

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE MINAS GERAIS – CAMPUS SÃO JOÃO EVANGELISTA
BACHARELADO EM AGRONOMIA**

LUIZ CARLOS GOMES DE AZEVEDO

**CRESCIMENTO, QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E HIGIENIZAÇÃO DE
Lactuca sativa L. CULTIVADA COM BIOFERTILIZANTE TIPO VAIRO**

**SÃO JOÃO EVANGELISTA
JANEIRO DE 2016**

LUIZ CARLOS GOMES DE AZEVEDO

**CRESCIMENTO, QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E HIGIENIZAÇÃO DE
Lactuca sativa L. CULTIVADA COM BIOFERTILIZANTE TIPO VAIRO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto Federal de Minas Gerais – *Campus* São João Evangelista como exigência parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Wemerson Geraldo Magalhães
Co-Orientador: Alisson José Eufrásio de Carvalho

**SÃO JOÃO EVANGELISTA
JANEIRO DE 2016**

LUIZ CARLOS GOMES DE AZEVEDO

**CRESCIMENTO, QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E HIGIENIZAÇÃO DE
Lactuca sativa L. CULTIVADA COM BIOFERTILIZANTE TIPO VAIRO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto Federal de Minas Gerais – *Campus* São João Evangelista como exigência parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Aprovada em 08 de janeiro de 2016

BANCA EXAMINADORA

Wemerson Geraldo Magalhães (Orientador)
IFMG – SJE

Márcia Cristina de Paula Cesário
IFMG – SJE

Alisson José Eufrásio de Carvalho
IFMG -SJE

“O caderno em branco chama-se tempo. E nós somos autores de todos os capítulos que se desenrolam por fatos vividos no livro da Eternidade.”

Chico Xavier

A minha família, em especial minha avó (*in memoriam*), por sempre ter me dado forças ao longo dessa jornada e por terem me mostrado o verdadeiro significado da vida...

..***Dedico*** este trabalho com todo carinho e amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por sempre me iluminar e me guiar ao longo dessa jornada, sem jamais me abandonar, mesmo nos momentos difíceis e de dúvidas, sempre me guiando com as luzes do seu divino espírito santo.

A minha família, meus irmãos João Paulo, Ana Flávia, José Daniel e Maria Isabel, em especial meus pais, Maria de Fátima e Gabriel, por serem alicerce que me permitiram construir a escada para o alcance desses objetivos, por todo apoio e amor a mim dedicados ao longo desses anos.

Aos meus amigos de república, Júlio Cesar e Ari, pela convivência e amizade ao longo desses últimos anos.

Ao meu amigo Papinha pelos conselhos, amizade e apoio, principalmente pelas experiências de vida comigo compartilhada ao longo desses anos, o que o tornaram um amigo, pai e irmão.

Ao Prof. Wemerson Geraldo Magalhães, meu orientador e amigo, pela convivência, pelos conselhos, pelo apoio, por toda troca de experiência, amizade, confiança e orientação na realização desse trabalho.

Ao Prof. Alisson José Eufrásio, meu co-orientador, irmão e amigo, pela amizade, confiança apoio e orientação na realização desse trabalho.

Ao Professor Charles Bispo, pela convivência, ensinamentos e amizade.

A todos os professores, amigos e colegas que de alguma forma contribuíram para a minha formação.

Aos membros da banca por aceitar o convite e me honrar com as suas sugestões de melhorias para este trabalho.

Ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia - *Campus* São João Evangelista, pela oportunidade, e por todas as experiências a mim proporcionadas ao longo destes cinco anos.

Muito obrigado !!!

RESUMO

A utilização de hortaliças na alimentação vem crescendo cada vez mais a medida em que a população se conscientiza sobre a necessidade de hábitos alimentares mais saudáveis. Nesse contexto, destaca-se a alface (*Lactuca sativa* L.) como uma das principais hortaliças consumidas no mundo, estando presente nas mesas brasileiras das mais variadas classes econômicas e sociais. Aliado ao consumo crescente de hortaliças, destaca-se a preocupação cada vez maior dos consumidores sobre o modelo de produção que é empregado, sendo crescente a valorização de produtos oriundos de sistemas mais sustentáveis com menor uso de defensivos e fertilizantes químicos. Por este motivo, realizou-se um experimento com o intuito de se avaliar a capacidade de doses crescentes de biofertilizante em contribuir para melhorias dos índices de produção de alface em sistemas orgânicos, bem como investigar a possível contaminação que o biofertilizante pode ocasionar na cultura, comparando os índices de carga microbiana do biofertilizante com o presente na água de irrigação. Foram realizados o plantio em canteiros, em um sistema de Delineamento em Blocos ao acaso (DBC). Foram avaliados 6 tratamentos (0,0 ou testemunha; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0% de biofertilizante na solução) em 4 blocos, totalizando 4 repetições de cada tratamento. Para sanificação das plantas, foram avaliados quatro tratamentos, contendo seis repetições cada, sendo Tratamento 1 (testemunha sem qualquer tipo de desinfecção), Tratamento 2 (alface tratada com solução de vinagre 12,5%), Tratamento 3 (alface tratada com solução de bicarbonato de sódio 2%) e Tratamento 4 (alface tratada com solução de hipoclorito de sódio 2%). Foram avaliadas a sanificação para dois momentos de consumo da alface: o consumo imediato e o consumo após sete dias de armazenamento sob refrigeração. Os dados agronômicos avaliados demonstraram que não houve efeito significativo do biofertilizante para diâmetro da cabeça, número de folhas, massa fresca e massa seca, demonstrando que as dosagens até 8% não suprem as exigências nutricionais das plantas. As análises microbiológicas demonstraram a inexistência de agentes contaminantes no biofertilizante, mas apontaram a presença desses agentes na água de irrigação. Entre os tratamentos sanificantes o mais eficiente foi a solução de hipoclorito de sódio a 2%.

Palavras-chave: Hortaliça. Biofertilizante. Sanificantes. Micro-organismos.

ABSTRACT

The use of vegetables in the diet has been growing as the population becomes aware about the need for healthier eating habits. In this context, it highlights the lettuce (*Lactuca sativa* L.) as one of the main vegetables consumed in the world, being present in Brazilian tables from various economic and social classes. Allied with the increasing consumption of vegetables, it emphasizes the concern of consumers about the production model that is employed, and increasing the appreciation for products from sustainable systems with less use of pesticides and chemical fertilizers. For this reason, an experiment was carried out in order to assess the potential of increasing doses of biofertilizer in contributing to improvements in the production of lettuce in organic systems, as well as investigating the possible contamination that the biofertilizer can cause in culture, comparing the indexes of microbial load of biofertilizer with the present in the irrigation water. It was carried out the planting in beds, in a random system of design in blocks. It was evaluated 6 treatments (0.0 or witness; 0.5; 1.0; 2.0; 4.0; 8.0% of biofertilizer solution) in 4 blocks, totaling 4 repetitions of each treatment. For sanitization of plants it was evaluated four treatments, containing six repetitions each, being Treatment 1 (witness without any kind of disinfection), Treatment 2 (lettuce treated with vinegar solution 12.5%), Treatment 3 (lettuce treated with sodium bicarbonate solution 2%) and Treatment 4 (lettuce treated with sodium hypochlorite solution 2%). It was evaluated if the sanitization for two moments of lettuce consumption: immediate consumption and consumption after seven days of refrigerated storage. The evaluated agronomic data demonstrated that there was no significant effect of biofertilizer to head diameter, number of leaves, fresh and dry mass, showing that dosages up to 8% did not supply the nutritional requirements of plants. The microbiological analysis demonstrated the absence of contaminants on biofertilizer, but pointed to the presence of these agents in irrigation water. Between the sanitizing the most efficient treatments was the solution of sodium hypochlorite 2%.

Keywords: Vegetable. Biofertilizers . Sanitizing . Microorganisms .

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Esquema da distribuição das parcelas do experimento.	22
Figura 2 – Diâmetro da cabeça em cm, primeiro experimento. Erro! Indicador não definido.	
Figura 03: Diâmetro da cabeça em cm, segundo experimento.....	29
Figura 04 – Produção de folhas quanto a diferentes dosagens de biofertilizante.....	30
Figura 05: Produção de folhas, segundo experimento	31
Figura 06 – Produtividade de massa fresca para a alface cultivada com diferentes dosagens de biofertilizante	Erro! Indicador não definido.
Figura 07 – Produtividade de massa fresca, segundo experimento.	33
Figura 08 – Produtividade de massa seca para a alface cultivada com diferentes dosagens de biofertilizante.	34
Figura 09 – Produtividade de massa seca, segundo experimento. Erro! Indicador não definido.	
Figura 10 – Crescimento microbiológico na água de irrigação durante a condução do experimento.	40
Figura 11 – Crescimento microbiológico no biofertilizante durante a condução do experimento.	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Apresentação dos resultados da análise composição mineral do biofertilizante.....	20
Tabela 02 – Apresentação dos resultados da análise de solo no local do cultivo.....	21
Tabela 03 – Apresentação dos resultados da análise de solo no local do cultivo.....	26
Tabela 04: Análise de Variância do diâmetro da cabeça segundo experimento.....	28
Tabela 05: Análise de Variância do número de folhas, segundo experimento.....	30
Tabela 06: Análise de Variância da massa fresca, segundo experimento.	32
Tabela 07: Análise de variância da massa seca, segundo experimento.	34
Tabela 08 – Contagem de coliformes totais (log UFC g-1), em alfaces tratadas com diferentes sanificantes, analisadas frescas e após sete dias de armazenamento.	44
Tabela 09 – Contagem de coliformes termotolerantes (log UFC/g-1) em alfaces tratadas com diferentes sanificantes, analisadas frescas e após sete dias de armazenamento.....	45

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	V
RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABELAS	IX
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 A Cultura da alface (<i>Lactuca sativa</i> L.)	14
2.2 Os Biofertilizantes.....	15
2.3 Coliformes	16
2.4 infecções Alimentares	17
3. METODOLOGIA	19
3.1 Preparo do Biofertilizante.....	19
3.2 Preparo das Mudas e Plantio	20
3.3 Preparo dos Canteiros e Transplântio.	21
3.4 Colheita	22
3.4.1 Massa fresca.....	22
3.4.2 Massa seca	23
3.4.3 Diâmetro da cabeça	23
3.4.4 Número de folhas	23
3.5 Análises Microbiológicas	23
3.5.1 Análises semanais	23

3.5.2 Análises pós-colheita.....	24
3.5.2.1 Desinfecção e análises microbiológicas da alface fresca	24
3.5.2.2 Desinfecção e análises microbiológicas da alface armazenada em geladeira	25
3.6 Material e Métodos Segundo Experimento	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1 Avaliação dos Dados Agronômicos.....	27
4.2 Análises Microbiológicas	39
4.2.1 Análises microbiológicas da água de irrigação e do biofertilizante.....	39
4.2.2 Análises Microbiológicas de Alface Sanificada	44
4. CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

Atualmente vivemos um momento em que se torna cada vez mais importante a busca por sistemas de produção eficientes e sustentáveis, sistemas que buscam produzir alimentos saudáveis, a custos acessíveis, procurando utilizar da melhor maneira possível os recursos disponíveis para a produção. Dessa forma, grandes quantidades de adubos orgânicos acabam sendo utilizados sem a realização das devidas avaliações sobre as dosagens aplicadas, bem como sem as avaliações sobre potenciais riscos de contaminação microbiológica das mesmas.

Nesse contexto, a horticultura se destaca, como sendo uma das atividades agrícolas que mais cresceram nos últimos anos em relação à expansão dos mercados para os produtos, principalmente aqueles denominados como orgânicos. É notório, que houve uma grande conscientização da população em relação à importância de se valorizar esse tipo de produto, bem como a necessidade de se incluir na dieta, alimentos produzidos de maneira saudável, produzidos com o mínimo possível de aditivos químicos como fertilizantes e defensivos.

A horticultura é normalmente praticada em pequenas propriedades rurais, em que na maioria das vezes predomina a mão de obra familiar. Daí outro motivo pelo qual essa atividade deve ser valorizada, procurando-se integrar a produção com técnicas que permitam agregar a estes produtos características de origem que os possam tornar mais próximo possível do que é considerado alimentos orgânicos, até mesmo como forma de agregar valor, contribuindo para aumento na geração de renda e conseqüentemente a fixação do homem no campo.

Dentre as principais hortaliças cultivadas, podemos destacar a alface, como sendo uma das hortaliças mais comuns entre as cultivadas no Brasil, assim também como uma das mais consumidas, gerando emprego e renda na cadeia do setor olerícola para milhares de famílias e agricultores familiares. É uma hortaliça amplamente consumida nas mais diversas classes sociais, sendo a maior parte consumida na forma de saladas e no preparo de lanches *fast-foods*. Existem diversas variedades, apresentando diferenças na cor e aroma, como também na textura. A alface pode ser classificada em dois grandes grupos: alface lisa e crespa.

Por ser uma hortaliça consumida *in natura*, a alface pode muitas vezes, dependendo do tipo de adubação orgânica utilizada e da qualidade da água da irrigação, atuar como fonte de propagação de infecções alimentares. Isso acontece porque, ao se utilizar uma fonte de adubação ou uma fonte de água contaminadas, as células bacterianas presentes no meio,

principalmente os coliformes, acumulam nas folhas podendo atingir índices passíveis de ocasionar infecções alimentares aos seres humanos.

Os coliformes são micróbios frequentemente relacionados à água. Podem ser divididos em dois grandes grupos, os coliformes totais e os coliformes termotolerantes. Os coliformes termotolerantes são encontrados presentes em intestino de animais de sangue quente (mamíferos), vivem no intestino dos animais como bois, porcos, cachorros, gatos, homens etc, sem lhes causar prejuízos. Dessa forma são eliminados na natureza quando estes animais defecam, e quando encontrados em grandes quantidades na água, indicam a presença de atividades humanas, como por exemplo, a presença de esgotos domésticos ou de algum tipo de atividade, como, por exemplo, a criação de animais. De forma geral, quando este tipo de coliforme é encontrado presente na água, indica que a mesma não deve ser utilizada para consumo ou para a produção de alimentos, sob o risco de ocasionar infecções intestinais. Já os coliformes totais, são bactérias comumente encontradas em meios aquáticos, podendo ser considerados como bioindicadores de qualidade da água, A presença desse tipo de organismo normalmente esta ligada a decomposição da matéria orgânica.

Grande parte dos agricultores e produtores de alface utilizam fontes de adubação orgânicas e água para a irrigação, captadas de córregos e rios, sem qualidade confirmada, o que pode ocasionar a contaminação dos alimentos produzidos. Logo, a ocorrência da contaminação pode indicar que a fonte de adubação ou a água de irrigação estão contaminadas, ou dentro dos níveis aceitos pela legislação.

Dessa forma, a realização de trabalhos, cujo objetivo é investigar a presença de organismos com potenciais contaminantes, é de extrema importância para desmistificar qual fonte é mais importante na contaminação dos alimentos, avaliando dentre a água e o biofertilizante qual apresenta mais potencial de contaminação.

Em caso da confirmação de contaminação, ocorre a necessidade de se utilizar agentes ou substâncias com potencial desinfetante. A água sanitária, o vinagre e o bicarbonato de sódio, estão entre os principais produtos utilizados domesticamente para a desinfecção de alimentos.

O presente trabalho teve como objetivos avaliar a capacidade de diferentes dosagens de biofertilizante em contribuir com a produtividade da alface, investigar a influência do biofertilizante sobre a carga microbiana da alface, monitorar a presença de microrganismos na

água da irrigação e avaliar diferentes produtos químicos como agentes sanitizantes para alface.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura da alface (*Lactuca sativa* L.)

Originária da região do mediterrâneo, a alface (*Lactuca sativa* L.) é uma planta anual, de clima temperado, pertencente à família Asteracea (EMBRAPA, 2009). É a hortaliça folhosa mais importante no mundo, sendo consumida principalmente *in natura* na forma de saladas (SALA e COSTA, 2012).

A alface é uma das hortaliças mais difundidas e cultivadas em todo o país, é a hortaliça folhosa de maior importância econômica no Brasil com uma área plantada de 35.000 ha. Seu cultivo é feito de maneira intensiva e geralmente praticada pela agricultura familiar em pequenas propriedades rurais, sendo responsável pela geração de cinco empregos diretos por hectare, e outros tantos indiretos principalmente no comércio (COSTA & SALA, 2005).

SANTANA (2006) destaca que a *Lactuca sativa*, é a hortaliça folhosa mais comercializada no Brasil, sendo considerada uma cultura hortícola de grande consumo. Devido ao seu baixo valor calórico qualifica-se para diversas dietas, o que favorece grandemente o seu consumo de uma maneira geral, constituindo-se em componente imprescindível das saladas dos brasileiros.

Esta hortaliça está presente na alimentação de brasileiros por todo o território nacional, bem como em todas as classes sociais, sendo então a principal salada consumida pela população, tanto pelo sabor e qualidade nutricional, quanto pelo reduzido preço para o consumidor. A grande quantidade de variedades permitiu sua larga adaptação às condições climáticas diversas do nosso país. A evolução de cultivares e sistemas de manejo, tratamentos culturais, irrigação, espaçamentos, técnicas de colheita e de conservação pós-colheita e mudanças nos hábitos de alimentação impulsionaram o cultivo e tornaram a alface a hortaliça folhosa mais consumida no país (EMBRAPA, 2007). Por ser uma hortaliça de ciclo extremamente rápido, possibilita a realização de cultivos sucessivos no mesmo ano. O baixo custo de produção, a pouca suscetibilidade a pragas e doenças e a comercialização segura, fazem com que seja a hortaliça preferida pelos pequenos produtores, o que lhe confere grande

importância econômica e social, sendo significativo fator de agregação do homem do campo (MEDEIROS *et al.*, 2007).

Dessa forma, em virtude da grande importância dessa hortaliça e do seu elevado consumo, surge a necessidade de se produzir cada vez mais de forma sustentável e saudável. Por ser uma hortaliça consumida *in natura*, a qualidade das folhas é extremamente importante para se evitar a contaminação do consumidor, tanto por produtos químicos, quanto por contaminantes biológicos, como coliformes fecais.

2.2 Os biofertilizantes

Biofertilizantes líquidos são produtos naturais obtidos da fermentação de materiais orgânicos com água, na presença ou ausência de ar (processos aeróbicos ou anaeróbicos) (EMBRAPA, 2007).

A produção de biofertilizantes está regulamentada na lei brasileira sobre produção e o comércio de fertilizantes, corretivos e inoculantes agrícolas pela Lei nº 6.894 de 16/12/1980, alterada pela Lei nº 6.934 de 13/07/1981, as quais estão regulamentadas pelo Decreto nº 86.955 de 18/02/1982 e pelas Portarias MA-84 de 29/03/1982, SNAD-31 de 08/06/1982, SEFIS-01 de 04/03/1983, SEFIS-01 de 24/05/1984, SEFIS de 30/01/1986 e SEFIS-03 de 12/02/1986, todas do Ministério da Agricultura.

TESSEROLI NETO (2006), não conseguiu determinar qual a real capacidade de um biofertilizante em contribuir com os aumentos da produtividade na cultura da alface, ou qual é o real efeito da utilização desse tipo de material em sistemas de produção, como, por exemplo, no desempenho de atividades microbiológicas das áreas de plantio.

Segundo MEDEIROS (2003), os biofertilizantes possuem compostos bioativos, resultantes da biodigestão de compostos orgânicos de origem animal e vegetal. Dessa forma torna-se possível a presença de células vivas em meio a esses materiais, como por exemplo, bactérias, leveduras e fungos filamentosos, além de metabólitos e quelatos organominerais, que possuem imensa capacidade de contribuir para melhoria das performances produtivas das culturas, além de contribuição incalculável para melhoria dos ecossistemas produtivos, como por exemplo a microbiota do solo.

Cada vez mais, a agricultura orgânica tem empregado os biofertilizantes líquidos, na forma de fermentados microbianos, que podem ser enriquecidos de diversas formas, os

biofertilizantes se tornaram uma importante ferramenta no manejo trofobiótico de pragas e doenças na agricultura (MEDEIROS, 2003).

Os biofertilizantes líquidos, além de funcionarem como fontes de nutrientes minerais de rápida absorção, também funcionam como promotores de crescimento e como elicitores na indução de resistência sistêmica na planta, atuando ainda como repelentes, e na proteção contra doenças através de processos e substâncias que causam antibioses (BETTIOL *et al.*, 1998).

2.3 Coliformes

Para a avaliação da qualidade da água do ponto de vista bacteriológico é necessária a utilização de microrganismos indicadores da contaminação, que, de forma indireta, indiquem a presença de microrganismos patogênicos e garantam com alguma segurança a qualidade da água, ou seja, que a água poderá ser consumida com risco mínimo ou sem nenhum risco para a população quando o microrganismo indicador não estiver presente. Dessa forma a presença de coliformes na água, indica a possibilidade de existência de atividades humanas com geração de impacto contaminante na água. Os coliformes totais indicam a presença de bactérias que podem ocorrer de maneira natural nos afluentes atuando como decompositores de matéria orgânica. Os coliformes fecais (termotolerantes) são encontrados em fezes de animais de sangue quente, e quando encontrado em água de rios indicam a presença de esgotos domésticos ou de águas residuárias, principalmente águas oriundas da criação de animais (MATTOS, 2003).

Coliformes totais constituem um grande grupo de bactérias que têm sido isoladas de amostras de água e de solo poluídos e não poluídos, bem como em fezes de seres humanos e de outros animais de sangue quente. Não existe uma relação quantificável entre coliformes totais e microrganismos patogênicos. O grupo de bactérias coliformes, denominado como coliformes totais, é constituído por vários gêneros de bactérias que pertencem à família das enterobacteriaceae (*Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*). Os coliformes são bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos que podem fermentar a lactose em 24-48 horas com produção de ácido e gás CO₂ e H₂ à temperatura de 35-37°C (MATTOS, 2003).

O grupo de coliformes termotolerantes é encontrado no intestino de animais de sangue quente (homem, porco, cão, vaca, gato...), onde vivem saprofiticamente, não causando em

geral, nenhum dano ao hospedeiro. Cada pessoa descarta de 100 a 400 bilhões de organismos coliformes por dia, além de outras bactérias. Tais organismos nem sempre são patogênicos, mas indicam uma satisfatória contaminação e a potencialidade de transmissão de doenças (BRANCO, 1986). São, entretanto, de grande valor para o sanitarista, uma vez que sua presença na água indica a contaminação desta por fezes ou esgotos domésticos.

Segundo SILVA *et al* (2001), os coliformes termotolerantes são constituídos por um subgrupo de bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes totais, as quais possuem a capacidade de fermentar a lactose com produção de gás com temperatura ótima de desenvolvimento em torno de 44 a 45°C, em um intervalo de 48 horas. O autor destaca que o grupo das bactérias termotolerantes é composto por três gêneros principais de bactérias, *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo que apenas o primeiro é encontrado no trato gastrintestinal de animais.

A *Escherichia coli* constitui-se um indicador específico de contaminação fecal, representando ser o melhor indicador de poluição fecal e distingue-se de outras bactérias intestinais por fermentar a lactose do meio de cultura, produzindo gás, o que não é feito pelas patogênicas como as Salmonelas e Shigelas (MOTA, 1997; CERQUEIRA, 2000).

2.4 Infecções Alimentares

A saúde humana está diretamente relacionada com a alimentação, estilo de vida, ambiente, atividade físicas, entre outros fatores. No entanto, somente uma alimentação variada é capaz de fornecer todos os princípios nutricionais necessários à manutenção da saúde, já que a espécie humana não dispõe de um alimento completo. Daí surge a necessidade de se incluir na alimentação humana uma grande variedade de nutrientes, principalmente no que diz respeito a inclusão de hortaliças na alimentação (FILGUEIRA, 2000).

As frutas e hortaliças frescas estão protegidas da invasão microbiológica pela casca ou pele e assim espera-se que sejam capazes de reter alta qualidade por mais tempo que os produtos manipulados. No entanto, os alimentos crus podem levar organismos causadores de intoxicações alimentares e infecções intestinais. Estes micro-organismos podem ser oriundos tanto de falhas nos sistemas de produção como falhas de higiene na manipulação (OLIVEIRA e PERES, 2014).

As hortaliças, em especial as consumidas cruas, principalmente as folhosas servidas na forma de saladas, devem ser seguras para o consumo do ponto de vista microbiológico. No

entanto, falhas higiênicas possibilitam a ocorrência de enfermidades intestinais, uma vez que helmintos, protozoários e outros patógenos podem estar presentes nessas verduras, que são frequentemente adubadas e/ou irrigadas com água contaminada por dejetos fecais. As doenças transmitidas por alimentos são, predominantemente, resultantes do ciclo de contaminação fecal/oral e seu controle deve receber atenção cada vez maior em nosso meio (SANTANA, 2006).

Segundo levantamento realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2004), houve aumento considerável no consumo de verduras, legumes e frutas no Brasil, particularmente nas regiões sul e sudeste, elevando o risco da ingestão de parasitas veiculadas por estes alimentos que são ingeridos crus. Os enteroparasitas constituem um sério problema de saúde pública no Brasil, apresentando maior prevalência em populações de baixo nível socioeconômico e precárias condições de saneamento básico (UCHÔA, 2001). Estes microrganismos aderem à mucosa do intestino humano e proliferam, colonizando-o. Em seguida, pode ocorrer a invasão da mucosa e a penetração nos tecidos, ou ainda, a produção de toxinas que alteram o funcionamento das células do trato gastrointestinal. Entre as bactérias invasivas, destacam-se *Salmonella* e *Escherichia coli*. A última, por ser uma enterobactéria, uma vez detectada no alimento, indica que esse alimento tem uma contaminação microbiana de origem fecal e, portanto, está em condições higiênicas insatisfatórias, indicando que o alimento pode tanto ter sofrido a contaminação durante a produção, como, por exemplo, por uso de insumos ou água de irrigação contaminados, ou falhas de higiene durante a manipulação. A *E. coli* é muito conhecida como um patógeno intestinal. Em recém-nascidos, a diarreia aguda e a desidratação trazem altos índices de mortalidade. Do mesmo modo, afeta grande parte dos idosos (FRANCO & LANDGRAF, 2002).

A grande maioria dos trabalhos que avalia a contaminação de hortaliças por enteroparasitas utiliza amostras de alface (*Lactuca sativa*), agrião (*Nasturtium officinalis*), entre outras, por apresentarem grande difusão de consumo cru, facilidade e quantidade de produção, bem como possibilidade de contaminação por água e solos poluídos. Para OLIVEIRA & PERES (2014), estes estudos mostram a necessidade da utilização correta da antissepsia dos vegetais antes do consumo, uma vez que praticamente todas as amostras de folhosas que foram utilizadas por eles em seus estudos apresentaram pelo menos a presença de um tipo de enteroparasita.

3. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – *Campus* São João Evangelista (IFMG-SJE), localizado na região leste de Minas Gerais, na bacia do Suaçuí Grande, pertencente a grande bacia do Rio Doce, na Latitude: 18° 32' 46" Sul, Longitude: 42° 45' 35" Oeste, microrregião de Guanhães. O clima nessa região é segundo (KÖPPEN, 2010) Aw - Tropical Continental com chuvas de verão e inverno seco. Para TONELLO *et al.* (2009), a região está inserida no bioma Mata Atlântica, e sua proximidade com o cerrado, o permitem classificar como Floresta Estacional Semidecidual. A temperatura média anual é de 22°C, a precipitação média anual é de 1.180 mm e a altitude média é de 680 m. O município tem sua economia fundamentada na agropecuária, produzindo milho, feijão, leite e seus derivados e gado de corte, fator que demonstra a importância de se desenvolver novas formas de produção agrícola para o município (SÃO JOÃO EVANGELISTA, 2016; IBGE, 2016).

3.1 Preparo do Biofertilizante

Inicialmente foi preparado o biofertilizante Tipo Vairo, seguindo uma metodologia específica descrita pela EMBRAPA (2007). Este tipo de biofertilizante foi escolhido entre inúmeras receitas de preparo de fertilizantes deste tipo, em virtude de ser um dos biofertilizantes mais utilizados no meio agrícola até o momento. É conhecido como Vairo, por ter sido descrito pela primeira vez por Vairo dos Santos (1992). A receita original foi inicialmente preparada dentro de um biodigestor e testado em lavouras de café e cana-de-açúcar, na década de 80, por extensionistas no Rio de Janeiro. Atualmente, alguns ajustes tornaram mais simples o seu preparo e seu uso é bem difundido, em virtude da alta facilidade de ser produzido e da baixa quantidade de ingredientes e materiais exigidos para sua produção, tendo alcançado bons resultados em culturas perenes e temporárias.

Para o preparo do biofertilizante Vairo, foi utilizado os seguintes ingredientes e materiais: 1 tambor (bombona) ou tonel plástico de 50 litros; 2,0 metros de mangueira de ½"; 1 garrafa de vidro; um balde; 20 L de esterco fresco de bovinos; 20 L de água; 1 Kg de rapadura.

Todo o material foi colocado dentro do tambor, sendo bem misturado até formar um líquido homogêneo. Em seguida, foi feito um respirador utilizando a mangueira e a garrafa. O respirador foi feito para permitir a saída de gases provenientes da fermentação e, ao mesmo

tempo, impedir a entrada de oxigênio, garantindo que somente organismos anaeróbios se desenvolvessem naquele meio, impedindo a proliferação de microrganismos com possível potencial de contaminação.

O biofertilizante permaneceu fermentando por sessenta dias na bombona e, durante este tempo, a mesma permaneceu no Setor de Horticultura do IFMG-SJE. Durante todo esse período, foi monitorado a ocorrência da emissão de bolhas através do respirador. O fim da incidência de bolhas indicou que o processo de fermentação atingiu a estabilidade.

Após constatar a estabilidade da fermentação, a saída do respirador foi lacrada com o auxílio de uma chama de fogo, utilizada para selar uma mangueira de silicone, anteriormente utilizada como respirador, cuja finalidade era evitar a entrada de organismos contaminantes na bombona. Em seguida, a bombona foi transportada para o Laboratório de Água do IFMG-SJE, onde foi feita a primeira abertura dessa bombona em uma chama de bico de Bunsen, evitando-se assim qualquer possibilidade de contaminação externa. A seguir, foi instalado uma torneira com o objetivo de facilitar as aberturas posteriores da bombona, otimizando a retirada do biofertilizante. Nessa mesma data, foi coletado uma amostra do biofertilizante e encaminhado para análise química no Laboratório de Matéria Orgânica da UFV, cujos resultados serão apresentados na Tabela 01.

Tabela 01 – Resultados da análise de composição mineral do biofertilizante.

Ca	Mg	N	P	K	Fe	Zn	Mn	Cu	B	S
%	%	(%)	%	%	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	mg/L	(mg/Kg)	
2,18	1,23	2,31	0,98	1,21	8691,1	80,06	508,7	17,3	21,15	10,18

3.2 Preparo das mudas e plantio

O segmento de alface predominante no Brasil é do tipo crespa, liderando 70% do mercado. O tipo americana detém 15%, a lisa 10%, enquanto outras (vermelha, mimosa, etc) correspondem a 5% do mercado (SALA & COSTA, 2005).

Em virtude da maior demanda de mercado ocorrer em função das variedades de alface do tipo crespa, foi feito a opção por se trabalhar com uma cultivar de alface desse tipo, sendo escolhida a cultivar Vanda, da marca Sakata, em função da alta qualidade das sementes (cerca de 99,9% de germinação) e de uma averiguação no mercado local, em que foi constatado junto a produtores a excelente aceitação dessa cultivar pelos consumidores. Além disso, foi considerado ainda o fato de esta cultivar ser recomendada para cultivos durante todo o ano,

fator importante a ser considerado, uma vez que a utilização de uma variedade recomendada para uma época específica do ano, poderia impedir que a mesma fosse plantada em outra época, caso houvesse necessidade de se repetir o experimento. Segundo a EMBRAPA (2013), em estudos realizados para avaliar as características agrônômicas de variedades de alface tipo crespa, as cultivares que apresentaram os maiores valores médios de massa fresca comercial foram Vanda e Verônica. Estas informações justificam a opção pela utilização da cultivar Vanda no experimento realizado.

A semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno de 256 células, utilizando-se um substrato composto por uma mistura de 50% de um substrato comercial da marca Plantimax, com 50% de húmus de minhoca.

As bandejas após a semeadura foram acondicionadas em casa de vegetação até o 18º dia, quando foi realizado o transplântio das mudas para os canteiros.

3.3 Preparo dos Canteiros e Transplântio.

O experimento foi conduzido em uma casa de vegetação localizada no Setor de Horticultura do IFMG-SJE, local já utilizado há muito tempo para o cultivo de alface, motivo pelo qual foi feito um vazio sanitário de cerca de 30 dias, antes de se iniciar os trabalhos de preparo dos canteiros.

Inicialmente, foi realizado uma amostragem de solo para análise na profundidade de 0 a 20 cm. Após os resultados da análise (Tabela 02), foram realizados os cálculos de adubação e correção do solo segundo as recomendações de Ribeiro et al (1999), para a cultura da alface. Não houve a necessidade de aplicação de calcário bem como de adubação de plantio para P_2O_5 , e K_2O , sendo constatada a grande fertilidade do solo daquela área, em virtude de ser uma área já há muito tempo utilizada para prática da olericultura. O preparo dos canteiros foi precedido de um processo de revolvimento do solo para exposição a insolação por um período de duas semanas, período no qual pelo menos duas vezes por semana foi feito um novo revolvimento.

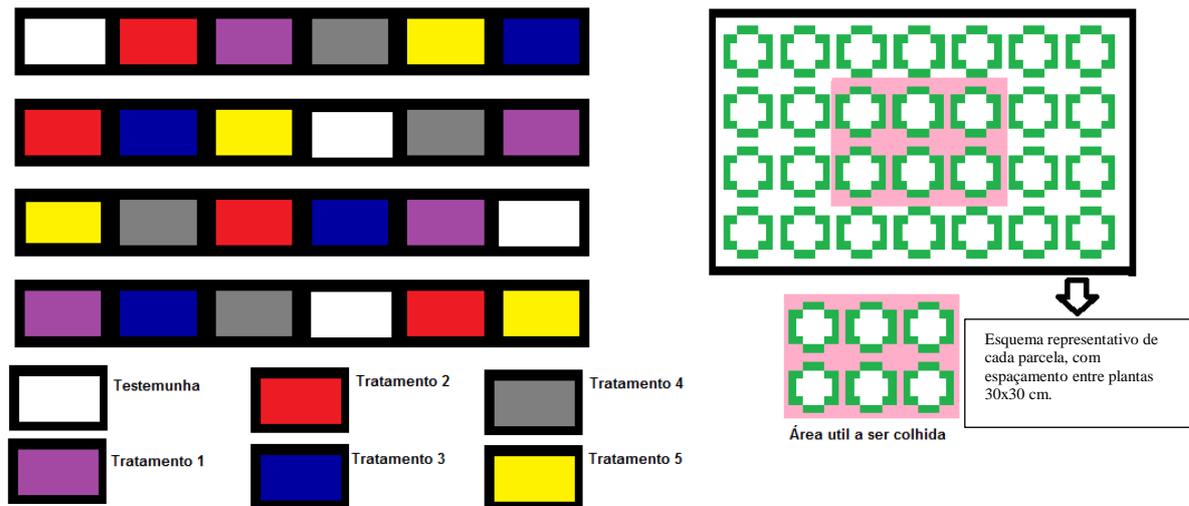
Tabela 02 – Resultados da análise de solo no local do cultivo.

P	K	Ca²⁺	Mg²⁺	Al³⁺	SB	(t)	(T)	V%	MO
mg/dm³		cmol/dm³				dag/kg			
2049,5	310	9,90	3,10	00,00	13,79		16,2	85,00	8,53

Os canteiros foram preparados seguindo as especificações do produtor das sementes para a cultivar utilizada, que determina um espaçamento mínimo de 0,3 x 0,3 m entre plantas e entre linhas. Foram construídos quatro canteiros com espaçamento entre si de 0,3 m.

Dessa forma, foram construídos canteiros com 1,2 m de largura por 0,2 m de altura, com cerca de 10,8 m de comprimento. Cada canteiro possuía, em média, 10,8 m² de área. Em seguida, cada um foi dividido em 6 parcelas iguais de 1,8 m² cada. Foram distribuídos 6 tratamentos (0,0 ou testemunha; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0% de biofertilizante na solução) em 4 blocos, totalizando 4 repetições de cada tratamento (Figura 1). O modelo de delineamento utilizado foi o delineamento em blocos ao acaso, porque mesmo sendo em casa de vegetação, foi constatado a possibilidade de heterogeneidade no que se refere a incidência luminosa. Após a construção dos canteiros e delimitação dos blocos e parcelas, foi realizado o transplântio das mudas.

Figura 01. Esquema da distribuição das parcelas do experimento.



3.4 Colheita

A colheita foi realizada aos 42 dias após o transplântio. Em cada parcela, foram colhidas quatro plantas da área amostral para as avaliações agronômicas (massa fresca, massa seca, diâmetro da cabeça e número de folhas) e duas plantas para as avaliações microbiológicas (coliformes totais e termotolerantes).

3.4.1 Massa fresca

Para avaliação da massa fresca, foi feita a colheita de forma que a possibilidade de perda de água pelas plantas fosse reduzida. Para isso, a colheita foi iniciada às seis da manhã, sendo colhido um canteiro de cada vez, de forma que de cada tratamento fosse colhido somente uma parcela por cada rodada, e assim a colheita foi dividida em quatro etapas, sendo que na primeira foi colhido as parcelas 1 de cada tratamento, na segunda as parcelas 2, e assim sucessivamente. Em seguida, foi feita a pesagem de quatro plantas colhidas na área amostral de cada parcela, utilizando para esse fim uma balança de precisão.

3.4.2 Massa seca

Para avaliação da massa seca foi feita a secagem do material em estufa de circulação forçada de ar, a 65°C, durante 120 horas, sendo que nas últimas 48 horas foram realizadas pesagens a cada seis horas de algumas amostras. Quando houve estabilização da massa seca, foi feito a pesagem final da massa seca.

3.4.3 Diâmetro da cabeça

O diâmetro da cabeça foi mensurado utilizando-se uma régua, sendo que para tal finalidade foi coletado duas medidas, em dois sentidos, e o diâmetro final da cabeça foi dado, através da média das duas medidas coletadas.

3.4.4 Número de folhas

O número de folhas foi mensurado ao se realizar a contagem da quantidade de folhas viáveis para consumo em cada planta, sendo que foram consideradas folhas de até 5 cm de comprimento.

3.5 Análises Microbiológicas

3.5.1 Análises semanais

Após a abertura da bombona e início das aplicações, semanalmente foi realizado o acompanhamento do desenvolvimento dos contaminantes microbiológicos no biofertilizante. Durante todo o processo de aplicação, a cada amostra retirada para aplicação, uma parte era coletada para análise. Também foi feito o acompanhamento microbiológico da água de

irrigação, com o objetivo de se observar o comportamento dos possíveis agentes contaminantes no decorrer do experimento. As amostras de água foram coletadas diretamente na saída dos aspersores, sendo que sempre antes da coleta o aspersor era ligado por dez minutos antes da coleta.

Para coleta das amostras de água e biofertilizante, foram utilizados potes de vidro, esterilizados em autoclave a 121 kgf, por 20 minutos. Em seguida, foram analisadas seguindo a metodologia descrita por BRASIL (2006).

3.5.2 Análises pós-colheita

Após a colheita, foram realizadas análises microbiológicas de amostras da alface, seguindo a metodologia descrita por SILVA *et al.* (2012). Para tal finalidade, foram colhidas duas plantas da área útil de cada parcela, sendo que de cada planta foi coletado uma amostra de 25 g de folhas, seguindo o padrão de duas folhas da base da planta, duas da porção intermediária e duas da porção superior.

Em virtude da constatação da ausência de contaminantes no biofertilizante, mas da presença desses agentes na água de irrigação, foram feitas as análises seguindo um padrão estabelecido para tal finalidade, não acompanhando o esquema de tratamentos adotados na avaliação das diferentes dosagens.

Para os tratamentos de desinfecção, foi estabelecido que cada canteiro seria adotado como um tratamento, e que as parcelas de cada canteiro seriam adotadas como repetições. Foram adotados quatro tratamentos, contendo seis repetições cada, sendo Tratamento 1 (testemunha sem qualquer tipo de desinfecção), Tratamento 2 (alface tratada com solução de vinagre a 12,5%), Tratamento 3 (alface tratada com solução de bicarbonato de sódio a 2%) e Tratamento 4 (alface tratada com solução de hipoclorito de sódio a 2%). A partir disso, foram realizados dois conjuntos de avaliações: um em que a alface foi colhida, tratada e analisada na hora, e outro em que a alface foi colhida, tratada, colocada em sacolas plásticas esterilizadas, lacrada e mantida em refrigerador para ser analisada após uma semana de armazenamento.

3.5.2.1 Desinfecção e análises microbiológicas da alface fresca

As análises microbiológicas da alface fresca foram realizadas com o objetivo de se determinar a carga microbiana presente na alface, bem como a eficiência de algumas substâncias indicadas para realização da sanificação da hortaliça. Primeiramente as amostras

foram coletadas, tomando-se os devidos cuidados para garantir que nenhum tipo de contaminação adicional fosse recebido pela alface. Para tal procedimento, utilizou-se sacolas de polipropileno, esterilizadas em autoclave, lacradas, que só foram abertas no campo no momento em que as folhas coletadas foram colocadas dentro delas. Em seguida, foram novamente lacradas, utilizando-se um barbante para amarrar a boca de cada sacola. O procedimento de coleta realizou-se da seguinte forma: primeiramente foi preparado uma solução de hipoclorito de sódio a 12,5 %, em seguida as mãos do coletor foram desinfetadas com esta solução. O coletor foi até a planta a ser coletada, coletou seis folhas da forma descrita anteriormente, enquanto isso o ajudante, foi responsável por abrir a sacola, permitindo que as folhas coletadas fossem colocadas diretamente dentro da sacola, sem que o coletor tivesse qualquer contato com quaisquer materiais entre a coleta e o armazenamento na sacola. Em seguida, o ajudante lacrou a sacola, amarrando-a com barbante. As mãos do coletor foram novamente desinfetadas, e repetiu-se o processo para todas as amostras coletadas, sempre desinfetando-se as mãos do coletor em solução de hipoclorito entre uma coleta e outra.

Em seguida, as amostras foram levadas ao laboratório onde foram tratadas em soluções desinfetantes, de hipoclorito de sódio, bicarbonato de sódio e vinagre, mais a testemunha, que não recebeu qualquer tipo de tratamento. O processamento ocorreu da seguinte forma: primeiramente cada amostra coletada permaneceu submersa por 15 minutos em solução desinfetante, menos a testemunha que foi processada sem passar por qualquer processo de desinfecção. Em seguida, essas amostras foram enxaguadas em água corrente tratada. O próximo passo foi pesar 25 g desta amostra em balança de precisão, acrescentando-se 225 mL de água peptonada a 1%, anteriormente preparada e esterilizada em autoclave, considerando-se esta a primeira diluição ou 10^{-1} . Em seguida, essas amostras foram levadas a um liquidificador, onde foram processadas até que se obtivesse uma mistura homogênea líquida. É importante ressaltar que entre o processamento de uma amostra e outra o copo do liquidificador era desinfetado em solução de hipoclorito de sódio, e enxaguado em água corrente tratada.

Em seguida procedeu-se as análises microbiológicas seguindo a metodologia descrita por SILVA *et al.* (2012).

3.5.2.2 Desinfecção e análises microbiológicas da alface armazenada em geladeira

Foram colhidas amostras conforme o especificado seguindo a metodologia especificada no item 3.5.2.1. Após a sanificação, as amostras foram lavadas em água corrente tratada, e acondicionadas em sacolas de polipropileno. Em seguida, foram levadas a geladeira e armazenadas por uma semana. O objetivo dessas análises foi avaliar a influência dos desinfetantes, hipoclorito de sódio, bicarbonato de sódio e vinagre, bem como a testemunha que não recebeu tratamento sanificante, no desenvolvimento microbiano durante o armazenamento. Após uma semana, as amostras foram processadas conforme descrito anteriormente, e analisadas seguindo a metodologia descrita por SILVA *et al.* (2012).

3.6 Material e métodos do segundo experimento

Em virtude da constatação de que o experimento conduzido em estufa não obteve os efeitos esperados para os dados agronômicos, e de que a quantidade de matéria orgânica presente no solo possa ter vindo a influenciar o desenvolvimento da cultura, mascarando os resultados agronômicos, realizou-se um segundo experimento nos moldes do anterior.

O segundo experimento foi conduzido em área de solo virgem, com baixa fertilidade, e baixa presença de matéria orgânica, em uma área localizada próxima ao viveiro de produção de mudas do IFMG-SJE. A fertilidade do solo foi verificada através de análise, cujo resultado é apresentado na Tabela 03.

Tabela 03 – Resultados da análise de solo no local do cultivo.

P	K	Ca²⁺	Mg²⁺	Al³⁺	SB	(t)	(T)	V%	MO
mg/dm³		cmol/dm³			dag/kg				
0,4	50	1,4	0,4	0,75	1,93	2,68	9,13	21,00	3,18

O preparo do biofertilizante, o preparo das mudas, dos canteiros, a realização do plantio e as avaliações agronômicas realizadas, seguiram as mesmas metodologias narradas para o primeiro experimento.

Em virtude da grande concentração de nutrientes do biofertilizante, foram realizadas apenas adubações de correção (calagem) recomendadas para a cultura da alface segundo Ribeiro *et al.* (1999). Cerca de 20 dias após a calagem, foi realizada a adubação fosfatada, seguindo as recomendações do mesmo manual de adubação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

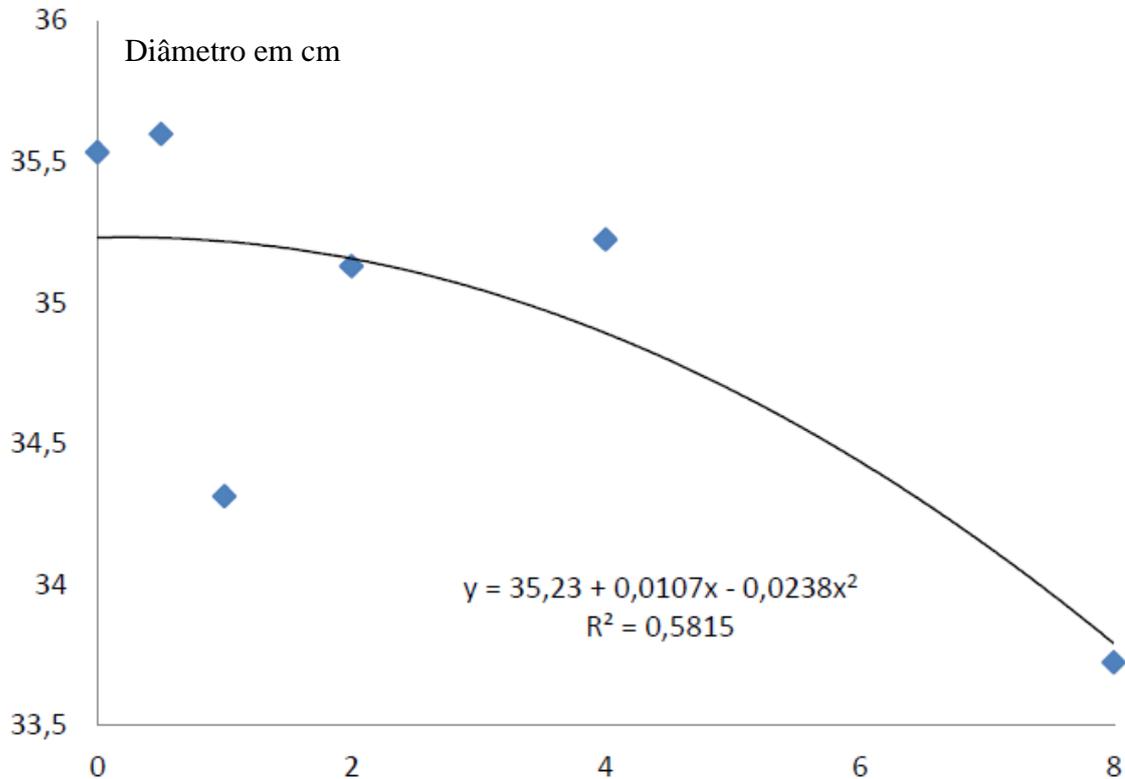
4.1 Avaliação dos Dados Agronômicos

Os dados agronômicos foram dispostos de maneira a se avaliar a dosagem com melhor resposta para os diferentes índices avaliados. Assim foram demonstrados para cada índice avaliado, os resultados obtidos tanto no primeiro quanto no segundo experimento.

Conforme já foi dito anteriormente, observou-se a necessidade de um segundo experimento em virtude da ausência de respostas satisfatórias no primeiro experimento às diferentes doses aplicadas. TESSEROLI NETO (2006) não obteve respostas satisfatórias frente as dosagens aplicadas, em relação aos diferentes parâmetros fitotécnicos por ele avaliados (diâmetro da cabeça, número de folhas, massa fresca e massa seca). O autor justificou a ausência de respostas em função da alta fertilidade do solo em que se localizou seu experimento.

A não observação de respostas permitiu concluir que a matéria orgânica possa ter atuado como fator mascarador dos efeitos do biofertilizante. Logo, para confirmar os resultados, o novo experimento foi conduzido em um solo com baixa fertilidade e baixo índice de matéria orgânica. No entanto, os resultados só vieram a confirmar o que foi dito por TESSEROLI NETO (2006), não sendo observado respostas satisfatórias para nenhuma das diferentes dosagens e os resultados não sendo claros em relação a dosagem em que se obteve os pontos de máximo e mínimo para os diferentes índices.

O primeiro índice avaliado foi o diâmetro da cabeça, sendo realizadas análises de regressão dos resultados dos dois experimentos (Figuras 2 e 3).

Figura 2 – Diâmetro da cabeça em cm, primeiro experimento.

Através da Figura 2, é possível concluir que o ponto de máximo em relação a avaliação do diâmetro da cabeça, foi obtido com a dosagem 0,22479% de biofertilizante, em que a produtividade alcançada foi de 35,2312 cm de diâmetro médio por cabeça. No entanto, os dados não são satisfatórios e se tornam confusos quando são observadas as demais dosagens e produtividades, permitindo perceber que não existe coerência com a disposição dos dados, bem como a ausência de confiabilidade fornecida pelo fator R, que nesse caso ficou em torno de 58%.

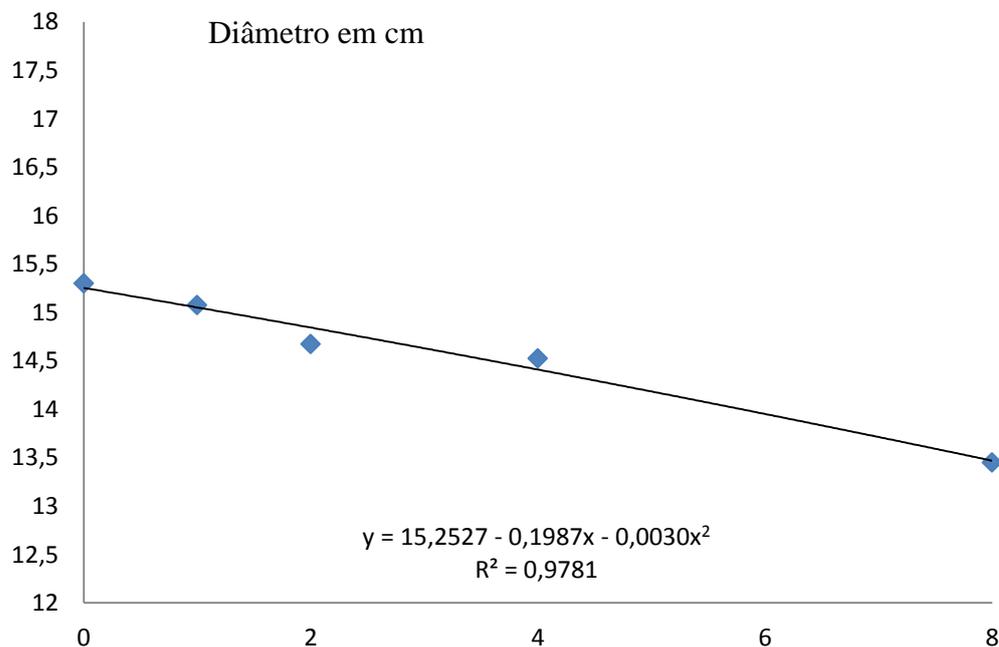
Já no segundo experimento, realizado em solo livre da presença de material orgânico, a análise de variância permite concluir que não houve respostas significativas frente as dosagens avaliadas (Tabela 04).

Tabela 04: Análise de variância dos dados de diâmetro de cabeça do segundo experimento.

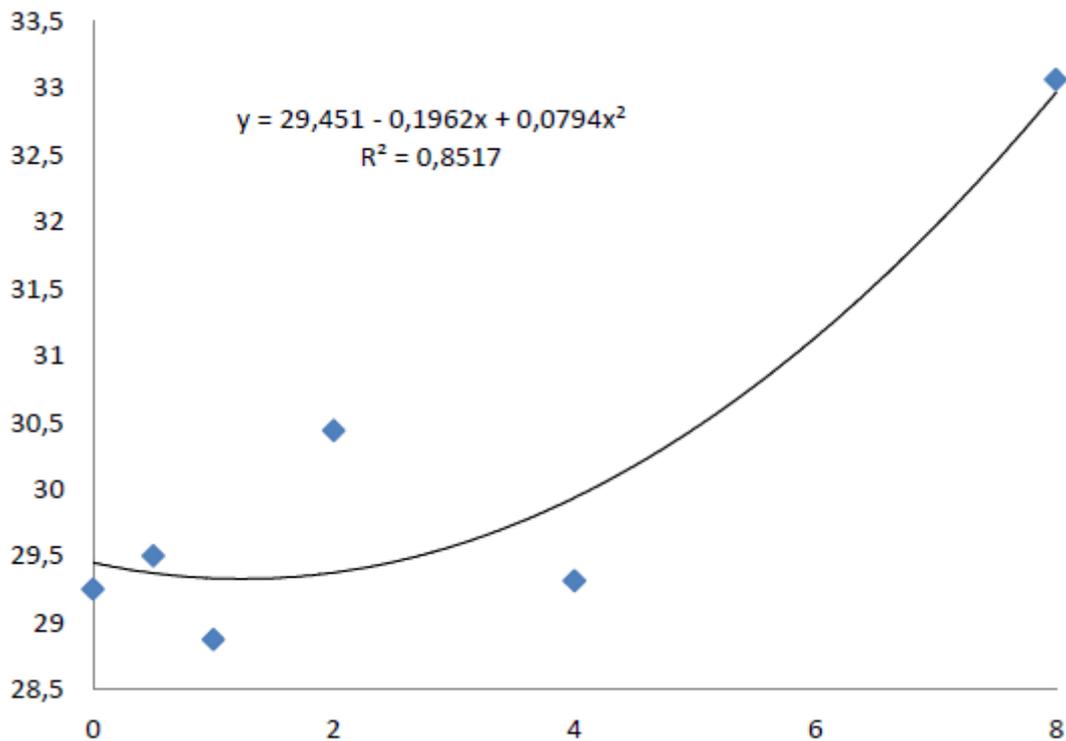
F.V.	gl	SQ	QM	F
Tratamento	4	8,197	2,04925	0,851665859
Erro	15	36,0925	2,406166667	
total	19	44,2895		
média	14,605			

A análise de regressão para o segundo experimento, apesar da alta confiabilidade e da alta adequação do modelo a disposição dos dados, em torno de 97 % de confiabilidade, apresenta-se de maneira confusa, em que a dosagem próxima a zero, obteve-se o melhor resultado para diâmetro da cabeça. A Figura 03 apresenta os valores de diâmetro da cabeça em relação as dosagens aplicadas.

Figura 03: Diâmetro da cabeça em cm, segundo experimento.



A avaliação quanto ao número de folhas, permitiu concluir através de avaliações de pontos de máximo e mínimo, que a pior produtividade em relação a esse parâmetro, foi obtida com a dosagem de 1,235516%, em que o número de folhas ficou próximo de 29,3298 folhas por planta. Com 85% de confiabilidade da adequação do modelo do gráfico aos dados. A Figura 04 demonstra o comportamento da cultura da alface em função das diferentes doses aplicadas e suas influências quanto a produção de folhas.

Figura 04 – Produção de folhas quanto a diferentes dosagens de biofertilizante.

A análise de variância permitiu concluir que não houve variação significativa no segundo experimento para este item, uma vez que apresentou um F calculado inferior ao F tabelado, enquanto F calculado foi de 0,215492684, F tabelado foi de 3,056, com média de 18,03 folhas por planta. A Tabela 05 apresenta o resultado da análise de variância para o número de folhas do segundo experimento.

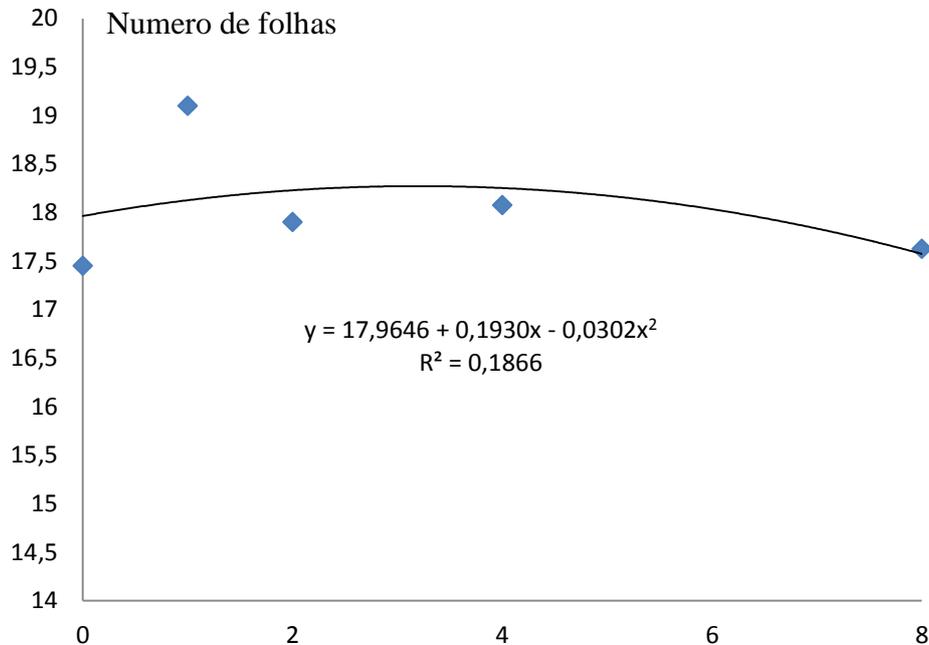
Tabela 05: Análise de Variância do numero de folhas, segundo experimento.

F.V.	gl	SQ	QM	F
Tratamento	4	6,657	1,66425	0,215492684
Erro	15	115,845	7,723	
total	19	122,502		
média	18,03			

No segundo experimento, a avaliação quanto ao número de folhas, permitiu concluir através de avaliações de pontos de máximo e mínimo, que a maior produtividade em relação a esse parâmetro, foi obtida com a dosagem de 3,1954%, em que o número de folhas ficou próximo de 18,27295 folhas por planta. Com 18% de confiabilidade da adequação do modelo do gráfico aos dados, podemos destacar que os resultados não são satisfatórios. A Figura 05

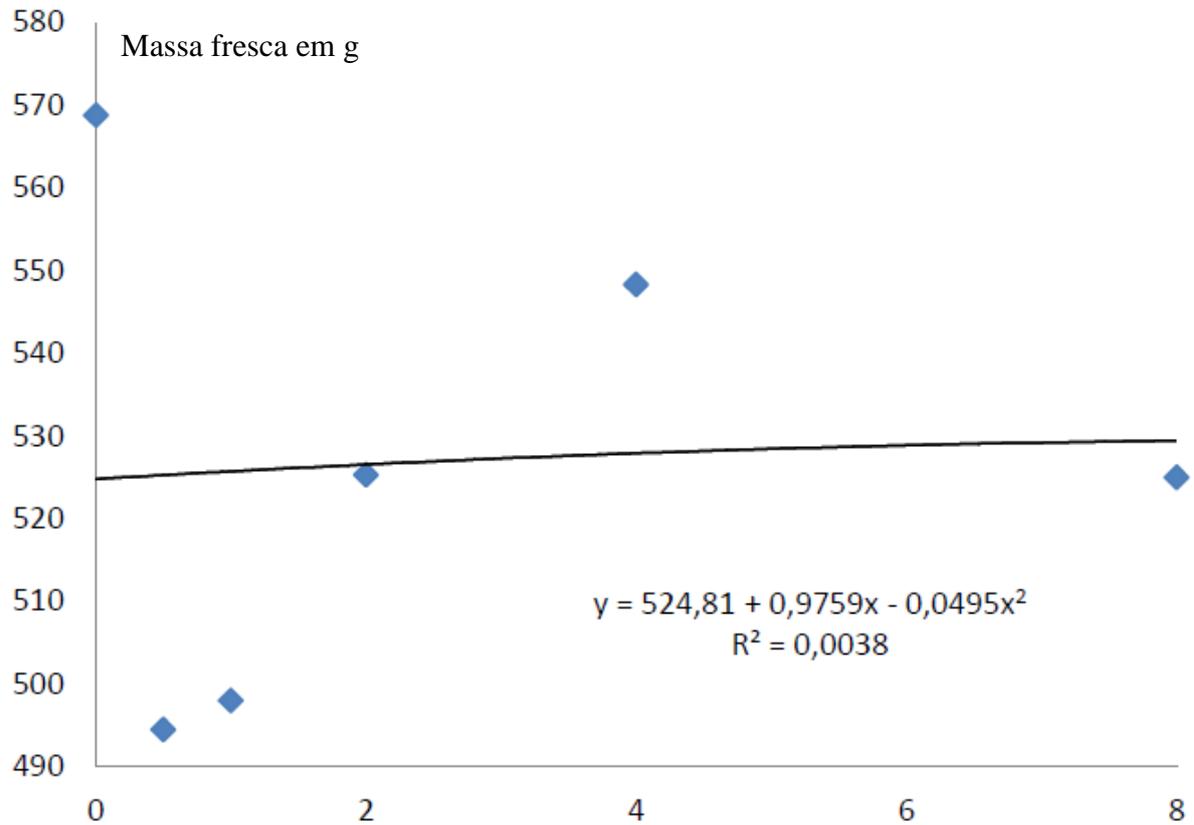
demonstra o comportamento da cultura da alface em função das diferentes doses aplicadas e suas influências quanto a produção de folhas.

Figura 05: Produção de folhas, segundo experimento.



A avaliação da massa fresca atestou que o ponto máximo de produtividade para esta variável, foi obtido com a dosagem 8%, obtendo produtividades em torno de 529,62 g/planta de massa fresca. Os resultados não permitem apresentar conclusões sobre o efeito real da interferência do biofertilizante para a variável massa fresca. Isso acontece, porque como pode ser percebida na Figura 06 a linha de tendência tende a valores superiores a dosagem de 8 % e o índice de confiabilidade R^2 apresenta valores muito baixos, inferior a 1% de confiabilidade, demonstrando que o resultado não apresenta clareza quanto a melhor dosagem para este item. A Figura 06 apresenta o ponto máximo obtido com a melhor dose de biofertilizante para a cultura da alface.

Figura 06 – Produtividade de massa fresca para a alface cultivada com diferentes dosagens de biofertilizante.



A análise de variância permitiu concluir que não houve variação significativa no segundo experimento para este item, uma vez que apresentou um F calculado inferior ao F tabelado, enquanto F calculado foi de 0,681146942, F tabelado foi de 3,056, com média de 56,835 g por planta. A tabela 06 apresenta a análise de variância para o número de folhas do segundo experimento.

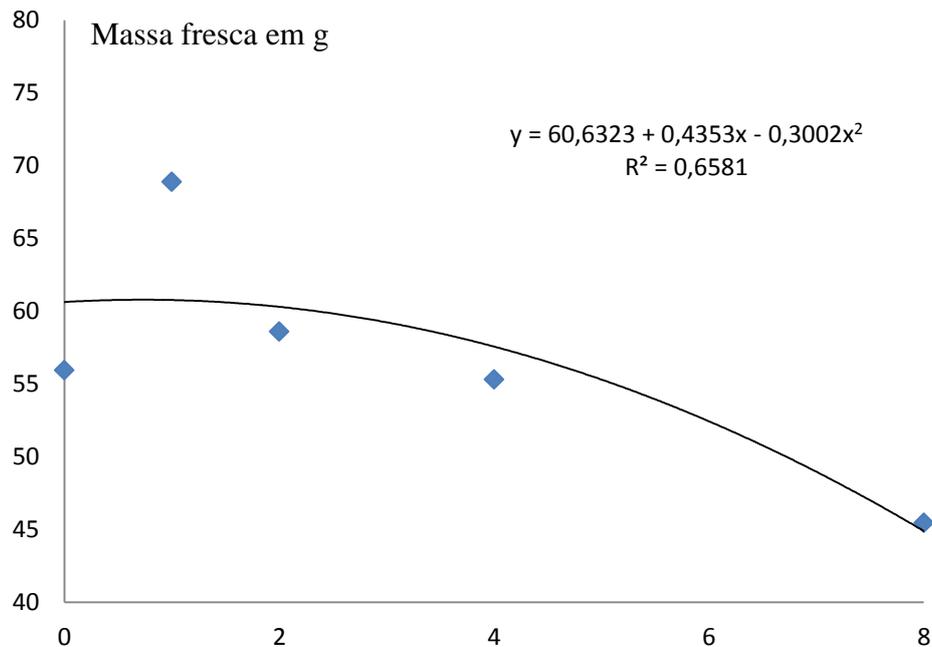
Tabela 06: Resultado da análise de variância dos dados de massa fresca do segundo experimento.

F.V.	gl	SQ	QM	F
Tratamento	4	1123,338	280,8345	0,681146942
Erro	15	6184,4475	412,2965	
total	19	7307,7855		
média	56,835			

A avaliação da massa fresca para o segundo experimento indicou que o ponto de máximo de produtividade para esta variável foi obtido com a dosagem 0,725%, obtendo produtividades em torno de 60,7901 g/planta de massa fresca. Os resultados não permitem apresentar conclusões sobre o efeito real da interferência do biofertilizante para a variável massa fresca, mesmo apresentando confiabilidade e adequação do modelo aos dados em torno

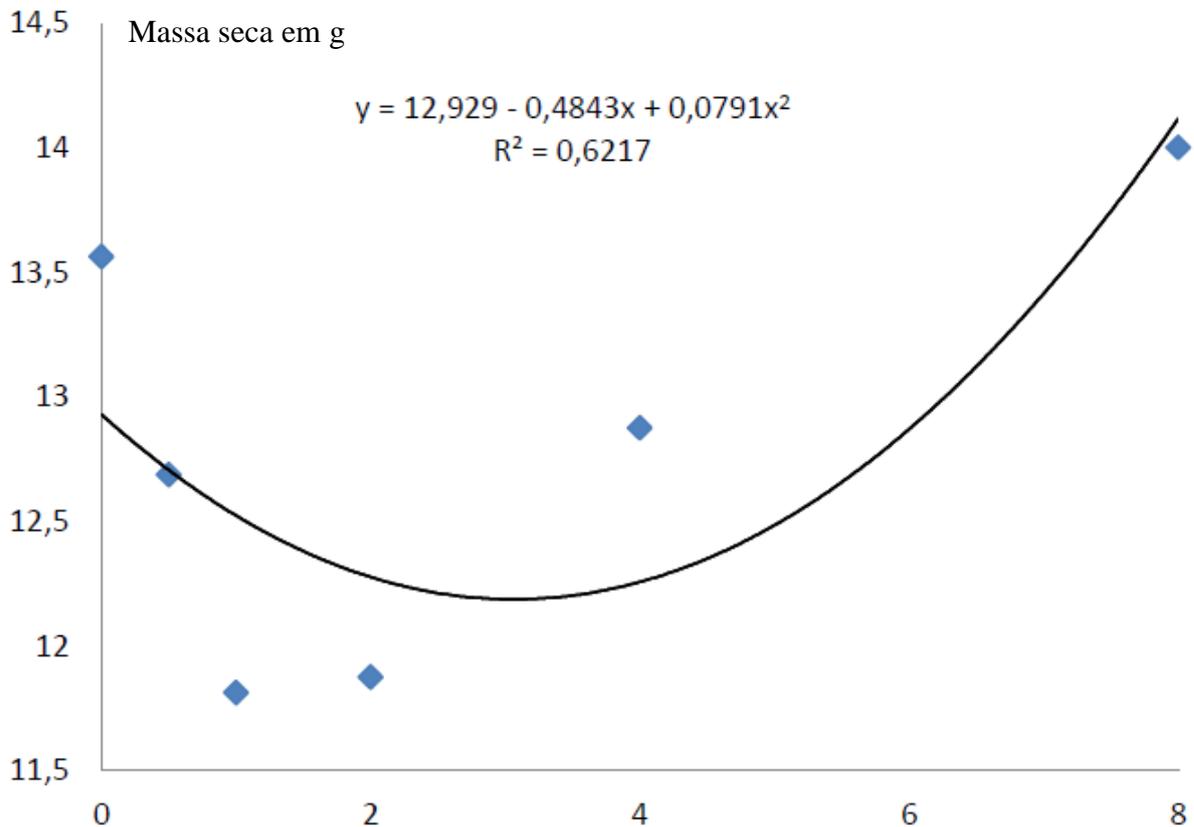
de 65%. A Figura 07 apresenta o ponto máximo obtido com a melhor dose de biofertilizante para a cultura da alface.

Figura 07 – Produtividade de massa fresca, segundo experimento.



Os resultados de massa seca permitem avaliar qual tratamento foi mais eficiente em produção de sólidos. No primeiro experimento, foi possível constatar que o ponto de mínimo para a produção de massa seca, ou seja, a pior produção de massa seca, foi obtida com a dosagem de 3,061315% de biofertilizante, sendo produzido 12,1877 g de massa seca por planta. A Figura 08 apresenta o ponto mínimo de produção de massa seca para a cultura da alface, demonstrando que houve um aumento gradativo para as demais doses de biofertilizante.

Figura 08 – Produtividade de massa seca para a alface cultivada com diferentes dosagens de biofertilizante.



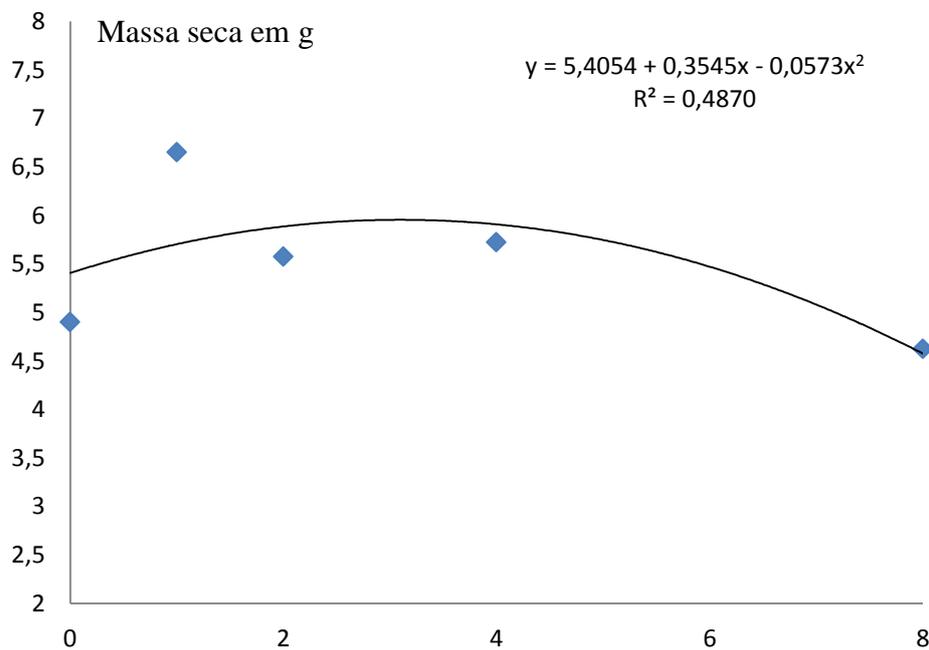
A análise de variância permitiu concluir que não houve variação significativa no segundo experimento para a variável massa seca, uma vez que apresentou um F calculado inferior ao F tabelado, enquanto F calculado foi de 1,013251062, F tabelado foi de 3,056, com média de 5,495g por planta. A Tabela 07 apresenta o resultado da análise de variância para os dados de massa seca do segundo experimento.

Tabela 07: Resultado da análise de variância da massa seca do segundo experimento.

F.V.	gl	SQ	QM	F
Tratamento	4	10,017	2,50425	1,013251062
Erro	15	37,0725	2,4715	
total	19	47,0895		
média	5,495			

No segundo experimento, foi possível constatar que o ponto máximo para a produção de massa seca foi obtido com a dosagem de 3,0934% de biofertilizante, sendo produzido 5,9537 g de massa seca por planta, em média. A Figura 09 apresenta o ponto de máximo de produção de massa seca pela cultura da alface, demonstrando que houve um decréscimo gradativo para as demais doses de biofertilizante.

Figura 09 – Produtividade de massa seca do segundo experimento.



Os dados agrônômicos aqui avaliados permitem constatar que as dosagens crescentes de biofertilizante até 8% não apresentaram resultados claros sobre sua capacidade de influenciar de maneira positiva a produtividade de alface. De forma geral, pode ser destacado que para os parâmetros número de folhas, massa fresca e massa seca, o tratamento 1, com soluções a 1% de biofertilizante, foi o ponto fora da curva no segundo experimento, demonstrando que soluções a 1% podem ter colaborado como melhorias do desempenho para as variáveis, número de folhas, massa fresca e massa seca, o que confirma a possibilidade da atuação de agentes melhoradores de desempenhos, ou fito reguladores conforme descrito por Medeiros 2003.

Corroborando com os dados de TESSEROLI NETO (2006), pode-se constatar que a presença de matéria orgânica no solo no primeiro experimento não foi o único fator a impossibilitar a observação de respostas da alface ao biofertilizante.

TESSEROLI NETO (2006), concluiu em seus estudos que o biofertilizante não influenciou de maneira positiva na produção de alface, mas que provavelmente a alta fertilidade do solo teria atuado mascarando a eficiência do biofertilizante e seus potenciais efeitos, assim como ocorrido no nosso primeiro experimento. O segundo experimento demonstra claramente que o único fator pode não ter sido simplesmente a presença da matéria

orgânica no solo atuando como mascarador dos resultados, mas sim que as dosagens até 8%, não possuem capacidade de suprir as necessidades nutricionais da cultura da alface.

Estes resultados não apresentam concordância com estudos realizados por outros autores. Este fator provavelmente pode estar ligado ao fato de que autores que obtiveram sucesso em seus trabalhos, em sua grande maioria, tenham utilizado dosagens muito maiores do que as que foram utilizadas por TESSEROLI NETO (2006) e no presente trabalho.

DIAS *et al.* (2009), ao analisarem o biofertilizante como potencial substituto para soluções nutritivas em sistemas de produção por hidroponia, concluíram que o biofertilizante não constitui uma boa alternativa para a nutrição do cultivo hidropônico da alface, sendo necessário investigar o seu uso sob um sistema solo-água-plantas, em que a solução orgânica com biofertilizante possa reagir com os colóides do solo, disponibilizando seus nutrientes paulatinamente ao seu processo de mineralização. Os autores destacam que devem ser testados biofertilizantes com composição nutricional mais elevada, que atenda as exigências nutricionais da espécie cultivada.

COSTA *et al.* (2006) destacaram que os biofertilizantes preparados de maneira natural, sem a agregação de fontes minerais ao preparo, possuem baixos índices de nutrientes em comparação com as fontes minerais disponíveis para serem utilizadas na adubação, o que inviabiliza a utilização de biofertilizantes em baixas concentrações. Os autores compararam soluções de biofertilizantes em substituição a soluções sintéticas, em sistemas de hidroponia. Segundo os autores, as soluções de biofertilizantes apresentaram resultados inferiores às soluções minerais avaliadas.

BATISTA *et al.* (2012), ao avaliarem a aplicação de diversas fontes organominerais em substituição a adubação convencional na cultura de alface, utilizaram um tipo de biofertilizante denominado Supermagro. Os autores concluíram que na aplicação do biofertilizante supermagro não se observaram resultados positivos para produção da alface, nas condições estudadas, para as variáveis massa fresca, massa seca, diâmetro da cabeça e número de folhas.

A necessidade de doses maiores para a obtenção de resultados satisfatórios torna-se evidente com os resultados apresentados por CHICONATO *et al.* (2013), em que esses autores avaliaram superdosagens aplicadas, associadas a irrigação, e concluíram que o tratamento em que se utilizou a maior dose de biofertilizante ($60 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$) superou todos os tratamentos nas

variáveis altura, número de folhas, diâmetro e massa fresca da parte aérea das plantas de alface.

ARAÚJO *et al.* (2007), ao analisarem os efeitos do biofertilizante bovino na cultura do pimentão, utilizaram concentrações em torno de 20%, com doses de 500 ml por planta, com espaçamentos de aplicação de 15 dias. Os autores observaram que o biofertilizante bovino, aplicado de forma isolada ou associado com matéria orgânica, pode ser utilizado como alternativa para fertilização não-convencional no pimentão. Os mesmos destacaram ainda um papel fundamental do biofertilizante, aplicado via foliar, em proporcionar uma melhor interação com as doses de esterco bovino, resultando em incrementos na produtividade de frutos comerciais no pimentão. Por fim, os autores concluíram que aplicação de biofertilizante via foliar atendeu às exigências nutricionais do pimentão, contribuindo de maneira significativa para melhoria da produtividade.

PEREIRA *et al.* (2010) ressaltaram em seus estudo que a adubação foliar não pode substituir totalmente o fornecimento de minerais inorgânicos e orgânicos às plantas, via solo, para a absorção pela raiz. Os autores desenvolveram estudos em que aplicaram dosagens de biofertilizante, via foliar, na cultura da alface crespa cv. Verônica, e concluíram que houve aumento nos parâmetros fitotécnicos quando aplicado na concentração de 20%, mostrando ser a concentração mais recomendada para todos os caracteres avaliados.

MEDEIROS *et al.* (2007) destacaram em seus estudos, em que avaliaram a eficiência do biofertilizante em contribuir com a melhoria da produção de mudas de alface em comparação com diversos substratos, que houve efeito significativo para o biofertilizante na matéria seca da raiz, matéria seca da parte aérea e para o número de folhas. Segundo os autores, para as características avaliadas, apenas o comprimento de raiz e altura de planta não apresentaram efeito significativo para fator biofertilizante.

RIBEIRO *et al.* (2007) avaliaram a eficiência da utilização de biofertilizante consorciado com soluções artificiais em sistemas hidropônicos, e concluíram que soluções em proporções de até 60% de biofertilizantes com 40% de soluções de sais artificiais, obtiveram excelentes índices de produção, quando comparadas àquelas em que foram utilizadas apenas soluções sintéticas.

LASSO *et al.* (2014), ao avaliar fertilizantes produzidos de maneira aeróbica e anaeróbica sobre formas de aplicação foliar ou via-solo, concluíram que a composição do biofertilizante preparado de maneira aeróbica influenciou significativamente a produção de

alface. Entretanto os autores destacaram que a concentração de 3% em aplicação foliar, proporcionou diferenças significativas no desempenho dos parâmetros fitotécnicos biomassa fresca total e biomassa fresca da parte aérea.

COLLARD *et al.* (2001), ao avaliarem os efeitos do biofertilizante Agrobio, usado em substituição às adubações em cobertura ou consorciado com doses de adubação convencionais na cultura do Maracujazeiro amarelo, destacaram que o biofertilizante promoveu satisfatório crescimento e produção do maracujazeiro com doses com 20% de concentração, com aplicações foliares semanais. Os autores destacaram ainda outro fator importante quando se avalia a capacidade do biofertilizante em atuar como defensivo agrícola, afirmando que o biofertilizante mostrou-se eficiente na prevenção de doenças fúngicas nas condições de clima e solo do município de Taubaté-SP. Os autores enfatizaram que a ação defensiva e nutricional do biofertilizante Agrobio pode manter o equilíbrio nutricional e biológico, reduzindo custos com agrotóxicos e causando menores impactos ao meio ambiente, afirmando que quando se avalia a possibilidade de se utilizar um biofertilizante, fatores além dos nutricionais devem ser considerados como fundamentais.

MAGALHÃES (2015) concluiu em seus estudos que soluções de biofertilizante de origem bovina enriquecido com urina de vaca nas concentrações entre 2,547346% e 3,166667% promovem o melhor crescimento e aumento da produção de alface. No entanto o autor conduziu seus experimentos em ambientes de solo fértil, com capacidade para suprir a nutrição das plantas. Dessa forma, a eficiência das dosagens, pode estar associada às afirmações de MEDEIROS (2003), em que o autor afirma a presença de fitormônios reguladores de crescimento tanto na urina de vaca quanto no biofertilizante, o que, em condições ideais, pode atuar estimulando um melhor desenvolvimento das plantas, nas dosagens ideais.

TEXEIRA *et al.* (2006), ao avaliar um sistema de produção com hidroponia, com soluções a base de efluente de suinocultura, concluiu que as pulverizações com biofertilizante provocaram aumentos expressivos de produtividade em todas as fontes de adubação avaliadas; confirmando o que foi dito por MEDEIROS (2003), que o biofertilizante deve ser visto não somente como uma fonte de nutriente, mas também como um agente melhorador de performances produtivas das plantas em condições nutricionais ideais, uma vez que, é notória a presença de estimulantes vegetais, produzidos pelos agentes fermentadores nestas soluções.

A ausência de resultados claros satisfatórios nos dois experimentos, não indica que o biofertilizante é ineficiente em contribuir com o desenvolvimento das plantas. No primeiro

experimento, o mesmo foi conduzido em ambiente protegido, solo altamente fértil, e notou-se um desenvolvimento acelerado e exagerado para a cultura. A presença de fitorreguladores, conforme afirmado por MEDEIROS (2003), pode ter atuado melhorando a performance das plantas nas condições satisfatórias de nutrientes. Como grande parte destes fitorreguladores são voláteis, o fato de estar em um ambiente protegido pode ter favorecido a dispersão dos mesmos no ambiente, o que tornou possível a absorção dos mesmos por todas as plantas da estufa.

No segundo experimento, as condições de baixas fertilidades do solo e o fato de ser em um ambiente aberto, as dosagens de biofertilizantes não supriram as exigências nutricionais das plantas, impedindo assim que as mesmas desenvolvessem seu potencial de produção. O fato de não haver condições nutricionais favoráveis, impede a atuação de agentes estimulantes ou fitorreguladores de crescimento, na melhoria da performance das plantas.

Mesmo não sendo possível estabelecer níveis de interferência das dosagens de biofertilizantes, ainda não é possível afirmar que o biofertilizante não contribuiu para melhoria das produtividades na produção de olerícolas. O fato de não ter sido notado o desenvolvimento de pragas e doenças, por si só, já seria uma justificativa para o uso do biofertilizante. Caso seja confirmado sua atuação como agente melhorador de performances em condições ideais, conforme sugerido por alguns autores, o biofertilizante se torna um excelente produto para ser utilizado para outras finalidades, não somente como fonte de nutrientes para as plantas.

4.2 Análises Microbiológicas

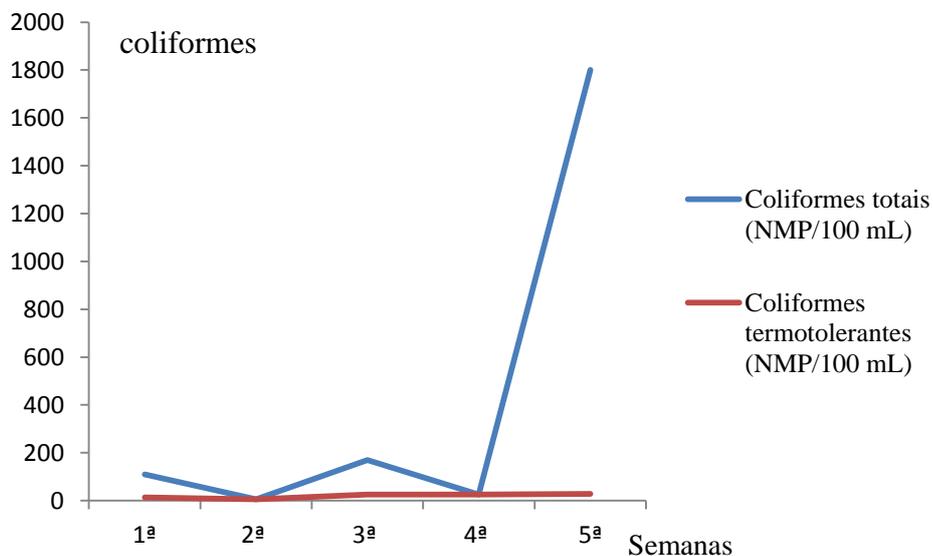
4.2.1 Análises microbiológicas da água de irrigação e do biofertilizante

Os dados coletados das análises semanais, tanto da água de irrigação quanto do biofertilizante, foram dispostos em gráficos, para que se possibilitasse a observação semanal do comportamento da população de microrganismos presentes tanto na água de irrigação, quanto no biofertilizante, bem como o comportamento dessa população no decorrer do experimento.

As Figuras 10 e 11 apresentam o comportamento dessas populações microbianas, sendo possível verificar que após 60 dias de fermentação, a população microbiológica do biofertilizante se estabilizou, sendo que a partir daí não houve crescimento de coliformes.

No entanto, na água de irrigação foi possível observar o crescimento ou a presença de coliformes durante a condução do experimento, onde foi possível observar alguns picos de crescimento microbiológicos, sendo este fato ocorrido provavelmente em função de acontecimentos ambientais nesse período, como por exemplo, chuvas, ou seca excessiva dos rios onde é realizada a captação da água para a irrigação.

Figura 10 – Crescimento microbiológico na água de irrigação durante a condução do experimento.



Segundo AMARAL (2007), a população microbiana aquática reflete as condições terrestres circundantes, mostrando os efeitos de práticas domésticas, agrícolas e industriais, conduzindo assim a uma degradação da qualidade da água decorrente do impacto das atividades humanas. Os microrganismos encontrados em ambiente aquático são determinados pelas condições físicas e químicas que ocorrem naquele ambiente, e essas condições variam de um local para o outro e em relação a fatores como temperatura, luminosidade, pH e nutrientes. Algumas espécies microbianas são nativas em áreas ecológicas específicas, enquanto outras são transitórias, provenientes de atividades humanas que geram um impacto na biodiversidade. Por exemplo, em águas que recebem esgotos domésticos com grande quantidade de nutrientes orgânicos, podem ser encontradas bactérias do grupo coliforme, como a *Escherichia coli*. Desta forma, podemos concluir que em virtude da localização do córrego onde ocorre a captação da água de irrigação, torna-se extremamente possível a presença de bactérias dos grupos coliformes na água, uma vez que é intensa a presença

humana e suas atividades nas margens do córrego São Nicolau, onde foi realizada a captação da água, ocasionando impactos.

SILVA *et al.* (2011) destaca que as bactérias do grupo dos coliformes são indicadores da presença de microrganismos patogênicos na água. Os coliformes fecais existentes em grande quantidade nas fezes humanas, quando encontrados na água, indicam que possivelmente há presença de atividades humanas ocasionando impactos na população microbiana aquática como por exemplo descartes de esgotos domésticos, podendo conter microrganismos causadores de doenças. O controle da presença destes elementos deve ser muito rigoroso, principalmente quando se trabalha com irrigação de culturas que serão consumidas *in natura*, onde não deve apresentar mais que 200 coliformes termotolerantes em 100 ml em 80% de 6 amostras coletadas durante um ano.

Na Figura 10, é possível observar variações nos comportamentos da população microbiana da água de irrigação no decorrer do experimento, sendo possível destacar a presença de um pico de crescimento dessa população na quinta semana de condução do experimento. Foi observado que no decorrer do experimento, ocorreu um intenso período de secas, ocasionando grande diminuição da vazão da bacia do córrego onde a água é capitada. No entanto, na quinta semana foi registrado a ocorrência de uma forte chuva, sendo esta a primeira chuva depois de um longo período de secas. Esse fato corrobora com os estudos realizados por SEIDEL (2012), onde ao estudar fatores que influenciam na qualidade da água, o autor constatou que a ocorrência de precipitação influenciou diretamente nos teores de coliformes fecais e totais presentes na água. Isso acontece porque durante as chuvas ocorre o carreamento de diversos materiais para o leito dos rios.

Segundo MATOS *et al.* (2013), ao analisarem a qualidade microbiológica da água de dois córregos com potencial para uso em irrigação, o crescimento de colônias no teste dos tubos múltiplos, o NMP para coliformes termotolerantes em ambas as amostras dos dois córregos foi de mais de 1600 UFC/100 mL, sendo encontrado inclusive a bactéria patogênica *Escherichia coli*. Os autores destacaram que a resolução 357 de 2005 do CONAMA estipula apenas 200 UFC/100 mL para águas utilizadas em irrigação de alimentos consumidos *in natura*, e, segundo eles, as amostras dos córregos estavam muito aquém de cumprir as exigências estipuladas. Ainda segundo os autores, o uso destas fontes de água como fonte para a irrigação dos vegetais pode trazer diversos prejuízos para a população habitante de suas margens e para as pessoas que entram em contato com tais bactérias através da ingestão dos

produtos advindos das chácaras que utilizam estes recursos hídricos. Com isso, muito deve ser feito, inclusive campanhas onde seja ressaltada a importância da criação de sistemas ou métodos viáveis para tratamentos de esgotos domésticos nas zonas rurais, evitando-se assim a possível contaminação dos fluxos d'água por bactérias do grupo dos coliformes. Outra questão a ser destacada, é a necessidade da conscientização da população sobre a importância da lavagem dos vegetais antes do consumo, não só para evitar o perigo dos agrotóxicos, como também para combater a possibilidade de contaminações microbiológicas nas hortaliças.

MATTOS (2003), ao analisar a água de um ribeirão utilizada como fonte de irrigação no cinturão verde de Botucatu-SP, observou a presença de indicadores de poluição que comprovaram a presença de agentes contaminantes na água. A autora concluiu que a utilização das águas desse ribeirão para irrigação, principalmente no caso de irrigação de hortaliças, é um grande risco à saúde da população. Por fim, a mesma autora é enfática ao afirmar que a água do ribeirão em estudo não deve ser utilizada para a irrigação de hortaliças. Por fim, ela destaca que mesmo com o manejo adequado do sistema de irrigação, é importante que antes do consumo seja feita uma desinfecção das hortaliças, principalmente as que são consumidas cruas, para evitar riscos à saúde.

LOTTO (2008), ao analisar a água de irrigação em sistemas orgânicos de produção de alface, concluiu que a água da irrigação apresentou um alto índice de contaminação por coliformes termotolerantes e *E. coli*, sendo considerada como um dos principais fatores responsáveis pela contaminação da alface, independente do sistema de cultivo. A autora destaca a importância da pré-lavagem como forma de reduzir a carga microbiana de coliformes termotolerantes e *E. coli*, bem como a realização de atividades humanas estarem diretamente ligadas a contaminação das águas por estes microrganismos, como por exemplo a criação ou a presença de animais nos campos próximos às fontes de água como sendo responsáveis pela contaminação da alface.

SILVA & BRINGEL (2007), analisando os parâmetros bacteriológicos da água de um rio, destacaram que as águas estavam impróprias para agricultura devido ao elevado número de *E. coli*. Os autores destacam ainda que este fato é consequência da falta de informações das comunidades sobre conservação, manejo adequado e qualidade dos recursos hídricos. Acredita-se que uma política de educação ambiental serviria para reduzir ou minimizar esta realidade. Mas a educação é apenas paliativo, sendo necessário apontar soluções para que se

resolva os problemas da qualidade das águas como, por exemplo, tratamento dos esgotos domésticos.

Da mesma forma, foram feitas análises semanais do biofertilizante com o intuito de acompanhar o comportamento desses microrganismos no decorrer do experimento. A Figura 11 demonstra que durante a condução do experimento, após a estabilização da fermentação, a população de coliformes permaneceu constante, em quantidade insuficiente para causar contaminação das hortaliças.

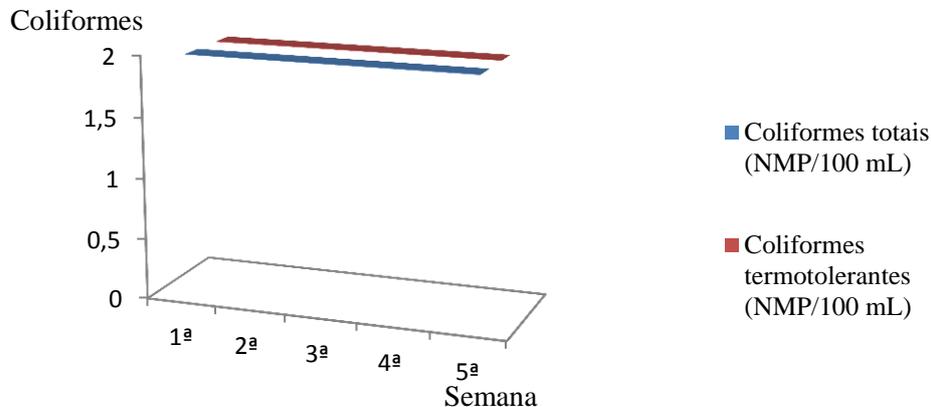


Figura 11 – Crescimento microbiológico no biofertilizante durante a condução do experimento.

Conforme demonstrado na Figura 11, é possível concluir que a partir da fermentação, ocorreu a estabilização da população de coliformes no biofertilizante, sendo que esta população permaneceu constante durante todo o processo de aplicação realizado no experimento.

Segundo afirmações de TESSEROLI NETO (2006), os biofertilizantes apresentam composição química diferenciada devido ao modo de preparo, e quando preparados seguindo formulações e modo de preparos adequados, apresentam-se isentos de contaminantes fecais, o que os tornam aptos a serem utilizados sem quaisquer problemas ou riscos de contaminação na produção de alface ou de qualquer outro tipo de hortaliças.

VARALLO *et al* (2011) constataram em seus estudos que alface irrigada com água de reúso não apresentou crescimento de coliformes a 45°C, destacando a falta de higiene durante o processo de manipulação e transporte como potenciais causadores de contaminação das

amostras comercializadas por coliformes totais. Os autores destacaram ainda que a determinação de coliformes a 45°C pode ser um importante indicador de condições higiênic-sanitárias deficientes e, pode determinar outras associações parasitárias prejudiciais ao homem.

Desta forma, toda a carga microbiana encontrada na alface após a colheita pode ser considerada decorrente da água de irrigação, que teve sua população bacteriana sofrendo alterações durante o experimento, conforme o demonstrado na Figura 10.

4.2.2 Análises microbiológicas de alface sanificada

As análises microbiológicas foram importantes ferramentas para a avaliação da capacidade da água de irrigação em causar a contaminação. Posteriormente, essas mesmas análises foram eficientes para demonstração da eficiência de diferentes sanificantes em tratar alface contaminada. Segundo NASCIMENTO *et al* (2005), a alface pode ser facilmente contaminada, pois está em contato com vários pontos críticos de contaminação, como a água, por exemplo. Sua contaminação pode ocorrer antes e após a colheita, através do contato com o solo, irrigação com água contaminada, transporte e mão dos manipuladores. Dessa forma, é de extrema importância a utilização de sanificantes para a redução da carga microbiana que pode vir a estar presente na alface.

MOGHARBEL & MASSON (2005), bem como MOREIRA *et al.* (2013), destacaram que em função da elevada frequência de contaminação fecal e o potencial risco de doenças veiculadas pelas hortaliças consumidas cruas, torna-se de extrema importância o fortalecimento do sistema de vigilância sanitária no âmbito comercial, além de ações básicas de higiene pessoal aos produtores e manipuladores desses alimentos que seguem a cadeia de miniprocessamento e também para toda a população, incluindo orientações sobre a importância de uma boa lavagem e desinfecção das folhas de alface antes do consumo através do emprego de soluções e substâncias desinfetantes de maneira correta. A Tabela 08 apresenta os dados comparativos dos diferentes sanificantes e a eficiência dos mesmos para tratamento de coliformes totais da alface.

Tabela 08 – Contagem de coliformes totais (Log UFC g⁻¹) em alfaces tratadas com diferentes sanificantes, analisadas frescas e após sete dias de armazenamento.

Tratamentos	Alface Fresca	Alface Refrigerada
-------------	---------------	--------------------

Testemunha	2,8250313387 A	2,7529588763 A
Vinagre	1,4781915325 B	2,0504719358 A
Bicarbonato de sódio	1,273527832 B	2,6532526225 A
Hipoclorito de sódio	0,9786715952 B	1,9574192455 A

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si, segundo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A análise da alface colhida fresca permite concluir que todos os sanificantes possuíram eficiência semelhante no processo de controle de coliformes totais. No entanto, é possível perceber que mesmo não diferindo estatisticamente, o hipoclorito de sódio provocou uma redução de 0,5 ciclo logaritmo a mais de unidades formadoras de colônias, quando comparado ao vinagre, e de 0,3 ciclo logaritmo quando comparado com bicarbonato de sódio, o que demonstra maior eficiência do cloro em relação aos demais sanificantes testados.

Em relação a alface refrigerada durante sete dias, é possível constatar que não houve diferença significativa entre quaisquer tratamentos. Isso se justifica pelo fato de que mesmo o cloro tendo grande eficiência em reduzir a carga microbiana presente na alface, essa carga microbiana não é totalmente reduzida a zero, sendo apenas reduzida a um número de células muito baixo. No entanto, no decorrer do armazenamento, mesmo esta alface estando acondicionada em baixas temperaturas, as condições foram suficientes para que este pequeno número de células bacterianas, se desenvolvessem até atingirem patamares semelhantes aos da alface não sanificada. Dessa forma, podemos concluir que, mesmo a alface estando sanificada, o seu armazenamento por determinados períodos de tempo possibilita o desenvolvimento de bactérias, podendo tornar a alface imprópria para o consumo, inviabilizando o seu armazenamento e posteriormente seu consumo. Nesse caso, o armazenamento seria viável em situações em que no momento do consumo um novo tratamento sanificante fosse realizado para redução dos níveis bacteriológicos a níveis que não comprometam o consumo.

Tabela 09 – Contagem de coliformes termotolerantes (Log UFC/g⁻¹) em alfaces tratadas com diferentes sanificantes, analisadas frescas e após sete dias de armazenamento.

Tratamentos	Alface Fresca	Alface Refrigerada
Testemunha	0,7837218758 A	1,2925479885 A
Vinagre	0,477121254 B	0,6657371937 AB
Bicarbonato de sódio	0,477121254 B	0,477121254 B
Hipoclorito de sódio	0,477121254 B	0,477121254 B

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si, segundo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O tratamento da alface para coliformes termotolerantes se mostrou efetivo em todos os sanificantes avaliados. É possível constatar que, no tratamento da alface fresca, todos os sanificantes obtiveram êxito em reduzir as cargas microbianas a valores extremamente baixos, de maneira que estas cargas não inviabilizassem a alface para consumo. No entanto, para o tratamento da alface a ser refrigerada, é possível observar que o vinagre não diferiu estatisticamente da alface sem sanificante, mas que a mesma também não diferiu estatisticamente do tratamento com vinagre e cloro. Dessa forma, o vinagre promoveu uma redução de 0,62 ciclo logaritmo de células bacterianas em relação a alface sem sanificante, mas que tanto o bicarbonato de sódio quanto o cloro, conseguiram promover uma redução de 0,18861 ciclo logaritmo em relação ao vinagre. Mesmo não havendo diferenças estatísticas entre os sanificantes, para a alface fresca, a maior incidência de carga microbiana para a alface refrigerada tratada com vinagre, nos permite concluir que o vinagre não foi capaz de reduzir esta carga a números menores, deixando ainda um número de células bacterianas suficiente para que durante o armazenamento voltassem a se multiplicarem atingindo maiores índices que os demais sanificantes.

SILVA *et al.* (2015), ao avaliar a eficiência da utilização da água sanitária como produto sanitizante de diversos tipos de hortaliças utilizadas no preparo de saladas, concluiu que a sanitização de hortaliças com solução de cloro a 200 ppm por 15 minutos apresenta eficiência satisfatória para a redução de agentes biológicos do tipo coliformes; destacando assim que o consumo de hortaliças lavadas e sanitizadas com cloro é considerado seguro quanto aos aspectos higiênico-sanitário.

Semelhante às conclusões de FONTANA (2006), nas condições deste experimento, pode-se concluir que as amostras de alface analisadas sem tratamento (não higienizadas) encontravam-se com alta carga microbiana, acima do que é permitido pela legislação para NMP/g. No entanto, as amostras que tiveram tratamento (higienizadas) para coliformes termotolerantes encontravam-se dentro da legislação.

Vale ressaltar que todos os sanificantes foram eficientes em reduzir as cargas microbianas presentes na alface fresca para padrões aceitáveis. No entanto, é possível constatar que na alface armazenada, aquela sanitizada com vinagre favoreceu o desenvolvimento de coliformes termotolerantes durante o período de refrigeração.

De acordo com ADAMI & DUTRA (2011), o vinagre não deve ser utilizado como sanitizante nas condições de concentração e tempo de 125 mL/1 litro por 15 minutos, pois não

reduz de forma significativa o número de microrganismos. Nas condições deste experimento, pode-se concluir que as amostras de alface analisadas sem tratamento (não higienizadas) encontravam-se acima do que é permitido pela legislação para coliformes NMP/g.

Segundo a EMBRAPA (2006), a sanitização por cloro é geralmente efetiva contra os diversos agentes infectantes, relativamente barata quando comparada a outros sanificantes, fato verificado no presente trabalho quando se atesta a eficiência do cloro em inibir o desenvolvimento dos diferentes grupos de coliformes.

BERBARI *et al.* (2001), ao avaliarem a eficiência do cloro em manter a qualidade microbiológica de alface minimamente processada, concluíram que em matéria-prima com alta carga de microrganismos, o cloro foi eficiente em reduzir a carga microbiana inicial, e manter a qualidade microbiológica do produto por até seis dias sob refrigeração, sem alterar as características de sabor, textura e aroma. No entanto, os autores são claros em afirmar que em situações de temperaturas positivas, ao terceiro dia de armazenamento, a alface já se apresentava em situação de alta deterioração e com características de cor, aroma e sabor alterados, além de alta carga microbiana, afirmando desta forma que, em situações reais, a refrigeração é de extrema importância para manutenção da população microbiana em níveis satisfatórios.

SANTOS *et al.* (2012), concluíram que a utilização de solução de água sanitária com 200 ppm de cloro ativo reduziu a carga microbiana inicial de bactérias heterotróficas mesófilas, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* presente em folhas de alfaces após 15 minutos de imersão. No entanto, diferentemente dos dados encontrados no presente trabalho, os autores concluíram que este mesmo tratamento não foi eficaz para coliformes totais.

Segundo MOREIRA *et al.* (2013), ao estudar as cargas microbianas presentes em alfaces comercializadas em feiras livres, essas hortaliças não são de boa qualidade, destacando a presença de diversos tipos de bactérias com potencial para causar contaminação. Segundo os autores, como a alface é uma hortaliça naturalmente consumida crua em saladas ou *fast-foods*, recomenda-se a desinfecção com o cloro ou com o vinagre e posterior enxágue em água limpa. Os autores concluíram que, esses dois agentes desinfetantes, se mostraram capazes de beneficiar a manutenção de uma boa qualidade das mesmas, não alterando sua acidez.

Segundo MAGALHÃES (2015), ao realizar um estudo em que comparou a eficiência de biofertilizante enriquecido com urina de vaca, o autor constatou que somente a lavação de alface em água pura, sanificação com solução de bicarbonato de sódio a 2% e sanificação com solução de vinagre a 12,5%, reduzem a carga microbiana da alface, mas essa redução ocorre de maneira insignificante, o que não torna a hortaliça contaminada apta para consumo. O autor concluiu que a sanificação da alface em que se realiza a lavação em água pura, seguida da sanificação em hipoclorito de sódio a 2% por 15 minutos, reduz de maneira eficiente a carga microbiana presente na alface, o que a torna apta para o consumo.

4. CONCLUSÕES

Frente aos dados e os resultados encontrados, pode-se concluir que:

- O biofertilizante não foi eficiente em favorecer o desenvolvimento da cultura.
- A água da irrigação apresentou teores de coliformes que permitiram o desenvolvimento desses microrganismos em meios de cultura, logo conclui-se que a água utilizada na irrigação apresenta-se contaminada.
- A fermentação até o ponto de estabilização eliminou os coliformes presentes no biofertilizante, neutralizando a capacidade do biofertilizante de contaminar a alface.
- Dentre os sanificantes avaliados, o mais eficiente foi a solução de hipoclorito de sódio a 2%.
- Todos os sanificantes foram eficientes na desinfecção de alface com coliformes totais para consumo imediato.
- Todos os sanificantes permitiram o desenvolvimento de coliformes totais durante o armazenamento sob refrigeração por sete dias.
- Todos os sanificantes reduziram de forma eficiente os microrganismos termotolerantes.
- Somente o vinagre permitiu o desenvolvimento de microrganismos termotolerantes durante o armazenamento.

REFERÊNCIAS

- ADAMI, A. A. V.; DUTRA, M. B. L.; Análise da Eficácia do Vinagre como Sanitizante na Alface (*Lactuca sativa*, L.). **REAS, Revista Eletrônica Acervo Saúde**, Vol. 3, 134-144. 2011.
- ARAÚJO, E. N.; OLIVEIRA, A. P.; CAVALCANTE, L. F.; PEREIRA, W. E.; BRITO, N. M.; NEVES, C. M. L.; SILVA, É. É.; Produção do pimentão adubado com esterco bovino e biofertilizante. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.11, n.5, p.466–470, 2007.
- BATISTA, M. A. V.; VIEIRA, L. A.; SOUZA, J.P.; FREITAS, J. D. B.; BEZERRA NETO, F.; Efeito de diferentes fontes de adubação sobre a produção de alface no município de Iguatu-CE, **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 3, p. 8-11, 2012.
- BERBARI, S. A. G.; PASCHOALINO, J. E.; SILVEIRA, N. F. A.; EFEITO DO CLORO NA ÁGUA DE LAVAGEM PARA DESINFECÇÃO DE ALFACE MINIMAMENTE PROCESSADA, **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 21(2): 197-201, maio-ago. 2001.
- BETTIOL, W.; TRATCH, R.; GALVÃO, J.A.H. Controle de doenças de plantas com biofertilizantes. (EMBRAPA-CNPMA: **Circular Técnica, 02**). Jaguariuna: EMBRAPA-CNPMA. 22p 1998.
- Brasil. Fundação Nacional de Saúde. **Manual prático de análise de água**. 2ª ed. rev. Brasília, Fundação Nacional de Saúde, 2006.
- BRASIL. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades**. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=316280>, acesso em: 03 de janeiro de 2016.
- BRANCO, S.M.; **Hidrobiologia Aplicada à Engenharia Sanitária** 3 ed. São Paulo, CETESB/ASSCETESB. 620p. 1986.
- CERQUEIRA, D.A. Coliformes Fecais não Existem. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária. **Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária**, Rio de Janeiro RJ: ABES, p. 1239-1244, 2000.
- CHICONATO, D. A.; SIMONI, F.; GALBIATTI, J. A.; FRANCO, C. F.; CAMELO, A. D.; Resposta da alface à aplicação de biofertilizante sob dois níveis de irrigação, **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 2, p. 392-399, 2013.
- COLLARD, F. H.; ALMEIDA, A.; COSTA, M. C. R.; ROCHA, M. C.; EFEITO DO USO DE BIOFERTILIZANTE AGROBIO NA CULTURA DO MARACUJAZEIRO AMARELO (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg). **Rev. biociênc.**, Taubaté, v.7, n.1, p.15-21, 2001.
- CONAMA. Conselho Nacional de Meio Ambiente, Ministério do Meio Ambiente (MMA). **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água

e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. 2005.

COSTA, C.P.; SALA, F.C. A evolução da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v.23, (artigo de capa), 2005.

COSTA, N. E.; RIBEIRO, M. C. C.; LIMA, J. S. S.; CARDOSO, A. A.; OLIVEIRA, G. L.; Utilização de biofertilizante na alface para o sistema hidropônico floating. **Revista Verde**, (Mossoró – RN – Brasil), v.1, n.2, p. 41-47, 2006.

DIAS, N. S.; BRITO, A. A. F.; SOUSA NETO, O. N.; LIRA, R. B.; BRITO, R. F.; Produção de alface hidropônica utilizando biofertilizante como solução nutritiva, **Revista Caatinga**, Mossoró, v.22, n.4, p.158-162. 2009.

EMBRAPA, Processamento mínimo de alface crespa, **Comunicado Técnico 36**, Brasília, DF, Dezembro, 2006.

EMBRAPA; Desempenho produtivo de cultivares de alface crespa. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Hortaliças** ; 89 15 p. Brasília, DF: Embrapa, 2013.

FONTANA, N.; **ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DESINFETANTES UTILIZADOS NA SANITIZAÇÃO DE ALFACE**. Dissertação de mestrado, Santa Maria, RS 2006.

HENZ, G. P.; SUINAGA, F. Tipos de Alface Cultivados no Brasil. Embrapa Hortaliças. Brasília, DF. **Comunicado Técnico 75**. Novembro, 2009.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M.; **Microbiologia de alimentos**. São Paulo, Editora Atheneu, 182 p. 2002.

LASSO, L. A.; RODRIGUES, R. S.; BUSTAMANTE, M. R.; Análise comparativa de diversas concentrações e tipos de aplicação de Biofertilizante em cultivo coberto de alface (*Lactuca sativa*), **AGROECOL 2014, Cadernos de Agroecologia**, Dourados-MS, Vol 9, No. 4, 2014.

LOTTO, M. C.; **Avaliação da contaminação de alface (*Lactuca sativa*) Por coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em sistemas de cultivo Orgânico e convencional**. Dissertação de Mestrado. UFSCar. São Carlos, 76 p. 2008.

MAGALHÃES, W. G.; **Crescimento e higienização de alface cultivada com biofertilizante**. Tese inédita. São João Evangelista-MG, 2015.

MATOS, M. A. J.; CARDOSO, N. L. C.; SILVA, A. M. S. ; SILVA, D.C.; ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ÁGUAS DE CÓRREGOS UTILIZADAS NA IRRIGAÇÃO DE HORTALIÇAS. **Anais do Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão-CONPEEX**, UFG, Goiânia (GO) 2013.

MATTOS, K. M. C. ; **VIABILIDADE DA IRRIGAÇÃO COM ÁGUA CONTAMINADA POR ESGOTO DOMÉSTICO NA PRODUÇÃO HORTÍCOLA**, Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para obtenção do

título de Doutor em Agronomia – Área de Concentração em Irrigação e Drenagem. BOTUCATU – SP, Agosto – 2003.

MEDEIROS D.C.; LIMA B.A.B; BARBOSA M.R.; ANJOS R.S.B.; BORGES R.D.; CAVALCANTE NETO, J.G.; MARQUES L.F. Produção de mudas de alface com biofertilizantes e substratos. **Rev. Horticultura Brasileira**. Vol. 25: p.433-436, 2007.

MEDEIROS, D. C.; LIMA, B. A. B.; BARBOSA, M. R.; ANJOS, R. S. B.; BORGES, R. D.; CAVALCANTE NETO, J. G.; MARQUES, L. F.; Produção de mudas de alface com biofertilizantes e substratos. **Horticultura Brasileira** , v. 25, p.433-436, 2007.

MEDEIROS, M. B.; WANDERLEY, P. A.; WANDERLEY, M. J. A.; Biofertilizantes Líquidos: Processos trofobióticos para proteção de plantas em sistemas orgânicos. **Revi. Biotecnologia, Ciência e desenvolvimento**. Brasília, DF, n.31. p.38-44, 2003.

MOGHARBEL; A. D. I.; MASSON; M. L.; PERIGOS ASSOCIADOS AO CONSUMO DA ALFACE, (*Lactuca sativa*), IN NATURA. **Alim. Nutr.**, Araraquara. v. 16, n. 1, p. 83-88, jan./mar. 2005.

MOREIRA, I. S.; SOUZA, F. C.; SANTOS, F. M.; FEITOSA, M. K. S. B.; MARQUES, L. F.; Eficiência de soluções antimicrobiana na desinfecção de alface tipo crespa comercializada em feira livre. **Revista Verde (Mossoró – RN - Brasil)**, v. 8, n. 2, p. 171 - 177 , abr – jun , 2013.

MOTA, S.; Avaliação do desempenho de culturas irrigadas com esgoto tratado. **XIX Congresso brasileiro de Engenharia Sanitária Ambiental**, 1998.

NASCIMENTO, A. R.; Incidência de *Escherichia coli* e *salmonella* em alface (*Lactuca sativa*). **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.128, p.121-124, 2005.

RESENDE, F. V.; SAMINÊZ, T. C. O.; VIDAL, M. C.; SOUZA, R. B. de; CLEMENTE, F. M.V. 2007. Cultivo de Alface em Sistema Orgânico de Produção. **Circula Técnica**, **56**. Embrapa Hortaliças. Brasília, DF. Novembro.

OLIVEIRA, A. A. B.; PEREZ, L. F.; CONTAMINAÇÃO DE ENTEROPARASITAS EM FOLHAS DE ALFACE (*Lactuca sativa*) E AGRIÃO (*Nasturtium officinalis*) EM DUAS HORTAS COMERCIAIS DE FOZ DO IGUAÇU, ESTADO DO PARANÁ, BRASIL. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v. 18, n. 18, p. 109 – 124. 2014.

PEREIRA, M. A. B. ; SILVA, J. C. ; MATA, J. F.; SILVA, J. C.; FREITAS, G. A.; SANTOS, L. B.; NASCIMENTO, I. R.; Uso de biofertilizante foliar em adubação de cobertura da alface cv. Verônica. **Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia**. v.3, n.2, 2010.

RIBEIRO, A.C.; GUIMARAES, P.T.G.; ALVAREZ V., V.H. (Ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 359p. 1999.

RIBEIRO, K. S.; FERREIRA, E.; COSTA, M. S. S. M.; GAZOLLA, D.; SZIMANSKI; Uso de biofertilizante no cultivo de alface hidropônica, **Rev. Bras. de Agroecologia**, Vol.2 No.2, 2007.

SALA, F.C.; COSTA, C.P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v.30, p.187-194, 2012.

SANTOS, H.S.; MURATORI, M. C. S.; MARQUES, A. L. A.; ALVES, V. C.; CARDOSO FILHO, F. C.; COSTA, A. P. R.; Avaliação da eficácia da água sanitária na sanitização de alfaces (*Lactuca sativa*). **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, 2012; 71(1):56-60.

SÃO JOÃO EVANGELISTA. 2015. Disponível em: <http://sje.mg.gov.br/>. Acessado em 03 de janeiro de 2016.

SANTANA, L. R. 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. **Ciência Tecnologia Alimentação**, Campinas, 26, p. 264-269, abr.-jun. 2006.

SEIDEL, C.; **Influencia Ambiental na qualidade da água do arroio Doze Passos**, Ouro, SC. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, RS, 90 p. 2012.

SILVA, A.F.; PINTO, J. M.; FRANÇA, C. R. R. S.; FERNANDES, S. C.; GOMES, T.C. A.; SILVA, M.S. L. da; MATOS, A. N. B.; **Preparo e Uso de Biofertilizantes Líquidos. Comunicado Técnico, 130**. Embrapa Semi-Árido. Petrolina, PE. 2007.

SILVA, G.C.; BRINGEL, J.M.M.; INCIDÊNCIA DE COLIFORMES TOTAIS E ESCHERICHIA COLI NAS ÁGUAS UTILIZADAS PARA IRRIGAÇÃO PELA COMUNIDADE DO MUNICÍPIO DE PAÇO DO LUMIAR- MA, **Rev. Bras. Agroecologia**, v.2, n.1, fev. 2007.

SILVA, W. L.; MEDEIROS, R. A. B.; PIRES, E. F.; EFICIÊNCIA DO CLORO PARA SANITIZAÇÃO DE HORTALIÇAS, **5ª Simpósio de Segurança Alimentar- alimentação e Saúde**. Bento Gonsalves, RS, 2015.

SILVA, Í. N.; FONTES, L. O.; TAVELLA, L. B.; OLIVEIRA, J. B.; OLIVEIRA, A. C.; **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.07, n 03, p. 01 – 15. julho/setembro, 2011.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R.; **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4ª edição, Livraria Varela, São Paulo, SP, 632p. 2012.

TEIXEIRA, N. T.; VITAL, W. M.; MACEDO, F. B.; ALMEIDA, F.; ANDRADE, R. C.; Alface cultivada em hidroponia com efluente de granja de suinocultura e biofertilizante. **Rev. Ecosistema**, v.29, n.1, 2004.

TESSEROLI NETO, E. A. **Biofertilizantes: Caracterização química, qualidade sanitária e eficiência em diferentes concentrações na cultura de alface**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2006.

TONELLO, K. C.; DIAS, H. C. T.; SOUZA, A. L.; RIBEIRO, C. A. A. S.; FIRME, D. J.; LEITE, F. P.; Diagnóstico hidroambiental da bacia da Cachoeira das Pombas, município de Guanhães, MG, Brasil. **Ambi-Água**, Taubaté, v.4, n.1, p.156-168, 2009.

UCHÔA, C. M. A. Parasitoses intestinais: prevalência em creches comunitárias da cidade de Niterói, Rio de Janeiro – Brasil, 2001. Rio de Janeiro: **Revista Instituto Adolfo Lutz**, p.97 – 110 2001.

VAIRO DOS SANTOS, A. C. Biofertilizante líquido: o defensivo agrícola da natureza. **rev. Niterói: (Agropecuária Fluminense, 8)**. 2 ed. 16 p. EMATER-RJ, 1992.

VARALLO, A. C. T.; SOUZA, J. M. de; REZENDE, S. S. R.; SOUZA, C. F. Avaliação da qualidade sanitária da alface (*Lactuca sativa*, L.) irrigada com água de reuso comparada com amostras comercializadas **Ambi- Água**, Taubaté, v. 6, n. 2, p. 295-304, 2011.