

II-232 - APLICAÇÃO DE BIOSSÓLIDOS TRATADOS POR SOLARIZAÇÃO NO PLANTIO DE HORTALIÇAS: ANÁLISE CRÍTICA DA LEGISLAÇÃO

Tiago de Brito Magalhães

Engenheiro Ambiental pela Universidade Federal de Viçosa. Mestrando em Saneamento e Meio Ambiente na Universidade Federal de Viçosa.

Edgard Henrique Oliveira Dias

Engenheiro Ambiental pela Universidade Federal de Viçosa. Mestrando em Saneamento e Meio Ambiente na Universidade Federal de Viçosa.

Rafael Kopschitz Xavier Bastos⁽¹⁾

Engenheiro Civil pela Universidade Federal de Juiz de Fora. Especialização em Engenharia de Saúde Pública pela ENSP/FIOCRUZ. PhD em Engenharia Sanitária pela Universidade de Leeds, UK. Professor Associado do Departamento de Engenharia Civil da Universidade Federal de Viçosa.

Paula Dias Bevilacqua

Médica Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa. Com especialização, mestrado e doutorado em Epidemiologia pela Universidade Federal de Minas Gerais. Professora Associada do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

Luciana Luz Caitano

Graduanda em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Viçosa.

Endereço⁽¹⁾: Universidade Federal de Viçosa Departamento de Engenharia Civil,. Av. PH Rolfs, s/n. Campus Universitário. Viçosa – MG. 36570-000. Brasil. Tel.: +55(31)3892-2352 – Fax: +55(31)3892-2819. e-mail: rkxb@ufv.br

RESUMO

Apresentam-se neste trabalho os resultados de experimentos de utilização de lodo de esgotos (proveniente de reator UASB e disposto em leito de secagem) e de bioossólidos (lodo do reator UASB tratado por secagem em estufa agrícola) no cultivo de hortaliças consumidas cruas (alface e cenoura). Foram realizados sete plantios de alface e cenoura em leiras preparadas em estufa agrícola, com mistura bioossólidos + solo (BS+S) de aproximadamente 7% (m/m). A incorporação ao solo de lodo/bioossólidos com 10^3 - 10^6 *E. coli*.(gST)⁻¹ resultou misturas BS+S 10 com 10 a 10^4 *E. coli*.(gST)⁻¹ e na ausência de ovos viáveis de *Ascaris* sp. O decaimento de *E.coli* nas leira se deu de forma intensa, sendo que ao final dos experimentos, de duração variável, as população remanescente oscilaram entre 10 *E. coli* .(gST)⁻¹ e níveis não detectáveis. As alfaces e cenouras apresentaram também níveis muito baixos de *E.coli*, sempre inferiores 10 NMP.(gST)⁻¹ e ausência de ovos viáveis de helmintos.

PALAVRAS-CHAVE: Alface, *Ascaris*, Cenoura, *E. coli*, Lodo de esgotos.

INTRODUÇÃO

A produção de lodo de esgotos vem crescendo em todo o mundo como resultado do crescimento populacional e de exigências cada vez mais restritivas de tratamento de efluentes. Em paralelo ao crescimento da produção de lodo de esgotos, cresce também o interesse pelo uso benéfico dos bioossólidos¹, tal como o uso agrícola.

Entretanto, uma vez que é produto do tratamento de esgotos sanitários, o lodo apresenta características potencialmente nocivas à saúde humana, como, por exemplo, a presença de microrganismos de transmissão fecal-oral (bactérias, vírus, protozoários e helmintos). Em vista disso, para que a utilização agrícola seja segura do ponto de vista de saúde pública, é de extrema importância que essa prática seja regulamentada, como o é em

¹ Emprega-se neste artigo o termo bioossólidos no sentido consagrado na literatura internacional, qual seja, o lodo que foi suficientemente processado a fim de permitir, de forma segura, sua reciclagem. Esse termo objetiva, portanto, destacar o potencial uso benéfico de aproveitamento da matéria orgânica, nutrientes, umidade e/ou outras qualidades que esse material possa conter, ao invés de ser visto apenas como resíduo a ser disposto, por exemplo, por incineração ou em aterro sanitário (NEBRA, 2008).

vários países, em geral incluindo a definição de critérios de qualidade microbiológica do lodo associados à restrições de uso.

No Brasil, a utilização agrícola de biossólidos é regulamentada pela Resolução CONAMA nº 375 de 29 de agosto de 2006 (BRASIL, 2006), a qual estipula duas classes de lodo (A e B) em função da qualidade microbiológica (Tabela 1).

Tabela 1 – Classes de biossólidos com relação à patógenos, Resolução CONAMA nº375/2006.

Classe	Qualidade Microbiológica
A	Coliformes Termotolerantes: $< 10^3$ NMP / g ST;
	Salmonella: ausência em 10 g ST;
	Vírus entéricos: $< 0,25$ UFP ou UFF / g ST);
	Ovos viáveis de helmintos: $< 0,25$ ovos viáveis / g ST.
B	Coliformes Termotolerantes: $< 10^6$ NMP / g ST;
	Ovos viáveis de helmintos: < 10 ovos viáveis / g ST.

A Resolução CONAMA 375/2006 impõe ainda várias restrições de uso, tais como: (i) biossólidos Classe A podem, a princípio, ser aplicados em qualquer cultura, mas para implantação de pastagens deve ser observado período mínimo de 24 meses desde a última aplicação, e de 48 meses para o cultivo de olerícolas, tubérculos, raízes e demais culturas cuja parte comestível entre em contato com o solo, bem como cultivos inundáveis; (ii) biossólidos Classe B somente podem ser aplicados em cafezais, culturas fibrosas ou oleaginosas ou na silvicultura, desde que sejam incorporado ao solo mecanicamente e, no caso de colheita manual, a aplicação deverá ser feita no mínimo seis meses antes. Adicionalmente, a aplicação de biossólidos Classe B no solo poderá ser banida em 2011, a não ser que “sejam propostos novos critérios ou limites baseados em estudos de avaliação de risco e dados epidemiológicos nacionais, que demonstrem a segurança do uso”.

A regulamentação brasileira é, portanto, bastante restritiva e, na visão de Bastos et al. (2009) carece de fundamentação sob a perspectiva de avaliação de risco. Por outro lado, uma abordagem consistente de Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico (AQRM) depende da disponibilidade de dados e de informações confiáveis, incluindo: (i) a ocorrência de patógenos em biossólidos, sua dinâmica no ambiente e a contaminação esperada em diferentes culturas produzidas com biossólidos; (ii) a qualidade real do biossólido produzido por diferentes processos de tratamento; (iii) o significado real dos padrões atuais que têm por base organismos indicadores, ou seja, a relação patógenos / organismos indicadores em biossólidos Classe A e Classe B, e a confiabilidade dos usuais organismos indicadores e substitutos e (iv) a confiabilidade dos métodos analíticos atualmente disponíveis para a detecção e enumeração de patógenos em amostras ambientais e de biossólidos (BASTOS, 2010).

Com o intuito de reunir subsídios para a construção de cenários de exposição em modelos de AQRM e para a apreciação crítica da Resolução CONAMA 375/2006, os objetivos deste trabalho são: (i) avaliar a qualidade microbiológica (*E. coli* e ovos de helmintos) de hortaliças (alface e cenouras) cultivadas com biossólidos produzidos em estufa agrícola e (ii) avaliar o decaimento de *E. coli* e ovos viáveis de *Ascaris* sp. no solo, entre o plantio e a colheita das hortaliças.

MATERIAL E MÉTODOS

Tratamento do lodo do reator UASB em estufa agrícola

As atividades foram desenvolvidas na Unidade Integrada de Tratamento e Utilização de Esgotos Sanitários da Viroleira, Viçosa – MG. A contribuição de esgotos do bairro Viroleira (cerca de 800 habitantes) é tratada em um conjunto reator UASB e biofiltro aerado submerso (UASB+BF), em escala real e pré-fabricado em aço (Figura 1A), operado pelo Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE) Viçosa. O lodo produzido no reator UASB é descartado a cada 21 dias em leitos de secagem (Figura 1B), onde permanece por cerca de 15 dias para desidratação. Após este período, é submetido a tratamento por solarização em estufa agrícola (Figura 1C), onde é revolvido a cada 15 dias. A Figura 2 mostra o lodo imediatamente após o descarte e os lotes de lodo em diferentes estágios de tratamento na estufa agrícola.



Figura 1 - Unidade Integrada de Tratamento e Utilização de Esgotos Sanitários da Viçosa, Viçosa – MG.
(A) Reator UASB e biofiltro aerado submerso. (B) Leitos de secagem. (C) Estufa agrícola.



Figura 2 - Unidade Integrada de Tratamento e Utilização de Esgotos Sanitários da Viçosa, Viçosa – MG.
(A) Lodo do reator UASB imediatamente após o descarte no leito de secagem. (B) Lodo em diferentes estágios de tratamento na estufa agrícola.

Os experimentos foram realizados entre fevereiro e dezembro de 2010, com o acompanhamento de dez lotes de lodo, sendo cada lote referente a uma data de descarte. Em cada evento de amostragem, nos leitos de secagem ou na estufa, seis amostras foram coletadas em posições e profundidades diferentes, utilizando pás de jardinagem e bandejas de alumínio. Essas amostras eram homogeneizadas, colocadas em sacos plásticos e levadas imediatamente para a realização das análises no Laboratório de Controle de Qualidade da Água (LCQA) da Divisão de Água e Esgotos da UFV (DAG UFV).

O monitoramento da qualidade do lodo foi realizado em frequência semanal (a partir de um dia após o descarte), com determinação de pH, teores de sólidos totais e umidade, contagens de *E. coli* e de ovos viáveis de *Ascaris*, mas neste trabalho são apresentados apenas os resultados microbiológicos. A pesquisa de *E. coli* foi realizada com o método cromogênico, seguindo as disposições da agência ambiental do Reino Unido (ENVIRONMENTAL AGENCY, 2003) e recuperação dos ovos viáveis de helmintos seguiu a metodologia proposta por Meyer *et al.* (1978), modificada por Godinho (2003).

Aplicação de biossólidos no cultivo de hortaliças

A aplicação do biossólido no cultivo de alface e cenoura foi realizada em estufa instalada nas dependências da DAG UFV. Foram realizados sete plantios entre junho e novembro de 2010, utilizando lodo de reator UASB ou biossólidos tratados em estufa com diferentes níveis de qualidade - concentrações de *E. coli* entre 10^3 a 10^6 NMP.(gST)⁻¹. Os plantios foram realizados em leiras preparadas com mistura biossólidos + solo (BS+S) de aproximadamente 7% (m/m), com 75 g BS dm⁻³, ou 1687,5 g BS para cada leira de 22,5 dm³ (15x100x15 cm).

(Figura 3). Após o plantio das cenouras e alfaces as leiras eram regadas diariamente com água tratada (declorada) por meio de regador manual.



Figura 3 - Estufa para plantio de hortaliças. (A) preparo da mistura solo + biossólido; (B) leiras de alface e cenoura em diferentes estágios de desenvolvimento.

A fim de acompanhar o decaimento dos microrganismos no solo entre o plantio e a colheita, as misturas BS+S foram caracterizadas em intervalos de aproximadamente 15-20 dias em termos de sólidos totais, umidade, pH, *E. coli* e ovos de helmintos, bem como os solos utilizados em cada plantio (no início de cada experimento). Os métodos analíticos utilizados foram os mesmos descritos anteriormente para lodos de esgotos. O procedimento adotado para a coleta das misturas BS+S foi basicamente o mesmo utilizado para a coleta de lodo, ou seja, foram coletadas amostras em posições diferentes, homogêneas, colocadas em sacos plásticos e levadas imediatamente ao laboratório para a realização das análises.

Para efeito das análises microbiológicas das hortaliças, todas as cenouras de cada leira eram coletadas e, no caso das alfaces, em todas as plantas da mesma leira eram coletadas amostras de folhas internas e externas. As hortaliças eram imediatamente colocadas em sacos plásticos estéreis e levadas ao laboratório para serem analisadas (Figura 4). Para a determinação do número mais provável de *E. coli*, foi utilizado o método cromogênico. A detecção e a enumeração de ovos de helmintos foram realizadas de acordo com a metodologia descrita em Oliveira e Germano (1992).

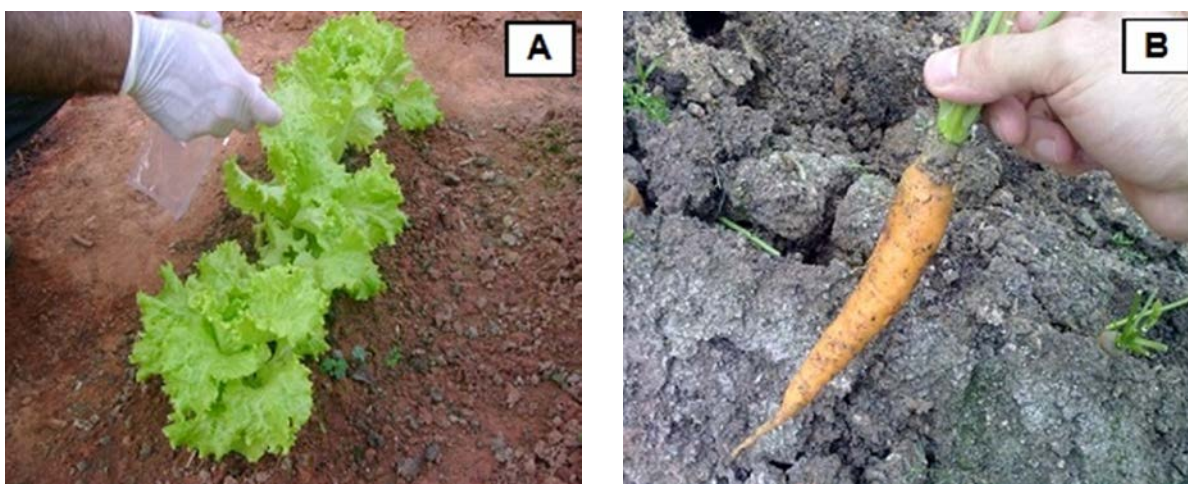


Figura 4 - Amostragem de hortaliças para análises. (A) coleta de folhas de alface; (B) coleta de cenouras.

RESULTADOS

Decaimento de *E.coli* e ovos viáveis de *Ascaris* no solo

Nas tabelas 2 e 3 estão expressos os níveis de *E. coli* encontrados nos lotes de bioossólidos e nas misturas BS+S quando foram utilizados bioossólidos com, respectiva e aproximadamente, 10^3 e 10^4 - 10^6 NMP.(gST)⁻¹. Cabe ressaltar que o solo utilizado nas misturas apresentou concentrações de *E. coli* de até 10^3 NMP.(gST)⁻¹ antes da incorporação dos bioossólidos. Quanto aos resultados de ovos viáveis de *Ascaris* sp., o bioossólido utilizado nos cultivos apresentou concentrações de até 1,82 ovos.(gST)⁻¹, mas destaca-se a ausência destes imediatamente após o plantio em todos os tratamentos.

Tabela 2 - Níveis de *E.coli* na mistura bioossólido + solo utilizando bioossólidos com concentrações da ordem de 10^3 *E.coli*.(gST)⁻¹.

Plantio 1			Plantio 3		
Data	BS	BS +S	Data	BS	BS +S
08/06/2010	$7,43 \times 10^3$	$1,34 \times 10^1$	14/07/2010	$1,33 \times 10^3$	$5,73 \times 10^1$
29/06/2010		9,95	04/08/2010		$1,23 \times 10^1$
14/07/2010		3,72	24/08/2010		$1,00 \times 10^2$
04/08/2010		3,49	14/09/2010		ND
24/08/2010		$2,24 \times 10^1$	05/10/2010		1,9
14/09/2010		1,09	26/10/2010		2,21
05/10/2010		$1,14 \times 10^{-1}$	16/11/2010		$2,08 \times 10^1$

ND: não detectado utilizando fator de diluição de 100; BS: bioossólido; BS+S: mistura bioossólidos + solo

Tabela 3 - Níveis de *E.coli* na mistura bioossólido + solo utilizando bioossólidos com concentrações da ordem de 10^4 - 10^6 *E.coli*.(gST)⁻¹.

Plantio 2			Plantio 4		
Data	BS	BS +S	Data	BS	BS +S
29/06/2010	$1,95 \times 10^4$	$5,27 \times 10^3$	14/07/2010	$1,81 \times 10^5$	$3,69 \times 10^2$
14/07/2010		ND	04/08/2010		$1,13 \times 10^0$
04/08/2010		ND	24/08/2010		$1,08 \times 10^2$
24/08/2010		$1,26 \times 10^1$	14/09/2010		$3,41 \times 10^0$
14/09/2010		ND	05/10/2010		$1,06 \times 10^0$
			26/10/2010		$2,42 \times 10^0$
			16/11/2010		$5,51 \times 10^0$
Plantio 5			Plantio 6		
Data	BS	BS +S	Data	BS	BS +S
24/08/2010	$7,48 \times 10^4$	$1,97 \times 10^3$	27/09/2010	$2,02 \times 10^6$	$9,30 \times 10^4$
14/09/2010		$9,76 \times 10^1$	05/10/2010		$1,07 \times 10^3$
05/10/2010		NR	26/10/2010		$4,41 \times 10^2$
13/10/2010		$3,31 \times 10^0$	16/11/2010		$2,83 \times 10^1$
26/10/2010		$4,88 \times 10^2$			
16/11/2010		ND			

ND: não detectado utilizando fator de diluição de 100; NR: não realizado; BS: bioossólido; BS+S: mistura bioossólidos + solo

A incorporação ao solo de bioossólidos com concentrações em torno de 10^3 *E.coli* (gST)⁻¹ resultou, por efeito de diluição, em concentrações no solo da ordem de 10 *E. coli* .(gST)⁻¹ e na ausência de ovos viáveis de *Ascaris* sp. Ressalta-se, porém, que essas populações de *E. coli* permaneceram, em níveis variáveis, até o final dos experimentos (em torno de 120 dias), ora sugerindo crescimento (por exemplo no plantio 3), ora decaimento (Tabela 2).

A utilização de biossólidos com 10^4 - 10^6 *E. coli*.(gST)⁻¹ resultou em concentrações de *E. coli* no solo de 10^2 - 10^4 NMP.(gST)⁻¹. Quando foram utilizados biossólidos com concentrações entre 10^4 e 10^5 *E. coli*.(gST)⁻¹, foram detectados no solo 10^2 - 10^3 *E. coli*.(gST)⁻¹ no dia do plantio, com considerável redução nos primeiros 21 dias, chegando a apresentar níveis não detectáveis. Ao final desses experimentos (75 a 123 dias), as populações remanescentes de *E. coli* oscilaram entre níveis muito baixos: em torno de não detectáveis a 10 *E. coli* .(gST)⁻¹. Por sua vez, o uso de biossólidos contendo cerca de 10^6 *E. coli*.(gST)⁻¹ resultou em concentrações de *E. coli* no solo superior a 10^4 NMP/gST no dia do plantio e da ordem de 10^3 e 10 *E. coli*.(gST)⁻¹, respectivamente oito e 45 dias após o plantio (Tabela 3).

Qualidade das hortaliças

Os resultados referentes à qualidade microbiológica das hortaliças no momento da colheita, em termos de *E. coli* e ovos de helmintos são apresentados na Tabela 4. O tempo decorrido entre o plantio e a colheita variou de 21 a 98 dias no cultivo de alface e de 78 a 127 dias no cultivo de cenoura. Nas folhas de alface e nas cenouras foram encontradas contagens *E. coli* sempre inferiores a 10 NMP.(gST)⁻¹, por vezes abaixo do limite de detecção, independentemente da qualidade da qualidade do biossólido utilizado. Da mesma forma, em todos os experimentos não foram detectados ovos de helmintos nas hortaliças.

Tabela 4 - Níveis de *E. coli* (NMP/gST) e ovos de helmintos nas hortaliças (alface e cenoura) adubadas com biossólidos.

Organismo	Alface					
	Plantio 1	Plantio 2	Plantio 3	Plantio 4	Plantio 5	Plantio 6
<i>E. coli</i> (NMP/gST)	0,2	NR	ND	ND	2,83	1,64
Ovos de helmintos	ND	NR	ND	ND	ND	ND
Parâmetro	Cenoura					
	Plantio 1	Plantio 2	Plantio 3	Plantio 4	Plantio 5	Plantio 6
<i>E. coli</i> (NMP/gST)	NR	NR	3,88	3,8	5,8	9,8
Ovos de helmintos	NR	NR	ND	ND	ND	ND

ND: não detectado; NR: não realizado

Vários trabalhos registram níveis diversos de contaminação bacteriológica e parasitológica em hortaliças comercializadas em diferentes regiões do país, em alguns casos em níveis bem mais elevados do que os encontrados no presente estudo (Guimarães *et al.*, 2003; Santana *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2010). A literatura, principalmente internacional, é também relativamente farta em trabalhos sobre contaminação de solos e de hortaliças produzidas com adubos orgânicos de origem animal (Natvig *et al.*, 2002; Ingham *et al.*, 2004; Nicholson *et al.*, 2004), de hortaliças irrigadas com águas residuárias (Lima *et al.*, 2005; Bastos *et al.*, 2008) ou de contaminação de solos adubados com biossólidos (Lang e Smith., 2006), mas trabalhos específicos sobre contaminação de produtos agrícolas cultivados com biossólidos são bem mais escassos.

Ingham *et al.*, (2004), aplicaram estrume bovino não tratado ($67,2$ t.ha⁻¹, peso úmido) no cultivo de rabanete, cenoura e alface no estado de Wisconsin, EUA (temperaturas entre 15 e 30°C). Em 90 dias, os níveis iniciais de *E. coli* no solo ($1,5 - 2,5 \times 10^4$.g⁻¹) apresentaram decaimento de aproximadamente 3 log. Decorridos cerca de 100 dias até a colheita, a contaminação das hortaliças em amostras lavadas (30s em água corrente) se mostrou esporádica e em baixos níveis: $1-1,6 \times 10^1$ *E. coli*.g⁻¹. Nicholson *et al.* (2004), em experimentos conduzidos em Gleadthorpe, Nottinghamshire, UK (temperaturas em torno de 15°C), reportam que *E. coli* O157, *Salmonella* ($1-5 \times 10^5$ org.g⁻¹), *Campylobacter* (10^2 org.g⁻¹) e *Listeria* ($1,6 \times 10^2 - 5 \times 10^3$ org.g⁻¹) (todas as medidas em peso úmido) não sobreviveram por mais de um mês após aplicação de esterco líquido (bovino, ovino e suíno) em solos arenosos e argilosos..

Lang e Smith (2006) pesquisaram, em experimentos controlados de laboratório, o decaimento de *E. coli* em solos argilosos e arenosos, secos e úmidos, com incorporação de biossólidos (lodo digerido anaerobicamente e desidratado) com concentração média de $2,4 \times 10^5$ *E. coli* g⁻¹, peso seco. As amostras foram incubadas à 15°C

por 91 dias. Nas amostras de solo seco o decaimento se deu de forma lenta e ao final dos 91 dias ainda permaneciam populações de cerca de 10^5 *E.coli* g⁻¹. Em contrapartida, nas amostras de solo úmido, aos 91 dias as populações de *E.coli* caíram à aproximadamente 10^1 *E.coli* g⁻¹ (T_{90} =20 dias). A marcante diferença entre os resultados dos dois tipos de amostras foi atribuída à competição entre as populações de *E.coli* e a biota do solo nas amostras úmidas

Chale-Matsau e Snyman (2006), investigaram a contaminação de solos e de batatas produzidas com aplicação de 8 e 16 t.ha⁻¹ de bio sólidos Classe B na África do Sul. As misturas BS + S apresentaram em torno de 10^3 - 10^4 *E.coli*.g⁻¹ no início dos experimentos; foi observado crescimento de *E.coli* nas semanas iniciais, seguido de decaimento e persistência de populações de 10^1 - 10^4 *E.coli*.g⁻¹ ao final dos experimentos (12 semanas). Ao longo desse período, salmonela foi também detectada na mistura BS + S ao final das doze semanas, bem como *E.coli* e salmonela na casca das batatas, respectivamente em um e dois dos quatro tratamentos testados.

Jimenez et al. (2006), também na África do Sul, utilizaram lodo de esgotos contendo 30 ovos de helmintos.(gST)⁻¹, 10^6 coliformes termotolerantes.(gST)⁻¹ e 10^5 salmonela.(gST)⁻¹ no cultivo de cenoura e espinafre. A taxa de aplicação de lodo variou de 1,3-37,5 e 1-35 t.ha⁻¹ nos canteiros de espinafre e cenoura, respectivamente, o que correspondeu a taxas de aplicação de ovos de helmintos de 0,18-5,1 e 0,9-4,3 ovos.cm⁻². No momento da colheita do espinafre e das cenouras, respectivamente sete e doze semanas após o plantio, não se detectou salmonela no solo, mas foram encontrados cerca 10^3 - 10^5 CTer.(gST)⁻¹ e em torno de 1-6 ovos de helmintos.(gST)⁻¹, respectivamente para as mais baixas e mais altas taxas de aplicação de lodo acima referidas. Nesse período, a viabilidade dos ovos de helmintos no solo decaiu de 80 a 52 e 39%, respectivamente nos canteiros de espinafre e cenouras. A contaminação dos espinafres variou em torno de 10^3 CTer.g⁻¹, sem associação nítida com a taxa de aplicação de lodo, e de 1-14 ovos de helmintos.g⁻¹ de forma crescente com a taxa de aplicação de lodo. O grau de contaminação das cenouras foi crescente com o incremento das taxas de aplicação de lodo: 10^1 - 10^5 CTer.g⁻¹ e 2-8 ovos de helmintos.g⁻¹. A viabilidade dos ovos de helmintos nas cenouras foi de aproximadamente 20% do total de ovos encontrados.

Rocha et al. (2003), aplicaram 50, 100 e 200 t ha⁻¹ de bio sólidos no cultivo de couve no estado do Rio de Janeiro, contendo $1,9 \times 10^3$ CTer.(gST)⁻¹. Dezenove dias após a incorporação dos bio sólidos, amostras de solo apresentavam 10^1 - 10^5 CTer.(gST)⁻¹ sem associação nítida com as taxas de aplicação de lodo, mas aos 54 dias as populações de coliformes termotolerantes praticamente desapareceram. Nas análises parasitológicas realizadas no solo, aos 28 dias foram encontradas amostras positivas em todos os tratamentos com aplicação de bio sólidos, mas não mais aos 60 dias. Análises microbiológicas e parasitológicas foram realizadas nas folhas de couve aos 75 e 88 dias após a incorporação dos bio sólidos, não tendo sido isolados coliformes termotolerantes e ovos de helmintos.

Em um modelo proposto por Gale (2003) para a estimativa de concentração de patógenos em tubérculos e raízes cultivados com bio sólidos, o autor sugere que no momento da colheita essas plantas apresentem 2% (m/m) de solo aderido em relação ao peso total (ou seja, cada quilo de cenoura conteria 20 g de solo). Mara e Horam (2002) sugerem que cada quilo de alface contenha 2 g de solo aderido. Assim, a julgar pelos níveis de contaminação encontrados nas misturas BS+S no presente estudo (Tabelas 2 e 3), a contaminação resultante nas cenouras e alfaces seriam, nas piores hipóteses, calculadas teoricamente em 5.7×10^{-1} *E.coli*.g⁻¹ cenoura e 5.7×10^{-2} *E.coli*.g⁻¹ alface. Se por um lado essas estimativas são ainda inferiores aos já baixos valores constatados no presente estudo, por outro, sugerem que potencial de contaminação de hortaliças folhosas e de raízes e tubérculos cultivados com bio sólidos seja de fato baixo. Isso é confirmado nos trabalhos citados anteriormente de Chale-Matsau e Snyman (2006), Rocha et al. (2003) e de Ingham et al., (2004), muito embora no segundo caso tenham sido analisadas amostras de hortaliças lavadas, e no último caso a cultura em questão seja a couve, cujas folhas se desenvolvem distantes do contato com o solo. Em contrapartida, os resultados citados de Jimenez et al. (2006) apontam níveis de contaminação mais elevados. Por fim, registra-se que os resultados deste estudo apresentam, em geral, consistência também com outros trabalhos que relatam rápido decaimento de *E.coli* (e bactérias patogênicas) em solos com bio sólidos incorporados.

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo sugerem que a incorporação de bio sólidos ao solo (efeito de diluição) e o decaimento microbiano no solo representam importantes barreiras de proteção, reduzindo as chances de contaminação das culturas adubadas com bio sólidos. Sob as condições experimentais do estudo, o uso de

biossólidos com até 2×10^6 *E. coli*.(gST)⁻¹ resultou em níveis de contaminação de alfaces e cenouras muito abaixo do limite da regulamentação brasileira sobre a qualidade sanitária de hortaliças consumidas cruas (10^2 CTer.g⁻¹) (ANVISA, 2001). Reúnem-se, portanto, indícios de que a regulamentação brasileira sobre o uso agrícola de lodos de esgotos possa, em alguns aspectos, ser excessivamente rigorosa, por exemplo, nas restrições de uso de biossólidos Classes A e B. Tais resultados devem, entretanto, ser confirmados em experimentos complementares que permitam o modelamento do decaimento microbiano (incluindo outros patógenos ou organismos indicados, tais como salmonela, protozoários, vírus e fagos) no solo e da predição da contaminação de diferentes culturas (diferentes contatos com o solo) em função da qualidade dos biossólidos. Dessa forma, obter-se-iam importantes subsídios para aplicação em modelos de Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico e para a apreciação crítica da regulamentação brasileira.

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho contou com apoio da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP), na forma de recursos financeiros para a pesquisa, da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) na forma de bolsas de Mestrado e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) na forma de bolsas de Iniciação Científica e de auxílio financeiro para a participação no evento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BASTOS R. K. X, BEVILACQUA P. D.; DIAS, G. M. F.; BARONY, F. J. A. Análise crítica da legislação brasileira para uso agrícola de lodos de esgotos na perspectiva da avaliação quantitativa de risco microbiológico. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales: Investigación, desarrollo y práctica*, v.2, n.1, p. 143-149, 2009.
2. BASTOS R. K. X, BEVILACQUA P. D.; SILVA, C. A. B; SILVA, C. V. Wastewater irrigation of salad crops: further evidence for the evaluation of the WHO guidelines. *Water Science and Technology*, v. 57, n.8 p 1213–1219, 2008.
3. BASTOS, R. K. X. *Quantitative microbial risk analysis applied to biosolids use in agriculture: a state of the art review*. 2010, 67f. Monografia (Pós doutorado) – School of Civil Engineering, University of Leeds, Leeds, UK. 2010.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos de alimentos. Brasília, DF: *Diário Oficial da União*, 10 jan. 2001. Seção I, p. 48
5. BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 375 de 29 de agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. Brasília, DF: *Diário Oficial da União*, 30 ago. 2006, p.141-146.
6. CHALE-MATSAU, J.R.B.; SNYMAN, H.G. The survival of pathogens in soil treated with wastewater sludge and in potatoes grown in such soil. *Water Science and Technology*, v. 54, n. 5 p 163–168, 2006.
7. ENVIRONMENT AGENCY. *The Microbiology of Sewage Sludge (2003) - Part 3 - Methods for the isolation and enumeration of Escherichia coli, including verocytotoxigenic Escherichia coli. Methods for the Examination of Waters and Associated Materials*. UK, 2003.
8. GALE, P. Using event trees to quantify pathogen levels on root crops from land application of treated sewage sludge. *Journal of Applied Microbiology*, v. 94, p. 35-47, 2003.
9. GODINHO, V. M. *Estudo sobre a ocorrência de ovos de helmintos e viabilidade de Ascaris sp. em lodos anaeróbios in natura e submetidos à higienização por caleação e por tratamento térmico*. 2003. 122f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos hídricos) - Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.
10. GUIMARÃES, A.M.; ALVES, E.G.L.; FIGUEIREDO, H.C.P.; COSTA, G.M.; RODRIGUES, L.S. Frequência de enteroparasitas em amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em Lavras, Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, n. 5, p. 132-135, 2003.
11. INGHAM, S. C.; JILL A. LOSINSKI, J. A.; ANDREWS, M. P.; BREUER, J. A.; BREUER, J. R.; WOOD, T. M.; WRIGHT, T. H. *Escherichia coli* contamination of vegetables grown in soils fertilized with noncomposted bovine manure: garden-scale studies *Applied and Environmental Microbiology*, v. 70, n.11, p. 6420–6427, 2004.

12. JIMENEZ, B.; AUSTIN, A.; CLOETE, E.; PHASHA, C. Using Ecosan sludge for crop production. *Water Science and Technology*, v.54, n.5, p. 169–177, 2006
13. LANG, N. L.; SMITH, S. R. Influence of soil type, moisture content and biosolids application on the fate of *Escherichia coli* in agricultural soil under controlled laboratory conditions. *Journal of Applied Microbiology*, v. 103, p.2122–2131, 2007.
14. LIMA, S. M. S.; HENRIQUE, I. N.; CEBALLOS, B. S. O.; SOUSA, J. T.; ARAÚJO, H. W. C. Qualidade sanitária e produção de alface irrigada com esgoto doméstico tratado. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.9, (Suplemento), p.21-25, 2005.
15. MARA, D. D.; HORAN, N. J. Sludge to land: microbial double standards. *Journal CIWEM*, v.16, p.249-252, 2002.
16. MEYER, K. B.; MILLER, K. D.; KANESHIRO, E. S. Recovery of *Ascaris* eggs from sludge. *The Journal of Parasitology*, v. 64, n 2, p. 380-383, 1978.
17. NATVIG, E. E.; INGHAM, S. C.; INGHAM, B. H.; COOPERBAND, L. R.; ROPER, T. R. *Salmonella enterica* Seroovar Typhimurium and *Escherichia coli* contamination of root and leaf vegetables grown in soils with incorporated bovine manure. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n.6, p. 2737–2744, 2002.
18. NEBRA - NORTH EAST BIOSOLIDS AND RESIDUALS ASSOCIATION. *Information update: official usage of the term “biosolids”*. Tamworth, 2008. 7 p. Disponível em: <<http://www.nebiosolids.org/uploads/pdf/Biosolids-theWord-NEBRA08.pdf>>. Acesso em: 2 nov 2010.
19. NICHOLSON, F. A.; GROVES, S. J.; CHAMBERS, B. J. Pathogen survival during livestock manure storage and following land application. *Bioresource Technology*, v. 96, n.2. p. 135-143, 2005.
20. OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO P. M. L. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. I – Pesquisa de helmintos. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 26, n. 4, 1992.
21. ROCHA, R. E. M.; PIMENTEL, M. S.; ZAGO, V. C. P.; RUMJANEK, N. G.; DE-POLLI, H. Avaliação de bio-sólido de águas servidas domiciliares como adubo em couve. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 38, n. 12, p. 1435-1441, 2003.
22. SANTANA, L. R.; CARVALHO, R. D. S.; LEITE, C. C.; ALCÂNTARA, L. M.; OLIVEIRA, T. W. S.; RODRIGUES, B. M. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, v.26, n.2, p. 264-269, 2006.
23. SANTOS, C. M. G.; BRAGA, C.L.; VIEIRA, M. R. S.; CERQUEIRA, R. C.; BRAUER, R. L. LIMA, G. P. P. Qualidade da alface comercializada no município de Botucatu - SP. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, v. 11, n. 1, p. 67-74. 2010.