

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

DANILO DE ARAUJO VENDRAME

**APLICAÇÃO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES EM VERMICOMPOSTAGEM
VISANDO ELIMINAÇÃO DE PATÓGENOS**

MEDIANEIRA

2022

DANILO DE ARAUJO VENDRAME

**APLICAÇÃO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES EM VERMICOMPOSTAGEM
VISANDO ELIMINAÇÃO DE PATÓGENOS.**

**Application of efficient microorganisms in vermicomposting for pathogen
elimination.**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentada como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Ambiental, da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Prof. Dr. Márcia A. Bartolomeu Agustini.

Co-orientador: Prof. Dr. Thiago Edwiges.

MEDIANEIRA

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

DANILO DE ARAUJO VENDRAME

**APLICAÇÃO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES EM VERMICOMPOSTAGEM
VISANDO ELIMINAÇÃO DE PATÓGENOS.**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do
título de Bacharel em Engenharia Ambiental da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Data de aprovação: 10/06/2022

Márcia A. Bartolomeu

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná- campus Medianeira

Thiago Edwiges

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná- Campus Medianeira

Christiane Rhode

Mestrado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná- campus Medianeira

Fabiana Costa De Araujo Schutz

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná- Campus Medianeira

MEDIANEIRA

2022

Dedico este trabalho a minha mãe Cátia, meu pai Celso, meu irmão Daniel, meus avós e professores, que foram meu alicerce durante toda essa minha jornada.

AGRADECIMENTOS

Como em tudo na vida, todos os momentos têm o seu começo, seu meio e seu fim, e esse é o fim de um novo começo. Quero agradecer todos ao meu redor que fizeram parte dessa história e grande jornada da minha vida, um paço ao desconhecido que nunca sairá da memória, fases, distâncias, vontades e saudades tudo para buscar algo maior, sonhos conquistados e a serem conquistados, onde se fecha uma porta e se abre uma janela.

Muitos não entendem o motivo de sair do conforto para ir atrás de algo inesperado, que muitas vezes nem mesmo nós sabemos o que nos aguarda no futuro, mas, almejar grandes conquistas e buscar algo melhor está enraizado, e a medida que sempre buscamos evoluir não conseguimos mais deixar isso de lado.

Assim sendo, agradeço a cada pessoa que contribuiu para que esse sonho se tornasse realidade e aqueles que sempre me deram forças para seguir em frente proporcionando risadas e alegrias em todo o período que permaneci aqui.

“Longe é o Japão”.
(WAGNER, 2015).

RESUMO

A vermicompostagem vem sendo amplamente utilizada como técnica de tratamento e estabilização da matéria orgânica. É considerada uma forma de tratamento que não agride o meio ambiente, evita a contaminação do solo e da água por substâncias químicas, torna o solo rico em nutrientes, auxilia no controle de toxicidade do solo e gera adubos para jardins e hortas. É um processo de baixo custo que envolve a ação de minhocas e microrganismos capazes de disponibilizar nutrientes a partir de dejetos animais, restos de alimentos, podas de árvores, grama, etc. No entanto, a má condução dos processos pode ocasionar na não eliminação de patógenos presentes nos resíduos, de modo que o composto pode oferecer riscos de contaminação. Com isso essa pesquisa teve como objetivo avaliar a composição microbiana dos resíduos de origem, bem como, acrescentar microrganismos eficientes em diferentes concentrações durante o processo de vermicompostagem, a fim de avaliar a sua eficiência na remoção de microrganismos patogênicos. Foram utilizados talos e cascas de vegetais como cenoura, sobras de pó de café, corte de grama e dejetos bovinos que compuseram a mistura da pré-compostagem (20 dias). Em seguida o pré-composto seguiu para vermicompostagem com a adição de microrganismos eficientes em todos os tratamentos e minhocas da espécie *Eisenia foetida*. Para a análise de *Escherichia coli* foi utilizada a técnica do número mais provável (NMP/gMS) ou técnica dos tubos múltiplos. Para a identificação de *Salmonella* sp. e *Shigella* sp. utilizou-se a ISO 6579-1. O dejetos bovinos e o resíduo de grama apresentaram os maiores valores para coliformes termotolerantes (>1100 e 810,57 e NMP/gMS). O pré-composto apresentou coliformes termotolerantes em número superior (1100 NMP/gMS) ao permitido pela legislação e, após a vermicompostagem estes valores foram reduzidos em todos os tratamentos, inclusive no controle, sendo gerado um composto com número aceitável de coliformes. *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Staphylococcus* spp. encontraram-se presentes nos em todos os tratamentos e mantiveram-se durante a pré-compostagem até o final da vermicompostagem, de modo que o composto final não atendeu à legislação. O tratamento 4 (dose equivalente à 8 mL/L de EMs) foi capaz de reduzir em cerca 85% o número de coliformes termotolerantes do vermicomposto.

Palavras-chave: composto orgânico; coliformes termotolerantes; resíduos sólidos; *Salmonella*.

ABSTRACT

Vermicomposting has been widely used as a technique to treat and stabilize organic matter. It is considered a form of treatment that does not harm the environment, prevents the contamination of soil and water by chemicals, makes the soil rich in nutrients, helps control soil toxicity and generates fertilizer for gardens and vegetable gardens. It is a low-cost process that involves the action of earthworms and microorganisms capable of making nutrients available from animal waste, food waste, tree trimmings, grass, etc. However, the poor conduction of the processes can cause the non-elimination of pathogens present in the waste, so that the compost can offer risks of contamination. Thus, this research aimed to evaluate the microbial composition of the original waste, as well as, to add efficient microorganisms in different concentrations during the vermicomposting process, in order to assess their efficiency in removing pathogenic microorganisms. Vegetable stalks and peels such as carrots, coffee powder leftovers, grass clippings and bovine manure were used to compose the pre-composting mixture (20 days). Then the precompost was sent to vermicomposting with the addition of efficient microorganisms in all treatments and worms of the species *Eisenia foetida*. For the analysis of *Escherichia coli* the most probable number technique (NMP/gMS) or multiple tube technique was used. For the identification of *Salmonella* sp. and *Shigella* sp. the ISO 6579-1 was used. The bovine manure and grass waste presented the highest values for thermotolerant coliforms (>1100 and 810.57 and NMP/gMS). The precompost showed thermotolerant coliforms in numbers higher (1100 NMP/gMS) than allowed by legislation, and after vermicomposting these values were reduced in all treatments, including the control, being generated a compost with acceptable number of coliforms. *Salmonella* spp., *Shigella* spp. and *Staphylococcus* spp. were present in all treatments and were maintained during the pre-composting until the end of vermicomposting, so that the final compost did not meet the legislation. Treatment 4 (dose equivalent to 8 mL/L of MSs) was able to reduce the number of thermotolerant Coliforms in the vermicompost by about 85%.

Keywords: organic compound; thermotolerant coliforms; solid waste; *Salmonella*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fotografia - 1 Resíduos utilizados.....	30
Fotografia - 2 Representação da quantidade de vermicompostagem com os devidos tratamentos	32
Fotografia - 3 Pré-compostagem e vermicompostagem.....	33
Fotografia - 4 Colônias de <i>Salmonella</i> spp. no tempo zero.....	36
Fotografia - 5 Sistema Bactray I e II.....	38
Fotografia -6 Colônia típica de <i>Salmonella</i> ssp. e <i>Shigella</i> spp. em Agar XLD.....	44
Fotografia - 7 Colônias de <i>Staphylococcus</i> spp em Ágar Baird Parker.....	45
Gráfico 1 - Desenho de Temperatura do processo de pré-compostagem.....	43
Quadro 1 - Presença/Ausência de <i>Salmonella</i> spp. e <i>Shigella</i> spp.....	43
Quadro 2 - Presença/Ausência de <i>Staphylococcus</i> spp.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – NMP/gMS para Coliformes Totais e Termotolerantes dos Resíduos utilizados na compostagem.....	41
Tabela 2 – NMP/gMS para Coliformes Totais e Termotolerantes na mistura dos resíduos e após a pós-compostagem.....	42
Tabela 3 – Coliformes Totais em Vermicomposto.....	44
Tabela 4 – Coliformes Termotolerantes.....	45
Tabela 5 – Presença/Ausência de <i>Salmonella</i> spp. e <i>Shigella</i>	47
Tabela 6 – Presença/Ausência de <i>Staphylococcus</i> spp.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C	Controle
CEMA	Concelho Nacional do Meio Ambiente
Ems	Microrganismos eficientes
NMP	Número mais provável
NMP/gMS	Número mais provável grama de massa seca
T1	Diluição de Microrganismos eficientes em 10 ⁻³ ml/L
T2	Diluição de Microrganismos eficientes em 10 ⁻⁴ ml/L
T3	Diluição de Microrganismos eficientes em 10 ⁻⁵ ml/L
T4	Diluição de Microrganismos eficientes em 10 ⁻⁶ ml/L
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
XLD	Desoxicolato-lisina-xilose

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS.....	16
2.1	Objetivo geral.....	16
2.2	Objetivo específico.....	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1	Resíduos sólidos.....	17
3.1.1	Resíduos sólidos orgânicos.....	18
3.2	Tratamento dos resíduos sólidos.....	19
3.2.1	Compostagem.....	20
3.3	Vermicompostagem.....	22
3.3.1	Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos	23
3.3.2	Temperatura, umidade e oxigênio.....	23
3.3.3	Relação C/N e nitrogênio amoniacal.....	24
3.3.4	pH e condutividade elétrica.....	24
3.3.5	Granulometria.....	24
3.3.6	Microrganismos patógenos em compostagem/vermicompostagem....	25
3.3.6.1	<u>Eliminação de patógenos na compostagem/vermicompostagem.....</u>	<u>25</u>
3.4	Microrganismos eficientes.....	27
3.4.1	Aplicação dos Microrganismos eficientes.....	28
3.4	Legislação na compostagem/vermicompostagem.....	30
4	METODOLOGIA.....	31
4.1	Pré-compostagem.....	31

4.2	Vermicompostagem.....	32
4.3	Obtenção de microrganismos eficientes.....	32
4.3.1	Adição dos microrganismos eficientes.....	33
4.4	Análise microbiológica.....	34
4.4.1	Coliformes.....	35
4.4.2	<i>Salmonella</i> spp. e <i>Shigella</i> spp.....	36
4.4.3	<i>Staphylococcus</i>	37
4.5	Sistema Bactray I e II.....	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	40
5.1	Presença/ausência de salmonella spp. e shiguella spp.....	45
5.2	Presença de <i>Staphylococcus</i>.....	47
5.3	Sistema Bactray I e II.....	48
6	CONCLUSÃO.....	49
	REFERÊNCIAS.....	51

1 INTRODUÇÃO

O homem através de suas atividades é um grande gerador de resíduos, com destaque para os sólidos orgânicos, os quais tem como destino final, em sua grande maioria, os aterros sanitários porém, muitas vezes esses resíduos são destinados incorretamente, sendo mandados para lixões e aterros controlados. Esta disposição da matéria orgânica tem provocado esgotamento dos aterros, aumento de acúmulo nos lixões e nos aterros controlados e vem colocando em risco a saúde do homem.

Para Malta (2017), encaminhar os resíduos sólidos orgânicos aos aterros, gera para a maioria dos municípios, despesas, que poderiam ser evitadas caso a matéria orgânica fosse separada direto na fonte e encaminhada para um tratamento específico, por exemplo, via compostagem.

A compostagem é uma alternativa ambientalmente correta, contribuindo para a agricultura sustentável, formando-se um adubo orgânico no final, segura e definitiva, que contribui diretamente para a redução dos passivos ambientais e atende à Política Nacional de Resíduos Sólidos – PNR (WOODARD *et al.*, 2004).

A vermicompostagem é um processo no qual ocorre associação da decomposição microbiana com a ação concomitante das minhocas, as quais aceleram a decomposição da matéria orgânica em condições aeróbias dos materiais e sob condições controladas, reciclando restos de comida e matérias orgânicas, devolvendo a terra duas vezes mais cálcio, duas vezes e meia de magnésio, sete vezes mais de fósforo, e onze vezes mais potássio do que contem no solo.

Na vermicompostagem as minhocas são as grandes responsáveis pelo processo de decomposição que ocorre em parceria com os microrganismos (Singh *et al.*, 2011). Trata-se de um processo de baixo custo (Costa *et al.*, 2016), e muito benéfico para a sociedade, pois seu produto gerado pode ser utilizado em uma ampla área, como por exemplo adubo para plantas melhorando a porosidade do solo, conseguindo reduzir riscos de erosão e acelerando o processo de humificação dos demais resíduos orgânicos presentes no solo, consegue promover a regulação de microrganismos, impedindo penetração de

substâncias tóxicas no solo, retenção da umidade e é capaz de manter a temperatura do solo equilibrada (CERDA *et al.* 2017; EPSTEIN, 1997).

A fim de otimizar a compostagem e a vermicompostagem, uma alternativa que vem sendo utilizada é a inoculação no composto com microrganismos eficientes (EMs), grupo formado por bactérias lácticas, actinobactérias, leveduras, entre outros, os quais podem acelerar o processo de decomposição, atuar contra microrganismos patogênicos dos resíduos utilizados, além de reduzir o odor e produzir um composto com maior teor de nutrientes (SOUZA *et al.*, 2019; JUSEH *et al.*, 2013).

Deste modo, este trabalho visa avaliar o efeito de EMs na redução de organismos patogênicos presentes em resíduos orgânicos de origem vegetal e animal.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a ação dos microrganismos eficientes (EMs) na remoção de microrganismos patogênicos de vermicomposto produzido com resíduos alimentares, grama e dejetos bovinos.

2.2 Objetivos Específicos

- Quantificar e identificar microrganismos patogênicos em resíduos de talos e cascas de vegetais como cenoura, sobras de pós de café, dejetos bovinos e aparas de roçagem de grama.
- Quantificar microrganismos patogênicos na mistura de todos os resíduos.
- Quantificar os microrganismos patogênicos no tempo zero da vermicompostagem, pós pré-compostagem e dos tempos 20 dias e 40 dias sendo adicionados nesse período os microrganismos eficientes.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Resíduos sólidos

Segundo a Política nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), os resíduos sólidos são definidos como todo material, substância, objeto ou bem descartado resultante de atividades humanas em sociedade (BRASIL, 2010)

Os objetivos principais da PNRS são:

- Proteger a saúde pública junto com a qualidade ambiental;
- Manter o foco na não geração, redução, reutilização, reciclagem e tratamento dos resíduos sólidos, além da disposição final ambiental adequada dos rejeitos;
- Estimular a adoção de padrões sustentáveis de produção e consumo de bens e serviços, aderindo e melhorando tecnologias limpas que minimizem o impacto ambiental;
- Diminuir os riscos causados pelos resíduos perigosos e tóxicos.

Segundo as diretrizes aplicáveis aos resíduos sólidos a gestão e gerenciamento de resíduos sólidos, deve ser observada a seguinte ordem de prioridade: não geração, redução, reutilização, reciclagem, tratamento dos resíduos sólidos e disposição final ambientalmente adequada dos rejeitos.

De acordo com o Conselho Nacional do Meio Ambiente CONAMA N° 452 de 02/07/2012 os resíduos sólidos são divididos em:

- **Resíduos Classe I** – Perigosos. Os resíduos da classe I são categorizados com base em sua capacidade de inflamar, de corroer, de reagir e se forem tóxicos ou patogênicos. Tintas, materiais médicos, produtos químicos e radioativos, alguns tipos de lâmpadas, baterias, entre outros são exemplos de resíduos desta classe.
- **Resíduos Classe II** – Não perigoso;

- **Classe II A** – Não inertes. Os resíduos da classe II A podem ser biodegradáveis, ser um combustível e/ou ser solúvel em água.
- **Classe II B** – Inertes. Os resíduos da classe II B são todos aqueles em que, quando se pega uma grande amostra e a submete a um contato com a água destilada, não tem nenhum de seus constituintes solubilizados. Todavia, pode-se haver a mudança de cor, turbidez, dureza e sabor. Alguns exemplos são: pedras, areia e materiais de construção em geral (CONAMA N° 452 de 02/07/2012).

Segundo dados do Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil, a geração saiu de 66,7 milhões de toneladas em 2010 para 96,1 milhões em 2021, uma diferença de 29,4 milhões de toneladas. O mesmo estudo diz ainda que cada brasileiro produz, em média, 390,55 kg de lixo por ano, o que corresponde a 1,07 kg por dia (ABRELPE, 2021).

A geração total de RSU aumentou cerca de 19% no país, com um crescimento de 9% no índice de geração per capita. Uma análise regional permite verificar que o Sudeste segue como a região que mais contribui para a geração de resíduos em âmbito nacional com índices de 98,2% de cobertura de coleta dos resíduos, sendo o norte com 81,4% de índice de coleta de resíduos (SNIS, 2021).

3.1.1 Resíduos sólidos orgânicos

Os resíduos orgânicos são constituídos basicamente por restos de alimentos e resíduos de jardim descartados de atividades humanas, como cascas, caroços, ossinhos, alimentos estragados, grama cortada, podas diversas. As hortaliças estão entre os alimentos mais perecíveis e em geral, constituem parte importante do total de alimentos descartados nas residências e no comércio.

Ao se verificar a realidade dos resíduos sólidos no Brasil, percebe-se que a potencialidade de aplicação da compostagem é alta, a começar pela grande geração de resíduos orgânicos.

No âmbito dos resíduos sólidos domiciliares, por exemplo, a fração orgânica chega a representar mais da metade do total coletado no país, já no Sudeste 98,2% de cobertura de coleta dos resíduos no estado do n, de acordo com a Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais – ABRELPE (ABRELPE, 2020). A contribuição da matéria orgânica diante do total de resíduos coletados em todo Brasil chega a 51,4%, o que justifica uma alta potencialidade de aplicação da compostagem como tratamento dessa parcela dos resíduos sólidos domiciliares nos municípios brasileiros (TATIATE *et al.*, 2017).

3.2 Tratamento dos resíduos sólidos

Existem diferentes tipos de processos biológicos e térmicos de tratamento dos resíduos sólidos, dentre eles podemos citar:

Incineração: Resulta em redução de massa e volume de RSU de cerca de 70 e 90%, respectivamente. A incineração é vista por diversos autores como forma segura quando devidamente aplicada, podendo ser utilizado como recuperação de energia, em casos onde aproveitam o calor e não tenha poluição atmosférica advinda desse processo, pela qual também ocorre a minimização da periculosidade dos resíduos (NZIHOU *et al.*, 2012; USHIMA; SANTOS, 2018).

Autoclavagem: Para esse processo existe uma adaptação e desenvolvimento para a esterilização dos resíduos, onde o sistema de alimentação conduz os resíduos na autoclave onde é feita a injeção d'água sob pressão. Os resíduos ficam na autoclave durante um período para que se tornem estéreis (CAMACHO *et al.*, 2017), sendo retirado qualquer tipo de contaminação dos materiais depositos na autoclave, podendo ser reutilizados e/ou armazenados em locais adequados.

Micro-ondas: Os resíduos passam por uma trituração, umidificação e assim são depositos continuamente no forno micro-ondas, com isso proporciona a ausência de emissão de efluentes (CAMACHO *et al.*, 2017).

Reciclagem: processo de conversão de resíduos em materiais ou produtos de potencial utilidade. Mas o termo reciclar é usado, tecnicamente, apenas para coisas que podem voltar ao seu estado original. Sendo assim, é um processo para uma variedade limitada de materiais:

- Papel;
- Plástico;
- Vidro;
- Metais;
- Orgânicos;
- Não-Recicláveis.

Uma alternativa aos lixões e aterro sanitários é a reciclagem, pois é considerada a mais adequada ecologicamente e economicamente, uma vez que diminui os acúmulos de detritos na natureza e a reutilização dos materiais principalmente dos recursos não renováveis. (SCARLATO; PONTIN, 1992, p. 57).

Compostagem: É o tratamento biológico da matéria orgânica realizado por meio de um processo aeróbico (na presença de oxigênio), que resulta no composto ou fertilizante como produto final (ABBASI; RAMASAMY, 1999). A compostagem segue a ordem de prioridade da PNRS (BRASIL, 2010), evitando a disposição final de resíduos com possibilidade de tratamento.

Vermicompostagem: “é um processo biológico aeróbio e controlado de transformação de resíduos orgânicos em resíduos estabilizados, com propriedades e características completamente diferentes do material que lhe deu origem”, onde na primeira etapa do processo utiliza-se minhocas para promover e acelerar o processo de degradação da matéria orgânica, para conseqüente formação de húmus (BIDONE, 1999, p. 51).

3.2.1 Compostagem

A compostagem é realizada naturalmente por microrganismos benéficos na presença de oxigênio, que gera temperaturas entre 55 e 65 C°, resultando na eliminação de patógenos e sementes de plantas daninhas.

“O resultado é um fertilizante orgânico de alto valor agregado e de baixo custo de produção com grande potencial de uso” (MILLER *et al.*, 2009).

Na compostagem, inicialmente, atuam microrganismos que metabolizam o nitrogênio orgânico transformando-o em nitrogênio amoniacal e com o decorrer da decomposição, a amônia pode ser perdida por volatilização ou convertida à forma de nitratos, pela nitrificação, fenômeno que é acidificante e contribui para que o composto maturado seja mais ácido do que o material original. Porém, se houver condições de anaerobiose, o nitrato será perdido por desnitrificação e este fenômeno tem efeito alcalinizante (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

No processo de compostagem a energia produzida pelos microrganismos promove um incremento de temperaturas. Quando essas encontram-se superiores a 40°C começam a predominar os microrganismos termofílicos, responsáveis pela decomposição acelerada da matéria orgânica. Nessa fase as temperaturas ultrapassam os 55°C, promovendo a eliminação dos microrganismos patogênicos para os humanos ou para as plantas. Acima dos 65 °C a maioria dos microrganismos serão eliminados, incluindo aqueles que são responsáveis pela decomposição, necessitando assim, controlar a temperatura com umidade e aeração mantendo a níveis desejados (GARCEZ *et al.*, 2008).

De acordo com o Diagnóstico de Resíduos Sólidos do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), o Brasil coletou em 2019 em média 0,99 kg/hab./dia de resíduos domiciliares e públicos. Estima-se que foram coletadas cerca de 65,11 milhões de toneladas por ano ou 178,4 mil toneladas por dia de resíduos sólidos urbanos nos municípios brasileiros e deste total, houve a recuperação de 305 mil toneladas, recebidas em 73 unidades de compostagem, o que representa menos de 0,5% do total de resíduos do país (BRASIL, 2019).

Além de ser considerada uma destinação ambientalmente adequada, a compostagem possui diversas outras vantagens, que dependem da abrangência de implementação da técnica. Localmente, pode-se ressaltar que o processo resulta em um composto final rico em matéria orgânica humificada que pode ser utilizado como fertilizante para o plantio de diversas espécies vegetais, inclusive alimentícias (TATIATE *et al.*, 2017).

3.3 Vermicompostagem

Vermicompostagem é um processo controlado que utiliza a ação conjunta de minhocas e microrganismos, sob condição aeróbica, com a finalidade de estabilizar a matéria orgânica, inviabilizando o grau poluente e contaminante dos resíduos (KIEHL, 1985; LORES *et al.*, 2006). Com isso em vista, é necessário conhecer as condições ideais para o desenvolvimento da técnica como temperatura, umidade, aeração e relação C/N, além da melhor maneira de executá-la e gerar ótimos resultados (SONG; *et al.*, 2014).

Neste método, a maior parte dos compostos orgânicos é degradada e os resíduos são transformados em compostos ricos em nitrogênio, fósforo, potássio e substâncias húmicas (SONG *et al.*, 2014).

Embora os microrganismos sejam responsáveis pela degradação bioquímica da matéria orgânica, as minhocas são as principais responsáveis pelo processo de fragmentação e condicionamento do substrato. As minhocas agem como “liquidificadores mecânicos” triturando a matéria orgânica, modificando as características físicas, químicas e biológicas, reduzindo gradualmente a relação C/N, aumentando a área de superficial exposta à ação microbiana, tornando assim, o material mais facilmente decomposto (DOMÍNGUEZ *et al.*, 2004).

A técnica de vermicompostagem pode ser dividida em três principais etapas, sendo elas:

1) Etapa inicial ou de degradação: Nesta etapa os microrganismos realizam o “ataque” inicial dos resíduos, ocorrendo os primeiros processos de mineralização.

2) Etapa de colonização dos resíduos por parte das minhocas: Nesta etapa as moléculas orgânicas são transformadas em constituintes mais simples, por meio da ação dos microrganismos e processo de digestão das minhocas. Todos os compostos orgânicos são colonizáveis pelas minhocas, em menor ou maior grau, e a dificuldade de colonização advém das características de cada resíduo.

3) Etapa de maturação: Nesta etapa ocorre a mineralização e humificação dos compostos. Tal processo origina substâncias de elevada estabilidade (BOSCO *et al.*, 2004).

3.3.1 Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos

O conjunto de fatores condicionantes para o bom desenvolvimento de um sistema biologicamente complexo como a compostagem deve ser balizado por uma série de parâmetros, sendo que cada tipo de material a ser compostado exige uma combinação ótima de umidade, aeração, relação C/N, pH, granulometria, altura de leira e temperatura (VALENTE *et al.*, 2008).

3.3.2 Temperatura, umidade e oxigênio

A umidade ideal para as minhocas é de 80-90% e a temperatura ideal em torno de 25°C, entretanto, elas suportam condições onde a temperatura atinge os 30°C. Verifica-se a umidade apertando o substrato com a mão, se escorrerem poucas gotas de água, estará próxima dos 80% (ARAUJO *et al.*, 2015).

A umidade é primordial à sobrevivência das minhocas: tanto a escassez quanto o excesso de umidade podem ocasionar a rápida letalidade. Deste modo, os teores de umidade devem estar entre 75 e 90%. As minhocas possuem respiração cutânea e na presença de água o oxigênio é absorvido pela cutícula da pele das minhocas e o CO₂ é dissipado.

Valores inferiores a 70% comprometem a respiração das minhocas, levando-as à morte por asfixia. Valores superiores a 90% também comprometem a sua sobrevivência, uma vez que o excesso de água preenche o espaço poroso, gerando zonas de anaerobiose, limitando o fornecimento de oxigênio (LOURENÇO *et al.*, 2014). A ausência de oxigênio, causado pelo excesso de água, afeta a atividade das minhocas, promovendo perda de N por volatilização, se o substrato tiver alta densidade e compactação, pode ocorrer falta de espaços e baixa porcentagem de oxigênio, afetando a atividade das minhocas (AQUINO *et al.*, 2003).

A quantidade necessária de oxigênio para a compostagem depende do estágio em que ela se encontra. Nas primeiras etapas, de rápida degradação, verifica-se uma grande necessidade para a realização adequada do processo.

Já nas etapas finais, com a redução da atividade microbiana, preferem-se condições menos oxidativas, fazendo com que a necessidade decaia (SHARMA *et al.*, 1997; ANDREOLI *et al.*, 2001). Segundo Fernandes e Silva (1999) são necessárias 2g de oxigênio por grama de sólidos voláteis biodegradáveis para oxidação da matéria orgânica biodegradável.

3.3.3 Relação C/N e nitrogênio amoniacal

A qualidade nutricional do resíduo orgânico também é importante, influenciando a taxa de alimentação das minhocas. O substrato adequado para as minhocas possibilita que possam ingerir $\frac{1}{4}$ do seu próprio peso diariamente (HARTENSTEIN, 1981). Materiais com alta relação C/N na faixa de 15/1 (carência de carbono e excesso de nitrogênio) a 35/1 como o bagaço de cana-de-açúcar, em torno de 273, contém grande quantidade de carboidratos resistentes à transformação e baixo conteúdo de N (nitrogênio), em torno de 2 g.kg⁻¹ (CERRI *et al.*, 1988).

3.3.4 pH e condutividade elétrica

As minhocas apresentam maior sobrevivência em pH ligeiramente ácidos, situados na faixa de 5,5 a 6,5. Porém, valores acima de 7,5 podem prejudicar as atividades metabólicas (SOARES; SOUZA; CAVALHEIRO *et al.*, 2004).

3.3.5 Granulometria

Assim como no processo de compostagem, na vermicompostagem a granulometria interfere no desempenho do processo. Menores granulometrias aumentam a área superficial específica e a área de contato com as minhocas e com a comunidade microbiana, facilitando o “ataque”, acelerando assim a decomposição do material. Todavia, partículas muito pequenas facilitam a compactação, criando condições de anaerobiose (LOURENÇO *et al.*, 2014).

3.3.6 Microrganismos patogênicos em compostagem/vermicompostagem

A maior parte da matéria-prima a ser compostada contém patógenos. Os esterco são fontes valiosas de fertilizantes frequentemente usados como matéria prima no processo de compostagem, mas microrganismos patogênicos ou agentes zoonóticos podem estar presentes nessa matéria-prima ou no próprio composto. Portanto, a aplicação da compostagem necessita de controle para que não represente um risco para a saúde pública ou veterinária e não cause contaminação do ambiente natural (CANCELADO *et al.*, 2014).

O estudo do comportamento de microrganismos fecais em resíduos orgânicos torna-se necessário, devido às constantes aplicações de materiais orgânicos contaminados no solo. Tratar os resíduos orgânicos e ainda manter o seu potencial nutritivo, para aplicação agrícola é um desafio para ciência, mas que poderia ser amenizado por meio da adoção de práticas simples, como a vermicompostagem (CANCELADO *et al.*, 2014).

Um microrganismo prevalente no composto é a *Salmonella* spp. A bactéria é bastante resistente e pode sobreviver no ambiente por longos períodos de tempo (GUAN e HOLLEY, 2003). *Salmonella* spp. podem ser identificadas em fezes de gado, esterco de galinha e dejetos de suínos (MURRAY, 1998). Jones (1980) relatou que o gado saudável pode excretar ao redor de 10^7 UFC de *Salmonella* spp. por grama de fezes.

3.3.6.1 Eliminação de patógenos na compostagem/vermicompostagem

A técnica de compostagem foi estruturada para reduzir a quantidade de microrganismos patogênicos, onde a temperatura é considerada um fator determinante na inativação dos patógenos que é complementada pela atividade microbiana antagônica. No entanto, dados quantitativos sobre as taxas de inativação microbiana e a influência da temperatura são limitados e controversos (NETH *et al.*, 1989; SINGH *et al.*, 2011).

O processo de compostagem é caracterizado por aumentos e diminuições de temperatura onde podem ser diferenciadas pelo menos duas fases. Na primeira fase de decomposição, ocorre um processo exotérmico onde moléculas complexas são degradadas em moléculas orgânicas e inorgânicas simples pela atividade biológica. A fase de decomposição consiste em dois estágios: o mesofílico com temperaturas entorno de 37° C, e o termofílico com temperaturas chegando até 70° C. A segunda fase é a de maturação e também é constituída por duas etapas, uma de resfriamento, com temperaturas que variam desde 40° C até à temperatura ambiente, e uma de estabilização, caracterizado por baixa atividade microbiana. (SOLIVA, 2001; COOPERBAND, 2002; HAIGHT, 2000).

O aquecimento da leira de compostagem decorrente do metabolismo microbiológico reduz a maioria dos patógenos e digere os tecidos em condições predominantemente aeróbicas, o carbono suplementar absorve fluidos corporais e atua como um biofiltro para evitar o escape de odores (KABALSI *et al.*, 2005).

Nos estudos conduzidos por Alami (2018), observou-se contaminação por coliformes termotolerantes em 2 compostos. Um deles produzido com dejetos equino, casca de arroz, braquiária, poda de árvore e o outro com lodo de laticínio + poda de árvore + cinza. Para o autor, os dejetos animais utilizados atingiram temperatura adequada para sanitização, e, o atribuiu-se a contaminação ao local de armazenamento dos compostos.

Outro estudo, apontado pelos estudiosos Monroy, Aira e Domínguez (2009), avaliaram a redução de bactérias Coliformes totais em dejetos suínos com *Eisenia* e concluíram que estas, juntamente com os microrganismos presentes no processo foram responsáveis por 98% das reduções ocorridas. Também, verificou-se em estudo em pequena escala utilizando minhocas *Eiseniaandrei*, a redução de bactérias Coliformes termotolerantes, *Enterococci*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. (Procházková *et al.*, 2018).

3.4 Microrganismos eficientes

Os microrganismos são minúsculos seres vivos que encontramos naturalmente em solos férteis e em plantas. Esses microrganismos coexistem em meio líquido (Andrade *et al.*, 2020), e são divididos em quatro grupos sendo eles:

- Leveduras;
- Actinomicetos;
- Bactérias produtoras de Ácido Lático;
- Bactérias fotossintéticas.

Estes organismos vivos podem ainda ser classificados em dois grupos: os regenerativos (microrganismos produtores de ácido láctico, bactérias fotossintéticas, leveduras, actinomicetos e fungos benéficos), que produzem substâncias orgânicas e úteis às plantas, melhorando as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo; e os degenerativos, que produzem substâncias prejudiciais, impedindo o crescimento das plantas e favorecendo a infestação de pragas e doenças (BONFIM *et al.*, 2011).

Os microrganismos conhecidos como regenerativos estão presentes naturalmente nos solos férteis de florestas, possuindo um papel funcional na vida do solo e das plantas, os quais possuem a capacidade de fixação do nitrogênio atmosférico, decomposição de resíduos orgânicos, a supressão de agentes patogênicos no solo, reciclagem e aumento da disponibilidade de nutrientes para as plantas, degradação de toxinas, produção de antibióticos e outros componentes bioativos, produção de moléculas orgânicas simples para o consumo das plantas e a produção de polissacarídeos para melhorar a agregação do solo (ARIAS, 2010). O produto denominado microrganismos eficientes foi desenvolvido no Japão, sendo utilizado como biofertilizante na agricultura orgânica desde a década de 80, e além da forma comercial deste produto, fabricada e distribuída no Brasil pela Fundação Mokiti Okada, têm-se o conhecimento do método caseiro de captura destes microrganismos, que permite aumentar o grau de aceitação dos produtores agrícolas pelo baixo custo e pelas facilidades de sua fabricação (CALERO-HURTADO *et al.*, 2018).

Os microrganismos eficientes podem ser capturados em solo saudável, solos de mata virgem, em uma área de mata fechada de preferência e posteriormente ativados com melaço de cana, onde essa parte consiste em adicionar os Microrganismos ao melaço para que aconteça uma maior proliferação.

3.4.1 Aplicação dos Microrganismos eficientes

A utilização dos EMs em plantas, sementes ou solo, podem trazer benefícios como o aumento da produtividade agrícola, atuando na germinação, florescimento, frutificação e ativação do amadurecimento; evitar a proliferação de plantas espontâneas, doenças e pragas; reduzir a quantidade de aplicações de outros adubos sintéticos no solo; atuar na descompactação do solo associados a adubos verdes, aumentando a porosidade e a infiltração de água; e atuar como decompositores de matéria orgânica, acelerando o processo de compostagem (BONFIM *et al.*, 2011).

Os microrganismos eficientes podem ser utilizados no solo, nas plantas, na água, no saneamento ambiental, nos animais, nos solos e nos berçários de plantio e principalmente na vermicompostagem, pois, os EMs aceleram a decomposição dos resíduos reduzindo o tempo de vermicompostagem (ANDRADE *et al.*, 2020).

Segundo Panisson (2017) com a influência das temperaturas externas na compostagem em pequena escala, a adição de microrganismos eficientes afetou mais na eliminação de patógenos do que na temperatura ou o tipo de processo empregado. Este estudo evidenciou ainda que a inserção de microrganismos eficientes na compostagem de resíduos agroindustriais em pequena escala, se mostrou uma alternativa bastante viável para garantir a qualidade do composto e produzir um adubo orgânico.

Em contrapartida, para Rubio *et al.*, (2012) a adição da solução de microrganismos eficazes nas doses aplicadas, não resultou em grandes benefícios à vermicompostagem, uma vez que as minhocas já realizam um excelente trabalho de estabilização.

EMs também são utilizados para acelerar a estabilização de material orgânico, além de melhorar as características físico-químicas do solo. Por ser

uma alternativa altamente benéfica ao meio ambiente, o uso de soluções com EMs tem atraído cada vez mais adeptos preocupados com a saúde e qualidade ambiental (RUBIO *et al.*, 2018).

3.5 Legislação na compostagem/vermicompostagem

Um dos principais decretos que se pode citar é o decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004 que estabelece as normas gerais sobre registro, padronização, classificação, inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas destinados à agricultura, assim como a compostagem/vermicompostagem se enquadram como biofertilizantes temos que ter esse decreto descrito.

Cita-se ainda a Resolução do Conselho Estadual do Meio Ambiente – CEMA N° 90 de 03/12/2013 que estabelece os critérios técnicos, legais e operacionais para o processo de compostagem de resíduos sólidos urbanos compostáveis e para o uso do composto no âmbito do estado do Paraná.

Para essa resolução é apresentado os limites máximos de contaminantes admitidos no composto final, sendo eles para Coliformes Termotolerantes (NMP/gMS) (limites máximos de contaminantes admitidos em substrato para plantas e condicionadores de solo e limites máximos de contaminantes admitidos em fertilizantes orgânicos) tendo valor de < 1000 gMS e para *Salmonella* spp, sendo necessário a ausência em 10g MS (Massa Seca).

Em 2017 foi criada a resolução que prevê o uso do composto curado, com posterior passagem por compostagem e vermicompostagem, disposta na Resolução CONAMA N° 481, de 03 de outubro de 2017. Esta Resolução estabelece critérios e procedimentos para garantir o controle e a qualidade ambiental do processo de compostagem de resíduos orgânicos, visando à proteção do meio ambiente e buscando reestabelecer o ciclo natural da matéria orgânica e seu papel natural de fertilizar os solos.

Essa resolução não se aplica a processos de compostagem de baixo impacto ambiental, desde que o composto seja para uso próprio ou quando

comercializado diretamente com o consumidor final, independentemente do cumprimento do disposto na legislação específica quanto às exigências relativas ao uso e à aplicação segura. O órgão ambiental competente definirá os limites de baixo impacto ambiental, levando em consideração parâmetros mínimos como origem dos resíduos, segregação prévia, quantidade de resíduos compostados por dia (escala), tipo de processo, dentre outros.

4 METODOLOGIA

4.1 Pré-compostagem

A pré-compostagem ocorreu no início do mês de novembro de 2021, no pátio de compostagem da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, situado no município de Medianeira – PR.

Os resíduos utilizados para o processo foram adquiridos mediante doações dos restaurantes de escolas municipais e de uma Indústria localizada no estado do Paraná. Foram utilizados na pré-compostagem: grama misturada com resíduos de preparo alimentício inicial (contendo cascas de vegetais, sobras de café, entre outros) e dejetos bovinos (fotografia 1). Foram utilizados 72kg de resíduo alimentício, 11 kg de grama e 37kg de dejetos bovinos, totalizando 120kg.

Fotografia 1 Resíduos utilizados.



Fonte: Autoria Própria (2021).

A mistura de todos esses resíduos (pré-compostagem) foi realizada em lona plástica no chão. Posteriormente, os resíduos foram transferidos para o pátio de compostagem localizado na própria universidade, permanecendo por um período de 20 dias.

4.2 Vermicompostagem

Transcorrido o período de pré-compostagem, o composto curado foi acondicionado em vermicomposteiras de bancada feitas de madeira e tela de fundo (30cm x 40cm x 15cm, sendo altura, largura e profundidade, respectivamente) com 18L de volume. Foram adicionados 2kg de composto curado em cada vermicomposteira, preenchendo 50% do volume total da mesma

Na vermicomposteira foram utilizadas minhocas californianas (*Eisenia foetida*), provenientes de uma criação estabelecida na UTFPR-MD.

4.3 Obtenção dos Microrganismos eficientes (EM)

Os microrganismos eficientes foram obtidos utilizando-se a metodologia descrita no Caderno dos Microrganismos Eficientes (BONFIN *et al.*, 2011).

Para a coleta dos EMs, escolheu-se uma propriedade rural particular localizada cidade de Matelândia-PR, que apresentava um remanescente florestal. No preparo da “isca”, utilizou-se arroz cozido, sem tempero e sem óleo, depositado em um bambu cortado ao meio, o qual foi enterrado no chão e coberto com serrapilheira. A isca foi mantida no local por um período de 15 dias.

Após este período foi feita a separação do arroz de acordo com a sua coloração, sendo usado o arroz com a coloração rosa, azul, amarelo e/ou alaranjado. Já o arroz com cor escura, cinza, marrom e preto foi descartado (BONFIN *et al.*, 2011).

O arroz nas cores correspondentes aos EMs foi misturado com melaço de cana e homogeneizado para ativação destes microrganismos. O armazenamento se deu em garrafas PET de 2L que foram completadas com água sem cloro, a quantidade de arroz foi determinada pela quantidade de colônias aptas para realizar o estudo sendo recolhidas apenas as bactérias de coloração mais clara.

As garrafas eram abertas a cada 2 dias para saída do gás durante um período que variou entre 10 e 20 dias. Transcorrido este período, os EMs estavam prontos para o uso.

4.3.1 Adição dos microrganismos eficientes

Foram acrescentados no composto curado (vermicomposteiras) 4 diferentes doses de microrganismos eficientes ($3 \text{ ml}^{-1} \text{ L}$, $4 \text{ ml}^{-1} \text{ L}$, $5 \text{ ml}^{-1} \text{ L}$ e $6 \text{ ml}^{-1} \text{ L}$), que juntamente com o controle que nele não existiu a adição de Ems, totalizaram-se 5 tratamentos. Cada composteira possuía 2 L de composto, de modo que as doses consistiam em 6ml, 8ml, 10ml e 12ml de EM.

Foram realizadas quadruplicatas de cada um dos cinco tratamentos, totalizando 20 vermicomposteiras, conforme fotografia 2.

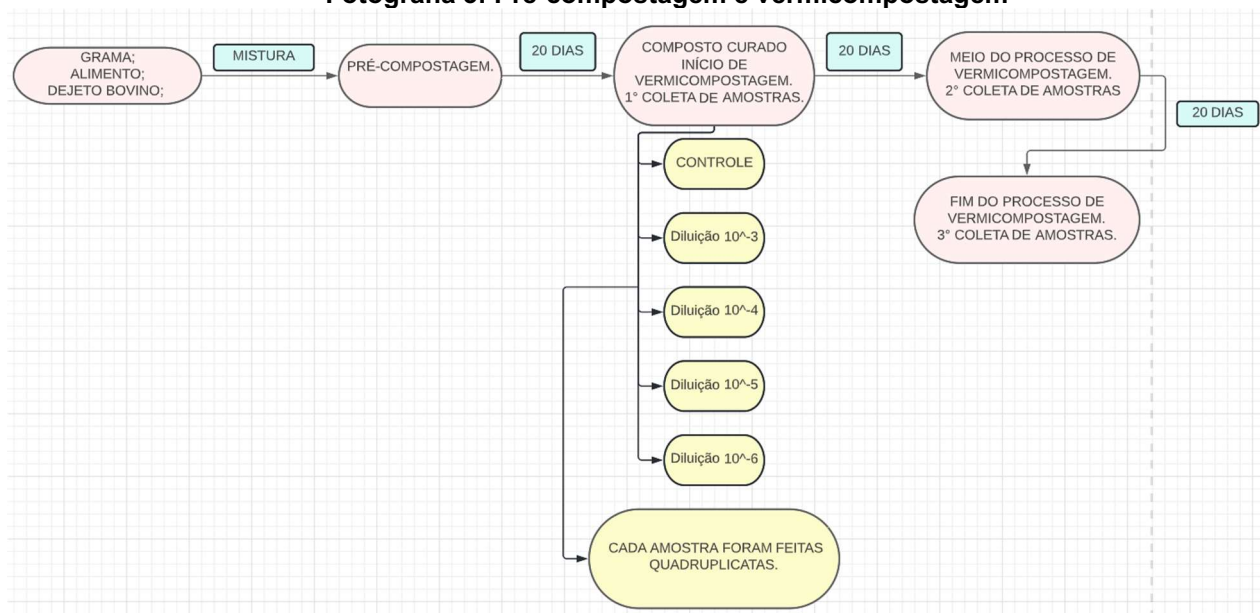
Fotografia 2 Representação da quantidade de vermicomposteiras com os devidos tratamentos.



Fonte: Autoria Própria (2022).

As vermicomposteiras permaneceram durante o período de 40 dias no laboratório de Análise de solos localizados na UTFPR-MD, e os EMs foram inoculados em suas devidas doses. A fotografia 3 abaixo representa todo o processo do experimento.

Fotografia 3: Pré-compostagem e vermicompostagem



Fonte: Autoria Própria (2022).

4.4 Análises microbiológicas

Os microrganismos patogênicos (*Coliformes* e *Salmonella* spp.) foram quantificados em quatro diferentes etapas do experimento:

Primeira: no tempo zero, para investigar quais patógenos estavam presentes na grama, dejetos bovinos e restos de alimentos, separadamente.

Segunda: no composto curado, posterior a pré-compostagem, a fim de verificar se o processo auxiliou na eliminação de patógenos. Este período corresponde ao tempo zero da vermicompostagem.

Terceira: vinte dias após o início da vermicompostagem, nos cinco diferentes tratamentos (controle, 3ml^{-1} L, 4ml^{-1} L, 5ml^{-1} L e 6ml^{-1} L).

Quarta: quarenta dias após o início da vermicompostagem, nos cinco diferentes tratamentos (controle, 3ml^{-1} L, 4ml^{-1} L, 5ml^{-1} L e 6ml^{-1} L).

Para a análise dos microrganismos patogênicos foram coletadas 04 subamostras de cada uma das 20 vermicomposteiras, até atingir a quantidade de 25g, realizando-se homogeneização das mesmas no pacote plástico de coleta quando pertencentes ao mesmotratamento. O vermicomposto foi coletado e armazenado em saco plástico desinfetados e mantidos sob refrigeração até o momento das análises.

Para caracterização dos microrganismos patogênicos utilizou-se e 25g de amostra de cada um dos tratamentos e procedeu-se a etapa de pré-enriquecimento.

No pré-enriquecimento foram adicionados 225 mL de água peptonada tamponada (1%) a 25g de composto, em saco plástico esterilizado. A mistura foi homogeneizada por aproximadamente 120 segundos em homogeneizador (*Stomacher 80 Laboratory Blender Seward*) e incubadas a 37°C por 24 horas em estufa de incubação no laboratório de Microbiologia da UTFPR, campus Medianeira.

Após o pré-tratamento, realizou-se uma diluição seriada em tubos contendo 9ml de água salina estéril. Utilizou-se um total de seis tubos de ensaio (10^{-1} a 10^{-6}).

4.4.1 *Coliformes*

Para quantificação de coliformes totais e termotolerantes foi utilizada a técnica do número mais provável (NMP/g) ou técnica dos tubos múltiplos conforme *Standard methods for the examination of water and wastewater* (APHA 2017).

Para a etapa denominada Etapa Presuntiva foram preparados 9 tubos contendo 10ml de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), tomando apenas as três primeiras diluições da etapa de pré-diluição, (10^{-1} a 10^{-3}). Para cada diluição foram pipetadas 1ml das diluições nos respectivos tubos de LST, e incubados a 37°C por 24h.

Transcorrido o período de incubação, foi analisado cada tubo individualmente, sendo separados aqueles com evidencia de fermentação (tubos contendo gás no tubo de durhan e turvação do meio), considerados tubos positivos.

Para etapa denominada Etapa Confirmativa para Coliformes Totais foram preparados tubos com 10ml de caldo Bile Verde Brilhante (BVB) (o número

de tubos positivos na etapa presuntiva deve ser o número de tubos a ser utilizado na etapa confirmativa).

Através da técnica da difusão (líquido-líquido), foram transferidos com alça de platina todos os tubos que positivaram na etapa presuntiva, assim foram incubados por 24 horas à uma temperatura de 37°C.

A confirmação de Coliforme Termotolerantes aconteceu mediante o preparo de tubos contendo 10ml de caldo *Escherichia coli* (EC). Os tubos positivos do caldo LST foram repicados para o caldo EC (o número de tubos positivos na etapa presuntiva deve ser o número na etapa confirmativa). Os tubos foram incubados por 24/48 horas à 45°C.

Os resultados para coliformes totais e termotolerantes são apresentados em Número Mais Provável por grama de Massa Seca (NMP/gMS).

Após o período de incubação os tubos positivos no Caldo BVB e Caldo E.C foram anotados para comparação com a tabela de Número mais provável.

4.4.2 *Salmonella* spp. e *Shigella* spp.

Para o isolamento de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp., utilizou-se como metodologia a ISO 6579-1 (2017).

Iniciou-se com o pré-enriquecimento, onde foram adicionados 225 mL de água peptonada tamponada em 1% a 25g de composto, em saco plástico esterilizado. A mistura passou por homogeneização por 120 segundos em homogeneizador ("*Stomacher 80 Laboratory Blender Seward*"). Posteriormente, as amostras foram incubadas a 37°C por 24 horas.

- Enriquecimento seletivo:

Alíquotas de 0,1mL foram pipetadas das amostras pré-enriquecidas para tubos contendo 10mL de caldo Rappaport Vassiliadis (RV – OXOID® CM669) e 1,0mL para tubos contendo 10mL de caldo Selenito-Cistina (SC – MICROMED® 2087). Os tubos foram incubados a 41°C ± 0,5°C, sob agitação mecânica constante de água por 24 horas e os ensaios foram realizados em triplicata

- Plaqueamento diferencial:

Para isolamento, cada cultivo nos caldos de enriquecimento foi semeado, utilizando-se alça de platina, sobre a superfície de dois meios seletivos (ágar

Salmonella-Shigella e Agar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) em duplicata e cultivados em estufa a 37°C por 24 horas, sendo representadas as colônias na fotografia 4.

Os resultados para *Salmonella* e *Shigella* são apresentados com base em Presença/Ausência em 10g de Massa Seca.

Fotografia 4 Colônias de *Salmonella* spp. no tempo zero.



Fonte: Aatoria Própria (2021).

4.4.3 *Staphylococcus*

O isolamento de *Staphylococcus* foi feito através de sua detecção e enumeração em meio seletivo. Neste estudo foi utilizado o meio Baird Parker sendo adicionado gema de ovo com telurito.

As análises foram feitas para meio e final de processo, sendo constatado presença ou ausência da bactéria no meio.

4.5 Sistema Bactray I e II

A identificação das bactérias gram negativas se deu através do Kit Bactray da empresa fabricante Laborclin ®. O sistema é composto por 3

conjuntos de provas bioquímicas, Bactray I, II e III, que totalizam 30 substratos destinados à identificação de bacilos.

Para a identificação de Bacilos Gram negativos oxidase negativa utilizou-se o Bactray I e II, sendo que cada conjunto é composto por um suporte descartável que contém 10 compartimentos para execução das provas bioquímicas.

Para usar o kit Bactray, as colônias bacterianas oriundas das placas contendo Ágar EMB foram isoladas em novas placas de Petri com meio de cultura EMB e incubadas a temperatura de 35°C, em um período de 24 horas, após esse período, foram suspensas em tubos de cultura com 2 ml de água salina estéril, e comparadas visualmente ao padrão de turvação da escala McFarland (tubo 0,5) a fim de padronizar a concentração bacteriana do inóculo a ser utilizado durante o processo.

Na sequência, distribuiu-se 1 ml uniformemente entre os meios de cultura do kit Bactray para posterior incubação à 35°C por 18 a 24h para posterior identificação dos bacilos Gram negativos oxidase negativos, fermentadoras ou não de glicose representado na fotografia 5.

A interpretação do resultado foi realizada de forma manual, em duas etapas. Primeiramente foi realizada a leitura das provas bioquímicas, observando se a reação era positiva ou negativa, conforme critérios específicos do sistema Bactray para cada compartimento. Posteriormente, as anotações foram inseridas no sistema, onde o mesmo gerou uma codificação entre as provas positivas e negativas, gerando o bacilo Gram negativo que foi identificado pela amostra sendo comparada com a norma para a identificação das bactérias, representado na fotografia 5.

Fotografia 5 Sistema BacTray I e II.



Fonte: Autoria Própria (2021).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ao se fazer uma análise da tabela 1, nota-se que os valores para coliformes obtiveram valores muito além do que diz a legislação, demonstrando que existe a necessidade submeter os resíduos a algum tratamento para a redução desses microrganismos.

Tabela 1 – NMP/gMS para Coliformes Totais e Termotolerantes dos Resíduos utilizados na pré-compostagem

Resíduos	Coliformes Totais		Coliformes termotolerantes	
	Limite Inferior- Superior	Índice de NMP	Limite Inferior- Superior	Índice de NMP
Poda de Grama	90 – 2000	810,57	90 – 2000	810,57
Dejeto bovino	420 - .	>1100	420 - .	>1100
Resíduos Alimentares	420 - .	>1100	420 - .	>1100

Legenda: NMP/gMS = Número Mais Provável por grama de massa seca.

Fonte: Aatoria Própria (2022).

Dentre os três, dejeto bovino e os resíduos alimentares apresentaram maior número de coliformes, valor este que já era esperado. Por se tratar em sua maioria de cascas e talos de hortaliças, os alimentos se não higienizados corretamente acabam apresentando contaminação microbiana por estarem em contato direto com o solo e, para o dejeto animal, sabe-se que as bactérias coliformes ocorrem no trato intestinal de animais de sangue quente e justificam a presença nos dejetos bovinos. Para Amaral *et al.*, (2003), o dejeto bovino depositado no solo diretamente representa risco de contaminação, uma vez que esses animais são reservatórios de diversos microrganismos.

A mistura de resíduos apresentou número similar de coliformes totais e termotolerantes antes da realização da pré-compostagem e justificam a necessidade de submeter os resíduos à um tratamento para a eliminação dos patógenos.

A tabela 2 apresenta os valores (NMP/gMS) de coliformes totais e termotolerantes para a mistura de resíduos no início do processo e após 20 dias de pré-compostagem (tempo zero da vermicompostagem).

Tabela 2 – NMP/gMS para Coliformes Totais e Termotolerantes na mistura dos resíduos e após a pré-compostagem

Resíduos	Coliformes Totais		Coliformes termotolerantes	
	Limite Inferior- Superior	Índice de NMP	Limite Inferior- Superior	Índice de NMP
Mistura no início do processo	420 - .	>1100	420 - .	>1100
Após pré-compostagem (20 dias)	420 - .	>1100	180 – 4100	1100

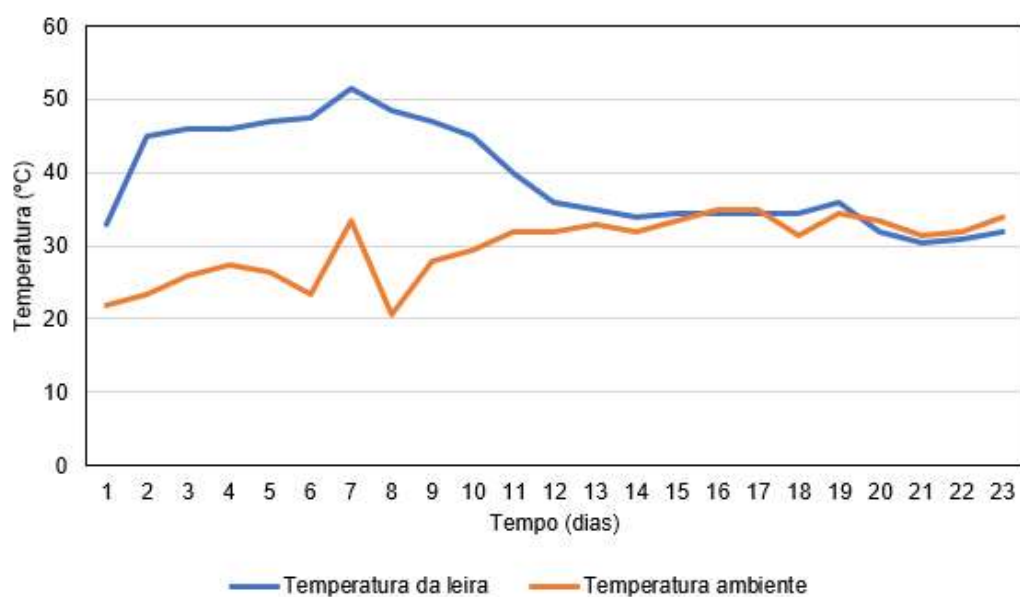
Legenda: NMP/gMS = Número Mais Provável por grama de massa seca.

Fonte: Aatoria Própria (2022).

Observa-se que após os 20 dias de pré-compostagem, os valores para coliformes totais mantiveram-se inalterados. Por sua vez, embora tenha havido redução no número de coliformes termotolerantes após a pré-compostagem, os valores obtidos não estão de acordo com a legislação (CEMA 090/2013), que cita <1000 (NMP/gMS) para coliformes termotolerantes.

Este resultado pode ser explicado pela temperatura da leira de compostagem que durante a fase termofílica não ultrapassou os 52°C (Gráfico 1), permanecendo nesta temperatura por 2 dias apenas, não sendo período suficiente para a eliminação dos patógenos.

No gráfico 1 fica evidente que em todo o processo de pré-compostagem as temperaturas não ultrapassaram os 52 °C. Esta temperatura não foi suficiente para eliminar estes patógenos do pré-composto, que ainda se mantiveram presentes ao final da vermicompostagem.

Gráfico 1 Desempenho de temperatura do processo de pré-compostagem

Fonte: Autoria Própria (2022).

Para Sandro (2004), a temperatura ótima para a redução desses patógenos é a temperatura equivalente a 60°C. A fase termofílica deve proporcionar a redução de populações bacterianas oriundas tanto de resíduos orgânicos domésticos como do dejetos animal, contribuindo para a estabilização do composto.

A tabela 3 apresenta os valores (NMP/gMS) de coliformes totais para a mistura no meio do processo (20 dias após início de vermicompostagem), e fim da vermicompostagem (40 dias após início de vermicompostagem).

Tabela 3 – Coliformes Totais em Vermicomposto

TRATAMENTOS	Meio da vermicompostagem		Fim da vermicompostagem	
	Limite		Limite	
	Inferior- Superior	Índice de NMP	Inferior- Superior	Índice de NMP
*T1	37 – 420	243,9	0,15 – 11	10,13
*T2	8,7 – 94	45,16	1,3 – 20	11,93
*T3	4,5 – 42	24,69	1,4 – 38	15,14
*T4	4,5 – 42	22,81	1,3 – 31	9,13
*C	18 – 420	147,03	18 – 420	147,03

Legenda: NMP/gMS = Número Mais Provável grama de massa seca.

Fonte: Autoria Própria (2022).

Ao se comparar os valores da tabela 2 com a tabela 3, observa-se redução no número de coliformes termotolerantes no meio e final da vermicompostagem.

Essa redução pode estar relacionada à presença dos microrganismos eficientes tendo em vista que o tratamento 4, que consistiu na maior dose de EM utilizada reduziu em 75% o NMP de coliformes quando comparado ao tratamento controle para o meio do processo.

Ao fim da vermicompostagem, percebe-se uma redução no número de coliformes totais, onde o tratamento 4 que foi o que obteve melhor valor comparando com o controle, com uma redução de 93% do NMP de coliformes. A determinação da concentração dos coliformes totais assume importância como parâmetro indicador da possibilidade da existência de microrganismos patogênicos, no entanto, a legislação CEMA 090/2013 não aborda este parâmetro, cabendo a ela ditar apenas sobre coliformes termotolerantes.

Esta redução também pode ser atribuída à minhocas durante a vermicompostagem. Para Satchell, J.E (1983), a atividade antibacteriana das minhocas resultante da presença de uma lipoproteína polimórfica sintetizada nas células cloragógenas que atua dentro do celoma ou na superfície do corpo desses animais.

Pode-se observar que tanto no meio da vermicompostagem quanto no final, os valores para coliformes termotolerantes (tabela 4) estão de acordo com a legislação do CEMA 090/2013, com valores inferiores a 1000 NMP/gMS.

Tabela 4 – Coliformes Termotolerantes

TRATAMENTOS	Meio da Vermicompostagem		Fim de Vermicompostagem	
	Limite Inferior- Superior	Índice de NMP	Limite Inferior- Superior	Índice de NMP
*T1	0,17 – 18	3,77	0,15 – 11	3,14
*T2	0,15 – 11	4,83	0,15 – 11	3,12
*T3	. – 9,5	<3,12	. – 9,5	<3,28
*T4	. – 9,5	<2,97	. – 9,5	<2,28
*C	4,5 – 42	20,19	3,7 – 42	14,42

Legenda: NMP/gMS= Número Mais Provável grama de massa seca.

Fonte: Aatoria Própria (2022).

Dentre os tratamentos, o T4 foi capaz de reduzir em 85% e 84% o NMP de coliformes termotolerantes para meio e fim da vermicompostagem, respectivamente. Em comparação com a tabela 2, observa-se também, que houve redução no número de coliformes termotolerantes na vermicompostagem.

Mesmo a minhoca não sendo a principal responsável pela redução de coliformes termotolerantes, percebe-se que quando associadas com o EMs, foram responsáveis por obter resultados que corroboram com a legislação (CEMA 090/2013).

Para Soobhany, Mohee e Garg (2017), a passagem dos resíduos no sistema digestivo das minhocas pode causar morte de algumas bactérias patogênicas. Panisson (2017) complementa que a vermicompostagem, pode ser considerada uma técnica de remoção adequada contra coliformes termotolerantes em virtude da diversidade de microrganismos presentes na fase mesofílica, onde muitas vezes a interação com microrganismos antagonistas é importante em comparação com altas temperaturas sozinhas.

5.1 Presença/Ausência de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp.

Verificou-se a presença de *Salmonella* spp. E *Shigella* spp. desde o tempo zero até o fim do processo da vermicompostagem, em todos os tratamentos (quadro1). Os resultados para presença/ausência de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. para o tempo zero (considera-se como o início da vermicompostagem), meio e fim de vermicompostagem são apresentados na tabela 5.

Tabela 5 – Presença/Ausência de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp.

	Tempo Zero	Meio de Vermicompsotagem	Fim de Vermicompostagem
<i>Salmonella</i> spp.	Presença	Presença	Presença
<i>Shigella</i> spp.	Presença	Presença	Presença

Fonte: Aatoria Própria (2022).

A *Salmonella* spp. pode ser inativada em até 60 minutos com temperatura de 55 °C ou em até 15 minutos sujeita à temperatura de 60 °C (FLORES *et al.*, 2011). Por isso é fundamental que o processo de compostagem permaneça na fase inicial com temperaturas acima de 55 °C para a inativação de patógenos (PEREIRA NETO *et al.*, 1992). Além disso, é necessário um tempo mínimo de 18 dias para eliminação de *Salmonella* spp. com temperaturas termofílicas (PEREIRA NETO *et al.*, 1992). No entanto, durante a realização do experimento, o composto permaneceu com temperaturas superiores à 52 °C apenas por 2 dias.

A *Salmonella* spp., portanto, não foi eliminada nos processos de pré-compostagem e vermicompostagem mesmo com a adição dos microrganismos eficientes não se obteve uma melhora na remoção desse patógeno, tornando assim o composto inadequado perante a legislação (CEMA 090/2013) que cita ausência de 10g.

A fotografia 6 ilustra colônias de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. em ágar XLD.

Fotografia 6 Colônias típicas de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. em Agar XLD



Fonte: Aatoria Própria (2021).

Segundo estudos realizados por Shinohara *et al.*, (2008), a *Salmonella* pode causar várias doenças para os seres humanos como a febre tifóide, causada por *S. typhi*, que só acomete o homem e não possui reservatórios em animais.

Tomando como foco que os resíduos utilizados na compostagem e vermicompostagem são em sua maioria expostos a muita contaminação, Nakagawa, (2014) ao estudar a contaminação microbiológica em vegetais folhosos provenientes de agricultura familiar, detectou a presença de *Salmonella* sp. em 29% das amostras analisadas.

Arbos *et al.*, (2010) relacionaram a contaminação por *Salmonella* sp. e coliformes termotolerantes de alface sob cultivo orgânico ao emprego de adubos sem tempo de compostagem adequado. Já Santana *et al.*, (2006) detectaram contaminação por *Salmonella* sp. e coliformes termotolerantes em todas as amostras de alface sob cultivo orgânico.

Shigella spp., também se manteve presente ao final da vermicompostagem. A contaminação do composto por este gênero, juntamente com *Salmonella* é considerado um dos maiores problemas referentes à qualidade do produto.

5.2 Presença de *Staphylococcus*

Segundo Rossi *et al.*, (2015) o *Staphylococcus* spp. é considerado cocos gram-positivos da família Microccaceae, anaeróbico facultativo, imóvel, não é produtor de esporos e apresenta catalase positiva com ampla distribuição. É um dos agentes responsáveis por surtos de intoxicação alimentar, por serem normalmente transmitidos aos alimentos. A intoxicação é decorrente da ingestão de enterotoxinas pré-formadas no alimento contaminado pela bactéria, a qual pode continuar viável ou não.

Os resultados para presença/ausência de *Staphylococcus* para o meio e fim de vermicompostagem são apresentados na tabela 6.

Tabela 6 – Presença/Ausência de *Staphylococcus* spp.

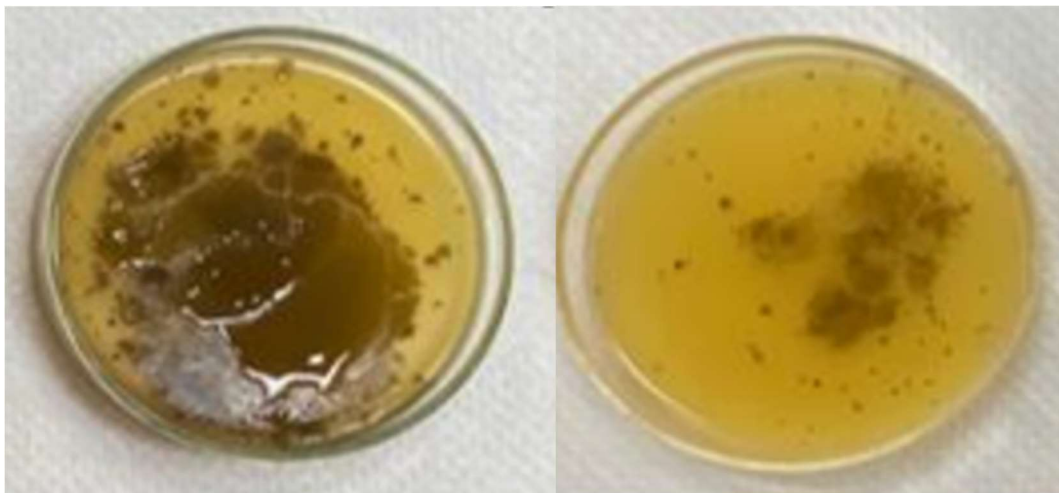
	Tempo Zero	Meio de Vermicompostagem	Fim de Vermicompostagem
<i>Staphylococcus</i> spp.	-	Presença	Presença

Legenda: Tempo zero não realizado análise.

Fonte: Aatoria Própria (2022).

Uma explicação para a presença de *Staphylococcus* spp. (Fotografia 7) em todo o processo de vermicompostagem é que a bactéria suporta altas temperaturas, e sua temperatura ótima de proliferação é considerada entre 40 e 46°C, ou seja, como no processo todo obteve-se máxima de 52°C, pode-se considerar que com o período curto do composto nessa temperatura, não existiu a capacidade de eliminação total do *Staphylococcus*, e também que a adição dos microrganismos eficientes nas diferentes concentrações não ajudou na eliminação dessa bactéria para o final da vermicompostagem.

Fotografia 7 Colônias típicas de *Staphylococcus spp* em Ágar Baird Parker.



Fonte: Aatoria Própria (2022).

5.3 Sistema Bactray I e II.

O sistema Bactray I e II serviu para identificar o que foi cultivado em placas, o que inicialmente crescia em tubos de ensaio e repicados para as placas em meio seletivo, eram identificados esses microrganismos para ter a certeza se existia alguma bactéria que pertencia a algum gênero de microrganismos diferentes do que a legislação prevê, nos mostrando que os gêneros encontrados foram comuns, os gêneros que se esperavam. Foram encontradas bactérias do gênero *Salmonella spp.* e *Shigella spp.*, *klebsiella*, *Enterobacter* e *Escherichia*.

6 CONCLUSÃO

Os resíduos utilizados na compostagem apresentaram coliformes totais e termotolerantes, com valores superiores para grama e o dejetos bovino respectivamente (810,57 e >1100 NMP/gMS).

A pré compostagem reduziu o número de coliformes termotolerantes, no entanto, o mesmo não atendeu a legislação (CEMA 090/2013), com limite inferior-superior de 180 a 4100 coliformes e 1100 NMP/gMS.

Na vermicompostagem, após a inserção das doses de EMs observou-se redução no número de coliformes totais, sendo comparados com os valores do controle, obteve uma redução de 75% de NMP, já para final de vermicompostagem obteve uma redução no valor de coliformes totais de 93% de NMP, esses valores foram comparados a dosagem T4, essa foi a que teve os menores valores representados nas tabelas.

Dentre os tratamentos, o T4 foi capaz de reduzir em 85% e 84% o NMP de coliformes termotolerantes para meio e fim da vermicompostagem, respectivamente.

As doses de Ems influenciaram na quantidade de coliformes termotolerantes em relação ao tratamento controle para o meio e final do processo de vermicompostagem.

Mas a vermicompostagem, independente do uso dos microrganismos eficientes causou significativa redução no NMP de bactérias termotolerantes, com resultados que corroboram com a legislação tanto no meio quanto no final do processo, porém com a adição das Ems os valores obtidos foram muito mais viáveis que apenas somente a vermicompostagem em si.

A pré-compostagem e vermicompostagem, mesmo com a adição das Ems, não foram capazes de eliminar *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Staphylococcus* spp. do composto final.

Com a adição das Ems mesmo sendo em baixas doses, obteve-se uma boa resposta na eliminação de coliformes termotolerantes, tendo a certeza de que se adicionados em maior volume podem ser obtidos resultados mais satisfatórios no final da vermicompostagem.

Para que uma remoção completa dos patógenos, pode-se adotar leiras maiores, pois quanto maior o tamanho da leira menor as chances de se perder calor para a atmosfera.

REFERÊNCIAS

ANA, M. **Avaliação do perfil ambiental do processo de tratamento dos resíduos hospitalares do grupo iii por autoclavagem e micro-ondas.** Mestrado integrado em engenharia do ambiente. v.I, n. 1, p. 1-81, 2017.

ARAUJO. **Manejo de Minhocários Domésticos**, 1a Edição; ISSN 1678-1953 dezembro, 2015.

ABRELPE. **Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil 2021.** Disponível em: http://www.abrelpe.org.br/noticias_detalle.cfm?NoticiasID=2091. Acesso em 21/06/2022.

ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. (Org.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final.** Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG; Curitiba: SANEPAR, 484 p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v. 6), 2001.

ABBASI, S.A.; RAMASAMY, E.V. **Biotechnological methods of pollution control. hyderabad:** Universities Press, 1999.

AQUINO, A. M. **Aspectos práticos da vermicompostagem.** In: AQUINO, A. M. de.; ASSIS, R. L. de. (Org.). Agroecologia: princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003.

ANDRADE, F. D.; BONFIM, F.; HONÓRIO, I.; REIS, I.; PEREIRA, A. D. J.; SOUZA, D. D. B. **Caderno dos microrganismos eficientes (EM): instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM.** 3. ed. Departamento de Fitotecnia Campus da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 32, 2020.

AIRA, M.; MONROY, F.; DOMÍNGUEZ, J. **C to N ratio strongly effects population structure of Eisenia fetida in vermicomposting systems.** *European Journal of Soil Biology*, v.42, p. S127-S131, 2006.

ALAMI S. Desjeux, D. & Garabuau-Moussaoui, I. (2010). **Os métodos qualitativos**, 2018.

ARIAS, M.; GÓMEZ-BRANDÓN, M.; PORTO, P. G.; DOMÍNGUEZ, J. **Selective reduction of the pathogenic load of cow manure in an industrial-scale continuous feeding vermireactor.** *Bioresource Technology*, v.102, p.9633-9637, 2011.

BRASIL. **Resolução Conama n. 481, de 3 de outubro de 2017.** Disponível em: <https://agencia.baciaspcj.org.br/docs/resolucoes/resolucao-conama-481-17.pdf>. Acesso em 04/04/2022. Acesso em: 06/04/2022.

BRASIL. Regulamento da lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/2004/decreto-4954-14-janeiro-2004-497758-normaatualizada-pe.html>. Acesso em: 06/04/2022

BRASIL. Resolução Cema nº 90 de 03/12/2013. Disponível em: <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=264908>. Acesso em: 06/04/2022.

BRASIL. Portal Tributário Guia Trabalhista. Disponível em: <http://www.normaslegais.com.br/juridico/diretrizes-aplicaveis-residuos-solidos.html#:~:text=Na%20gest%C3%A3o%20e%20gerenciamento%20de%20final%20ambientalmente%20adequada%20dos%20rejeitos>. Acesso: 20/06/2022.

BRASIL. Cooperação para a proteção do clima na gestão de resíduos sólidos urbanos. Disponível em: <http://protegeer.gov.br/rsu/o-que-sao#:~:text=A%20Pol%C3%ADtica%20Nacional%20de%20Res%C3%ADduos%20de%20atividades%20humanas%20em%20sociedade%E2%80%9D>. Acesso: 20/06/2022.

BRASIL. Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS): como cumprir a legislação ambiental no Brasil. Disponível em: https://blog.eureciclo.com.br/pnrs-cumprir-legislacao-ambiental-brasil/?matchtype=p&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=&utm_term=politica%20nacional%20de%20residuos%20s%C3%B3lidos&hsa_acc=4958439819&hsa_cam=1701594604&hsa_grp=138605057234&hsa_ad=593071788887&hsa_src=g&hsa_tgt=kwd-342986500268&hsa_kw=politica%20nacional%20de%20residuos%20s%C3%B3lidos&hsa_mt=p&hsa_net=adwords&hsa_ver=3&qclid=EA1aIQobChMI8LaT3s2w-AIVBG6RCh0joAp1EAAYASAAEgIXVvD BwE. Acesso: 22/06/2022.

BRASIL. Embrapa – Resíduos Orgânicos. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortaliza-nao-e-so-salada/secoes/residuos-organicos#:~:text=%C2%BB%20O%20que%20s%C3%A3o%20res%C3%ADduos%20org%C3%A2nicos,%2C%20grama%20cortada%2C%20podas%20diversas>. Acesso: 22/06/2022.

BAYAR, S. **Microrganismos eficientes (em) no tratamento de sementes de milho**: na cidade de Viçosa; Ed. Universidade Federal de Viçosa, 2018.

BOSCO, C. et al. **A simple method for measurement of mechanical power in jumping**. *European Journal of Applied Physiology*, Berlin, v. 50, p 273-282, 2004.

BUTTERNBENDER, S. E. **Avaliação da compostagem da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos provenientes da coleta seletiva realizada no município de Angelina s/c**: Universidade Federal de Santa Catarina Centro de Tecnologias, Programa de pós-graduação em Engenharia ambiental, 2004.

BONFIM, F. P. G. et al. **Caderno dos microrganismos eficientes (EM): instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM. 2. ed.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011.

CALERO-HURTADO, A., et al. (2019). **Efecto entre microorganismos eficientes y fitomas-e en el incremento agroproductivo del frijol. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial**, 2018.

CAMACHO. **Avaliação do perfil ambiental do processo de tratamento dos resíduos hospitalares do grupo iii por autoclavagem e micro-ondas.** Faculdade de engenharia; Universidade do Porto, 2017.

CANCELADO, S.V. **Avaliação da qualidade microbiológica de um composto produzido a partir de resíduos animais e vegetais: um estudo em Jaboticabal.** Universidade estadual paulista “julio de mesquita filho” faculdade de ciências agrárias e veterinárias, 2014.

CASTRO, H. C. **Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar:** Bras Patol Med Lab • v. 43 • n. 6 • p. 413-423 • dezembro, 2007.

CONFAGRI - Confederação Nacional das Cooperativas Agrícolas. Disponível em:

<https://revistaea.org/pf.php?idartigo=250#:~:text=A%20minhoca%20recicla%20assim%20restos,solo%20do%20qual%20se%20alimenta>. Acesso: 20/06/2022.

CASALI, V. W. D. (Org.) **Caderno dos microrganismos eficientes (em): instruções práticas sobre o uso ecológico e social do Em.** Viçosa, MG, 2009. 31p.

CARVALHO, P. C. T. Compostagem. In TSUTIYA, M. Ed: **Biosólidos na agricultura.** São Paulo. Sabesp, 2007.

CERDA. Uma abordagem econômica, perceptiva e biofísica para o uso de palha de aveia como cobertura morta em terras agrícolas mediterrâneas de sequeiro. **Engenharia ecológica**, 2017.

CAMACHO. **Avaliação de esterco bovino como inóculo na digestão anaeróbica termofílica de resíduos sólidos urbanos.** vol.28 no.3 La Serena, 2017.

CERRI, C. C.; POLO, A.; ANDREUX, F.; LOBO, M. C.; EDUARDO, B. P. **Resíduos orgânicos da agroindústria canavieira:** 1. Características físicas e químicas. STAB, Piracicaba, v. 6, p. 34-37, 1988.

DEBBIE, D. P. **Bacterial pathogens in animal manure.** In: **BOWMAN, D. D. (Ed.). Manure pathogens: manure management, regulations, and water quality protection.** Alexandria, VA: WEF Press and McGraw Hill, 2009.

DOMÍNGUEZ. **Uso de minhocas como bioindicadores ambientais: princípios e práticas – ou 3º Encontro Latino-Americano de Ecologia e Taxonomia de Oligoquetas (ELAETA03)**. Mex vol.26 spe 2 Xalapa, 2004.

EVANGELISTA; JORDANEZ. F.; FÁTIMA; FRANCYELE. P.; SOUZA. S.; AMANDA. **Panorama da geração de resíduos sólidos urbanos - rsu no brasil e seus impactos ao meio ambiente: uma análise comparativa de 2011 a 2018**. III congresso Sul-Americano, v.I, n. 1, p. 1-10, 2020.

EPSTEIN. **Compostagem de resíduos de cebola (allium cepa) com alfafa (medicago sativa l.) e avaliação de estrume de gado**. A Ciência da Compostagem. CRC Press LLC, Flórida, 504 p., 1997.

FEERNANDA, M. C. A; **Instruções práticas sobre uso ecológico e social do Em. Caderno dos microrganismos eficientes (e.m.)**, v. III, n. 1, p. 01-31, 2020.

GUAN, T. Y.; HOLLEY, R. A. **Pathogen survival in swine manure environments and transmission of human enteric illnesses—A review**. J. Environ. Qual., Madison, v. 32, p. 383–392, 2003.

GÓMEZ, D.; VÁSQUEZ, M. **Abonos orgânicos**. Tegucigalpa: PyMeRural. 27p. (Serie: Producción orgânica de hortalizas de clima templado), 2011

GRAZIK, A. H. **Tratamento de resíduos orgânicos agroindustriais por vermicompostagem em pequena escala: na cidade de Erechim; universidade federal da fronteira sul campus erechim engenharia ambiental e sanitária**, 2020.

HARTENSTEIN, R. **Use of Eisenia foetida in organic recycling based on laboratory experiments. workshop on the role of earthworms in the stabilization of organic residues**, Michigan. Proceedings... Michigan: Beech Leaf Press, 1981. v. 1. p. 155-166, 1981.

HUERTA, R. **RegulonDB (version 6.0): gene regulation model of Escherichia coli K-12 beyond transcription, active (experimental) annotated promoters and Textpresso navigation**. D120–D124 Nucleic Acids Research, 2008.

JUSOH. **Composting of rice straw with effective microorganisms (EM) and its influence on compost quality**. Journal of Environmental Health Sciences & Engineering, 2013.

JONES, P. W. **Health hazards associated with the handling of animal wastes**. Vet. Rec., London, v. 106, p. 4-7, 1980.

KALBASI, S.; MUKHTAR, S. E.; HAWKINS, E.; AUVERMANN, B. W. **Carcass composting for management of farm mortalities: a review**. Compost Sci. Util., Emmaus, v. 13, n. 3, p. 180-193, 2005.

KIEHL, E. J. **Manual de Compostagem: maturação e qualidade do composto**. Piracicaba: Edmar José Kiehl, 2006.

LOURENÇO, N. **Manual de Vermicompostagem e vermicultura para a agricultura orgânica**. Lisboa: Publindustria, 2014.

MALTA, Tamize. **Uma alternativa para redução do descarte de resíduos orgânicos**: na cidade de Uberlândia – MG; Universidade federal de Uberlândia.

MANGA, V. E., Forton, O. T., Mofor, L. A., & Woodard, R. **Health care waste management in Cameroon: A case study from the Southwestern Region**. Resources, Conservation and Recycling, 2011.

MURRAY, M. J. **How should clients manage horses that have diarrhea and cultured positive for Salmonella to minimize exposure to other horses?** **Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.**, Yardley, v. 20, n. 12, p. 1352, 1998.

MUSCOPE, F. P. **Compostagem de resíduos agroindustriais através da inoculação de microrganismos eficientes: uma alternativa para a compostagem em pequena escala**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental e Sanitária) – Universidade Federal da Fronteira Sul, Erechim, 2017.

NZIHOU, A.; THEMELIS, N.J.; KEMIHA, M.; BENHAMOU, Y. **Dioxin emissions from municipal solid waste incinerators (mswis) in france**. Waste Management, v. 32, n. 12, p. 2273-2277, 2012.

PUGLIESE, M.; GULLINO, M. L.; GARIBALDI, A. Efficacy Of Microorganisms Selected from Compost to Control Soil-Borne Pathogens. In: **Communications in agricultural and applied biological sciences**, v. 75, n. 4, p. 665-669, 2010.

PANISSON, R. **Avaliação de diferentes processos de compostagem em pequena escala com adição de microrganismos eficientes**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal da Fronteira Sul, Erechim, 2017.

PEREIRA, J. T. N. **Manual de compostagem: processo de baixo custo**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1992.

PROCHÁZKOVÁ, P. et al. **Contribution of Eisenia andrei earthworms in pathogen reduction during vermicomposting**. Environmental Science and Pollution Research, Alice, v. 25, p. 26267-26278, jul, 2018.

REA – revista de estudos ambientais (online) v.22, n. 1, p.24-34, jan./jun. 2020. Disponível em: <file:///C:/Users/vendr/Downloads/8690-1-34559-1-10-20201217.pdf> . Acesso em: 20/04/2022.

ROCHA, H.C. **Aplicabilidade de Microrganismos Eficientes (ME) na Agricultura: uma revisão bibliográfica**: Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologias Baiano, Brasil, 2020.

RUBIO, F. LARA, M.K. ZINN, K.P. PERUCCI, L.R. GARMUS, K. W. **Uso de microrganismos eficazes no processo de vermicompostagem**: um estado em Foz do Iguaçu. ABES Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2018.

SOOBHANY, N.; MOHEE, GARG, VK. **Experprocesso mental monitorização e potencial da Eudrilus eugeniae no vermicom- postagem de resíduos sólidos orgânicos em Mauritius**. Engenharia Ecológica nering , v. 84, p. 149 – 158, 2017.

SUZA, M.; SAMPAIO, S. C.; MALLMANN, L. S.; SILVESTRO, M. G.. **Aspectos físicos e químicos de vermicompostos produzidos a partir de esterco bovino e compostos de resíduos verdes urbanos**. Engenharia na Agricultura, v.15, n.1, p.39-44, 2007.

SOUZA, J.C.C. **Análise de bactérias coliformes totais e termotolerantes nas águas do córrego João Dias**: Simpósio sobre recursos naturais e socioeconômicos do pantanal. Corumbá. MS.

SANTOS, L. F.: **Micro-organismos Eficientes: diversidade microbiana e efeito na germinação, crescimento e composição química de capim-arandu**. 2016. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2016.

SANDRO. **Avaliação da compostagem da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos provenientes da coleta seletiva realizada no município de Angelina S/C**. Universidade Federal de Santa Catarina. Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em engenharia ambiental, 2004.

SILVA, K. L.; PICANÇO, A. P.; PORTELINHA, T. C. G.; TONANI, F. L.: **Caracterização dos parâmetros físicos e químicos de composto de resíduos orgânicos produzido por meio de vermicompostagem**. Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais, v.12, n.5, p.424- 434, 2021.

SANTOS; AMANDA. T. L.; HENRIQUE; NIRVANI. S.; SHHLINDWEIN; JAIRO. A. F.; ELVINO; STACHIW; ROSALVO. **Aproveitamento da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos para produção de composto orgânico**. Revista Brasileira de Ciências da Amazônia, v. III, n. 1, p. 15-28, 2014.

SANTINA, F. **O lixo e a reciclagem**. Metodologia de ensino, v.I, n. 1, p. 1-19, 2000.

SINGH, R.P.; TYAGI, V.V.; ALLEN, T.; NETH; IBRAHIM, M.H.; KOTHARI, R. (2011) **An overview for exploring the possibilities of energy generation from municipal solid waste (MSW) in Indian scenario**. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 15, p. 4797-4808, 2011

SONG, Q.; WANG, Z.; LI, J. (2013). **Environmental performance of municipal solid waste strategies based on LCA method: a case study of Macau**. Journal of Cleaner Production, v. 57, p. 92-100, 2014.

SHARMA, V.K.; CANDITELLI, M.; FORTUNA, F.; CORNACCHIA, G. **Processing of urban and agroindustrial residues by anaerobic composting: review**. *Energ. Convers. Manage.*, v. 38, p. 453-478, 1997.

SOARES, J. P.; Souza, J. A.; Cavalheiro, É. T G. (2004). **Caracterização de amostras comerciais de vermicomposto de esterco bovino e avaliação da influência do ph e do tempo na adsorção de Co (ii), Zn (ii) and Cu (ii)**. *Quim. Nova*, v. 27, n. 1, p. 5-9, 2004.

SCARLATO, F.C, PONTIM. J. A. **Do nicho ao lixo: ambiente, sociedade e educação**. SÃO PAULO: ATUAL, 1992.

TATIATE. **Nova política nacional de atenção básica brasileira: um passo para o desmonte do sistema único de saúde**. Convención Internacional de salud, Cuba Salud, 2017.

TALLES E. S. **Análise visual comparativa entre metodologias para captura de microrganismos eficientes (EM's): no estado de Goiás**; Universidade Estadual de Goiás, revista de Biotecnologia & Ciência, v.8, n.2, 2019 ISSN 2238-6629, 2020.

USHIMA, A.H.; SANTOS, M.M. **Processamento do Lixo - Parte 9 - Tratamento térmico**. In: **compromisso empresarial para a reciclagem (cempre). Lixo Municipal: Manual de Gerenciamento Integrado**. 4. ed. São Paulo: CEMPRE, 2018. p., 193-218.

VIANA, Mario. **Utilização De Micro-Organismos Eficazes (Em) No Processo De Compostagem**: na cidade de Alfenas; Ed. Unifenas, 2013.

VALENTE, B. S. et al. **Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos**. *Archivos de Zootecnia*, Pelotas, v. 58, p. 59-85, 2008.

Zucconi, F. F. M. Bertoldi, M. **Biological evaluation of compost maturity**
Biocycle. v.22, n.4, p.27-29, 1981.