restaurante. Inicialmente, o processo envolveu quatro reatores reatores vermicompostores nos quais dois receberam a adição da bactéria, enquanto dois funcionaram como reatores vermicompostores controles, para comparação entre ambos. Para o estudo, foram adicionadas 300 minhocas-vermelhas-da-California (*Eisenia foetida*) em uma cama pré-estabelecida de terra fresca nos reatores vermicompostores, que foram alimentadas sazonalmente: primeiro semanalmente, depois quinzenalmente e, por último, mensalmente. No começo do experimento, foram adicionados um quilo e quinhentas gramas de resíduos vegetais frescos não cozidos, um quilo de turfa contendo a bactéria *Bacillus subtilis*, quinhentas gramas de borra de café seca à sol e duzentos e cinquenta gramas de folhas secas trituradas em processador automatizado. Contudo, a adição da bactéria *Bacillus subtilis* em um processo de vermicompostagem mostrou-se eficiente quando comparado ao processo comum, visto que o pH se manteve estável e sem alterações notáveis, como também a relação Carbono/Nitrogênio se estabeleceu mais próxima da considerada ideal pela literatura para um processo vermicompostagem de rápida decomposição: de vinte partes de carbono proporcionais á uma parte de nitrogênio.

Palavras-chave: Vermicompostagem; Compostagem; *Bacillus subtilis*; *Eisenia Foetida*, Minhoca-Vermelha-da-Califórnia; Resíduos orgânicos.

ABSTRACT

The National Policy on Solid Waste (NPSW), created in two thousand and ten, proposed changes in the disposal methods and disposal of solid waste in Brazil. The Federal Technological University of Paraná (FTUPR) seeking to adapt to the new rules established recent studies that allowed a provision for all their waste closely the ideal. Besides the sorting of recyclable waste, a contract with a third party that properly designed waste generated at the university is proposed. This study sought to manage the waste so that the whole meal had produced a respective vermicompostor to receive it daily. Thus, this study aims to study the feasibility of addition of *Bacillus subtilis* (BS) in a common process of vermicomposting, with the same fresh vegetables uncooked waste of that restaurant. Initially, the process involved four vermicompostors reactors in which two received the addition of bacteria, while two function as vermicompostors controls reactors for comparison between the two. For the study, they were added 300 Worm-Red-of-California (*Eisenia foetida*) at a predetermined bed in fresh ground vermicompostors which were fed seasonally: the first weekly, biweekly and then finally monthly. At the beginning of the experiment, were added one kilogram and five hundred grams of fresh vegetable waste uncooked, a kilo of peat containing *Bacillus subtilis*, five hundred grams of dry coffee grounds will sun and two hundred and fifty grams of crushed dried leaves in an automated. However, the addition of *Bacillus subtilis* in a vermicomposting process proved to be efficient when compared to the common process, whereas the pH remained stable and no notable changes, as well as the Carbon/Nitrogen ratio is set closer to the considered ideal for literature vermicomposting process for rapid decomposition: twenty parts of carbon at a proportion of nitrogen.

Keywords: Vermicomposting; composting; *Bacillus subtilis*; *Eisenia foetida*, Worm-Red-of-California; organic waste.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados do pH dos reatores vermicompostores.

Tabela 2 – Resultados do teor de umidade dos reatores vermicompostores.

Tabela 3 – Resultados das análises de Peso seco dos reatores vermicompostores.

Tabela 4 – Resultados da relação C/N durante o experimento nos reatores vermicompostores.

Tabela 5 – Resultados da contagem de unidades formadoras de colônias em diluição em Placa de Petri nos reatores vermicompostores.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplo de reator vermicompostor para degradação de resíduos orgânicos.

Figura 2 – Esquema geral das Etapas que sucederam o experimento.

Figura 3 - Diagrama esquemático do Reator Vermicompostor.

Figura 4 – Resultados do pH dos reatores vermicompostores.

Figura 5 – Resultados do teor de Umidade dos reatores vermicompostores.

Figura 6 – Resultados de Carbono Total durante o experimento nos reatores vermicompostores.

Figura 7 – Resultados de Nitrogênio Total durante o experimento nos reatores vermicompostores.

Figura 8 – Resultados da Relação C/N durante o experimento nos reatores vermicompostores.

Figura 9 – Resultados da Contagem em placa de Petri na diluição 10^{-2}

Figura 10 – Resultados da Contagem em placa de Petri na diluição 10^{-3} .

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA.....	2
3. OBJETIVOS	4
3.1 OBJETIVO GERAL.....	4
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
4.1 COMPOSTAGEM DE RESÍDUOS ORGÂNICOS	5
4.2 VERMICOMPOSTAGEM DE RESÍDUOS ORGÂNICOS	6
4.3 CONDIÇÕES QUE INFLUENCIAM O PROCESSO DE VERMICOMPOSTAGEM.....	7
4.4 INOCULANTES E <i>BACILLUS SUBTILIS</i>	9
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
5.1 LOCAL DE ESTUDO E SUBSTRATOS E CONFIGURAÇÃO DA VERMICOMPOSTEIRA ...	12
5.2 RESÍDUOS SÓLIDOS ORGÂNICOS VEGETAIS (RSOV).....	13
5.3 MANUTENÇÃO E ACLIMATAÇÃO DAS MINHOCAS – ETAPA 1	13
5.4 PREPARO DO INOCULANTE BACTERIANO TURFOSO – ETAPA 2	14
5.5 EXPERIMENTO DE VERMICOMPOSTAGEM COM INOCULANTE BACTERIANO TURFOSO – ETAPA 3	15
5.6 ANÁLISE DE pH DAS AMOSTRAS	16
5.7 ANÁLISE DE UMIDADE DAS AMOSTRAS	17
5.8 ANÁLISE DE CARBONO/NITROGÊNIO TOTAL.....	18
5.9 CONTAGEM DAS BACTÉRIAS VIÁVEIS TOTAIS DAS AMOSTRAS.....	18
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES	20
6.1 ACLIMATAÇÃO DAS MINHOCAS	20
6.2 COMPARAÇÃO DA VERMICOMPOSTAGEM DE RESÍDUOS ORGÂNICOS VEGETAIS COM E SEM INOCULANTE TURFOSO	21
6.2.1 ANÁLISE DE pH	21
6.2.2 ANÁLISE DA UMIDADE DO VERMICOMPOSTO.....	22
6.2.3 ANÁLISE DO CARBONO E NITROGÊNIO TOTAL	26
6.2.4 CONTAGEM DAS UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIA.....	30
7. CONCLUSÃO	33
8. ANEXOS	36
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

1. INTRODUÇÃO

A geração de resíduos acompanha o homem desde a sua origem, sendo que os resíduos produzidos pelo homem primitivo, principalmente pelo tipo e pela sua reduzida quantidade, eram rapidamente absorvidos pelo meio ambiente. Já nos tempos modernos houve um elevado aumento nos volumes gerados, a introdução de resíduos sintéticos de difícil degradação e a mobilização e disseminação de elementos inorgânicos como os metais no qual o correto tratamento e destinação final dos resíduos sólidos urbanos tornou-se um dos principais problemas ambientais atuais. A linha histórica mostra claramente que o crescimento econômico é proporcional ao consumo de energia e de materiais. Quando a utilização de matérias primas é linear e não cíclica, somente uma pequena parte é reciclada. Atualmente o crescimento da geração de resíduos e decorrente do consumismo desenfreado por grande parcela da população têm preocupado vários setores da sociedade (BRASIL, 2010).

Considerando que antes a geração de resíduos não era tida como um problema imediato na sociedade capitalista, até se tornar de fato um problema, surgiu como uma possível solução a separação dos resíduos orgânicos dos resíduos recicláveis (BRASIL, 2010). Desta forma, a reciclagem dos resíduos sólidos urbanos, associado ao processo de compostagem é uma forma de recuperação energética satisfatória com potencial de proporcionar benefícios econômicos, sociais e sanitários (MONTEIRO, 1985). Da mesma forma, a vermicompostagem, processo semelhante de decomposição microbiana que ocorre com auxílio de vermes, tem se mostrado como uma possível solução para o problema dos resíduos sólidos urbanos. Diversos estudos têm sido conduzidos visando avaliar os diferentes aspectos da vermicompostagem para que seu processo seja otimizado em relação, por exemplo ao nível de qualidade do composto gerado, a eficiência, o tempo de duração ou ainda o custo do processo. Para isso diferentes tipos de resíduos sólidos têm sido testados como substrato, alguns destes sem valor algum ou ainda tóxicos ao meio ambiente, que ao final do procedimento de compostagem ou vermicompostagem se transformam em materiais nobres (KIEHL, 1998).

Um dos fatores que necessitam mais estudo é o efeito da adição de determinados microrganismos nos processos de compostagem e vermicompostagem, não presentes originalmente na biomassa participante do processo. Assim sendo, este trabalho pretendeu determinar o efeito da inoculação da bactéria *Bacillus subtilis* no processo de vermicompostagem em comparação com a vermicompostagem tradicional. Alguns parâmetros importantes foram analisados. Resíduos vegetais frescos produzidos no restaurante universitário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná foram utilizados como fontes de resíduos orgânicos.

2. JUSTIFICATIVA

De acordo com a legislação brasileira, o manejo e o tratamento de resíduos sólidos agroindustriais são de responsabilidade das fontes geradoras. A Política Nacional de Resíduos Sólidos, uma lei de 2010 sancionada pelo então Presidente Luis Inácio Lula da Silva, com o auxílio de especialistas da área ambiental e da então ministra do meio ambiente Izabella Teixeira, instituiu que todo o resíduo deve ter uma destino final ambientalmente adequado, seja pela sua reutilização, reciclagem, compostagem, recuperação, aproveitamento energético, ou sua disposição final, atendendo a normas operacionais específicas, de modo a evitar danos ou riscos à saúde pública e à segurança e a minimizar os impactos ambientais adversos. No documento, foram propostas algumas metas para minimizar problemas sociais, ambientais e econômicos provenientes do manejo e disposição incorretos do lixo (BRASIL, 2010). No entanto, no Brasil, o que se observa na prática é que o destino final desses resíduos é uma incógnita, pois constantemente verifica-se que lixo e outros dejetos são dispostos a céu aberto sem o devido tratamento, poluindo o solo, o ar e os recursos hídricos superficiais e subterrâneos.

São coletadas aproximadamente 190 toneladas de resíduos por dia no país, sendo que mais da metade não realizada a disposição final adequada dos resíduos gerados (BRASIL, 2010). Para que não se torne um caso de saúde pública, além de contaminar o solo, o ar e a água, deve-se estabelecer um

controle efetivo deste tratamento e disposição final dos resíduos, assim como reutiliza-los quando possível e recicla-los da mesma maneira. Para tentar solucionar ou pelo menos diminuir os impactos da destinação dos resíduos, pesquisadores da área ambiental tem trabalhado no desenvolvimento de tecnologias que amenizem os problemas causados pela geração dos resíduos, principalmente no que diz respeito à sua disposição final e seu tratamento (BRASIL, 2010).

A compostagem e a vermicompostagem de resíduos orgânicos são processos já bem conhecidos no tratamento de diversos tipos de resíduos orgânicos. Tais processos convertem o “lixo” orgânico em um adubo orgânico nutritivo e de fácil assimilação para as plantas além de proporcionar redução significativa nos custos dos aterros sanitários, pois com a ausência destes no aterro já diminui a quantidade total de resíduos, e os que sobram, os rejeitos inorgânicos, apresentam baixo peso e umidade e também aumentam os níveis de aproveitamento de todos tipos de resíduos (BUTTENBENDER, 2004). Desta forma a otimização de processos de compostagem e vermicompostagem é interessante no sentido facilitar a implementação do tratamento biológico de resíduos orgânicos para o seu melhor aproveitamento e valorização.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo determinar o efeito da inoculação da bactéria *Bacillus subtilis* no processo de vermicompostagem utilizando resíduos vegetais frescos provenientes do restaurante universitário da UTFPR.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer inicialmente o processo de vermicompostagem para geração da cama de vermicompostagem e produção de minhocas utilizando resíduos vegetais frescos.
- Produzir um inoculante turfoso a partir da bactéria *Bacillus subtilis*.
- Comparar o processo de vermicompostagem com e sem a adição de inoculante turfoso.
- Caracterizar os vermicompostos gerados por meio de análises químico-físicas e microbiológicas.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 COMPOSTAGEM DE RESÍDUOS ORGÂNICOS

A compostagem consiste na decomposição controlada de restos vegetais e esterco através de uma sequência de processos microbianos sobre a matéria orgânica, pela ação de fungos, bactérias e actinomicetos, na qual se obtém matéria orgânica estabilizada (KIEHL, 1985). No decorrer do processo de compostagem, desenvolve-se uma atividade microbiana que provoca a elevação da temperatura, variável de acordo com o local da pilha, também chamada de leira (KIEHL, 1985). Para realização do processo resíduos vegetais são amontoados, irrigados, revolvidos e se decompõem. Após o fim desse processo, obtemos uma quantidade de material orgânico estabilizado denominada “composto”, um material sólido nutritivo e de fácil assimilação pelas plantas. Considerando o ponto de vista químico, a matéria orgânica é toda a substância que apresenta em sua composição, pelo menos, um carbono tetravalente, que está diretamente ligado ao hidrogênio, oxigênio, enxofre, nitrogênio, entre outros. Como a presença deste elemento é primordial neste tipo de resíduo, considera-se que o resíduo orgânico é pertencente ao carbono residual, que, por sua vez, compõe a “química do carbono” (KIEHL, 1981). As raízes das plantas assimilam o nitrogênio em sua forma nítrica e amoniacal, o fósforo como radical iônico e o fósforo na forma catiônica. Para que essa matéria orgânica possa fornecer nutrientes suficientes as raízes e plantas, devem passar por um processo de conversão microbiológica, seguido da mineralização dos seus componentes orgânicos. O material orgânico, após fermentar e se decompor, produz húmus e outros compostos minerais que podem ser facilmente absorvidos pelas plantas e transformados em nutrientes para o crescimento (KIEHL, 1985).

A compostagem é um processo controlado, pois é necessário um cuidado especial com determinadas condições que favorecem a ideal conversão desta matéria em um composto orgânico. Deve-se controlar a temperatura, a aeração e a umidade da pilha, além da quantidade de microrganismos. Como é um processo que é conduzido em ambiente aeróbio, deve-se controlar também a oxidação química e a oxigenação da matéria orgânica, para que o processo de

compostagem seja ideal. Portanto, o composto obtido designa o fertilizante orgânico preparado pelo amontoamento de restos animais e vegetais, ricos em substâncias nitrogenadas, que são misturados a outros resíduos vegetais pobres em nitrogênio e ricos em carbono. Essa mistura tem como objetivo sujeitar estes compostos a um processo de decomposição microbiológica, que terá como resultado final o composto parcial ou totalmente estabilizado. O composto é, portanto, resultado de um processo controlado de decomposição bioquímica de materiais orgânicos, que são transformados em um produto mais estável e de mais fácil assimilação como fertilizante (KIEHL, 1985).

4.2 VERMICOMPOSTAGEM DE RESÍDUOS ORGÂNICOS

A vermicompostagem é definida de forma geral como um processo de decomposição microbiana que conta com o auxílio de vermes, e tem se mostrado como uma alternativa frente ao problema dos resíduos sólidos urbanos. Embora seja uma prática mais recente que a compostagem, a vermicompostagem foi desenvolvida a partir de pesquisas básicas realizadas por programas de manejo de minhocas em Rothamstead (Inglaterra), no período de 1940 a 1950. Posteriormente em 1970, os cientistas se engajaram no estudo do potencial das minhocas para a conversão de resíduos orgânicos numa forma mais estabilizada de matéria orgânica. Diferentes resíduos foram usados nesses estudos tais como resíduos industriais e domésticos, esterco e restos de cultura, especialmente aqueles de baixo valor econômico (KIEHL, 1985).

A vermicompostagem é uma variação desta tecnologia na qual são utilizadas minhocas para digerir a matéria orgânica existente nos resíduos, auxiliando no processo de degradação e melhorando o arejamento e a drenagem do material em fase de maturação. A estabilização da matéria orgânica na vermicompostagem é alcançada pelo metabolismo dos anelídeos quando se alimentam desse material. As minhocas têm um ciclo digestivo considerado rápido, e a degradação desta matéria orgânica possibilita a conversão da matéria orgânica em um vermicomposto de melhor qualidade do que os produzidos pelo método tradicional de compostagem.

O material mais estabilizado, isto é, com carbono na forma humificada, apresenta como vantagens maior capacidade de troca de cátions, maior retenção de umidade e uma mineralização mais lenta, podendo assim ser aplicado com maior eficácia no setor agrônomo no lugar da adubação química (KIEHL, 1985). Outras vantagens com relação a compostagem é um decréscimo maior da relação C/N e aumento de nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio, e pode ser relacionada à mineralização da matéria orgânica pelas minhocas (ATIYEH et al., 2001).

4.3 CONDIÇÕES QUE INFLUENCIAM O PROCESSO DE VERMICOMPOSTAGEM

Em um reator de vermicompostagem, as minhocas revolvem, quebram e favorecem o arejamento dos substratos orgânicos através de firmes galerias, sendo responsáveis também pelo tratamento físico dos resíduos. As minhocas aproveitam qualquer alimento orgânico contido na terra, que vão desde folhas secas, gramíneas, até substratos altamente celulósicos e com elevadas taxas de carboidratos, que são ingeridos enquanto se movimentam na terra. O sistema digestivo das minhocas consegue digerir esses substratos com o auxílio de enzimas como a celulase, quitinase, pepsina, a tripsina e a amilase (LOURENÇO, 2010). As minhocas são vermes classificadas como anelídeos da classe oligoqueta. São seres terrestres e fragmentado por cores, podendo ser vermelhos (*Lumbricus rubellus* e *Eisenia foetida*) ou cinzas (*Allolobophora caliginosa* e *Lumbricus terrestris*) (KIEHL, 1985).

Em ação paralela, bactérias, fungos e actinomicetos agem em regime de mutualismo com as minhocas, elevando a eficiência de tratamento do composto orgânico. Dentre outras ações das minhocas no solo, podem-se observar a mistura de horizontes do solo, atrelado a formação de um horizonte orgânico; criação de um sistema de drenagem responsável pelo aumento na capacidade de infiltração e retenção da água, aumento da porosidade e difusão do ar no solo, aumento da concentração de nitrogênio, cálcio, fósforo, potássio e outros; neutralização do pH, aumento da bioprodutividade e indução da atividade biológica (ALMEIDA, 1994).

Para que o processo de vermicompostagem seja bem executado e com uma conversão orgânica eficiente alguns parâmetros do substrato devem ser controlados, como a umidade, a aeração e a disponibilidade de nutrientes adequados. A temperatura é fator crucial pois ao contrário da compostagem, a vermicompostagem é conduzida em temperaturas mais baixas (25-40°C). O pH neutro (próximo a 7,0) e alta umidade (70-90%) também favorecem o crescimento da população de minhocas. Dentre todas as condições específicas que devem ser observadas na conversão orgânica através das minhocas, a relação carbono/nitrogênio merece uma atenção especial, visto que o carbono serve como fonte de energia para os microrganismos, e o nitrogênio serve para a confecção de suas próprias proteínas e outras biomoléculas. Há divergências entre os especialistas para uma relação C/N satisfatória, sendo que os valores sempre estão próximos de 25 partes de carbono para 1 parte de nitrogênio (NDEGWA, 2000). Contudo, Lourenço (2010) conseguiu provar que essa eficiência pode ser atingida também com valores próximos de 20 partes de carbono para 1 parte de nitrogênio. Além da relação C:N outros fatores importantes interferem diretamente nesse processo, tais como: umidade, aeração, temperatura, relação carbono/nitrogênio, pH e tamanho das partículas (BIDONE, 2001).

Conforme descrito por Lourenço & Coelho (2012), um reator vermicompostor, ambiente no qual ocorre a vermicompostagem, pode ser vertical e construído com caixas plásticas sobrepostas. O procedimento para preparo do vermicompostor pode ser realizado nas seguintes etapas:

1. adição do substrato com minhocas no fundo do vermicomposto;
2. adição resíduos orgânicos sobre o substrato;
3. cobre o substrato e resíduos com material ligninocelulósico;
4. tampa o vermicompostor;
5. deixa-se o vermicompostor em repouso, por cerca de dez dias, de modo que as minhocas se habituem ao novo habitat e comecem o processo de decomposição dos resíduos adicionados sazonalmente.

6. após o repouso, adiciona-se material ligninocelulósico juntamente com resíduos para tratamento, sobre os resíduos já decompostos, que é denominado “cama”

A Figura 1 ilustra um reator vermicompostor que foi utilizado no processo.

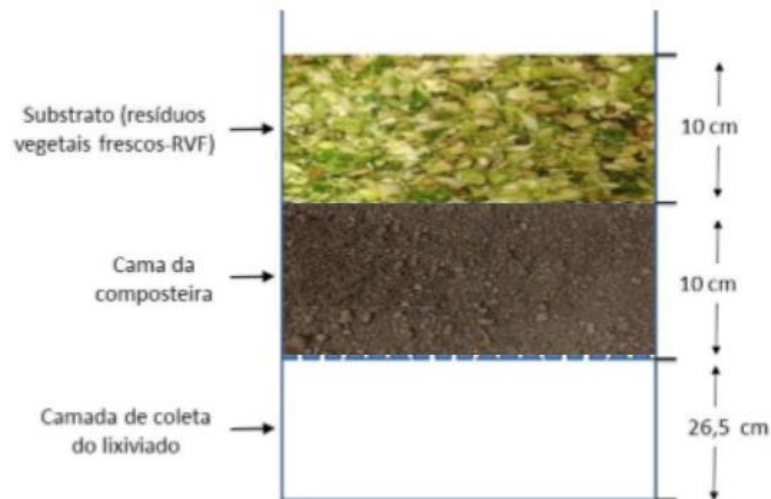


Figura 1 - Exemplo de reator vermicompostor para degradação de resíduos orgânicos

4.4 INOCULANTES E *BACILLUS SUBTILIS*

A utilização de inoculantes a base de microrganismos vivos visa acelerar e incrementar os processos de compostagem. Existem diversos produtos inoculantes à base de microrganismos formado por diversos tipos de microrganismos benéficos que podem proporcionar um processo de compostagem em cerca de um terço a metade do tempo normal. Os microrganismos que formam o inoculante são produzidos separadamente em condições apropriadas e são indicados para acelerar os processos de fermentação da compostagem aeróbia, acelerando a decomposição dos materiais orgânicos ligninocelulósicos (lignina, celulose e hemicelulose) e inibindo ainda a proliferação de microrganismos patogênicos, através da melhoria da produção de enzimas (proteases, celulasas, amilases, dentre outras) e antibióticos, o mesmo não contém nenhum tipo de microrganismos que

possa vir a ser prejudicial ao solo, as plantas ou mesmo ao homem e aos animais. As bactérias do gênero *Bacillus* são responsáveis pela produção de diversos antibióticos. Alguns exemplos de antibióticos são a polimixina, a subtilina e microbacilina. Além disso, são bactérias seguras para manipulação reconhecidas como GRAS (*Generally Recognized as Safe*), portanto não patogênicas. O gênero *Bacillus* compreende espécies que produzem uma série de enzimas hidrolíticas (como proteases, amilases, manases, glucanases, etc), e por isso tem sido utilizada extensivamente na produção industrial de enzimas (BANDOW, 2002). Originalmente chamado *subtilis Vibrio* em 1835, este organismo foi rebatizado *Bacillus subtilis* em 1872. *Bacillus subtilis* são bactérias gram-positivas que são naturalmente encontrados no solo e na vegetação em forma de haste. Crescem geralmente em um intervalo de temperatura mesofílica, sendo a temperatura ideal entre 25 e 35 graus Celsius. Stress e fome são comuns nesse ambiente, portanto, *B. subtilis* evoluiu um conjunto de estratégias que permitem a sua sobrevivência em condições adversas. O *B. subtilis* é uma bactéria que tem também a capacidade de secretar para fora da célula enzimas como amilase, protease, quitinase, xilanase, lipase, entre outros (MORIKAWA, 2006).

No meio ambiente a bactéria *B. subtilis* é uma rizobactéria, e como as suas semelhantes, promovem o desenvolvimento em vários aspectos das plantas. Também habitam o solo e apresentam diversos efeitos sobre o desenvolvimento das plantas, como benefícios na germinação de sementes e benefícios no crescimento das plantas (LAZARETTI & BETTIOL, 1997). Autores verificaram a capacidade do *B. subtilis* em produzir metabólitos que proporcionam incrementos na nodulação e rendimento da soja no campo. Foi constatado que essa mesma estirpe também produz fitohormônios e antibióticos, durante seu desenvolvimento (ARAUJO & HUNGRIA, 1999). Rodriguez & Fraga (1999) citam que estirpes do gênero *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium* estão entre as bactérias com maior potencial de solubilização de fósforo. Além da solubilização do fósforo, outros mecanismos que estimulem o crescimento das plantas estão também relacionados com o metabolismo microbiano no solo, tais como a produção de enzimas nitrogenase, quitinases e glucanases (CATTELAN et al., 1999).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento do efeito da inoculação da bactéria *Bacillus subtilis* em um processo de vermicompostagem de resíduos vegetais frescos visou melhorias no método estabelecido por NUERNBERG, em 2014, para promover a vermicompostagem também de restos orgânicos do restaurante universitário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). O procedimento utilizado para que fosse determinada a inoculação da bactéria em um reator vermicompostor envolveu quatro etapas, que foram ilustradas na Figura 2.

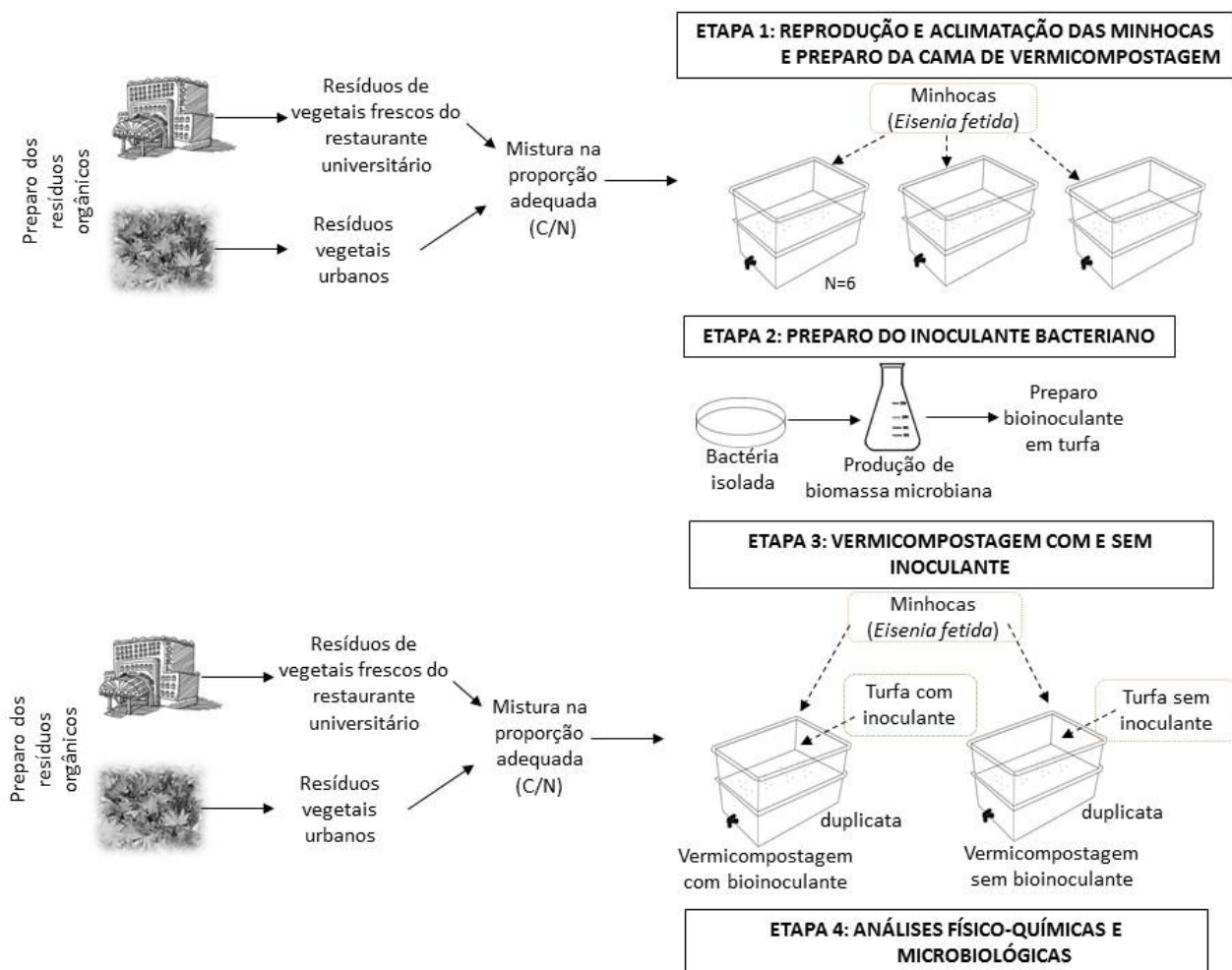


Figura 2 – Esquema geral das Etapas que sucederam o experimento.

5.1 LOCAL DE ESTUDO E SUBSTRATOS E CONFIGURAÇÃO DA VERMICOMPOSTEIRA

O experimento foi realizado no Campus da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), sede Ecoville, no Laboratório de Educação Ambiental e no Laboratório de Microbiologia, localizado em Curitiba/PR nas coordenadas UTM: 49°21'12.6864"O (X) e 25°26'36.4308"S (Y). Para cada reator vermicompostor foram utilizadas duas caixas de plástico sobrepostas, cada uma de medidas 465 mm x 325 mm x 265 mm (comprimento x largura x altura). Todos os experimentos de vermicompostagem seguiram a configuração apresentada na Figura 2. Na caixa superior os resíduos foram separados em 2 camadas: uma camada ocupando um volume equivalente a 10 cm a partir do fundo da caixa no qual foi colocado material da cama do reator vermicompostor; e outra camada preenchendo 10 cm logo acima da cama no qual foram colocados os resíduos para vermicompostagem (resíduos vegetais frescos do RU e resíduos vegetais urbanos). O fundo da caixa superior foi perfurado para permitir a remoção de eventual lixiviado formado durante o processo que foi coletado na caixa inferior. Uma torneira foi conectada na caixa inferior para a retirada do lixiviado e tampa colocada no caixa superior para minimizar a evaporação de água e manter o ambiente protegido da exposição a luz. Uma ilustração dos padrões do reator vermicompostor está representado na Figura 3.

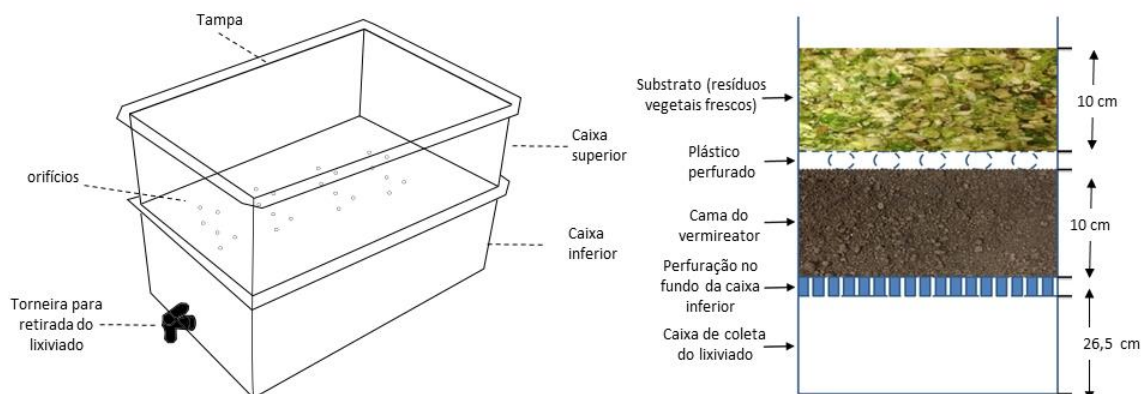


Figura 3 - Diagrama esquemático do Reator Vermicompostor.

5.2 RESÍDUOS SÓLIDOS ORGÂNICOS VEGETAIS (RSOV)

Os resíduos sólidos orgânicos vegetais (RSOV) que foram utilizados durante todas as etapas do estudo compreendem restos vegetais frescos obtidos do Restaurante Universitário da UTFPR de Curitiba (alface, repolho, almeirão e acelga) e borra residual de café da mesma universidade. Os restos vegetais do restaurante foram separados de acordo com o tipo de resíduo vegetal e fragmentados em um processador elétrico para que os resíduos apresentassem tamanho na faixa de 1,5 a 2,0 cm. A borra de café foi coletada na cantina destinada aos servidores.

Como resíduo vegetal urbano foram utilizadas folhas secas de árvores municipais do gênero *Acer* (nome comum: árvore bordo). As folhas que corresponderam aos resíduos vegetais urbanos foram coletadas no chão de ruas vizinhas à universidade, secas a temperatura ambiente em ambiente coberto, e fragmentadas em processador conforme procedimento anterior.

5.3 MANUTENÇÃO E ACLIMATAÇÃO DAS MINHOCAS – ETAPA 1

As minhocas da espécie *E. foetida* utilizadas nesse trabalho foram compradas de produtores de húmus de minhoca da cidade de São José dos Pinhais (PR). As minhocas foram separadas manualmente e divididas nos reatores vermicompostores de acordo com seu ciclo de vida em 3 grupos: fase juvenil, fase de maturidade, e fase de acasalamento; estas duas últimas compreendendo o estágio adulto. As minhocas foram mantidas e aclimatadas em quatro reatores vermicompostores durante o período de 3 meses. Para isso, 300 minhocas adultas foram colocadas em cada reator vermicompostor. Segundo Kiehl (1985), a cada metro quadrado de área recomenda-se colocar aproximadamente um quilo de minhocas, o que corresponde a um valor mil minhocas adultas. Equivalendo a área apresentada pelo reator vermicompostor utilizado no estudo, o número de cento e cinquenta minhocas por caixa seria o esperado para um procedimento de vermicompostagem padrão. Visando otimizar a degradação dos resíduos vegetais frescos, justifica-se o dobro de

minhocas por reator vermicompostor neste estudo de caso. Considerando-se que o ciclo reprodutivo dos anelídeos envolve aproximadamente três meses, entre a troca de gametas e a eclosão dos filhotes, foram desconsideradas as minhocas que apresentarem comprimento inferior a um centímetro.

Para essa fase de manutenção e aclimação das minhocas foram utilizados nos reatores vermicompostores resíduos vegetais frescos obtidos do Restaurante Universitário da UTFPR, resíduos da borra de café e folhas secas como resíduo vegetal urbano. Após processamento dos resíduos vegetais frescos e folhas secas (tamanho na faixa de 1,5 a 2,0 cm), os resíduos foram misturados numa proporção de C/N de 30/1, ou seja, 30 partes de carbono para 1 parte de nitrogênio conforme recomendado por KIEHL (1998). Para isso os resíduos vegetais frescos, borra de café e folhas foram misturados na proporção (volume do material) de 1:1:2 (resíduos vegetais frescos: borra de café: folhas secas) sobre a cama dos reatores vermicompostores. Os reatores vermicompostores foram alimentados semanalmente, quinzenalmente e, por último, mensalmente. A cama do reator vermicompostor produzido foi utilizada na etapa 3 do experimento juntamente com as minhocas, que foram contadas e mantidas em 4 reatores vermicompostores. Durante todo esse período de aclimação os reatores vermicompostores foram mantidos a temperatura ambiente (média de 23 °C) em um galpão coberto.

5.4 PREPARO DO INOCULANTE BACTERIANO TURFOSO – ETAPA 2

Como inóculo para o experimento de vermicompostagem da etapa 3 foi utilizada a bactéria *Bacillus subtilis*, que foi obtida no banco de cepas do Laboratório de Microbiologia da UTFPR. A bactéria foi mantida a 4°C em meio sólido Luria-Broth Agar (10 g/L triptona, 5 g/L extrato de levedura, 10 g/L NaCl, 15 g/L ágar bacteriológico) e cultivadas no mesmo meio sem a adição de ágar bacteriológico (denominado meio LB) em agitador orbital 120 rpm e 30°C. Para o preparo do inóculo de *B. subtilis*, uma colônia da placa de Petri foi repicada em um frasco contendo 5 mL de meio LB estéril que será incubado a 30°C durante 24h sob agitação de 120 rpm. Após esse período, 1,5 mL da cultura crescida

foram adicionados a 150 mL de meio LB em Erlenmeyer seguido de incubação a 30°C e agitação 120 rpm durante 24h. A medida da densidade óptica a 600 nm em espectrofotômetro foi utilizada para medir a biomassa das bactérias nas suspensões. Essas suspensões bacterianas crescidas foram utilizadas na produção do inoculante turfoso. Os inoculantes foram preparados em sacos de polipropileno adicionando 100 g de turfa vegetal. Após autoclavagem a 120°C durante 15 minutos, 50 mL da cultura de *Bacillus subtilis* crescida durante 24h a 30°C foram adicionados a turfa, homogeneizados manualmente, e incubados a 30°C durante 24h. Após esse período, foi realizado a contagem das bactérias viáveis em placas de Petri contendo meio Luria-Broth Agar para determinar o número de células ou unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de substrato (turfa).

5.5 EXPERIMENTO DE VERMICOMPOSTAGEM COM INOCULANTE BACTERIANO TURFOSO – ETAPA 3

A terceira etapa do experimento foi realizado utilizando quatro reatores vermicompostores, nos quais dois receberam o inoculante turfoso com a bactéria *Bacillus subtilis* (Reatores nº 1 e nº 2), enquanto os outros dois não receberam a adição de inoculante (Reatores nº 3 e nº 4), ou seja, serviram apenas como comparação com um processo normalizado de vermicompostagem. O preparo da cama dos reatores vermicompostores foi iniciado com a seleção das minhocas da espécie *Eisenia foetida*, indicadas para o processo de vermicompostagem. Para isso, foram adicionadas 300 minhocas no estágio adulto em cada cama dos reatores vermicompostores. A cama dos quatro reatores produzidas previamente na Etapa 1 tiveram a umidade ajustada para 70-80% e pH 7,0 para proporcionar uma condição favorável de vida para as minhocas. Os restos vegetais do restaurante foram coletados e separados de acordo com o tipo de resíduo vegetal e fragmentados em um processador elétrico para que os resíduos apresentassem tamanho na faixa de 1,5 a 2,0 cm. Foram utilizados para este experimento restos vegetais de radite, alface e

repolho. Folhas secas de árvores do gênero *Acer* foram fragmentadas em processador conforme o procedimento anterior.

Os resíduos orgânicos foram adicionados nos seguintes pesos: 1,5 kg de resíduos vegetais frescos triturados do R.U.; 500 g de borra seca de café, 250 g de folhas secas trituradas e 1 kg de turfa com inoculante turfoso contendo a bactéria (Reatores nº 1 e nº 2) e a mesma proporção nos outros reatores (nº 3 e nº 4) que serviram de controle para o procedimento, totalizando 3,2 kg de resíduos orgânicos em cada reator vermicompostor. Portanto, o inoculante turfoso teve a proporção 6:4:2:1 (resíduos vegetais frescos : turfa : borra seca de café : folhas secas trituradas). Os dois reatores que contiveram a bactéria foram separados espacialmente dos reatores controles, para evitar uma possível contaminação e alteração dos resultados.

Os resíduos a serem biodegradados ocuparam uma altura na caixa de 7 cm sobre a cama de vermicompostagem que teve uma altura de 9 cm. As amostras para análise dos parâmetros foram retiradas 4 amostras de cada reator vermicompostor nos tempos: inicial (T0), 1ª semana (T1), 2ª semana (T2) e 3ª semana (T3). Os seguintes parâmetros foram avaliados no decorrer do processo de vermicompostagem: pH, umidade, carbono total, nitrogênio total, contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) em meio sólido.

5.6 ANÁLISE DE pH DAS AMOSTRAS

Conforme APHA (1998), a análise de pH é o que indica se a amostra se apresenta ácida ou básica. Valores abaixo de 7,0 são considerados ácidos e valores acima do mesmo valor são considerados básicos. Quando de igual valor, nomeia-se o potencial hidrogeno-iônico de neutro. A análise de pH das amostras de vermicomposto serão feitas em mistura com água. O procedimento será a adição de vinte e cinco mililitros de água deionizada (pH 7,0) em dez gramas de vermicomposto, posterior agitação com bastão de vidro e repouso por aproximadamente uma hora. Após este período, novamente agita-se com o auxílio do bastão de vidro e adiciona-se o leitor do potenciômetro com eletrodo combinado para análise do potencial hidrogeno-iônico da amostra. A análise de

pH ocorrerá semanalmente, durante o mês no qual o inóculo turfoso estará presente na cama do vermicomposto.

5.7 ANÁLISE DE UMIDADE DAS AMOSTRAS

A análise da umidade tem como objetivo a determinação do teor de umidade presente na amostra do inoculante turfoso, que deve ser condicionado em embalagem impermeável e vedada. O procedimento padrão da análise envolve a seleção de um recipiente, que será pesado, e posteriormente receberá dez gramas do inoculante turfoso. Sequencialmente, transfere-se a amostra para uma estufa á 50° C, permanecendo nesta condição durante um período de 48 horas, para então ser novamente pesado e, com a diferença de peso, estabelecer o teor de umidade presente no composto. As análises de umidade ocorrerão semanalmente, durante o período de presença do inoculante turfoso no reator. O cálculo para determinação da Umidade Gravimétrica pode ser feito seguindo a fórmula do EMBRAPA (1979):

$$\text{Umidade Gravimétrica} = 100 \cdot (a - b)/b$$

Onde:

a = peso da amostra úmida (g)

b = peso da amostra seca (g)

E conforme estudo mais recente de Kiehl (1998), a umidade ideal para as minhocas no solo é de 80%, portanto, busca-se aproximadamente este valor dentro dos reatores vermicompostores, visando favorecer a ação das minhocas e microrganismos no vermicomposto.

5.8 ANÁLISE DE CARBONO/NITROGÊNIO TOTAL

O carbono (C) e nitrogênio (N) totais das amostras foram avaliados pelo método de combustão total, utilizando-se o analisador elementar LECO-CN 2000 no Departamento de Solos da Universidade Federal do Paraná (UFPR). As análises de Carbono e Nitrogênio totais foram realizadas no início do experimento (T0), logo após adição do inoculante turfoso no reator vermicompostor e no final do experimento (T3). As amostras coletadas em cada vermicompostor foram homogeneizadas e divididas em 3 sub-amostras. Uma sub-amostra foi seca em estufa a 50 ° para análise química, enquanto outra sub-amostra será congelada a -20°C. E, por fim, a última sub-amostra foi utilizada para realização da contagem de bactérias totais viáveis no qual foi determinado o número de células bacterianas por grama de substrato ou composto.

Este método é baseado na oxidação das amostras em alta temperatura (até 1000°C). As amostras são trituradas e colocadas em cápsula de estanho, as quais não contém carbono. Após combustão total, os gases contendo cada elemento são separados e as concentrações medidas através de detectores de condutividade térmica (TCD) e de infravermelho (IR). Esse método permite análise simultânea de carbono, hidrogênio, nitrogênio, enxofre e oxigênio, em qualquer forma ou estado de matéria. Essa combustão promove a emissão de gases que são separados por uma coluna cromatográfica e detectados através de um sensor de termocondutividade, que gera um sinal elétrico diretamente proporcional à quantidade do gás presente na amostra (EMBRAPA, 1997).

5.9 CONTAGEM DAS BACTÉRIAS VIÁVEIS TOTAIS DAS AMOSTRAS

Conforme método descrito por Swanson (2001), a contagem das bactérias foi feita através do plaqueamento de diferentes amostras diluídas em ágar LB, um meio de cultivo que contém ingredientes nutritivos básicos para o crescimento de qualquer microrganismo. Inicialmente, separou-se 10 g da amostra do inóculo turfoso e foram adicionados 100 mL de água deionizada (pH 7,0). Após homogeneização, foi adicionado 1 mL do sobrenadante em 9 mL de água deionizada contida em um tubo de ensaio auto clavado que foi agitado

durante dez segundos (diluição 10^{-2}). Após agitação, uma série de diluições (10^{-3} , 10^{-4}) foram feitas em tubos de ensaio. Após preparo das diluições, foram adicionados 100 μ L das respectivas diluições em meio nutritivo sólido nas placas de Petri, seguido por espalhamento utilizando uma alça de Drigalski. Após incubação a 37° C durante 12h, foram realizadas as contagens das unidades formadoras de colônia (UFCs). Esse procedimento foi realizado somente no início e no fim do experimento.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 ACLIMATAÇÃO DAS MINHOCAS

Na etapa de aclimação das minhocas foi possível verificar visualmente e através das contagens das mesmas que a utilização dos resíduos vegetais frescos juntamente com os outros substratos permitiu uma elevada produção de coprólitos e uma boa proliferação das minhocas. A utilização das folhas secas como material ligninocelulósico permitiu o equilíbrio da relação Carbono/Nitrogênio e o controle da umidade nos reatores de vermicompostagem. Segundo Neto (2007), a fonte de carbono é necessária para uma correta vermicompostagem, pois os resíduos vegetais frescos e a borra de café atuam majoritariamente como fontes de nitrogênio. Quando o composto possui maior concentração de nitrogênio do que carbono, pode ocorrer maior perda natural de nitrogênio através da formação de gás amônia, além de ocasionar odores indesejáveis. As unidades de vermicompostagem tiveram temperatura adequada para manutenção e reprodução das minhocas, entre 15°C e 25°C, mesmo quando a temperatura do ambiente atingiu valores acima de 33°C, pelo fato de ter sido realizado em local coberto, arejado e com pouca umidade. A umidade excessiva e arejamento deficiente podem proporcionar condições anaeróbicas no sistema de vermicompostagem. As minhocas podem sofrer elevada mortalidade em parte porque são privadas de oxigênio e também devido às substâncias tóxicas (por exemplo, amônia) produzidas em tais condições. Por outro lado, como a pele da minhoca é particularmente sensível à falta de água, caso o ambiente fosse muito seco e/ou quente, o que causaria uma perda excessiva de água do sistema e morte das minhocas pela impossibilidade de realizar trocas gasosas. A ausência de luminosidade pela possibilidade de tampar o sistema de vermicompostagem também foi um fator decisivo para a alta multiplicação de minhocas. Além disso, nesta etapa foi possível produzir a cama de vermicompostagem para utilização posterior no experimento utilizando o inoculante turfoso.

6.2 COMPARAÇÃO DA VERMICOMPOSTAGEM DE RESÍDUOS ORGÂNICOS VEGETAIS COM E SEM INOCULANTE TURFOSO

6.2.1 ANÁLISE DE pH

Conforme estabelecido, as amostras foram retiradas a cada semana totalizando 4 amostragens que compreenderam todo o experimento. A tabela 1 e o gráfico 1 mostram os resultados da análise do pH durante as análises semanais.

pH	Semana A	Semana B	Semana C	Semana D
Reator nº1	7,15	6,81	6,80	6,78
Reator nº2	7,12	6,83	6,77	6,74
Reator nº3	7,09	6,57	6,70	6,79
Reator nº4	7,14	6,46	6,72	6,77

Tabela 1 – Valores de pH do vermicomposto durante o processo de vermicompostagem.

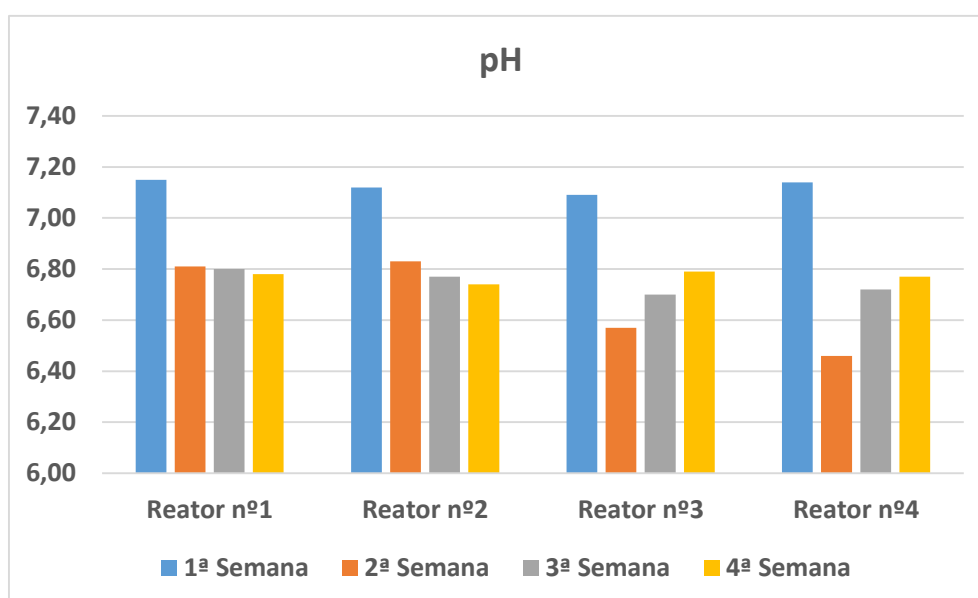


Figura 4 – Valores de pH do vermicomposto durante o processo de vermicompostagem.

Para a análise de pH, durante o período do experimento, foram observados diferentes valores de pH para as quatro caixas, porém, as diferenças

apresentadas seguiram um padrão de acordo com a presença ou não da bactéria *B. subtilis*. Nas caixas que possuíam o *B. subtilis* foi observado um decréscimo gradativo do valor do pH, que ficou entre 7,1 (início do experimento) a 6,7 (final da 3ª semana de vermicompostagem). Nas caixas em que não houve adição de *B. subtilis*, o pH apresentou um rápido declínio entre a 1ª e 2ª semana (7,1 para 6,4) com discreto aumento posterior aumento para 6,7 na 3ª semana do processo. O declínio do pH em ambas as reatores vermicompostores no início do processo pode ter relação com a produção de ácidos orgânicos pelos microrganismos aeróbios (Wu *et al.*, 2000). O consumo desses ácidos por outros microrganismos faz com que o pH volte a aumentar em seguida chegando a valores de neutralidade e é um indicativo do estágio de maturação do vermicomposto (Wu *et al.*, 2000). Foi observado que a degradação dos resíduos vegetais, borra de café e folhas secas possibilitou que as 4 reatores vermicompostores apresentassem durante o processo um pH próximo a neutralidade. Apesar dos resultados de pH não apresentarem uma variação considerável entre si no final do procedimento, durante o processo de decomposição nas caixas que continham a bactéria, foi observado uma constância que pode ser influência do microrganismo. Considerando que o melhor valor para a decomposição das minhocas é o neutro (pH 7,0), a adição desses resíduos orgânicos se mostrou viável em termos de pH tanto para a vermicompostagem com inoculante quanto para a vermicompostagem sem inoculante.

6.2.2 ANÁLISE DA UMIDADE DO VERMICOMPOSTO

O teor de umidade dos reatores vermicompostores apresentaram valores próximos em cada reator vermicompostor durante o processo analisado (Tabela 2 e Figura 5), indicando que não houve influência direta da bactéria *B. subtilis* no decréscimo ou acréscimo da umidade. O vermicompostor número 1 apresentou menores valores de umidade (na faixa de 52-56%) em relação as outras reatores vermicompostores (64-71%) durante o processo. No vermicompostor número 4 foi verificado a geração de chorume, apesar da umidade apresentar valores menores (64-67%) em relação as reatores vermicompostores 2 e 3 (68-71%).

O procedimento de trituração dos resíduos orgânicos vegetais em um processador automatizado foi realizado previamente da adição dos inoculantes turfosos nos reatores vermicompostores. Estes resíduos vegetais frescos foram dispostos em um recipiente cilíndrico revestido de um saco plástico, e considerando que foram armazenados durante tempo suficiente para a ação da gravidade, pode-se concluir que o que ficou no fundo do recipiente tornou-se mais úmido do que aquilo que estava sobre o restante. Contudo, como a umidade não apresentou alteração considerável entre os vermicompostores, a disposição dos resíduos justifica este aumento gradativo do teor de umidade entre os reatores vermicompostores, ou seja, como foram adicionados os resíduos que estavam mais próximos da superfície no primeiro reator, este vermicompostor (Reator nº 1) apresentou um teor de umidade menor que o último vermicompostor (Reator nº 4).

Umidade Porcentagem	Semana A	Semana B	Semana C	Semana D
Reator nº 1	52%	52%	55%	56%
Reator nº 2	71%	71%	69%	70%
Reator nº 3	68%	68%	69%	70%
Reator nº 4	64%	64%	65%	67%

Tabela 2 – Resultados do teor de umidade em porcentagem.

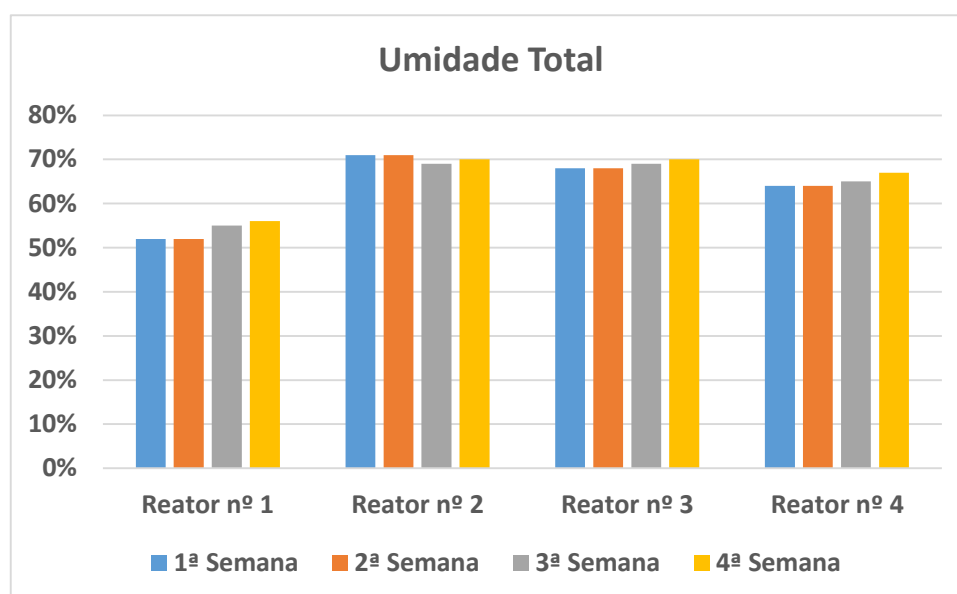


Figura 5 – Resultados do teor de umidade, dados em porcentagem.

Os dados brutos das análises do peso seco, segundo procedimento estabelecido pelo EMBRAPA, são mostrados na tabela 3.

Semana	Análise	Reator nº 1		Reator nº 2		Reator nº 3		Reator nº 4	
		Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco
Semana A	Umidade	10,08 g	4,88 g	10,03 g	4,95g	10,06 g	4,55 g	10,01 g	4,34 g
		Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco
Semana B	Umidade	10,06 g	2,96 g	10,05 g	2,88 g	10,04 g	3,17 g	10,03 g	2,98 g
		Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco
Semana C	Umidade	10,01 g	3,13 g	9,99 g	3,11 g	10,02 g	3,24 g	10,01 g	3,19 g
		Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco
Semana D	Umidade	10,23 g	3,76 g	10,12 g	3,71 g	10,19 g	3,61 g	10,21 g	3,50 g
		Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco	Peso Úmido	Peso Seco
		Composteiras com a bactéria				Composteiras sem a bactéria			

Tabela 3 - Resultados do teor de umidade do inoculante turfoso adicionado aos reatores nas semanas do experimento

6.2.3 ANÁLISE DO CARBONO E NITROGÊNIO TOTAL

O Carbono Total e Nitrogênio Total foram mensurados em laboratório terceirizado especializado, apresentando algumas diferenças dependentes da adição ou não do inoculante no sistema. A análise foi realizada somente no início (tempo zero) e no final do experimento (3ª semana), após a coleta e separação das amostras dos reatores vermicompostores. Os resultados para o C total e N total são apresentados na tabela 4 e representados graficamente nas figuras 6 e 7.

C/N Total	Início do Experimento		Final do Experimento	
	Carbono Total (g/kg)	Nitrogênio Total (g/kg)	Carbono Total (g/kg)	Nitrogênio Total (g/kg)
Reator nº 1	380,62	14,93	227,77	11,44
Reator nº 2	380,62	14,93	227,77	11,44
Reator nº 3	392,48	14,91	388,13	18,87
Reator nº 4	392,48	14,91	388,13	18,87

Tabela 4 – Resultados do Carbono Total e Nitrogênio Total no início e no final do Experimento.

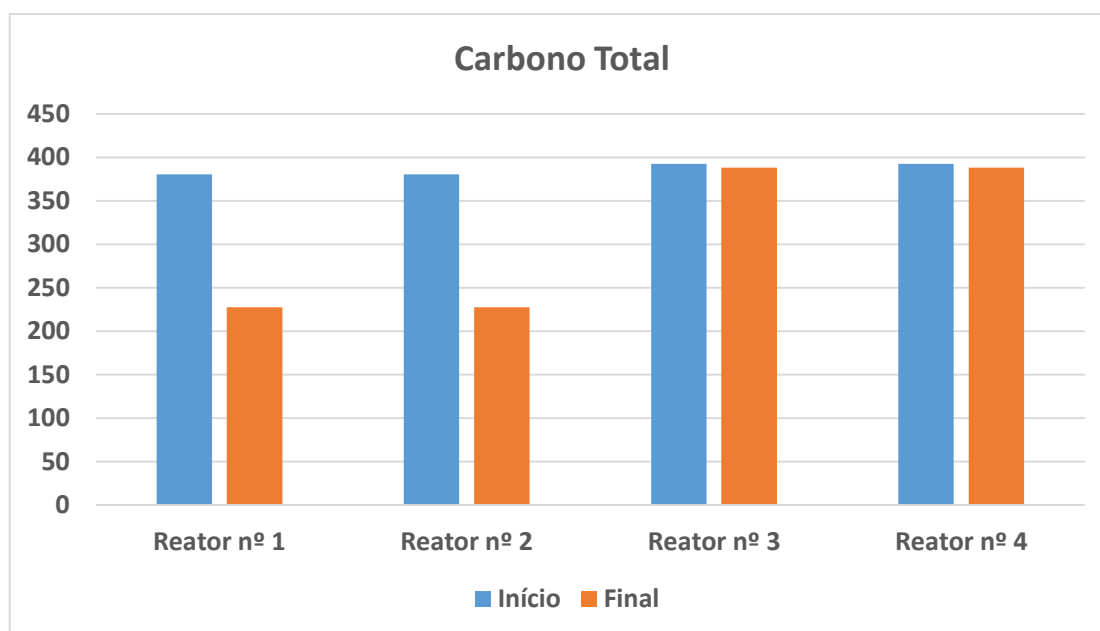


Figura 6 - Resultados de Carbono Total durante o experimento nos reatores vermicompostores.

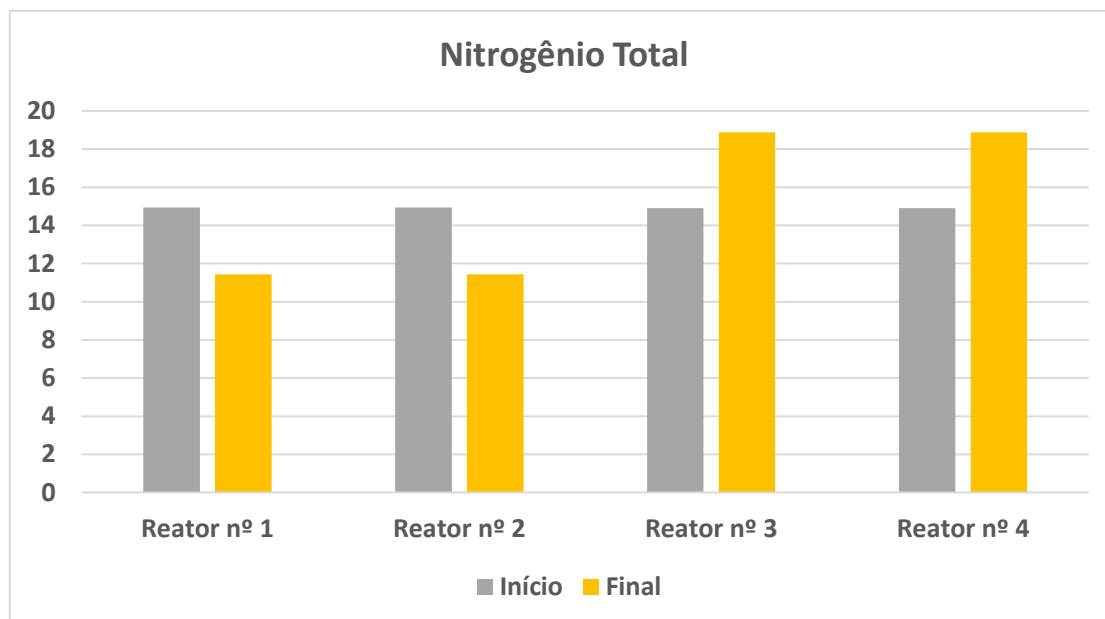


Figura 7 - Resultados de Nitrogênio Total durante o experimento nos reatores vermicompostores.

Os valores obtidos na análise de Carbono Total dos reatores vermicompostores foram próximos entre si inicialmente, uma vez que a fonte de carbono e a quantidade de biomassa utilizada no experimento foi o mesmo dos reatores vermicompostores que continham a bactéria das que serviram de controle. Nos reatores vermicompostores que continham a bactéria, os valores encontrados de carbono total no início do processo foram de 380,62 gramas de carbono para um quilograma de vermicomposto. No final deste processo, observou-se uma queda considerável neste valor, que caiu para 227,77 g/kg, aproximadamente 154 gramas para cada quilograma de vermicomposto. Nos reatores vermicompostores sem o inoculante bacteriano, foi encontrado o valor de 392,48 gramas de carbono para um quilograma de vermicomposto. No final deste processo, identificou-se uma equidade no valor, que não apresentou variação considerável no final da análise de carbono total, sendo 388,13 g/kg, aproximadamente 4 gramas para cada quilograma de vermicomposto.

Por conseguinte, os valores obtidos na análise de Nitrogênio Total dos reatores vermicompostores não apresentaram diferenças entre si inicialmente, pois as fontes de nitrogênio e a quantidade de biomassa utilizada no experimento foi semelhante em todos os reatores vermicompostores. Nos reatores que

receberam o inoculante turfoso que continha a bactéria *Bacillus subtilis*, o valor encontrado foi de 14,93 gramas de nitrogênio para um quilograma de vermicomposto. No final deste processo, identificou-se uma queda branda neste valor, que foi para 11,44 g/kg, aproximadamente 3 gramas para cada quilograma de vermicomposto. Nos reatores vermicompostores que serviram de controle para o experimento, foi encontrado o valor de 14,91 gramas de nitrogênio para um quilograma de vermicomposto. No final do experimento, observou-se uma elevação branda do resultado da análise de Nitrogênio total, que foi de 18,87 g/kg, em torno de 4 gramas de nitrogênio para um quilograma de vermicomposto.

A bactéria *Bacillus subtilis* é utilizada para a produção industrial de enzimas que degradam bem a celulose, ou seja, que decompõem bem as fontes disponíveis de carbono no ambiente. A adição do inoculante turfoso com a bactéria auxiliou os anelídeos na degradação do carbono total disponível, porém não degradou bem o nitrogênio, pois as enzimas utilizam mais o carbono disponível. Considerando que ocorre maior disponibilidade de nitrogênio total no habitat e que as enzimas produzidas pela bactéria degradam bem o carbono, conclui-se que este é o motivo da baixa degradação do nitrogênio total no ambiente. Em contrapartida, nos reatores vermicompostores nos quais a bactéria *Bacillus subtilis* não esteve presente, não só houve uma péssima degradação de Carbono Total, como o Nitrogênio Total aumentou no final do processo. A conclusão de um processo de vermicompostagem é caracterizado por um aumento de nitrogênio disponível no habitat, devido as excreções produzidas pelas minhocas (KIEHL, 1985).

Com os valores obtidos nos resultados das análises de Carbono e Nitrogênio Total, foi possível se estabelecer a relação Carbono/Nitrogênio, que é a proporção de Carbono em relação ao Nitrogênio presente no sistema, que está referido na tabela 5 e representado espacialmente na figura 8.

Relação C/N				
Reator nº 1	25:1	25:1	20:1	20:1
Reator nº 2	25:1	25:1	20:1	20:1
Reator nº 3	26:1	26:1	21:1	21:1
Reator nº 4	26:1	26:1	21:1	21:1

Tabela 5 – Resultados da relação C/N no início e no final do Experimento.

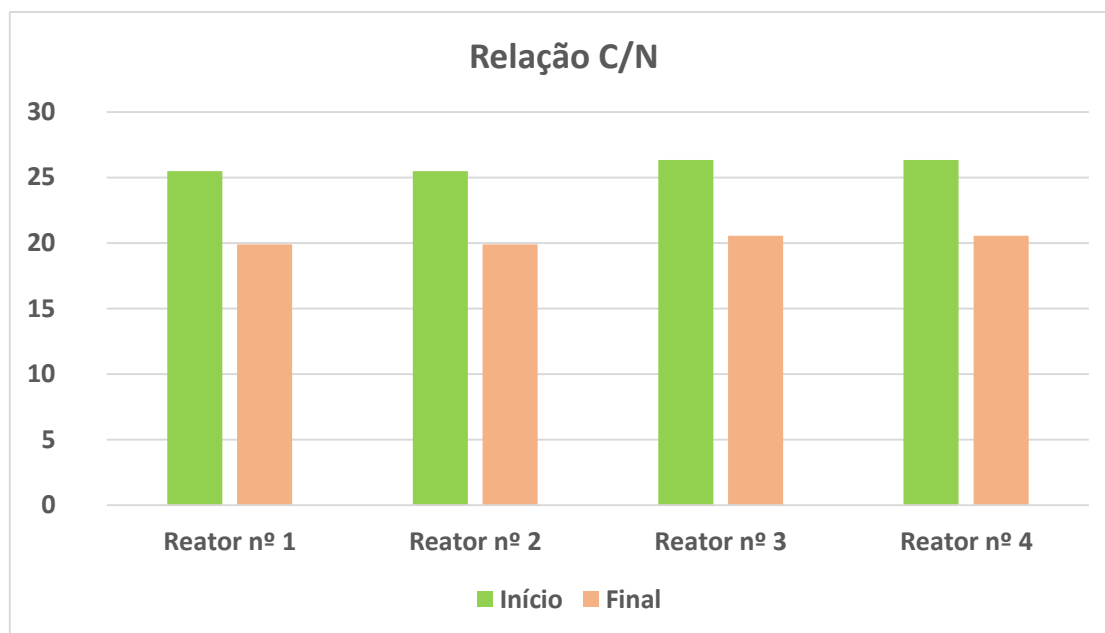


Figura 8 – Resultados da Relação C/N no início e no final do Experimento.

Nos reatores que receberam o inoculante turfoso que continha a bactéria *B. subtilis* a relação C/N apresentou inicialmente um valor de 25:1. Depois que o processo de conversão microbiana com auxílio de anelídeos foi concluído, apresentou um valor de 20:1. Valores próximos do ideal para o início e para o fim do processo considerado ideal e de rápida decomposição por Kiehl (1998). Em contrapartida, nos reatores vermicompostores que não receberam a bactéria, a relação Carbono/Nitrogênio do sistema também se aproximou do valor considerado ideal de rápida decomposição na literatura, porém com menos proximidade destes valores. No início do processo, o valor apresentado foi de 26:1, enquanto que no final da vermicompostagem foi observado um valor de 21:1.

Contudo, comparando os reatores no final do processo, percebe-se uma proximidade dos valores no fim do processo, questionando da viabilidade da adição da bactéria. Mas, o que é capaz de destacar a diferença e a vantagem de um sobre outro são as casas decimais dos valores da relação C/N no final do sistema. Enquanto que nos reatores vermicompostores que receberam a bactéria, o valor de 19,97 foi encontrado para a fração C/N. Já nos reatores vermicompostores que receberam o processo tradicional, sem a adição de

agentes exógenos, o valor encontrado para a mesma fração foi de 20,59. Ambos os processos apresentaram valores próximos do ideal para um processo de rápida decomposição no fim do sistema, entretanto, somente com a especificação dos valores que se é possível perceber a vantagem dos sistemas com a bactéria *Bacillus subtilis* perante os ausentes de bactéria.

Os resultados de carbono total e nitrogênio total indicam que houve uma interferência da bactéria *B. subtilis* no processo de vermicompostagem. Nos reatores vermicompostores que tiveram adição da bactéria, a relação C/N permaneceu mais próxima do ideal, enquanto que nas caixas-composteiras sem bactérias, essa mesma relação também permaneceu estável, porém menos próximo do ideal de um processo de rápida decomposição: 20:1.

6.2.4 CONTAGEM DAS UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIA

A contagem de bactérias totais viáveis número de unidades formadoras de colônias (UFC) contidas na amostra diluída de solo em água, foi realizada no momento da adição do inoculante turfoso no reator vermicompostor e no final do experimento após 3 semanas. As análises de contagem estão listadas na tabela 6 e graficamente dispostas nas figuras 9 e 10.

Diluições em placa	Início do Experimento		Final do Experimento	
	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-3}
Reator nº 1	98	24	34	14
Reator nº 2	84	17	29	11
Reator nº 3	0	0	38	21
Reator nº 4	0	0	43	19

Tabela 6 – Resultados da contagem de unidades formadoras de colônias

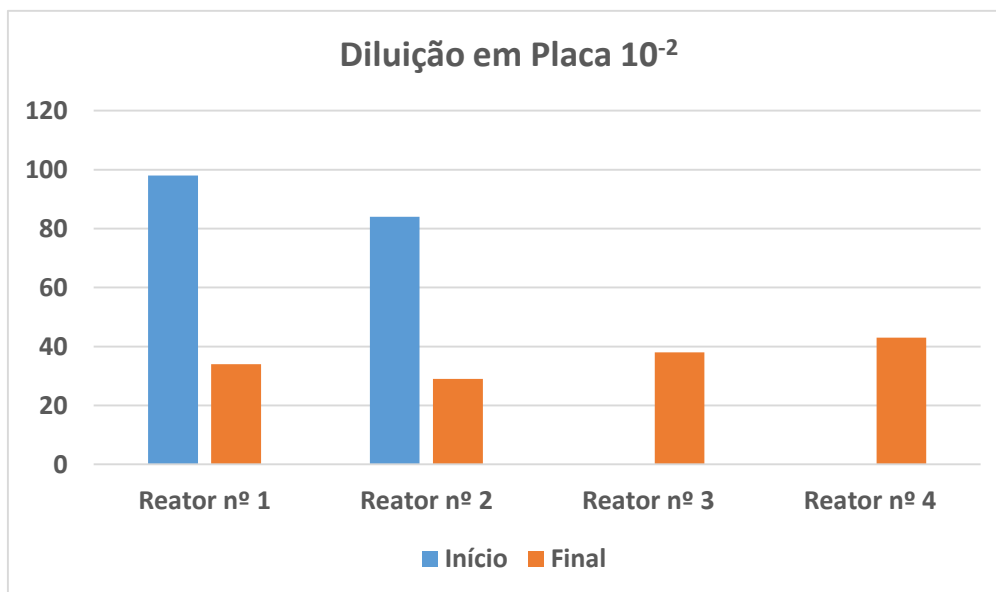


Figura 9 – Resultados da Contagem em placa de Petri na diluição 10⁻².

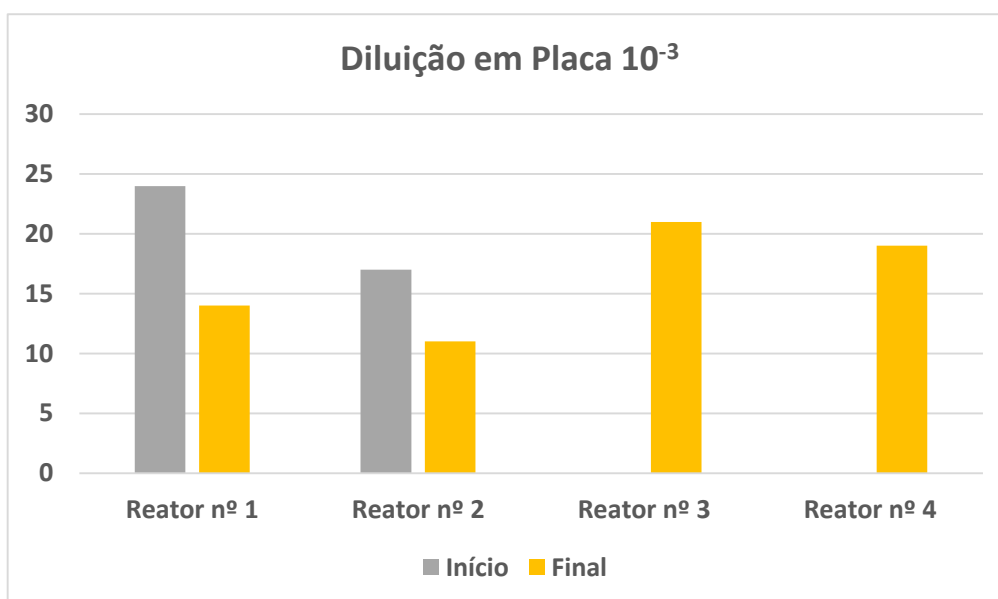


Figura 10 – Resultados da contagem em placa de Petri na diluição 10⁻³.

A contagem de bactérias através do número mais provável de unidades formadoras de colônia em cem mililitros de amostra diluída em água, mostra que esse método sugerido por Swanson (2001), apresenta alta confiabilidade.

Nos reatores que receberam o inoculante turfoso que continha a bactéria *B. subtilis*, para as duas diluições consideradas, apresentou-se inicialmente um

valor considerável de unidades formadoras de colônia para cada cem mililitros de amostra diluída em água, e posteriormente, um valor inferior. A bactéria inoculada apresenta um caráter isolador perante as demais permite que os anelídeos realizem um trabalho mais eficiente. Considerando que a disponibilidade de alimento no habitat foi reduzida no final do experimento gera competição, e que a minhoca viabiliza a manutenção da bactéria no seu trato digestivo, pode-se concluir que este é o motivo pelo qual houve um decréscimo no número de unidades formadoras de colônia de microrganismos nas diluições em Placa de Petri no final do procedimento.

Em contrapartida, nos reatores que o inoculante turfoso não continha a bactéria *Bacillus subtilis*, para ambas as diluições, indicou-se inicialmente que a turfa auto clavada não apresentava nenhum tipo de microrganismo na sua inoculação. Sequencialmente, no final do estudo, observou-se o crescimento de unidades formadoras de colônias desconhecidas no inoculante turfoso. Considerando que o desenvolvimento de microrganismos no solo ocorre naturalmente, é plausível o crescimento de unidades formadoras de colônias desconhecidas no reator vermicompostor. As análises na adição do inoculante turfoso que não continham bactérias *Bacillus subtilis* foram feitas somente para certificação de que não haveria nenhum tipo de contaminação na turfa destes reatores vermicompostores.

7. CONCLUSÃO

O experimento de estudo da viabilidade da adição da bactéria *Bacillus subtilis* em um processo de compostagem realizado com o auxílio de anelídeos foi o objetivo do presente estudo. Contudo, apresentam-se resultados e discussões obtidos durante o decorrer do experimento, para diferentes análises, que serão discutidas sequencialmente.

O experimento teve como principal objetivo promover melhorias no procedimento de vermicompostagem estabelecido por Nuernberg em 2014, com os resíduos vegetais frescos do restaurante universitário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). O referido projeto visou estabelecer o processo de vermicompostagem como tratamento para os resíduos orgânicos gerados dentro do restaurante universitário. O projeto de estudo da viabilidade da adição da bactéria *Bacillus subtilis* em um processo padronizado de decomposição microbiana com auxílio de anelídeos – vermicompostagem – mostrou que houve influência positiva do microrganismo no processo.

Inicialmente, foram observadas alterações em valores de pH, Carbono total e Nitrogênio total nos reatores vermicompostores que receberam o inoculante turfoso que continha a bactéria, e que foram diferentes dos reatores controle, que receberam um inoculante turfoso padrão.

Em relação ao valores de pH, foram observadas diferenças entre as caixas que não receberam e as que receberam a bactéria. Inicialmente, nos reatores que tinham a bactéria, foi evitada um alteração do pH que pode interferir na decomposição das minhocas, e que é caracterizada pela bactéria. Valores próximos da neutralidade foram observados nas duas caixas, e uma constante redução em ambas. Nos reatores vermicompostores controle, primeiramente, observou-se uma queda considerável no valor de pH, devido á acidez apresentada pelos resíduos vegetais frescos (RVFs), e uma constante crescimento em ambas, caracterizado pela normalidade de um processo de decomposição microbiana, onde ocorre elevação do pH devido á excreção dos anelídeos, que contém bastante nitrogênio.

O teor de umidade foi o que menos apresentou alterações na presença ou não da bactéria *Bacillus subtilis*. Todos os reatores vermicompostores apresentaram valores de umidade associados entre si, e também considerado próximos do ideal em um processo de vermicompostagem – 80% – na literatura de um procedimento padrão de um reator de vermicompostagem. Como não apresentou alterações significativas, pode-se considerar que a bactéria não influencia no processo, que além desta que foi adicionada através do inoculante turfoso, conta com o aparecimento de outras que participam do processo comum durante a sua realização. Deve-se considerar também que a trituração dos resíduos vegetais frescos apresentou maior umidade nos reatores 3 e 4, em comparação com os reatores 1 e 2, devido ao fato da ação da gravidade no recipiente em que foram armazenados o material orgânico picado, ou seja, no fundo estava mais úmido que na superfície do recipiente.

O carbono total e nitrogênio total, analisados através da relação C/N – Carbono/Nitrogênio – também apresentou diferenças nas caixas que receberam a bactéria das que serviram como controle. Ambos os processos iniciaram próximos, porém com valores diferentes entre si, 25/1 nos reatores vermicompostores que receberam e 26/1 nos que não receberam o inoculante turfoso. Dado o fim do experimento, os valores da relação C/N apresentaram diferenças decimais entre si, sendo o valor de 19,97/1 para os reatores que receberam o inoculante turfoso e 20,59/1 para os reatores controle. A adição da bactéria no reator vermicompostor ocasionou tanto a diminuição de carbono total, como a de nitrogênio total, o que não foi observado nos reatores que serviram de controle. Como a bactéria *Bacillus subtilis* é utilizada para produção industrial de enzimas que degradam bem a celulose, justifica-se o fato da diminuição do carbono total disponível nos reatores que receberam o inoculante turfoso. Nos reatores vermicompostores controle, não só houve uma baixa decomposição de carbono total, como também houve elevação do nitrogênio total disponibilizado no habitat, que pode ser explicado com a excreção das minhocas, que possuem grandes quantidades deste elemento nas suas fezes. Em ambas as situações o valor final foi próximo do ideal para um reator de rápida decomposição, porém foi nas caixas em que foram adicionadas os inoculantes

turfosos em que se observou o valor mais próximo da exatidão do sistema, o que pode se caracterizar como uma interferência da bactéria no processo.

A contagem do número mais provável de unidades formadoras de colônias em cem mililitros de amostra serviu apenas para controle da quantidade da bactéria *Bacillus subtilis* no inoculante turfoso que foi adicionado nos reatores vermicompostores um e dois, e da prova de nulidade do inoculante turfoso que foi adicionado sem nada nos reatores vermicompostores controles.

Portanto, pode-se considerar que a bactéria *Bacillus subtilis* gera determinada influência, que pode ser considerada positiva, em um processo de vermicompostagem, quando na sua adição através de um inoculante turfoso. As alterações mais notáveis ao processo comum são identificadas em maior controle do pH e redução nos valores de Carbono total e Nitrogênio total. Inicialmente, a bactéria evitou uma alteração no valor de pH, pois estabeleceu um valor próximo da neutralidade e com uma constante redução, o que significaria ajuda para o trabalho realizado pelas minhocas do sistema. A relação C/N apresentou queda nos valores finais, contudo o próprio decréscimo nestes já permite valores mais próximos do ideal em um processo considerado de rápida decomposição, 20:1, conforme estabeleceu Kiehl, em 1985.

8. ANEXOS

Resíduos Vegetais Frescos triturados utilizados para alimentação no pré-experimento.



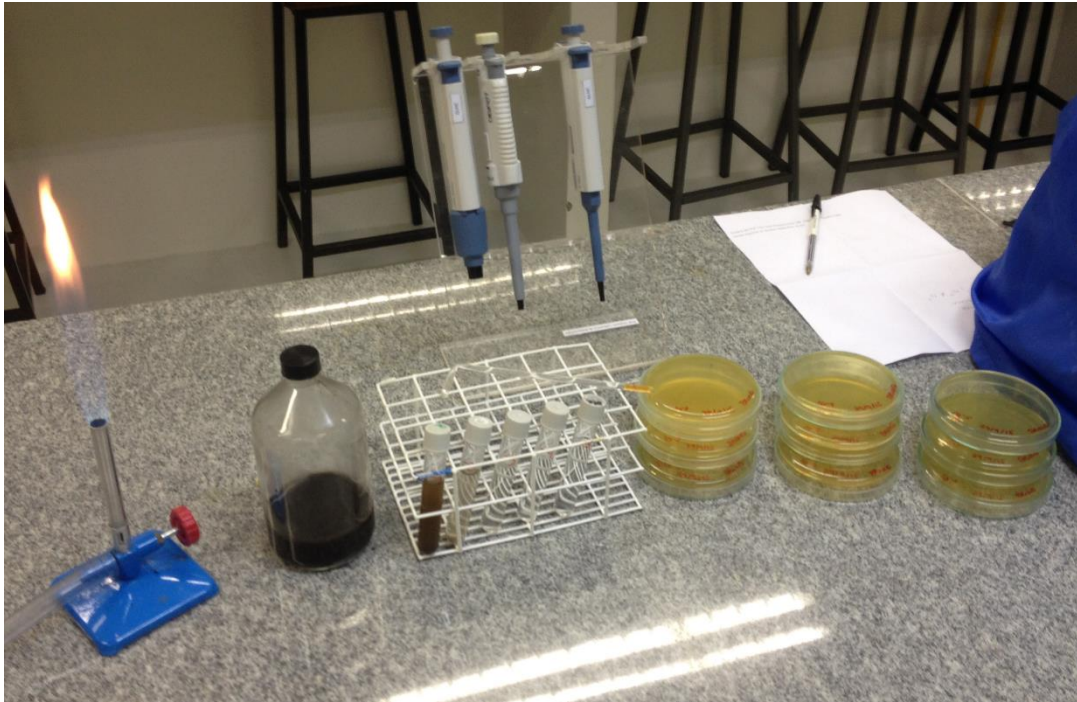
Folhas Secas trituradas utilizadas para alimentação no pré-experimento.



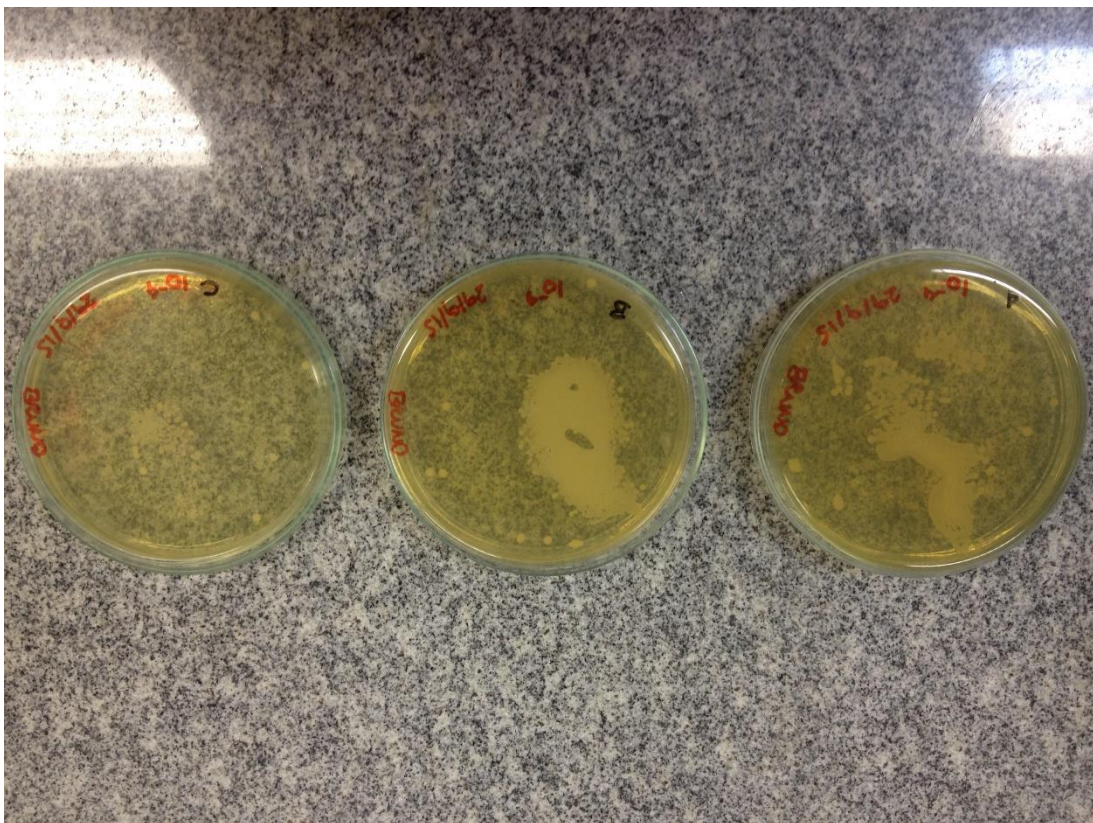
Processo de preparação das camas que receberão 300 minhocas-vermelhas-da-Califórnia cada.



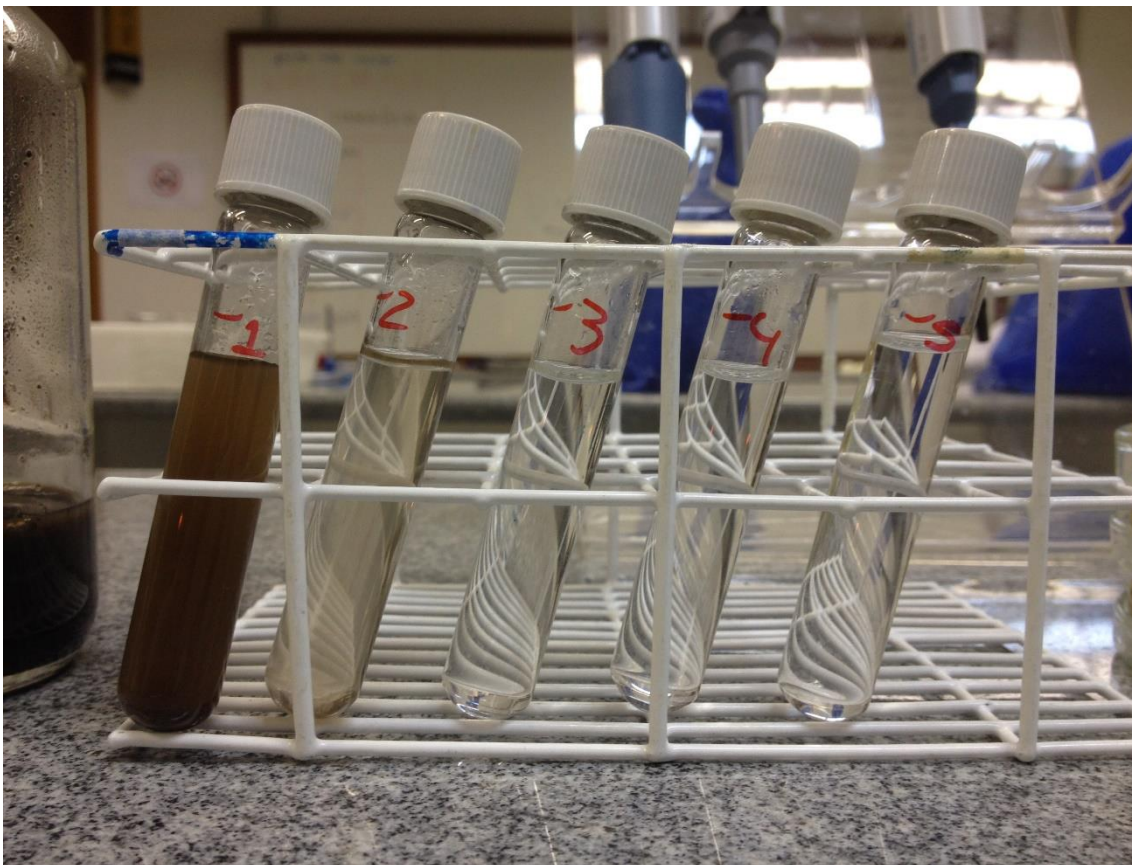
Processo de secagem ao sol, para garantir uma umidade inicial estável.



Análise da contagem de unidades formadoras de colônia de bactérias através do número mais provável.



Análises realizadas durante o decorrer do experimento, para a contagem através do número mais provável.



Diluições da amostra de inoculante turfoso diluído em água para análise da contagem de bactérias.



Análise de Peso Seco para determinação do teor de umidade das amostras de inoculante turfoso.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA; "Standard Methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 20ª edição, Washington, 1998.

ALMEIDA, P.C.C. Como criar minhocas. Brasília: SEBRAE, 1994.

ATIYEH, R.M.; EDWARDS, C.A.; SUBLER, S.; METZGER, J.D.; "Pig manure vermicompost as a component of a horticultural bedding plant medium: effects on physicochemical properties and plant growth". Bioresource Technology, 2001.

BIDONE, F. R. A. Resíduos sólidos provenientes de coletas especiais: reciclagem e disposição final. Rio de Janeiro, 2001.

BRASIL; "Política Nacional de Resíduo Sólidos". Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, 2010.

BÜTTENBENDER, S.E.; "Avaliação da compostagem da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos provenientes da coleta seletiva realizada no município de Angelina/SC". Trabalho de diplomação de Mestrado em Engenharia Ambiental – UFSC, Florianópolis – Santa Catarina, 2004.

CAMPBELL, S.; "Manual de Compostagem para Hortas e Jardins". 1995.

COELHO, F.; "Fertilidade do Solo". Campinas: Instituto Campineiro, 1973.

EMBRAPA; "Manual de métodos de análise de solos". Rio de Janeiro, 1997.

EMBRAPA; "Compostagem caseira de lixo orgânico doméstico". Circular técnica nº 76, Cruz das Almas/BA, 2005.

EMBRAPA; “Compostagem de Resíduos para a produção de adubo orgânico na pequena propriedade”. Circular técnica nº 59. Aracaju/SE, 2009.

GARCIA, C.; HERNANDEZ, T.; COSTA, F; “Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils”. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1997.

KIEHL, E. J. Fertilizantes orgânicos. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1985.

KIEHL, E.J.; “Manual de Compostagem: maturação e qualidade do composto”. Piracicaba: O Autor, 1998.

KIEHL, E.J.; “Preparo do composto na fazenda”. Casa da Agricultura, Campinas: v.3, n.3, 1981.

LOURENÇO, N. “Vermicompostagem – gestão de resíduos orgânicos. FUTURAMB”. 1.ª Edição. Lisboa – Portugal, 2010.

LOURENÇO, N.; COELHO, S.; “Vermicompostagem nas escolas – Um manual prático para o professor”. 1.ª Edição. Lisboa – Portugal, 2012.

Ministério do Meio Ambiente; “Manual para implantação de compostagem e coleta seletiva no âmbito de consórcios públicos”. MMA – Brasília/DF, 2010.

MONTEIRO, C. A. F.; “A questão ambiental do Brasil: 1960-1980”. Instituto de Geografia da USP, São Paulo, 1981.

NDEGWA, P. M.; THOMPSON, S. A., DAS, K. C. Effects of stocking density and feeding rate on vermicomposting of biosolids. Bioresource Technology, v.71, p.512, 2000.

NETO, J. T. P.; “Manual de Compostagem”. 1.ª Edição. Minas Gerais: UFV, 2007.

NUERNBERG, A.C.; “Vermicompostagem: Estudo de caso utilizando resíduo orgânico do Restaurante Universitário da UTFPR campus Curitiba – sede Ecoville” Curitiba: UTFPR, 2014.

PEREIRA NETO, J.T.; “Manual de Compostagem: Processo de Baixo Custo”. Belo Horizonte: Unicef, 1996.

PEIXOTO, R.T G.; “Compostagem: Opção para o manejo orgânico do solo”. Londrina: IAPAR, 1987.

SWANSON, K.M.J.; PETRAN, R.L.; HANLIN, J.H.; “Culture Methods for Enumeration of Microorganisms: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods”. 4.^a edição, Washington, 2001.