

MARIANNE FIDALGO DE FARIA

**COMPOSTAGEM DE LODO DE ESGOTO E INDICADORES DE
PATOGENICIDADE**

Botucatu

2018

MARIANNE FIDALGO DE FARIA

**COMPOSTAGEM DE LODO DE ESGOTO E INDICADORES DE
PATOGENICIDADE**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Ciência Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Robert Boyd Harrison.
Coorientador: Prof. Dr. Iraê Amaral
Guerrini.

Botucatu

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

F224c Faria, Marianne Fidalgo de, 1989-
Compostagem de lodo de esgoto e indicadores de patogenicidade / Marianne Fidalgo de Faria. - Botucatu: [s.n.], 2018
112 p.: fots. color., grafs., ils. color., tabs.

Tese (Doutorado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2018
Orientador: Robert Boyd Harrison
Coorientador: Iraê Amaral Guerrini
Inclui bibliografia

1. Lodo de esgoto. 2. Compostos orgânicos. 3. Patogenicidade. 4. Ascaris lumbricóides. I Harrison, Robert Boyd. II. Guerrini, Iraê Amaral. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. IV. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: "COMPOSTAGEM DE LODO DE ESGOTO E INDICADORES DE
PATOGENICIDADE"

AUTORA: MARIANNE FIDALGO DE FARIA
ORIENTADOR: ROBERT BOYD HARRISON
COORIENTADOR: IRAÊ AMARAL GUERRINI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA
FLORESTAL, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. IRAÊ AMARAL GUERRINI
Solos e Recursos Ambientais / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu

Prof. Dr. ROBERTO LYRA VILLAS BOAS
Solos e Recursos Ambientais / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu

Prof.ª Dr.ª VERA LUCIA MORES RALL
Microbiologia e Imunologia / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

Prof. Dr. CÁSSIO HAMILTON ABREU JUNIOR
Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas / USP - Piracicaba/SP

Dr. FERNANDO CARVALHO OLIVEIRA
/ Biossolo Agricultura & Ambiente Ltda

Botucatu, 12 de novembro de 2018.

**Aos meus amados pais,
Ronaldo e Maria Luz,
dedico.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois nada somos sem Ele. Em todos os momentos de minha vida em que eu não sabia que caminho seguir, Ele me guiou. Quando eu duvidei de mim mesma, Ele me mostrou que sou capaz. Sempre que pensei em desistir, Ele me deu forças para seguir em frente. E quando eu percebi que seria impossível seguir sozinha, Ele me cercou de amor e generosidade, com familiares maravilhosos, amigos verdadeiros, mestres admiráveis e profissionais incríveis, os quais eu agradeço a seguir.

Aos meus queridos pais, Ronaldo e Maria Luz, eu não tenho palavras para expressar o quanto seu exemplo e apoio foram fundamentais na minha trajetória. Vocês sempre foram o meu porto seguro e a minha inspiração. Obrigada por terem sido tão maravilhosos na minha criação e por sempre me incentivarem e me ensinarem os valores e princípios necessários para uma vida digna e honesta.

À Maíla, que além de irmã, desde sempre foi minha companheira, torcendo por cada uma de minhas conquistas. Obrigada por compartilhar os momentos de vida, as histórias e os valores que moldaram a pessoa que eu sou hoje.

Ao Fernando, que me ensinou o que é o amor, o respeito, o companheirismo e a dedicação. Obrigada por todo carinho, amor e paciência dedicados a mim neste período. Seus conselhos, seu suporte e seu exemplo sempre me ampararam.

Aos meus mestres e orientadores, Prof. Dr. Robert Boyd Harrison e Prof. Dr. Iraê Amaral Guerrini, deixo os meus mais sinceros agradecimentos por todos esses anos de conhecimentos compartilhados, incentivos, dedicação e amizade.

Ao Prof. Dr. Roberto Lyra Villas Boas, pela oportunidade oferecida e pela confiança, que me permitiram realizar a pesquisa fruto desta tese de doutorado. Obrigada por todos os ensinamentos e conselhos dedicados a mim neste período.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo apoio financeiro concedido por meio de bolsa de doutorado (Processo nº 2015/26261-0), vinculada ao projeto PITE (Processo nº 2013/50413-0).

À Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo – SABESP, pelo suporte financeiro no projeto PITE, bem como apoio institucional, técnico e de infraestrutura.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, e ao Programa de Pós-graduação em Ciência Florestal pela infraestrutura e suporte oferecidos.

A todos os funcionários do Departamento de Solos e Recursos Ambientais, que sempre me auxiliaram no que foi preciso, em especial ao José Carlos Coelho.

À Profa. Dra. Vera Lúcia Mores Hall, do Departamento de Microbiologia e Imunologia e ao Prof. Dr. Reinaldo José da Silva, do Departamento de Parasitologia, ambos do Instituto de Biociências da UNESP/Botucatu, por todo o apoio na realização das análises laboratoriais e pelos conhecimentos e informações compartilhados.

Ao Prof. Dr. José Raimundo de Sousa Passos, do Departamento de Bioestatística, pelo auxílio e suporte no momento de análise de dados, que foram de fundamental importância para conclusão desta tese.

A todos os colegas do famoso “Team Lodo”, que sempre acreditaram no uso agrícola do lodo de esgoto no Brasil e nunca mediram esforços para desenvolver as diversas pesquisas do projeto, formando um grupo unido e dedicado, que gerou inúmeras sementes que hão de se espalhar pelo país. Agradeço especialmente à Carol, que se empenhou muito em gerenciar o projeto e cujo trabalho, dedicação e incentivo colaboraram para que muitos mestres e doutores concluíssem sua pesquisa nesta área.

Aos muitos amigos que Botucatu me deu e que tornaram os meus dias ainda mais alegres, especialmente às amigas da República Aconchego: Raquel, Aline, Gleize, Alejandra e Franciele, que estarão sempre em meu coração.

Aos meus familiares em Uberaba, que são o laço mais profundo com as minhas raízes, que vibram sempre com o meu sucesso, torcendo muito pela minha felicidade.

Às minhas amigas de décadas, que sempre estão comigo em pensamento e oração: Laura, Bruna, Ioli, Karina, Érika e Fernanda. Obrigada por sempre me apoiarem e estarem disponíveis com uma palavra amiga.

Todas as pessoas e instituições citadas me fizeram crescer muito nos últimos anos, tanto como ser humano quanto profissionalmente e academicamente. Não haveria como eu chegar à conclusão deste doutorado sem a participação de cada um de vocês em algum momento dos últimos três anos. Por isso, faço questão de reforçar o meu MUITO OBRIGADA!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

Madre Tereza de Calcutá

RESUMO

No Brasil, a maior parte do lodo de esgoto sanitário gerado nas Estações de Tratamento de Esgoto é destinada a aterros sanitários, o que preocupa técnicos e autoridades, que buscam alternativas de destinação mais adequadas ao meio ambiente. O processo de compostagem permite a estabilização e a higienização do lodo de esgoto, que pode então ser aplicado em solos agrícolas, aproveitando a matéria orgânica e os nutrientes ali presentes. O objetivo principal deste trabalho foi estudar de forma detalhada o comportamento dos indicadores de patogenicidade *Salmonella* spp., coliformes termotolerantes e ovos viáveis de *Ascaris* spp. em função da temperatura e da umidade durante o processo de compostagem de lodo de esgoto com diferentes materiais estruturantes, verificando se o processo é eficaz na higienização do material. Para isto, o estudo foi dividido em quatro experimentos. No Experimento 1, sensores de temperatura foram instalados em três diferentes perfis da pilha de compostagem (topo, meio e base) e verificou-se que a mistura de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar apresentou temperaturas mais uniformes nos três perfis, a mistura com casca de eucalipto apresentou as temperaturas mais elevadas no topo e no meio da pilha e a mistura com casca de arroz apresentou baixas temperaturas em todos os perfis, sendo, então, considerada uma mistura inadequada para compostagem. O Experimento 2 avaliou dois métodos para determinação do número de ovos viáveis de *Ascaris* spp. em amostras de lodo de esgoto, o método da USEPA e o da Norma Mexicana, sendo o método da USEPA considerado o mais eficiente na separação dos ovos viáveis de *Ascaris* spp. nas amostras de lodo de esgoto analisadas. O Experimento 3 avaliou ao longo do processo de compostagem a presença de *Salmonella* spp. e o decaimento de coliformes termotolerantes e ovos viáveis de *Ascaris* spp. A presença de *Salmonella* spp. foi verificada em apenas uma ocorrência para cada mistura estudada, na faixa de temperatura entre 35°C e 55°C, não sendo observada ao final do processo de compostagem. Os coliformes termotolerantes apresentaram queda em sua população seguida de aumento, porém ao final da compostagem os valores observados estavam dentro dos limites estabelecidos pela legislação. Para ovos viáveis de *Ascaris* spp. foi estimado um tempo de persistência de 25 dias na mistura de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar e de 54 dias na mistura de lodo de esgoto com casca de eucalipto. O Experimento 4 avaliou o decaimento de coliformes termotolerantes em amostras de

lodo de esgoto submetidas a temperatura constante (42°C) de acordo com o decaimento da umidade e atividade de água. Foi possível verificar correlações significativas entre as variáveis, mas a curva de decaimento de umidade não foi acompanhada pela curva de decaimento de atividade de água, indicando que, em alguns casos, os valores de umidade podem ser considerados inadequados para o desenvolvimento de microrganismos, visto que os valores de atividade de água podem ainda estar adequados, permitindo o desenvolvimento microbiológico em temperaturas adequadas. Por fim, pode-se concluir que nos processos de compostagem de lodo de esgoto com casca de eucalipto e com bagaço de cana-de-açúcar foram observadas temperaturas adequadas para a higienização do material, comprovada pelos resultados das análises microbiológicas realizadas, estando o produto final de compostagem, assim, seguro para aplicação no campo em culturas permitidas pela legislação pertinente.

Palavras-chave: biossólidos; composto orgânico; higienização; coliformes termotolerantes; *Salmonella* spp.; ovos viáveis de *Ascaris* spp.

ABSTRACT

In Brazil, most of the biosolids generated daily by Wastewater Treatment Plants are destined to landfills, which raises a great concern of technicians and authorities, who seek alternatives of destination more appropriate to the environment. The composting allows the stabilization of biosolids, reducing or even eliminating the load of pathogenicity indicators present in it, which can then be applied to agricultural soils, taking advantage of its organic matter and nutrients. The main objective of this work was to study in detail the behavior of the pathogenicity indicators *Salmonella* spp., thermotolerant coliforms and *Ascaris* spp. viable ova as a function of temperature and moisture during the biosolids composting with different structuring materials, verifying if the process is effective in sanitizing the material. Therefore, the study was divided into four experiments. In Experiment 1, temperature sensors were installed in three different profiles of the compost pile (top, middle and bottom) and it was verified that the mixture of biosolids with sugarcane bagasse presented more uniform temperatures in the three profiles, the mixture with Eucalyptus bark showed the highest temperatures at the top and middle of the pile and the mixture with rice husk showed low temperatures in all the profiles, being considered an inadequate mixture for composting. Experiment 2 evaluated two methods for determining the number of viable ova of *Ascaris* spp. in biosolids samples, the USEPA method and the Norma Mexicana method, and the USEPA method was considered the most efficient in determining the number of viable ova of *Ascaris* spp. in the biosolids samples analyzed. Experiment 3 evaluated throughout the composting process the presence of *Salmonella* spp. and the decay of thermotolerant coliforms and viable ova of *Ascaris* spp. The presence of *Salmonella* spp. was verified in only one occurrence for each mixture studied, in the temperature range between 35°C and 55°C, not being observed at the end of the composting process. The thermotolerant coliforms presented a decrease in their population followed by an increase, but at the end of the composting their values were within the limits established by the legislation. For viable ova of *Ascaris* spp. a persistence time of 25 days was estimated in the mixture of biosolids with sugarcane bagasse and of 54 days in the mixture of biosolids with eucalyptus bark. The Experiment 4 evaluated the decay of thermotolerant coliforms submitted to constant temperature (42°C) according to the fall of moisture and water activity. It was possible to verify significant correlations between the variables, but the moisture decay curve

was not accompanied by the water activity decay curve, indicating that, in some cases, moisture values may be considered inadequate for the development of microorganisms, however the values of water activity may still be adequate, allowing microbiological development at suitable temperatures. Finally, it can be concluded that during composting of biosolids with eucalyptus bark and biosolids with sugarcane bagasse, adequate temperatures were observed for the sanitation of the material, as evidenced by the results of the microbiological analyzes, being thus the final product safe for land application in crops allowed by the legislation.

Key-words: biosolids; organic compost; sanitation; thermotolerant coliforms; *Salmonella* spp.; viable ova of *Ascaris* spp.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Efeito da temperatura e do tempo de compostagem na sobrevivência de patógenos presentes no lodo de esgoto sanitário	44
Figura 2 – Representação esquemática do interior de um equipamento de determinação de a_w pelo método de ponto de orvalho	51
Figura 3 – Interior da estrutura (pátio) construída para montagem das pilhas de compostagem na ETE da Sabesp/Botucatu.....	54
Figura 4 – Esquema de localização das pilhas de compostagem montadas no interior do pátio.....	55
Figura 5 – Máquina compostadora realizando a mistura do material em uma das pilhas de compostagem	56
Figura 6 – Ajuste manual da largura (3m) de uma pilha de compostagem, com o auxílio de tábuas	56
Figura 7 – Representação esquemática do método da USEPA para determinação do número de ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp. em amostras de lodo de esgoto sanitário	61
Figura 8 - Representação esquemática do método da Norma Mexicana para determinação do número de ovos de <i>Ascaris</i> spp. em amostras de lodo de esgoto sanitário	63
Figura 9 – Estruturas de metal instaladas na saída do caminhão basculante, direcionando o fluxo de material a ser depositado na pilha de compostagem	64
Figura 10 – Bandejas descartáveis de alumínio contendo amostras de lodo de esgoto sanitário, incubadas em estufa de secagem a $42^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$	70
Figura 11 – Placas de Petri contendo amostras de lodo de esgoto sanitário reidratado a 70% de umidade	72
Figura 12 – Temperatura média ambiente observada no interior do pátio de compostagem durante os 90 dias de experimento.....	74
Figura 13 – Temperatura média diária no interior das pilhas de compostagem de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar, casca de arroz e casca de eucalipto	75
Figura 14 – Umidade média dos compostos analisados durante 90 dias de compostagem	77

Figura 15 – Escala de temperatura na pilha de compostagem com mistura de lodo de esgoto e casca de arroz de acordo com a posição na pilha (topo, meio e base)	78
Figura 16 – Escala de temperatura na pilha de compostagem com mistura de lodo de esgoto e casca de eucalipto de acordo com a posição na pilha (topo, meio e base).....	79
Figura 17 – Escala de temperatura na pilha de compostagem com mistura de lodo de esgoto e bagaço de cana-de-açúcar de acordo com a posição na pilha (topo, meio e base)	80
Figura 18 – Ovos de <i>Ascaris ssp</i> separados pelo método da USEPA (2003), identificados (setas) e contados na câmara de Sedgwick Rafter em lente de aumento 10x de microscópio óptico. Detalhe para a quantidade de outras partículas sólidas presentes na suspensão.....	83
Figura 19 – Ovos larvados viáveis de <i>Ascaris ssp</i> separados pelo método da USEPA (2003), em lente de aumento 40x de microscópio óptico	83
Figura 20 – Ovos viáveis de helmintos separados pelo método da USEPA (2003), em lente de aumento 40x de microscópio óptico. a. ovo larvado de <i>Hymenolepis nana</i> ; b. e c. ovos em eclosão de <i>Toxocara spp</i>	84
Figura 21 – Foto de um quadrante na câmara de Sedgwick Rafter em lente de aumento 10x de microscópio óptico em concentrado obtido pelo método proposto pela Norma Oficial Mexicana. Destaque para a quantidade de partículas sólidas presentes na suspensão, impossibilitando a visualização, identificação e contagem dos ovos	84
Figura 22 – Umidade média da pilha com lodo de esgoto e bagaço de cana-de-açúcar durante os 60 dias de compostagem	87
Figura 23 – Umidade média da pilha com lodo de esgoto e casca de eucalipto durante os 45 dias de compostagem	88
Figura 24 – Temperatura média da pilha com lodo de esgoto e bagaço de cana-de-açúcar durante os 60 dias de compostagem	89
Figura 25 – Temperatura média da pilha com lodo de esgoto e casca de eucalipto durante os 45 dias de compostagem.....	89
Figura 26 – In da densidade de coliformes termotolerantes (NMP mL ⁻¹) em pilhas de compostagem de lodo de esgoto (LE) com bagaço de cana-de-açúcar e com casca de eucalipto ao longo do tempo	93

Figura 27 – Curva de decaimento de ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp. (nº de ovos gST ⁻¹) em função do tempo de 60 dias de análise da compostagem de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar.....	97
Figura 28 – Curva de decaimento de ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp. (nº de ovos gST ⁻¹) em função do tempo de 45 dias de análise da compostagem de lodo de esgoto com casca de eucalipto.....	97
Figura 29 – Box plot da densidade de ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp. (nº de ovos gst ⁻¹) ao longo do processo de compostagem de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar e com casca de eucalipto	98
Figura 30 – Curvas de decaimento da umidade (%) e atividade de água (a _w) em lodo de esgoto puro ao longo de 28 dias de incubação em estufa a 42°C ± 2°C	101
Figura 31 – Placa de Petri com amostra de lodo de esgoto reidratada a 70% de umidade e submetida a 42°C ± 2°C em estufa. Detalhe para coloração ferrugem nas laterais da Placa de Petri e formação de algumas placas bacterianas/fúngicas acinzentadas na superfície do material	103

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dose mínima infectante de agentes patogênicos para causar infecção humana e animal	36
Tabela 2 – Concentração de agentes patogênicos em lodo de esgoto	38
Tabela 3 – Processos de redução de patógenos em função da classificação do bio sólido	39
Tabela 4 – Características de alguns resíduos vegetais utilizados como materiais estruturantes na compostagem de lodo de esgoto no Brasil	40
Tabela 5 – Teores (%) de sólidos, nitrogênio e carbono nos resíduos utilizados em compostagem	46
Tabela 6 – Classes de lodo de esgoto ou produto derivado de acordo com a concentração de agentes patogênicos.....	47
Tabela 7 – Tempo e temperatura necessários para higienização dos resíduos sólidos orgânicos durante o processo de compostagem	48
Tabela 8 – Limites máximos de indicadores de patogenicidade em fertilizantes orgânicos e condicionadores de solo	49
Tabela 9 – Valores mínimos de atividade de água para o crescimento ótimo de alguns microrganismos	50
Tabela 10 – Frequência de coleta de amostras para análise da concentração de <i>Salmonella</i> spp., coliformes termotolerantes e ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp. durante o processo de compostagem	67
Tabela 11 – Caracterização química do lodo de esgoto e dos materiais estruturantes utilizados no processo de compostagem	76
Tabela 12 – Caracterização física dos materiais estruturantes utilizados no processo de compostagem.....	76
Tabela 13 – Umidade (%), relação C/N e pH em três repetições do produto final de compostagem de lodo de esgoto (LE) com bagaço de cana-de-açúcar e com casca de eucalipto	88
Tabela 14 – Caracterização do lodo de esgoto da Sabesp/Botucatu quanto à presença e à densidade de coliformes termotolerantes, <i>Salmonella</i> spp., e ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp.	90

Tabela 15 – Presença* de <i>Salmonella</i> spp. no composto de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar de acordo com o aumento da temperatura ao longo do processo de compostagem	91
Tabela 16 – Presença* de <i>Salmonella</i> spp. no composto de lodo de esgoto com casca de eucalipto de acordo com o aumento da temperatura ao longo do processo de compostagem	91
Tabela 17 – Ajuste do modelo de regressão não linear para determinação de $\hat{\alpha}$ e $\hat{\beta}$ e seus respectivos intervalos de confiança (IC) a 95% de confiabilidade	96
Tabela 18 – Coeficientes de correlação de spearman e os valores de p para os resultados de atividade de água (a_w), umidade e concentração de coliformes termotolerantes	100
Tabela 15 – Resultados analíticos da concentração de coliformes termotolerantes em amostras de lodo de esgoto sanitário reidratadas a 70% de umidade e incubação a $42^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ após período de desidratação de 28 dias	102

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
2. HIPÓTESES	28
3. OBJETIVOS	29
4. REVISÃO DE LITERATURA	30
4.1 A IMPORTÂNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA PRESENTE NO LODO DE ESGOTO	31
4.2 O USO AGRÍCOLA DO LODO DE ESGOTO	32
4.3 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DO LODO DE ESGOTO	34
4.3.1 Principais agentes patogênicos presentes no lodo de esgoto	35
4.3.2 Processos para redução de microrganismos patogênicos	38
4.4 COMPOSTAGEM	39
4.4.1 As fases da compostagem	41
4.4.2 Aeração	42
4.4.3 Temperatura	42
4.4.4 Umidade	44
4.4.5 Relação C/N	45
4.4.6 pH	46
4.5 LEGISLAÇÃO E NORMAS BRASILEIRAS SOBRE LODO DE ESGOTO E COMPOSTAGEM REFERENTES À PRESENÇA DE AGENTES PATOGÊNICOS	46
4.6 ATIVIDADE DE ÁGUA	49
5. MATERIAL E MÉTODOS	53
5.1 EXPERIMENTO 1: Estudo da temperatura na pilha de compostagem	53
5.1.1 Infraestrutura e equipamentos	53
5.1.2 Instalação do experimento	54
5.1.3 Monitoramento da temperatura	57
5.1.4 Monitoramento da umidade	58
5.1.5 Caracterização dos materiais submetidos a compostagem	58
5.1.6 Análise de dados	58
5.2 EXPERIMENTO 2: Comparação de métodos para determinação de ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp. em amostras de lodo de esgoto	59
5.2.1 Método da Agência Ambiental Americana – USEPA	59

5.2.2 Método da Norma Oficial Mexicana	61
5.2.3 Comparação dos métodos	63
5.3 EXPERIMENTO 3: Persistência de microrganismos patogênicos ao longo do processo de compostagem	64
5.3.1 Montagem das pilhas de compostagem	64
5.3.2 Monitoramento da umidade e temperatura	66
5.3.3 Avaliação de microrganismos patogênicos durante o processo de compostagem	66
5.3.4 Caracterização microbiológica do lodo de esgoto utilizado na compostagem	67
5.3.5 Caracterização do produto final de compostagem	68
5.3.6 Análise de dados	68
5.4 EXPERIMENTO 4: Decaimento de coliformes termotolerantes em lodo de esgoto	69
5.4.1 Instalação do experimento	69
5.4.2 Monitoramento da umidade e temperatura	70
5.4.3 Determinação da atividade de água	71
5.4.4 Análise da densidade de coliformes termotolerantes no lodo de esgoto	71
<u>5.4.4.1 Verificação de recrescimento de coliformes termotolerantes após secagem</u>	71
5.4.5 Análise de dados	72
6. RESULTADOS	74
6.1 EXPERIMENTO 1: Estudo da temperatura na pilha de compostagem	74
6.2 EXPERIMENTO 2: Comparação de métodos para determinação de ovos viáveis de <i>ascaris</i> spp. em amostras de lodo de esgoto	82
6.2.1 Método da Agência Ambiental Americana – USEPA	82
6.2.2 Método da Norma Oficial Mexicana	82
6.2.3 Comparativo entre os métodos	84
6.3 EXPERIMENTO 3: Persistência de microrganismos patogênicos ao longo do processo de compostagem	86
6.3.1 <i>Salmonella</i> spp.	90
6.3.2 Coliformes termotolerantes	92
6.3.3 Ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp.	96

6.4 EXPERIMENTO 4: Decaimento de coliformes termotolerantes em lodo de esgoto	99
7. CONCLUSÕES	104
REFERÊNCIAS	105

1. INTRODUÇÃO

A destinação final do lodo de esgoto gerado diariamente pelas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) é um problema que técnicos e autoridades envolvidas com o setor ambiental vêm enfrentando principalmente em regiões metropolitanas e nas cidades de médio e grande porte. A principal dificuldade está em se encontrar soluções viáveis e adequadas ao ambiente, enquanto a geração de lodo aumenta progressivamente nas estações de tratamento (ALEM SOBRINHO, 2001; BETTIOL; CAMARGO, 2006; PEDROZA et al., 2010).

Tal aumento na geração de lodo tem levado à busca de novas alternativas e tecnologias que atendam aos cada vez mais exigentes requisitos ambientais e de saúde pública (BETTIOL et al., 2006; MATA-ALVAREZ et al., 2000; MIKI et al., 2001).

No Brasil, a maior parte do lodo de esgoto gerado por ETEs tem como destino final aterros sanitários, o que é, comprovadamente, uma das práticas menos recomendadas para destinação final deste resíduo (BETTIOL; CAMARGO, 2006; MATA-ALVAREZ et al., 2000). O lodo gerado pelas 502 ETEs da Sabesp, por exemplo, é disposto, em quase sua totalidade, em aterros sanitários e devido a isto a empresa vem investindo em alternativas como o uso agrícola do lodo de esgoto.

O potencial fertilizante e condicionador do lodo de esgoto é uma característica promissora para o emprego deste resíduo no setor agroflorestal. Além de ser uma fonte rica em matéria orgânica, que confere ao solo maior resistência à erosão, o lodo possui macro e micronutrientes que auxiliam na manutenção da fertilidade do solo (AGRAWAL, 2007; BETTIOL; GHINI, 2011; HENRY; VAN HAM, 1996; NAFEZ et al., 2015; SINGH; TSUTIYA, 2001a).

Porém, antes de se adotar a aplicação agrícola do lodo de esgoto sanitário, deve-se levar em consideração diversos parâmetros microbiológicos que delimitam os riscos à saúde pública decorrentes da aplicação do lodo no solo (BRISOLARA; SANDBERG, 2014; GANTZER et al., 2001; HESPANHOL, 2003; THOMAZ-SOCCOL, 2010). Tais parâmetros são estabelecidos pela Resolução do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) nº 375/2006, que regulamentou o uso agrícola do lodo de esgoto no país (BRASIL, 2006).

Os esgotos sanitários possuem, geralmente, quatro grupos de microrganismos que apresentam considerável grau de patogenicidade: bactérias, fungos, parasitas e vírus. Durante o tratamento, mais especificamente durante a fase de decantação,

estes microrganismos precipitam, concentrando-se no lodo presente no fundo das lagoas de decantação (PEPPER et al., 2006; TSUTIYA, 2001a).

A concentração microbiológica de esgotos varia de acordo com o país, ou região, e com as condições de saúde da população contribuinte (BETTIOL; CAMARGO, 2006; THOMAZ-SOCCOL, 2010). Os efluentes domésticos gerados no Brasil, por exemplo, possuem a particularidade de possuir elevadas concentrações de ovos de helmintos, o que não é comum em efluentes de países europeus ou da América do Norte (HESPANHOL, 2003).

Conforme a Resolução CONAMA nº 375/2006, os lodos de esgoto são classificados em Classe A e B, de acordo com as concentrações de coliformes termotolerantes, enterovírus e ovos viáveis de helmintos, bem como a presença de *Salmonella* spp., e, conforme estabelecido em seu artigo 3º, os lodos a serem utilizados para aplicação agrícola devem ser submetidos a processo de redução de patógenos, sendo vetada a utilização de lodo não estabilizado (BRASIL, 2006).

Com a inviabilização do uso direto do lodo de esgoto na agricultura, outras alternativas podem ser estudadas, como a mistura do lodo com uma fonte de carbono em processo de compostagem, podendo-se enquadrar o produto final como produto fertilizante orgânico composto classe D junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pelo Decreto Federal 4.954/2004 (BRASIL, 2004) e as Instruções Normativas nº 25/2009 (BRASIL, 2009) e nº 07/2016 (BRASIL, 2016).

A compostagem é um processo de bio-oxidação de um substrato orgânico sólido realizado por uma grande variedade de microrganismos mesófilos e termófilos, no qual há decomposição e liberação de matéria orgânica após maturação. Na compostagem, a elevação da temperatura durante o processo de fermentação higieniza o substrato, com a inativação de microrganismos e parasitas patogênicos, sendo este um dos processos mais eficientes para estabilização de lodos sanitários (CARVALHO, 2001; PEPPER et al., 2006).

Para que o processo de compostagem com lodo de esgoto seja efetivo, é necessária a incorporação de materiais estruturantes. Os materiais estruturantes têm a função de garantir a integridade estrutural da pilha de compostagem, absorver o excesso de umidade e ainda equilibrar a relação C/N da mistura de resíduos na compostagem (FERNANDES; SILVA, 1999).

Dentre as possibilidades de material estruturante disponíveis no estado de São Paulo, destacam-se a casca de eucalipto, o bagaço de cana-de-açúcar e a casca de

arroz, já que o estado conta com diversas empresas florestais, bem como indústrias sucroalcooleiras e de processamento de grãos. Estes resíduos possuem características físicas que promovem boa aeração no processo de compostagem.

Este estudo justifica-se pela necessidade de se avaliar a temperatura ao longo do processo de compostagem, bem como verificar o tempo de sobrevivência e comprovar a inativação de microrganismos patogênicos presentes no lodo de esgoto submetido a compostagem com diferentes materiais estruturantes. A ausência destes microrganismos ao final do processo de compostagem é fundamental para se validar a eficiência e a qualidade do mesmo, podendo-se, assim, viabilizar a utilização do produto pelo setor agroflorestal, respeitando-se os padrões exigidos pela legislação brasileira.

2. HIPÓTESES

1. A temperatura varia na pilha de compostagem de acordo com o ponto observado (topo, meio ou base) e com o material estruturante misturado ao lodo de esgoto.
2. Há diferença nos resultados das análises para determinação de ovos viáveis de *Ascaris* spp. de acordo com o método de análise utilizado.
3. A compostagem é eficiente na eliminação ou diminuição de microrganismos patogênicos presentes no lodo de esgoto sanitário, apresentando, ao longo do processo, ausência de *Salmonella* spp. e curvas de decaimento na concentração de coliformes termotolerantes e ovos viáveis de *Ascaris* spp.
4. A diminuição do número de coliformes termotolerantes em amostras de lodo de esgoto está diretamente relacionada com a diminuição da umidade e da atividade de água no material analisado. Porém, a curva de atividade de água não pode ser representada pela curva de umidade.

3. OBJETIVOS

1. Estudar a dinâmica de temperatura ao longo do processo de compostagem em diferentes perfis de profundidade na pilha em misturas de lodo de esgoto com casca de eucalipto, bagaço de cana-de-açúcar e casca de arroz.
2. Comparar e validar métodos para determinação da densidade de ovos viáveis de *Ascaris* spp. em lodo de esgoto sanitário.
3. Avaliar a presença de *Salmonella* spp. e a concentração de coliformes termotolerantes e ovos viáveis de *Ascaris* spp. durante todo o processo de compostagem em misturas de lodo de esgoto com diferentes materiais estruturantes, verificando se o processo é efetivo na eliminação ou diminuição destes.
4. Avaliar a relação entre a concentração de coliformes termotolerantes em amostras lodo de esgoto submetidas a temperatura constante e as curvas de decaimento de umidade e atividade de água ao longo do tempo.

4. REVISÃO DE LITERATURA

O lodo de esgoto sanitário, ou bio sólido, pode ser definido como um resíduo sólido, ou semissólido, com composição predominantemente orgânica, gerado em grandes volumes e resultante de processos de tratamento de efluentes sanitários (BERTON; NOGUEIRA, 2010; VON SPERLING; ANDREOLI, 2014).

Porém, quanto às suas características, não é possível definir um padrão exato, uma vez que as mesmas variam de acordo com o tipo de esgoto tratado, processo de tratamento, tipo de lodo de esgoto (primário, secundário ou terciário), processo de estabilização, etc. (ANDREOLI et al., 2014; TSUTIYA, 2001a).

Após separadas as impurezas no processo de tratamento de esgoto, o lodo é drenado ainda em sua forma líquida e representa apenas 1 a 2% do volume de esgoto tratado em uma ETE. Entretanto, apesar de ser uma parcela pequena do volume total de efluentes que passa por uma ETE, o tratamento e a disposição final do lodo de esgoto podem comprometer cerca de 20 a 40% do custo operacional da unidade de tratamento (TSUTIYA, 2001b), podendo chegar a até 60%, em alguns casos isolados (VON SPERLING; ANDREOLI, 2014).

Um dos fatores responsáveis por isso são os riscos envolvidos na disposição inadequada deste resíduo no meio ambiente. Tais riscos podem ser divididos em temporários, como salinização e poluição de solo e água e presença de patógenos, e de longo prazo, como a presença de metais pesados e contaminantes orgânicos (TSUTIYA, 2001a; DUMONTET et al., 1999).

Porém, isolados tais riscos, o lodo de esgoto apresenta em sua composição matéria orgânica e macro e micronutrientes que são de fundamental importância para a manutenção da fertilidade e, conseqüentemente, qualidade do solo, bem como o aumento na produtividade agrícola. Além disso, a matéria orgânica ali presente aumenta a capacidade de armazenamento e infiltração de água no solo, reduzindo, assim, a erosão do mesmo (ANDREOLI et al., 2014; PEPPER et al., 2006).

As alternativas mais comuns para aproveitamento ou destinação final do lodo de esgoto envolvem o uso agrícola, com aplicação do lodo no solo de áreas agrícolas ou florestais; a disposição em aterros sanitários; o reuso industrial, com a produção de tijolos, cerâmicas e cimento; a incineração; a recuperação de áreas degradadas, com aplicação no solo degradado para aumento da matéria orgânica; e a disposição em oceanos (TSUTIYA, 2001b).

4.1 A IMPORTÂNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA E DOS NUTRIENTES PRESENTES NO LODO DE ESGOTO

A matéria orgânica é considerada há milênios como um dos principais indicadores de fertilidade do solo (KIEHL, 1985) e por este motivo, resíduos orgânicos, ricos em matéria orgânica, são considerados como fonte de nutrientes e aplicados em solos há milhares de anos (OUTWATER, 1994, apud ANDREOLI et al., 2014).

A matéria orgânica presente no lodo de esgoto atua facilitando a penetração de raízes no solo, uma vez que favorece a formação de agregados, auxiliando também o desenvolvimento da biota microbiana natural do solo. Além disso, é uma importante aliada no aumento da estabilização da estrutura do solo e resistência à erosão, bem como no aumento da capacidade de retenção de água. Ainda, a matéria orgânica é fonte de nutrientes para as plantas e para os microrganismos, melhorando as características físicas, químicas e biológicas do solo que recebe aplicação do lodo de esgoto (ANDREOLI et al., 2014; TSUTIYA, 2001a).

A própria decomposição do lodo de esgoto quando aplicado no solo propicia a formação de agentes complexantes que auxiliam a movimentação de fosfatos combinados com ferro e alumínio, permitindo também um melhor aproveitamento dos nutrientes, disponibilizados de forma lenta para as plantas, de acordo com a mineralização da matéria orgânica (CARVALHO; BARRAL, 1981).

Quando se trata do material resultante de um processo de compostagem com lodo de esgoto sanitário, a matéria orgânica ali presente, em conjunto com partículas de argila, forma um complexo de adsorção, melhorando as características químicas do solo, que passa a reter nutrientes que até então seriam lixiviados, como, por exemplo, o nitrogênio (CARVALHO, 2001).

Ao fornecer matéria orgânica ao solo, o uso agrícola do lodo de esgoto estoca carbono na forma de compostos estáveis e contribui não liberando CO₂ na atmosfera, o que é um dos motivos desta prática vir ganhando cada vez mais espaço no setor agroflorestal, uma vez que as emissões de CO₂ têm sido motivo de grande preocupação (FERNANDES; SILVA, 1999).

4.2 O USO AGRÍCOLA DO LODO DE ESGOTO

É característica comum do lodo de esgoto a presença de macro e micronutrientes como nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, enxofre, magnésio, zinco, cobre, manganês, cloro, molibdênio e boro, sendo que todos estes afetam diretamente o desenvolvimento das plantas e, conseqüentemente, a produtividade das culturas agrícolas (ANDREOLI et al., 2014; CARVALHO, 2001; NRC, 1996; PEPPER et al., 2006).

Geralmente, quando o lodo é aplicado em taxa agrônômica ideal para suprir a necessidade de nitrogênio da cultura, as demais necessidades de micronutrientes também são atendidas na maioria das vezes (TSUTIYA, 2001a).

Andreoli et al. (2014) ressaltaram que nem sempre a concentração de nutrientes no lodo de esgoto está perfeitamente balanceada com as necessidades da cultura, sendo, algumas vezes, necessário complementar a adubação com outras fontes. Os autores afirmaram ainda que quando o lodo de esgoto é aplicado no solo, geralmente há a necessidade de suplementação com fósforo, já que os solos brasileiros são carentes deste elemento, e potássio, já que os lodos de esgoto possuem baixas concentrações deste nutriente.

Uma vantagem do lodo de esgoto sanitário é que os nutrientes ali presentes estão ligados à matéria orgânica, sendo disponibilizados mais lentamente para as plantas, de acordo com a decomposição da matéria orgânica no solo, durante o processo de mineralização. A mineralização varia de acordo com o lodo ou composto utilizado. Porém, estima-se que apenas 30% da matéria orgânica é mineralizada no período de um ano, sendo que os outros 70% se mineralizam nos anos seguintes, evitando a perda de nutrientes por lixiviação (CARVALHO, 2001).

De acordo com Tsutiya (2001a), os lodos de esgoto produzidos no Brasil possuem concentrações médias de nitrogênio variando entre 2,2 a 5,5% e fósforo, ou P_2O_5 , variando entre 1,0 a 3,7%, sendo dependentes do tipo de tratamento das fases líquidas e sólidas do esgoto. O autor afirmou ainda que as concentrações de potássio no lodo são sempre baixas devido ao fato deste elemento ser altamente solúvel e se misturar à parte líquida do processo de tratamento, não ficando, assim, retido no lodo decantado.

Em relação ao produto fertilizante proveniente de processo de compostagem do lodo de esgoto, de maneira geral pode-se dizer que este atua de duas formas após a

sua aplicação em solos agrícolas. A primeira forma de atuação é como condicionador do solo, melhorando suas propriedades físicas e auxiliando na agregação de partículas e, conseqüentemente, na aeração do solo. Já a segunda forma é em relação ao aumento na aeração, ou porosidade, do solo, um fator fundamental para que a necessidade de irrigação diminua. Nos solos argilosos, por exemplo, a aplicação do composto faz com que a porosidade e a permeabilidade do ar e da água aumentem, evitando, assim, a erosão laminar (ANDREOLI et al., 2014; CARVALHO, 2001; DUMONTET et al., 1999).

A prática de recuperação de solos degradados, onde não há possibilidade de crescimento natural de vegetação, utilizando-se lodo de esgoto ou composto é extremamente indicada, uma vez que o lodo devolve parcialmente ao solo a matéria orgânica perdida geralmente após a remoção da camada superficial para mineração ou obras de engenharia. Além disso, solos degradados apresentam características de acidez, com pH extremamente baixo, má capacidade de armazenamento de água, temperaturas elevadas na superfície, baixa concentração ou ausência de nutrientes e propriedades físicas inadequadas para o desenvolvimento vegetal. Sendo assim, a aplicação de um composto orgânico com lodo de esgoto permite a recuperação das propriedades deste solo de tal maneira que o crescimento vegetal possa ser retomado (CARVALHO, 2001).

Porém, o uso agrícola do lodo de esgoto sanitário puro deve ser tratado com precaução devido à presença de organismos patogênicos e atratividade de vetores, sendo recomendado, em muitos casos, a utilização de processos de tratamento do lodo anteriormente à sua aplicação no campo (PEPPER et al., 2006; SIDHU; TOZE, 2009; TSUTIYA, 2001b; VON SPERLING; ANDREOLI, 2014).

No momento da escolha da área onde será aplicado o lodo de esgoto alguns pontos devem ser considerados, como a legislação vigente, a proximidade de áreas residenciais, a direção dos ventos, o consentimento dos proprietários da área, a declividade, a profundidade entre a superfície do solo e os mananciais subterrâneos e a taxa de aplicação do lodo de esgoto (ANDREOLI et al., 2014; TSUTIYA, 2001b).

Além disso, é vetada a aplicação no setor de horticultura e naquelas em que os alimentos consumidos crus tenham contato direto com o solo que recebeu a aplicação. Dentre as culturas recomendadas estão o milho, o trigo, a cana-de-açúcar, o sorgo, bem como as áreas de fruticultura, reflorestamento, além da recuperação de solos degradados (SANEPAR, 1997).

4.3 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DO LODO DE ESGOTO

A maioria dos microrganismos presentes no lodo de esgoto sanitário não apresentam nenhum risco à saúde humana ou animal, uma vez que são organismos saprófilos, que participam ativamente do processo de tratamento de esgoto, degradando a matéria orgânica. No entanto, uma pequena parte de vírus, bactérias, fungos, protozoários e parasitas como helmintos deve receber a devida atenção (TSUTIYA, 2001a).

Tais microrganismos são comumente encontrados em qualquer esgoto sanitário que, em outras palavras, podem conter qualquer microrganismo presente na população humana ou animal. Durante o tratamento de esgoto, esses microrganismos se aderem às partículas sólidas e precipitam durante a fase de decantação, ficando concentrados no lodo de esgoto (ANDREOLI et al., 2014; PINTO, 2014; SILVA et al., 2014; TSUTIYA, 2001a).

Já a densidade desses microrganismos no lodo varia muito de acordo com o tipo do tratamento de esgoto e a saúde da população contribuinte (SIDHU; TOZE, 2009; TSUTIYA, 2001a). Populações consideradas saudáveis, por exemplo, produzem esgotos e, conseqüentemente, lodos com menor carga de microrganismos patogênicos. Já populações com elevados índices de doenças, produzem esgotos e lodos com alta carga de patógenos (PINTO, 2014; VON SPERLING; ANDREOLI, 2014).

Para a realidade do Brasil, estudos epidemiológicos vêm mostrando que as cargas de patógenos encontradas nos lodos de esgoto do país apresentam riscos para a saúde humana e animal, devido a fatores como os altos índices de parasitismo da população brasileira e as doses infectantes dos microrganismos (SILVA et al., 2014; THOMAZ-SOCCOL et al., 2010).

Existem processos químicos, físicos e biológicos para tratamento, estabilização ou desinfecção do lodo de esgoto sanitário. Dentre os principais mecanismos estão a oxidação química da matéria orgânica, a adição de algum componente químico que torne o lodo um meio inapropriado para a atividade microbiológica, e a desinfecção através de altas temperaturas (TSUTIYA, 2001a).

4.3.1 Principais agentes patogênicos presentes no lodo de esgoto

As condições socioeconômicas e sanitárias da população contribuinte do sistema de esgotamento sanitário, a presença de indústrias agroalimentares na rede de esgotamento sanitário e o tipo de tratamento de esgoto são fatores que influenciam diretamente a densidade de patógenos presentes no lodo de esgoto (SILVA et al., 2014; TSUTIYA, 2001a). Em alguns países, por exemplo, onde a população apresenta padrões sanitários e de saúde mais adequados que em países em desenvolvimento, a densidade de ovos de helmintos presentes no lodo de esgoto é baixa ou até mesmo indetectável (GRANT et al., 2012).

De acordo com Thomaz-Soccol e Paulino (2000), as doenças que podem ser causadas pelos patógenos presentes no lodo são variadas e podem se apresentar em forma de uma simples diarreia ou até infecções severas e doenças como hepatite e meningite.

Segundo Tsutiya (2001a), estudos epidemiológicos têm comprovado que a presença de ovos de helmintos, protozoários, vírus e bactérias, apesar de apresentar riscos à saúde humana, não necessariamente garante a ocorrência de doenças, uma vez que é necessária uma dose mínima para infecção. Ainda, a viabilidade destes microrganismos deve ser considerada, uma vez que os processos de tratamento de esgoto podem desnaturá-los e fazer com que percam sua infectividade (SILVA et al., 2014). A Tabela 1 apresenta as doses mínimas infectantes dos patógenos presentes no lodo de esgoto.

Quanto aos ovos de helmintos, os do gênero *Ascaris* são os que apresentam maior resistência fora dos hospedeiros e podem ser encontrados viáveis em grandes quantidades nos lodos de esgotos brasileiros. O *Ascaris lumbricoides* é um nematoide parasita do intestino delgado muito comum na população humana de países e regiões com condições de saneamento básico inadequadas ou insuficientes. A forma mais comum de contaminação é o contato com solos contaminados com os ovos deste parasita. Quando contaminado, o indivíduo pode sentir distúrbios digestivos e nervosos (SILVA et al., 2014).

Em solos brasileiros, Faria et al. (2017) avaliaram a sobrevivência de ovos viáveis de *Ascaris* spp. em plantio de eucalipto fertilizado com lodo de esgoto Classe B e concluíram que, sob as condições climáticas analisadas, os ovos de *Ascaris* spp. permaneceram viáveis no solo por apenas sete semanas após a aplicação do lodo, o

que contraria estudos realizados em países de clima temperado, que apontam tempos variando entre 15 meses a 15 anos (CARRINGTON, 2001; KOWAL, 1986; MUNGER, 1983 apud EDMONDS, 2000), demonstrando que este grupo de patógenos é sensível a variações nas condições ambientais, principalmente temperatura e umidade.

Tabela 1 – Dose mínima infectante de agentes patogênicos para causar infecção humana e animal

Agente patogênico	Dose mínima infectante
Ovos de helmintos	1 – 10 ovos viáveis
Protozoários	10 – 10 ² indivíduos
Bactérias	10 ² - 10 ⁶ Número Mais Provável (NMP)
Vírus	10 ² Unidades Formadoras de Colônias (UFP)

NMP: Número Mais Provável; UFP: Unidade Formadora de Placas.

Fonte: Adaptado de Thomaz-Soccol e Paulino (2000).

A gama de bactérias presentes no lodo de esgoto sanitário é bastante extensa e envolve não somente microrganismos provenientes da microbiota intestinal humana e animal, mas também aqueles provenientes da microbiota natural do solo, da água e até mesmo do ar. Dentre os grupos que podem causar doenças ou riscos à população humana, destacam-se os gêneros *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Vibrio* spp., *Yersinia* spp., *Campylobacter* spp., *Leptospira* spp. e também a espécie *Escherichia coli*. Geralmente, a contaminação por bactérias se dá por via oral-fecal, por meio da água ou alimentos contaminados (SILVA et al., 2014).

O gênero *Salmonella* é representado por um grupo muito grande de bactérias, que compreende mais de 2.650 sorotipos já identificados. Todos estes sorotipos são considerados patogênicos e podem comprometer a saúde humana e animal, com distúrbios que vão desde leves gastroenterites a doenças severas e até mesmo a morte. A febre tifoide, causada pelo sorotipo *Salmonella typhi* é um exemplo de doença, que ocorre em humanos e primatas (PEPPER et al., 2006). A *Salmonella* spp. possui, ainda, a capacidade de se multiplicar e colonizar o lodo de esgoto, o que faz com que haja certa preocupação em relação a este grupo de patógenos (ZALESKI et al., 2005).

Apesar de não serem considerados patógenos e sim indicadores de patogenicidade (PEPPER et al., 2006), o grupo de coliformes termotolerantes, que inclui a espécie *Escherichia coli*, foi estudado por Hachich et al. (2017) em solo tropical fertilizado com dois tipos de lodo de esgoto sanitário, ambos Classe B, e os autores puderam verificar um período de permanência no solo de 54 e 93 semanas após

aplicação do lodo, tempo maior que o verificado em estudos no exterior, em climas temperados e solos alcalinos, que chegaram a 90 dias (NGOLE et al., 2006). Tal fato pode indicar que o clima tropical, com temperaturas mais elevadas, é mais propício para a permanência destes microrganismos no solo do que climas temperados, com temperaturas mais amenas.

Os vírus encontrados em lodos de esgoto sanitário variam de acordo com o tipo de tratamento a que o esgoto foi submetido e a saúde da população contribuinte e apresentam riscos para a população humana e animal quando em contato com solo, alimentos e água contaminados ou em aerossóis e na poeira (SILVA et al., 2014).

Porém, conforme evidenciado em estudo desenvolvido por Hachich et al. (2017), dentre os microrganismos patogênicos presentes no lodo de esgoto sanitário, o grupo de vírus entéricos são os menores e menos complexos e, conseqüentemente, os mais sensíveis às condições ambientais, não tendo sido nem mesmo encontrados durante o estudo, uma vez que seu tempo de sobrevivência no meio ambiente é curto, podendo ser eliminados já durante o período de tratamento de esgoto. Porém, conforme observado na Tabela 2, em alguns casos este grupo pode estar presente no lodo de esgoto sanitário.

Fatores como o tempo (período do mês, ano ou estação do ano), amostragem, tipo de tratamento de esgoto, saúde da população contribuinte, dentre outros, afetam a quantidade de microrganismos patogênicos presentes no lodo de esgoto (SILVA et al., 2014). A Tabela 2 apresenta a concentração geral de microrganismos patogênicos comumente encontrados em amostras de lodo de esgoto sanitário.

Tabela 2 – Concentração de agentes patogênicos em lodo de esgoto

Agente patogênico	Tipo de lodo	Nº de patógenos
Ovos viáveis de helmintos	Lodo primário	10^3 a 10^4 ovos kg MS ⁻¹
	Lodo digerido	10^2 a 10^3 ovos kg MS ⁻¹
	Lodo semidesidratado	10^1 a 10^3 ovos kg MS ⁻¹
	Lodo de tratamento aeróbio semidesidratado	10^2 a $7,5$ ovos 10^4 kg MS ⁻¹
	Lodo anaeróbio	$6,3 \cdot 10^3$ a $1,5 \cdot 10^4$ ovos kg MS ⁻¹
Cistos de protozoários	Lodo primário	$7,7 \cdot 10^4$ a $3 \cdot 10^6$ cistos kg MS ⁻¹
	Lodo digerido	$3 \cdot 10^4$ a $4,1 \cdot 10^6$ cistos kg MS ⁻¹
	Lodo desidratado	$7 \cdot 10^1$ a 10^2 cistos kg MS ⁻¹
Bactérias	Lodo	10^1 a $8,8 \cdot 10^6$ NMP kg MS ⁻¹
	Lodo ETE Belém/PR	10^8 NMP kg MS ⁻¹
Vírus	Lodo primário	$3,8 \cdot 10^3$ a $1,2 \cdot 10^5$ UFP L ⁻¹
	Lodo digerido	10^1 a 10^3 UFP L ⁻¹
	Lodo biológico	10^1 a $8,8 \cdot 10^6$ UFP L ⁻¹

Kg MS⁻¹: por quilograma de massa seca; L⁻¹: por litro; NMP: Número Mais Provável; UFP: Unidade Formadora de Placa.

Fonte: Thomaz-Soccol et al. (1997; 2000); Feix e Wiart (1998).

4.3.2 Processos para redução de agentes patogênicos

Os lodos de esgoto *in natura*, ou brutos, apresentam características não desejáveis, como possuir alta carga de agentes patogênicos, ser facilmente putrescíveis e exalarem odores desagradáveis. Devido a isso, foram desenvolvidos inúmeros processos para estabilizar a fração biodegradável da matéria orgânica presente no lodo, reduzindo não só o risco de putrefação, mas também a concentração de microrganismos patogênicos (LUDUVICE, 2014; PINTO, 2014).

Os processos para redução de microrganismos patogênicos mais recomendados pela Agência de Proteção Ambiental Americana USEPA, em sua norma 40 CFR Part 5003 (1997) e pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 1999) estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 – Processos de redução de patógenos em função da classificação do bioossólido

Tipo de bioossólido	Critério de classificação	Processo de redução
Classe A	Coliformes fecais: densidade < 1000 NMP gST ⁻¹	Compostagem Secagem térmica Tratamento térmico
	e <i>Salmonella</i> spp.: densidade < 3 em 4 gramas ST	Digestão aeróbia termofílica Irradiação Pasteurização
Classe B	Coliformes fecais: densidade < 10 ⁶ NMP gST ⁻¹ em pelo menos uma amostra	Digestão aeróbia Secagem Digestão anaeróbia
	ou Coliformes fecais: média geométrica da densidade de 7 amostras < 10 ⁶ NMP	Compostagem Estabilização com cal

NMP gST⁻¹: Número Mais Provável por grama de Sólidos Totais.

Fonte: Adaptado de CETESB (1999).

4.4 COMPOSTAGEM

O processo de compostagem pode ser definido como uma forma controlada de decomposição microbiana aeróbia, com oxigenação de um material heterogêneo contendo matéria orgânica úmida em estado sólido, sendo o processo dividido em três fases. A primeira fase é definida como a fase inicial, sendo rápida e apresentando fitotoxidade, quando o composto ainda está cru e imaturo. Já a segunda fase é definida como fase de semicura ou bioestabilização e a terceira fase é representada pela etapa de cura e maturação do composto ou, tecnicamente, humificação e mineralização dos componentes da matéria orgânica. Durante todo o processo de compostagem há liberação de calor, CO₂ e vapor de água (ANDREOLI et al., 2014; CARVALHO, 2001; KIEHL, 2004; PINTO, 2014; TSUTIYA, 2001a).

O principal objetivo do processo de compostagem é se obter a estabilização da matéria orgânica de forma rápida e controlada (LUDUVICE, 2014; PINTO, 2014; KIEHL, 2004), bem como a redução de patógenos, umidade e sólidos voláteis no composto (TSUTIYA, 2001a). No meio ambiente, a matéria orgânica se estabiliza e se transforma em húmus de forma natural, porém em prazo indeterminado, ocorrendo de acordo com as condições climáticas a que o material é submetido. Com a compostagem, os resíduos orgânicos são empilhados, irrigados quando necessário, homogeneizados com revolvimentos e se decompõem, produzindo adubo orgânico em um menor tempo (KIEHL, 2004).

Os dois produtos resultantes do processo de compostagem são os sais minerais, que incluem os nutrientes a serem disponibilizados para plantas e raízes, e o húmus, que atua como condicionador do solo, melhorando suas propriedades físicas, químicas e biológicas (KIEHL, 2004).

Durante a compostagem, a biodegradação da matéria orgânica faz com que a temperatura se eleve para faixas entre 60 e 65°C logo nas primeiras semanas do processo. Tal elevação na temperatura é o principal fator responsável pela higienização do composto, com a eliminação dos microrganismos patogênicos (CARVALHO, 2001; TSUTIYA, 2001a).

Na compostagem com lodo de esgoto, por exemplo, é necessário que se adicione outros resíduos orgânicos como bagaço de cana-de-açúcar, resíduos de madeira ou de poda de árvores, que atuam como material estruturante e fontes de carbono no processo, sendo o lodo considerado a fonte de nitrogênio e outros nutrientes, além de contribuir na umidade do composto (TSUTIYA, 2001a, FERNANDES; SILVA, 1999). Na Tabela 4 estão dispostas algumas características de exemplos de materiais estruturantes utilizados em processos de compostagem no Brasil.

Dentre os inúmeros resíduos vegetais que podem ser utilizados como material estruturante em compostagem com lodo de esgoto, recomenda-se aqueles que possuam uma granulometria que permita a integridade estrutural da pilha de compostagem e ao mesmo tempo facilite a circulação do oxigênio, e que possuam baixo teor de umidade e também baixo teor de nitrogênio, a modo de se permitir o equilíbrio da relação C/N (FERNANDES; SILVA, 1999).

Tabela 4 – Características de alguns resíduos vegetais utilizados como materiais estruturantes na compostagem de lodo de esgoto no Brasil

Material Estruturante	pH	Umidade (%)	Sólidos Fixos (%*)	P (%)	N (%)	C (%)
Resíduo de podas de árvores	6,9	30	9	0,09	1,10	51,00
Bagaço de cana-de-açúcar	3,7	20 – 40	3	0,10	0,80	49,00
Serragem de madeira	8,0	30	2	0,50	0,10	49,00
Sabugo de milho	7,5	10	7	0,30	0,40	46,00
Palha de trigo	7,5	6	5	0,50	0,50	43,00
Palha de café	5,1	10	5	0,08	1,48	53,00

* % em relação aos sólidos totais.

Fonte: Adaptado de Fernandes e Silva (1999); Matos et al. (1998).

O composto final, estabilizado, vem sendo amplamente utilizado na agricultura há séculos (LUDUVICE, 2014), porém somente a partir de 1920 começaram a surgir os

primeiros estudos científicos envolvendo os benefícios agrícolas do produto de compostagem. Desde então a compostagem se tornou um dos processos mais comuns e recomendados para tratamento de resíduos sólidos urbanos (CARVALHO, 2001), principalmente em países desenvolvidos (TSUTIYA, 2001a).

Existem vários tipos de processos de compostagem. O mais simples e tradicional é a compostagem com leiras revolvidas, ou *windrow*, mas há também processos de compostagem com leiras estáticas aeradas e em reatores biológicos fechados (LUDUVICE, 2014).

4.4.1 As fases da compostagem

A primeira fase da compostagem pode ser denominada como fase mesofílica. O desprendimento de vapor de água, calor e CO₂ é o primeiro sinal de que a decomposição da matéria orgânica se iniciou, estando o processo em sua fase inicial de compostagem (KIEHL, 2004).

A reação ácida é uma característica das seivas das plantas e demais partes dos vegetais e, conseqüentemente, os materiais orgânicos crus também apresentam tal característica. Além disso, esta característica também é observada dos dejetos humanos e animais sólidos ou líquidos que, quando entram em decomposição, liberam ácidos orgânicos, principalmente ácido acético, e outras toxinas danosas às plantas, que dão ao material características de fito toxicidade durante a primeira fase de compostagem (KIEHL, 2004).

Após 10 a 20 dias da primeira fase de compostagem, as temperaturas aumentam, a decomposição do material orgânico começa a progredir, e este entra em fase de semicura ou bioestabilização, onde o composto deixa de ser tóxico às plantas, porém ainda não está humificado (KIEHL, 2004; PINTO, 2014).

A fase final da degradação da matéria orgânica é conhecida como fase de maturação ou humificação e é durante esta fase que o composto adquire propriedades físicas, químicas e biológicas ideais para a germinação, crescimento ou desenvolvimento das plantas (KIEHL, 2004; PINTO, 2014).

4.4.2 Aeração

Uma vez que a compostagem é um processo aeróbio, a aeração é um dos pontos fundamentais para o seu sucesso, já que controla a taxa de reação, que é responsável pelo aumento da temperatura que humifica e higieniza o composto (CARVALHO, 2001; PINTO, 2014). Durante todo o período de compostagem é necessário que haja inserção de oxigênio suficiente para manter o teor no interior da pilha entre 5 a 15% (CARVALHO, 2001).

Porém, a aeração em excesso é um ponto negativo para o processo, já que resfria e resseca o material em compostagem, diminuindo, assim, a atividade microbiana e impedindo a eliminação de microrganismos patogênicos (CARVALHO, 2001; PINTO, 2014).

Geralmente a aeração de uma pilha de compostagem se dá com a inserção de ar por sopradores, de forma intermitente, ou através de revolvimentos frequentes, realizados por máquinas específicas (PINTO, 2014).

4.4.3 Temperatura

A temperatura é o fator que mais deve receber atenção durante a compostagem, uma vez que indica se a decomposição da matéria orgânica está ocorrendo. Além disso, aferindo-se a temperatura é possível determinar a fase em que o processo de compostagem está. No início do processo há a predominância de temperatura ambiente, com microrganismos mesófilos. De acordo com o avanço da decomposição, as reações exotérmicas liberam o calor e a temperatura vai se elevando, podendo atingir temperaturas superiores a 65°C, prevalecendo, então, os microrganismos termófilos (CARVALHO, 2001, FERNANDES; SILVA, 1999; KIEHL, 2004; PINTO, 2014).

Uma vez que cada grupo de microrganismos possui sua faixa de temperatura ideal para desenvolvimento e multiplicação, quando há desvios dessa faixa há também um declínio no crescimento e atividade destes microrganismos, que se reflete na queda da temperatura, ou calor liberado (KIEHL, 2004). De acordo com Ludovice (2014), para que haja um processo de compostagem eficiente, é importante que a temperatura no interior das pilhas se mantenha entre 55 e 65°C, controlando-se a perda de calor.

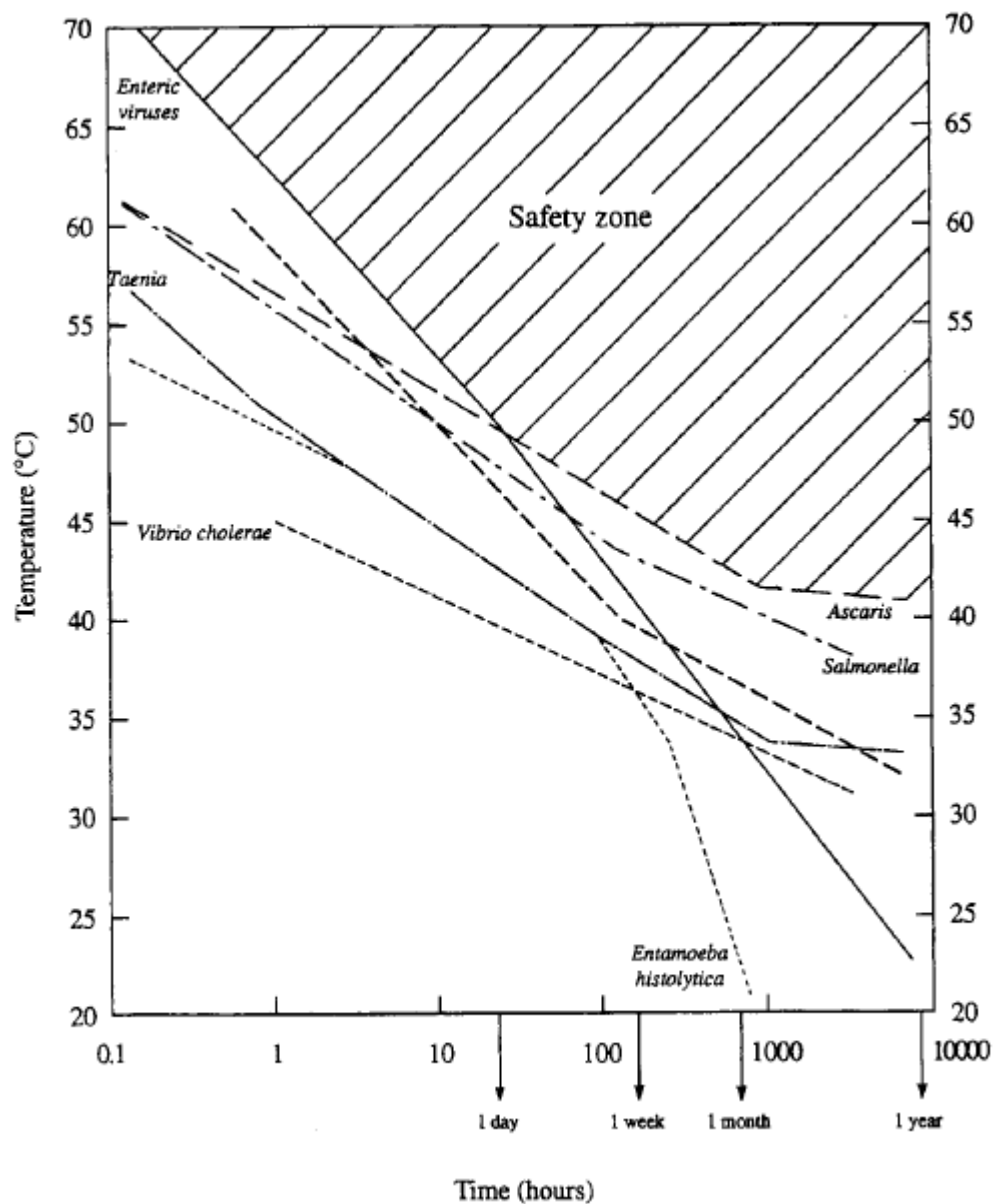
A temperatura observada na pilha ao longo do processo de compostagem está diretamente relacionada com uma série de fatores, como a atividade microbiana, a umidade, o grau de aeração interna da pilha, a granulometria da matéria-prima, dentre outros, sendo que o aumento de temperatura é dependente destes fatores, e não a sua causa. Após um período de estabilidade da temperatura na fase termófila, caso não falte umidade e oxigênio, a temperatura irá diminuir naturalmente, passando novamente pela fase mesófila até atingir a temperatura ambiente e encerrar-se o processo de compostagem (KIEHL, 2004; PINTO, 2014).

Porém, caso durante o processo de compostagem falte água, a atividade microbiana diminui, diminuindo também a temperatura, o que não significa que o processo está finalizado e com o material humificado (KIEHL, 2004).

Já temperaturas muito altas, acima de 70°C a 75°C, também não são interessantes para o processo, uma vez que eliminam os microrganismos responsáveis pela decomposição e há perda do nitrogênio por volatilização (FINSTEIN et al., 1983; KIEHL, 2004). Nestes casos, o controle da temperatura pode ser feito aumentando-se os números de revolvimentos, ou aeração, que dissipam o calor liberado nas reações de compostagem (PINTO, 2014).

Domontet et al. (1999) destacaram a temperatura como sendo o fator ambiental que mais afeta a sobrevivência de microrganismos patogênicos presentes no lodo de esgoto sanitário. Na Figura 1, Feachem et al. (1983) traçaram o efeito da temperatura e do tempo de compostagem na sobrevivência de alguns patógenos.

Figura 1 – Efeito da temperatura e do tempo de compostagem na sobrevivência de patógenos presentes no lodo de esgoto sanitário



Fonte: Feachem et al. (1983).

4.4.4 Umidade

A umidade é um fator tão importante no processo, que a negligência em seu monitoramento pode ser um sério problema operacional na compostagem, até mesmo podendo inviabilizá-la. A diminuição da umidade ao longo do processo é um acontecimento natural devido às elevadas temperaturas atingidas na pilha e os sucessivos revolvimentos, podendo chegar a níveis inferiores a 40%, quando a atividade microbiana diminui e até mesmo se encerra. Caso esta perda de umidade

para níveis abaixo de 40% ocorra de forma prematura, a qualidade do composto é afetada pois a decomposição do mesmo diminui, gerando um composto imaturo e, devido a isso, em muitos casos a irrigação das pilhas de compostagem é recomendada (CARVALHO, 2001; LUDUVICE, 2014; PINTO, 2014).

Por outro lado, caso haja umidade em excesso, acima de 60%, as partículas de água impedem a presença das partículas O_2 em quantidade adequada para os microrganismos aeróbios, que começam a morrer, dando espaço para a atividade microbiana anaeróbia, que ocasiona mal cheiro, atração de vetores e um produto final de má qualidade (CARVALHO, 2001; KIEHL, 2004).

Kiehl (2004) ressaltou que a presença da água é fundamental para as necessidades fisiológicas dos microrganismos que realizam a decomposição da matéria orgânica, que não sobrevivem na sua ausência. Porém é necessário que a umidade seja controlada e mantida entre 40% e 60% durante a maior parte do processo de compostagem, sendo considerada como ideal a umidade em torno de 55%.

4.4.5 Relação C/N

Os microrganismos que realizam a decomposição da matéria orgânica sempre absorvem o carbono e o nitrogênio na proporção 30/1, mesmo se o material a ser compostado tiver uma relação C/N 80/1 ou 8/1. O lodo de esgoto, por exemplo, geralmente possui uma relação C/N em uma faixa entre 7 a 10/1. Durante o processo de compostagem a relação C/N é alterada, de forma com que quando o composto estiver humificado esta relação será de, aproximadamente, 10/1 (CARVALHO, 2001; KIEHL, 2004; PINTO, 2014).

Quando o processo de compostagem se inicia com uma relação C/N baixa, o nitrogênio em excesso é descartado na forma de NH_3 , que é um elemento que pode limitar a atividade microbiana. Para resolver esta situação, em muitos casos recomenda-se a adição de um material estruturante que sirva como fonte de carbono, como um material palhoso ou resíduos de árvores, e eleve a relação C/N para cerca de 30/1 (CARVALHO, 2001).

Já quando o processo se inicia com uma relação C/N muito alta, não há nitrogênio suficiente para suprir a demanda dos microrganismos, que passam a ter seu desenvolvimento limitado. Como consequência, o processo de compostagem ocorre

de maneira mais lenta e, em alguns casos, não alcança temperaturas adequadas para higienização do composto (PINTO, 2014).

A Tabela 5 apresenta os teores de sólidos, nitrogênio e carbono presentes nos materiais estruturantes geralmente utilizados no Brasil em comparação com diferentes lodos de esgoto sanitário.

Tabela 5 – Teores (%) de sólidos, nitrogênio e carbono nos resíduos utilizados em compostagem

Resíduo	Sólidos (%)	N (%)	C (%)
Podas de árvores	65 – 75	0,8 – 1,2	45 – 55
Casca de arroz	80 – 90	0,9 – 1,2	35 – 40
Bagaço de cana-de-açúcar	60 – 80	0,1 – 0,2	40 – 50
Palha de trigo	80 – 90	0,3 – 0,5	40 – 50
Serragem	65 – 80	0,1 – 0,2	48 – 55
Lodo bruto	1 – 4	1 – 5	30 – 35
Lodo digerido	1 – 3	1 – 6	22 – 30
Lodo digerido seco (leitos de secagem)	45 – 70	1 – 4	22 – 30
Lodo digerido desidratado (prensa)	15 – 20	1 – 4	22 – 30
Lodo digerido desidratado (centrífuga)	17 – 28	1 – 4	22 – 30

Fonte: Adaptado de Fernandes e Silva (1999); JICA (1993) apud Pinto (2014); Malina (1993); Metcalf e Eddy (1991).

4.4.6 pH

Durante o processo de compostagem, o pH do material geralmente indica reação levemente ácida a alcalina (6 a 9). Quando o pH está abaixo de 6, o crescimento e desenvolvimento das bactérias decompositoras é inibido, afetando o processo (CARVALHO, 2001; PINTO, 2014).

Com o correr da compostagem, há a geração de ácidos húmicos, que reagem com elementos químicos básicos e formam humatos alcalinos. Assim, ao final do processo, o pH do composto humificado se eleva, chegando a valores superiores a 8,0 (FERNANDES, 2000; KIEHL, 2004).

4.5 LEGISLAÇÃO E NORMAS BRASILEIRAS SOBRE LODO DE ESGOTO E COMPOSTAGEM REFERENTES À PRESENÇA DE AGENTES PATOGÊNICOS

O uso correto do lodo de esgoto na agricultura enfrentou a ausência, a insuficiência ou a inconsistência de normas desde o início de sua prática. A princípio

as principais preocupações tangiam às questões ligadas aos metais pesados e à presença de agentes patogênicos no lodo. Sendo assim, as instituições ambientais e de pesquisa começaram a desenvolver estudos nessa área e conforme os resultados foram surgindo, surgiram também as primeiras normas a respeito do uso agrícola do lodo de esgoto. As legislações europeias e americana foram as pioneiras e serviram de base para outras que vieram a seguir. No Brasil as normas sobre este assunto são recentes e algumas ainda se encontram em debate (CARVALHO; CARVALHO, 2001).

A Resolução nº 375/2006 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) foi publicada com o objetivo de definir “critérios e procedimentos para o uso agrícola de lodos gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados” e desde então vem gerando debates e discussões na comunidade técnico-científica (BRASIL, 2006; HACHICH et al., 2017).

A polêmica sobre esta norma está no fato da mesma apresentar parâmetros de classificação do lodo em classe A ou B de acordo com a densidade ou presença de microrganismos patogênicos como coliformes termotolerantes, enterovírus, *Salmonella* spp. e ovos viáveis de helmintos. Na época de sua elaboração, não haviam estudos suficientes desenvolvidos no Brasil que servissem de base para o estabelecimento dos parâmetros de acordo com a nossa realidade. Sendo assim, foram utilizados os parâmetros utilizados pelas legislações americana e europeia, que seguiram estudos desenvolvidos para outras realidades climáticas (HACHICH et al., 2017).

A Tabela 6 apresenta os parâmetros adotados pela Resolução CONAMA nº 375/2006 para classificação do lodo de esgoto sanitário e seus produtos derivados.

Tabela 6 – Classes de lodo de esgoto ou produto derivado de acordo com a concentração de agentes patogênicos, conforme Resolução nº 375/2006 do CONAMA

Classe	Concentração de patógenos
A	Coliformes termotolerantes < 10^3 NMP gST ⁻¹
	Ovos viáveis de helmintos < 0,25 ovo gST ⁻¹
	<i>Salmonella</i> – ausência em 10 g de ST
	Vírus < 0,25 UFP ou UFF gST ⁻¹
B	Coliformes termotolerantes < 10^6 NMP gST ⁻¹
	Ovos viáveis de helmintos < 10 ovos gST ⁻¹

ST: Sólidos Totais; NMP: Número Mais Provável; UFF: Unidade Formadora de Foco; UFP: Unidade Formadora de Placa.

Fonte: Brasil (2006).

Outro ponto desta norma que vem sendo debatido até hoje é referente ao § 1º de seu Art. 11, que, frente à escassez de estudos para a realidade climática brasileira, agiu pelo princípio da precaução e vetou, a partir de 2011, o uso agrícola de lodos de esgoto e produtos derivados Classe B, a não ser que estudos fossem desenvolvidos e novas propostas fossem criadas garantindo a segurança do uso agrícola de lodos Classe B. Tal fato por um lado desestimulou o uso agrícola do lodo, que vinha sendo amplamente difundido no Brasil até 2011, mas por outro lado incentivou o início de outras práticas de manejo e tratamento do lodo no país, como, por exemplo, a compostagem (BRASIL, 2006; HACHICH et al., 2017).

Somado a isto, ainda hoje há grande dificuldade em se encontrar laboratórios no Brasil aptos e certificados para realizar análises de, por exemplo, enterovírus e ovos viáveis de helmintos em amostras de lodo de esgoto, uma vez que os métodos utilizados em tais análises são complexos e pouco conhecidos no país (HACHICH et al., 2017).

Em relação à compostagem, recentemente, em outubro de 2017, foi publicada a Resolução CONAMA nº 481/2017, que “estabelece critérios e procedimentos para garantir o controle e a qualidade ambiental do processo de compostagem de resíduos orgânicos”, incluindo o lodo de esgoto sanitário (BRASIL, 2017).

Em seu Anexo I, esta Resolução determina o período termofílico mínimo necessário para redução de agentes patogênicos e higienização do composto, conforme apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 – Tempo e temperatura necessários para higienização dos resíduos sólidos orgânicos durante o processo de compostagem, segundo a Resolução CONAMA nº 481/2017

Sistema de compostagem	Temperatura (°C)	Tempo (dias)
Sistemas abertos	> 55 °C	14
	> 65 °C	3
Sistemas fechados	> 60 °C	3

Fonte: Brasil (2017).

Ainda, a Instrução Normativa nº 07 de 12/04/2016, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em seu Anexo V, determina os limites máximos de contaminantes admitidos em fertilizantes orgânicos e condicionadores de solo, dentre eles coliformes termotolerantes, *Salmonella* e ovos viáveis de helmintos (BRASIL, 2016), cujos limites estão dispostos na Tabela 8.

Tabela 8 – Limites máximos de indicadores de patogenicidade em fertilizantes orgânicos e condicionadores de solo, segundo Instrução Normativa do MAPA nº 07, de 14 de abril de 2016.

Patógeno	Valor máximo admitido
Coliformes termotolerantes	1.000,00 NMP g MS ⁻¹
<i>Salmonella</i> spp.	Ausência em 10 g MS
Ovos viáveis de helmintos	1,0 em 4 g ST

NMP: Número Mais Provável; MS: Massa Seca; ST: Sólidos Totais.

Fonte: Adaptado de Brasil (2016).

Comparando-se com a Resolução CONAMA nº 375/2006 (BRASIL, 2006), os limites adotados pelo MAPA (BRASIL, 2016) para indicadores de patogenicidade em fertilizantes orgânicos e condicionadores de solo são os mesmos.

4.6 ATIVIDADE DE ÁGUA

A atividade de água (a_w) é um parâmetro termodinâmico (SIMATOS et al., 2011) que representa o índice de água necessário para a sobrevivência de microrganismos. Em outras palavras, a a_w representa a quantidade de água disponível para interação e reação cruzada com outras moléculas e solutos. Quando a água interage com solutos, passa a não ficar disponível para outras interações, não estando disponível também para o crescimento microbiano (PRABHAKAR; MALLIKA, 2014; SIMATOS et al., 2011).

A a_w também pode ser considerada como uma maneira de mensurar o estado de energia da água em determinado produto ou material. Os valores de a_w diminuem de acordo com desestruturação das moléculas de água e/ou devido às interações das moléculas de água e de soluto (SIMATOS et al., 2011).

Scott (1953) foi o primeiro pesquisador a relatar que não é o conteúdo de água, ou teor de umidade, o fator correlacionado ao crescimento microbiano, mas sim a atividade de água. De acordo com Roos (2003), estudos já comprovaram que as taxas de reações químicas e enzimáticas associadas ao crescimento microbiano podem ser controladas pela a_w , além de outros fatores, como pH e temperatura.

O valor de a_w de uma amostra de água pura é 1,00, que representa o valor mais alto de a_w . O crescimento bacteriano, por exemplo, necessita de valores de a_w mais próximos de 1,00 do que o crescimento fúngico. Bactérias gram-negativas também necessitam de valores de a_w mais elevados do que as bactérias gram-positivas. A a_w

ideal para muitos microrganismos está acima de 0,90, porém fungos conseguem se desenvolver em ambiente onde os valores de a_w se encontram abaixo de 0,80 (PRABHAKAR; MALLIKA, 2014).

Na Tabela 9 estão indicados os valores de a_w mínimos para o desenvolvimento de alguns microrganismos.

Tabela 9 – Valores mínimos de atividade de água para o crescimento ótimo de alguns microrganismos

Microrganismo	Valor mínimo de a_w requerido
<i>Escherichia coli</i>	0,99
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,98
<i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Shigella</i>	0,97
<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Bacillus cereus</i>	0,96
<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Salmonella newport</i>	0,95
<i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i>	0,94
<i>Lactobacillus viridescens</i>	0,93
<i>Micrococcus roseus</i> , <i>Staphylococcus</i>	0,91
<i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i>	0,90
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,86
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,83
Bactérias halofílicas	0,75
Fungos	0,86 – 0,93
Leveduras	0,60 – 0,88

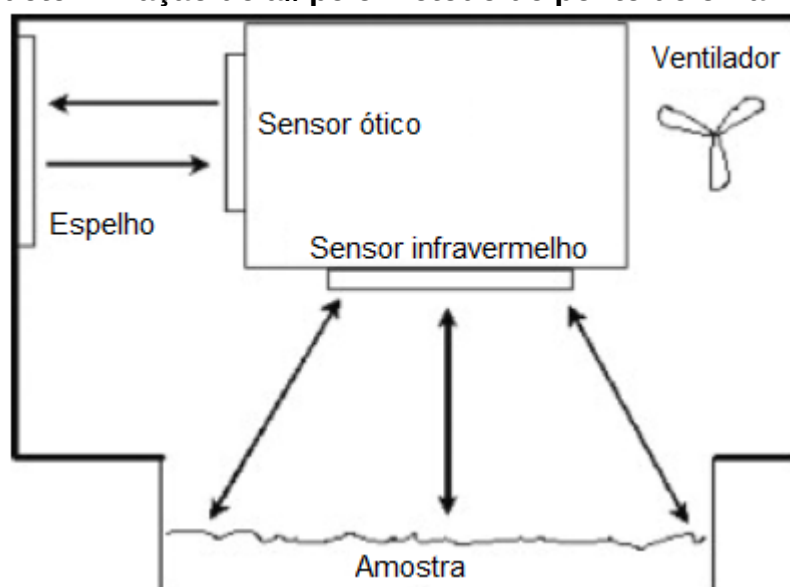
Fonte: Prabhakar; Mallika (2014).

A a_w de um material pode ser determinada a partir da umidade relativa do ar ao redor da amostra quando o ar e a amostra estão em equilíbrio (ROOS, 2003). Portanto, a amostra deve ser confinada em espaço fechado para que este equilíbrio ocorra. Quando em equilíbrio, a a_w da amostra e a umidade relativa do ar são iguais. Existem dois diferentes tipos de equipamentos utilizados para determinação da a_w : um utiliza a tecnologia de ponto de orvalho e o outro afere a umidade relativa com sensores que alteram a resistência elétrica ou a capacitância (PRABHAKAR; MALLIKA, 2014; ROOS, 2003). Ambos os equipamentos variam em precisão, repetibilidade, velocidade de medição, estabilidade na calibração, linearidade e conveniência de uso (PRABHAKAR; MALLIKA, 2014).

Nos equipamentos de ponto de orvalho, a amostra é confinada dentro de uma câmara selada contendo um espelho, um sensor reflectância ótica, um ventilador interno e um sensor de temperatura infravermelho. Quando em equilíbrio, a umidade relativa do ar na câmara é a mesma da a_w da amostra. Um resfriador termoelétrico,

do tipo Peltier, controla com precisão a temperatura do espelho. Um sensor de reflectância ótica detecta o ponto exato em que a condensação aparece pela primeira vez. A partir de então, um feixe de luz infravermelha é direcionado para o espelho e refletido de volta para um detector fotográfico, que detecta a mudança na reflectância quando ocorre condensação no espelho. Um termopar ligado ao espelho mede com precisão a temperatura do ponto de orvalho. O ventilador interno é para circulação de ar, que reduz o tempo de equilíbrio de vapor. Além disso, um sensor de temperatura infravermelho afere a temperatura da superfície da amostra. O ponto de orvalho e as temperaturas da amostra são utilizados para determinar a a_w . O tempo de análise por amostra geralmente é inferior a cinco minutos (PRABHAKAR; MALLIKA, 2014; SIMATOS et al., 2011). A Figura 2 ilustra a representação esquemática do interior de um equipamento de determinação de a_w por ponto de orvalho.

Figura 2 – Representação esquemática do interior de um equipamento de determinação de a_w pelo método de ponto de orvalho



Fonte: Simatos et al. (2011).

Já os equipamentos que utilizam sensores de capacitância para determinação da a_w são compostos por um sensor feito de um polímero higroscópico e um circuito associado, que emite um sinal relativo à umidade relativa de equilíbrio (ERH). O sensor imediatamente mede a ERH ao redor dele. Esta ERH é igual à a_w da amostra apenas enquanto as temperaturas da amostra e do sensor forem as mesmas. Como estes equipamentos relacionam um sinal elétrico à umidade relativa, o sensor deve ser frequentemente calibrado com padrões conhecidos de sais. Alguns sensores

capacitivos precisam de 30 a 90 minutos para atingir a temperatura e o equilíbrio de vapor. Medições precisas com este tipo de sistema requerem um controle de temperatura eficiente (PRABHAKAR; MALLIKA, 2014).

5. MATERIAL E MÉTODOS

Para melhor entender a dinâmica de temperatura no processo de compostagem, bem como o comportamento de microrganismos patogênicos como *Salmonella* spp., coliformes termotolerantes e ovos viáveis de *Ascaris* spp. durante a compostagem de lodo de esgoto com diversos materiais estruturantes, quando submetidos a diferentes níveis de temperatura e umidade, optou-se por realizar quatro experimentos distintos, que estão detalhados a seguir.

4.1 EXPERIMENTO 1: Estudo da temperatura na pilha de compostagem

O objetivo principal do Experimento 1 foi estudar a dinâmica de temperatura ao longo do processo de compostagem de lodo de esgoto com três diferentes materiais estruturantes, em diferentes perfis na pilha.

O experimento foi instalado e conduzido na Estação de Tratamento de Esgotos da Sabesp localizada no município de Botucatu/SP, em área adjacente à Fazenda Lageado, pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas – FCA/Unesp. A ETE Sabesp/Botucatu atualmente gera, através de Sistema de Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente (UASB) seguido por lodo ativado convencional, cerca de 15 t dia⁻¹ de lodo de esgoto com 85% de umidade.

Esta ETE possui área anexa onde o processo de compostagem foi estudado, envolvendo manejo em pátio de compostagem, com equipamentos e máquinas apropriados ao manejo em grande volume.

4.1.1 Infraestrutura e equipamentos

O pátio de compostagem onde as pilhas foram instaladas conta com uma estrutura metálica (do tipo usada em cultivo protegido de hortaliças) recoberta com plástico de 150 micra (Figura 3). A estrutura tem dimensões de 12,8 m de largura e 80 m de comprimento.

A estrutura tem pé direito de 5,0 m para permitir que os caminhões basculantes contendo os resíduos possam depositar os mesmos dentro do pátio, em linha, facilitando o manejo.

Considerando-se as dimensões do equipamento utilizado para realizar o revolvimento da pilha de compostagem, um trator acoplado a uma máquina compostadora com 3m de largura x 1,5 m de altura, e as seis pilhas de 16 m de comprimento, o volume total de material utilizado foi de 216 m³. Considerando-se ainda a proporção de fonte de carbono / lodo de esgoto utilizada no experimento, 3:1, pode-se dizer que 1/3 do volume total (72 m³) foi de lodo de esgoto.

Figura 3 – Interior da estrutura (pátio) construída para montagem das pilhas de compostagem na ETE da Sabesp/Botucatu

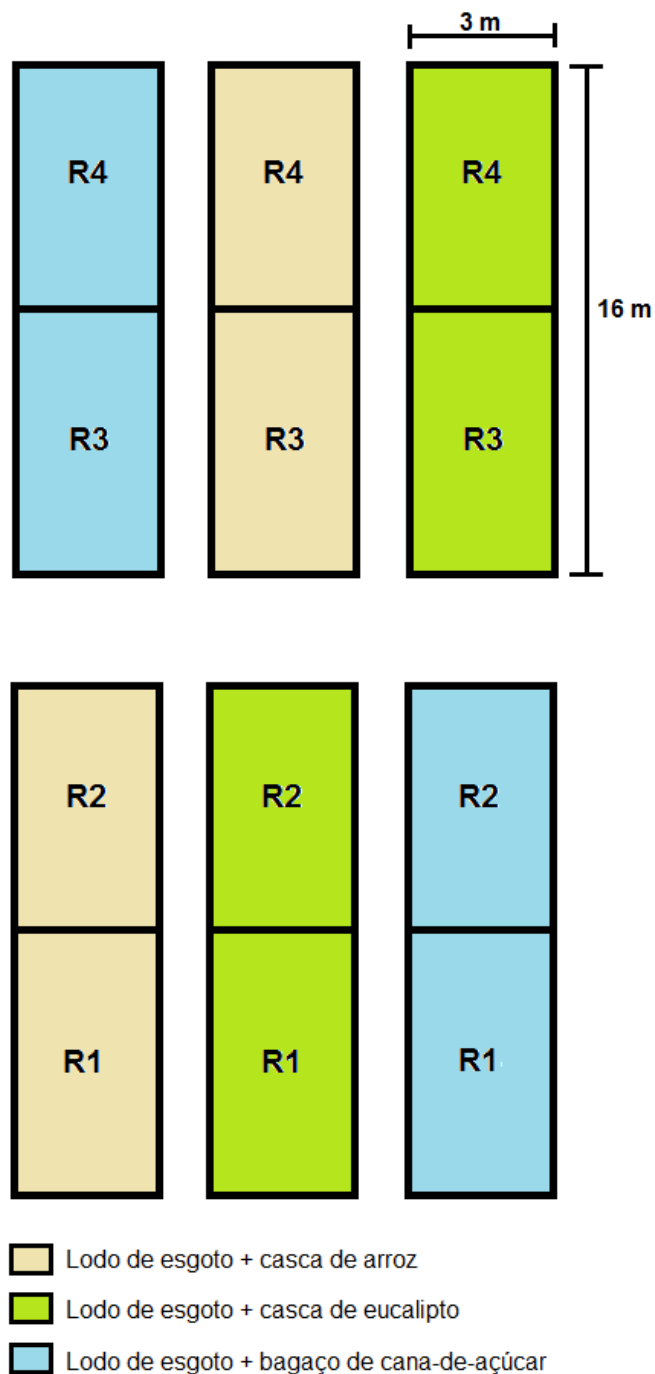


4.1.2 Instalação do experimento

Visando avaliar a dinâmica térmica de cada pilha de composto, optou-se por montar seis pilhas de compostagem com diferentes materiais estruturantes e lodo de esgoto e avaliá-las por 90 dias.

Sendo assim, foram montadas de forma intercalada duas pilhas de cada composto (lodo + casca de arroz; lodo + casca de eucalipto; lodo + bagaço de cana-de-açúcar) com dimensões 1,5 x 3,0 x 16,0 m, no esquema ilustrado pela Figura 4. O experimento contou com quatro repetições, que, conforme observado na Figura 4, foram delimitadas pela metade do comprimento de cada pilha de compostagem.

Figura 4 – Esquema de localização das pilhas de compostagem montadas no interior do pátio



Para montagem das pilhas e mistura do material, utilizou-se a pá de uma retroescavadeira para estimar a proporção material estruturante/lodo 3:1, que era despejado em caçamba de caminhão basculante. Quando a caçamba estava cheia, o caminhão despejava o conteúdo na área previamente delimitada onde a pilha deveria ficar localizada.

Nesta etapa foram encontradas algumas dificuldades pois as pilhas deveriam ter no máximo três metros de largura, pois esta é a medida da máquina compostadora (Figura 5) que realiza a mistura do material. Porém, quando o caminhão despejava o material, o mesmo se espalhava, ficando além do limite dos 3m. Como de imediato não havia outra forma de otimizar o processo, a largura das pilhas foi ajustada manualmente com a ajuda de tábuas e pás (Figura 6).

Figura 5 – Máquina compostadora realizando a mistura do material em uma das pilhas de compostagem



Figura 6 – Ajuste manual da largura (3m) de uma pilha de compostagem, com o auxílio de tábuas



Após a montagem das pilhas, as mesmas foram revolvidas por máquina compostadora três vezes por semana nos quinze primeiros dias, e duas vezes por semana no restante do experimento, havendo uma pausa entre o 28º e o 47º dias devido à instalação de mangueiras de gotejamento para irrigação das pilhas, que se encontravam com baixos índices de umidade no período.

4.1.3 Monitoramento da temperatura

A temperatura ambiente foi monitorada diariamente com termômetros instalados no início e no meio do pátio de compostagem, que forneciam as temperaturas máxima, mínima e média a cada período de 24 horas.

As temperaturas no interior das pilhas de compostagem foram aferidas de duas maneiras. Nos primeiros 20 dias de experimento utilizou-se um termômetro com haste metálica de 1m de comprimento para conferir diariamente, sempre no mesmo horário (10h da manhã), a temperatura em seção transversal das pilhas em dois pontos por repetição.

Na quarta semana de estudo, foram instalados data loggers Decagon Em 50, sensores de temperatura Decagon RT1 e Decagon 5 TM – Moisture Temperature em cada pilha de compostagem. Os sensores foram fixados em três profundidades de cada pilha (topo, meio e base) e as temperaturas foram verificadas de hora em hora até o final do experimento.

Inicialmente, considerou-se como topo a superfície mais alta de cada pilha, com 150 cm de altura, o meio como sendo a altura de 90 cm e a base a altura de 30 cm, uma vez que os primeiros 20 cm acima do solo (“pé de leira”) foram descartados pois o material ali contido não é revirado pela máquina compostadora e, portanto, não participa do processo de compostagem.

De acordo com o avanço do processo de compostagem e a consequente perda de carbono para a atmosfera na forma de CO₂, o volume de cada pilha foi diminuindo e, sendo assim, os sensores foram sendo reajustados de acordo com a altura final de cada pilha, considerando sempre o topo como sendo a parte mais alta da pilha, o meio sendo a altura média da pilha desconsiderando os 20 cm de descarte (“pé de leira”) e a base sendo os 30 cm acima do solo.

4.1.4 Monitoramento da umidade

Com o auxílio de um trado, foram retiradas amostras de aproximadamente 300g dos materiais das pilhas de compostagem, em cinco pontos aleatórios, em cada repetição, duas vezes por semana, para verificação da umidade por método de secagem em estufa a 65°C por 48h.

A partir da 4ª semana, notou-se que a umidade estava muito baixa (<40%) e neste mesmo período houve diminuição da temperatura no interior das pilhas. Sendo assim, optou-se por irrigar as pilhas para aumentar a umidade e observar se a temperatura voltaria a aumentar. Foi então instalado sobre as pilhas um sistema de irrigação por gotejamento, sendo aplicado $1\text{m}^3\text{dia}^{-1}$ de água em cada pilha durante 3 dias, totalizando 3m^3 por pilha.

4.1.5 Caracterização dos materiais submetidos a compostagem

Amostras de lodo de esgoto e dos materiais estruturantes (casca de eucalipto, bagaço de cana-de-açúcar e casca de arroz) foram encaminhadas para o Departamento de Solos e Recursos Ambientais da FCA/Unesp para caracterização físico-química de acordo com os métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos (BRASIL, 2014).

4.1.6 Análise de Dados

Após a coleta dos dados de temperatura a cada hora, em diferentes profundidades na pilha (topo, meio e base), por 90 dias, foram construídos gráficos de superfície da temperatura (curvas de nível de iso-temperaturas) em função do tempo (dias) e da profundidade (cm). Foi utilizado o método de suavização B-splines (DE BOOR, 1978), sistema formado por polinômios ortogonais, através do programa estatístico SAS – Free Statistical Software, SAS University Edition.

4.2 EXPERIMENTO 2: Comparação de métodos para determinação de ovos viáveis de *Ascaris* spp. em amostras de lodo de esgoto

A determinação do número de ovos viáveis de *Ascaris* spp. foi a principal preocupação da equipe dentre os métodos para determinação de indicadores patogênicos. A princípio seria utilizado o Método da Agência Ambiental Americana (USEPA, 2003), modificado, que demanda cerca de 30 dias para obtenção dos resultados analíticos. Porém, ao tomar conhecimento do método da Norma Oficial Mexicana adaptado (MEXICO, 1997), utilizado por alguns laboratórios no país e que demanda um tempo de apenas sete dias para análise, a equipe de pesquisa optou por testar os dois métodos e compará-los para, então, decidir qual seria o mais adequado para amostras contendo lodo de esgoto.

Foi então coletada uma amostra de 1kg de lodo de esgoto na saída da centrífuga do final do sistema de tratamento de esgoto da Estação de Tratamento de Esgotos da Sabesp, localizada no município de Botucatu/SP. A amostra foi acondicionada em saco plástico esterilizado, armazenada em caixa térmica contendo gelo e encaminhada imediatamente ao laboratório do Departamento de Solos e Recursos Ambientais da Faculdade de Ciências Agrônômicas – FCA/Unesp para preparo inicial e início das análises.

Os testes realizados estão descritos a seguir.

5.2.1 Método da Agência Ambiental Americana – USEPA

O Método desenvolvido pela USEPA (2003) está ilustrado na Figura 7. Inicialmente estimou-se o teor de sólidos totais da amostra de lodo de esgoto utilizando uma balança determinadora de umidade da marca Marte Científica, modelo ID 200. Com base no resultado obtido, foi pesada uma massa de amostra equivalente a 10 g de sólidos totais.

Em seguida, a amostra foi suspensa em água destilada até completado o volume de 400 mL e incubada a temperatura entre 4°C e 10°C em período *over night*. Após a hidratação, a amostra foi homogeneizada em liquidificador inox com lâmina especial e dividida em quatro béqueres, onde foi adicionada solução detergente 7X 1% até completar o volume de 900 mL.

Os béqueres foram novamente levados a incubação a temperatura entre 4°C e 10°C em período *over night* e então o sobrenadante foi aspirado por bomba de vácuo/pressão.

Novamente as amostras foram homogeneizadas e o volume de 900 mL com solução detergente 7X 1% foi completado, para posterior incubação a temperatura entre 4°C e 10°C em período *over night*.

Após a incubação e sedimentação, o sobrenadante foi aspirado por bomba vácuo/pressão e foi adicionado o volume de 300 mL de solução detergente 7X 1%, sendo a amostra então homogeneizada por 5 minutos em agitador magnético.

Feito o processo de hidratação e sedimentação inicial, iniciou-se o processo de peneiramento e separação de partículas sólidas. Inicialmente utilizou-se uma peneira de malha 50 *mesh* para separar as partículas sólidas maiores, unindo as amostras divididas anteriormente em quatro béqueres em apenas um.

Quando necessário, completou-se o volume da amostra para 900 mL adicionando-se solução detergente 7X 1%. A amostra foi então incubada a temperatura entre 4°C e 10°C em período *over night* para sedimentação e em seguida foi realizada a aspiração do sobrenadante.

O material sedimentado foi igualmente distribuído em tubos cônicos graduados para centrífuga com capacidade de 50 mL. As amostras foram então centrifugadas a 1000g por 10 minutos em centrífuga de bancada com rotores *swinging-bucket* e capacidade de acomodação de tubos cônicos de 50 mL. O sobrenadante foi aspirado e descartado.

Em seguida, deu-se início ao processo de flotação, onde foram adicionados de 10 a 15 mL de solução de $MgSO_4$ com gravidade específica 1,20 em cada tubo, homogeneizando-se as amostras por 15 a 20 segundos em vortex.

Após a homogeneização, completou-se o volume de cada tubo para 40 mL adicionando-se solução de $MgSO_4$. Os tubos foram então centrifugados a 1000G por período de cinco a 10 minutos.

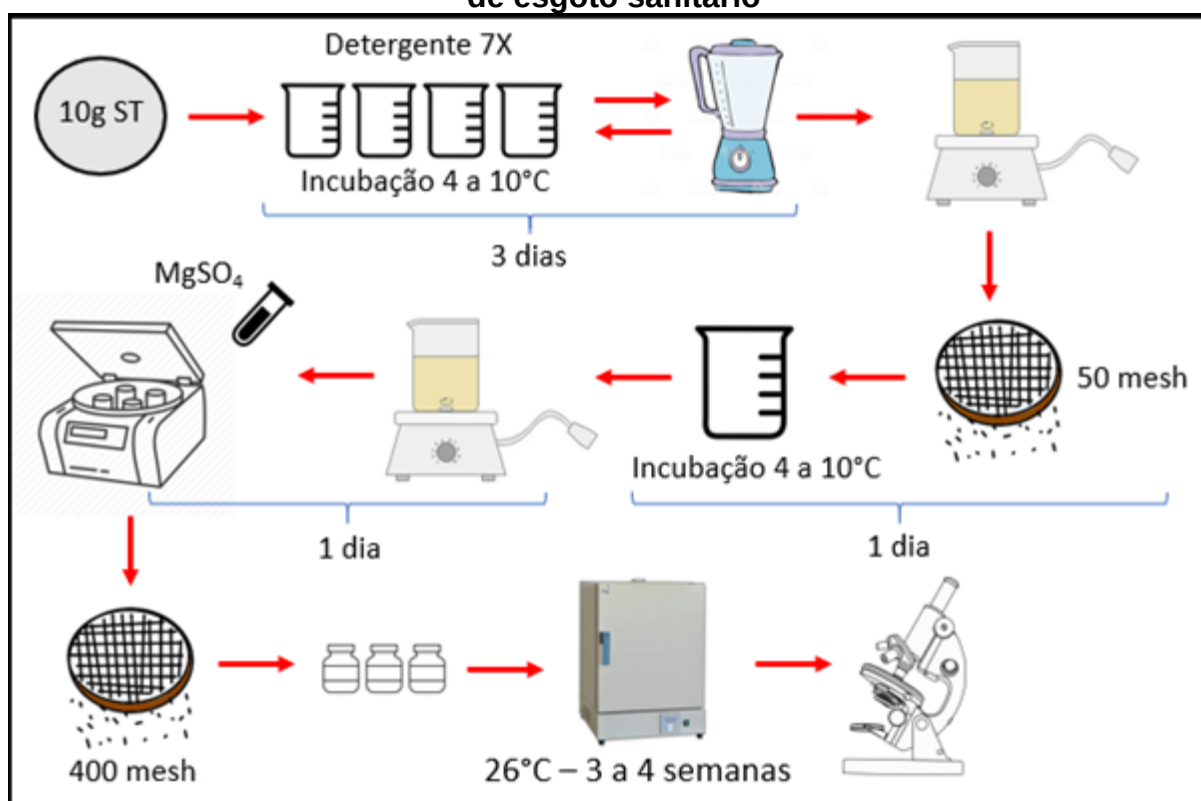
Dando continuidade ao processo de separação de partículas, utilizou-se uma peneira de 400 *mesh* para coletar o sedimento do fluido de flotação, que foi transferido para tubos cônicos graduados com capacidade para 50 mL a serem centrifugados a 1000 g por cinco minutos.

O sobrenadante foi aspirado por bomba vácuo/pressão e o sedimento foi ressuspenso em 4 mL de solução de formalina 0,5% e colocado em frascos de cintilação com capacidade para 25 mL.

Os frascos foram então incubados a $\pm 26^\circ\text{C}$ durante um período de quatro semanas.

Os concentrados foram levados para o Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências da UNESP/Botucatu e examinados em microscópio óptico de campo claro e lentes objetivas de 10x a 45x, utilizando uma câmara de “Sedgwick-Rafter” para contar os ovos detectados, que foram classificados como embrionados (viáveis) ou não.

Figura 7 – Representação esquemática do método da USEPA para determinação do número de ovos viáveis de *Ascaris spp.* em amostras de lodo de esgoto sanitário



5.2.2 Método da Norma Oficial Mexicana

Adotando-se a metodologia proposta pela norma NOM-003-ECOL-1997 modificada (MEXICO, 1997), ilustrada pela Figura 8, inicialmente foi pesada uma massa de amostra equivalente a 30 g de sólidos totais.

Em seguida, a amostra foi suspensa em solução contendo 90 mL de ácido sulfúrico 0,1 N e 10 mL de detergente Tween 80 e exposta a temperatura ambiente em período *over night*. Após a hidratação, a amostra foi peneirada em peneira de malha 50 *mesh* e dividida em quatro recipientes, onde foram adicionados 90 mL da solução de ácido sulfúrico 0,1 N com detergente Tween 80.

O conteúdo dos recipientes foi homogeneizado com agitador magnético por um minuto e então exposto a temperatura ambiente por um período de cinco horas.

Após a sedimentação, o sobrenadante foi peneirado em peneira de malha 400 *mesh* e o material que ficou na peneira, juntamente com o precipitado, foi colocado em tubos cônicos de centrífuga, graduados em 50 mL. Novamente as amostras foram homogeneizadas com agitador tipo vortex por 1 minuto e então centrifugadas a 3500 rpm por três minutos em centrífuga de bancada com rotores *swinging-bucket* e capacidade de acomodação de tubos cônicos de 50 mL.

Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado. Em seguida, deu-se início ao processo de flotação, onde o volume de cada tubo foi completado para 40 mL de solução de ZnSO_4 com gravidade específica 1,20. Os tubos foram então centrifugados a 3500 rpm por período de três minutos.

Dando continuidade ao processo de separação de partículas, o sobrenadante foi adicionado a 60 mL de água destilada e homogeneizado em agitador tipo vortex por um minuto. Feito isso, o material foi incubado em temperatura entre 4 e 10°C por período *over night*.

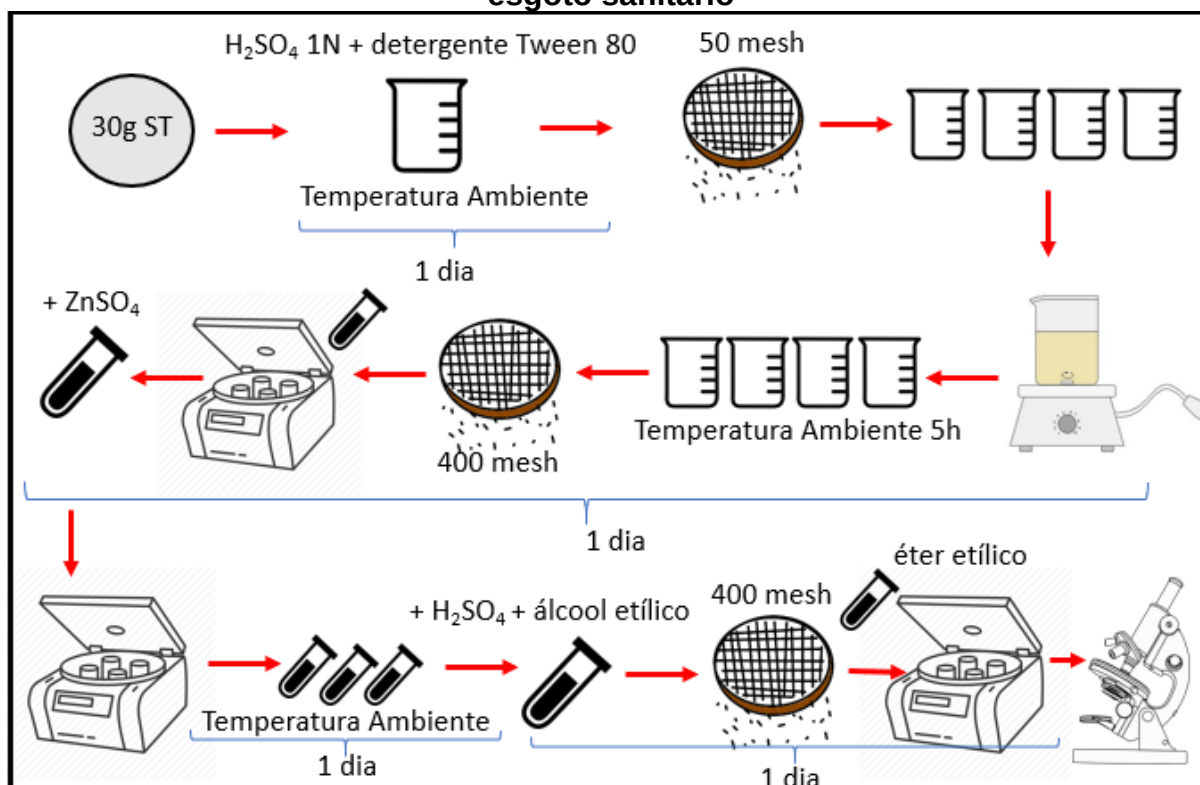
Iniciou-se então o processo de limpeza das amostras adicionando-se 4 mL de solução composta por 2,8 mL de ácido sulfúrico 0,1 N e 1,2 mL de álcool etílico. Em seguida, as amostras foram peneiradas em peneira de malha 400 *mesh* e o material retido na peneira foi lavado para um tubo só, onde foram adicionados 3 mL de éter etílico.

Após agitação em agitador tipo vortex por um minuto, os tubos foram centrifugados por três minutos a 1800G. O sobrenadante foi peneirado novamente em peneira de malha 400 *mesh* e o material retido na peneira foi lavado com ácido sulfúrico 0,1 N para dentro de um tubo cônico, sendo novamente centrifugado por três minutos a 1800 g e peneirado.

Os concentrados foram levados para o Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências da UNESP/Botucatu e examinados em microscópio óptico de campo

claro e lentes objetivas de 10x a 45x, utilizando uma câmara de “Sedgwick-Rafter” para contar os ovos detectados.

Figura 8 – Representação esquemática do método da Norma Mexicana para determinação do número de ovos de *Ascaris spp.* em amostras de lodo de esgoto sanitário



5.2.3 Comparação dos métodos

A comparação de métodos foi qualitativa e realizada através da observação microscópica das lâminas resultantes das análises dos dois métodos desenvolvidos. Definiu-se como melhor método aquele que apresentou lâminas mais limpas, com menor quantidade de partículas sólidas irrelevantes à análise, e, conseqüentemente, maior facilidade de visualização, identificação e contagem dos ovos viáveis de *Ascaris spp.* por lâmina analisada.

4.3 EXPERIMENTO 3: Persistência de microrganismos patogênicos ao longo do processo de compostagem

Os experimentos foram instalados em janeiro e maio de 2017, para avaliação da presença de *Salmonella* spp. e da persistência de coliformes termotolerantes e ovos viáveis de *Ascaris* spp. ao longo do processo de compostagem de lodo de esgoto sanitário com casca de eucalipto e bagaço de cana-de-açúcar, respectivamente. Os processos de compostagem foram conduzidos na Estação de Tratamento de Esgotos da Sabesp, localizada no município de Botucatu/SP, em área adjacente à Fazenda Lageado, pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas – FCA/Unesp.

Esta ETE possui área anexa onde os processos de compostagem foram estudados, envolvendo manejo em pátio coberto, com equipamentos e máquinas que permitem o manejo em grande volume.

O pátio de compostagem onde as pilhas foram instaladas conta com a mesma estrutura descrita no Experimento 1 (item 5.1).

Considerando as dimensões do equipamento que realiza o revolvimento da pilha de composto (3m de largura x 1,5 m de altura) e 2 pilhas de 16 m de comprimento por experimento, o total de volume de material compostado nos dois experimentos foi de 144 m³, 72 m³ em cada. Deste total, 1/2 deste volume (72m³) foi composto por lodo de esgoto.

4.3.1 Montagem das pilhas de compostagem

Conforme relatado no Experimento 1, em julho de 2016 foram montadas duas pilhas de cada composto (lodo + casca de arroz; lodo + casca de eucalipto; lodo + bagaço de cana-de-açúcar) com dimensões 1,5 x 3,0 x 16,0 m, para que se pudesse avaliar e estudar melhor o processo desde a sua instalação, bem como o comportamento dos materiais estruturantes e da temperatura/umidade ao longo do processo e a qualidade do produto final.

Como a mistura lodo + casca de arroz apresentou rápida perda de umidade e temperaturas abaixo do ideal para compostagem, o produto final não foi compostado adequadamente, sendo então descartado e retirado do projeto, uma vez que a compostagem do mesmo não se mostrou viável.

A partir de então, os dois ciclos de compostagem instalados em 2017 incluíram apenas casca de eucalipto e bagaço de cana-de-açúcar.

Outro ajuste realizado após o Experimento 1 foi a proporção lodo/fonte de carbono, que passou de 1:3 para 1:1, uma vez que a mistura 1:1 apresentava a vantagem de se aproveitar melhor o resíduo lodo de esgoto e diminuir a aquisição externa de fontes de carbono, que geraria maiores custos para o processo.

Para montagem das pilhas e mistura do material, primeiramente uma pá carregadeira foi medindo a proporção lodo/fonte de carbono 1:2 e colocando em caçamba de caminhão basculante. Quando a caçamba estava cheia, o caminhão despejava o conteúdo na área previamente delimitada onde a pilha deveria ficar localizada.

Nesta etapa, para solucionar o problema relatado no Experimento 1, em que o material se espalhava para além do limite de 3m de largura da pilha quando o caminhão o despejava, foram fixadas estruturas de metal na saída da caçamba do caminhão basculante (Figura 9), que passaram a direcionar o fluxo do material, fazendo com que o mesmo se mantivesse dentro do limite estabelecido.

Figura 9 – Estruturas de metal instaladas na saída do caminhão basculante, direcionando o fluxo de material a ser depositado na pilha de compostagem



Depois de montadas as pilhas em suas devidas dimensões, a máquina compostadora realizou o revolvimento das pilhas de compostagem de acordo com a temperatura observada.

4.3.2 Monitoramento da umidade e temperatura

Com o auxílio de um trado, foram retiradas amostras dos materiais das pilhas de compostagem uma vez por semana para verificação da umidade por meio de secagem em estufa a 65°C por um período de 48h.

A temperatura foi aferida por meio de sensores Decagon RT1 e Decagon 5 TM – Moisture Temperature instalados aleatoriamente em cinco diferentes pontos e profundidades de cada pilha. A temperatura foi aferida diariamente de hora em hora e os dados foram registrados e armazenados por data logger Decagon Em 50.

A umidade e a temperatura foram os fatores determinantes no tempo de estudo de cada mistura. Quando a umidade atingiu valores abaixo de 30% e a temperatura começou a cair, com valores mais próximos à temperatura ambiente, o experimento foi finalizado. Isto aconteceu aos 45 dias na mistura lodo de esgoto + casca de eucalipto e aos 60 dias na mistura lodo de esgoto + bagaço de cana-de-açúcar.

4.3.3 Avaliação de microrganismos patogênicos durante o processo de compostagem

Os grupos de coliformes termotolerantes, *Salmonella* ssp. e ovos viáveis de *Ascaris* spp. foram monitorados e avaliados durante o processo de compostagem em cada pilha dividida em três partes, sendo cada parte considerada uma repetição.

No primeiro ciclo de compostagem, que ocorreu entre 27 de janeiro de 2017 e 13 de março de 2017, foram avaliados os microrganismos patogênicos presentes na pilha de casca de eucalipto + lodo de esgoto. Já no segundo ciclo de compostagem, que abrangeu o período de 05 de maio de 2017 a 19 de junho de 2017, foram avaliados os microrganismos presentes na pilha de bagaço de cana-de-açúcar + lodo de esgoto.

Para ambos os ciclos de compostagem as amostras foram coletadas de acordo com a frequência apresentada pela Tabela 10, onde utilizou-se como critério o aumento da temperatura ao longo do processo.

Para a coleta das amostras utilizou-se um trado tipo “caneca”, com cabo de um metro de comprimento, para acessar o material localizado no meio das pilhas, e uma pá, para coletar o material localizado na superfície das pilhas. As amostras foram coletadas em cada uma das três repetições, em cinco pontos aleatórios e em

diferentes profundidades, formando uma amostra composta com um peso total de aproximadamente 300 a 500 g para cada uma das três repetições.

Tabela 10 – Frequência de coleta de amostras para análise da concentração de *Salmonella* spp., coliformes termotolerantes e ovos viáveis de *Ascaris* spp. durante o processo de compostagem

Coleta	Tempo
1 ^a	Instalação das pilhas de compostagem (Tempo 0)
2 ^a	Temperatura na faixa 35 – 45°C
3 ^a	Temperatura na faixa 46 – 55°C
4 ^a	Temperatura na faixa 56 – 65°C
5 ^a	Temperatura > 65°C
Demais coletas	A cada 20 dias até o final do experimento.

Após coletadas, as amostras foram acondicionadas imediatamente em sacos plásticos esterilizados dentro de caixa térmica com gelo e encaminhadas para o Laboratório do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências – IBB, Unesp/Botucatu para determinação da presença ou ausência de *Salmonella* spp. e da densidade de coliformes termotolerantes. Para determinação da densidade de ovos viáveis de *Ascaris* spp., as amostras foram encaminhadas primeiramente para o Laboratório do Departamento de Solos e Recursos Ambientais da Faculdade de Ciências Agrônômicas – FCA, onde foram preparadas e processadas, sendo posteriormente encaminhadas para o Laboratório do Departamento de Parasitologia do IBB, onde foram incubadas e analisadas microscopicamente.

Os métodos utilizados para análise de *Salmonella* spp., coliformes termotolerantes e ovos viáveis de *Ascaris* spp. foram os descritos por Kornacki et al. (2015), Cox et al. (2015) e pela USEPA (2003), respectivamente.

Para todas as amostras foi determinada a umidade do material no momento da coleta, utilizando-se uma balança determinadora de umidade da marca Marte Científica, modelo ID 200.

4.3.4 Caracterização microbiológica do lodo de esgoto utilizado na compostagem

Uma amostra de 1 kg de lodo de esgoto, composta por 10 amostras de 100 g, foi coletada a partir da saída da centrífuga da ETE da Sabesp/Botucatu e

encaminhada para o Departamento de Solos e Recursos Florestais da Faculdade de Ciências Agrônômicas, para o Departamento de Microbiologia e Imunologia e para o Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências da Unesp/Botucatu, para caracterização segundo a determinação da concentração de coliformes termotolerantes, da presença de *Salmonella* spp. e da contagem de ovos viáveis de *Ascaris* spp., de acordo com os métodos citados no item anterior.

4.3.5 Caracterização do produto final de compostagem

Após o encerramento de cada um dos processos de compostagem, amostras compostas, coletadas de cinco diferentes pontos de cada uma das três repetições, foram retiradas e encaminhadas para o Departamento de Solos e Recursos Ambientais da Faculdade de Ciências Agrônômicas para determinação da umidade final (%), relação C/N e pH do produto final de compostagem.

4.3.6 Análise de dados

Após obtidos os resultados analíticos, foi ajustado um modelo de regressão não-linear (SEBER; WILD, 2003), para os valores de densidade de *Ascaris* spp. nas misturas de lodo de esgoto com casca de eucalipto e bagaço de cana-de-açúcar ao longo do processo de compostagem, através de um modelo de regressão não linear para curvas de decaimento exponencial.

$$y = \text{densidade} = \alpha e^{-\beta \text{tempo}} + u_i$$

em que,

u_i é o componente aleatório; α e β são os parâmetros do modelo e responsáveis pelo decaimento da curva, sendo α a densidade inicial no tempo zero e β a constante de decaimento; e o tempo sendo o período decorrido (dias) desde o início do experimento. A modelagem foi realizada através do procedimento nlin do programa estatístico SAS – Free Statistical Software, SAS University Edition.

Após o ajuste obteve-se o modelo ajustado:

$$\hat{y} = \text{densidade estimada} = \hat{\alpha} e^{-\hat{\beta} \text{tempo}}$$

Após o ajuste do modelo, foi obtida a expressão para determinação do tempo médio para o qual o valor de y fosse igual ao valor da densidade de *Ascaris* spp. utilizado como parâmetro pela legislação brasileira para ovos de helmintos (BRASIL, 2006a), 0,25 ovos viáveis g ST⁻¹, ou seja, para $\hat{y} = y_{\text{parâmetro}}$.

$$tempo_{\text{mínimo}} = \left(\frac{1}{\hat{\beta}}\right) \ln\left(\frac{\hat{\alpha}}{0,25}\right)$$

Foi utilizado o modelo de Bootstrap para determinação de intervalos de confiança a 95% (EFRON; TIBSHARANI, 1993).

4.4 EXPERIMENTO 4: Decaimento de coliformes termotolerantes em lodo de esgoto

Após a finalização do Experimento 3, a equipe de pesquisa optou por estudar mais detalhadamente o decaimento do grupo de coliformes termotolerantes em amostras de lodo de esgoto sanitário submetidas a temperatura constante.

4.4.1 Instalação do experimento

Foram coletados 10kg de lodo de esgoto sanitário na saída da centrífuga da Estação de Tratamento de Esgotos da Sabesp, localizada no município de Botucatu/SP, em área adjacente à Fazenda Lageado, pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas – FCA/Unesp.

Após a coleta, a amostra foi imediatamente encaminhada para o Departamento de Solos e Recursos Ambientais da Faculdade de Ciências Agrônômicas – FCA, da Unesp/Botucatu, onde foi processada.

Os 10kg coletados foram divididos em quatro repetições de 2,5kg, que foram dispostas em bandejas descartáveis de alumínio e incubadas em estufa de secagem a 42°C ± 2°C (Figura 10). As amostras foram reviradas diariamente, com o auxílio de uma pá, para homogeneização do material e inserção de oxigênio. O período de incubação foi determinado pelos valores de umidade, sendo o experimento encerrado quando a umidade das quatro repetições atingiu valores inferiores a 5%.

Figura 10 – Bandejas descartáveis de alumínio contendo amostras de lodo de esgoto sanitário, incubadas em estufa de secagem a $42^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$



4.4.2 Monitoramento da umidade e temperatura

A umidade das amostras de lodo de esgoto foi aferida três vezes por semana utilizando-se balança determinadora de umidade da marca Marte Científica, modelo ID 200, onde eram pesados 10g do material, que era então submetido a secagem a 150°C até não haver variação na massa. Após estabilização da massa, o equipamento calculava a diferença entre a massa inicial (10g) e a massa final, sendo possível, assim, determinar a massa de água evaporada na secagem e, consequentemente, o percentual de umidade do material.

A temperatura no interior da estufa foi monitorada diariamente por sensor tipo sonda, que aferia a temperatura em tempo real e informava a média diária de temperaturas máxima e mínima. Já a temperatura do lodo de esgoto foi aferida três vezes por semana utilizando-se termômetro digital com haste de 15cm, que era inserida diagonalmente na massa de lodo de esgoto.

4.4.3 Determinação da atividade de água

Paralelamente à determinação da umidade do lodo de esgoto ao longo do tempo, realizou-se a mensuração do índice de atividade de água do material, uma vez que, do ponto de vista microbiológico, a atividade de água é o fator que indica de fato o índice de água disponível para consumo dos microrganismos.

Três vezes por semana, no mesmo momento de amostragem para determinação da umidade do material, foram separados aproximadamente 2g de cada uma das repetições e encaminhados para o laboratório de Tecnologia dos Produtos de Origem Animal, do Departamento de Economia, Sociologia e Tecnologia da FCA - Unesp/Botucatu, onde foram realizadas as determinações de atividade de água a 25°C, utilizando-se um aparelho medidor de atividade de água por ponto de orvalho da marca AquaLab - Decagon, modelo Series 3TE.

4.4.4 Análise da densidade de coliformes termotolerantes no lodo de esgoto

Desde a instalação do experimento (dia 0), até o momento em que foram verificados valores de umidade abaixo de 5% em todas as repetições (dia 28), foram realizadas coletas de amostras do lodo de esgoto duas vezes por semana, totalizando oito amostragens durante o período de incubação em estufa.

Para amostragem, foram pesados aproximadamente 30g de cada repetição, que foram acondicionados em sacos plásticos esterilizados, devidamente identificados, dentro de caixa térmica com gelo e então encaminhados imediatamente para o laboratório do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências – IBB, da Unesp/Botucatu, onde foram realizadas as análises para determinação da densidade de coliformes termotolerantes de acordo com o método proposto por Cox et al. (2015).

4.4.4.1 Verificação de recrescimento de coliformes termotolerantes após secagem

Após o período de 28 dias de incubação em estufa de secagem a 42°C ± 2°C, o material seco, com menos de 5% de umidade, foi armazenado em placas de Petri em

temperatura ambiente para posterior reidratação e realização de análises para verificação de possível recrescimento dos mesmos após hidratação.

O motivo desta verificação foi devido à possibilidade de formação de flocos durante o processo de secagem do lodo, que ocasionaria o isolamento de alguns microrganismos no interior dos flocos, voltando estes à atividade quando submetidos a temperatura e umidade ideais.

No 7º e no 30º dia após o encerramento etapa de secagem em estufa, que durou 28 dias, uma amostra de 10g por repetição foi novamente pesada e então colocada em placa de Petri, reidratada a 70% de umidade com água destilada (Figura 11) e incubada novamente a $42^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por sete dias. Após o período de incubação, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis, colocadas em caixa térmica com gelo e encaminhadas novamente para análises no laboratório do Departamento de Microbiologia e Imunologia do IBB da Unesp/Botucatu, para determinação da densidade de coliformes termotolerantes de acordo com o método proposto por Cox et al. (2015).

Figura 11 - Placas de Petri contendo amostras de lodo de esgoto sanitário reidratado a 70% de umidade



4.4.5 Análise de dados

Para os resultados de atividade de água, umidade e densidade de coliformes termotolerantes, foram obtidas correlações de Spearman, seguidos os valores-p

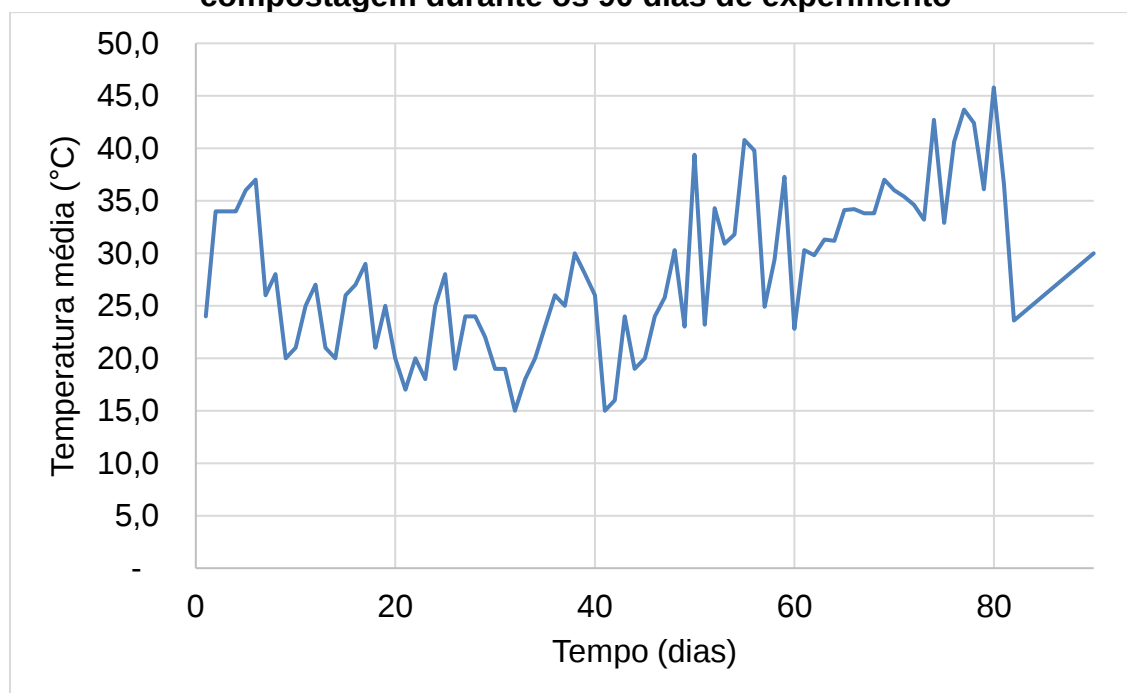
referentes aos testes de hipóteses para verificar se a correlação é nula. Para tal, foi utilizado o programa estatístico SAS – Free Statistical Software, SAS University Edition.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 EXPERIMENTO 1: Estudo da temperatura na pilha de compostagem

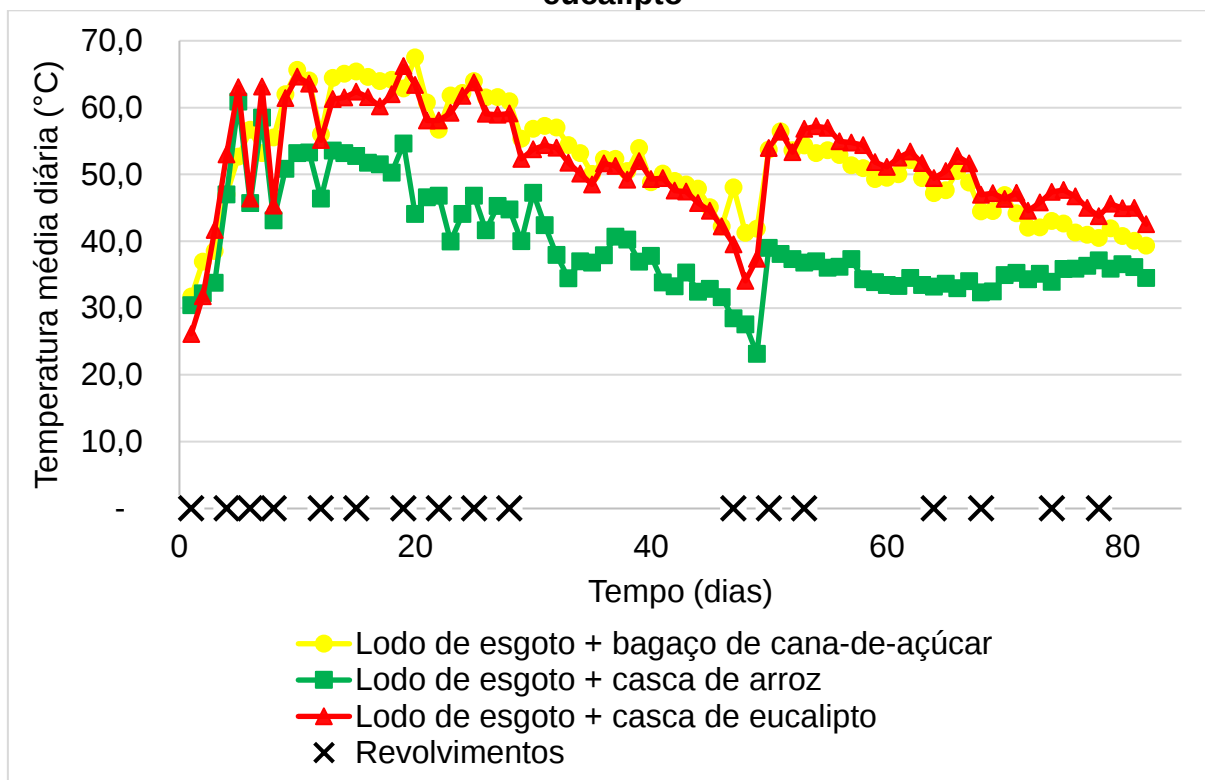
A temperatura média ambiente no interior do pátio de compostagem variou entre 15°C e 46°C ao longo do período observado (Figura 12). O calor emanado das pilhas de compostagem pode ter interferido na temperatura ambiente do pátio, que também pode ter interferido na perda de umidade na superfície das pilhas de compostagem. Porém, esta é uma interação inevitável e que não gera transtornos relevantes para o processo de compostagem em si, considerando-se o grande volume das pilhas.

Figura 12 – Temperatura média ambiente observada no interior do pátio de compostagem durante os 90 dias de experimento



Os valores médios diários de temperatura observados para cada mistura de lodo de esgoto e material estruturante estão dispostos na Figura 13.

Figura 13 – Temperatura média diária no interior das pilhas de compostagem de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar, casca de arroz e casca de eucalipto



Dentre os materiais estruturantes estudados, a casca de arroz foi a que, desde o princípio, mostrou-se ser a mais inadequada para compostagem, uma vez que é característica da casca de arroz ser um material hidrófobo, que não retém a umidade e dificulta a homogeneização da mistura. Conforme observado na Figura 13, no quinto dia de compostagem a temperatura atingiu 60°C, mas logo em seguida caiu, não voltando a atingir esta faixa de temperatura novamente.

Em relação à mistura de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar, a temperatura subiu de forma progressiva desde o início do experimento, atingindo 60°C a partir do 9º dia, mantendo-se na faixa entre 60°C e 70°C até o 20º dia de observação, e apresentando uma média em torno de 50°C nos dias restantes. Dentre os materiais estruturantes estudados, o bagaço de cana-de-açúcar foi o que apresentou maior uniformidade na temperatura ao longo do tempo.

A mistura de lodo de esgoto com casca de eucalipto atingiu 60°C logo no quarto dia após o início do experimento, porém manteve-se instável nos dias seguintes, apesar de apresentar valores acima de 50°C na maior parte do período observado. A queda de temperatura nas pilhas de casca de eucalipto está relacionada ao tamanho

dos poros, que proporcionam uma maior capacidade de armazenamento do ar, e consequentemente a diminuição da temperatura todas as vezes que o ar era inserido na pilha com os revolvimentos.

Na Tabela 11 estão apresentados os resultados das análises químicas do lodo de esgoto e dos materiais estruturantes utilizados no processo de compostagem e na Tabela 12 estão os resultados analíticos de caracterização física dos materiais estruturantes.

Tabela 11 – Caracterização química do lodo de esgoto e dos materiais estruturantes utilizados no processo de compostagem

Material	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	Mg	S	MO Total	C Total
	----- porcentagem ao natural -----							
Lodo de esgoto	0,8	0,7	ND	0,2	ND	0,5	11,0	6,0
Casca de arroz	0,5	ND	0,2	0,2	ND	0,3	71,0	39,0
Casca de eucalipto	0,3	ND	0,1	0,4	0,1	0,1	39,0	22,0
Bagaço de cana-de-açúcar	0,2	0,1	0,1	ND	0,1	0,1	54,0	30,0
	Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn	C/N Total	pH
	----- mg kg ⁻¹ ao natural -----							
Lodo de esgoto	82,0	36,0	27,0	60,0	58,0	108,0	8/1	6,8
Casca de arroz	239,0	17,0	35,0	155,0	383,0	4	78/1	5,5
Casca de eucalipto	116,0	73,0	4,0	824,0	107,0	17,0	73/1	4,7
Bagaço de cana-de-açúcar	183,0	44,0	12,0	567,0	17,0	2,0	150/1	4,4

Tabela 12 – Caracterização física dos materiais estruturantes utilizados no processo de compostagem

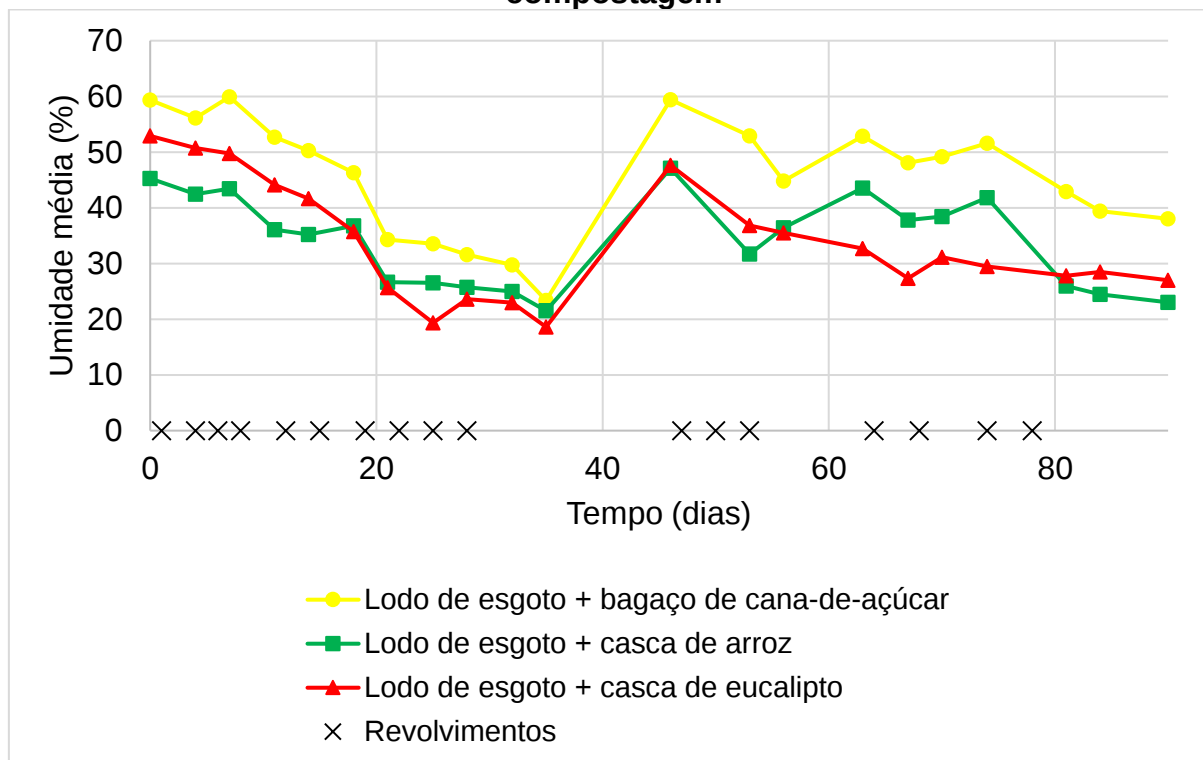
Granulometria de Material Estruturante					
Casca de Arroz		Casca de Eucalipto		Bagaço de cana-de-açúcar	
Peneira (mm)	% retido	Peneira (mm)	% retido	Peneira (mm)	% retido
4,76	0,06	38,10	78,00	4,76	12,70
4,00	0,14	25,40	2,00	4,00	2,90
3,35	0,30	9,52	2,10	3,35	2,10
2,00	13,50	4,00	5,00	2,00	14,20
1,00	56,00	2,00	3,40	1,00	17,00
<1,00	30,00	<2,00	9,50	<1,00	51,10

Comparativamente, as misturas de lodo com casca de arroz e com casca de eucalipto apresentaram o mesmo padrão em suas curvas de temperatura ao longo do processo de compostagem, com mesmas respostas aos revolvimentos. Porém, a

mistura com casca de eucalipto manteve-se com temperaturas mais elevadas durante todo o período observado.

Os valores de umidade observados ao longo do experimento estão dispostos na Figura 14. Dentre os materiais avaliados, a pilha com bagaço de cana-de-açúcar foi a que reteve melhor a umidade ao longo do processo, que foi finalizado com umidade na faixa entre 30 e 40%. Já nas pilhas com casca de arroz e casca de eucalipto, a umidade diminuiu mais rapidamente no mesmo período, estando o produto final com umidade abaixo de 30%.

Figura 14 – Umidade média dos compostos analisados durante 90 dias de compostagem



O fato de a pilha com bagaço de cana-de-açúcar ter retido a umidade de maneira mais eficiente pode ter influenciado diretamente o fato deste material ter sido o que apresentou temperaturas uniformemente altas por um maior período ao longo do processo de compostagem.

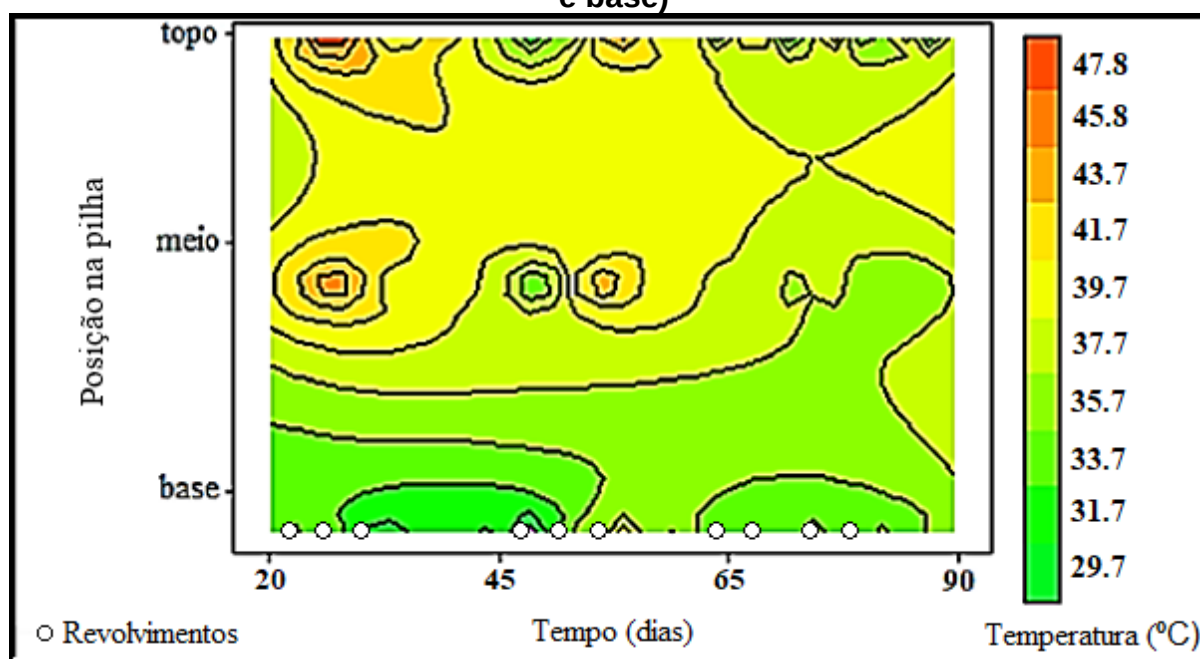
A partir da 4ª semana (20º dia), notou-se que a umidade estava muito baixa para o período (<40%) e, concomitantemente a isto, a temperatura no interior das pilhas começou a cair também, conforme pode ser observado nas Figuras 15, 16 e 17.

Sendo assim, optou-se por aplicar água nas pilhas para aumentar a umidade e observar se a temperatura voltaria a aumentar. Após o 35º dia de compostagem, foi

instalado sobre as pilhas um sistema de irrigação por gotejamento, sendo então aplicado $1\text{m}^3\text{dia}^{-1}$ de água em cada pilha durante três dias, totalizando 3m^3 por pilha.

Após a aplicação de água no sistema, os valores de umidade aumentaram significativamente, chegando a 60% na mistura com bagaço de cana-de-açúcar e acima de 45% nas misturas com casca de arroz e casca de eucalipto. A umidade ideal apontada por Kiehl (2004) para o melhor desenvolvimento dos microrganismos responsáveis pela degradação da matéria orgânica é 55%. Na Figura 14 nota-se que apenas a mistura com bagaço de cana-de-açúcar atingiu este valor após irrigação.

Figura 15 - Escala de temperatura na pilha de compostagem com mistura de lodo de esgoto e casca de arroz de acordo com a posição na pilha (topo, meio e base)

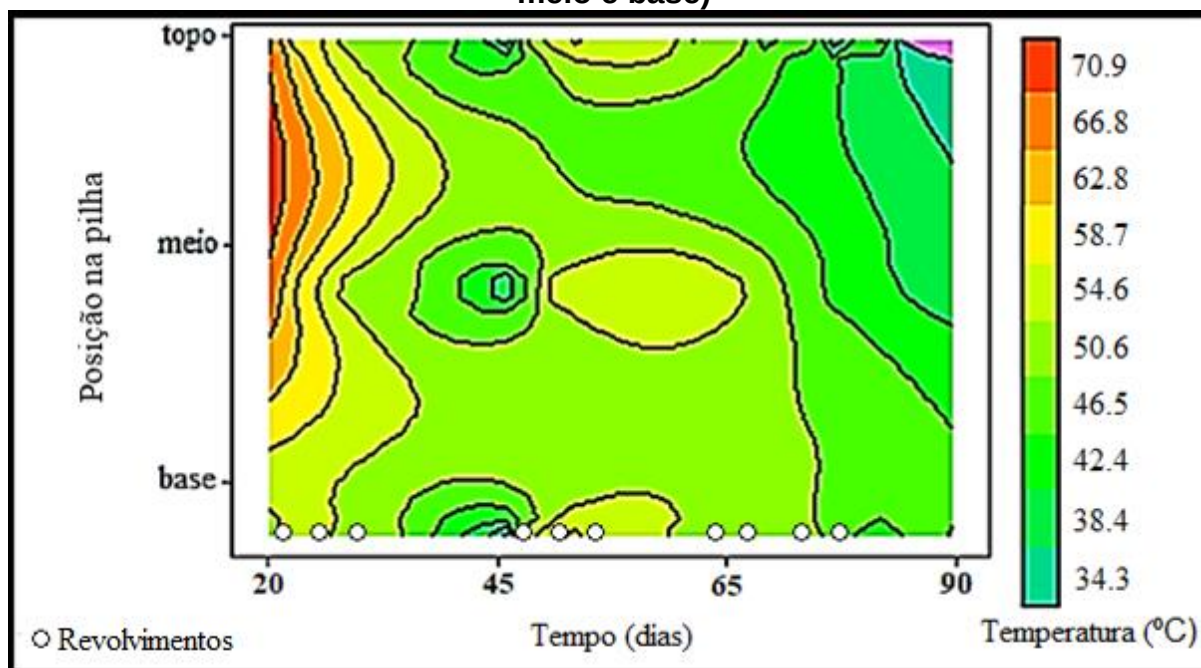


Na mistura de lodo de esgoto com casca de arroz, após o 20º dia de estudo a temperatura máxima observada foi de 47°C , o que não é considerada adequada para o processo de compostagem (LUDUVICE, 2014; PINTO, 2014). De fato, a casca de arroz crua não se apresentou como um material estruturante indicado para compostagem com lodo de esgoto, uma vez que não se misturava com o lodo e não retinha a umidade, impedindo a atividade microbiana de agir adequadamente e, consequentemente, prejudicando o processo de compostagem.

De maneira geral, no perfil da pilha com casca de arroz, a base foi a região mais fria, com temperaturas variando entre 29°C e 37°C , bem próximas à temperatura

ambiente. O meio e o topo da pilha apresentaram temperaturas mais altas, entre 37°C e 47°C, mas ainda assim próximas às temperaturas ambientes observadas no período, o que indica a baixa atividade microbiana no material e consequente baixa liberação de energia na forma de calor.

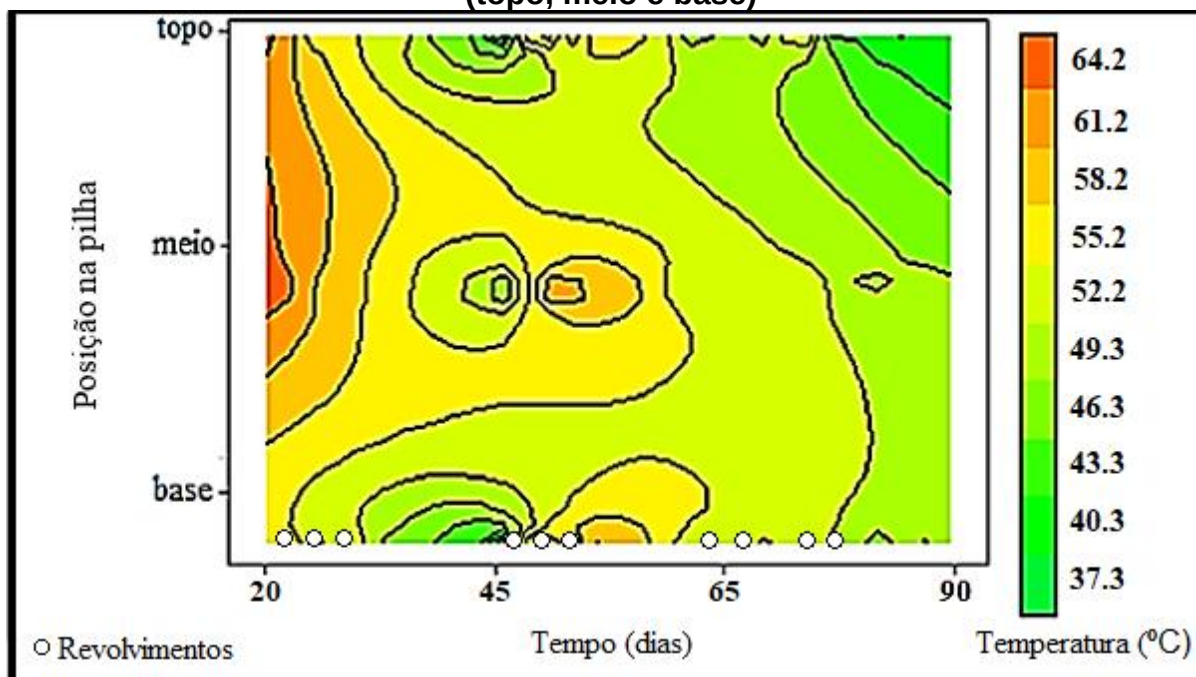
Figura 16 – Escala de temperatura na pilha de compostagem com mistura de lodo de esgoto e casca de eucalipto de acordo com a posição na pilha (topo, meio e base)



A pilha com casca de eucalipto foi a que apresentou maiores temperaturas, atingindo até 70°C entre o meio e o topo da pilha. De maneira geral o perfil da pilha não apresentou diferenças de temperatura entre o topo, o meio e a base no mesmo período observado, mas as faixas de temperatura foram se modificando com o passar do tempo.

É possível observar um aumento na temperatura após a irrigação nos três perfis analisados e a proximidade com a temperatura ambiente (34°C a 38°C), principalmente entre o meio e o topo, na fase final de compostagem.

Figura 17 – Escala de temperatura na pilha de compostagem com mistura de lodo de esgoto e bagaço de cana-de-açúcar de acordo com a posição na pilha (topo, meio e base)



Já a pilha com bagaço de cana-de-açúcar foi a que apresentou temperaturas mais uniformes ao longo do tempo em todos os perfis da pilha, com a média, na maior parte do período analisado, variando entre 52°C e 58°C, estando na faixa considerada como ideal para o processo de compostagem (LUDUVICE, 2014; PINTO, 2014).

Tal acontecimento pode ser associado ao fato de que o bagaço de cana-de-açúcar foi o material que reteve melhor a umidade ao longo do tempo e, conseqüentemente, manteve a atividade microbiana ativa com maior eficiência.

Pode-se afirmar que o material estruturante utilizado influencia diretamente a dinâmica de temperatura e umidade do processo de compostagem, afetando sua forma de manejo e, até mesmo, a qualidade do produto final gerado (DUMONTET et al., 1999).

Porém, além do material estruturante, fatores como o ponto, ou altura, de amostragem de temperatura (topo, meio ou base) e os revolvimentos da pilha também podem influenciar os valores de temperatura observados.

A temperatura é considerada o principal fator para a higienização do material durante a compostagem, uma vez que o calor liberado no processo torna o ambiente hostil para a sobrevivência e reprodução dos microrganismos patogênicos (DUMONTET et al., 1999). Sendo assim, é essencial que sejam garantidos valores

elevados (acima de 55°C) de temperatura da pilha de compostagem da maneira mais uniforme possível, para que o material seja higienizado adequadamente (PINTO, 2014).

Stentiford (1986) destacou o quão difícil é atingir e manter a temperatura ideal, pelo tempo necessário, em todo o perfil de uma pilha de compostagem, de modo a garantir a eficiência da sanitização do material compostado. O autor ressaltou também que mesmo a melhor tecnologia, utilizada da melhor forma possível, não pode garantir que a temperatura e o tempo necessários para inativar todos os patógenos foram alcançados em toda a massa compostada. Ainda de acordo com o autor, é evidente que testes e estudos devem ser desenvolvidos para aumentar o controle e a eficiência de processos de sanitização, como a compostagem.

De acordo com Pinto (2014), a temperatura é um parâmetro de fácil acompanhamento, mas sua aferição deve ser feita de maneira cuidadosa e adaptada para cada situação. A Resolução do CONAMA nº 481/2017 (BRASIL, 2017), por exemplo, afirma que quando o material é exposto a 65°C por três dias consecutivos ou a temperaturas superiores a 55°C por 14 dias consecutivos, o produto final se torna higienizado, mas não determina ou ressalta os cuidados na aferição da temperatura durante o processo de compostagem.

Pinto (2014) reforçou que os operadores e os responsáveis pelo processo de compostagem devem assegurar, com aferições contínuas e intercaladas de temperatura, que este parâmetro foi mantido em patamar adequado para higienização do material e que as aferições de temperatura representam a real condição da pilha de compostagem. O autor diz ainda que é comum que o processo de compostagem não se comporte como o previsto e que, nestes casos, o técnico responsável deve registrar a situação e análises microbiológicas devem ser feitas cuidadosamente ao final do processo, garantindo que o produto final foi efetivamente higienizado.

Sendo assim, seria interessante que as normas vigentes apontassem de maneira mais clara a necessidade de um profissional responsável pelas aferições de temperatura em pilhas de compostagem, garantindo, de maneira segura, que a totalidade do material das pilhas atingiu as temperaturas necessárias para higienização do material compostado.

Por fim, de maneira geral pode-se dizer que, neste experimento, a temperatura nas pilhas de compostagem de lodo de esgoto com casca de eucalipto e com bagaço de cana-de-açúcar apresentaram variações mais relacionadas com o tempo do que

com o perfil da pilha (topo, meio, base). Já a pilha de lodo de esgoto com casca de arroz apresentou diferenças de acordo com o perfil, sendo a base da pilha a região com temperaturas mais baixas. Este fato reforça a necessidade de maior atenção no momento da aferição da temperatura em diferentes pontos de pilhas de compostagem, já que além do tempo e do ponto observado, fatores como o tipo de material utilizado na mistura afetam toda a dinâmica de temperatura na pilha e, consequentemente, a distribuição de calor na mesma.

6.2 EXPERIMENTO 2: Comparação de métodos para determinação de ovos viáveis de *Ascaris* spp. em amostras de lodo de esgoto

6.2.1 Método da Agência Ambiental Americana – USEPA

Apesar da presença de outras partículas sólidas, foi possível observar e identificar os ovos de *Ascaris* já na lente de aumento 10x (Figura 18), mas foram melhor identificados como viáveis ou não viáveis na lente de aumento 40x (Figura 19). Foi possível observar também diversos ovos de outros helmintos, conforme apresentado na Figura 20.

6.2.2 Método da Norma Oficial Mexicana

Conforme pode-se observar na Figura 21, a elevada presença de partículas sólidas grandes dificultou muito a visualização dos ovos e, sendo assim, não foi possível realizar a contagem dos mesmos em nenhuma lente de aumento.

Figura 18 – Ovos de *Ascaris* spp separados pelo método da USEPA (2003), identificados (setas) e contados na Câmara de Sedgwick Rafter em lente de aumento 10x de microscópio óptico. Detalhe para a quantidade de outras partículas sólidas presentes na suspensão

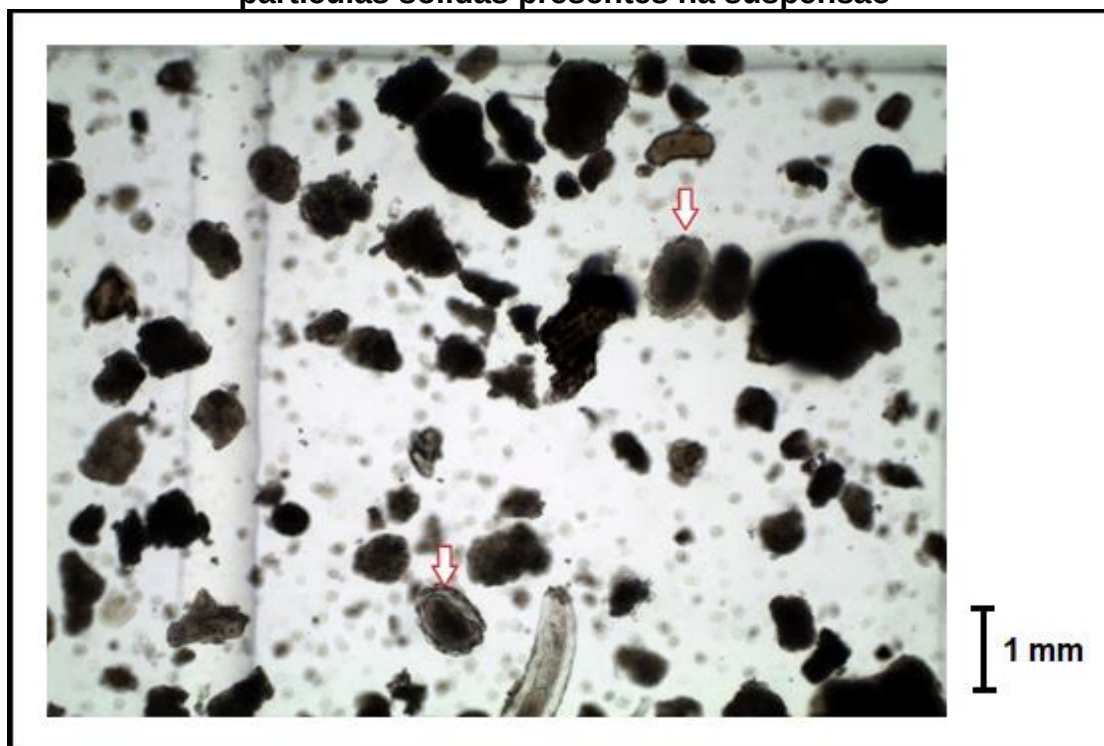


Figura 19 - Ovos larvados viáveis de *Ascaris* spp separados pelo método da USEPA (2003), em lente de aumento 40x de microscópio óptico

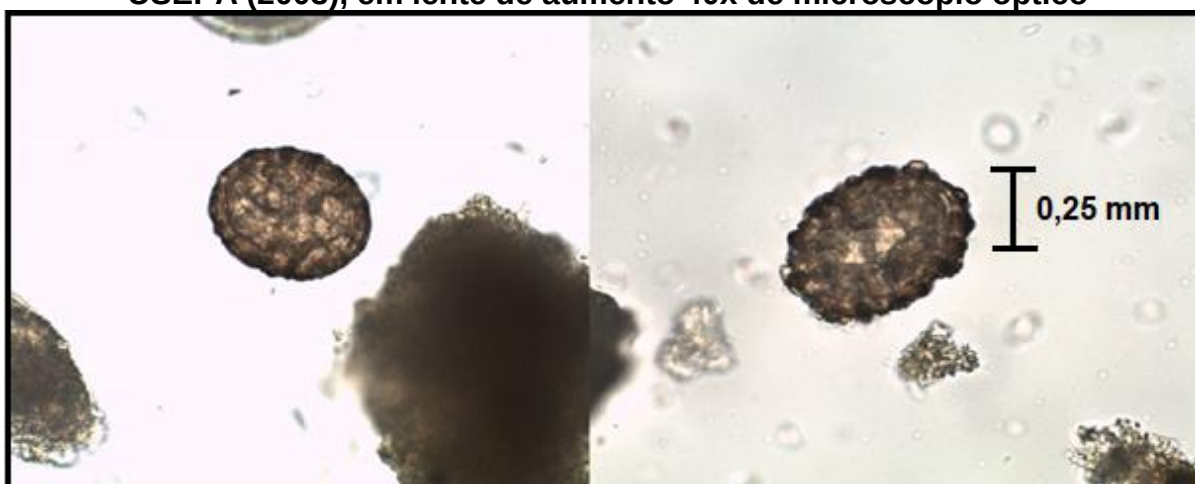
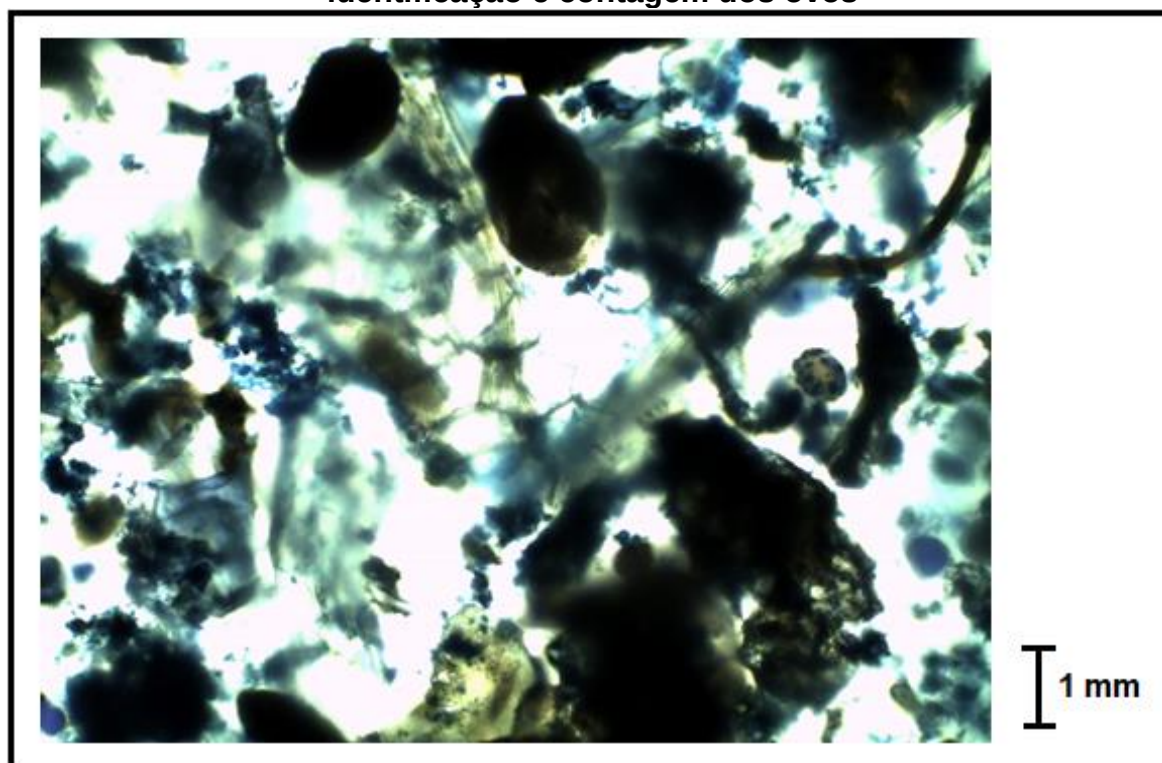


Figura 20 – Ovos viáveis de helmintos separados pelo método da USEPA (2003), em lente de aumento 40x de microscópio óptico. a. Ovo larvado de *Hymenolepis nana*; b. e c. Ovos em eclosão de *Toxocara* spp.



Figura 21 – Foto de um quadrante na Câmara de Sedgwick Rafter em lente de aumento 10x de microscópio óptico em concentrado obtido pelo Método proposto pela Norma Oficial Mexicana. Destaque para a quantidade de partículas sólidas presentes na suspensão, impossibilitando a visualização, identificação e contagem dos ovos



6.2.3 Comparativo entre os métodos

Visualmente, o método da USEPA deixou a amostra mais “limpa”, separando melhor os ovos das demais partículas, possibilitando a contagem dos mesmos, sendo considerado o método mais adequado. Por este motivo, nas análises do Experimento

3 optou-se por utilizar o método da USEPA ao invés do método da Norma Oficial Mexicana.

Ambos os métodos analisados utilizaram procedimentos de sedimentação e flotação das partículas sólidas para separação dos ovos de *Ascaris* spp. Bowman et al. (2003) testaram diferentes procedimentos de diferentes métodos para separação de ovos de *Ascaris* em amostras de lodo de esgoto e verificaram que as soluções de flotação utilizadas por ambos os métodos, MgSO_4 e ZnSO_4 , com gravidade específica 1,20, se mostraram adequadas e eficientes na flotação dos ovos e separação das demais partículas sólidas. Sendo assim, a diferença na separação das partículas observada nos dois métodos estudados provavelmente não foi consequência do processo de flotação, uma vez que os dois processos de flotação são considerados eficientes.

Previamente ao processo de flotação, diversos outros procedimentos são realizados para separação das partículas sólidas. Tais procedimentos incluem diluição da amostra de lodo em solução com água e detergente, homogeneização por agitador ou liquidificador e passagem por uma ou mais peneiras, de diferentes malhas, para remoção e descarte de partículas maiores. Todas estas etapas podem ter interferido na qualidade final de cada método (BOWMAN et al., 2003; ROCHA et al., 2016).

De acordo com Bowman et al. (2003), o detergente 7X, utilizado pelo método da USEPA (2003), quando utilizado em conjunto com as soluções de flotação MgSO_4 ou ZnSO_4 , não forma precipitados e realiza a separação dos ovos de *Ascaris* de outras partículas sólidas de forma mais eficiente que outros detergentes, como o Tween 80, utilizado pela Norma Oficial Mexicana (MEXICO, 1997).

Além disso, no método da USEPA (2003) o sobrenadante resultante do processo de flotação é peneirado, em peneira de malha 400 *mesh*, imediatamente após a centrifugação. Já no método mexicano (MEXICO, 1997), após a centrifugação o sobrenadante é diluído em água, incubado em temperatura ambiente por período *overnight* e passa por diversas outras etapas com reagentes químicos antes de ser peneirado na peneira de malha 400 *mesh*. De acordo com os testes realizados por Bowman et al. (2003), a primeira situação (USEPA, 2003) é a mais eficiente, pois já descarta as partículas indesejáveis no processo imediatamente após a flotação.

Diferentemente da norma da USEPA (2003), a Norma Oficial Mexicana (MEXICO, 1997) possui uma etapa extra para purificação da amostra, onde são adicionados ao

processo de análise o ácido sulfúrico 0,1N, o álcool etílico e o éter etílico, com o objetivo de remover contaminantes presentes na suspensão de ovos de *Ascaris*.

Satchwell (1986) realizou estudo onde utilizou uma solução salina de formaldeído e uma solução de éter dietílico para remover as impurezas de uma suspensão de ovos de *Taenia* spp., *Ascaris* spp. e *Trichuris* spp. e obteve sucesso de 40% na remoção. No entanto, o autor observou que 95% dos ovos se perderam durante o processo e ainda apontou ressalvas quanto à exposição humana a reagentes químicos, como o éter etílico, para realização desta análise. Rocha et al. (2016) afirmaram, em seu trabalho, que foi este o principal motivo da USEPA (2003) ser contrária à etapa de purificação com reagentes químicos, preferindo substituí-la pela separação mecânica, através do uso de peneiras de malhas finas.

Quanto ao período de incubação, onde a suspensão de ovos é mantida a temperatura ideal por um período de tempo suficiente para formação de embrião e larva, permitindo a classificação do ovo como viável ou inviável (BOISVENUE, 1990), apenas no método da USEPA (2003) esta etapa esteve presente, ou seja, mesmo sendo possível realizar a contagem dos ovos nas lâminas resultantes do método mexicano (MEXICO, 1997), não seria possível classificá-los como viáveis ou não, já que as suspensões de ovos neste método não passaram por período de incubação.

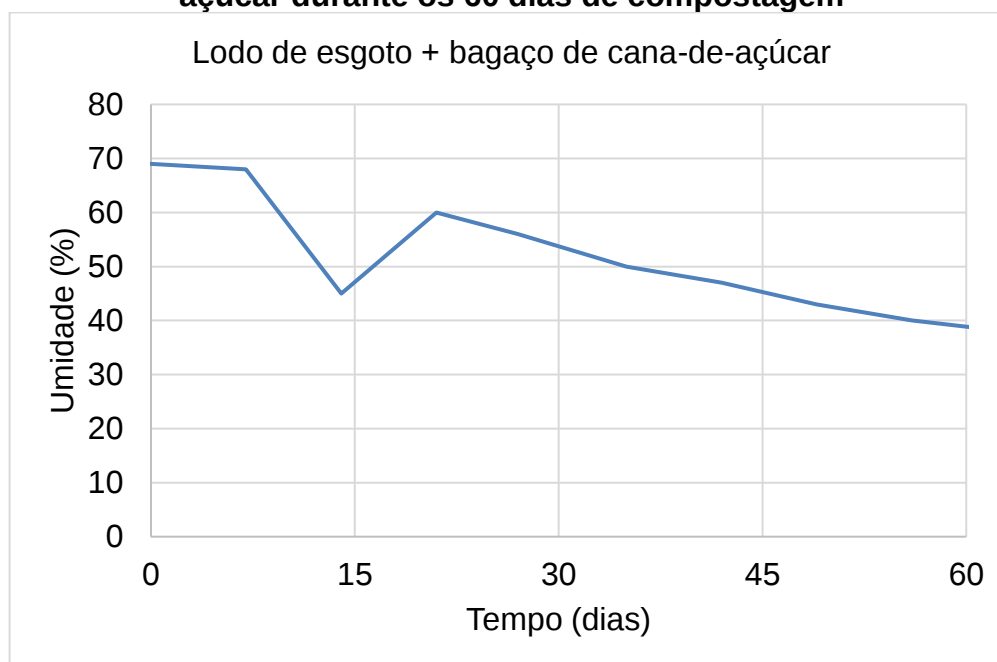
Por fim, Rocha et al. (2016) afirmaram em seu trabalho que uma vez utilizando o microscópio óptico para contagem e determinação do número de ovos de *Ascaris* spp. em uma suspensão, é de fundamental importância que as etapas de flotação e separação de partículas sólidas sejam adequadamente executadas, pois, caso contrário, a visualização e a identificação dos ovos de *Ascaris* spp. fica comprometida, interferindo diretamente nos resultados. Pode-se dizer que este foi o caso do método da Norma Oficial Mexicana (MEXICO, 1997), onde a grande quantidade de partículas sólidas, conforme observado na Figura 18, impossibilitou a detecção e identificação dos ovos.

6.3 EXPERIMENTO 3: Decaimento de microrganismos patogênicos durante a compostagem

Conforme pode ser observado na Figura 22, a umidade na pilha com bagaço de cana-de-açúcar manteve-se estável na primeira semana de experimento, seguido por

um declive e então um auge entre a primeira e a quarta semana sem razão aparente, uma vez que o pátio de compostagem é coberto, não sendo possível o aumento da umidade do material por razões externas, como chuva.

Figura 22 – Umidade média da pilha com lodo de esgoto e bagaço de cana-de-açúcar durante os 60 dias de compostagem



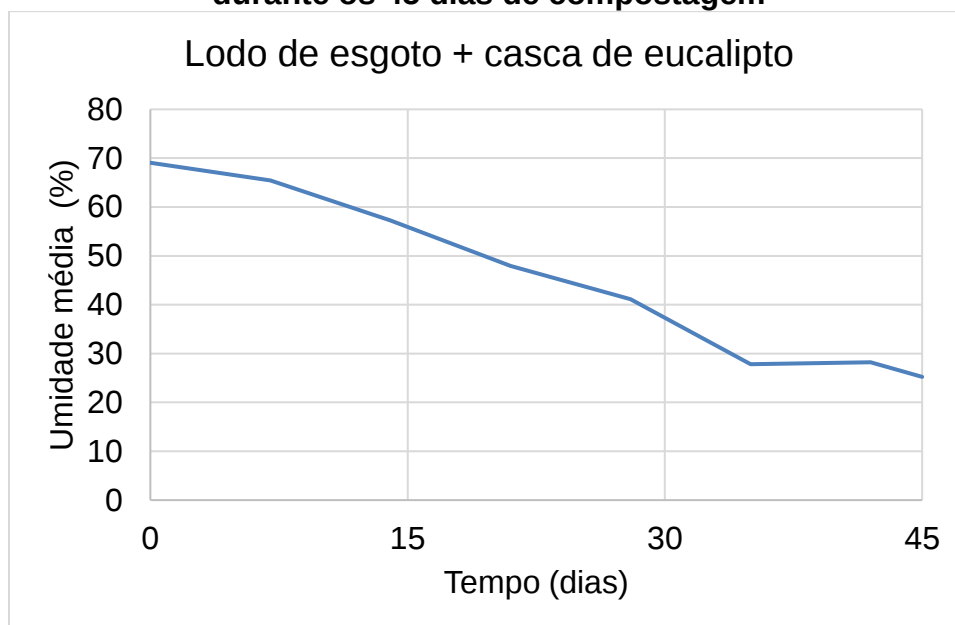
Aos 45 dias de compostagem, é possível observar que a umidade do material ainda estava acima de 40% e, por isso, optou-se por continuar com o processo por mais 15 dias, completando 60 dias de compostagem para a mistura com bagaço de cana-de-açúcar.

Já a umidade na pilha com casca de eucalipto (Figura 23) apresentou um comportamento de declive regular desde o início do experimento, apresentado valores abaixo de 30% ao final dos 45 dias de compostagem, onde o estudo foi finalizado.

Do ponto de vista microbiológico, Thomaz-Soccol et al. (2010) afirmaram que, por possuírem sensibilidade à dessecação, muitos microrganismos presentes no lodo de esgoto sanitário não sobrevivem por longos períodos em ambientes com baixa umidade, sendo a umidade ideal para a sobrevivência e reprodução destes organismos aquela que possui valores acima de 70%, índice este que só foi obtido no início do processo de compostagem com casca de eucalipto e nas duas primeiras semanas de compostagem com bagaço de cana-de-açúcar. Sendo assim, pode-se afirmar que durante a maior parte do processo, em ambos os experimentos, a umidade

esteve abaixo do índice ideal para sobrevivência e reprodução de microrganismos patogênicos.

Figura 23 – Umidade média da pilha com lodo de esgoto e casca de eucalipto durante os 45 dias de compostagem



Em relação à temperatura média avaliada durante o processo, os dados estão dispostos nas Figuras 24 e 25.

Ambos os processos apresentaram temperaturas acima de 50°C na maior parte do período analisado. A pilha com casca de eucalipto foi a que apresentou médias de temperatura mais elevadas, porém a pilha com bagaço de cana-de-açúcar apresentou maior uniformidade nos valores de temperatura ao longo do processo.

Na Tabela 13 estão apresentados os valores de umidade, relação C/N e pH em cada uma das três repetições das duas misturas analisadas.

Tabela 13 – Umidade (%), relação C/N e pH em três repetições do produto final de compostagem de lodo de esgoto (LE) com bagaço de cana-de-açúcar e com casca de eucalipto

Material		Umidade (%)	Relação C/N	pH
LE + bagaço de cana-de-açúcar	R1	36	9/1	6,2
	R2	40	8/1	6,4
	R3	40	8/1	6,6
LE + casca de eucalipto	R1	29	12/1	5,6
	R2	24	14/1	5,5
	R3	22	13/1	5,5

Figura 24 – Temperatura média da pilha com lodo de esgoto e bagaço de cana-de-açúcar durante os 60 dias de compostagem



Figura 25 – Temperatura média da pilha com lodo de esgoto e casca de eucalipto durante os 45 dias de compostagem



A relação entre temperatura, umidade, relação C/N, pH e sobrevivência dos indicadores de patogenicidade estudados está melhor detalhada e discutida nos itens a seguir.

Os resultados da caracterização do lodo de esgoto utilizado no experimento estão dispostos na Tabela 14.

Tabela 14 – Caracterização do lodo de esgoto da Sabesp/Botucatu quanto à presença e à densidade de coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp., e ovos viáveis de *Ascaris* spp.

Patógeno	Resultados
Coliformes termotolerantes	2,4 10 ⁶ NMP mL ⁻¹
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente em 25 g de ST analisados.
Ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp.	12,8 ovos viáveis gST ⁻¹

NMP: Número Mais Provável; ST: Sólidos Totais.

Estes valores foram usados como parâmetro de comparação para os resultados observados para *Salmonella* spp., coliformes termotolerantes e ovos viáveis de *Ascaris* spp., e permitiram verificar ao longo do processo de compostagem se o mesmo estava sendo eficiente na higienização do material.

6.3.1 *Salmonella* spp.

Conforme pode-se observar pela Tabela 15, na mistura de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar o grupo de *Salmonella* spp. não foi isolada em todo o processo de compostagem, com exceção a uma das repetições (R3) na amostragem entre 35 e 45°C, faixa de temperatura onde pode ocorrer multiplicação deste grupo de microrganismos quando a umidade está adequada (PINTO, 2014), o que era o caso neste período (Figura 24).

Novamente, durante todo o período de compostagem de lodo de esgoto com casca de eucalipto o grupo de *Salmonella* spp. mostrou-se ausente, com exceção a uma das repetições (R3) na amostragem entre 45 e 55°C, conforme apresentado na Tabela 16. Neste período a umidade estava adequada (PINTO, 2014) para a multiplicação deste grupo de microrganismos (Figura 23).

Tabela 15 - Presença* de *Salmonella* spp. no composto de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar de acordo com o aumento da temperatura ao longo do processo de compostagem

Faixa de temperatura	Dia	R1	R2	R3
< 35°C	0	Ausência	Ausência	Ausência
35,1 – 45°C	2	Ausência	Ausência	Ausência
45,1 – 55°C	4	Ausência	Ausência	Presença
55,1 – 65°C	9	Ausência	Ausência	Ausência
> 65°C	12	Ausência	Ausência	Ausência
-	20	Ausência	Ausência	Ausência
-	45	Ausência	Ausência	Ausência
Final	60	Ausência	Ausência	Ausência

* Ausência ou presença em 25mL

Tabela 16 - Presença* de *Salmonella* spp. no composto de lodo de esgoto com casca de eucalipto de acordo com o aumento da temperatura ao longo do processo de compostagem

Faixa de temperatura	Dia	R1	R2	R3
< 35°C	0	Ausência	Ausência	Ausência
35,1 – 45°C	4	Ausência	Ausência	Presença
45,1 – 55°C	5	Ausência	Ausência	Ausência
55,1 – 65°C	7	Ausência	Ausência	Ausência
> 65°C	20	Ausência	Ausência	Ausência
Final	45	Ausência	Ausência	Ausência

* Ausência ou Presença em 25mL

Dumontet et al. (1999) ressaltaram em seu trabalho que, quando submetido à compostagem, o lodo de esgoto cru (*in natura*) sofre diversas transformações nas fases mesófila e termófila e, conseqüentemente, o substrato, produto da compostagem, se torna naturalmente inadequado para o desenvolvimento e a sobrevivência da maioria dos patógenos.

Russ e Yanko (1981), por exemplo, constataram que o gênero *Salmonella* spp. consegue se desenvolver em amostras de lodo de esgoto apenas se a proporção C/N for maior que 15/1 e a umidade superior a 20%. Observando-se as características do produto final de compostagem, apresentadas na Tabela 13, é possível notar que o próprio processo de compostagem contribui para a diminuição ou ausência de *Salmonella* em seu substrato final. Os autores afirmaram, ainda, que a *Salmonella* spp. pode estar presente ao final do processo de compostagem em níveis indetectáveis e, quando sob condições ambientais favoráveis, pode haver o recrescimento destes microrganismos. Para evitar o recrescimento, segundo os autores, é importante que, ao final do processo, os valores da relação C/N estejam

abaixo de 15/1, os sólidos voláteis representem apenas 18% dos sólidos totais e a umidade esteja abaixo de 20% (RUSS; YANKO, 1981).

Conforme observado na Tabela 13, em ambos os processos de compostagem a relação C/N foi menor que 15/1 no produto final de todas as repetições, porém a umidade esteve acima de 20% em todos os materiais analisados, apesar da mistura com casca de eucalipto apresentar valores bem próximos aos 20%. No entanto, de acordo com Carvalho (2001), Luduvic (2014) e Pinto (2014), quando a umidade atinge valores inferiores a 40%, que foi o caso em todas as repetições de ambos os processos, a atividade microbiana já diminui e até mesmo se encerra.

Em relação ao pH, de acordo com Fernandes (2000) e Kiehl (2004), ao final do processo de compostagem, o pH do produto final, quando humificado, se eleva, chegando a valores superiores a 8. Conforme observado na Tabela 13, os valores de pH do produto final variaram entre 5,5 e 6,6, estando na faixa de reação ácida, o que pode inferir que o produto final de ambos os processos ainda não se encontrava completamente maturado e humificado, mas apenas bioestabilizado.

6.3.2 Coliformes termotolerantes

Na mistura com casca de eucalipto, o grupo de coliformes termotolerantes apresentou um comportamento curioso na faixa de temperatura entre 55 e 65°C, onde ocorreu uma elevação inesperada na densidade destes microrganismos, o que também pode ter ocorrido devido à multiplicação dos mesmos durante o processo. Nas amostragens seguintes, o nível de coliformes termotolerantes esteve próximo ao indetectável ($< 3 \text{ NMP mL}^{-1}$), o que significa que o material compostado foi higienizado até o final do processo, não apresentando riscos quanto à contaminação por coliformes termotolerantes, de acordo com o que pode ser observado na Figura 24.

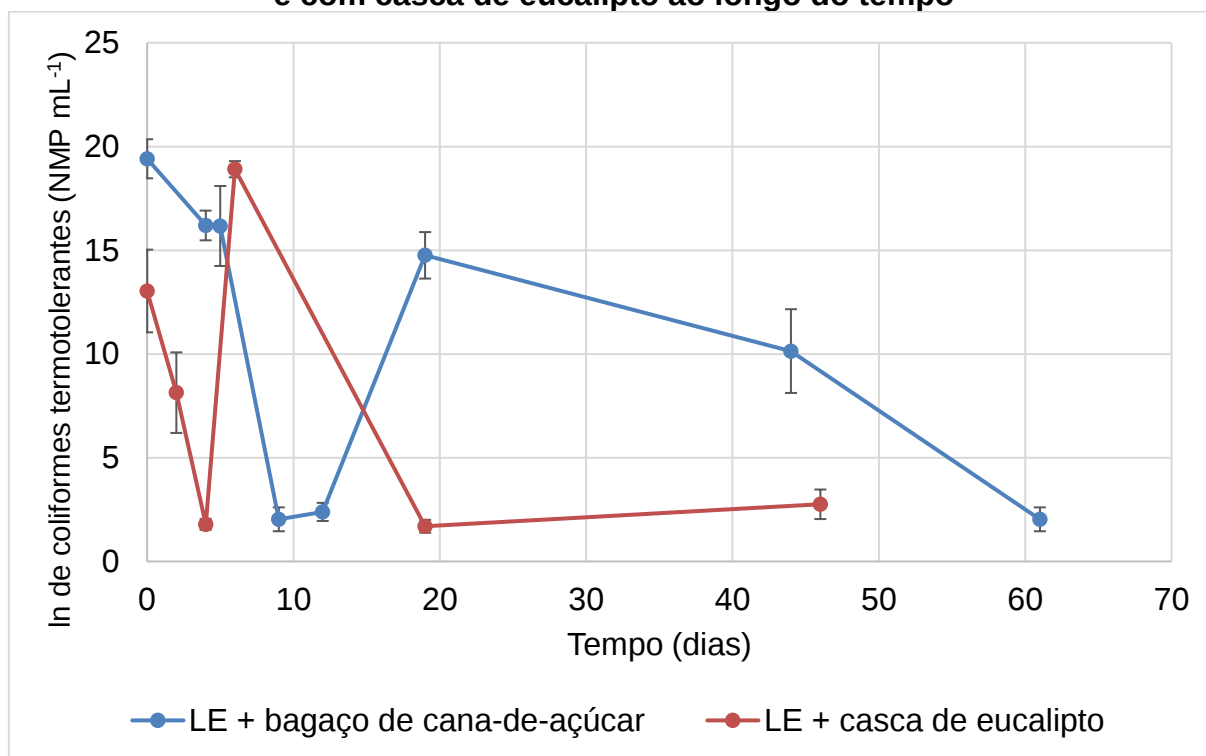
Observando-se a variação da temperatura ao longo do processo, conforme apresentado pela Figura 24, é possível notar que a ocorrência do aumento populacional de coliformes termotolerantes deu-se na fase de elevação da temperatura, logo após a temperatura atingir a faixa dos 40°C, estando o ambiente propício (DUMONTET et al.; 1999) para a reprodução destes microrganismos, uma vez que a umidade ainda se encontrava elevada (Figura 23).

Sendo assim, há a possibilidade de que durante um curto período do processo de compostagem, com temperatura e umidade ideais, as condições ambientais na pilha

de compostagem fizeram com que o composto se tornasse um meio de cultura para os coliformes termotolerantes. Porém, em seguida, com a queda na umidade e aumento da temperatura, o ambiente tornou-se hostil para o desenvolvimento dos mesmos, fazendo com que a densidade de microrganismos diminuísse até o final do processo.

No experimento com cana-de-açúcar a temperatura demorou um tempo maior para começar a subir (Figura 24), fato que pode estar diretamente relacionado com a curva de umidade no processo (Figura 22). Conforme é possível observar na Figura 26, a densidade de coliformes termotolerantes diminuiu significativamente até a faixa de temperatura $>65^{\circ}\text{C}$ (12º dia) e na amostragem do 20º dia de compostagem apresentou aumento relevante em sua densidade populacional, aumento que se manteve até próximo aos 45 dias de compostagem. Devido a isto, decidiu-se avaliar o processo por mais 15 dias para se garantir que a densidade de coliformes termotolerantes atingiria o parâmetro $<3,0 \text{ NMP mL}^{-1}$ até os 60 dias, o que, de fato, ocorreu.

Figura 26 – In da densidade de coliformes termotolerantes (NMP mL^{-1}) em pilhas de compostagem de lodo de esgoto (LE) com bagaço de cana-de-açúcar e com casca de eucalipto ao longo do tempo



Na pilha com bagaço de cana-de-açúcar, conforme pode-se observar na Figura 26, o aumento na densidade de coliformes termotolerantes foi observado a partir da

amostragem realizada no 20º dia de compostagem, sendo que na amostragem anterior, no 12º dia, os índices de coliformes termotolerantes estavam bem próximos do nível nulo ($< 3 \text{ NMP mL}^{-1}$). No período entre o 12º e o 20º dia, a temperatura variou entre 45 e 55°C, sendo esta uma faixa de temperatura propícia para a reprodução destes microrganismos, uma vez que a umidade (Figura 21) ainda se encontrava em níveis viáveis para tal (DUMONTET et al.; 1999).

O fato de ter ocorrido um aumento populacional de coliformes termotolerantes, em determinado momento de ambos os processos de compostagem, faz com que surjam dúvidas sobre o comportamento destes microrganismos durante o processo, de acordo com as variações nos índices de umidade e temperatura. É importante ressaltar também que a hipótese de contaminação do material foi descartada, uma vez que foi notado o aumento no número de coliformes nas três repetições de cada um dos processos de compostagem analisados, totalizando seis ocorrências isoladas.

Qi et al. (2008) observaram o recrescimento de coliformes fecais em lodo de esgoto digerido por processo anaeróbio em duas diferentes situações: após a centrifugação do lodo e durante a estocagem do lodo. Os autores constataram que após a centrifugação houve uma reativação dos coliformes fecais, que até então se encontravam não-cultiváveis, ou inativos, devido ao próprio processo de tratamento de esgoto. Já em relação à estocagem, foi verificado o recrescimento por multiplicação dos coliformes, devido a condições ambientais favoráveis.

Um dos primeiros relatos desta situação foi reportado por Hendrickson (2006), em estudo desenvolvido em 2001, onde amostras de lodo que atendiam os parâmetros de lodo Classe A, após algum tempo, passaram a apresentar concentrações de coliformes que ultrapassavam até mesmo os limites da Classe B e, a partir daí, diversos outros autores observaram a mesma situação em diferentes localidades (ERDAL et al., 2003; ERDAL et al., 2004; IRANPOUR et al., 2002; IRANPOUR et al., 2003).

A *Water Environment Research Foundation* – WERF (2006a) publicou um estudo sobre a reativação e o recrescimento de coliformes fecais em lodos de esgoto provenientes de sistemas anaeróbios. Foram avaliados os lodos de sete ETEs que utilizavam centrifugação para deságue do lodo e em quatro das sete ETEs foi observado o aumento na concentração de coliformes logo após a centrifugação ou durante o estoque de lodo. A principal hipótese levantada pela WERF foi de que os coliformes estavam viáveis, mas não cultiváveis, ou seja, indetectáveis, e os métodos

convencionais de análise de coliforme neste caso subestimaram os valores reais destes microrganismos. Após a reativação durante a centrifugação, os coliformes se multiplicaram, contribuindo para o aumento na concentração observado logo em seguida.

Tal hipótese foi confirmada por análises de *Polymerase Chain Reaction* (PCR), onde os pesquisadores descobriram que uma grande população não cultivável de *E. coli* poderia permanecer viável nas amostras de lodo após a digestão e, durante o processo de centrifugação, um tipo de sinal químico levaria à reativação da bactéria, que, em condições favoráveis, voltaria a se reproduzir (WERF, 2006b). Outros autores também confirmaram a reativação de coliformes após a centrifugação (CHEUNG et al., 2003; JOLIS, 2006; LEBUHN et al., 2005; MONTELEONE et al., 2004).

De acordo com a *Water Environment Federation* – WEF (2006), há diversos relatos de diversas empresas de saneamento que utilizam etapas de tratamento de esgoto de forma anaeróbia e centrifugação do lodo, que é o caso da ETE da SABESP/Botucatu, sobre a ocorrência de aumento na concentração de coliformes fecais imediatamente após a centrifugação e/ou durante transporte ou armazenamento do lodo. No entanto, outras empresas que utilizam processos semelhantes não observaram tal aumento. A entidade ressalta, então, que mais estudos na área devem ser realizados em lodos Classe A e B para entender melhor as causas do problema e as reais condições que permitem a reativação e o recrescimento de coliformes em lodo de esgoto sanitário.

No caso deste estudo, durante a compostagem foi de fato verificado o aumento da concentração de coliformes termotolerantes nas duas misturas analisadas, porém ao final do processo houve a redução desta concentração para níveis aceitáveis pela legislação (BRASIL, 2006). Acredita-se que, mesmo com a possibilidade de reativação e recrescimento dos coliformes durante determinado momento da compostagem, de acordo com o avanço do processo há a real eliminação deste grupo de microrganismos. Porém, é interessante ressaltar a importância de se realizar uma análise microbiológica ao final do processo para garantir que o tempo de compostagem foi adequado para a eliminação dos patógenos.

6.3.3 Ovos viáveis de *Ascaris* spp.

Após o ajuste do modelo de regressão não linear para a densidade de ovos viáveis de *Ascaris* spp. ao longo do processo de compostagem foi possível determinar $\hat{\alpha}$ e $\hat{\beta}$ para ambos os tratamentos, de acordo com o apresentado na Tabela 17, com $p < 0,0001$.

Tabela 17 – Ajuste do modelo de regressão não linear para determinação de $\hat{\alpha}$ e $\hat{\beta}$ e seus respectivos intervalos de confiança (IC) a 95% de confiabilidade

Tratamento	$\hat{\alpha}$	$\hat{\beta}$
LE + bagaço de cana-de-açúcar	6,6953 (5,7870 - 7,6036)	0,1307 (0,072 - 0,1643)
LE + casca de eucalipto	6,0091 (4,7304 – 7,2877)	0,0624 (0,0188 – 0,1060)

Ajustado o modelo e determinados $\hat{\alpha}$ e $\hat{\beta}$, foi possível obter o tempo médio para que os valores de ovos viáveis de *Ascaris* spp., observados ao longo do processo de compostagem, atingissem o parâmetro mínimo determinado pela legislação (0,25 NMP gST⁻¹).

Na pilha de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar, o tempo médio estimado foi de 25 dias (IC 95%: 19,96 – 31,94 dias). Já na pilha de lodo de esgoto com casca de eucalipto, este tempo foi maior, sendo 54 dias (IC 95%: 27,39 – 98,92 dias). Nas Figuras 27 e 28 é possível observar as curvas de decaimento estimadas para LE + bagaço de cana-de-açúcar e LE + casca de eucalipto, respectivamente.

A Figura 29 apresenta os Box Plots de cada uma das misturas de lodo de esgoto com as distribuições observadas ao longo do período estudado. Nota-se que a mistura com bagaço de cana-de-açúcar está mais distribuída ao longo do tempo, o que pode ter tido interferência dos fatores temperatura e umidade, que se apresentaram diferentes dos observados na mistura com casca de eucalipto.

Figura 27 – Curva de decaimento de ovos viáveis de *Ascaris* spp. (nº de ovos gST⁻¹) em função do tempo de 60 dias de análise da compostagem de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar

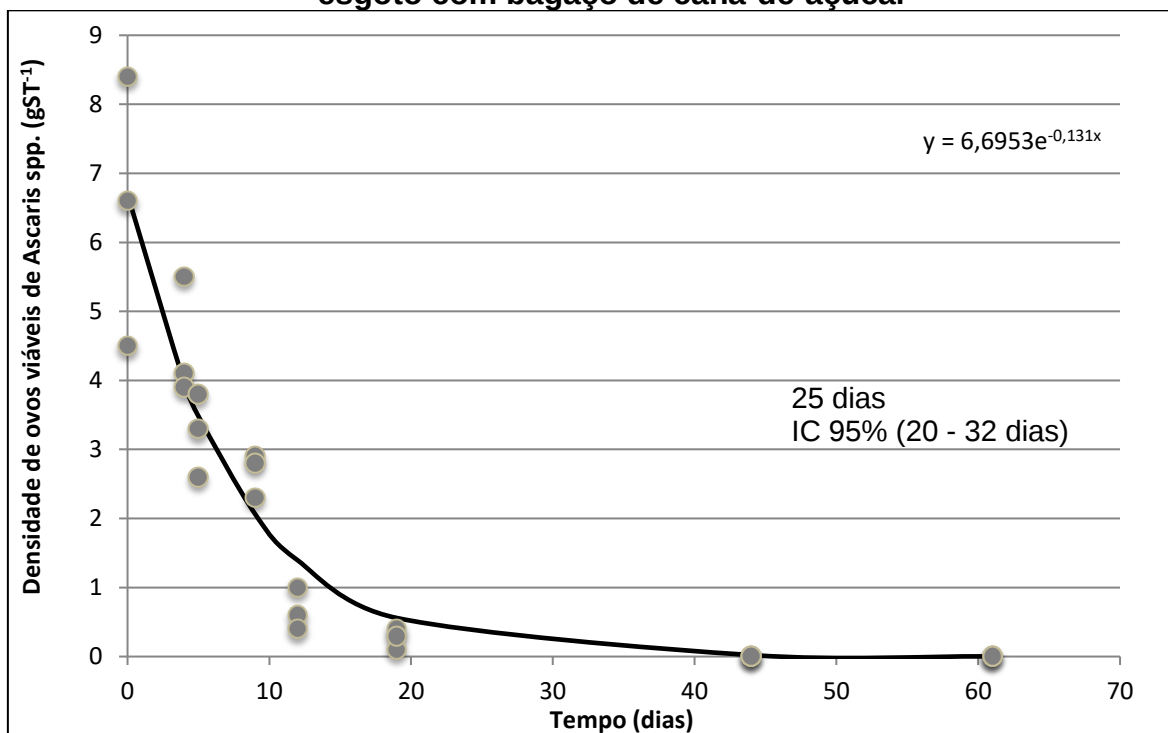


Figura 28 – Curva de decaimento de ovos viáveis de *Ascaris* spp. (nº de ovos gST⁻¹) em função do tempo de 45 dias de análise da compostagem de lodo de esgoto com casca de eucalipto

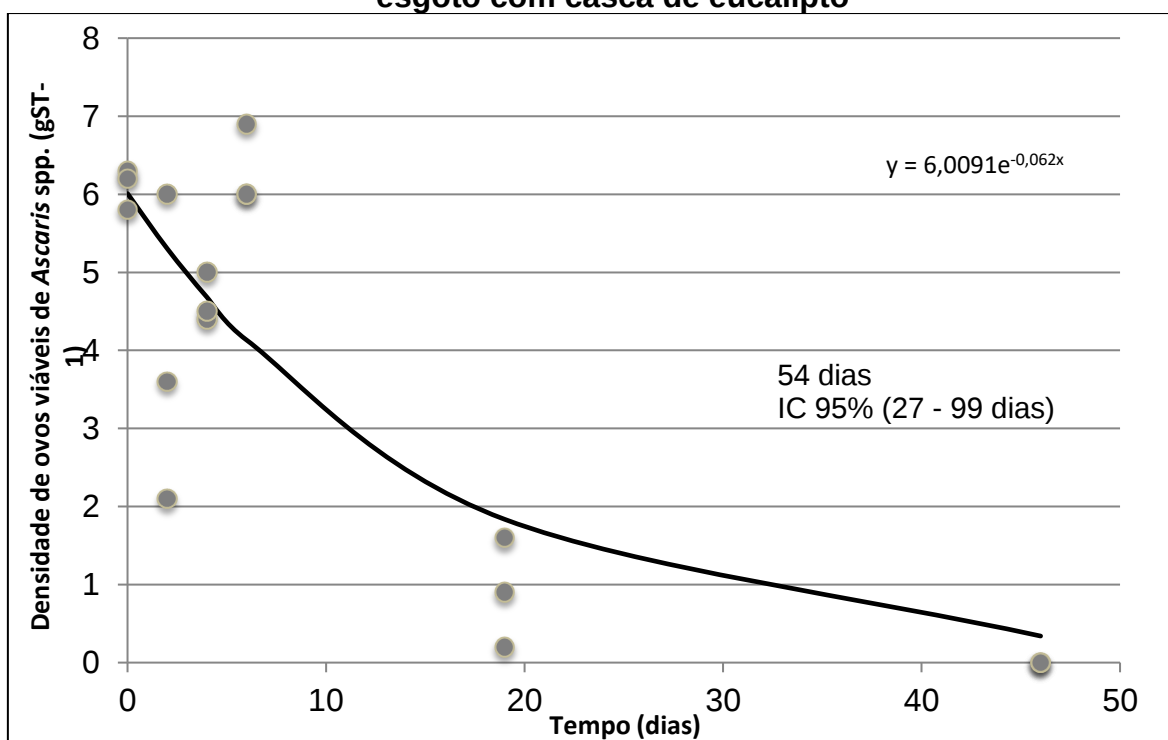
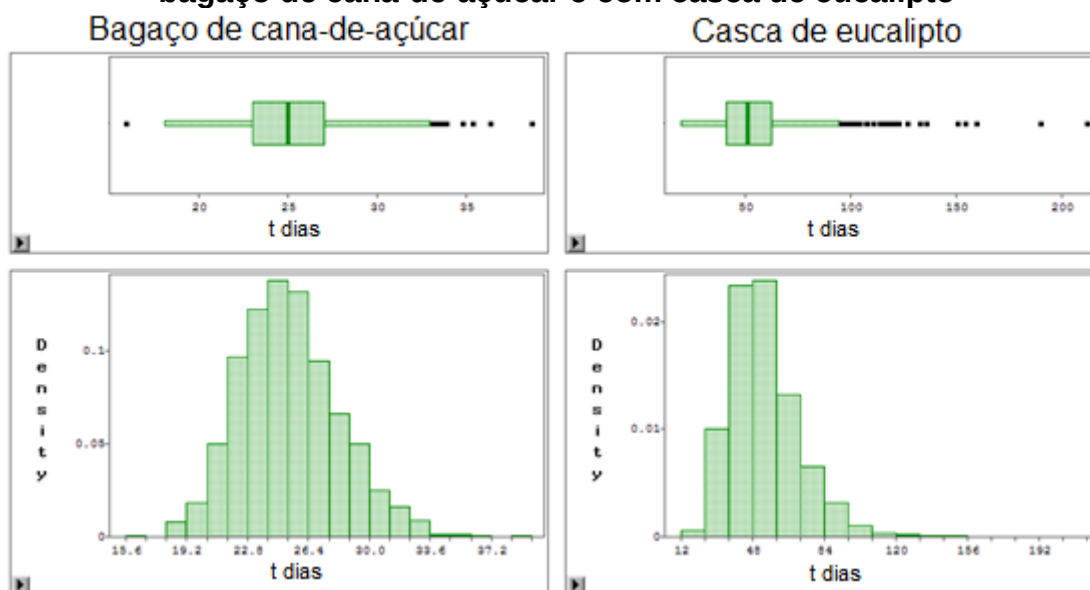


Figura 29 – Box Plot da densidade de ovos viáveis de *Ascaris* spp. (nº de ovos gST⁻¹) ao longo do processo de compostagem de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar e com casca de eucalipto



A recém-criada Resolução CONAMA nº 481, de 3 de outubro de 2017, “estabelece critérios e procedimentos para garantir o controle e a qualidade ambiental do processo de compostagem de resíduos orgânicos”, e em seu Anexo I estabelece o período de tempo e temperatura necessários para higienização do material durante o processo de compostagem. De acordo com a norma, em sistemas abertos a temperatura deve ser maior que 55°C por um período mínimo de 14 dias ou maior que 65°C por um período mínimo de três dias para completa higienização do material compostado (BRASIL, 2017).

Quanto aos dois experimentos desenvolvidos neste projeto, apenas em um a higienização do material ocorreu de acordo com o previsto pela referida Resolução. No experimento com casca de eucalipto houve um período de três dias consecutivos, que entre o 21º e 24º dias de compostagem, onde a temperatura manteve-se > 65°C e na amostragem seguinte, no 45º dia, de fato todos os grupos de microrganismos estudados apresentaram resultados adequados. Já no experimento com bagaço de cana-de-açúcar, a partir do 30º dia de compostagem a temperatura no processo manteve-se acima de 55°C por 15 dias consecutivos, porém na amostragem do 45º dia a densidade de coliformes termotolerantes ainda se encontrava elevada, sendo necessário conduzir o processo de compostagem por mais 15 dias até a efetiva higienização do material.

Sendo assim, reforça-se a necessidade do desenvolvimento de novos estudos envolvendo o comportamento dos microrganismos patogênicos durante o processo de compostagem, uma vez que se trata de uma cadeia complexa, que envolve muitas variáveis e, por vezes, não é possível obter um padrão adequado para todos os casos.

Pecson et al. (2007) avaliaram os efeitos da temperatura, variando entre as faixas 20, 30, 40 e 50°C, do pH, entre 7 e 12, e a concentração de amônia sobre a inativação de *Ascaris* spp. em lodo de esgoto. O decaimento da viabilidade dos ovos de *Ascaris* ao longo do tempo foi observado de maneira significativa conforme a temperatura subia a cada 10°C em todas as faixas de pH analisadas. Quando o lodo de esgoto foi submetido a 50°C, o efeito da temperatura foi dominante, não sendo observado nenhum efeito do pH ou da concentração de amônia na inviabilidade dos ovos de *Ascaris* nesta faixa de temperatura.

Pinto (2014) ilustrou em seu trabalho diferentes tempos requeridos para inativação de alguns agentes de patogenicidade durante o processo de compostagem e notou diferenças significativas entre as observações realizadas em laboratório e as realizadas durante um processo de compostagem real.

O gênero *Salmonella*, por exemplo, em laboratório necessitou de um tempo de exposição de 30 minutos a 60°C, ou 4 minutos a 70°C para sua inativação, porém na situação real o tempo de exposição foi de 10.080 minutos, ou 168 horas, a 50°C ou 2.800 minutos, ou 47 horas, a 60°C para inativação destes microrganismos. Já os ovos de *Ascaris*, em laboratório necessitaram de um tempo de exposição de 60 minutos a 50°C, ou sete minutos a 55°C para se tornarem inviáveis, porém na situação real foram precisos 240 minutos a 60°C ou 60 minutos a 65°C para garantir a inviabilidade dos ovos (PINTO, 2014).

Tal diferença entre as situações reais e as de laboratório evidenciam que não se pode padronizar o comportamento e a sobrevivência de microrganismos em um ambiente tão complexo, com tantas variáveis e fatores que se interagem, como uma pilha de compostagem.

6.4 EXPERIMENTO 4: Decaimento de coliformes termotolerantes em lodo de esgoto

A Tabela 18 apresenta os coeficientes da correlação de Spearman, seguidos dos valores de p , para os resultados de atividade de água, umidade e densidade de coliformes termotolerantes observados ao longo do experimento.

Tabela 18: Coeficientes de correlação de Spearman e os valores de p para os resultados de atividade de água (a_w), umidade e concentração de coliformes termotolerantes

-	a_w	Umidade	Coliformes termotolerantes
a_w	-	0,94847 $p < 0,0001$	0,85804 $p < 0,0001$
Umidade	0,94847 $p < 0,0001$	-	0,84183 $p < 0,0001$
Coliformes Termotolerantes	0,85804 $p < 0,0001$	0,84183 $p < 0,0001$	-

É possível verificar que houve interação significativa em todas as correlações, coliformes termotolerantes x atividade de água (a_w), coliformes termotolerantes x umidade e atividade de água (a_w) x umidade. Sendo assim, pode-se dizer que o decaimento na densidade de coliformes termotolerantes ao longo do tempo está diretamente correlacionado com o decaimento dos valores tanto de atividade de água quando de umidade.

Na Figura 30, observa-se que a curva de umidade não acompanhou a curva de atividade de água, que se manteve estável por um período maior antes de apresentar a queda na curva. Quando a curva de atividade de água começou a cair, a umidade, que no início se encontrava a 77%, já apresentava valores inferiores a 45%.

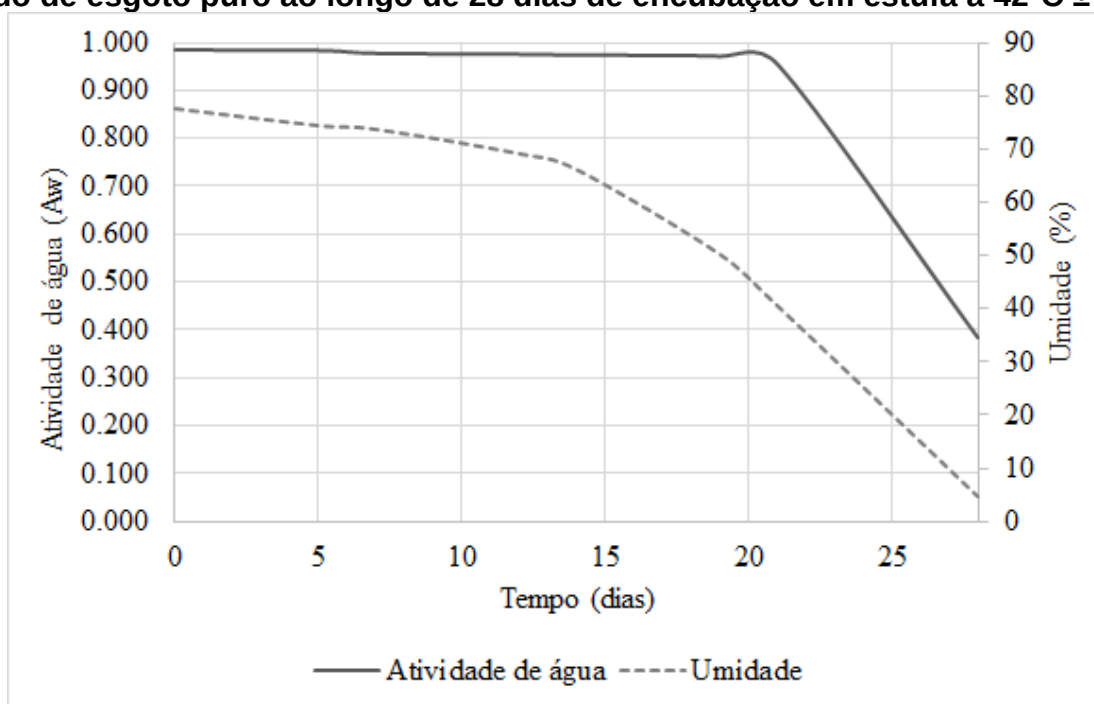
A redução na atividade de água tem um efeito direto no crescimento bacteriano. Scott (1957) observou um aumento na fase de retardo no crescimento e diminuição da taxa de desenvolvimento celular bacteriano à medida que a atividade de água era reduzida. O autor afirmou ainda que muitas bactérias se desenvolvem melhor quando a atividade de água está entre 0,990 e 0,995. Dentre os coliformes termotolerantes, por exemplo, a *E. coli* necessita de uma atividade de água mínima de 0,990 para se desenvolver (PRABHAKAR; MALLIKA, 2014).

Sperber (1983) explicou em seu trabalho que a atividade de água intracelular das bactérias é maior que a do meio externo. Quando a atividade de água do meio externo é reduzida, as células ficam expostas a um choque osmótico e rapidamente começam a perder água, em processo nomeado plasmólise. Por este motivo, cada espécie bacteriana possui um valor mínimo de a_w , que é também associado à pressão de turgor sua célula.

De acordo com Resnik e Chirife (1988), a faixa de atividade de água ideal para o crescimento microbiano geral varia entre 0,570 a 0,970. Observando a Figura 30, é possível notar que no início do experimento, os valores de a_w encontravam-se

elevados e dentro da faixa que permite a atividade microbiana. Já quando a atividade de água atingiu valores inferiores a 0,570, a umidade se encontrava abaixo de 20%, não permitindo nenhuma atividade microbiana. Quando a a_w atingiu valores abaixo de 0,950, considerados como inadequados para o crescimento de *E. coli* (MEASURES, 1975), a umidade estava em torno de 45%.

Figura 30 – Curvas de decaimento da umidade (%) e atividade de água (a_w) em lodo de esgoto puro ao longo de 28 dias de incubação em estufa a $42^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$



A correlação entre o decaimento da densidade de coliformes termotolerantes e as curvas de decaimento da umidade e da atividade de água evidenciam que estes fatores são, de fato, relevantes para a sobrevivência destes microrganismos e, ainda, pode-se dizer que quando os valores de umidade começam a cair, não necessariamente são acompanhados pela queda nos valores de atividade de água.

No Experimento 3, por exemplo, em determinado momento, quando a temperatura estava adequada para o crescimento de coliformes termotolerantes, a umidade poderia não ser considerada como a mais adequada para tal, porém os valores de atividade de água poderiam estar adequados, ocorrendo, assim, o aumento na densidade de coliformes como consequência das condições ambientais (temperatura e atividade de água) favoráveis.

Após o período de 28 dias de secagem do lodo, quando a umidade se encontrava menor que 5% e a atividade de água menor que 0,400, as amostras de lodo de esgoto foram armazenadas em temperatura ambiente. Passados sete e 30 dias em armazenamento, parte das amostras foram reidratadas para 70% de umidade, incubadas novamente em estufa a 42°C e mantidas lá por sete dias. Neste período, as amostras, que até então não exalavam nenhum odor e não apresentavam nenhuma característica de desenvolvimento microbiano, começaram a exalar um forte odor e suas características de cor e consistência foram se alterando, sendo notadas também a formação de colônias em sua superfície, conforme observado na Figura 31.

Porém, conforme pode-se observar na Tabela 19, não foi possível detectar a presença de coliformes termotolerantes em nenhuma das amostras analisadas (< 3 NMP mL⁻¹), o que indica que não houve recrescimento de coliformes após desidratação do material no processo de secagem, mesmo com posterior reidratação a 70% de umidade e incubação em estufa a 42°C $\pm$ 2°C.

Tabela 19 – Resultados analíticos da concentração de coliformes termotolerantes em amostras de lodo de esgoto sanitário reidratadas a 70% de umidade e incubação a 42°C $\pm$ 2°C após período de desidratação de 28 dias

Período após o encerramento da fase de secagem	Coliformes termotolerantes (NMP mL ⁻¹)			
	R1	R2	R3	R4
7 dias	< 3,00	< 3,00	< 3,00	< 3,00
30 dias	< 3,00	< 3,00	< 3,00	< 3,00

Os sinais de crescimento bacteriano observados na Figura 31, provavelmente foram consequência da germinação de esporos de bactérias e de fungos esporulantes, que produziram esporos, ficando estes em estado de latência até que as condições do meio voltassem a estar propícias para seu desenvolvimento, o que não é o caso de nenhuma das espécies do grupo de coliformes termotolerantes.

Figura 31 – Placa de Petri com amostra de lodo de esgoto reidratada a 70% de umidade e submetida a $42^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ em estufa, por período de sete dias. Detalhe para coloração ferrugem nas laterais da Placa de Petri e formação de algumas placas bacterianas/fúngicas acinzentadas na superfície do material



Sendo assim, apesar de ter ocorrido o recrescimento de coliformes termotolerantes durante a compostagem no Experimento 3, no Experimento 4 foi possível verificar que a secagem do material para valores abaixo de 20% de umidade reduz a atividade de água a tal ponto que caso os coliformes não sejam completamente inativados pela temperatura certamente serão pela dissecação. Pôde-se observar também que, mesmo caso o composto seja reidratado quando aplicado em campo, mesmo sob temperaturas ideais para a reprodução de coliformes termotolerantes, uma vez atingidos valores de atividade de água baixos o suficiente para dissecação dos coliformes durante a compostagem, estes não irão apresentar recrescimento.

7. CONCLUSÕES

1. A mistura de lodo de esgoto com casca de arroz não se mostrou adequada para compostagem. Já nas pilhas de lodo de esgoto com casca de eucalipto e bagaço de cana-de-açúcar, o processo de compostagem ocorreu de forma adequada, não apresentando diferenças de temperatura entre o topo, o meio e a base das pilhas.
2. Dentre os métodos avaliados para determinação da quantidade de ovos viáveis de *Ascaris* spp. por grama do lodo de esgoto estudado, apenas no método desenvolvido pela USEPA foi possível realizar a identificação e contagem.
3. A presença de *Salmonella* spp. foi observada apenas em ocorrências isoladas nos primeiros dias de compostagem. Ao final dos 45 dias de compostagem de lodo de esgoto com casca de eucalipto e 60 dias de compostagem de lodo de esgoto com bagaço de cana-de-açúcar, tanto os números de coliformes termotolerantes quanto os de ovos viáveis de *Ascaris* spp. apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação pertinente, concluindo-se, assim, que a compostagem foi eficiente na higienização do material.
4. Foi possível observar que a umidade e a atividade de água, apesar de estarem correlacionadas à densidade de coliformes termotolerantes, não apresentam as mesmas curvas de decaimento.

REFERÊNCIAS

- ALEM SOBRINHO, P. Tratamento de esgoto e geração de lodo. In: TSUTIYA, M. T. et al (Ed.). **Biossólidos na Agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. Cap. 2. p. 7-40.
- ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S.; FERNANDES, F. Disposição do lodo no solo. In: ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. (Ed.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. 2. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2014. Cap. 8. p.317 -395.
- BERTON, R. S.; NOGUEIRA, T. A. R. Uso do lodo de esgoto na agricultura. In: COSCIONE, A. R.; NOGUEIRA, T. A. R. (Org.). **Uso agrícola de lodo de esgoto: avaliação após a Resolução nº 375 do CONAMA**. 21. ed. Botucatu: FEPAF, 2010. Cap. 2. p. 31-50.
- BETTIOL, W. et al. Impacto Ambiental do Uso Agrícola do Lodo de Esgoto: Descrição do Estudo. In BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2006. Cap. 1. p. 17-24.
- BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A Disposição de Lodo de Esgoto em Solo Agrícola. In BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2006. Cap. 2. p. 25-36.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Impacts of Sewage Sludge in Tropical Soil: A Case Study in Brazil. **Applied And Environmental Soil Science**, v. 2011, p.1-11, 2011.
- BOISVENUE, R. J. Effects of aeration and temperature *in vitro* and *in vivo* studies on developing and infective eggs of *Ascaris suum*. **J. Helminthol. Soc. Wash**, v. 7, p. 51-56, 1990.
- BOWMAN, D. D.; LITTLE, M. D.; REIMERS, R. S. Precision and accuracy of an assay for detecting *Ascaris* eggs in various biosolid matrices. **Water Research**, v. 37, n. 9, p.2063-2072, maio 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0043-1354\(02\)00597-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0043-1354(02)00597-3).
- BRASIL. Resolução nº 481, de 3 de outubro de 2017. Estabelece critérios e procedimentos para garantir o controle e a qualidade ambiental do processo de compostagem de resíduos orgânicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n.191, p. 51, 4 out. 2017. Seção 1.
- BRASIL. **Instrução Normativa nº 7, de 12 de abril de 2016**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, Brasília, DF, 2016.
- Brasil. **Manual de Métodos Analíticos Oficiais par Fertilizantes e Corretivos**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2014. 220 p. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/arquivos-publicacoes-laboratorio/manual-_in-5_-analiticos-oficiais-para-fertilizantes-e-corretivos_com_capa_final_03.pdf>. Acesso em: 03 dez. 2018.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 25, de 23 de julho de 2009.** Dispõe sobre as normas sobre as especificações e as garantias, as tolerâncias, o registro, a embalagem e a rotulagem dos fertilizantes orgânicos simples, mistos, compostos, organominerais e biofertilizantes destinados à agrivicultura. Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília, DF, 2009.

BRASIL. Resolução nº 375, de 29 de agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n.167, p. 141-146, 30 ago. 2006. Seção 1.

BRASIL. **Instrução Conjunta Normativa nº 23, de 14 de setembro de 2005.** ANVISA e IBAMA, Brasília, DF, 2005.

BRASIL. Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004. Dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, ou biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas destinados à agricultura. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF.

BRISOLARA, K. F.; SANDBERG, M. A. Biosolids and Sludge Management. **Water Environment Research**, v. 86, n. 10, p.1274-1283, 1 out. 2014.

CARRINGTON, E. G. **Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction:** Final report. Luxembourg: European Commission Directorate-general Environment, 2001. Disponível em: http://ec.europa.eu/environment/archives/waste/sludge/pdf/sludge_eval.pdf. Acesso em: 05 ago. 2013.

CARVALHO, P. de C. T. de. Compostagem. In: TSUTIYA, M. T. et al (Ed.). **Biossólidos na Agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. Cap. 6. p. 181-208.

CARVALHO, P. de C. T.; BARRAL, M. F. Aplicação de lodo de esgoto como fertilizante. **Fertilizantes**. São Paulo, v.3, n.2. 1981.

CARVALHO, P. de C. T. de; CARVALHO, F. J. P de C. Legislação sobre biossólidos. In: TSUTIYA, M. T. et al (Ed.). **Biossólidos na Agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. Cap. 7. p. 209-226.

CETESB. **Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas:** critérios para projeto e operação. Norma P. 4230, 32p. São Paulo, Agosto, 1999.

CHEUNG, K. H. M.; LANG, N. L.; SMITH, S. R. The Effects of Centrifugation Dewatering on *Escherichia coli* Numbers in Digested Sewage Sludge. **Proceeding of the Joint CIWEM Aqua Enviro Technology Transfer 8th European Biosolids and Organic Residuals Conference**. Wakefield, Nov 24–26. 2003.

COX, N.A. et al. *Salmonella*. In: SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M.L. (Eds). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 5th Ed. Washington: Apha, 2015. p. 445-463.

DE BOOR, C. A **Practical Guide to Splines**, Springer-Verlag, New York, 1978.

DUMONTET, S.; DINEL, H.; BALODA, S. B. Pathogen Reduction in Sewage Sludge by Composting and Other Biological Treatments: A Review. **Biological Agriculture & Horticulture**: An International Journal for Sustainable Production Systems, 16:4, 409-430, 1999.

EDMONDS, R. L. Microbial aspects of residuals use in forest ecosystems. In: HENRY, C. L.; HARRISON, R. B.; BASTIAN, R. K. **The forest alternative**: Principles and practice of residuals use. Seattle: University of Washington, 2000. p. 39-44.

EFRON, B.; TIBISHIRANI, R. J. **An introduction to the bootstrap**. Washington: Chapman & Hall, 1993. 456 p.

ERDAL, Z. K. et al. Maintaining Class B Biosolids Post-Dewatering Through Low-Level Lime Dosing. **Proceedings of the 77th Annual Water Environment Federation Technical Exhibition and Conference**. WEF: New Orleans, Oct 2–6. 2004.

ERDAL, Z. K. et al. Implementing Improvements in a North Carolina Residuals Management Program. **Proceedings of the WEF/AWWA/CWEA Joint Residuals and Biosolids Management Conference**. Baltimore, Maryland. 2003.

FARIA, M. F. de et al. Persistence of *Ascaris* spp. Ova in Tropical Soil Cultivated with Eucalyptus and Fertilized with Municipal Biosolids. **Journal Of Environment Quality**, v. 46, n. 3, p.522-527, 2017. American Society of Agronomy. <http://dx.doi.org/10.2134/jeq2016.08.0305>.

FEACHEM, R.G. et al. Survival of pathogenic microorganisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. **Revue Scientifique Technique Office International Epizooties**, 10, 813-846, 1983.

FEIX, I.; WIART, J. **Les agents pathogenes**: Connaissances et maîtrise des aspects sanitaires de l'épandage des boues d'épuration des collectivités locales. ADEME, 1998. 75 p.

FERNANDES, F. Estabilização e higienização de biossólidos. In: **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgotos**. Editora Embrapa Meio Ambiente, 2000.

FERNANDES, F.; SILVA, S. M. C. P. da. **Manual prático para compostagem de biossólidos**. Londrina: UEL - Universidade Estadual de Londrina, 1999. 91 p.

FINSTEIN, M. et al. Composting ecosystem management for waste treatment. In **Biological Reclamation and Land Utilization of Urban Wastes**. Proceedings of the International Symposium, pp. 310-313. Naples, October 11-14, 1983.

GANTZER, C. et al. Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatment of sludge. **Water Resource**, v. 35, n. 16, p.3763-3770, 2001.

GRANT, E. J. et al. Pathogen risks in land-applied biosolids. **AWA Water**, v. 39, pp. 72-78, 2012.

HACHICH, E. M. et al. A Resolução CONAMA 375/2006, a densidade de agentes patogênicos no lodo de esgoto sanitário e os solos agrícolas: uma relação produtiva ou restritiva?. **SANEAS**, São Paulo, v. 1, n. 4, p.41-44, dez. 2017. Trimestral.

HENDRICKSON, D. et al. Reactivation of Fecal Coliforms after Anaerobic Digestion and Dewatering. **Proceedings of the Water Environment Federation Annual Biosolids and Residuals Conference**. WEF: Salt Lake City. 2006.

HENRY, C. L.; VAN HAM, M. D. Biosolids management in the pacific northwest: an overview of land application programs. In: LAND TREATMENT COLLECTIVE MEETING, 14, 1996, Canberra. **Proceedings...** Canberra: CSIRO Forestry & Forest Products, 1996. p. 1 - 6.

HESPANHOL, I. Saúde pública e reúso agrícola de esgotos e biossólidos. In: MANCUSO, P. C. S.; SANTOS, H. F. **Reúso de Água**. Barueri: Editora Manole Ltda., 2003. Cap. 4. p. 97-124.

IRANPOUR, R. et al. Production of EQ Biosolids at Hyperion Treatment Plant: Problems and Solutions for Reactivation/Growth of Fecal Coliforms. **Proceedings of the 76th Annual Water Environment Federation Technical Exhibition and Conference**. WEF: Los Angeles, Oct 11–15. 2003.

IRANPOUR, R. et al. Effects of Dewatering on Bacterial Inactivation: Centrifuge Simulation and Field Tests at the Hyperion Treatment Plant. **Proceedings of the 75th Annual Water Environment Federation Technical Exhibition and Conference**. WEF: Chicago, Sep 28–Oct 2. 2002.

JOLIS, D. Regrowth of Fecal Coliforms in Class A Biosolids. **Water Environ. Res.**, v. 78, p. 442–446, 2006.

KIEHL, E. J. **Manual de compostagem**: Maturação e qualidade do composto. 4. ed. Piracicaba: USP, 2004. 173 p.

KORNACKI, J.L.; GURTNER, J.B.; STAWICK, A. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M.L. (Eds). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 5th Ed. Washington: Apha, 2015. p. 103-112.

KOWAL, N. E. Health considerations in applying minimum treated wastewater to land. In: BROWN, K. W. **Utilization, treatment, and disposal of waste on land**. Madison: Soil Science Society of America, 1986. p. 27-51.

LEBUHN, M. et al. A. Hygenization by Anaerobic Digestion: Comparison between Evaluation by Cultivation and Quantitative Real-Time PCR. **Water Sci. Technol.**, v. 52, p. 93–99, 2005.

LUDUVICE, M. Processos de estabilização de lodos. In: ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. (Ed.). **Lodo de esgotos**: tratamento e disposição final. 2. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2014. Cap. 4. p.121 -155.

MALINA, J. F. Tratamento e destino final do lodo. In: **II Seminário de Transferência de Tecnologia**. ABES: Rio de Janeiro. 1993.

MATA-ALVAREZ, J.; MACÉ, S.; LLABRÉS, P. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 74, p.3-16, 2000.

MATOS, A. T. de et al. Compostagem de alguns resíduos orgânicos utilizando-se águas residuárias de suinocultura como fonte de nitrogênio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 2, p.199-203, 1998.

MEASURES, J. C. Role of amino acids in osmoregulation of nonhalophilic bacteria. **Nature**, v. 257, p. 398-400, 1975.

METCALF; EDDY. **Wastewater engineering: Treatment, disposal and reuse**. 3. Ed. Editora McGraw-Hill, Inc., 1991.

MEXICO. Norma Oficial (1997). Norma Oficial nº NOM-003-ECOL-1997, de 22 de abril de 1998. **Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997**. Ciudad del Mexico, 21 set. 1998.

MIKI, M. K.; ANDRIGUETI, E. J.; SOBRINHO, P. A. Tratamento da fase sólida e estações de tratamento de esgoto. In: TSUTIYA, M. T. et al (Ed.). **Biossólidos na Agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001. Cap. 3. p. 41-88.

MONTELEONE, M. C. et al. Fate of *E. coli* Across Mechanical Dewatering Processes. **Environ. Technol.**, v. 25, p. 825–831, 2004.

NAFEZ, A. H. et al. Sewage sludge composting: quality assessment for agricultural application. **Environmental Monitoring And Assessment**, v. 187, n. 11, 27 out. 2015. Springer Science + Business Media.

NGOLE, V.; MPUCHANE, S.; TOTOLLO, O. Survival of faecal coliforms in four different types of sludge-amended soils in Botswana. **European Journal of Soil Biology**, v. 42, p.208-218, abr. 2006.

NRC – National Research Council. **Use of reclaimed water and sludge in food crop production**. Committee on the Use of Treated Municipal Wastewater Effluents and Sludge in the Production of Crops for Human Consumption. National Academy Press: Washington, D.C., 1996.

PECSON, B. M. et al. The effects of temperature, pH, and ammonia concentration on the inactivation of *Ascaris* eggs in sewage sludge. **Water Research**, v. 41, n. 13, p.2893-2902, jul. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2007.03.040>.

PEDROZA, M. M. et al. Produção e tratamento de lodo de esgoto: Uma revisão. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 11, n. 16, p.89-188, jul. 2010. Semestral.

PEPPER, I. L.; BROOKS, J. P.; GERBA, C. P. Pathogens in Biosolids. **Advances In Agronomy**, p.1-41, 2006. Elsevier BV. doi: 10.1016/s0065-2113(06)90001-7.

PINTO, M. T. Higienização de lodos. In: ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. (Ed.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. 2. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2014. Cap. 6. p.259 -295.

PRABHAKAR, K.; MALLIKA, E. N. Water Activity. **Encyclopedia Of Food Microbiology**, p.751-754, 2014. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-384730-0.00435-3>.

QI, Y.; DENTEL, S. K.; HERSON, D. S. Effect of total solids on fecal coliform regrowth in anaerobically digested biosolids. **Water Research**, v. 42, n. 14, p.3817-3825, ago. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2008.06.001>.

RESNIK, S. L.; CHIRIFE, J. Proposed Theoretical Water Activity Values at Various Temperatures for Selected Solutions to be Used as Reference Sources in the Range of Microbial Growth. **Journal Of Food Protection**, v. 51, n. 5, p.419-423, maio 1988. International Association for Food Protection. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028x-51.5.419>.

ROCHA, M. C. V. da; BARÉS, M. E.; BRAGA, M. C. B. Quantification of viable helminth eggs in samples of sewage sludge. **Water Research**, v. 103, p.245-255, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.07.039>.

ROOS, Y.H. Water Activity: Principles and Measurement. **Encyclopedia Of Food Sciences And Nutrition**, p.6089-6094, 2003. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b0-12-227055-x/01274-8>.

RUSS, C.F.; YANKO, W.A. Factors affecting *Salmonellae* repopulation in composted sludges. **Applied and Environmental Microbiology**, 41, 597-602, 1981.

SANEPAR. **Manual Técnico para utilização agrícola do lodo de esgoto no Paraná**. SANEAR: 1997. 96p.

SATCHWELL, M. G. An adaptation of concentration techniques for the enumeration of parasitic helminth eggs from sewage sludge. **Water Research**, v. 20, p. 813-816, 1986.

SCOTT, W. J. Water relations of *Staphylococcus aureus* at 30°C. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 6, p. 549-564, 1953.

SCOTT, W. J. Water relations of food spoilage microorganisms. **Adv. Food Res.**, v. 7, p. 83-127, 1957.

SEBER, G. A. F.; WILD, C.J. **Nonlinear regression**. New York: John Wiley & Sons, 2003. 768p.

SIDHU, J; TOZE, S. Human pathogens and their indicators in biosolids: A literature review. **Environment International**, v. 35, n. 1, p.187-201, jan. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2008.07.006>.

SILVA, M. C. P da et al. Principais contaminantes do lodo. In: ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. (Ed.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. 2. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2014. Cap. 3. p. 67-119.

SIMATOS, D.; ROUDAUT, G.; CHAMPION, D. Water in Dairy Products: Analysis and Measurement of Water Activity. **Encyclopedia Of Dairy Sciences**, p.715-726, 2011. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-374407-4.00493-3>.

SINGH, R. P; AGRAWAL, M. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. **Waste Management**, v. 28, p.347-358, fev. 2007.

SPERBER, W. H. Influence of Water Activity on Foodborne Bacteria: A Review. **Journal Of Food Protection**, Minneapolis, v. 46, n. 2, p.142-150, fev. 1983.

STENTIFORD, E. Recent development in composting. In: DE BERTOLDI, M. et al. (Ed.). *Compost: Production, Quality and Use*. Elsevier Applied Science; London & New York, 1986. p. 52-60.

THOMAZ-SOCCOL, V. et al. Organismos patogênicos presentes em lodo de esgoto a ser aplicado no solo e a Resolução nº 375 do CONAMA. In: COSCIONE, A. R.; NOGUEIRA, T. A. R.; PIRES, A. M. M. **Uso agrícola do lodo de esgoto: avaliação após a Resolução nº 375 do CONAMA**. Botucatu: FEPAF, 2010. p. 83-111.

THOMAZ-SOCCOL, V.; PAULINO, R. C. Riscos de contaminação do agrossistema com parasitos pelo uso do lodo de esgoto. In: **Impacto Ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. Cap. 15.

THOMAZ-SOCCOL, V.; PAULINO, R. C.; CASTRO, E. A. Helminth eggs viability in sewage and biosolids sludge in Curitiba, Parana, Brazil. **Brazilian Arch. of Biol. and Technol.**, vol. 40, n. 4, p. 829-836, 1997.

TSUTIYA, M. T. Características de biossólidos gerados em estações de tratamento de esgotos. In: TSUTIYA, M. T. et al (Ed.). **Biossólidos na Agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001a. Cap. 4. p. 89-132.

TSUTIYA, M. T. Alternativas de disposição final de biossólidos. In: TSUTIYA, M. T. et al (Ed.). **Biossólidos na Agricultura**. São Paulo: Sabesp, 2001b. Cap. 5. p. 133-180.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Method for the recovery and assay of total culturable viruses from sludge** In: Environmental Regulations and Technology. Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge. EPA/625/R-092/013. Jul. 2003.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. CFR PART 503. **Standards for the use or disposal of sewage sludge**. 1997.

VON SPERLING, M.; ANDREOLI, C. V. Introdução. In: ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. (Ed.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. 2. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2014. Cap. 1. p. 11-14.

WEF - WATER ENVIRONMENT FEDERATION (USA). **Reactivation and Regrowth of Fecal Coliforms in Anaerobically Digested Biosolids**. Alexandria: WEF, 2006. 50 p. Technical Practice Update.

WERF – WATER ENVIRONMENT RESEARCH FOUNDATION (USA). **Examination of Reactivation and Regrowth of Fecal Coliforms in Centrifuge Dewatered, Anaerobically Digested Sludges**. Report 03-CTS-13T. WERF: Alexandria. 2006a.

WERF – WATER ENVIRONMENT RESEARCH FOUNDATION (USA). Progress Report for WERF Project: 04-CTS-3T. In: **Understanding Mechanisms and Methods to Mitigate Survival, Reactivation and Regrowth of Viable but Nonculturable Coliforms**. WERF: Alexandria. 2006b.

ZALESKI, K. L. et al. Potential regrowth and recolonization of *Salmonella* and indicators in biosolids and biosolid amended soil. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 71, pp. 3701-3708, 2005.