

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE FARMÁCIA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE E DERIVADOS**

LEANDRO PEREIRA LOPES SERRANO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA COMPOSTAGEM SOBRE A VIABILIDADE DE
MICRORGANISMOS INDICADORES EM CARÇAÇAS DE BOVINOS**

Juiz de Fora
2019

LEANDRO PEREIRA LOPES SERRANO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA COMPOSTAGEM SOBRE A VIABILIDADE DE
MICROORGANISMOS INDICADORES EM CARÇAÇAS DE BOVINOS**

Dissertação submetida ao Programa de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora, em parceria com a EMBRAPA Gado de Leite, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Dr. Marcelo Henrique Otenio
Co-orientador: Dr. João Batista Ribeiro

Juiz de Fora
2019

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Serrano, Leandro Pereira Lopes.

Avaliação do efeito da compostagem sobre a viabilidade de microrganismos indicadores em carcaças de bovinos / Leandro Pereira Lopes Serrano. -- 2019.

124 f. : il.

Orientadora: Marcelo Henrique Otenio

Coorientador : João Batista Ribeiro

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, 2019.

1. mortalidade de animais. 2. Processo aeróbio. 3. Bactérias patogênicas. 4. Biocomposto. I. Otenio, Marcelo Henrique , orient. II. Ribeiro, João Batista, coorient. III. Título.

LEANDRO PEREIRA LOPES SERRANO

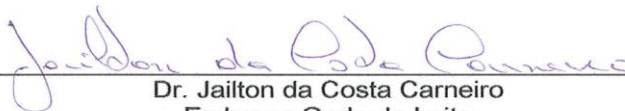
Avaliação do efeito da compostagem sobre a viabilidade de microrganismos indicadores em carcaças de bovinos

Orientador: Dr. Marcelo Henrique Otenio
Co-orientador: Dr. João Batista Ribeiro

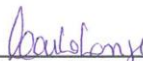
Dissertação de Mestrado do Programa de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Aprovada em 28/02/2019

BANCA EXAMINADORA



Dr. Jailton da Costa Carneiro
Embrapa Gado de Leite



Dra. Carla Christine Lange
Embrapa Gado de Leite



Dr. João Batista Ribeiro
Embrapa Gado de Leite



Dr. Marcelo Henrique Otenio
Embrapa Gado de Leite

Juiz de Fora
2019

Aos meus pais, Jorge e Alice, por nunca medirem esforços, por sempre estarem presentes em minha formação, e as minhas filhas Milena e Manuela, pela minha ausência para dedicação desse trabalho.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à Deus, por me fornecer forças para enfrentar o árduo caminho na realização e conclusão dos estudos realizados para obter a aprovação do curso de pós-graduação do Programa de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora, em parceria com a EMBRAPA Gado de Leite. Em seguida aos profissionais da Embrapa Gado de Leite, principalmente na Fazenda Experimental de Santa Mônica e no Laboratório Microbiológico do Rúmen, pelo apoio no trabalho realizado.

Agradeço a Vanessa de Paula, por estar presente na construção das pilhas de compostagem e nas coletas das amostras destinadas as análises microbiológicas. Enfrentando sol e chuva na fazenda experimental de Santa Mônica. Ao meu orientador, Marcelo Henrique Otenio pela dedicação, ensinamentos e paciência pela tarefa de me orientar. E ao meu co-orientador, João Batista, por estar presente na elaboração do trabalho prático no desenvolvimento do procedimento, em exemplo pela liofilização dos microrganismos, ficando ao meu lado até as duas horas da madrugada, com o objetivo de se ter a melhor resposta nos estudos realizados.

A minha sobrinha, Ana Carolina, por me acolher em sua residência no período em que estava envolvido no programa de pós-graduação.

Aos componentes da banca examinadora, por se dedicarem em contribuir intelectualmente para o aprimoramento deste trabalho.

Enfim, às pessoas que aqui não foram citadas, mas que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho.

Muito obrigado!

Os microrganismos e macrorganismos presentes em uma compostagem, confirma a teoria da Lei de Lavoisier, que diz: “*na natureza, nada se cria, nada se perde, tudo se transforma*”. Sustentabilidade é a solução para todos os seguimentos, principalmente para pequenos produtores da cadeia leiteira.

Leandro Serrano

RESUMO

Produtores rurais de pequeno e médio porte, principalmente agropecuaristas têm dificuldade em destinar as carcaças dos animais mortos. Em muitos casos, elas são descartadas em valas, queimadas, jogadas em rios ou enterradas sem cuidados adequados, causando problemas ambientais. Podendo levar à contaminação de patógenos em animais e até mesmo no ser humano. Uma alternativa, que vem sendo adotada, é a compostagem, um processo biológico de decomposição da matéria orgânica realizado pelos microrganismos que reciclam resíduos, produzindo um biocomposto, que quando produzido adequadamente, serve como insumo para produção agrícola. O aumento do crescimento da atividade na pecuária bovina, no Brasil, resulta, naturalmente, em aumento nos casos de mortes por motivos naturais ou por fenômeno da natureza. A compostagem de carcaça de bovinos, é eficaz na decomposição da matéria. Nesse processo ocorre a decomposição de toda a massa corpórea. A umidade e a elevada temperatura, acompanhada pelo processo aeróbico natural, propicia a digestão realizada pelos microrganismos. Foram introduzidas esferas plásticas no interior da compostagem e das carcaças dos animais, contendo microrganismos patogênicos liofilizados, com a intenção de monitorar a eficiência da compostagem. As análises microbiológicas realizadas mostraram que a compostagem interfere na presença de microrganismos. E que a massa orgânica gerada pela compostagem apresenta segurança microbiológica, o que indica o biocomposto para utilização na agricultura como fertilizante.

Palavras-chave: mortalidade animal, processo aeróbio, bactérias patogênicas, biocomposto

ABSTRACT

Farmers of small and medium business, mainly cattle raisers, face difficulty to destinate the carcasses of dead animals. In many cases, this carcass are discarded in ditches, burnt, thrown in rivers or buried, without proper care, causing environmental problems. This kind of procedure may lead to contamination of pathogens to animals and even to humans. An alternative which has been adopted is composting, a biological process of organic material decomposition, by microorganisms, that recycles waste, producing a bio-compost that when properly produced can be used as input for agricultural production. In Brazil, the growth of cattle raising represents an increase in animal deaths due to natural or accidental causes. The composting of bovine carcasses aims at certifying this process efficiency in decomposing them. In this process the whole body mass occurs. Moisture and high temperature followed by aerobic natural process propitiates digestion by microorganisms. We introduced plastic spheres into the composting of animal carcasses containing lyophilized pathogen microorganisms intending to monitor the composting efficiency. The microbiological tests carried out showed that composting interferes with the presence of microorganisms, and the organic mass generated by composting presents microbiological safety, which indicates this bio composite to be used as fertilizer in agriculture.

Keywords: animal mortality, aerobic process, pathogenic bacteria, bio-compost

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Fases da Compostagem.....	42
Figura 2: Local da compostagem.....	48
Figura 3: Formação inicial da compostagem	49
Figura 4: Bambu triturado, seco à sombra	49
Figura 5: Proteção com cerca elétrica ao redor da leira de compostagem.....	50
Figura 6: Esfera plástica perfurada para inoculação na compostagem com envelopes de nylon, contendo no interior deles microrganismos liofilizados com identificação individual (QUADRO 2).....	51
Figura 7: Detalhe do tecido de nylon e a identificação no interior de cada envelope.	52
Figura 8: Local por onde foram realizadas as aferições de temperatura no interior da compostagem.....	56
Figura 9: Material do interior das esferas inoculadas. No centro da foto, o bambu utilizado no interior das esferas plásticas, denominado bambu esfera.....	57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Identificação das esferas plásticas.	51
Quadro 2: Identificação das bactérias liofilizadas.	55
Quadro 3: Meios de cultura utilizados	58
Quadro 4: Meios de cultura seletivos.	59
Quadro 5: Meios de cultura seletivos para identificação de <i>Salmonella</i> spp	60
Quadro 6: Interpretação de resultado do meio de cultura semi-sólido SIM	61
Quadro 7: Interpretação do teste de Catalase.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Média das temperaturas dos meses de Junho, Julho e Agosto	66
Tabela 2: Média da umidade ambiente dos meses de Junho, Julho e Agosto	67
Tabela 3: Resultados das análises de pH durante o processo de compostagem bovina.....	67
Tabela 4: Resultados das análises de teor de umidade durante o processo de compostagem bovina em porcentagem %.....	68
Tabela 5: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, primeira coleta (7 dias de compostagem).	70
Tabela 6: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, segunda coleta (14 dias de compostagem).	71
Tabela 7: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, terceira coleta (30 dias de compostagem).	71
Tabela 8: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, quarta coleta (60 dias de compostagem).	72
Tabela 9: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, quinta coleta (90 dias de compostagem).	73
Tabela 10: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, primeira coleta (7 dias de compostagem).	74
Tabela 11: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, segunda coleta (14 dias de compostagem).....	75
Tabela 12: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, terceira coleta (30 dias de compostagem).....	75
Tabela 13: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, quarta coleta (60 dias de compostagem).	76
Tabela 14: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, quinta coleta (90 dias de compostagem).....	77
Tabela 15: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca no bambu entorno da esfera plástica inoculada, primeira coleta (7 dias de compostagem).....	78
Tabela 16: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca no bambu entorno da esfera plástica inoculada, segunda coleta (14 dias de compostagem).....	79

Tabela 17: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca no bambu entorno da esfera plástica inoculada, terceira coleta (30 dias de compostagem).....	79
Tabela 18: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca no bambu entorno da esfera plástica inoculada, quarta coleta (60 dias de compostagem).....	80
Tabela 19: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca no bambu entorno da esfera plástica inoculada, quinta coleta (90 dias de compostagem).....	81
Tabela 20: Média da temperatura dos meses de Novembro, Dezembro, Janeiro e Fevereiro	82
Tabela 21: Média da umidade ambiente dos meses de Novembro, Dezembro, Janeiro e Fevereiro	82
Tabela 22: Resultados das análises de pH durante o processo de compostagem bovina.....	83
Tabela 23: Resultados das análises de teor de umidade durante o processo de compostagem bovina	83
Tabela 24: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, primeira coleta (7 dias de compostagem).	85
Tabela 25: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, segunda coleta (14 dias de compostagem).	85
Tabela 26: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, terceira coleta (30 dias de compostagem).	86
Tabela 27: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, quarta coleta (60 dias de compostagem).....	88
Tabela 28: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios da esfera, quinta coleta (90 dias de compostagem).	88
Tabela 29: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, primeira coleta (7 dias de compostagem).	90
Tabela 30: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, segunda coleta (14 dias de compostagem).....	90
Tabela 31: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, terceira coleta (30 dias de compostagem).	91

Tabela 32: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, quarta coleta (60 dias de compostagem).	92
Tabela 33: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, quinta coleta (90 dias de compostagem).....	93
Tabela 34: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, primeira coleta (7 dias de compostagem).	94
Tabela 35: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, segunda coleta (14 dias de compostagem).....	95
Tabela 36: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, terceira coleta (30 dias de compostagem).	96
Tabela 37: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, quarta coleta (60 dias de compostagem).	96
Tabela 38: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, quinta coleta (90 dias de compostagem).....	97

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Valores de pH durante o processo de compostagem bovina.....	68
Gráfico 2: Valores do teor de umidade durante o processo de compostagem bovina.	69
Gráfico 3: Valores da temperatura gerada no interior da compostagem durante seu processo.....	69
Gráfico 4: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, com 7 dias de compostagem	70
Gráfico 5: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, com 14 dias de compostagem	71
Gráfico 6: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, com 30 dias de compostagem	72
Gráfico 7: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, com 60 dias de compostagem	72
Gráfico 8: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, com 90 dias de compostagem	73
Gráfico 9: Resultados geral as análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios.....	73
Gráfico 10: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, com 7 dias de compostagem.....	74
Gráfico 11: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, com 14 dias de compostagem.....	75
Gráfico 12: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, com 30 dias de compostagem.....	76
Gráfico 13: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, com 60 dias de compostagem.....	76
Gráfico 14: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, com 90 dias de compostagem.....	77
Gráfico 15: Resultados geral das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera	77
Gráfico 16: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu entorno da esfera plástica inoculada, com 7 dias de compostagem.....	78

Gráfico 17: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu entorno da esfera plástica inoculada, com 14 dias de compostagem.....	79
Gráfico 18: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu entorno da esfera plástica inoculada, com 30 dias de compostagem.....	80
Gráfico 19: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu entorno da esfera plástica inoculada, com 60 dias de compostagem.....	80
Gráfico 20: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu entorno da esfera plástica inoculada	81
Gráfico 21: Resultados geral das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu entorno da esfera plástica inoculada, com 90 dias de compostagem.....	81
Gráfico 22: Valores de pH durante o processo de compostagem bovina.....	83
Gráfico 23: Valores do teor de umidade durante o processo de compostagem bovina.....	84
Gráfico 24: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, com 7 dias de compostagem.....	85
Gráfico 25: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, com 14 dias de compostagem.....	86
Gráfico 26: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, com 30 dias de compostagem	87
Gráfico 27: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, com 60 dias de compostagem	88
Gráfico 28: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, com 90 dias de compostagem.....	89
Gráfico 29: Resultados geral das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios.	89
Gráfico 30: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, com 7 dias de compostagem.....	90
Gráfico 31: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, com 14 dias de compostagem.....	91

Gráfico 32: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, com 30 dias de compostagem.....	91
Gráfico 33: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, com 60 dias de compostagem.....	92
Gráfico 34: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, com 90 dias de compostagem.....	93
Gráfico 35: Resultados geral das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera	94
Gráfico 36: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, com 7 dias de compostagem.....	95
Gráfico 37: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, com 14 dias de compostagem.....	95
Gráfico 38: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, com 30 dias de compostagem.....	96
Gráfico 39: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, com 60 dias de compostagem.....	97
Gráfico 40: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, com 90 dias de compostagem.....	98
Gráfico 41: Resultados geral das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno	98

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aw - Atividade de água

BHI - *Brain Heart Infusion*

CTC - Capacidade de Troca de Cátions

CVI ou CV-I - Cristal Violeta-Iodo

DTAs - Doenças Transmitidas por Alimentos

EMB - *Eosin Methylene Blue*

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

GEE's - Gases de Efeito Estufa

ICMSF - *International Commission on Microbiological Specifications for Foods*

SDA - Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura

SIM - Sulfeto de hidrogênio, Indol e Motilidade

SS - *Salmonella Shigella*

UTFPR - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

VRB - VIOLET RED BILE

XLD - Desoxicolato-lisina-xilose

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
2 OBJETIVOS	24
2.1 OBJETIVO GERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
3.1 DEFINIÇÃO DE COMPOSTAGEM	25
3.2 MICRORGANISMOS INDICADORES PRESENTE NO MEIO AMBIENTE	26
3.3 CARACTERÍSTICAS DE MICRORGANISMOS PRESENTES EM COMPOSTAGEM	27
3.4 MICRORGANISMOS INDICADORES PROPOSTOS PARA ACOMPANHAMENTO DO PROCESSO DE COMPOSTAGEM	28
3.4.1 <i>Echerichia coli</i>	29
3.4.2 <i>Enterococcus faecalis</i>	30
3.4.3 <i>Pseudomonas aeroginosa</i>	31
3.4.4 <i>Listeria monocytogenes</i>	32
3.4.5 <i>Streptococcus uberis</i>	33
3.4.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	33
3.4.7 <i>Bacillus cereus</i>	34
3.4.8 <i>Salmonella Typhimurium</i>	35
3.5 UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM COMPOSTAGEM	36
3.6 DECOMPOSIÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA PELO PROCESSO DE COMPOSTAGEM	37
3.6.1 Ciclos de nutrientes	38
a) Ciclo do Carbono	38
b) O ciclo do nitrogênio	40
3.7 IMPORTÂNCIA DA TEMPERATURA DURANTE O PERÍODO DE	

DECOMPOSIÇÃO NO INTERIOR DA COMPOSTAGEM	41
3.8 IMPORTÂNCIA DA UMIDADE, DO PH, DE OXIGÊNIO E GRANULOMETRIA NO PROCESSO DE DECOMPOSIÇÃO NA COMPOSTAGEM	43
3.8.1 Umidade	43
3.8.2 pH.....	44
3.8.3 Oxigênio	45
3.8.4 Granulometria.....	45
3.9 BAMBU	45
3.10 UTILIZAÇÃO DO BIOCOMPOSTO GERADO PELA COMPOSTAGEM NA AGRICULTURA.....	46
3.11 REGULAMENTAÇÃO NA DESTINAÇÃO DE ANIMAIS MORTOS.....	46
3.12 MÉTODOS INDICADOS PARA DESTINAÇÃO DE CARCAÇAS DE ANIMAIS	47
4 MATERIAL E MÉTODOS	48
4.1 MONTAGEM DA COMPOSTAGEM	48
4.2 MONTAGEM DAS ESFERAS PLÁSTICAS CONTENDO MICRORGANISMOS LIOFILIZADOS	50
4.3 CARACTERÍSTICA DO ENVELOPE ONDE FORAM ACONDICIONADOS OS MICRORGANISMOS.....	52
4.4 ESPECIFICAÇÃO DA ESFERA PLÁSTICA UTILIZADA NA INOCULAÇÃO NAS CARCAÇAS BOVINAS.....	52
4.5 PROCEDIMENTO PARA PREPARAÇÃO DE INÓCULO DE MICRORGANISMOS INDICADORES PARA INCUBAÇÃO EM CARÇAÇA BOVINA EM PILHAS DE COMPOSTAGEM.....	53
4.6 TÉCNICA DO PROCEDIMENTO DE LIOFILIZAÇÃO DO CULTIVO BACTERIANO	54
4.7 TÉCNICA PARA AVALIAÇÃO QUALITATIVA (PUREZA) E QUANTITATIVA (UFC/mg) DA LIOFILIZAÇÃO DO CULTIVO BACTERIANO	54
4.8 PREPARO DAS LINHAGENS BACTERIANAS PARA INSERÇÃO NAS	

PILHAS DE COMPOSTAGEM	54
4.9 CONTROLE POSITIVO DO PROCEDIMENTO DE RECONSTITUIÇÃO	55
4.10 CONTROLE DA TEMPERATURA NO INTERIOR DA COMPOSTAGEM	55
4.11 COLETA DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS NAS PILHAS DE COMPOSTAGEM PARA ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS E FÍSICO-QUÍMICAS	56
4.12 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISES DAS ESFERAS.....	57
4.13 ANALISE MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS.....	57
4.13.1 Análise microbiológica utilizando meio de cultura de enriquecimento: Caldo Água Peptonada Tamponada 10%	60
4.13.2 Análise microbiológica utilizando meio de cultura de enriquecimento: Caldo Selenito Cistina e Caldo Rappaport	60
4.14 TESTES BIOQUÍMICOS.....	61
4.14.1 Teste de Indol, H ₂ S e Motilidade	61
4.14.2 Testes de catalase	62
4.14.3 Teste de Oxidase	62
4.14.4 Teste de Bile Esculina	63
4.14.5 Teste de Vermelho de Metila.....	63
4.14.6 Teste de Coagulase	64
4.15 Delineamento Experimental	65
5 RESULTADOS.....	66
5.1 RESULTADOS NA ÉPOCA SECA	66
5.1.1 Resultados das variáveis meteorológicas	66
a) Temperatura ambiente	66
b) Umidade ambiente	67
5.1.2 Análises de pH da pilha de compostagem bovina.....	67
5.1.3 Teor de umidade no interior da pilha de compostagem bovina	68

5.1.4	Temperatura no interior da compostagem bovina	6969
5.1.5	Análises microbiológicas qualitativas do material biológico da pilha de compostagem bovina	70
a)	Resultados microbiológicos dos envelopes vazios	70
b)	Resultado microbiológico do bambu esfera	74
c)	Resultado microbiológico do bambu entorno	78
5.2	RESULTADOS NO PERÍODO DAS ÁGUAS	82
5.2.1	Resultado das variáveis meteorológicas	82
a)	Temperatura ambiente	82
b)	Umidade ambiente	82
5.2.2	Análise de pH da pilha de compostagem bovina	83
5.2.3	Teor de umidade no interior da pilha de compostagem bovina	83
5.2.4	Temperatura no interior da pilha de compostagem bovina	84
5.2.5	Análises microbiológicas qualitativas do material biológico da pilha de compostagem bovina	84
a)	Resultado microbiológico dos envelopes vazios	84
b)	Resultado microbiológico do bambu esfera	90
c)	Resultado microbiológico do bambu entorno	94
6	DISCUSSÃO	99
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	107
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109

1 INTRODUÇÃO

Os pequenos e médios produtores rurais, principalmente na agropecuária bovina, têm dificuldade de destinar as carcaças dos animais mortos. Em muitos casos, as carcaças são descartadas em valas, queimadas, jogadas em rios ou enterradas sem cuidados adequados, gerando moscas, mau cheiro, chorume, poluição ambiental (ar, solo, água), carregando para o meio ambiente agentes patogênicos com risco ampliado inclusive na contaminação de animais e até mesmo ao ser humano.

A preocupação ambiental tem se tornado efetiva, pois, qualquer que seja o resíduo gerado, se não houver um tratamento adequado, pode acarretar fatores adversos ao meio ambiente e concomitantemente aos seres humanos (ROCHA; ELOI JÚNIOR; FISCHER, 2012).

O aumento da consciência ambiental e da vigilância de órgãos fiscalizadores têm induzido busca de alternativa para este problema na pecuária. Uma alternativa que vem sendo adotada é a compostagem, um processo biológico de decomposição da matéria orgânica realizado pelos microrganismos que reciclam resíduos de origem orgânica.

Gerenciar os resíduos orgânicos de forma adequada traz benefícios relacionados à prevenção da poluição de cursos d'água e do solo, diminuindo o foco de doença, produzindo adubos orgânicos para uso agrícola. A compostagem se constitui em técnica importante para o tratamento dos resíduos gerados no meio rural, apesar de pouco difundida entre agricultores no Brasil, a não ser entre agricultores orgânicos (INÁCIO; MILLER, 2009).

A definição de compostagem pode variar conforme o enfoque microbiológico, agrônômico ou de engenharia ambiental. Mas todas ressaltam o caráter aeróbico e termofílico, o que exclui totalmente processos anaeróbicos. Sendo assim, a compostagem é um processo da biodecomposição da matéria orgânica dependente de oxigênio e com geração de calor, levando a temperaturas típicas de 50 °C a 65 °C, e picos que podem chegar a mais de 70 °C (INÁCIO; MILLER, 2009).

O biocomposto produzido na compostagem de carcaças de animais é um valioso e eficiente insumo para produção agrícola, podendo ser utilizado para adubação de solos pobres em nutrientes, em reflorestamento, em capineiras, em

canaviais e em plantações de cítricos e jardins. Porém não é recomendado para plantações de hortaliças.

Outros processos de descarte de carcaças de animais mortos por motivos naturais, patológicos, acidentes ou por fenômenos da natureza (raios ou mudanças climáticas repentinas) podem ser adotadas como por exemplo, a incineração. Porém, esse processo se tornaria inviável para uma carcaça de animal de grande porte, que precisaria de um caminhão frigorífico para o traslado da carcaça até o local da incineração, que resultaria em custo para o pequeno produtor. Uma melhor opção é a técnica de compostagem, pois não onera os custos da pequena propriedade rural, e é fácil, rápido e prática de se realizar. A matéria prima utilizada na compostagem é encontrada na própria propriedade rural, podendo citar a sobra da alimentação do gado (volumoso), estercos, aparas de capim e serragem.

A compostagem é então um processo aeróbio, biológico de decomposição de matéria orgânica. Esta ocorre pela ação degradadora dos microrganismos sobre a matéria orgânica disponível. Para que a compostagem ocorra deve haver uma relação C:N próximo a 15 (BRINTON; BONHOTAL; FIESINGER, 2012).

Entretanto a microbiota presente no animal, no material vegetal e no solo deve interagir e participar do processo. Como microrganismos indicadores destacam-se as bactérias: *Echerichia coli*, *Enterococcus faecalis* entre outras. Todas bactérias estão presentes no solo ou na água e em determinadas circunstâncias podem gerar contaminação ao homem e aos animais, pela ingestão de alimentos ou por águas contaminadas.

É importante então o acompanhamento de microrganismos indicadores da qualidade sanitária na compostagem, buscando-se relacionar sua presença ou ausência com a eficiência da compostagem.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar o efeito da compostagem sobre a viabilidade de microrganismos indicadores em carcaças de bovinos

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar a presença de microrganismos patogênicos na compostagem de carcaças de bovinos;

Verificar a efetividade do processo de compostagem de carcaça de bovinos na eliminação de microrganismos;

Comparar o processo de compostagem nas épocas seca e das águas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 DEFINIÇÃO DE COMPOSTAGEM

A compostagem é um processo onde, sob condições aeróbias e termofílicas, microrganismos decompõem a matéria orgânica e a convertem em um material mais estável denominado biocomposto, que contém nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio em formas passíveis de serem assimiladas pelo solo e vegetais (COSTA *et al.*, 2006). Este produto final pode ser utilizado como adubo orgânico para a recuperação de solos desgastados, diminuindo a necessidade do uso de fertilizantes minerais (ORRICO JÚNIOR; ORRICO; LUCAS JÚNIOR, 2009).

Nos sistemas de compostagem convencionais são utilizadas matérias-primas como restos de grama, aparas de bambu, sobra da alimentação do gado (volumoso), feijão guandu, gliricídia (ou outra vegetação), serragem grossa, acícula de pinus, palha de milho e esterco seco, que são misturados com o objetivo de construir uma pilha ou leira com propriedades físico-químicas uniformes. A serragem fina e folhas de bananeiras não devem ser utilizadas sozinhas, por não permitirem aeração adequada.

O correto dimensionamento das leiras é também de suma importância para a compostagem de resíduos orgânicos, independentemente de sua origem e composição. Uma leira de compostagem deve ter um tamanho suficiente para impedir a rápida dissipação de calor e umidade e, ao mesmo tempo, permitir uma boa circulação de ar (RODRIGUES *et al.*, 2006; VALENTE *et al.*, 2009).

Além de ser considerada uma destinação ambientalmente adequada, a compostagem possui diversas outras vantagens, que dependem da abrangência de implementação da técnica. Localmente, pode-se ressaltar que o processo resulta em um composto final rico em matéria orgânica humificada que pode ser utilizada como fertilizante para o plantio de diversas espécies vegetais, inclusive alimentícias. Outro benefício que essa técnica apresenta, principalmente quando aplicada em escalas maiores, é a redução do potencial poluidor dos Gases de Efeito Estufa (GEE's), já que o gás carbônico evoluído do processo aeróbio de compostagem é cerca de 20 vezes menos poluente que o metano, gás emitido no processo anaeróbio convencional no interior de aterros (OECD, 2014).

3.2 MICRORGANISMOS INDICADORES PRESENTE NO MEIO AMBIENTE

Microrganismos indicadores são grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, por exemplo, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (FRANCO; LANDGRAF; DESTRO, 2005).

Esses microrganismos indicadores podem ser utilizados para refletir a qualidade microbiológica dos alimentos em relação à vida de prateleira ou à segurança, neste último caso, devido à presença de patógenos alimentares. Em geral, microrganismos indicadores são utilizados para avaliar aspectos de qualidade e sanificação dos alimentos (FERREIRA; LIMA; COELHO, 2014).

Alguns critérios devem ser considerados na definição de um microrganismo ou grupo de microrganismos indicadores: devem ser facilmente detectáveis, quantificados, claramente distinguidos de outros microrganismos da microbiota do alimento; não devem estar presentes como contaminantes naturais do alimento; devem estar presentes quando o patógeno associado estiver; devem estar ausentes no alimento livre do patógeno de interesse ou presentes em quantidades mínimas; a taxa de crescimento deve ser equivalente à dos patógenos; a taxa de morte deve ser paralela a dos patógenos de interesse; devem ter como habitat exclusivo o trato intestinal do homem e outros animais; deverão ocorrer em números muito altos nas fezes; devem apresentar alta resistência ao ambiente extra enteral; devem existir técnicas rápidas, simples e precisas para sua detecção e/ou contagem (DOYLE; BEUCHAT; MONTVILLE, 1997).

Microrganismos indicadores podem ser agrupados em: microrganismos que não oferecem riscos à saúde (mesófilos, psicrófilos, termófilos, bolores e leveduras) e microrganismos que oferecem um risco baixo ou indireto à saúde (coliformes totais, coliformes fecais, *Enterococcus* sp., enterobactérias totais e *Escherichia coli*) (FERREIRA; LIMA; COELHO, 2014).

3.3 CARACTERÍSTICAS DE MICRORGANISMOS PRESENTES EM COMPOSTAGEM

Os microrganismos são elementos chave na ciclagem e liberação dos nutrientes e na manutenção da composição química do solo, água, sedimentos e atmosfera. Além disso, são importantes na detoxificação de poluentes orgânicos e inorgânicos, sendo a base de muitas tecnologias emergentes com aplicação ambiental e industrial.

A ocorrência e abundância de um microrganismo em um ambiente depende não somente dos nutrientes disponíveis, mas também dos fatores químicos e físicos. O microrganismo apresenta um conjunto complexo de condições, dentro de uma faixa de tolerância. Se qualquer condição exceder os limites mínimo ou máximo, o organismo falha e morre. Para todo biótico existe uma faixa de crescimento, com valores cardiais: mínimo, ótimo e máximo.

Determinantes ambientais:

- Químicos: nutrientes, minerais, composição atmosférica, pH, fatores de crescimento, fontes de carbono e energia, potencial de eletro-redução;
- Físicos: radiação, pressão, salinidade, temperatura, atividade de água, superfície;
- Biológicos – relações espaciais, genética do microrganismo e relações ecológicas.

As bactérias presentes no material a ser compostado são importantes na fase termófila, principalmente decompondo açúcares, amidos, proteínas e outros compostos orgânicos de fácil digestão. Sua função é decompor a matéria orgânica – animal ou vegetal – aumentar a disponibilidade de nutrientes, agregar partículas ao solo e fixar o nitrogênio (HEIDEMANN *et al.*, 2006).

As bactérias mesófilas constituem um grupo capaz de se multiplicar entre 10 °C e 45 °C, sendo a temperatura ideal em torno de 30 °C. Esse grupo é importante por incluir a maioria dos contaminantes dos alimentos de origem animal, podendo atingir altas contagens quando o alimento é mantido à temperatura ambiente. O

número de microrganismos aeróbios mesófilos encontrados em um alimento tem sido um dos indicadores microbiológicos da qualidade dos alimentos mais comumente utilizados, indicando se a limpeza, a desinfecção e o controle da temperatura durante os processos de tratamento industrial, transporte e armazenamento foram realizados de forma adequada. Esta determinação permite também obter informação sobre a alteração incipiente dos alimentos, sua provável vida útil, a falta de controle no descongelamento dos alimentos ou desvios na temperatura de refrigeração estabelecida (SILVA, 2002).

Bactérias psicotróficas se multiplicam em baixas temperaturas, abaixo de 7 °C, embora a temperatura ótima de crescimento se situe entre 20 e 30 °C.

As bactérias termófilas são definidas como aquelas cuja temperatura ótima de crescimento situa-se entre 45 °C a 65 °C, e para algumas espécies consideradas como termófilos extremos as temperaturas de crescimento podem atingir 90 °C e o mínimo em torno de 35 °C.

Quando o manejo é feito de forma correta a decomposição dos resíduos no solo aumenta a disponibilidade de nutrientes para as culturas que serão plantadas futuramente, propiciando maiores teores de nitrogênio (N), (TORRES *et al.*, 2005) de potássio (P), (TEIXEIRA *et al.*, 2011), além de aumentar a disponibilidade de outros nutrientes nas camadas superficiais do solo (CALEGARI, 1990).

3.4 MICRORGANISMOS INDICADORES PROPOSTOS PARA ACOMPANHAMENTO DO PROCESSO DE COMPOSTAGEM

Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores de qualidade do solo destacam-se por sua capacidade de responder rapidamente a mudanças no ambiente do solo derivadas de alterações no manejo e o fato de que a atividade microbiana do solo reflete a influência conjunta de todos os fatores que regulam a degradação da matéria orgânica e a transformação dos nutrientes (KENNEDY; PAPENDICK, 1995; TÓTOLA; CHAER, 2002; STENBERG, 2010). Os microrganismos constituem ainda grande e dinâmica fonte e depósito de nutrientes em todos os ecossistemas e participam ativamente em processos benéficos para a estruturação do solo, fixação biológica de N, solubilização de nutrientes para as plantas, redução de patógenos e pragas de plantas, degradação de compostos

persistentes aplicados ao solo, em associações micorrízicas e em outras propriedades do solo que afetam o crescimento vegetal (KENNEDY; PAPENDICK, 1995; KENNEDY; SMITH, 1995; TÓTOLA; CHAER, 2002). Dessa forma, um solo de alta qualidade possui atividade biológica intensa e contém populações microbianas balanceadas, sendo vários os indicadores microbiológicos que podem fornecer uma estimativa da qualidade do solo (TÓTOLA; CHAER, 2002).

Os produtos derivados do leite são considerados um veículo frequente de patógenos de origem alimentar, na maioria das vezes, elaborados a partir de leite cru e não sofrerem processo de maturação. A contaminação microbiana desses produtos assume destacada relevância tanto para a indústria, pelas perdas econômicas, como para a saúde pública, pelo risco de causar doenças transmitidas por alimentos. Dentre as bactérias patogênicas detectadas, destacam-se *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e *S. aureus* (FEITOSA *et al.*, 2003).

Ao processo de decomposição das carcaças bovinas, na compostagem, foram adicionados microrganismos mesofílicos, tais como: *Echerichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Salmonella Typhimurium*.

3.4.1 *Echerichia coli*

Echerichia coli pertence à família das enterobacteriáceas, são bastonetes retos, gram-negativos, móveis ou imóveis, com presença de fímbrias, metabolismo respiratório e fermentativo e não esporulados. Considerada microrganismo da flora normal do intestino humano e de animais saudáveis. As cepas de *Echerichia coli* denominadas de enteropatogênicas provocam gastroenterites em humanos e animais e as principais espécies são: *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); *E. coli* enteropatogênica (EPEC); *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC) e *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC), que pode desenvolver septicemia e mastite em bovinos, ovinos, suínos, aves, cães e gatos. De acordo com as características bioquímicas, é capaz de fermentar a glicose com ou sem produção de gás, produz catalase e utiliza lactose produz indol, não utiliza citrato, não hidrolisa a ureia e é oxidase negativa.

É considerada a espécie de bactéria mais versátil entre as enterobactérias, e mais frequentemente isoladas em cultura de fezes e urina, além de ser o agente mais frequente isolado nas infecções diarreicas e infecção do trato urinário. Existem muitas estirpes de *Echerichia coli*, desde formas comensais até formas patogênicas. O intestino da maioria dos animais de “sangue quente”, inclusive o homem, é colonizado por formas comensais de *Echerichia coli*. O contágio por *E. coli* se dá através da ingestão de água ou alimentos que não foram processados ou tiveram algum tipo de contaminação fecal durante a sua produção, como por exemplo, leite não-pasteurizado (ALVES, 2012). São microrganismos mesofílicos. Os meios de culturas seletivos utilizados para identificação são ágar MacConkey, ágar XLD - Desoxicolato-lisina-xilose, ágar Triple Sugar Iron, ágar VRB - VIOLET RED BILE, ágar EMB - *Eosin Methylene Blue* e caldo verde brilhante. Nos testes bioquímicos utilizam o meio SIM - Sulfeto de hidrogênio, Indol e Motilidade, que produz indol e são móveis.

3.4.2 *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis pertence à família das enterobacteriáceas, são cocos Gram positivos que geralmente se dispõem aos pares e em curtas cadeias, e são catalase negativos. Podem ser encontrados no solo, em alimentos, na água, em animais, especialmente pássaros e insetos (TEIXEIRA; CARVALHO; FACKLAM, 2007).

O gênero *Enterococcus* agrupa bactérias muito diversas, que podem ser comensais ou patogênicas. As espécies *E. faecalis* e *E. faecium* são consideradas as mais importantes deste gênero, por serem as mais frequentes e também as mais virulentas (SEMEDO-LEMSADDEK; BARRETO-CRESPO; TENREIRO, 2012; TAVARES, 2014).

Devido à capacidade de sobreviverem e de se multiplicarem em condições hostis, os enterococos disseminam-se numa grande variedade de ambientes, incluindo o trato gastrointestinal de pessoas e animais, alimentos e água, havendo estudos que apontam para a disseminação destes microrganismos através da cadeia alimentar ou por contato direto entre pessoas, animais e o ambiente (FACKLAM; COLLINS, 1989; TAVARES, 2014).

As bactérias deste gênero possuem uma forma ovoide, podendo surgir de forma individualizada ou organizada em pares ou cadeias curtas. São bactérias Gram positivas, oxidase e catalase negativas (FACKLAM; COLLINS, 1989; SEMEDO-LEMSADDEK; BARRETO-CRESPO; TENREIRO, 2012).

A maioria dos enterococos cresce a temperaturas entre os 10 e os 45 °C, sendo que determinadas espécies podem resistir durante 30 minutos a 60 °C. Estas bactérias crescem em presença de NaCl a 6,5% e a valores de pH de 9.6 e hidrolisam a esculina na presença de 40% de sais biliares. Contudo, deve ter em conta o fato de que nem todos os enterococos possuem as características descritas (TEIXEIRA; CARVALHO; FACKLAM, 2007; SEMEDO-LEMSADDEK; BARRETO-CRESPO; TENREIRO, 2012).

O habitat predominante destes microrganismos é o trato gastrointestinal de mamíferos, aves e outros animais, apesar de serem considerados microrganismos ubíquos, podendo ocupar diferentes nichos ecológicos como plantas, vegetais, alimentos crus e fermentados, solos e águas superficiais, entre outros (SEMEDO-LEMSADDEK; BARRETO-CRESPO; TENREIRO, 2012).

As bactérias do gênero *Enterococcus* constituem um risco potencial para a saúde humana e animal, sendo bactérias patogênicas oportunistas que não provocam doença em indivíduos saudáveis, mas são responsáveis por infecções graves em indivíduos imunocomprometidos (SEMEDO-LEMSADDEK; BARRETO-CRESPO; TENREIRO, 2012; TAVARES, 2014).

São microrganismos mesofílicos. O meio seletivo utilizado para identificação é o ágar Slanetz & Bartley.

3.4.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa pertence à família *Pseudomonadaceae*, que envolve um grande grupo de espécies de bacilos Gram negativos, retos ou ligeiramente curvos, com aproximadamente 1,5 a 3,0 µm de comprimento e 0,5 a 1,0 µm de largura, móveis, estritamente aeróbios e não formadores de esporos. Podem ser encontrados na água, no solo, no esgoto e no ar e produzem pigmentos solúveis na água. Crescem bem em temperaturas que variam de 25 °C a 37 °C. O teste bioquímico utilizando o meio de cultura SIM identifica a motilidade da bactéria. Os meios seletivos utilizados são ágar de MacConkey e ágar de XLD. São bactérias não

fermentadoras, ou seja, obtêm sua energia pelos processos de oxidação de carboidratos ao invés de fermentação. Sua parede celular é semelhante à de outros bacilos Gram negativos e sua membrana externa é composta por proteínas, fosfolipídios e lipopolissacarídeos (LPS) (SILVA, 1999; REIS, 2003; SANTORO, 2011). São móveis por um ou mais flagelos, microrganismos ambientais e encontrados também na pele, nas membranas mucosas e fezes (LAMA *et al.*, 2013).

3.4.4 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes pertencente à família *Listeriaceae*, que cresce em presença ou na ausência de oxigênio (anaeróbia facultativa), é um cocobacilo, Gram positivo, não esporulado. É um microrganismo móvel e apresenta reação positiva para catalase e negativa para oxidase. Apresenta ampla distribuição ambiental, tendo sido isolada em águas de esgoto doméstico, águas residuárias de indústrias de laticínios e de abatedouros, solos, insetos, adubo orgânico, e em fezes de animais, inclusive de humanos. Pode também ser isolada em diversos produtos alimentícios, principalmente os de origem animal (DEMOLINER, 2015; TORTORA *et al.*, 2016).

Sua ampla distribuição ambiental é favorecida pela capacidade de se desenvolver entre 0 e 44 °C e sobreviver em alimentos congelados, embora sua faixa ótima de crescimento seja entre 30 e 37 °C. Tolerância a pH extremos de 5 a 9, baixa atividade de água, com índice de A_w de 0,92 e concentrações de NaCl de 10% e até superiores. Este conjunto de características faz com que esta bactéria seja de grande importância na indústria de alimentos, devido à dificuldade de sua eliminação nas plantas de processamento de alimentos. Sua resistência pode ser potencializada pelas condições de umidade, temperatura e presença de matéria orgânica, que aliadas à habilidade do patógeno em produzir biofilmes, podem desencadear a colonização em superfícies de equipamentos e utensílios (DEMOLINER, 2015; TORTORA *et al.*, 2016).

Este conjunto de características faz com que *Listeria* spp. e *L. monocytogenes*, em especial, sejam um patógeno emergente de grande interesse na área de alimentos e explica o destaque que estes microrganismos vêm ocupando nos últimos anos no controle de qualidade na indústria de alimentos, visto as

dificuldades de sua eliminação, assim como, a possibilidade de causar uma doença grave no consumidor. O meio seletivo utilizado é o ágar Brilliance Listeria.

3.4.5 *Streptococcus uberis*

Streptococcus uberis é um coco gram-positivo, imóvel, que formam pequenas ou longas cadeias, catalase negativo, aeróbios e anaeróbios facultativos (BARBALHO; MOTA, 2001; LIMA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2018b). São microrganismos presentes na pele, mucosa do trato respiratório superior e no trato urogenital inferior e digestivo dos animais. Mastite, septicemia, poliartrite, meningite, abscessos, endometrites, garrotilho, púrpura hemorrágica e pneumonia são infecções causadas por *Streptococcus* em bovinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos, cães e humanos. São microrganismos mesofílicos.

Os estreptococos são considerados o segundo grupo de microrganismos em importância na etiologia da mastite dos ruminantes, sendo precedidos pelo grupo dos estafilococos. Quatro espécies, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. bovis* e *S. uberis*, são encontradas na maioria dos rebanhos (INNINGS *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2007).

3.4.6 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus pertence ao gênero *Staphylococcus*, compreende bactérias gram-positivas (MURRAY, 2004). São cocos gram-positivos, dispostos na maioria, em formato de cachos de uva, são positivos para os testes de coagulase e catalase. *S. aureus* produz toxinas, que são proteínas secretadas para a matriz extracelular usualmente envolvidas na penetração tecidual. Essas proteínas são citolíticas e ajudam no crescimento bacteriano por adquirir nutrientes essenciais tais como ferro, a partir da lise celular. Entre as toxinas mais comuns secretadas por *S. aureus* estão: hemolisinas (toxinas que lisam eritrócitos e sua ação é usualmente mediada por receptores) (POWERS; WARDENBURG, 2014; BECKER, 2017); leucotoxinas (lisam leucócitos); toxina esfoliativa (são serinaproteases causadoras

da síndrome da pele escaldada em neonatos) (BUKOWSKI; WLADYKA; DUBIN, 2010; BECKER, 2017).

São microrganismos mesofílicos. Os meios de culturas seletivos utilizados para identificação são ágar Manitol e ágar BP.

3.4.7 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus é comumente ocorrente em propriedades leiteiras e em plantas de processamento, e por conta disso, constituem uma grande preocupação para a indústria de laticínios por seu envolvimento nas ocorrências de DTAs - Doenças Transmitidas por Alimentos.

Trata-se de um dos agentes mais frequentemente envolvidos em surtos de toxinfecções, provocando sintomas eméticos ou diarreicos. Os primeiros ocasionados pela ingestão de toxinas secretadas no alimento, um peptídeo cíclico não ribossômico altamente tóxico e resistente a temperaturas de cozimento, e o segundo induzido pela ingestão dos microrganismos contidos nos alimentos, que se multiplicam no intestino e produzem enterotoxinas (EHLING-SCHULZ; FRENZEL; GOHAR, 2015).

B. cereus é a espécie de maior importância dentro do grupo em relação à segurança dos alimentos, estando envolvido em 19% dos surtos reportados nos Estados Unidos entre 1998 e 2008 (BENNETT; WALSH; GOULD, 2013; SILVA, 2017). É importante ressaltar que o grupo do *B. cereus* possui importância para a cadeia produtiva não somente pelo risco de toxinfecções, mas também por acarretar problemas de deterioração e redução da vida de prateleira dos produtos, por produzirem enzimas extracelulares como lipases, proteases, lecitinases e fosfolipases (SILVA, 2017).

B. cereus pertence à família *Bacillaceae*, se apresenta em forma de bastão, Gram positivo, aeróbica facultativo, móvel e formador de esporos esféricos em presença de oxigênio. Esta bactéria tem uma temperatura mínima de crescimento de aproximadamente 4 a 5 °C, com máxima para germinação em torno de 48 a 50 °C, sendo tipicamente mesófila. O crescimento foi observado na faixa de pH entre 4,9 e 9,3 (HOLT *et al.*, 2000; PAIVA *et al.*, 2009). Os esporos de *B. cereus* lhe conferem resistência a altas temperaturas, secagem, e a alguns sanitizantes químicos e

radiações ionizantes, como a UV, além de contribuir para os processos de adesão em superfícies (KOTIRANTAA; LOUNATMAAA; HAAPASALOB, 2000). Índice de A_w equivalente a 0,95. A resistência fisiológica aliada à sua habilidade de produzir uma vasta gama de enzimas que degradam diversos substratos orgânicos possibilita esta bactéria estar amplamente distribuída no meio ambiente, sendo o solo seu reservatório natural.

O meio seletivo utilizado para identificação é o ágar manitol, com adição de gema de ovo piruvato.

3.4.8 *Salmonella* Typhimurium

Salmonella Typhimurium pertence ao gênero *Salmonella* e à família *Enterobacteriaceae*, são bastonetes curtos (1 a 2 μm) Gram negativas, anaeróbias facultativas, com capacidade de fermentar a glicose (exceto *S. Typhi*) (FRANCO; LANDGRAF, 1996; CARBONERA, 2018). A maioria das espécies é móvel, por meio de flagelos peritríquos, com exceção dos sorotipos *S. Galinarum* e *S. Pullorum* que são imóveis. A maior parte dos sorotipos é produtora de gás, H_2S , lisina e ornitina descarboxilase (POPOFF; LE MINOR, 2005; CARBONERA, 2018). São bactérias mesófilas com temperatura ótima de multiplicação entre 35 a 37 $^\circ\text{C}$ e mínima de 5 $^\circ\text{C}$. Alguns sorotipos têm multiplicação preferencialmente em temperaturas um pouco mais elevadas, na faixa dos 41 $^\circ\text{C}$. A multiplicação de *Salmonella* é fortemente retardada em baixas temperaturas, sendo cessada em temperaturas abaixo de 0 $^\circ\text{C}$, mantendo-se ainda viável (GAMA, 2001; CARBONERA, 2018). Desse modo, o controle desta variável é de grande importância para retardar o desenvolvimento de *Salmonella*, especialmente nos produtos de origem animal. Outros fatores que influenciam a multiplicação de *Salmonella*: (I) pH mínimo e máximo de 4,5 e 9,0, e ótimo na faixa de 6,5 a 7,5; (II) atividade de água (A_w) mínima de 0,940 para o seu crescimento e o ideal de 0,995 (FRAZIER; WESTHOFF, 1993; CARBONERA, 2018).

A infecção é causada pela penetração de *Salmonella* do lúmen, para as células do epitélio do intestino delgado, onde se multiplica. Em seguida a bactéria invade o íleo e o colo, sendo que a infecção gera uma resposta inflamatória (HANSEN-WESTER; STECHER; HENSEL, 2002; CARBONERA, 2018). Os sintomas característicos de doença de origem alimentar causados por *Salmonella* são diarreia, náuseas, vômito, dor abdominal, febre branda, às vezes cefaleia. O

período de incubação é de 12 a 36 horas, a enfermidade costuma ser autolimitante e persiste de 4 a 7 dias (CARBONERA, 2018). Complicações gastrointestinais podem ocorrer e incluem apendicite, pancreatite, colecistite e abscessos abdominais. A infecção sistêmica apresenta formas clínicas variáveis, sendo mais grave em pacientes imunocomprometidos. A manifestação sistêmica mais comum ocorre em 5% dos pacientes infectados e está associada a outras complicações extraintestinais (CARBONERA, 2018).

3.5 UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM COMPOSTAGEM

Segundo Keener, Elwell e Monnin (2000) e de acordo com as técnicas abordadas pela Embrapa Gado de Leite, as carcaças de animais são melhores acondicionadas no método de compostagem em leiras. Para bovinos adultos, é preferível construir leiras individuais para cada carcaça.

A compostagem de carcaças de animais mortos começou a ser utilizada no início dos anos 80, nos EUA, pela indústria de aves e logo foi propagada para outras indústrias (BONHOTAL; TELEGA; PETZEN, 2008). Em estudo sobre compostagem de carcaças de aves, verificou-se uma redução progressiva de coliformes totais e termotolerantes, além da destruição das bactérias do gênero *Salmonella* que foram isoladas inicialmente e, ao final da compostagem, não foram encontradas (COSTA *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2018a). Segundo Orrico Júnior, Orrico e Lucas Júnior (2010) a compostagem demonstrou ser um método eficiente para o tratamento de carcaças e cama de frangos no que diz respeito à redução de sólidos totais e na eliminação de patógenos.

A efetividade da compostagem no controle de microrganismos potencialmente patogênicos é geralmente avaliada pelo monitoramento da redução de coliformes fecais e de *Salmonella* (EAMENS *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2018a).

Estudos comprovaram a eficácia da compostagem de carcaças de animais mortos em rodovias no estado de Nova York, na redução de patógenos no composto. Amostras desse composto foram analisadas para detecção de coliformes fecais, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus* sp. e *Salmonella* sp. (OLIVEIRA *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2018a).

Eamens e colaboradores (2011) compararam o processo de compostagem a outros procedimentos disponíveis para destinação de carcaças bovinas,

anteriormente citados, como a disposição das carcaças sobre o solo para decomposição natural e a incineração, e verificaram que este foi o método que apresentou resultados superiores quanto ao tempo de decomposição, a temperatura e a destruição de microrganismos patogênicos como a *Escherichia coli*.

A compostagem deve ser feita em uma área do terreno afastado de nascentes e cursos d'água e o tempo previsto para a decomposição de um animal adulto varia de dois a seis meses (OTENIO; CUNHA; ROCHA, 2010).

3.6 DECOMPOSIÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA PELO PROCESSO DE COMPOSTAGEM

Segundo Pereira (2007) durante a decomposição da matéria orgânica pelo processo de compostagem há uma mudança entre as espécies de microrganismos dominantes. As bactérias têm a função de decompor a matéria orgânica, aumentar a disponibilidade de nutrientes, agregar partículas no solo e, algumas espécies, de fixar nitrogênio.

Os fungos possuem a função de decompor resíduos resistentes dos animais e vegetais, a formação dos húmus, e a fixação de nitrogênio.

A quantidade de carbono presente no resíduo e a relação entre Carbono e Nitrogênio, Fósforo e Enxofre determinam a equivalência entre as taxas de mineralização e imobilização. A relação mais utilizada é a de Carbono-Nitrogênio (C/N). Ao se adicionar o resíduo ao solo, há um o aumento da população microbiana que é estimulado pelo aporte de energia e nutrientes que o resíduo representa. Com o crescimento da população microbiana, a demanda por oxigênio, nutrientes, energia e carbono aumenta (ANDRADE; CABALLERO; FARIA, 1999).

O composto orgânico, que é o material obtido da compostagem, possui cor escura, é rico em húmus e contém de 50% a 70% de matéria orgânica. É classificado como adubo orgânico e deve possuir boas propriedades físicas para ser utilizado como substrato, como a alta capacidade de reter a umidade e drenar o excesso de água, além de: ter efeito-tampão no solo, pela sua elevada área de superfície e capacidade de troca (CTC); atuar como fonte de cátions e de micronutrientes, além de ânions; agir diretamente no crescimento das plantas, aumentando a absorção de nutrientes, atividade enzimática e a fotossíntese dos vegetais; atuar como elemento de fixação de elementos metálicos e de formação de

complexos húmus, argilo-minerais; entre outras coisas (ROCHA; ELOI JÚNIOR; FISCHER, 2012).

3.6.1 Ciclos de nutrientes

Os nutrientes essenciais para a vida estão em um ciclo entre os microrganismos e os macrorganismos, mas para alguns nutrientes as atividades microbianas são predominantes. Compreender como trabalha um ciclo microbiano de nutrientes é importante, pois os ciclos e as suas retroalimentações são essenciais para a agricultura e a saúde global da vida vegetal sustentável. Todos os ciclos de nutrientes vinculam de alguma forma para o ciclo do carbono, mas o ciclo do nitrogênio (N) apresenta ligações especialmente importantes porque, com exceção de água (H₂O), o carbono (C) e o nitrogênio (N) compõem a maior parte dos organismos vivos (MADIGAN *et al.*, 2016).

a) Ciclo do Carbono

Uma grande quantidade de carbono é encontrada nas plantas terrestres. Esse é o carbono orgânico de florestas, pastos e plantações agrícolas, constituindo o principal sítio da fixação fototrófica de CO₂. No entanto, há uma quantidade maior de carbono presente na matéria orgânica morta, denominada húmus, do que nos organismos vivos. O húmus é uma mistura complexa de compostos orgânicos, derivada de microrganismos de solo mortos, que resistiram à decomposição, juntamente com a matéria orgânica vegetal. Algumas substâncias do húmus são relativamente estáveis, apresentando um tempo global de reciclagem de várias décadas, embora outros componentes dos húmus decomponham-se mais rapidamente. O mecanismo mais rápido de transferência global do carbono ocorre pela via atmosférica. O dióxido de carbono é removido da atmosfera principalmente pela fotossíntese das plantas terrestres e microrganismos marinhos, sendo devolvido à atmosfera por meio da respiração de animais e microrganismos quimiorganotróficos. A contribuição única e mais importante do CO₂ para a atmosfera é a decomposição microbiana da matéria orgânica morta, incluindo o húmus (MADIGAN *et al.*, 2016).

Os compostos orgânicos são degradados biologicamente para CH_4 e CO_2 . O dióxido de carbono, a maior parte tem origem microbiana, é produzido pela respiração aeróbia e a anaeróbia. O metano é produzido em ambientes anóxicos por metanogênicos por meio da redução do CO_2 com o hidrogênio (H_2) ou a partir da divisão de acetato em CH_4 e CO_2 . No entanto, qualquer composto orgânico que ocorre naturalmente, eventualmente pode ser convertido em CH_4 a partir das atividades de cooperação de metanogênicos e várias bactérias fermentativas. O metano produzido em habitats anóxicos é insolúvel e difunde-se para ambientes óxicos, onde é liberado para a atmosfera ou, então, oxidado a CO_2 por metanotróficos. Assim, a maior parte do C em compostos orgânicos eventualmente retorna ao CO_2 e as ligações do ciclo do carbono estão fechadas (MADIGAN *et al.*, 2016).

Embora presente na atmosfera em níveis inferiores ao CO_2 , o CH_4 é um gás do efeito estufa 20 vezes mais eficaz na retenção de calor do que o CO_2 . Algumas moléculas de CH_4 entram na atmosfera a partir da produção dos metanogênicos, contudo nem todas as moléculas biologicamente produzidas são consumidas ou liberadas para a atmosfera imediatamente. Grandes quantidades de CH_4 , principalmente derivadas de atividades microbianas, ficam retidas no subsolo. Embora seja conveniente considerar a ciclagem do carbono como uma série de reações separadas de outros ciclos de nutrientes, a consciência de como os vários ciclos de nutrientes são interconectados é extremamente importante. Na realidade, todos os ciclos de nutrientes são ciclos acoplados; grandes mudanças em um ciclo podem afetar o funcionamento dos outros. Altos níveis de carbono orgânico estimulam a fixação de nitrogênio e este, por sua vez, acrescenta mais nitrogênio fixo para o montante de produtores primários; baixos níveis de carbono orgânico têm exatamente o efeito oposto. Altos níveis de amônia (NH_3) estimulam a produção primária e a nitrificação, mas inibem a fixação de nitrogênio. Altos níveis de nitrato (NO_3^-) é fonte de nitrogênio excelente para plantas. Este exemplo simples ilustra como os ciclos de nutrientes não são entidades isoladas; são sistemas que mantêm um delicado equilíbrio de entradas e saídas acopladas. Assim, pode-se esperar que esses ciclos respondam a grandes entradas em pontos específicos (p. ex., por meio das entradas de CO_2 ou fertilizantes nitrogenados) de maneiras que nem sempre são benéficas para a biosfera. Isto é particularmente verdadeiro para os ciclos do C e do N, porque ao lado da H_2O , o C e N são os elementos mais abundantes nos

organismos vivos e seus ciclos interagem com os outros em pontos essenciais (MADIGAN *et al.*, 2016).

b) O ciclo do nitrogênio

O nitrogênio é um elemento essencial para a vida e existe em diferentes estados de oxidação. O nitrogênio gasoso (N_2) é a forma mais estável do nitrogênio na Terra. Contudo, somente um número relativamente pequeno de procariotos é capaz de utilizar N_2 como fonte de nitrogênio celular por meio da fixação de nitrogênio. A reciclagem de nitrogênio na terra envolve, em grande parte, as formas fixadas de nitrogênio, como a amônia (NH_3) e o nitrato (NO_3^-). Em muitos ambientes, no entanto, a pouca disponibilidade desses compostos favorece a fixação biológica do nitrogênio, e nesses habitats, as bactérias fixadoras de nitrogênio florescem (MADIGAN *et al.*, 2016).

A amônia é produzida durante a decomposição de compostos orgânicos nitrogenados, como aminoácidos e nucleotídeos, um processo denominado amonificação. Em pH neutro, a amônia encontra-se na forma de íon amônio (NH_4^+). Nos solos, a maior parte da amônia liberada na decomposição aeróbia é rapidamente reciclada e convertida em aminoácidos nas plantas e nos microrganismos. No entanto, uma vez que a amônia é volátil, parte dela pode ser perdida pelos solos alcalinos por vaporização, com as principais perdas de amônia para a atmosfera ocorrendo em áreas contendo densas populações animais (p. ex., pastagens de gado). No entanto, em termos globais, a amônia representa somente cerca de 15% do nitrogênio liberado na atmosfera, o restante correspondendo principalmente a N_2 ou N_2O proveniente de desnitrificação (MADIGAN *et al.*, 2016).

A nitrificação, a oxidação de NH_3 a NO_3^- , ocorre facilmente em solos bem drenados, com pH neutro, pelas atividades dos procariotos nitrificantes. Enquanto a desnitrificação consome nitrato, a nitrificação produz nitrato. Se compostos ricos em amônia, como esterco ou esgoto, forem adicionados ao solo, haverá um aumento na taxa de nitrificação (MADIGAN *et al.*, 2016).

Embora o nitrato seja rapidamente assimilado pelas plantas, é também altamente solúvel em água, sendo rapidamente lixiviado ou desnitrificado de solos submetidos a elevada precipitação atmosférica. Conseqüentemente, a nitrificação não é benéfica às práticas agrícolas. A amônia, ao contrário, é carregada positivamente, sendo fortemente adsorvida pelos solos ricos em argila carregados negativamente. A amônia anidra é amplamente utilizada como fertilizante nitrogenado e, frequentemente, produtos químicos são adicionados ao fertilizante para inibir o processo de nitrificação (MADIGAN *et al.*, 2016).

Os compostos nitrogenados inorgânicos, amônia (NH_3) e nitrito (NO_2^-), são substratos quimiolitotróficos. Esses compostos são oxidados aerobiamente pelas bactérias nitrificantes durante o processo de nitrificação. Em condições anóxicas, amônia também é oxidada por um grupo único de bactérias em um processo conhecido como anamox. As bactérias nitrificantes e anamox são amplamente distribuídas no solo e na água. Aerobiamente, bactérias nitrificantes e arqueias oxidam amônia, porém apenas a nitrito, enquanto um outro grupo de bactérias oxida o nitrito a nitrato. Assim, a oxidação completa da amônia a nitrato, uma transferência de oito elétrons, é realizada por dois grupos de organismos que atuam em concerto – oxidantes da amônia e oxidantes do nitrito (MADIGAN *et al.*, 2016).

3.7 IMPORTÂNCIA DA TEMPERATURA DURANTE O PERÍODO DE DECOMPOSIÇÃO NO INTERIOR DA COMPOSTAGEM

A temperatura da pilha de compostagem é de extrema importância durante o processo de compostagem, para se permitir o controle de agentes patogênicos, evitando a propagação de doenças (PEREIRA, 2007). Sob condições ótimas, a compostagem é processada em três fases de acordo com a temperatura (FIGURA 1). A primeira fase ou fase inicial é chamada de fase mesofílica, onde a temperatura atinge níveis moderados (faixa de crescimento microbiano ideal 35 °C), e tem duração de cerca de dois dias. Na segunda fase ou fase termofílica, a temperatura aumenta consideravelmente e pode durar de poucos dias a vários meses. A terceira fase, psicrófila, tem como característica a queda da temperatura na pilha de compostagem (COSTA *et al.*, 2006; ORRICO JÚNIOR; ORRICO; LUCAS JÚNIOR, 2009, 2010).

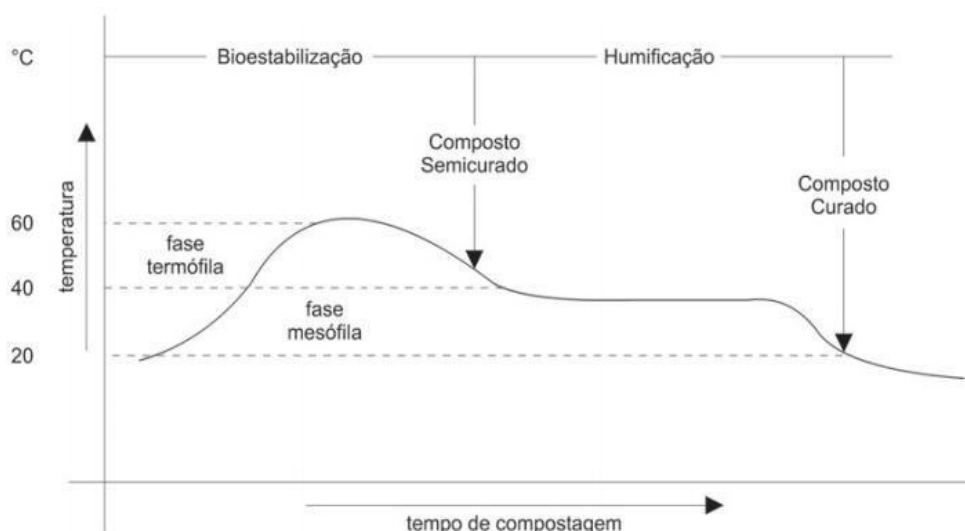


Figura 1: Fases da Compostagem. **Fonte:** Andrade (2015).

De acordo com Andrade (2015) a altura do material deve estar entre 1,5 m e 1,8 m. Entretanto, verificou que em leiras com dimensões de 2,60 m de comprimento, 2,00 m de largura e 1,00 m de altura, as temperaturas mantiveram-se entre 40 °C e 55 °C por um longo período, sendo registradas elevações médias de 10 °C, imediatamente após a incorporação de dejetos aos substratos maravalha e serragem.

Diferentes cepas de microrganismos predominam durante as fases da compostagem. A decomposição inicial é realizada por microrganismos mesófilos, que rapidamente degradam os compostos. O calor que produzem causa rápida elevação da temperatura. Quando a temperatura atinge cerca de 40 16 °C, os microrganismos mesófilos tornam-se menos competitivos e são substituídos por outros termofílicos (FARIA *et al.*, 2017).

Em temperaturas acima de 55 °C, alguns microrganismos potencialmente patogênicos são destruídos. Acima de 65 °C, muitos microrganismos são mortos e acabam limitando a taxa de decomposição. A aeração é um recurso utilizado para manter a temperatura abaixo de 65 °C (ORRICO JÚNIOR; ORRICO; LUCAS JÚNIOR, 2010; HECK *et al.*, 2013).

Sendo assim, a fase termofílica (faixa de crescimento microbiano ideal de 45 °C) é essencial para reduzir o número de microrganismos patogênicos durante a compostagem e conseqüentemente, no biocomposto resultante do processo (INÁCIO; MILLER, 2009; HECK *et al.*, 2013).

A superfície de solos sujeitos a intensa irradiação solar pode ser aquecida, ao meio-dia, a temperaturas acima de 50 °C, e alguns solos superficiais podem ser aquecidos até 70 °C. Materiais em fermentação, como pilhas de esterco e silagem, também podem atingir temperaturas de 70 °C.

O calor naturalmente separa a bicamada lipídica que forma a membrana citoplasmática. Nos termófilos, isso é evitado pela construção de membranas com um maior conteúdo de ácidos graxos saturados de cadeia longa e menos ácidos graxos insaturados do que são encontrados nos mesófilos. Ácidos graxos saturados criam um ambiente mais fortemente hidrofóbico do que os ácidos graxos insaturados, e ácidos graxos de cadeia longa apresentam um ponto de fusão mais alto que os ácidos graxos de cadeia curta; coletivamente, esses fatores aumentam a estabilidade da membrana.

3.8 IMPORTÂNCIA DA UMIDADE, DO PH, DE OXIGÊNIO E DA GRANULOMETRIA NO PROCESSO DE DECOMPOSIÇÃO NA COMPOSTAGEM

3.8.1 Umidade

Segundo Abreu e colaboradores (2009) a quantidade de água a ser agregada na compostagem de carcaça de aves equivale a 30% do peso das aves. Desta forma, a utilização de 30% de água em relação ao peso da ave é eficiente para a decomposição das aves, porém não o é para a decomposição total do substrato. Quando a umidade do substrato é insuficiente resulta em mumificação das carcaças.

A disponibilidade de água é um importante fator que afeta o crescimento microbiano. A disponibilidade de água não depende somente de se o ambiente é úmido ou seco, mas também da concentração de solutos (sais, açúcares ou outras substâncias) dissolvidos na água presente. Os solutos se ligam à água, tornando-a menos disponível aos organismos. Assim, para que os organismos contornem os ambientes com altas concentrações de solutos, ajustes fisiológicos são necessários (TORTORA *et al.*, 2016).

Processos fisiológicos requerem água para movimentação, trocas gasosas, trocas de soluto, excreção de resíduos, obtenção de nutrientes e outras funções. A atividade de água (A_w) é o parâmetro que mede a disponibilidade de água para o

microrganismo. Os valores de A_w podem variar de 0 a 1. Representa a água que está livre para agir como solvente ou participar de reações químicas. É a água não ligada a macromoléculas por forças físicas. A atividade de água reduzida aumenta a fase lag do crescimento, inibe a produção de toxinas por alguns microrganismos e altera a permeabilidade da membrana celular, levando à perda de moléculas essenciais (MADIGAN *et al.*, 2016; TORTORA *et al.*, 2016).

3.8.2 pH

O pH ótimo para o crescimento de qualquer organismo é uma medida apenas do pH do meio extracelular; o pH intracelular deve permanecer relativamente próximo à neutralidade, a fim de evitar a destruição das macromoléculas celulares. A maioria dos ambientes tem o pH entre 5 e 9 e os organismos mais comuns são os que crescem nessa faixa, conhecidos como neutrófilos. Os organismos acidófilos crescem em pH menor que 5. Os fungos tendem a ser mais tolerantes à acidez, mas algumas bactérias também são acidófilas. Os microrganismos alcalifílicos crescem em valores elevados de pH (MADIGAN *et al.*, 2016).

Valores de pH fora da faixa de crescimento tolerada pelos microrganismos pode levar à desnaturação de proteínas, alterações na fluidez da membrana plasmática, a dissociação e solubilização de moléculas e à solubilidade de gás carbônico o potencial de oxi-redução mede a tendência de um composto doar ou receber elétrons, e é uma escala útil para medida de anaerobiose. O oxigênio molecular é um poderoso agente oxidante. Ambientes com potenciais de oxi-redução positivos favorecem a oxidação e permitem o crescimento de microrganismos aeróbios. Em contrapartida, ambientes com potenciais de oxi-redução negativos favorecem a redução e permitem o crescimento de microrganismos anaeróbios. Os microrganismos aeróbios facultativos sobrevivem a uma ampla faixa de potencial de oxi-redução. À medida que o oxigênio vai sendo reduzido vão sendo formadas moléculas altamente reativas como o ânion superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Os microrganismos que crescem na presença de oxigênio sintetizam enzimas que transformam as moléculas reativas em moléculas inertes como a água e o oxigênio (O_2) (MADIGAN *et al.*, 2016).

O pH da massa em compostagem é inicialmente baixo, devido à formação de gás carbônico e de ácidos orgânicos, pois a seiva das plantas, demais partes vegetais, dejetos sólidos e líquidos de animais e humanos são de origem ácida. O pH deve variar entre 5 e 6, e após, em função da decomposição de proteínas e pela eliminação do gás carbônico, o meio torna-se básico, com o pH variando entre 8 e 8,5 (PAIVA *et al.*, 2010).

3.8.3 Oxigênio

Os microrganismos podem ser agrupados de acordo com as suas relações com o O₂ em aeróbios e anaeróbios.

Os aeróbios facultativos são capazes de crescer em grandes tensões de oxigênio (o ar contém 21% de O₂), respirando oxigênio em seu metabolismo. Os denominados anaeróbios não são capazes de respirar oxigênio. Há dois tipos de anaeróbios: anaeróbios aerotolerantes, que toleram e crescem na presença de O₂, embora sem respirá-lo, e anaeróbios obrigatórios, que são inibidos ou mesmo mortos pelo O₂.

Daí a importância de uma das características obrigatórias para se obter um processo de compostagem dinâmico e eficaz.

3.8.4 Granulometria

Outro fator que interfere de maneira bastante intensa no processo de compostagem é o tamanho das partículas. O tamanho da partícula recomendado pela literatura é entre 1 e 4 cm. Como consequência do controle da granulometria recomendada, o resultado pode ser a obtenção de massa mais homogênea, melhor porosidade e menor compactação (PEREIRA, 2007), favorecendo o processo aeróbio da compostagem.

3.9 BAMBU

O bambu é um material de grande abundância em regiões tropicais e subtropicais do mundo, tem um rápido crescimento. Considerando que o bambu

também é um material renovável e não poluente, torna-se um produto potencialmente econômico e sustentável (GHAVAMI; MARINHO, 2005).

O bambu triturado fornece condições favoráveis para o processo da compostagem, após a trituração dos colmos o aspecto da massa do material vegetal obtido para a construção das leiras de compostagem, tornasse homogênea e de densidade não compacta, laminar e oferecendo condições inertes ao meio da compostagem. Favorece a evaporação da água encontrada no interior da compostagem e fornecendo entrada de oxigênio para alimentar o processo aeróbico do sistema de metabolização dos microrganismos no interior das leiras (ARRAIS *et al.*, 2015).

3.10 UTILIZAÇÃO DO BIOCOMPOSTO GERADO PELA COMPOSTAGEM NA AGRICULTURA

A compostagem permite a produção de um biofertilizante sólido, que pode gerar renda adicional através da venda do composto e conseqüente redução do custo do Plano de Manejo Ambiental da Propriedade (PEDROSO DE PAIVA, 2006).

O biocomposto produzido pode ser classificado como fertilizante orgânico simples classe A. Sua utilização, no Brasil, é regulamentada pela Instrução Normativa 25/2012 da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura. Devem ser realizadas análises químicas, físicas e microbiológicas para seu registro para comercialização. Este composto poderá ser utilizado para adubação do solo complementando o uso de fertilizantes químicos convencionais, em adubação de fruteiras e/ou reflorestamento, por exemplo. Há restrições de uso no cultivo de hortaliças e na aplicação em pastagens e capineiras por questão de biossegurança por ter sido produzido com carcaças de animais (OTENIO; CUNHA; ROCHA, 2010).

3.11 REGULAMENTAÇÃO NA DESTINAÇÃO DE ANIMAIS MORTOS

Não existe uma regulamentação para definir o processo de manejo das carcaças de animais de grande porte em compostagem. Há um (BRASIL, 2016) Projeto de lei N° 5.851-A que foi aprovado pela câmara dos deputados e encaminhado ao senado para aprovação, com esse objetivo. Porém, o conteúdo

desse documento inviabiliza a prática pelos pequenos criadores. pois, o texto remete a uma estrutura física para manter a carcaça em câmara frigorífica até a mesma ser transportada. E o transporte tem que ser feito por caminhões frigoríficos, o que acrescenta custo a esses produtores. Isso não ocorre com o sistema de compostagem de carcaças.

3.12 MÉTODOS INDICADOS PARA DESTINAÇÃO DE CARÇA DE ANIMAIS

Estudos científicos indicam a utilização da compostagem em animais mortos. No caso de carcaça de aves, de suínos e de ovinos o procedimento é praticado pelas granjas há muitos anos. Mas a utilização de compostagem para animais de grande porte ainda não é tão divulgada. O método indicado neste caso é o aterro sanitário ou a incineração. Quanto à incineração, sabe-se que a umidade das carcaças, em torno de 65-70%, dificulta a queima à baixa temperatura, determinando a necessidade de se utilizar combustível para obter altas temperaturas e injeção de ar para aumentar a eficiência de queima, o que eleva os custos, tanto em termos da estrutura dos queimadores, quando em termos operacionais. Os odores da queima também são fatores complicadores, principalmente quando a granja está próxima a vizinhos (PEDROSO DE PAIVA, 2006)

Em ambos os casos a logística a ser utilizada no traslado e a demora de se realizar esse procedimento pode produzir proliferação de microrganismos ao meio ambiente. A comparação entre os métodos demonstram que a compostagem é mais indicada, pois não necessita de logística fora da propriedade rural.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado nas instalações da Embrapa Gado de Leite, utilizando o Laboratório de Microbiologia do Rúmen, na sede em Juiz de Fora – Minas Gerais e o campo experimental Santa Mônica em Valença – Rio de Janeiro.

4.1 MONTAGEM DA COMPOSTAGEM

Na fazenda foram instaladas pilhas de compostagem, no total de dez (10) pilhas, as quais foram montadas nos meses de maio, junho, julho e agosto (época inverno/seca) no ano de 2017. E em 2017 e 2018, nos respectivos meses de novembro, dezembro, janeiro e fevereiro (verão/época das águas).

Em cada pilha, contendo uma carcaça bovina de aproximadamente 450 Kg, foram introduzidas seis esferas plásticas, contendo microrganismos liofilizados. Onde foram locadas em pontos pré-definidos, como na base interna da compostagem, no interior da carcaça do animal, e na parte superior interna da compostagem.

A compostagem foi realizada em céu aberto, com piso plano de concreto, distante de fonte naturais de água, de fácil acesso a carga e descarga do material utilizado e cercado com cerca elétrica (FIGURA 2).



Figura 2: Local da compostagem. **Fonte:** Autor.

Foram determinadas as seguintes dimensões para a montagem das leiras de compostagem: 60 cm de altura de cama, 3,5 metros de largura e 20 metros de comprimento (FIGURA 3).

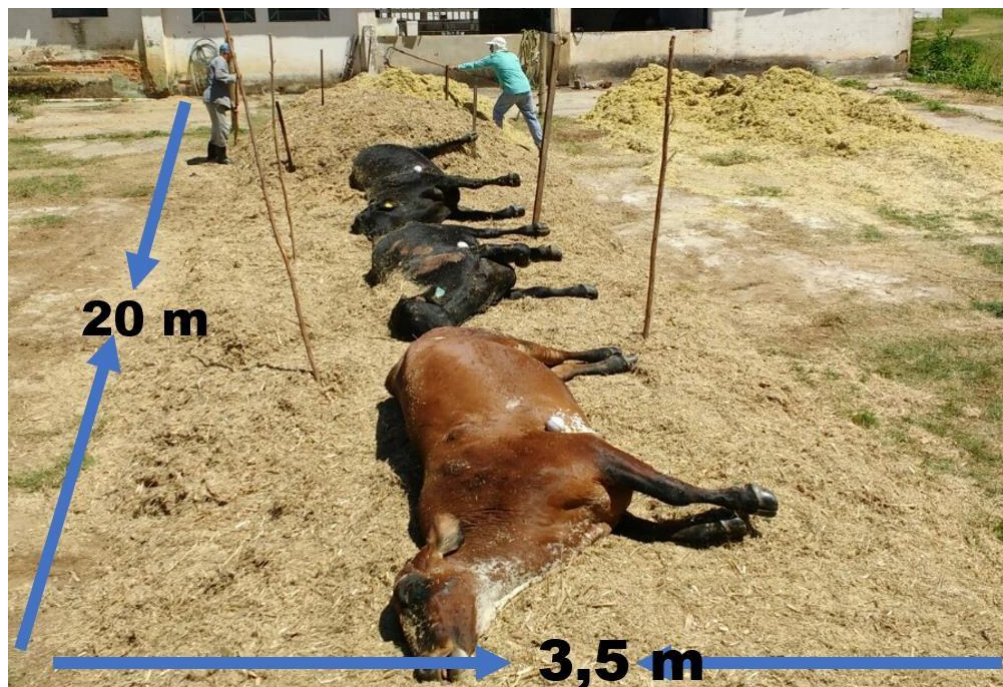


Figura 3: Formação inicial da compostagem. **Fonte:** Autor.

As carcaças foram posicionadas uniformemente, com as esferas posicionadas nos locais pré-determinados. Neste momento, fez-se uma perfuração no rúmen de cada animal, para se evitar a explosão de ar, oriundo da fermentação no interior do órgão digestivo.

Em seguida, as carcaças foram cobertas com o material vegetal (bambu triturado), previamente seco à sombra (FIGURA 4). No final do processo de montagem da compostagem, a mesma atingiu aproximadamente 1,70 metros de altura.



Figura 4: Bambu triturado, seco à sombra. **Fonte:** Autor.

Para finalizar o processo de montagem das leiras de compostagem, foi feita uma proteção com cerca elétrica, para impedir o acesso de animais domésticos e silvestres às carcaças dos animais no interior da compostagem (FIGURA 5).



Figura 5: Proteção com cerca elétrica ao redor da leira de compostagem. **Fonte:** Autor

Como o processo de compostagem trata-se de um processo biológico, ao ar livre, fatores podem influenciar a atividade microbiana, por isso esses fatores devem ser controlados e torna-se necessário fornecer e manter as condições do meio para que essa atividade ocorra. Foram monitorados diariamente a temperatura da compostagem, as condições ambientais (como: chuva, temperatura e umidade) e o aparecimento de chorume.

4.2 MONTAGEM DAS ESFERAS PLÁSTICAS CONTENDO MICRORGANISMOS LIOFILIZADOS

O local de preparo das esferas plásticas contendo microrganismos liofilizados foi feito no Laboratório de Microbiologia do Rúmen, na sede da Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora. Abrangendo 06 esferas perfuradas, por animal, que foram inoculadas na compostagem e nas carcaças dos bovinos, totalizando 60

esferas plásticas perfuradas inoculadas no período do verão e do inverno. Cada esfera plástica foi identificada individualmente com placas de alumínio (QUADRO 1).

Quadro 1: Identificação das esferas plásticas.

ESFERAS	IDENTIFICAÇÃO	LOCAL DE INCUBAÇÃO
Esfera plástica	100	Cama de compostagem
Esfera plástica	200	Boca do animal
Esfera plástica	300	Interior do rúmen
Esfera plástica	400	Úbere do animal
Esfera plástica	500	Pele do animal
Esfera plástica	600	Superior da compostagem

No interior das esferas plásticas foram colocados microrganismos liofilizados e placas de identificação individual das bactérias no interior dos envelopes de nylon (QUADRO 2) e posteriormente selados. Para preencher o espaço entre os envelopes no interior da esfera foi adicionada uma porção de bambu triturado, com o objetivo de não haver atrito entre os envelopes (FIGURA 6).



Figura 6: Esfera plástica perfurada para inoculação na compostagem com envelopes de nylon, contendo no interior deles microrganismos liofilizados com identificação individual (QUADRO 2).

Fonte: Autor

4.3 CARACTERÍSTICA DO ENVELOPE ONDE FORAM ACONDICIONADOS OS MICRORGANISMOS

Tecido de nylon, utilizado para fabricação dos envelopes, contendo no interior o pó de bambu, além do microrganismo liofilizado e da placa de identificação (FIGURA 7). O tecido proporciona proteção aos microrganismos liofilizados e permite a difusão de água e calor para o interior do envelope.



Figura 7: Detalhe do tecido de nylon e a identificação no interior de cada envelope. **Fonte:** Autor

4.4 ESPECIFICAÇÃO DA ESFERA PLÁSTICA UTILIZADA NA INOCULAÇÃO DAS CARÇAÇAS BOVINAS

As esferas plásticas utilizadas para inoculação de microrganismos liofilizados na compostagem foram perfuradas para que possa obter transferência e interação entre o material acondicionado no interior da esfera com o ambiente da compostagem. As características das esferas plásticas são: esfera de polietileno, alta densidade, coloração branco, perfuradas, diâmetro de 75 mm, peso aproximado de 35 g e resistente a altas temperaturas.

4.5 PROCEDIMENTO PARA PREPARAÇÃO DE INÓCULO DE MICRORGANISMOS INDICADORES PARA INCUBAÇÃO EM CARÇA BOVINA EM PILHAS DE COMPOSTAGEM

O preparo dos microrganismos liofilizados, utilizados na inoculação das carcaças bovinas, foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Rúmen, na sede da Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora. E inseridos no interior das esferas plásticas

Em um tubo, tipo eppendorf, contendo estoque da bactéria, do freezer -20 °C. Localizado na sede da Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora. Inoculou-se a bactéria, com auxílio de uma alça bacteriológica, em meio ágar BHI, visando obter colônias isoladas e incubado a 35 °C por 16 a 18 horas. Transferindo três colônias do meio ágar BHI, com auxílio de uma alça bacteriológica, para o tubo contendo 10 ml de meio de cultura líquido HBI e incubar a 35 °C por 18 horas. Em seguida, inocular os 3 ml da pré-cultura em um frasco de Erlenmeyer contendo 100 ml de caldo BHI e inocular a 37 °C por 4 horas, em 150 rpm no equipamento Shaker horizontal New Brunswick.

Transferindo o conteúdo do Erlenmeyer para um tubo de centrifuga e realizar a centrifugação a 5.000 rpm, por 10 Minutos a 4 °C, no equipamento Centrifuga Refrigerada Sorvall RC 5B. Desprezar o líquido sobrenadante e ressuspender o sedimento em 6ml do líquido Litmus Milk utilizando um tubo de ensaio estéril. Colocar 3 ml da suspensão bacteriana/meio Litmus Milk em uma placa de petri estéril, com 2 g de pó de bambu (estéril), e armazenadas no freezer a -80 °C pelo menos 15 horas.

Retirou-se aproximadamente 200 mg da mistura (suspensão bacteriana/meio Litmus Milk + pó de bambu) foi acondicionada em um tubo de eppendorf. Armazenar essa amostra em local reservado e em condições naturais de temperatura e luminosidade.

4.6 TÉCNICA DO PROCEDIMENTO DE LIOFILIZAÇÃO DO CULTIVO BACTERIANO

O liofilizador foi ajustado nas condições de $-52\text{ }^{\circ}\text{C}/0,04\text{ mBar}$ e proceder com a técnica para que ocorra a liofilização do material biológico. Pelo período de 26 horas. Após a completa liofilização do material, o mesmo foi mantido sob refrigeração a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, em geladeira.

4.7 TÉCNICA PARA AVALIAÇÃO QUALITATIVA (PUREZA) E QUANTITATIVA (UFC/mg) DO CULTIVO BACTERIANO LIOFILIZADO

Reconstituiu-se 1 mg do liofilizado em 0,5 mL de solução salina. Com auxílio de alça bacteriológica, inoculou-se a amostra em ágar BHI e incubou-se a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Foi verificado a viabilidade e pureza da cultura. Sendo observada uniformidade das colônias no ágar BHI, realizou-se as contagens conforme descrito abaixo:

Preparou-se diluições seriadas de 1/10, 1/100, 1/1.000, 1/10.000, 1/100.000, 1/1.000.000, 1/10.000.000 e 1/100.000.000. Inoculou-se 100 μL das diluições 10^{-5} a 10^{-8} por placa de ágar BHI em triplicata, utilizando a técnica de espalhamento. As placas foram incubadas a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

Realizou-se a contagem das colônias e o registro das informações. Calculou-se a média aritmética por diluição. Considerou-se as placas com contagens entre 30 a 250 colônias para cálculo da concentração de UFC/mg do liofilizado.

4.8 PREPARO DAS LINHAGENS BACTERIANAS PARA INSERÇÃO NAS PILHAS DE COMPOSTAGEM

Preparou-se amostras de 1 g (3 réplicas para cada microrganismo) de pó de bambu contendo 10^6 células das linhagens bacterianas liofilizadas e acondicionados

em sacos de nylon identificados com placas de alumínio (0,5 x 0,5 cm²) gravadas, conforme a codificação atribuída a cada microrganismo (QUADRO 2).

Quadro 2: Identificação das bactérias liofilizadas.

MICROORGANISMOS	IDENTIFICAÇÃO
<i>Bacillus cereus</i>	2
<i>Enterococcus faecalis</i>	5
<i>Echerichia coli</i>	6
<i>Listeria monocytogeneses</i>	7
<i>Salmonella Typhimurium</i>	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
<i>Streptococcus uberis</i>	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	11

4.9 CONTROLE POSITIVO DO PROCEDIMENTO DE RECONSTITUIÇÃO

Para controle positivo, foi armazenada uma réplica da amostra preparada em um frasco fechado (contendo o mesmo material vegetal da compostagem utilizada no estudo), em local seco e em temperatura ambiente no laboratório de Microbiologia do Rúmen.

Na amostra controle positivo, dissolveu-se 1 g da mistura do microrganismo e pó de bambu em 10 mL de Água Peptonada. obtendo-se uma solução a 0,1% (10⁻¹). A partir dessa mistura correspondente a 10⁻¹ de Água Peptonada Tamponada, fez-se a diluição para 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶

Inoculou-se 0,1ml de alíquota, das respectivas diluições em Ágar BHI, em triplicada. Utilizando a técnica de espalhamento. Incubou-se a 35 °C por 24 horas. Fez-se a contagem de colônias nas placas de Ágar BHI

4.10 CONTROLE DA TEMPERATURA NO INTERIOR DA COMPOSTAGEM

A temperatura no interior da compostagem foi monitorada a partir do segundo dia de compostagem. A medição foi realizada por termômetro digital, onde o sensor foi introduzido até o centro da compostagem com auxílio de um tubo de ferro galvanizado (FIGURA 8). E anotado diariamente em um diário de campo.



Figura 8: Local por onde foram realizadas as aferições de temperatura no interior da compostagem.
Fonte: Autor.

4.11 COLETA DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS NAS PILHAS DE COMPOSTAGEM PARA ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS E FÍSICO-QUÍMICAS

A remoção das esferas plásticas foram realizadas após sete, quinze, trinta, sessenta e noventa dias de tempo de compostagem.

Para a remoção das esferas plásticas e coleta das amostras biológicas foram utilizados equipamento de proteção individual, como jalecos, botas, luvas cirúrgicas, óculos de proteção, máscaras, além do auxílio da ferramenta chamada de ancinho. Após a retirada das esferas plásticas, as mesmas foram envolvidas em papel filme e transportadas em caixa térmica, contendo gelos recicláveis, até o laboratório de microbiologia do Rúmen.

Em um raio de 30 cm entorno da esfera localizada foi recolhido uma amostra do material orgânico para análises, armazenada em frasco estéril, identificada e transportada em caixas térmicas.

4.12 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISES DAS ESFERAS

As esferas plásticas foram manipuladas no interior da capela de fluxo laminar, com técnica de assepsia para desmontagem das esferas. Além da utilização dos equipamentos de proteção individual, como jaleco, luvas cirúrgicas, óculos de proteção, máscaras. Foram separadas o material vegetal do interior da esfera, os envelopes de nylon e o material liofilizado do interior dos envelopes (FIGURA 9).



Figura 9: Material do interior das esferas inoculadas. No centro da foto, o bambu utilizado no interior das esferas plásticas, denominada bambu esfera. **Fonte:** Autor.

Os microrganismos liofilizados que estavam nos envelopes de nylon foram acondicionados em frascos de vidro estéreis e identificados (QUADRO 2), assim como os envelopes vazios, e estocados em freezer.

O material orgânico recolhido na coleta das amostras ao redor das esferas plásticas foi acondicionado diretamente no freezer.

4.13 ANALISE MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

O material biológico analisado foram as amostras biológicas coletadas na compostagem e classificadas como: bambu esfera, bambu entorno e envelopes vazios. O bambu esfera, refere-se à massa de bambu triturado no interior da esfera plástica, com o objetivo de acomodar de forma uniforme os envelopes contendo os microrganismos liofilizados. O bambu entorno são as amostras coletadas ao redor da esfera inoculada no ato de sua remoção e os envelopes vazios são assim denominados pois não possuem no seu interior o microrganismo liofilizado, estes por

sua vez foram removidos, armazenados em frascos identificados e estocados em freezer – 15 °C, para posterior análises microbiológicas quantitativas.

As amostras biológicas foram submetidas a análises microbiológicas com objetivo de identificar a presença ou ausência do microrganismo.

Os meios de culturas utilizados foram Água Peptonada Tamponada 10%, Caldo Rappaport e Caldo Selenito Cistina, com o objetivo de enriquecimento. E incubados por 35 °C por 12 horas. Foram utilizados 10 g da amostra para 100 mL do meio. O Erlenmeyer foi levado ao misturador automático (mesa agitadora, CT-145) por 15 minutos, para que o material biológico seja homogeneizado no meio de cultura.

Após a incubação por 12 horas, foi transferido 100 µL da mistura para placas de meio de cultura seletivos (QUADRO 3). No caso de crescimento microbiano específico nos meios de culturas seletivos (QUADRO 4), procedeu-se ao cultivo dos microrganismos em meio de BHI por 24 horas a 35 °C, com objetivo de isolamento das colônias e em seguida realização, da coloração de Gram e análises bioquímicas.

Quadro 3: Meios de cultura utilizados.

MEIO SELETIVO	MEIO DE ENRIQUECIMENTO		
MacConkey	Água Peptonada Tamponada 10%	Caldo Rappaport	Caldo Selenito Cistina
SS	X	X	X
XLD	X	X	X
VRB	X	----	----
Baird-Parker	X	----	----
Manitol	X	----	----
Triple Sugar Iron	X	----	----
Bem	X	X	X
Slanetz & Bartley Medium	X	----	----
Brilliance Listeria	X	----	----
Hektoen Enteric	X	X	X
Verde Brilhante, com tubos de durham	X	----	----

Quadro 4: Meios de cultura seletivos.

MEIOS DE CULTURA SELETIVOS	OBJETIVO	CARACTERÍSTICAS DE IDENTIFICAÇÃO DO MEIO
ágar Manitol Fornecedor: Oxoid	<i>Staphylococcus aureus</i>	Colônias e meio amarelo (fermentação de d-manitol)
	<i>Bacillus cereus</i>	Colônias de coloração azul * Com adição de gema de ovo piruvato *
ágar XLD Fornecedor: Oxoid	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Colônias vermelhas Com centro negro pp ¹ H ₂ S
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colônias vermelhas
	<i>Echerichia coli</i>	Colônias amarelas, Grandes, planas
ágar VRB Fornecedor: Oxoid	<i>Echerichia coli</i>	Colônias cor de rosa a vermelho com centro negro
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Colônias incolores – não fermenta lactose
ágar SS Fornecedor: Oxoid	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Colônias bege com centro negro
ágar Triple Sugar Iron Fornecedor: Oxoid	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Colônias cor de rosa c/ centro negro
	<i>Echerichia coli</i>	Colônias amarela
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Colônias amarelas pequenas
Ágar EMB Fornecedor: Oxoid	<i>Echerichia coli</i>	Colônia com brilho verde metálico
ágar MacConkey Fornecedor: Oxoid	<i>Echerichia coli</i>	Fermentadoras de lactose Colônias rosas Meio rosa
	<i>Salmonella</i> Typhimurium, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Não fermentadoras de lactose Colônias bege ou incolor Meio amarelo/ âmbar
ágar Slanetz & Bartley Fornecedor: Oxoid	<i>Enterococcus faecalis</i>	Colônia vermelha
ágar Brillance Listeria Fornecedor: Oxoid	<i>Listeria monocytogenes</i>	Colônias cinzas esverdeadas
ágar Baird-Parker Fornecedor: Oxoid	<i>Staphylococcus aureus</i>	Colônias beges com centro negro
ágar Hektoen Enteric Fornecedor: Oxoid	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Colônias verdes com ou sem centro negro
Caldo Verde Bile Brilhante Fornecedor: Oxoid	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Sem formação de gás nos tubo de durham
	<i>Echerichia coli</i>	Com formação de gás nos tubo de durham
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Com formação de gás nos tubo de durham

Legenda: ¹ precipitado.

4.13.1 Análise microbiológica utilizando Água Peptonada Tamponada 10%

Após a incubação por 12 horas dos frascos de Erlenmeyer contendo Água Peptonada Tamponada 10%, transferiu-se 100 µL da mistura para as placas de meio de cultura seletivos, conforme quadro nº 1. Havendo crescimento bacteriano específico no meio utilizado (QUADRO 3) procedeu-se o cultivo em placa de BHI e posteriormente os testes de coloração de Gram e bioquímicos.

4.13.2 Análise microbiológica utilizando meio de cultura de enriquecimento: Caldo Selenito Cistina e Caldo Rappaport

Após a incubação por 12 horas dos frascos de Erlenmeyer contendo os caldos Selenito Cistina e Rappaport, ambos com a finalidade de detecção de *Salmonella* Typhimurium, foram transferidos 100 µL do caldo para as placas de meio de cultura seletivos (QUADRO 4). Havendo crescimento bacteriano específico para o meio de cultura utilizado (QUADRO 3) foi feito o cultivo em placa de BHI e posteriormente os testes de coloração de Gram e bioquímicos.

Quadro 5: Meios de cultura seletivos para identificação de *Salmonella* sp.

MEIOS DE CULTURAS SELETIVOS	OBJETIVO	CARACTERÍSTICAS DE IDENTIFICAÇÃO DO MEIO
ágar MacConkey Fornecedor: Oxoid	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Colônias bege ou incolor Meio amarelo/ âmbar
ágar Hektoen Enteric Fornecedor: Oxoid	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Colônias verdes com ou sem centro negro
ágar SS Fornecedor: Oxoid	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Colônias bege com centro negro
ágar XLD Fornecedor: Oxoid	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Colônias vermelhas Com centro negro pp ¹ H ₂ S

4.14 TESTES BIOQUÍMICOS

Os microrganismos efetuam as suas variadas atividades bioquímicas utilizando nutrientes obtidos a partir do ambiente que os rodeia. Essas reações bioquímicas que ocorrem dentro ou fora dos microrganismos, e são catalisadas por enzimas.

No laboratório, é possível demonstrar algumas das atividades bioquímicas através da observação da capacidade dos microrganismos usarem enzimas para degradar hidratos de carbono, lipídios, proteínas e aminoácidos. Geralmente, a metabolização destas moléculas orgânicas origina produtos finais cuja detecção pode ajudar na caracterização e identificação dos microrganismos.

Os testes bioquímicos utilizados no trabalho foram: teste de indol, presença da reação de H₂S, motilidade microbiana, catalase, oxidase, bile esculina, vermelho de metila e coagulase.

4.14.1 Teste de Indol, H₂S e Motilidade

Foi utilizado o meio de cultura semi-sólido, denominado SIM, com o objetivo de se verificar a presença de H₂S, indol e motilidade das colônias isoladas. Após os testes, o resultado foi anotado na planilha de análises (ANVISA, 2010).

Quadro 6: Interpretação de resultado do meio de cultura semi-sólido SIM.

MICROORGANISMO	INDOL (+) / (-)	PRESEÇA DE H ₂ S (+) / (-)	MOTILIDADE BACTERIANA (+) / (-)
<i>Escherichia coli</i>	(+)	(-)	(+)
<i>Salmonella Typhimurium</i>	(-)	(+)	(+)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(-)	(-)	(+)
<i>Streptococcus uberis</i>	---	---	---
<i>Staphylococcus aureus</i>	---	---	(-)
<i>Bacillus cereus</i>	---	---	(+)
<i>Enterococcus faecalis</i>	---	---	(-)
<i>Listeria monocytogeneses</i>	---	---	(-)

4.14.2 Testes de catalase

A catalase é uma enzima produzida por certas bactérias, que desdobra a solução de Peróxido de Hidrogênio 10% em água e oxigênio. Para pesquisa-la, basta colocar algumas gotas de água oxigenada sobre a colônia, estando a catalase presente, haverá o desprendimento de bolhas, indicando a liberação de oxigênio (ANVISA, 2010).

Quadro 7: Interpretação do teste de Catalase.

MICROORGANISMO	CATALASE (+) OU (-)
<i>Echerichia coli</i>	(+)
<i>Salmonella Typhimurium</i>	(+)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(+)
<i>Listeria monocytogenes</i>	(+)
<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)
<i>Streptococcus uberis</i>	(-)
<i>Bacillus cereus</i>	(+)
<i>Enterococcus faecalis</i>	(-)

4.14.3 Teste de Oxidase

Esta prova permite distinguir grupos de microrganismos tendo como base a atividade da enzima citocromo oxidase. As oxidases têm um papel importante no sistema de transporte de elétrons durante a respiração aeróbia. A citocromo oxidase catalisa a oxidação de um citocromo reduzido pelo oxigênio molecular, resultando na formação de H₂O e de um citocromo oxidado. As bactérias aeróbias e algumas anaeróbias facultativas exibem atividade da oxidase.

Esta prova é importante para distinguir grupos de bacilos Gram negativo patogênicos.

A capacidade das bactérias produzirem estas enzimas podem ser determinadas pela adição do reagente das oxidases (dihidrocloreto de tetrametil p-fenilenodiamina). Estes reagentes de cor rosa agem como um substrato artificial, fornecendo elétrons e conseqüentemente ficando oxidado, tornando-se um composto escuro (castanho negro) na presença de oxidase e de oxigênio livre.

Após a adição do reagente o desenvolvimento da coloração rosa, depois castanha e finalmente negra na superfície das colônias é indicativo da produção de

citocromo oxidase e representa uma prova positiva. Se não houver mudança de cor ou se as colônias apresentarem uma coloração rosa suave é indicativo de ausência de atividade da oxidase e é uma prova negativa (ANVISA, 2010).

4.14.4 Teste de Bile Esculina

A prova de Bile Esculina é baseada na capacidade de algumas bactérias hidrolisarem esculina em presença de bÍlis. A esculina é um derivado glicosídico da cumarina. As duas moléculas do composto (glicose e 7-hidroxycumarina) estão unidas por uma ligação éster através do oxigênio. A esculina é incorporada em um meio contendo 4% de sais biliares. As bactérias bile esculina positiva são capazes de crescer em presença de sais biliares. A hidrólise da esculina no meio resulta na formação de glicose e esculetina. A esculetina reage com íons férricos (fornecidos pelo composto inorgânico do meio - citrato férrico), formando um complexo negro (ANVISA, 2010).

A cor inicial do meio é acinzentado. Quando houver o enegrecimento do meio, o teste de Bile Esculina é positivo. A ausência no enegrecimento após 72 horas de incubação indica reação negativa para o teste. O tempo de inoculação é de 48 horas, alguns *Streptococcus* spp. podem hidrolisar a esculina em presença de bÍlis se incubados em atmosfera de CO₂ (ANVISA, 2010).

4.14.5 Teste de Vermelho de Metila

Tem como objetivo determinar a capacidade dos microrganismos para oxidar a glicose com produção e manutenção de concentrações altas de produtos finais ácidos. Efetua-se no meio MR – VP (methyl Red, Voges – Proskauer).

A glicose é o mais importante substrato oxidado por todos os microrganismos intestinais para a produção de energia. No entanto, os produtos finais deste processo variam, dependendo do equipamento enzimático presente na bactéria. Apesar de todos os microrganismos intestinais fermentarem a glicose com produção inicial de ácidos orgânicos, há uns (ex.: *Escherichia coli*) que mantêm um pH de 4 até ao fim da incubação.

Nesta prova o indicador de pH, vermelho de metila, detecta a presença de grandes concentrações de produtos finais ácidos, pois tem um ponto de viragem baixo. Em pH 4, o vermelho de metila vira para vermelho, o que indica uma reação positiva. Quando o pH é 6, apesar de ainda ser ácido, como há menos íons hidrogênio, o indicador muda para amarelo e é uma prova negativa (ANVISA, 2010).

4.14.6 Teste de Coagulase

As coagulases são enzimas com capacidade para coagular o plasma sanguíneo através de um mecanismo similar ao da coagulação normal.

A atividade da coagulase é utilizada para distinguir espécies patogênicas de *Staphylococcus* de espécies não patogênicas, sendo um bom indicador da patogenicidade do *S. aureus*.

A prova da coagulase em tubo consiste em juntar num tubo de ensaio contendo plasma (obtido de sangue a que se juntou um anticoagulante, por exemplo: oxalato, citrato e heparina) uma suspensão de microrganismos ou colônias provenientes de um meio sólido e incubar a 37 °C. A formação de coágulos em 24 horas de incubação é interpretada como uma prova positiva. A ausência de coagulação após 24 horas de incubação é uma prova negativa.

Esta prova pode ser realizada de um modo mais rápido (prova em lâmina) colocando-se duas porções de bactérias da espécie em estudo nos extremos de uma lâmina, fazendo-se em seguida uma pequena suspensão, sendo depois adicionado a uma delas uma gota de água destilada (controle) e a outra uma gota de plasma. Homogeneíza-se bem e observa-se, ao fim de uns minutos. Se o aspecto é idêntico a prova é negativa ou se ocorreu formação de pequenos agregados resultantes do fato das bactérias ficarem aprisionadas na rede de fibrina então formada a prova é positiva (ANVISA, 2010).

4.15 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo realizado utilizou o delineamento em bloco ao acaso, onde foi planejado para ser em blocos, em condições homogêneas e repetições dos tratamentos, casualizados e controladas em todas etapas da pesquisa.

Foram realizadas cinco pilhas de compostagem, cada uma delas contendo uma carcaça bovina. As carcaças eram de animais do mesmo sexo, com idade e peso corpóreo semelhantes. As pilhas montadas de forma uniforme, com o mesmo material vegetal, mesmas condições físicas de estrutura e colocadas no mesmo local, a céu aberto e com piso de concreto.

O experimento foi realizado em duas etapas, classificadas como época seca/inverno, compreendendo os meses de junho, julho e agosto, e época chuvosa/verão, entre os meses novembro, dezembro, janeiro e fevereiro.

No interior de cada pilha de compostagem foram inoculadas seis esferas contendo microrganismos liofilizados e colocados em locais pré-determinados, igual em todas as outras pilhas. Os microrganismos liofilizados foram acondicionados em envelopes individuais e identificados, colocando-se três envelopes de cada microrganismo por esferas plásticas.

5 RESULTADOS

As análises dos dados obtidos durante o processo de compostagem foram realizadas em duas épocas climáticas, época seca e época das águas, conforme planejamento do estudo.

5.1 RESULTADOS NA ÉPOCA SECA

5.1.1 Resultados das variáveis meteorológicas

Os dados ambientais, como temperatura e umidade, foram retirados das informações do Instituto Nacional de Meteorologia, da estação localizada em Valença-RJ na Fazenda Santa Monica, pertencente à Embrapa Gado de Leite.

a) Temperatura ambiente

Tabela 1: Média das temperaturas dos meses de Junho, Julho e Agosto.

MESES	MÉDIA
Junho	19,82
Julho	19,4
Agosto	19,02

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia

b) Umidade ambiente

Tabela 2: Média da umidade ambiente dos meses de Junho, Julho e Agosto.

MESES	MÉDIA
Junho	77,82
Julho	73,34
Agosto	71,9

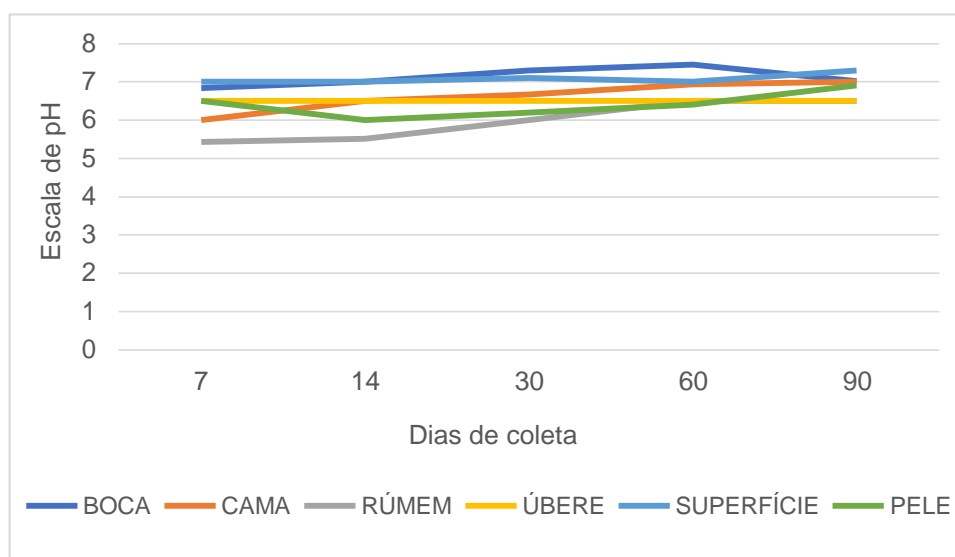
Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia

5.1.2 Análises de pH da pilha de compostagem bovina

Os resultados obtidos e inseridos na tabela 3, são resultantes das análises de pH do material vegetal retirado da pilha de compostagem, conforme as datas pré-estabelecidas.

Tabela 3: Resultados das análises de pH durante o processo de compostagem bovina.

LOCAIS DE INOCULAÇÃO DAS ESFERAS	DIAS DE COLETA DAS AMOSTRAS					MÉDIA POR ESFERA
	7	14	30	60	90	
Boca	6,83	7	7,3	7,45	7,02	7,12
Cama	6	6,5	6,67	6,93	7	6,62
Rúmeme	5,43	5,51	6	6,5	6,5	5,988
Úbere	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
Superfície	7	7	7,1	7	7,3	7,08
Pele	6,5	6	6,2	6,4	6,9	6,4
Média por coleta	6,37	6,41	6,62	6,79	6,87	6,61

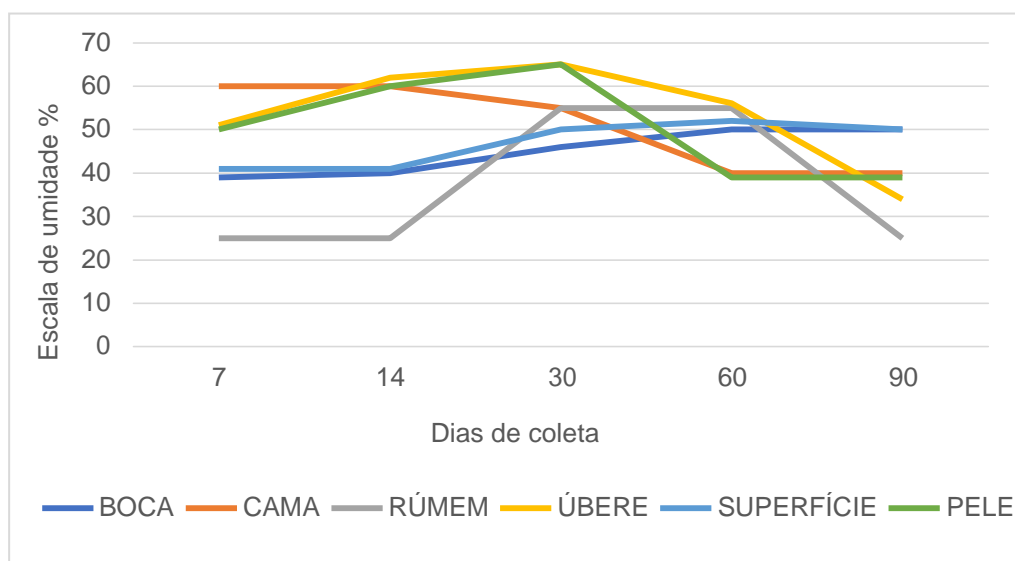
Gráfico 1: Valores de pH durante o processo de compostagem bovina

5.1.3 Teor de umidade no interior da pilha de compostagem bovina

Os resultados de teor de umidade analisados no material vegetal retirado da pilha de compostagem, conforme as datas pré-estabelecidas e inseridos na tabela 4.

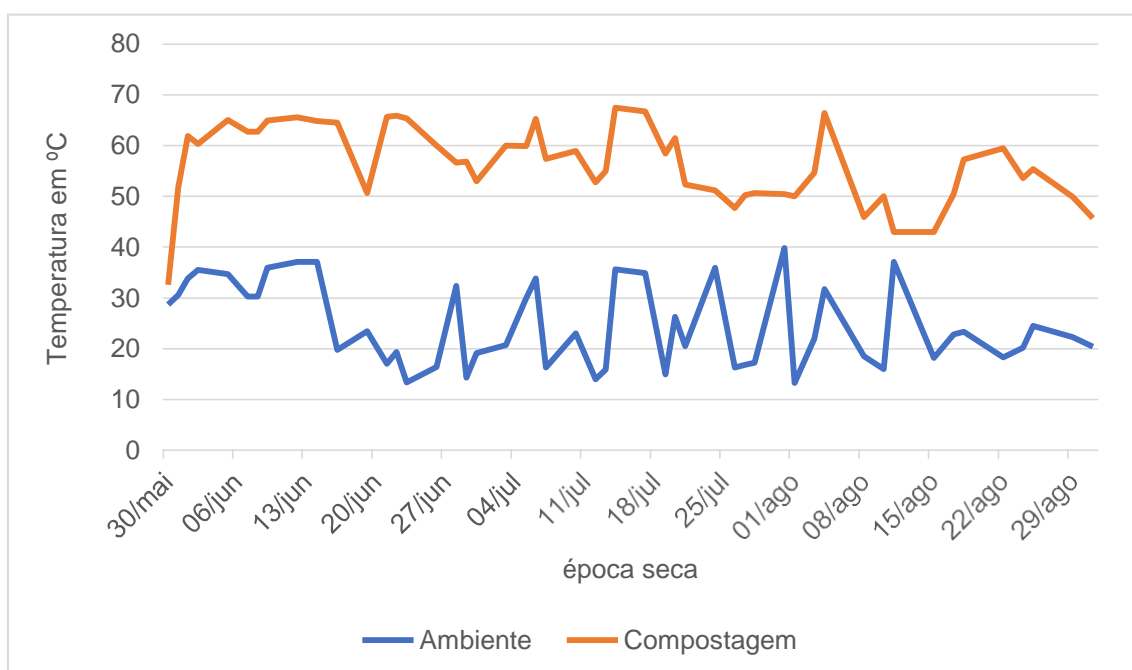
Tabela 4: Resultados das análises de teor de umidade durante o processo de compostagem bovina, em porcentagem %.

LOCAIS DE INOCULAÇÃO DAS ESFERAS	DIAS DE COLETA DAS AMOSTRAS					MÉDIA POR ESFERA
	7	14	30	60	90	
BOCA	39	40	46	50	50	45
CAMA	60	60	55	40	40	51
RÚMEN	25	25	55	55	25	37
ÚBERE	51	62	65	56	34	53,6
SUPERFÍCIE	41	41	50	52	50	46,8
PELE	50	60	65	39	39	50,6
MÉDIA POR COLETA	44,33	48	56	48,66	39,66	47,33

Gráfico 2: Valores do teor de umidade durante o processo de compostagem bovina.

5.1.4 Temperatura no interior da compostagem bovina

A média referente aos meses na época seca foi 56,4 °C. Observou-se um pico de temperatura no quadragésimo quarto dia de compostagem, registrado em 67,5 °C.

Gráfico 3: Valores da temperatura gerada no interior da compostagem durante seu processo.

5.1.5 Análises microbiológicas qualitativas do material biológico da pilha de compostagem bovina

a) Resultados microbiológicos dos envelopes vazios

Os resultados obtidos pelos envelopes vazios foram provenientes do método de análise conforme os itens 4.13, 4.13.1, 4.13.2. E registrados nas tabelas de 5 a 9 e gráficos 4 a 9.

Tabela 5: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, primeira coleta (7 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	+	+	+	+	+	+	-
ÚBERE	+	+	+	+	+	+	+	+
PELE	-	+	+	+	+	+	+	-
CAMA	-	+	+	+	+	+	-	-
SUPERFICIE	-	+	+	+	+	+	-	-
BOCA	+	+	+	+	+	+	+	+

Gráfico 4: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, com 7 dias de compostagem.

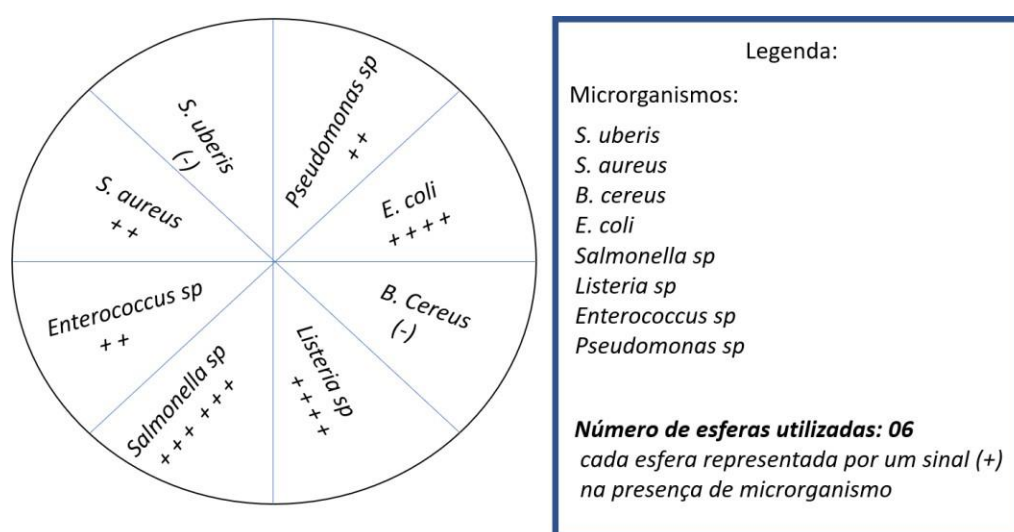


Gráfico 6: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, com 30 dias de compostagem.

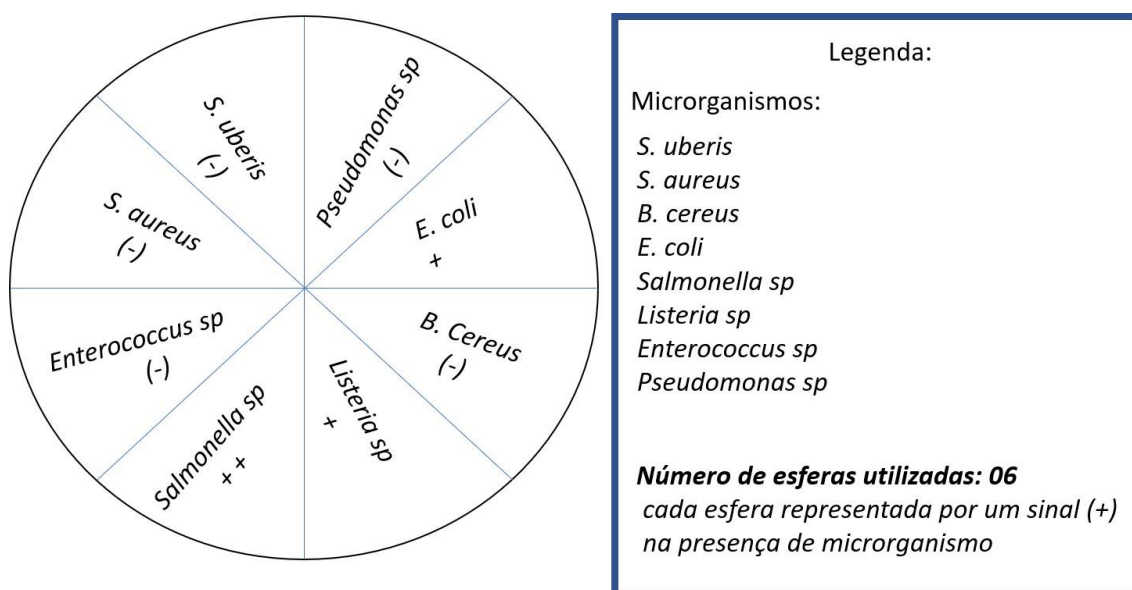


Tabela 8: Tabela 8: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, quarta coleta (60 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	-	-	-	-	-
ÚBERE	-	-	-	-	-	-	-	-
PELE	-	-	-	-	-	-	-	-
CAMA	-	-	-	-	-	-	-	-
SUPERFICIE	-	-	-	-	-	-	-	-
BOCA	-	-	-	-	-	-	-	-

Gráfico 7: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, com 60 dias de compostagem.

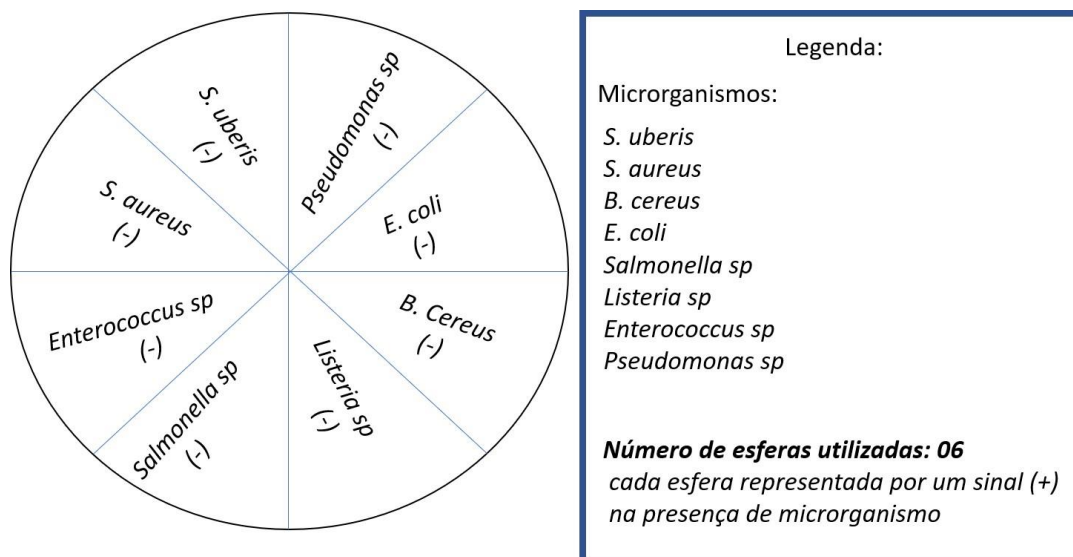


Tabela 9: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, quinta coleta (90 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	-	-	-	-	-
ÚBERE	-	-	-	-	-	-	-	-
PELE	-	-	-	-	-	-	-	-
CAMA	-	-	-	-	-	-	-	-
SUPERFÍCIE	-	-	-	-	-	-	-	-
BOCA	-	-	-	-	-	-	-	-

Gráfico 8: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios, com 90 dias de compostagem.

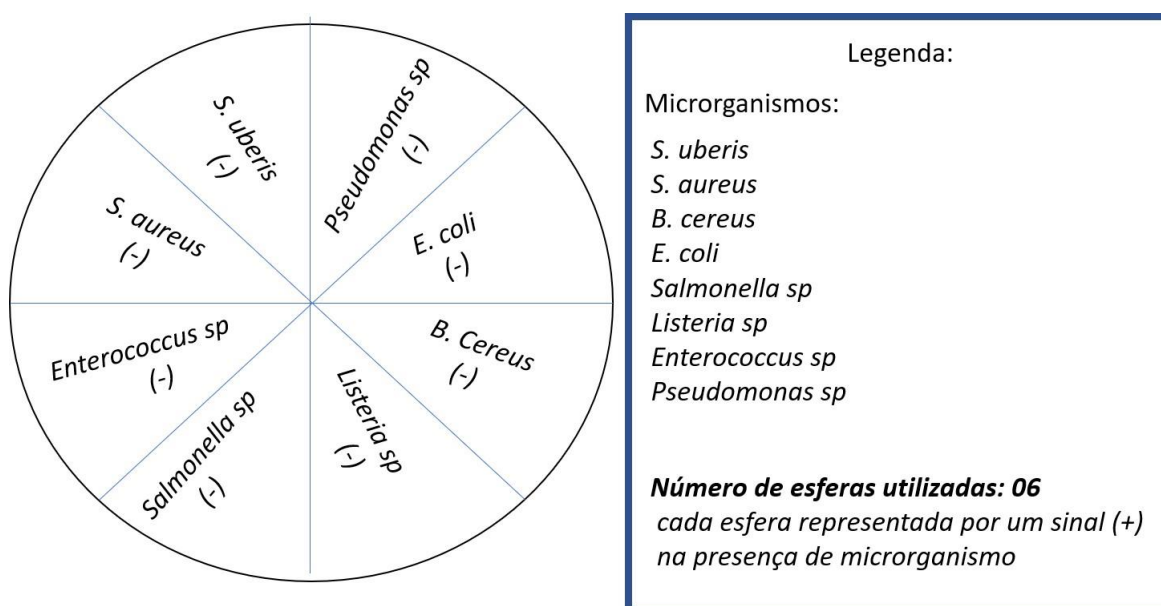
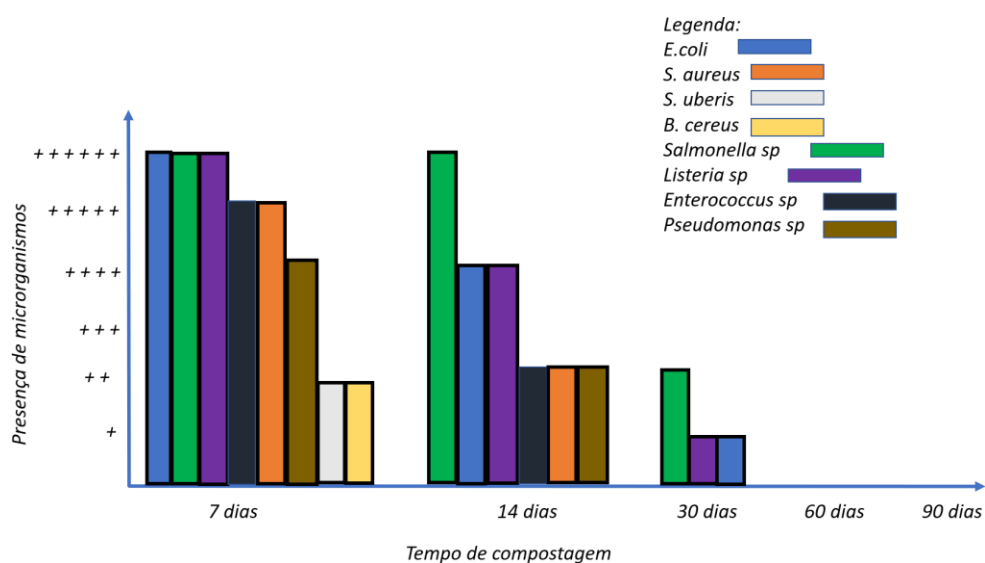


Gráfico 9: Resultados geral as análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca nos envelopes vazios.



b) Resultado microbiológico do bambu esfera

Utilizando o material denominado bambu esfera, como material biológico, e procedendo as análises conforme os itens 4.13, 4.13.1, 4.13.2, obteve-se os resultados analisados e registrados nas tabelas 10 a 14 e gráficos 10 a 15.

Tabela 10: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, primeira coleta (7 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	+	+	+	+	+	+	+	+
UBERE	+	+	+	+	+	+	+	+
PELE	+	+	+	+	+	+	+	+
CAMA	+	+	+	+	+	+	+	+
SUPERFICIE	+	+	+	+	+	+	+	+
BOCA	+	+	+	+	+	+	+	+

Gráfico 10: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, com 7 dias de compostagem.

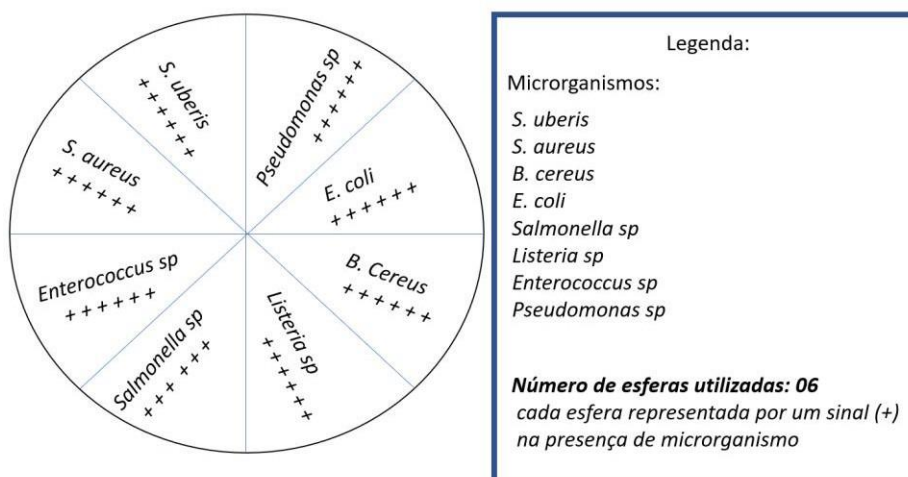


Tabela 11: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, segunda coleta (14 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	+	+	+	+	+	+	-
ÚBERE	-	-	+	+	+	+	-	-
PELE	-	-	+	+	+	+	-	-
CAMA	-	-	-	+	-	-	-	-
SUPERFÍCIE	-	-	-	+	-	-	-	-
BOCA	-	+	+	+	+	+	+	-

Gráfico 11: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, com 14 dias de compostagem.

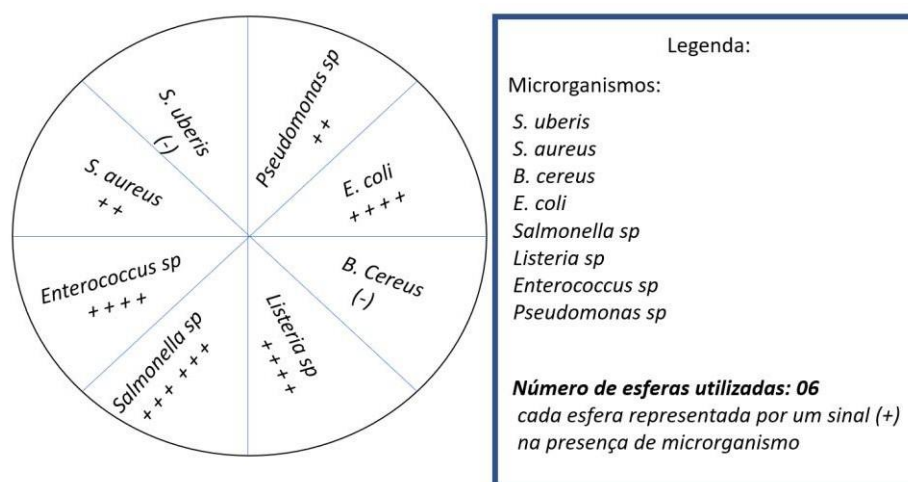


Tabela 12: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, terceira coleta (30 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	+	+	+	-	-
ÚBERE	-	-	-	-	+	+	-	-
PELE	-	-	-	-	-	-	-	-
CAMA	-	-	-	-	-	-	-	-
SUPERFÍCIE	-	-	-	-	-	-	-	-
BOCA	-	-	-	-	+	+	-	-

Gráfico 12: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, com 30 dias de compostagem.

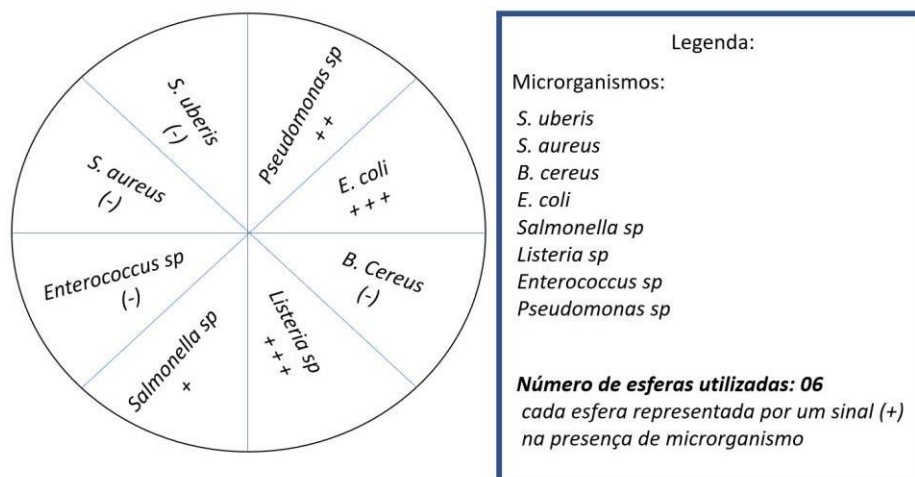


Tabela 13: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, quarta coleta (60 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	-	-	-	-	-
ÚBERE	-	-	-	-	-	-	-	-
PELE	-	-	-	-	-	-	-	-
CAMA	-	-	-	-	-	-	-	-
SUPERFÍCIE	-	-	-	-	-	-	-	-
BOCA	-	-	-	-	-	-	-	-

Gráfico 13: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, com 60 dias de compostagem.

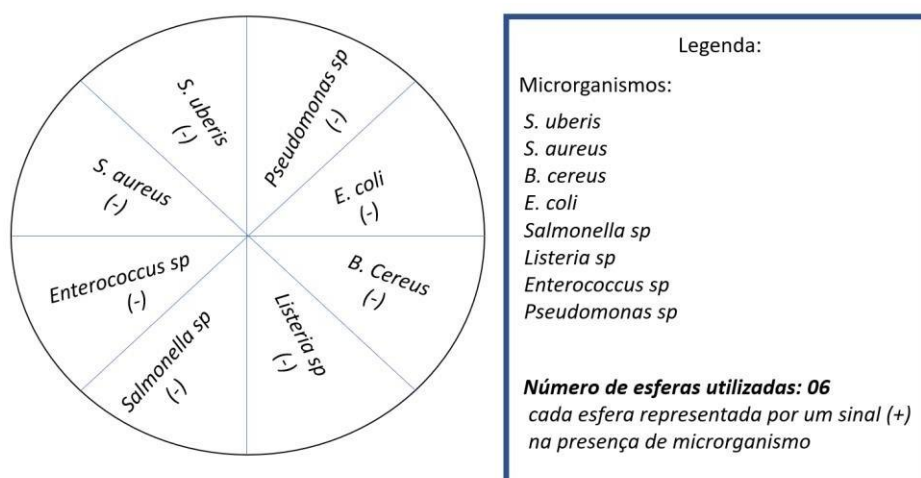


Tabela 14: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, quinta coleta (90 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	-	-	-	-	-
UBERE	-	-	-	-	-	-	-	-
PELE	-	-	-	-	-	-	-	-
CAMA	-	-	-	-	-	-	-	-
SUPERFICIE	-	-	-	-	-	-	-	-
BOCA	-	-	-	-	-	-	-	-

Gráfico 14: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera, com 90 dias de compostagem.

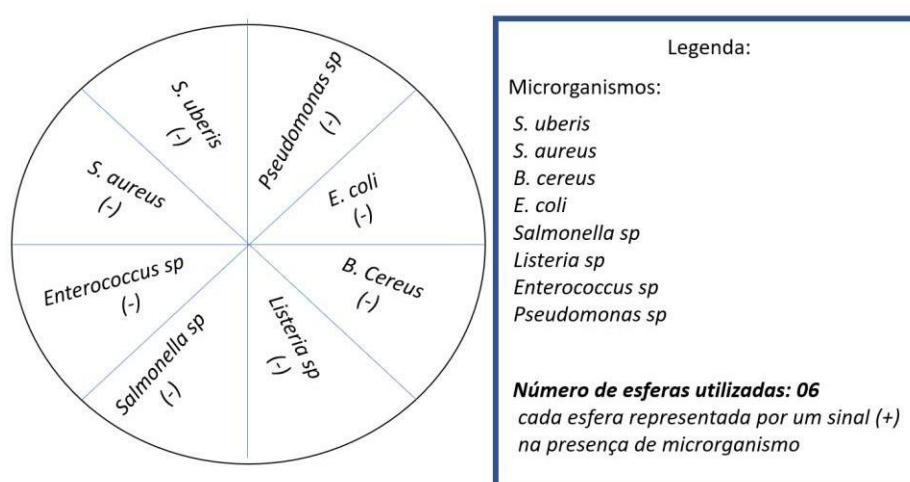
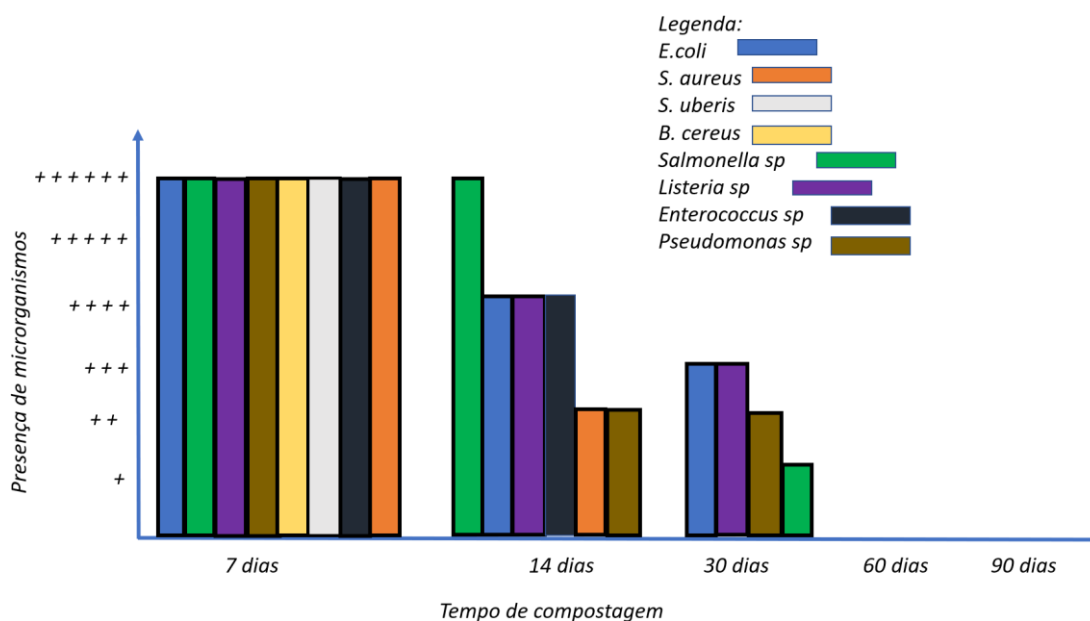


Gráfico 15: Resultados geral das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu esfera.



c) Resultado microbiológico do bambu entorno

Utilizando para as análises microbiológicas o material biológico denominado bambu entorno e procedendo as análises conforme os itens 4.13, 4.13.1, 4.13.2. Obteve os seguintes resultados inseridos nas tabelas 15 a19 e gráficos 16 a 21.

Tabela 15: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca no bambu entorno da esfera plástica inoculada, primeira coleta (7 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	+	+	+	+	+
ÚBERE	-	-	-	+	+	+	+	+
PELE	-	-	-	+	+	+	+	+
CAMA	-	-	-	+	+	+	-	-
SUPERFÍCIE	-	-	-	+	+	+	-	-
BOCA	+	-	-	+	+	+	+	+

Gráfico 16: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu entorno da esfera plástica inoculada, com 7 dias de compostagem.

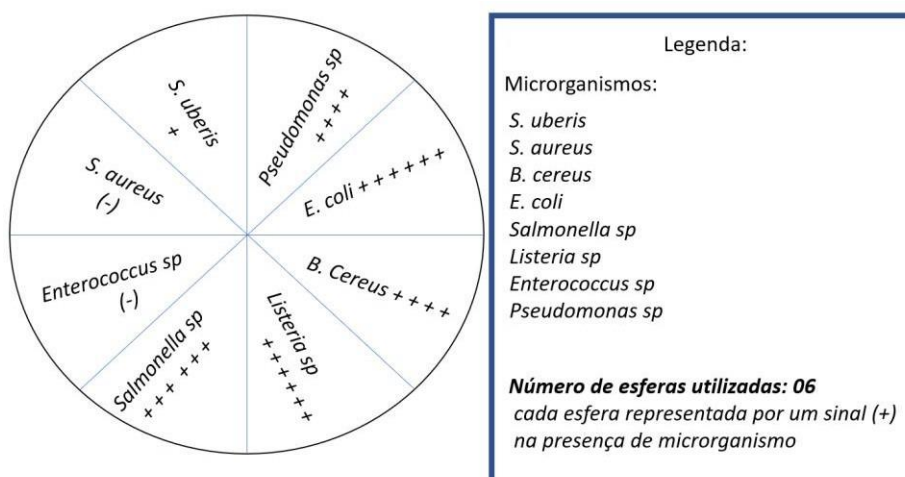


Tabela 16: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca no bambu entorno da esfera plástica inoculada, segunda coleta (14 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	+	+	+	+	+
ÚBERE	-	-	-	+	+	+	+	-
PELE	-	-	-	+	+	+	+	+
CAMA	-	-	-	-	+	+	+	-
SUPERFICIE	-	-	-	+	+	+	-	-
BOCA	-	-	-	+	+	+	+	-

Gráfico 17: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu entorno da esfera plástica inoculada, com 14 dias de compostagem.

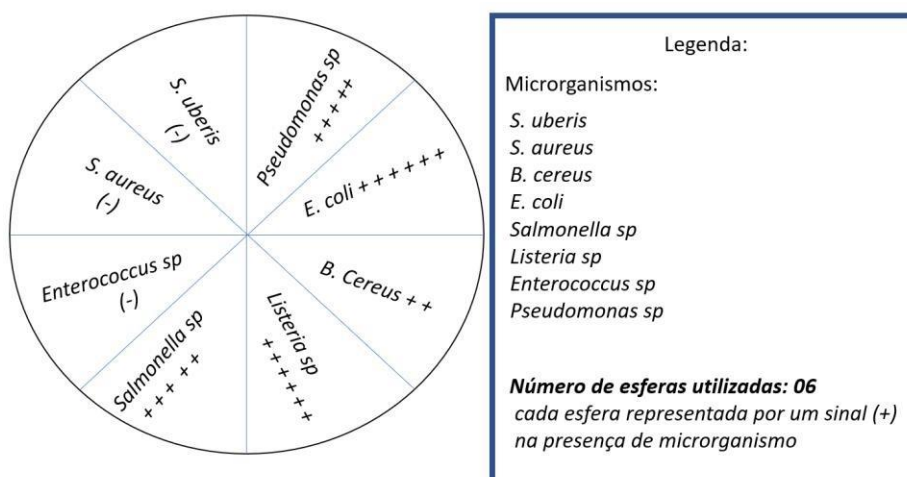


Tabela 17: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca no bambu entorno da esfera plástica inoculada, terceira coleta (30 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	+	+	+	-	-
ÚBERE	-	-	-	+	+	+	-	-
PELE	-	-	-	-	+	+	-	-
CAMA	-	-	-	-	+	+	-	-
SUPERFICIE	-	-	-	-	+	+	-	-
BOCA	-	-	-	+	+	+	+	-

Gráfico 18: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu entorno da esfera plástica inoculada, com 30 dias de compostagem.

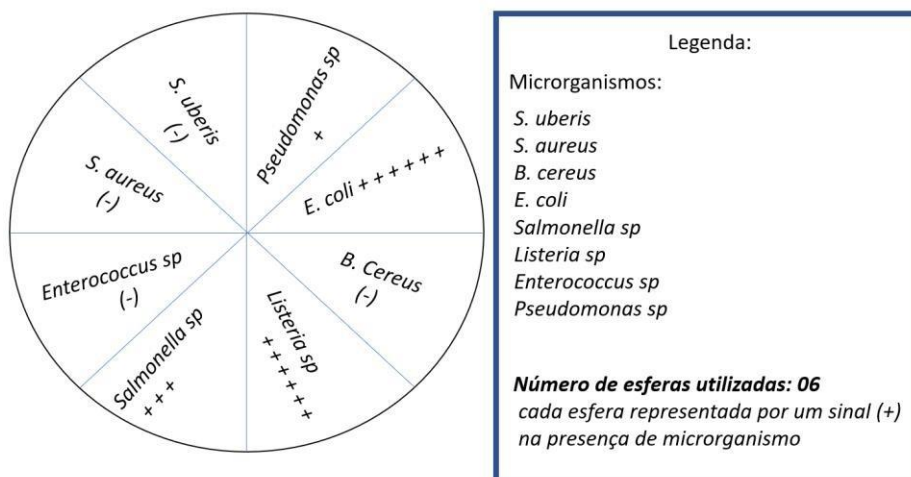
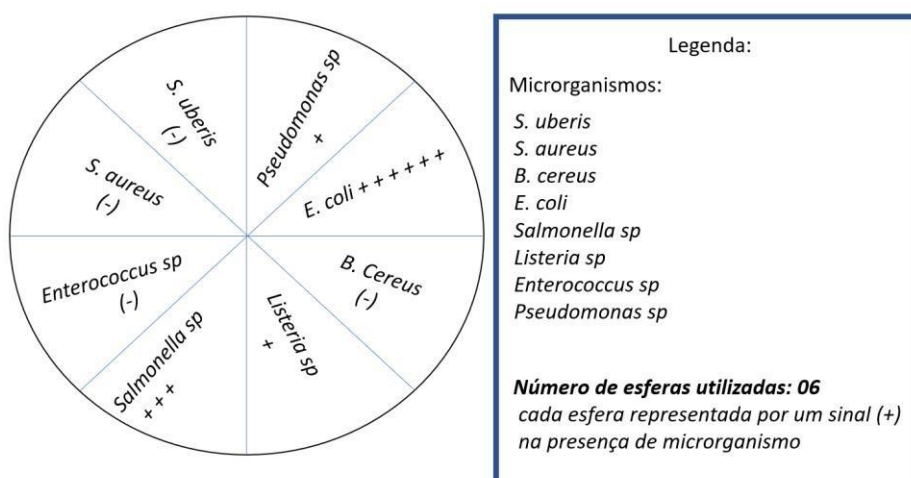


Tabela 18: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca no bambu entorno da esfera plástica inoculada, quarta coleta (60 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	+	+	+	-	-
ÜBERE	-	-	-	+	+	+	-	-
PELE	-	-	-	-	+	+	-	-
CAMA	-	-	-	-	+	+	-	-
SUPERFÍCIE	-	-	-	-	+	+	-	-
BOCA	-	-	-	+	+	+	+	-

Gráfico 19: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época seca bambu entorno da esfera plástica inoculada, com 60 dias de compostagem.



5.2 RESULTADOS NO PERÍODO DAS ÁGUAS

5.2.1 Resultado das variáveis meteorológicas

Conforme na época seca os dados ambientais (temperatura e umidade) foram retirados das informações do Instituto Nacional de Meteorologia, da estação localizada em Valença-RJ na Fazenda Santa Monica, pertencente a Embrapa Gado de Leite.

a) Temperatura ambiente

Tabela 20: Média da temperatura dos meses de Novembro, Dezembro, Janeiro e Fevereiro.

MESES	MÉDIA
NOVEMBRO	23,18
DEZEMBRO	24,52
JANEIRO	25,06
FEVEREIRO	24,15

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia

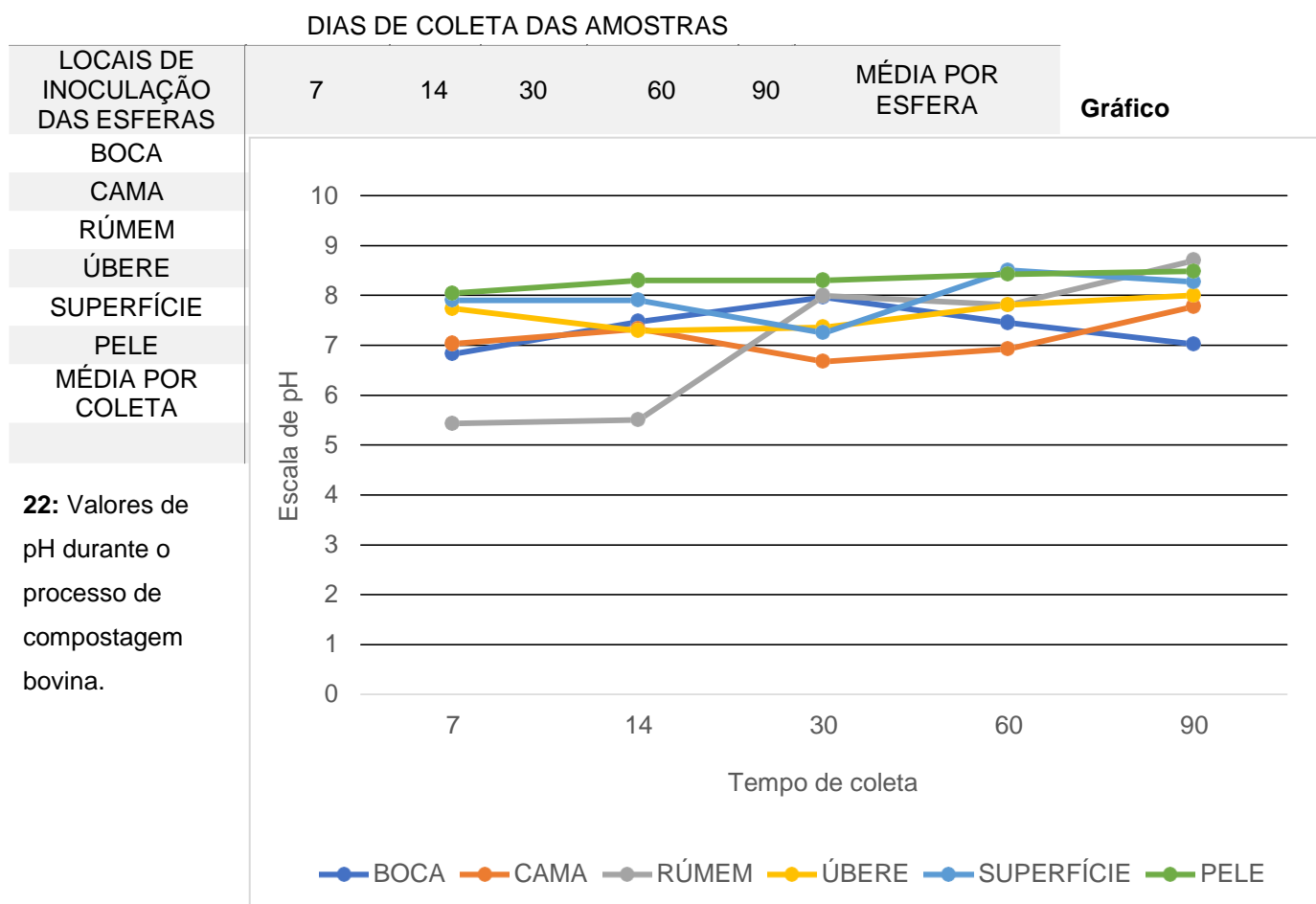
b) Umidade Ambiente

Tabela 21: Média da umidade ambiente dos meses de Novembro, Dezembro, Janeiro e Fevereiro.

MESES	MÉDIA
NOVEMBRO	69,75
DEZEMBRO	74,49
JANEIRO	75,18
FEVEREIRO	78,37

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia

5.2.2 Análise de pH da pilha de compostagem bovina

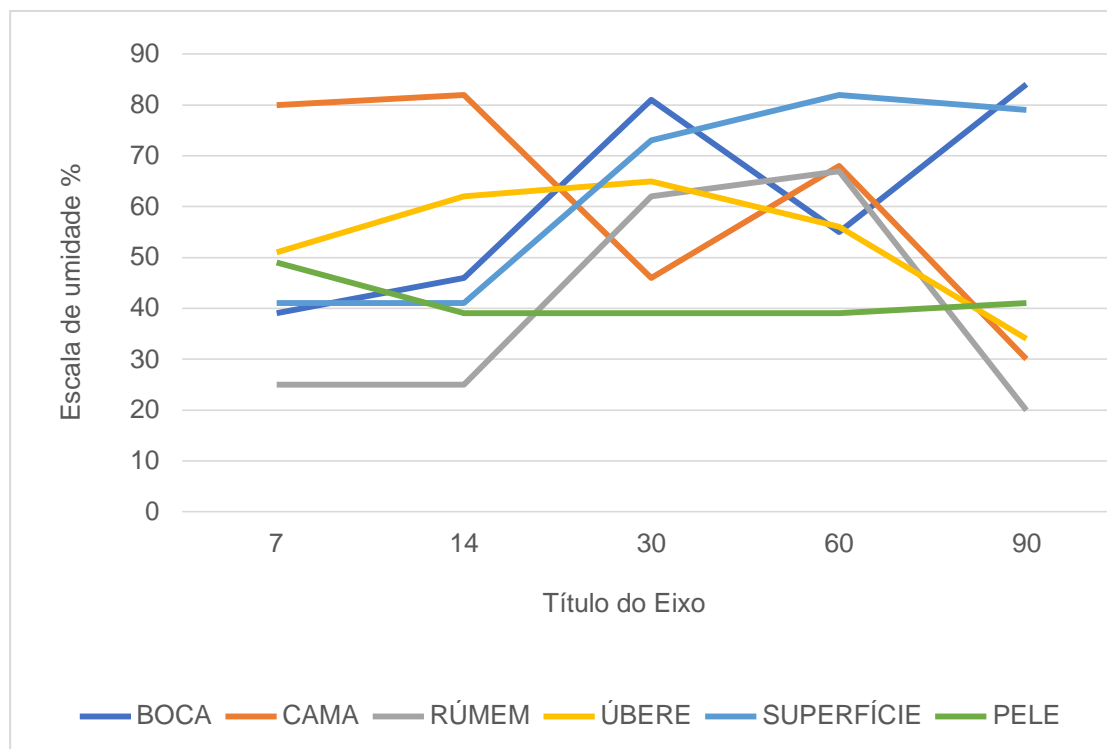
Tabela 22: Resultados das análises de pH durante o processo de compostagem bovina.

5.2.3 Teor de umidade no interior da pilha de compostagem bovina

Tabela 23: Resultados das análises de teor de umidade durante o processo de compostagem bovina.

LOCAIS DE INOCULAÇÃO DAS ESFERAS	DIAS DE COLETA DAS AMOSTRAS					MÉDIA POR ESFERA
	7	14	30	60	90	
BOCA	39	46	81	55	84	61
CAMA	80	82	46	68	30	61,2
RÚMEM	25	25	62	67	20	39,8
ÚBERE	51	62	65	56	34	53,6
SUPERFÍCIE	41	41	73	82	79	63,2
PELE	49	39	39	39	41	41,4
MÉDIA POR COLETA	47,5	49,16667	61	61,16667	48	53,36666667

Gráfico 23: Valores do teor de umidade durante o processo de compostagem bovina.



5.2.4 Temperatura no interior da pilha de compostagem bovina

A média referente aos meses na etapa verão foi 56,8 °C. Obtendo um pico de temperatura no décimo segundo dia de compostagem, registrado em 70,0 °C.

5.2.5 Análises microbiológicas qualitativas do material biológico da pilha de compostagem bovina

a) Resultado microbiológico dos envelopes vazios

Utilizando os envelopes vazios, como material biológico e procedendo as análises conforme os itens 4.12, 4.12.1, 4.12.2. Os resultados foram inseridos nas tabelas 24 a 28 e gráficos 24 a 29.

Tabela 24: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, primeira coleta (7 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	+	+	+	+	+	+	+	+
ÚBERE	+	+	+	+	+	+	+	-
PELE	+	+	+	+	+	+	+	+
CAMA	-	+	+	+	+	+	-	-
SUPERFICIE	-	+	-	+	+	+	-	-
BOCA	+	+	+	+	+	+	+	-

Gráfico 24: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, com 7 dias de compostagem.

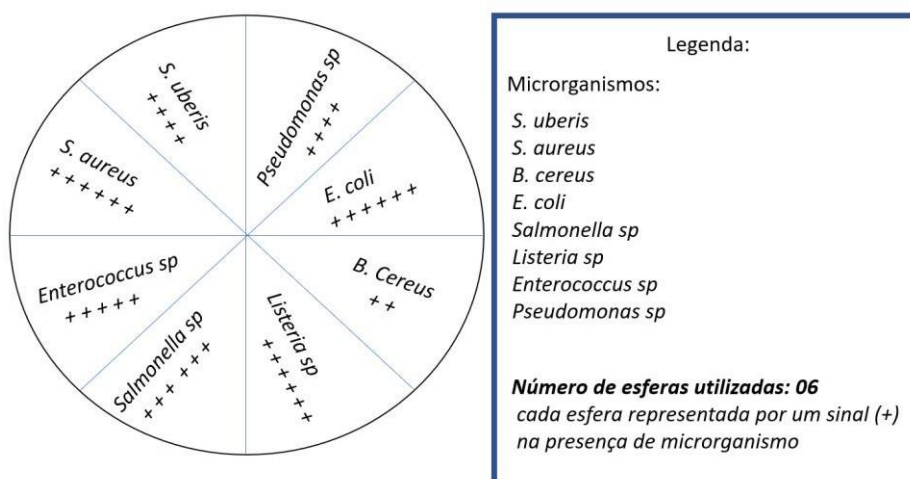


Tabela 25: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, segunda coleta (14 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	+	-	+	+	+	+	-
UBERE	-	+	+	+	+	+	+	-
PELE	-	-	+	+	+	+	+	-
CAMA	-	-	-	+	+	+	+	-
SUPERFICIE	-	-	-	+	-	+	-	-
BOCA	-	+	-	+	+	+	+	-

Gráfico 25: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, com 14 dias de compostagem.

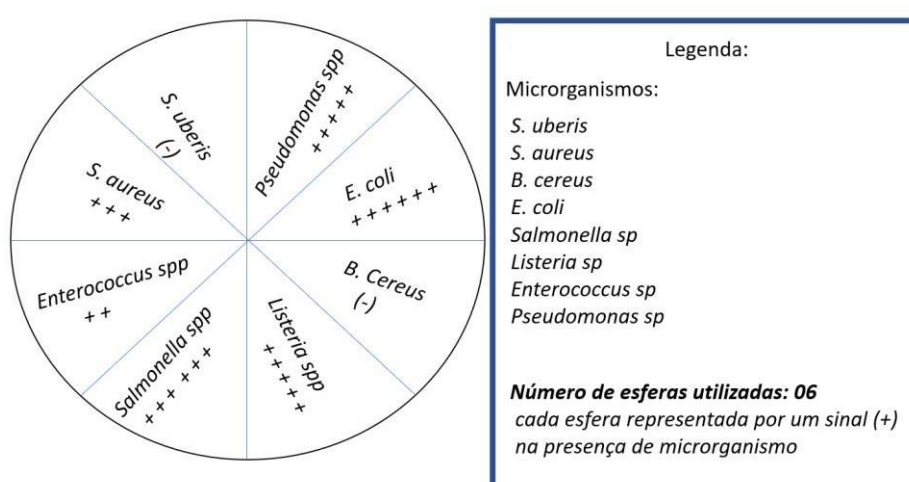


Tabela 26: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, terceira coleta (30 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	+	+	-	+	-	-

UBERE	-	-	+	+	+	+	-	-
PELE	-	-	-	+	-	+	-	-
CAMA	-	-	-	-	-	-	-	-
SUPERFICIE	-	-	-	-	-	-	-	-
BOCA	-	-	-	+	-	-	-	-

Gráfico 26: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, com 30 dias de compostagem.

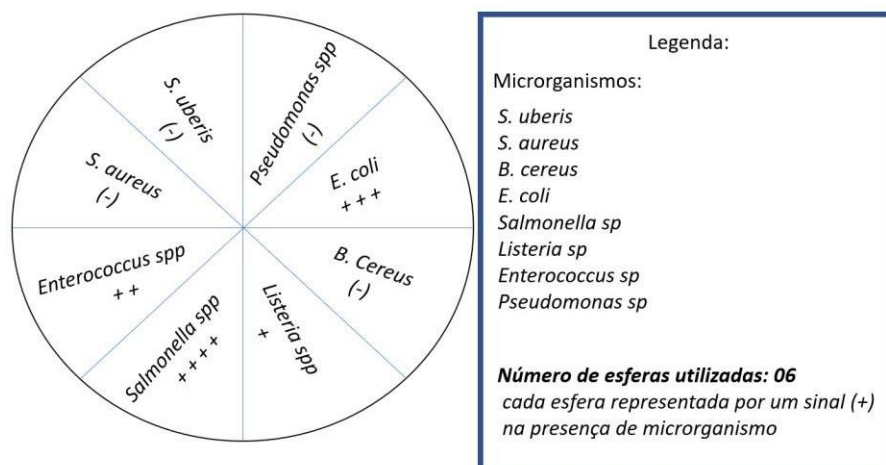


Tabela 27: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, quarta coleta (60 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	+	-	+	-	-
UBERE	-	-	-	-	-	-	-	-
PELE	-	-	-	-	-	-	-	-
CAMA	-	-	-	+	-	-	-	-
SUPERFICIE	-	-	-	-	-	-	-	-
BOCA	-	-	-	-	-	-	-	-

Gráfico 27: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, com 60 dias de compostagem.

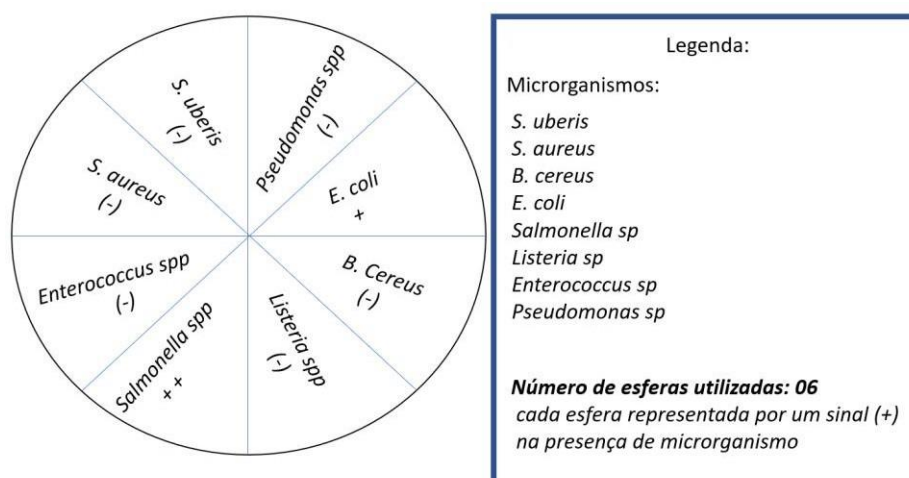


Tabela 28: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios da esfera, quinta coleta (90 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	-	-	-	-	-
UBERE	-	-	-	-	-	-	-	-
PELE	-	-	-	-	-	-	-	-
CAMA	-	-	-	-	-	-	-	-
SUPERFICIE	-	-	-	-	-	-	-	-
BOCA	-	-	-	-	-	-	-	-

Gráfico 28: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios, com 90 dias de compostagem

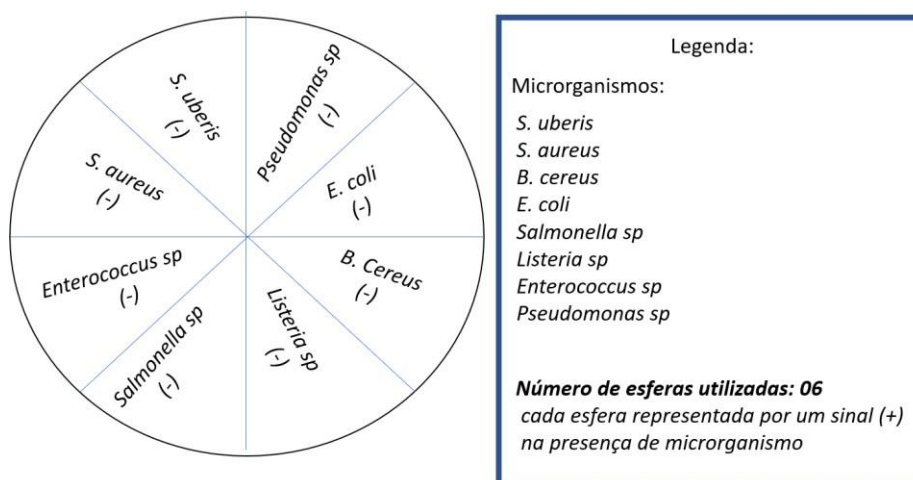
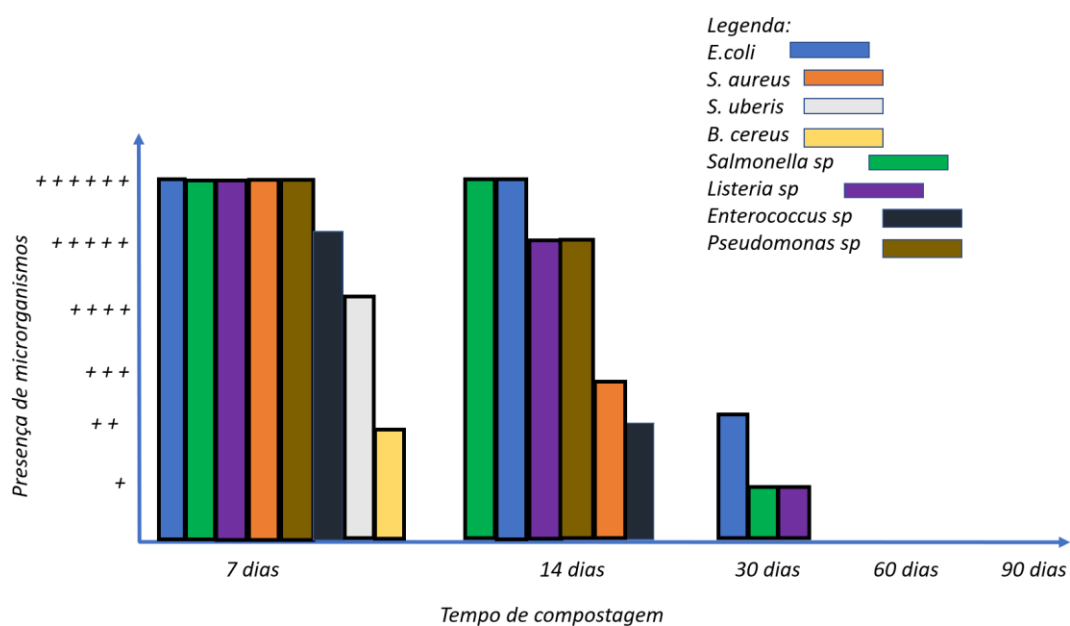


Gráfico 29: Resultados gerais das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas nos envelopes vazios.



b) Resultado microbiológico do bambu esfera

Utilizando o material denominado bambu esfera, como material biológico, e procedendo as análises conforme os itens 4.13, 4.13.1, 4.13.2, obteve-se os resultados analisados e registrados nas tabelas 29 a 33 e gráficos 30 a 35.

Tabela 29: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, primeira coleta (7 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	+	+	+	+	+	+	+	+
ÚBERE	+	+	+	+	+	+	+	+
PELE	+	+	+	+	+	+	+	+
CAMA	-	+	+	+	+	+	-	-
SUPERFÍCIE	+	+	+	+	+	+	+	+
BOCA	+	+	+	+	+	+	+	+

Gráfico 30: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, com 7 dias de compostagem).

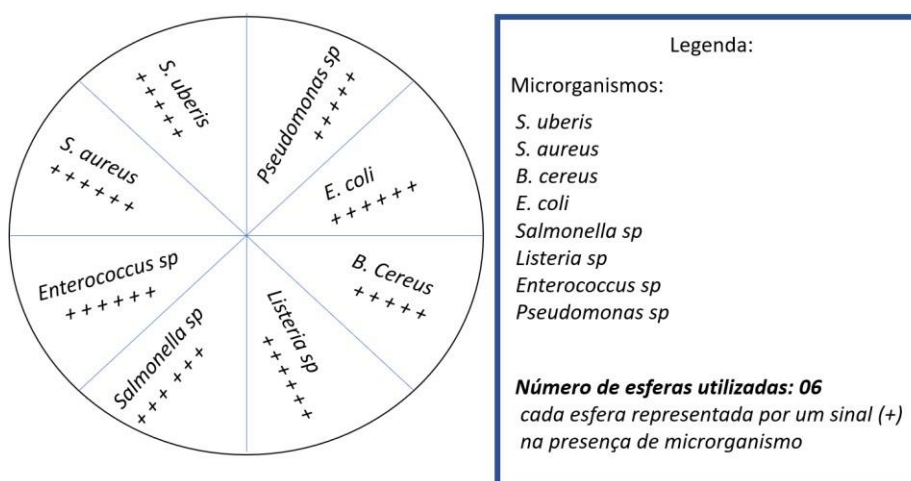


Tabela 30: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, segunda coleta (14 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	+	+	+	+	+	+	-
ÚBERE	-	+	+	+	+	+	+	-
PELE	-	-	+	+	+	+	-	-

CAMA	-	-	-	+	-	+	-	-
SUPERFICIE	-	-	-	+	-	+	-	-
BOCA	-	+	+	+	+	+	+	-

Gráfico 31: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, com 14 dias de compostagem.

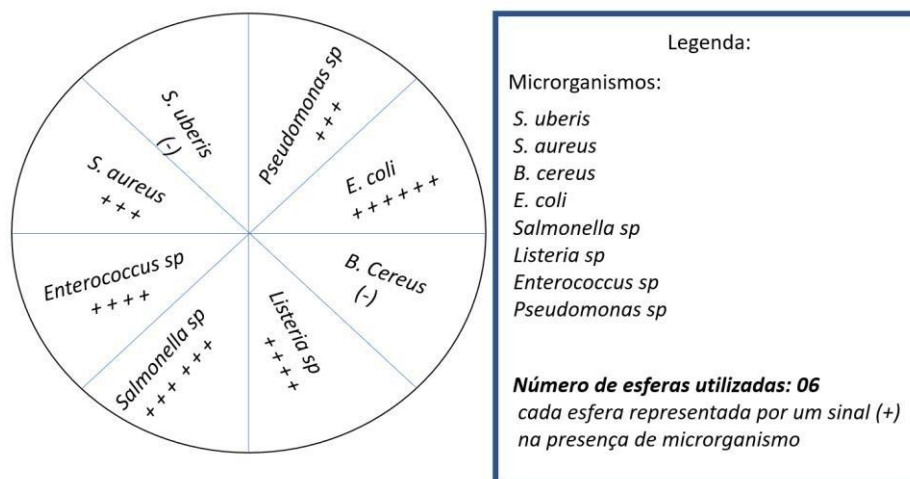


Tabela 31: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, terceira coleta (30 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	+	+	+	-	-
UBERE	-	-	-	-	+	+	-	-
PELE	-	-	-	-	-	-	-	-
CAMA	-	-	-	-	-	-	-	-
SUPERFICIE	-	-	-	-	-	-	-	-
BOCA	-	-	-	-	-	-	-	-

Gráfico 32: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, com 30 dias de compostagem.

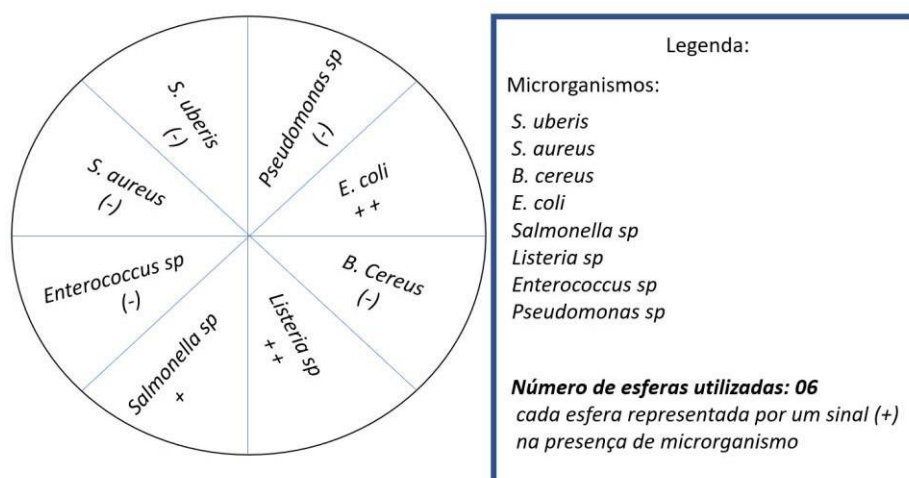


Tabela 32: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, quarta coleta (60 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	-	-	-	-	-
ÚBERE	-	-	-	-	-	-	-	-
PELE	-	-	-	-	-	-	-	-
CAMA	-	-	-	-	-	-	-	-
SUPERFÍCIE	-	-	-	-	-	-	-	-
BOCA	-	-	-	-	-	-	-	-

Gráfico 33: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, com 60 dias de compostagem.

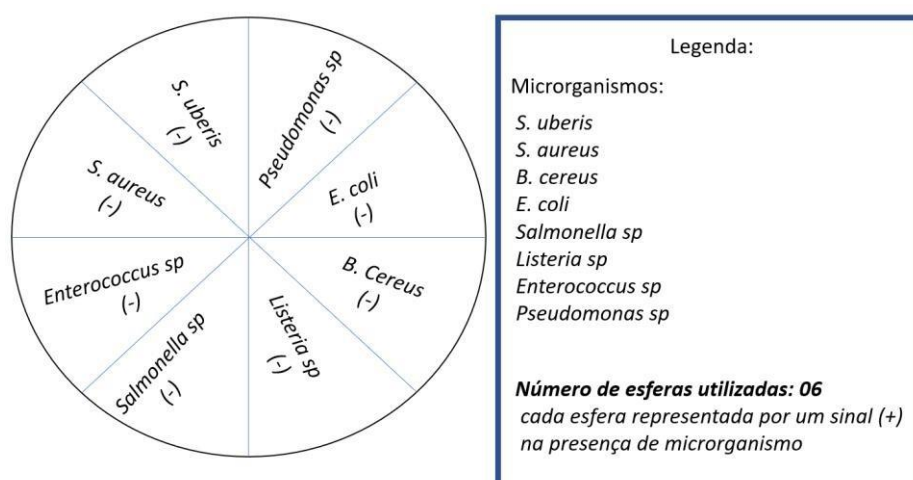


Tabela 33: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, quinta coleta (90 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	-	-	-	-	-
ÜBERE	-	-	-	-	-	-	-	-
PELE	-	-	-	-	-	-	-	-
CAMA	-	-	-	-	-	-	-	-
SUPERFÍCIE	-	-	-	-	-	-	-	-
BOCA	-	-	-	-	-	-	-	-

Gráfico 34: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera, com 90 dias de compostagem.

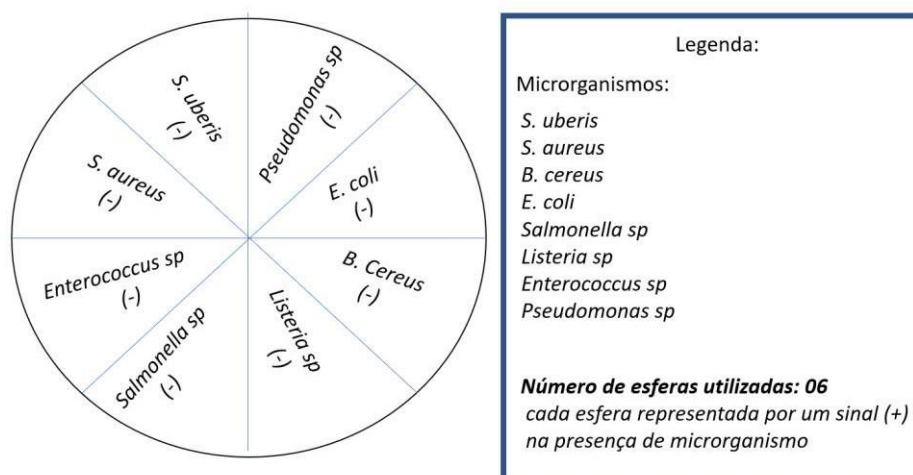
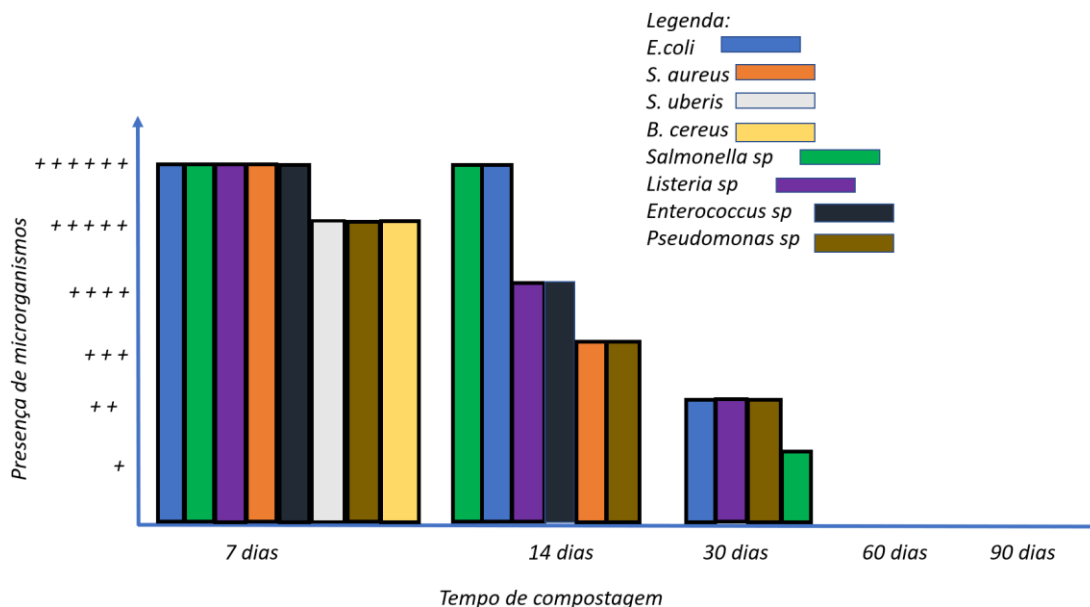


Gráfico 35: Resultados geral das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu esfera.



c) Resultado microbiológico do bambu entorno

Utilizando para as análises microbiológicas o material biológico denominado bambu entorno e procedendo as análises conforme os itens 4.13, 4.13.1, 4.13.2. Obteve os seguintes resultados inseridos nas tabelas 34 a 38 e gráficos 36 a 41.

Tabela 34: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, primeira coleta (7 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	+	+	+	+	+	+	+	-
ÜBERE	+	+	+	+	+	+	+	+
PELE	+	+	+	+	+	+	+	+
CAMA	+	+	+	+	+	+	-	+
SUPERFÍCIE	+	+	+	+	+	+	+	+
BOCA	-	-	-	+	-	+	+	-

Gráfico 36: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, com 7 dias de compostagem.

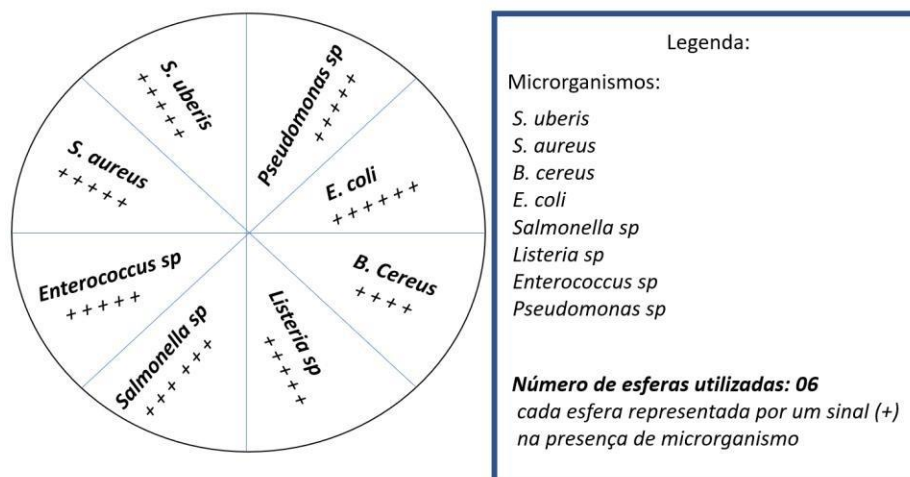


Tabela 35: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, segunda coleta (14 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	+	+	+	+	+	+	-
UBERE	-	-	+	+	-	+	-	-
PELE	-	-	+	+	+	+	-	-
CAMA	-	-	-	+	+	+	+	-
SUPERFICIE	-	-	-	+	-	+	-	-
BOCA	-	+	+	+	+	+	+	-

Gráfico 37: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, com 14 dias de compostagem.

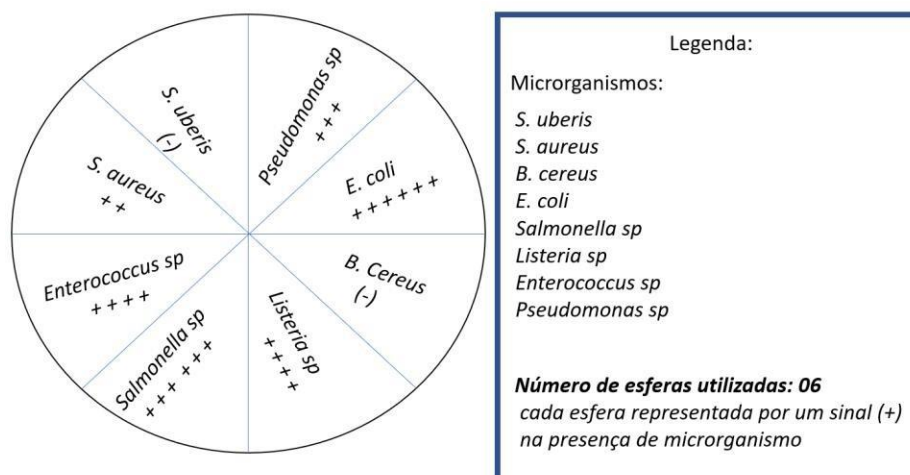


Tabela 36: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, terceira coleta (30 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	+	+	+	+	-
UBERE	-	-	-	+	-	+	-	-
PELE	-	-	-	+	-	+	-	-
CAMA	-	-	-	+	-	+	-	-
SUPERFICIE	-	-	-	+	-	+	-	-
BOCA	-	-	-	+	+	+	+	-

Gráfico 38: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, com 30 dias de compostagem.

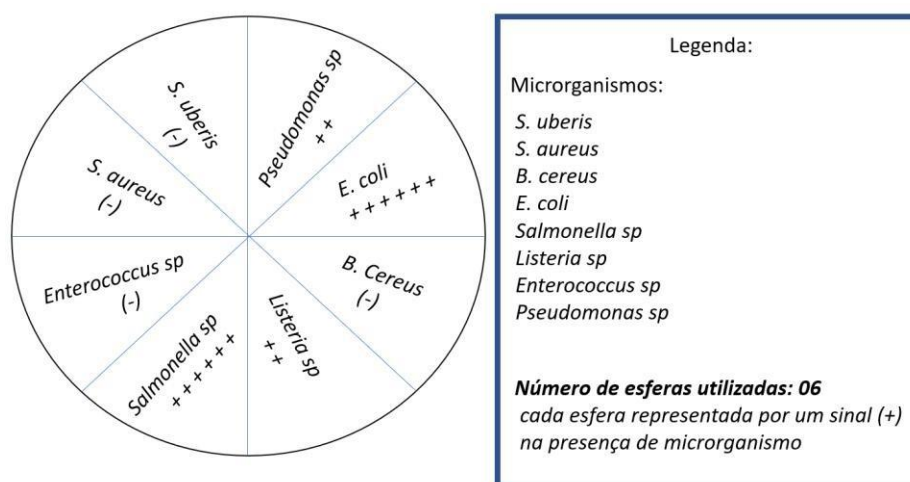


Tabela 37: Resultados das análises microbiológicas qualitativas realizadas na época das águas no bambu entorno, quarta coleta (60 dias de compostagem).

	<i>S. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
RUMEN	-	-	-	+	+	+	-	-
UBERE	-	-	-	-	-	-	-	-
PELE	-	-	-	+	+	+	-	-
CAMA	-	-	-	-	-	-	-	-
SUPERFICIE	-	-	-	-	-	+	-	-
BOCA	-	-	-	+	-	+	-	-

6 DISCUSSÃO

O procedimento das análises realizadas durante o processo de compostagem contendo as carcaças bovinas foi muito semelhante com o método utilizado por MORAIS *et al.*,(2011), que utilizou amostras de solo, em cinco pontos da área de cultivo.

Na época das águas as análises realizadas demonstraram presença de todos os microrganismos inoculados até o 7º dia de compostagem. Com passar do tempo de compostagem, nota-se uma queda acentuada da presença dos microrganismos, principalmente nas amostras denominadas envelopes vazios e bambu esfera. A partir dos 60 dias de compostagem verifica-se ausência total dos mesmos. Segundo Cooper e colaboradores (2010) quando a matéria orgânica é decomposta o calor criado pelo metabolismo dos microrganismos se dissipa. Todavia, na compostagem de resíduos orgânicos, em montes, ou em condições controladas, trabalhando-se com grandes massas, o calor desenvolvido se acumula e a temperatura alcança valores elevados, podendo chegar a cerca de 80 °C.

Ao realizar a coleta das amostras tanto da época seca quanto na época das águas, foi notado calor intenso no interior da leira, e desprendimento de vapores de água ao revirar a compostagem durante a retirada do material biológico para as análises. Como verificado na medida de temperatura.

A compostagem caracteriza-se por ser um processo exotérmico de degradação de resíduos orgânicos, porque gera calor em consequência da atividade microbiana (KIEHL, 1985). Assim, a temperatura é importante principalmente no que diz respeito à rapidez do processo de biodegradação do material e à eliminação dos possíveis patógenos presentes (BOSCO, 2017). Ressalta-se que a manutenção da temperatura elevada (50 °C e 75 °C) no início do processo, bem como com um tempo de exposição suficiente, é fundamental para a eliminação de algumas espécies (VALENTE *et al.*, 2009; BOSCO, 2017). A temperatura varia durante o processo de compostagem.

Bosco (2017) e Inácio e Miller (2009) referem-se a quatro fases principais: a fase mesofílica de aquecimento, a fase termofílica, a fase mesofílica e de resfriamento e a fase de maturação. A primeira fase, conhecida como mesofílica (de aquecimento), tem duração de poucos dias e fornece condições necessárias para

que o processo se inicie. Durante sua manutenção predominam temperaturas moderadas, entre 30 e 45 °C. No início do processo ocorre a expansão de microrganismos mesofílicos que utilizam os componentes solúveis e rapidamente degradáveis da matéria orgânica e propiciam um aumento gradativo na temperatura. Com a elevação da temperatura, os microrganismos mesofílicos tornam-se menos competitivos, dando espaço para a proliferação dos microrganismos termofílicos, atingindo-se assim a fase termofílica (VALENTE *et al.*, 2009; BOSCO, 2017). A segunda fase de temperatura evidenciada pela compostagem é a fase termofílica. É nesta fase que o material atinge a temperatura máxima, geralmente maior que 55 °C. Neste momento é que ocorre a máxima decomposição dos compostos orgânicos, sendo considerada uma fase de degradação ativa. Há formação de água metabólica e manutenção da geração de calor e vapor d'água (PEREIRA, 2007; BOSCO, 2017). Esta fase tem tempo de duração de acordo com as características do material que está sendo compostado.

Somente quando o substrato orgânico é em sua maior parte degradado é que a temperatura volta a cair (fase mesofílica de resfriamento) e a população termofílica tende a ser desativada, fazendo com que a atividade biológica reduza significativamente e os microrganismos mesofílicos voltem a se instalar (ANDREOLI, 2001). Esta é a fase de degradação das substâncias orgânicas mais resistentes e perdas mais intensas de umidade. Neste momento também se inicia o processo de humificação e maturação da matéria orgânica. Ressalta-se que os intervalos de temperatura que caracterizam as fases mesofílicas e termofílicas são variáveis e dependentes de outros fatores como a composição química do material a ser compostado, granulometria, dimensões da leira, disponibilidade de oxigênio, teor de umidade, entre outros (BARREIRA, 2005; MASSUKADO, 2008). Por fim, a maturação é a última etapa da degradação do material na compostagem. Para este momento o oxigênio requerido é menor, a temperatura tem valor próximo à temperatura ambiente e há a mineralização da matéria orgânica. A atividade microbiana decai. A decomposição ocorre a taxas muito baixas e o composto já apresenta propriedades físico-químicas e biológicas desejáveis à aplicação no solo e pode ser denominado “maturado”, propício para liberar nutrientes (KIEHL, 1985; MASSUKADO, 2008; INÁCIO; MILLER, 2009; BOSCO, 2017)

A temperatura ambiente média na época seca (junho, julho e agosto) foi de 19,4 °C. No interior da compostagem a temperatura média foi de 56,4 °C, com um

pico no quadragésimo quarto dia de compostagem, registrado em 67,5 °C. Na época das águas (novembro, dezembro, janeiro e fevereiro) os valores médios de temperatura ambiente foi de 24,2 °C. Nesta etapa da compostagem a média de temperatura no interior da leira foi de 56,8 °C, com um pico de 70 °C no décimo sexto dia.

Um dos fatores de grande relevância no processo de transformação da matéria orgânica é a temperatura do ambiente onde se realiza o processo. Pode-se notar que o pico de temperatura no interior da compostagem contendo a carcaça bovina, na época seca, levou mais tempo para ocorrer do que na época das águas.

Durante o acompanhamento da compostagem das carcaças bovinas, observou-se uma média do teor de umidade ambiente na época seca de 74,3 % e na época das águas, de 74,4 %, não ocorrendo diferença significativa entre as épocas de compostagem. No entanto, no interior da compostagem houve diferença significativa do teor de umidade, conforme o posicionamento da carcaça bovina. No entanto a média do teor de umidade foi de 53,3 % na época das águas e 47,3 % na época seca.

Segundo Barreira (2005) e Valente e colaboradores (2009) elevados teores de umidade precisam ser evitados durante a compostagem. O excesso de umidade faz com que os poros no interior da matriz sólida passem a ser preenchidos com água livre. A matéria orgânica decomposta, que apresenta caráter hidrofílico, adere moléculas de água à superfície, saturando os seus micro e macroporos, impedindo, assim, a difusão de oxigênio e propiciando condições anaeróbias. Esta ocorrência pode ser percebida pela exalação de odores característicos, como, por exemplo, o gás sulfídrico (H₂S). Além disso, há a formação de um líquido escuro com odor desagradável, denominado “chorume”, que escorre do material em decomposição, caracterizando a lixiviação de nutrientes da massa a ser compostada. Quando a umidade está em excesso, há a necessidade de se fazer injeção de ar ou adicionar material seco. Entretanto, teores de umidade inferiores a 40% também devem ser evitados, uma vez que podem fazer com que a atividade biológica seja reduzida, retardando o desenvolvimento do processo (VALENTE *et al.*, 2009). Quando a umidade estiver baixa, é necessário fazer a irrigação da leira, de preferência no momento do revolvimento para que a água seja distribuída por igual (MASSUKADO, 2008).

Os autores Barreira (2005), Kiehl (1985) e Massukado (2008) afirmam que os revolvimentos devem ser feitos obrigatoriamente em algumas situações, como por exemplo, quando a temperatura estiver muito elevada (acima de 70 °C), quando a umidade estiver acima de 55-60% ou quando há presença de moscas e maus odores. A umidade pode também ser um indicativo para determinar o grau de decomposição da matéria orgânica no processo de compostagem. Um teste simples e rápido, importante para a prática cotidiana de observação dos processos, é o conhecido “teste da mão”. Ele consiste em umidificar e esfregar um pouco do composto entre as palmas das mãos; assim se o composto estiver pronto deixará as mãos sujas soltando-se facilmente (NUNES; SANTOS; CRUZ, 2012).

Durante todo o processo de compostagem (época seca e época das águas) não foi registrado presença de chorume, mau cheiro, moscas e urubus. Mas foi observado, no interior da leira, presença de umidade oriundo do fluido corporal da carcaça bovina, de aproximadamente 450 kg, no material vegetal (bambu triturado) em seu interior. A umidade favorece a nutrição e o metabolismo dos microrganismos para a decomposição da carcaça bovina, com conseqüente aumento da temperatura no interior da compostagem decorrente das reações exotérmicas.

Durante o processo de compostagem de carcaça bovina. na época seca o valor médio de pH foi de 6,6, em média. E na época das águas o valor médio encontrado foi 7,5. Os valores de pH aumentaram com aumento da umidade dentro da carcaça (47,3% e 53,3%, respectivamente). Os valores encontrados em ambas as épocas tendem à neutralidade, o que favorece as reações metabólicas dos microrganismos.

O valor do pH no meio da compostagem é extremamente relevante. Durante as primeiras horas de compostagem, o pH decresce até valores de aproximadamente 5.0 e, posteriormente, aumenta gradualmente com a evolução do processo de compostagem e estabilização do composto, alcançando, finalmente, valores entre 7 e 8. Assim, valores de pH são indicativos de falta de maturação devido à curta duração do processo ou à ocorrência de processo anaeróbico no interior da leira em compostagem (JIMÉNEZ; GARCÍA, 1991).

A medida que os fungos e as bactérias digerem a matéria orgânica libertam-se ácidos que se acumulam e acidificam o meio. Posteriormente estes ácidos são decompostos até serem completamente oxidados. No entanto, se existir escassez

de oxigênio, o pH poderá descer a valores inferiores a 4,5 e limitar a atividade microbiana, retardando assim o processo de compostagem (CERRI *et al.*, 2008).

A degradação do material durante a compostagem é dependente da atividade microbiana presente em cada fase. Neste sentido, o pH é fator interferente, uma vez que propicia a predominância de colonizações de microrganismos diferentes ao longo destas fases. As bactérias envolvidas no processo preferem valores de pH neutros, enquanto os fungos se desenvolvem melhor em ambientes mais ácidos (DIAZ; SAVEGE, 2007). O pH considerado ótimo para o desenvolvimento do processo está entre 5,5 e 8, uma vez que a maioria das enzimas se encontram ativas nesta faixa (KIEHL, 1985). Alguns autores relatam, no entanto, que valores superiores ou inferiores àqueles (na faixa de 4,5-9,5) não limitam definitivamente o processo, uma vez que os microrganismos conseguem regular o meio via degradação de compostos, produzindo subprodutos ácidos ou básicos, conforme a necessidade (PEREIRA, 2007). O processo de compostagem pode ser prejudicado se o pH estiver com valores muito extremos (seja para mais ou para menos). Quando os níveis de pH estiverem abaixo de 4,5, é provável que ocorra a redução da atividade microbiana, fazendo com que não se alcance a fase termofílica do processo (ANDREOLI, 2001). Já para valores altos de pH, acima de 9,5, há no processo a deficiência de micronutrientes e fósforo, além de perdas de nitrogênio por volatilização, devido à transformação do íon amônio (NH_4^+) em amônia (NH_3) (MASSUKADO, 2008). Ao final do processo espera-se que o composto apresente pH entre 6 e 7, intervalo este em que os macro e micronutrientes estão mais disponíveis para a aplicação do composto no solo.

Enquanto nas amostras biológicas dos envelopes vazios e dos bambu esferas a partir dos 60 dias de compostagem de carcaça bovina não apresentaram mais a presença de microrganismos, o mesmo não ocorreu com a amostra biológica denominada bambu entorno. Esta apresentou microrganismos em todas as coletas durante todo o processo de compostagem. No 7º dia de compostagem, foi detectada a presença dos microrganismos inoculados, em ambas as épocas climáticas. No 14º e no 30º dia também foi observada a presença de microrganismos inoculados, porém foram detectados somente em alguns pontos onde as esferas plásticas com microrganismos liofilizados foram inoculadas. Os gráficos 21 e 41 (época seca e época das águas, respectivamente) mostram o resultado geral das análises realizadas nas amostras bambu entorno. A partir do 60º e 90º dia de compostagem,

os resultados na época seca e época das águas são bem próximos. No entanto, na época das águas, *Salmonella* sp., *Echerichia coli* e *Listeria* sp. apresentaram um declínio significativo em comparação a época seca. Isso deve ter ocorrido devido ao aumento de temperatura ambiente na estação verão, onde ocorrem maiores aumentos de temperatura, acumulando uma média superior na época do inverno e, também no interior da compostagem chegando um pico de 70 °C, com teor de umidade interna de 53,3% em pH 7,5. Estas condições refletem positivamente no processo da compostagem fornecendo condições apropriadas às reações metabólicas dos microrganismos. Podemos concluir que os microrganismos encontrados na fase final da compostagem podem ser oriundos da própria carcaça bovina.

Gurtler e colaboradores (2014) relatam que muitas pesquisas de preparações de composto foram conduzidas para determinar se as condições ocorridas durante a compostagem foram suficientes para inativar patógenos ou reduzir as populações de bactérias indicadoras a níveis que minimizariam os riscos associados ao composto. Resultados demonstram que *Salmonella* sp, *Listeria monocytogenes* e a *E. coli* permaneceram no produto final da compostagem. Sendo uma alternativa para a destinação mais adequada de carcaças bovina, considerando a praticidade do processo e as suas possíveis implicações ambientais e sanitárias, produzindo fertilizante. Viabiliza a compostagem como biotecnologia que atende aos princípios da sustentabilidade. Fatores como tempo e temperatura de processo inviabilizam diversos microrganismos potencialmente patogênicos (SENNE; PANIGRAHY; MORGAN, 1994; HAY, 1996).

Outro autor também comprova que a compostagem aeróbica é considerada um sistema sustentável e de baixo custo, adequado para pequenos e grandes operações. É essencial caracterizar a eficácia da inativação de patógenos e parasitas nos adubos e inativação dos patógenos (GURTLER *et al.*, 2014).

Um fato ocorrido durante a compostagem foi a redução na altura da leira após o 3º dia do processo. Isso ocorreu devido à acomodação do material vegetal sobre a carcaça bovina. Isso também foi observado por Petric, Sestan e Sestan (2009), pois a redução de volume e peso é resultado da degradação da matéria orgânica durante a compostagem. Deste modo, ao longo do processo este material foi sendo decomposto fazendo com que o volume da leira diminuísse mais expressivamente.

Segundo Kiehl (1985) quando análises realizadas no final do processo de compostagem apontarem o teor de nitrogênio um pouco maior do que no início, isso indica apenas um aumento relativo e não a formação de nitrogênio. O que acontece é uma redução da massa orgânica, pelo processo de compostagem, tendo como consequência a falsa impressão de geração desse elemento químico. Ainda, de acordo com o mesmo autor mínimas quantidades de nitrogênio podem ser formadas por microrganismos por meio da fixação do nitrogênio do ar existente no interior da leira, porém o valor é muito pequeno, e possui apenas valor acadêmico.

A crescente preocupação com questões ambientais tem levado à expansão da agricultura orgânica, processo produtivo que usa a adubação orgânica como suplementação nutricional às plantas ao invés dos fertilizantes químicos. Além disso, a oferta de matérias primas para produção de adubos orgânicos é alta e diversificada, o que pode aumentar a eficácia de sua utilização (FIGUEIREDO; TANAMATI, 2010). Dentre os métodos de obtenção de adubos orgânicos, destaca-se a compostagem, que promove a degradação da matéria orgânica de origem animal ou vegetal, resultando em composto humificado e rico em nutrientes (KIEHL, 1985).

Os adubos orgânicos são compostos por resíduos animais e/ou vegetais, que após processo de compostagem estão propícios para uso agrícola, potencializando a produção. Pode ser aplicado como corretivo agrícola e fonte de macro e micronutrientes para as plantas e seu uso exerce profundo efeito nas propriedades do solo, resultando no aumento da produtividade vegetal (PEREIRA, 2007). Os adubos orgânicos são uma boa opção para o cultivo de hortaliças, por serem fonte de nutrientes, melhorando características físicas, químicas e biológicas do solo, podendo, inclusive, reduzir o custo de produção da cultura (KIEHL, 1985; OLIVEIRA, *et al.*, 2014). Dentre os benefícios proporcionados ao solo, pode-se destacar a melhor agregação, infiltração e retenção de água, maior CTC (capacidade de troca catiônica), a complexação de elementos tóxicos e micronutrientes, a aeração, disponibilidade de nutrientes e os aspectos biológicos que estão relacionados com microrganismos benéficos encontrados na matéria orgânica (SANTOS; SILVA; CANELLAS, 2008; ZANDONADI *et al.*, 2014).

Porém, o consumo de alimentos oriundos dessa prática pode possibilitar a ocorrência de doenças intestinais, em especial os consumidos crus, como as hortaliças, uma vez que helmintos, protozoários e outros patógenos podem estar

presentes nesses alimentos, em virtude principalmente do tipo de adubação (SANTANA *et al.*, 2006; ARBOS *et al.*, 2010; BARTZ, 2015). Portanto, deve-se atentar que o consumo de hortaliças cruas pode ser um meio de transmissão de várias doenças infecciosas (TAKAYANAGUI *et al.*, 2000).

Os dados obtidos em todo o processo da compostagem bovina, tanto microbiológico quanto físico-químico, demonstram que o produto resultante pode ser utilizado pelo pequeno e médio produtor nas plantações de capins, leguminosas e adubação do pasto. Deste modo o problema da destinação da carcaça bovina pode ser solucionado utilizando a compostagem.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A dificuldade de destinar as carcaças bovinas para os produtores rurais de pequeno e médio porte são grandes, muitas das vezes a opção é o descarte em valas, queimar ou jogar no meio ambiente sem qualquer tipo de tratamento, provocando poluição ambiental e disseminação de microrganismos, podendo levar doenças aos animais e seres humanos.

A compostagem utilizando carcaças bovinas é uma solução para os produtores rurais. Esse processo biológico de decomposição da matéria orgânica recicla resíduos, produzindo um valioso biocomposto que quando produzido adequadamente pode ser utilizado na agricultura como fertilizante. Nesse processo ocorre a decomposição de toda massa corpórea, como: a pele, os pelos, as vísceras, os órgãos, a musculatura, os fluídos corporais e o sangue, na qual foram mantidos no interior da pilha formada por material vegetal, bambu triturado. A umidade e a elevada temperatura, acompanhada pelo processo aeróbico natural, propicia o metabolismo dos microrganismos presentes que realizam a digestão de toda matéria orgânica oriunda da massa corpórea da carcaça bovina. Foram introduzidas no interior da compostagem e das carcaças bovinas esferas plásticas, contendo microrganismos patogênicos liofilizados, com a intenção de monitorar a eficiência do sistema aeróbico de compostagem. A inclusão das esferas contendo microrganismos liofilizados possibilita a presença das mesmas na compostagem, as quais irão ser inativadas a carga bacteriana pelo processo biológico gerado pela compostagem.

As análises dos materiais biológicos utilizados na pesquisa permitiram identificar a presença dos microrganismos ao longo do processo de compostagem bovina e foi comprovada a eficácia e a eficiência do processo sobre os microrganismos. Ambas as épocas seca e das águas obtiveram resultados positivos sobre a efetividade do processo de compostagem das carcaças bovinas na eliminação de microrganismos ou diminuição da carga microbiana no meio. Porém, na época das águas observou-se uma diminuição acentuada tanto da presença de microrganismos quanto de sua quantidade principalmente com *E. coli*, *Listeria* sp e *Salmonella* sp. Essas bactérias podem ter como origem a própria carcaça dos animais. Os valores de umidade, temperatura e de pH encontrados na fase das

águas foram mais apropriados para o desenvolvimento das reações bioquímicas para eliminação dos microrganismos que na época seca.

O composto orgânico gerado pela compostagem com carcaça bovina pode ser utilizado como fertilizantes nas plantações e na correção de nutrientes do solo, pois é rico em Carbono e Nitrogênio. Fornece ao solo características físico-química e biológica, reduzindo os gastos com fertilizantes. Portanto, a compostagem das carcaças de bovinos mortos em pequenas e médias propriedades rurais pode ser praticada, solucionando o problema do descarte de animais mortos. Em comparação com os outros procedimentos para o destino de carcaça bovina, como o aterro sanitário ou a incineração, a compostagem é o modo mais prático, econômico e ecológico para o descarte da carcaça bovina. O método de compostagem de carcaça deveria ser difundido, principalmente para o descarte de animais mortos por atropelamento nas estradas e rodovias nacionais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, V. M. N. *et al.* Desempenho da casca de arroz e da palhada de soja na decomposição de carcaças de frangos de corte. In: 1^o Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos de Animais Tratamento de Dejetos de Animais, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: 2009.
- ALVES, A. R. de F. **Doenças alimentares de origem bacteriana.** 2012. Dissertação. Universidade Fernando Pessoa, 87f., 2012.
- ANDRADE, A. G. de; CABALLERO, S. S. U.; FARIA, S. M. de. **Ciclagem de nutrientes em ecossistemas florestais.** 13^a ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999.
- ANDRADE, F. C. de. **Compostagem como alternativa de disposição final dos resíduos sólidos orgânicos gerados na EMBRAPA Soja.** 2015. Monografia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 98f., 2015.
- ANDREOLI, C. V. **Aproveitamento do lodo gerado em estações de tratamento de água e esgotos sanitários, inclusive com a utilização de técnicas consorciadas com resíduos sólidos urbanos.** 1^a ed. Rio de Janeiro: ABES, 2001.
- ANVISA. Módulo 6: Detecção e identificação de bactérias de importância médica. In: **Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde.** 1^a ed. p. 154.
- ARBOS, K. A. *et al.* Segurança alimentar de hortaliças orgânicas : aspectos sanitários e nutricionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 215–220, 2010.
- ARRAIS, D. F. *et al.* Métodos de obtenção de fibras de bambu para compósitos de matriz polimérica. In: 70^a Congresso Anual da ABM, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: 2015.
- BARBALHO, T. C.; MOTA, R. A. Isolamento de agentes bacterianos envolvidos em mastite subclínica bovina no Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 2, n. 2, p. 31–36, 2001.
- BARREIRA, L. P. **Avaliação das usinas de compostagem do estado de São Paulo em função da qualidade dos compostos e processos de produção.** Tese. 2005. Universidade de São Paulo, 204f., 2005.

BARTZ, S. **Contaminação microbiológica e avaliação da segurança de alface na produção primária e varejo Sabrina**. 2015. Tese. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 107f., 2015.

BECKER, A. P. **Investigação da formação de biofilme e sua associação com características clínicas e sistemas de bombas de efluxo em *Staphylococcus aureus***. 2017. Tese. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 101f., 2017.

BENNETT, S. D.; WALSH, K. A.; GOULD, L. H. Foodborne disease outbreaks caused by *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus* - United States, 1998-2008. **Clinical Infectious Diseases**, v. 57, n. 3, p. 425–433, 2013.

BONHOTAL, J.; TELEGA, L.; PETZEN, J. Natural Rendering: Composting Livestock Mortality and Butcher Waste. **Cornell Waste Management Institute**, n. 607, p. 255–1187, 2008.

BOSCO, T. C. D. **Compostagem e vermicompostagem de resíduos sólidos: resultados de pesquisas acadêmicas**. 1ª ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2017.

BRINTON, W. F.; BONHOTAL, J.; FIESINGER, T. Compost sampling for nutrient and quality parameters: Variability of sampler , timing and pile depth. **Compost Science & Utilization**, v. 20, n. 3, p. 141–149, 2012.

BUKOWSKI, M.; WLADYKA, B.; DUBIN, G. Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. **Toxins**, v. 2, n. 5, p. 1148–1165, 2010.

CALEGARI, A. **Plantas para adubação verde de inverno no sudoeste do Paraná**. 1ª ed. Londrina: IAPAR, 1990.

CARBONERA, N. R. **Caracterização fenotípica e genotípica e perfil de resistência a antimicrobianos de *Salmonella* sp. isolada em ilha de abate e processamento de frango de corte**. 2018. Dissertação. Universidade Federal do Paraná, 74f., 2018.

CERRI, C. E. P. *et al.* **Compostagem**. 2008. Tese. Universidade de São Paulo, 205f., 2008.

COOPER, M. *et al.* **Compostagem e reaproveitamento de resíduos orgânicos agroindustriais: Teórico e prático**. Piracicaba: Divisão de Biblioteca - ESALQ/USP, 2010.

COSTA, M. S. D. M. *et al.* Desempenho de quatro sistemas para compostagem de carcaça de aves. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 692–698, 2006.

DEMOLINER, F. **Formação de biofilme e perfil de resistência antimicrobiana e a sanitizantes de isolados de *Pseudomonas sp* e *Listeria sp* . de corte de carne de frango e bubalino**. 2015. Dissertação. Universidade Federal de Pelotas, 89f., 2015.

DIAZ, L. F.; SAVEGE, G. M. Factors that affect the process. In: DIAZ, L.F.; BERTOLDI, M.; BIDLINGMAIER, W. (Ed.). **Compost Science and Technology**. 1^a ed. Stentiford, 2007. p. 49–56.

DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. . **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. 2^a ed. Washington: ASM Press, 1997.

EAMENS, G. J. *et al.* Bacterial survival studies to assess the efficacy of static pile composting and above ground burial for disposal of bovine carcasses. **Journal of Applied Microbiology**, v. 110, p. 1402–1413, 2011.

EHLING-SCHULZ, M.; FRENZEL, E.; GOHAR, M. Food-bacteria interplay: Pathometabolism of emetic *Bacillus cereus*. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1–12, 2015.

FACKLAM, R. R.; COLLINS, M. D. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 27, n. 4, p. 731–734, 1989.

FARIA, M. F. de *et al.* Avaliação parcial da influência da temperatura e do tempo sobre microrganismos patogênicos presentes no lodo de esgoto compostado. In: Fórum Internacional de Resíduos Sólidos, Curitiba. **Anais...** Curitiba: 2017.

FEITOSA, T. *et al.* Pesquisa de *Salmonella sp.*, *Listeria sp.* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 23, p. 162–165, 2003.

FERREIRA, H.; LIMA, H.; COELHO, T. **Microorganismos indicadores em alimentos de origem animal**. 2014. Seminário. Universidade Federal Rural do Semiárido, 4f., 2014.

FIGUEIREDO, P. G.; TANAMATI, F. Y. Adubação orgânica e contaminação ambiental. **Revista Verde**, v. 5, n. 3, p. 1–4, 2010.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. **Microbiologia dos Alimentos**. 1^a ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. N. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiología de los alimentos**. 4^a ed. Acribia, 1993.

GAMA, N. M. **Salmonella spp. em aves de postura comercial**. 2001. Dissertação. Universidade Estadual Paulista, 68f., 2001.

GHAVAMI, K.; MARINHO, A. B. Propriedades físicas e mecânicas do colmo inteiro do bambu da espécie **Guadua angustifolia**. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 1, p. 107–114, 2005.

GURTLER, J. B. *et al.* Inactivation of *E. coli* O157:H7 in Cultivable Soil by Fast and Slow Pyrolysis-Generated Biochar. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 11, n. 3, 2014.

HANSEN-WESTER, I.; STECHER, B.; HENSEL, M. Type III secretion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium translocated effectors and SseFG. **Infection and Immunity**, v. 70, n. 3, p. 1403–1409, 2002.

HAY, J. C. Pathogen destruction and biosolids composting. **Biocycle**, v. 37, n. 6, p. 67–76, 1996.

HECK, K. *et al.* Temperatura de degradação de resíduos em processo de compostagem e qualidade microbiológica do composto final. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 1, p. 54–59, 2013.

HEIDEMANN, B. R. *et al.* Compostagem acelerada: Análise microbiológica do composto. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, v. 5, p. 22–26, 2006.

HOLT, J. G. *et al.* **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9^a ed. Philadelphia: Lippindoff Willians e Wiekins, 2000.

INÁCIO, C. de T.; MILLER, P. R. M. **Compostagem: Ciência e prática para a gestão de resíduos orgânicos**. 1^a ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA Solos, 2009.

INNINGS, A. *et al.* Identification of 43 *Streptococcus* Species by Pyrosequencing Analysis of the *rnpB* Gene. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 12, p. 5983–5991, 2005.

JIMÉNEZ, E. I.; GARCÍA, V. P. **Instituto de Productos Naturales y Agrobiología de Canarias**. 1991. Disponível em: <https://www.ipna.csic.es/>. Acesso em: 24 / abril/ 2018

KEENER, H. M.; ELWELL, D. L.; MONNIN, M. J. Procedures and equations for sizing of structures and windrows for composting animal mortalities. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 16, n. 6, p. 681–692, 2000.

KENNEDY, A. C.; PAPENDICK, R. I. characteristics. **Journal of soil and water conservation**, v. 7, p. 243–248, 1995.

KENNEDY, A. C.; SMITH, K. L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant and Soil**, v. 170, p. 75–86, 1995.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. 1^a ed. Piracicaba: Editora Agronômica “Ceres”, 1985.

KOTIRANTAA, A.; LOUNATMAAA, K.; HAAPASALOB, M. Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. **Microbes and Infection**, v. 2, n. 5–6, p. 189–198, 2000.

LAMA, A. *et al.* Methods of isolation and identification of pathogenic and potential pathogenic bacteria from skins and tannery effluents. **Jalca**, v. 108, n. 6, p. 47–61, 2013.

LIMA, A. C. R. M. de *et al.* Microbiological profile of milk produced on dairy farms in the State of São Paulo according to the standards of Normative Instruction 62 of the Brazilian ministry of agriculture, livestock and food supply. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 9, n. 2, p. 114–125, 2015.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 13^a ed. São Paulo: Editora Artmed, 2016.

MASSUKADO, L. M. **Desenvolvimento do processo de compostagem em unidade descentralizada e proposta de software livre para o gerenciamento municipal dos resíduos sólidos domiciliares**. 2008. Tese. Universidade de São Paulo, 204f., 2008.

MORAIS, J. *et al.* Efeitos dos ácidos húmicos e fúlvicos na microflora do solo e na concentração de clorofila em alface. In: VII Congresso Brasileiro de Agroecologia, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: 2011.

MURRAY, P. R. **Microbiologia Médica**. 4^a ed. Guanabara Koogan, 2004.

NUNES, M. U. C.; SANTOS, J. R. dos; CRUZ, D. P. da. **Resíduos Agropecuários e Agroindustriais em Sergipe: Caracterização e Potencial de Utilização na Agricultura**. 2012. 7f. Circular Técnica EMBRAPA, nº 64. 2012.

OECD. **Gases do efeito estufa: Dióxido de Carbono (CO₂) e Metano (CH₄)**. 2014. Disponível em: <http://www.oeco.org.br/dicionario-ambiental/28261-gases-do-efeito-estufa-dioxido-de-carbono-co2-e-metano-ch4>. Acesso em: 12 / set / 2018.

OLIVEIRA, L. G. de *et al.* A importância da *Salmonella sp.* nos sistemas de produção de suínos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 9, n. 18, p. 1–19, 2012.

OLIVEIRA, L. B. *et al.* Características químicas do solo e produção de biomassa de alface adubada com compostos orgânicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 2, p. 157–164, 2014.

ORRICO JÚNIOR, M. A. P.; ORRICO, A. C. A.; LUCAS JÚNIOR, J. Compostagem da fração sólida da água residuária de suinocultura. **Eng. Agríc.**, v. 29, n. 3, p. 483–491, 2009.

ORRICO JÚNIOR, M. A. P.; ORRICO, A. C. A.; LUCAS JÚNIOR, J. Compostagem dos resíduos da produção avícola: Cama de frangos e carcaças de ave. **Eng. Agríc.**, v. 30, p. 538–545, 2010.

OTENIO, M. H.; CUNHA, C. M. da; ROCHA, B. B. **Compostagem de carcaças de grandes animais**. 2010.4f. Comunicado Técnico EMBRAPA, nº 61. 2010.

PAIVA, C. R. *et al.* Comportamento do pH e da temperatura do material durante a compostagem de carcaças de frango com diferentes materias orgânicos. In: Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental, 1, Bauru. **Anais...** Bauru: 2010.

PAIVA, E. P. de *et al.* *Bacillus cereus* e suas toxinas em alimentos. **Higiene Alimentar**2, v. 23, n. 170, p. 87–92., 2009.

PEDROSO DE PAIVA, D. **Cartilha de Compostagem de carcaças e resíduos das criações na propieda rural**. 2006. 35f. Cartilha Embrapa Suínos e Aves e Ministério do Meio Ambiente. 2006.

PEREIRA, J. T. **Manual de compostagem: processo de baixo custo**. 1^a ed. Viçosa: UFV, 2007.

PETRIC, I.; SESTAN, A.; SESTAN, I. Influence of wheat straw addition on composting of poultry manure. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 87, n. 3, p. 206–212, 2009.

POPOFF, M. Y.; LE MINOR, L. E. **Bergey`s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**. 2^a ed. New York: Springer-Verlag, 2005.

POWERS, M. E.; WARDENBURG, J. B. Igniting the Fire: *Staphylococcus aureus* Virulence Factors in the Pathogenesis of Sepsis. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 2, p. 10–13, 2014.

REIS, A. O. **Análise do perfil de sensibilidade, da similaridade genética e dos mecanismos de resistência a carbapenems em amostras clínicas de *Pseudomonas aeruginosa***. 2003. Tese. Universidade Federal de São Paulo, 110f., 2003.

RIBEIRO, M. C.; SOARES, M. M. S. R. **Microbiologia Prática Roteiro e Manual**. 1^a ed. Atheneu, 2000.

ROCHA, C. P.; ELOI JÚNIOR, J. J.; FISCHER, J. Análise da eficiência sanitária no tratamento de carcaças avícolas através da compostagem no município de São Sebastião do Oeste- MG. **Conexão cient. UNIFOR-MG**, v. 7, n. 2, p. 14–27, 2012.

RODRIGUES, M. S. *et al.* Compostagem: reciclagem de resíduos sólidos orgânicos. In: SPADOTTO, C.A.; RIBEIRO, W. (Ed.). **Gestão de Resíduos na agricultura e agroindústria**. Botucatu: FEPAF, 2006. p. 63–94.

SANTANA, L. R. R. de *et al.* Qualidade física, microbiológica e parasitologia de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 2, p. 264–269, 2006.

SANTORO, D. de O. **Avaliação da influência do tratamento do resíduo líquido hospitalar em isolados de *Pseudomonas aeruginosa* e na diversidade de *Pseudomonas spp.*** 2011. Dissertação. Fundação Oswaldo Cruz, 113f., 2011.

SANTOS, S. S. dos *et al.* Contaminação Microbiológica do Solo e dos Frutos de Cafeeiros Fertirrigados com Esgoto Sanitário. **Engenharia na Agricultura**, v. 14, n. 1, p. 16–22, 2006.

SANTOS, E. M. P. *et al.* *Streptococcus* e gêneros relacionados como agentes etiológicos de mastite bovina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 6, p. 17–27, 2007.

SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2^a ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008.

SEMEDO-LEMSADDEK, T.; BARRETO-CRESPO, M.; TENREIRO, R. **Enterococcus and safety**. 1^a ed. New York: Nova Science Publishers, 2012.

SENNE, D. A.; PANIGRAHY, B.; MORGAN, R. L. Effect of composting poultry carcasses on survival of exotic avian viruses: highly pathogenic avian influenza (HPAI) virus and adenovirus of egg drop syndrome-76. **Avian Dis**, v. 38, n. 4, p. 733–737, 1994.

SILVA, C. H. P. de M. e. **Bacteriologia - Um Texto Ilustrado**. 2^a ed. Rio de Janeiro: Eventos, 1999.

SILVA, M. C. da. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate.** 2002. Dissertação. Universidade de São Paulo, 987., 2002.

SILVA, R. O. S. da *et al.* Prevalência de *Salmonella* spp. em suínos abatidos em um frigorífico do Distrito Federal determinada pela técnica de PCR. **Braz. J. Food Technol**, v. 21, p. 1–6, 2018a.

SILVA, H. O. **Avaliação da eficiência de diferentes desinfetantes sobre biofilmes de *Bacillus cereus* em superfície de aço inoxidável.** 2017. Tese. Universidade Estadual Paulista, 96f., 2017.

SILVA, R. M. M. *et al.* Nem todo abscesso em pequenos ruminantes é causado por *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 10, p. 1902–1908, 2018b.

STENBERG, B. Monitoring Soil Quality of Arable Land: Microbiological Indicators Monitoring Soil Quality of Arable Land: Microbiological Indicators. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science**, v. 49, n. 6, p. 37–41, 2010.

TAKAYANAGUI, O. M. *et al.* Fiscalização de hortas produtoras de verduras do município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 2, p. 169–174, 2000.

TAVARES, M. M. P. **Caracterização de *Enterococcus* spp. isolados da boca e do coração de cães com doença periodontal.** 2014. Universidade de Lisboa, 2014.

TEIXEIRA, L.; CARVALHO, M.; FACKLAM, R. *Enterococcus*. In: PRESS, A. (Ed.). **Medical Microbiology**. 9^a ed. [s.l: s.n.]p. 430–442.

TEIXEIRA, M. B. *et al.* Decomposição e liberação de nutrientes da parte aérea de plantas de milho e sorgo. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 35, n. 5, p. 867–876, 2011.

TORRES, J. L. R. *et al.* Decomposição e liberação de nitrogênio de cobertura em solo de cerrado. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 29, n. 1, p. 609–618, 2005.

TORTORA, G. J. *et al.* **Microbiologia**. 12^a ed. Artmed, 2016.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. **Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos**. 2002. Seminário. Universidade Federal de Viçosa, 79f., 2002.

VALENTE, B. S. *et al.* Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos. **Arch. Zootec.**, v. 58, p. 59–85, 2009.

ZANDONADI, D. B. *et al.* Ação da matéria orgânica e suas frações sobre a fisiologia de hortaliças. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 14–20, 2014.