

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGROECOLOGIA
MESTRADO PROFISSIONAL (PROFAGROEC)**

CAROLINA MENDES FAGLIONI

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E PARASITOLÓGICA DE *Lactuca sativa* cv. VALENTINA EM PÓS-COLHEITA PRODUZIDAS NO SISTEMA AGROECOLÓGICO

MARINGÁ, PR

2019

CAROLINA MENDES FAGLIONI

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E PARASITOLÓGICA DE *Lactuca sativa* cv. VALENTINA EM PÓS-COLHEITA PRODUZIDAS NO SISTEMA AGROECOLÓGICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, Mestrado Profissional, do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agroecologia, na área de concentração: Agroecologia.

Orientador: Arney Eduardo do Amaral Ecker

Maringá, PR

2019

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

F155a

Faglioni, Carolina Mendes

Avaliação microbiológica e parasitológica de *Lactuca Sativa* cv Valentina em pós colheita produzidas no sistema agroecológico / Carolina Mendes Faglioni. -- Maringá, PR, 2019.

46 f.: il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Arney Eduardo do Amaral Ecker.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agroecologia - Mestrado Profissional, 2019.

1. Alface. 2. Olericultura. 3. Alface - Bactérias - Pós-colheita. I. Ecker, Arney Eduardo do Amaral, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Agroecologia - Mestrado Profissional. III. Título.

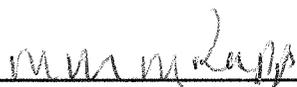
CDD 23.ed. 635

CAROLINA MENDES FLAGIONI

“Avaliação microbiológica e parasitológica de *Lactuca sativa* c.v. Valentina em pós-colheita produzido no sistema agroecológico.”

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, para obtenção do título de mestre.

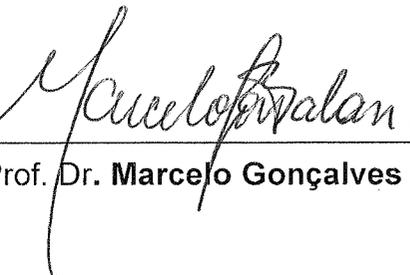
APROVADO em 17 de dezembro de 2019.



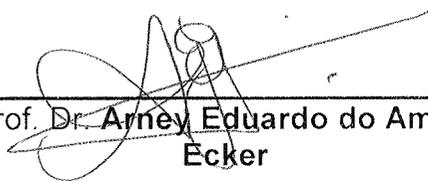
Prof^a. Dr^a. **Maria Marcelina Millan
Rupp**



Prof^a. Dr^a. **Ana Paula Margioto
Teston**



Prof. Dr. **Marcelo Gonçalves Balan**



Prof. Dr. **Arney Eduardo do Amaral
Ecker**

(Orientador)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que me fortaleceram e colaboraram no decorrer da trajetória do Mestrado em Agroecologia, aos amigos que me incentivaram e me compreenderam neste momento muito especial.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus, pela força e saúde que Ele me concedeu durante esses anos da minha vida, para vencer obstáculos e presenciar muitas alegrias.

Agradeço à minha família, minha mãe, meu pai e filha, que sempre com muito amor estiveram apoiando, incentivando-me, principalmente nesta etapa tão importante. Surpreendendo-me com a presença na defesa, amo vocês.

À Universidade Estadual de Maringá, instituição de ensino superior, que possibilitou minha formação de Mestre em Agroecologia.

Agradecimento em especial ao meu orientador professor Dr. Arney Eduardo do Amaral Ecker com a qual tive o prazer de trabalhar, me apoiando com paciência, dedicação, e pelo respeito perante meus ideais.

A minha co-orientadora professora Ma. Alessandra Barronchelli da Silva Ecker, que com muita dedicação me conduziu durante toda parte prática laboratorial.

A todos os professores do Curso de Agroecologia da UEM e Faculdade Ingá UNINGÁ que contribuíram para a minha formação, em especial professora Dra. Marcelina Millan Rupp, professor Dr. Marcelo Gonçalves Balan e professora Dra. Ana Paula Margioto Teston que estiveram presentes em minha banca de defesa contribuindo com sugestões que tanto acrescentaram para essa dissertação.

Ao amigo mestre Renan Uhdre, responsável em me apresentar o programa de mestrado profissional em agroecologia e conduzir meus primeiros passos.

Aos meus Amigos pelo apoio e ajuda durante mais uma fase da minha vida. Engenheiros agrônomos Lucas Eufrásio do Nascimento, Valdinei Schernovski Pereira, Paulos Orélio e o biomédico Higor Hisashi Nakashima os quais tiveram participação especial contribuindo com seus trabalhos de conclusão de curso.

Enfim a todos que contribuíram direta e indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho.

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E PARASITOLÓGICA DE *Lactuca sativa* cv. VALENTINA EM PÓS-COLHEITA PRODUZIDAS NO SISTEMA AGROECOLÓGICO

RESUMO

A *Lactuca sativa*, a alface, cultura plantada e consumida em todo o território brasileiro, não obstante as diferenças climáticas e os hábitos de consumo. Estudos realizados no Brasil têm verificado a contaminação alimentar por helmintos, bolores e leveduras, devido à ingestão de hortaliças consumidas cruas. Alguns agentes etiológicos dessas patologias são: *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Proteus* spp., *Listeria* sp, e *Shigella* sp. Uma das principais doenças transmitidas por alimentos é a salmonelose, causada por bactérias do gênero *Salmonella* spp. O presente trabalho tem como objetivo analisar a presença ou não de bactérias da família *Enterobacteriaceae*, em *Lactuca sativa* pós-colheita, bem como identificar e quantificar, determinando o grau de contaminação bacteriológico e avaliar a contaminação parasitária em três diferentes adubações agroecológicas sendo torta de filtro (TF), manipueira (MA) e resíduos agroindústrias (RA) em amostras de *Lactuca sativa* cv. valentina utilizando as seguintes dosagens: TF/T1: Sem adubação, TF/ T2: 3,6 Kg m² e TF/T3: 7,2 Kg m². MA/T1: Sem adubo, MA/T2: 4,32 L m² e MA/T3: 8,64 L m² e RA/T1: Sem adubação, RA/T2: 3,6 Kg m² e RA/T3: 7,2 Kg m². em *L. sativa*. Colhidas aleatoriamente 20 folhas da *L. sativa* cultivadas com cada uma das adubações, três foram escolhidas: cama de frango, torta de filtro e manipueira no sistema agroecológico na mesma periodicidade. As análises parasitológicas serão realizadas através dos métodos de *Faust e Lutz* a partir do lavado das folhas e caules com uma solução de detergente neutro a 0,5%. As amostras serão transportadas ao laboratório de análises clínicas da Uningá, onde serão avaliadas. As análises microbiológicas serão realizadas segundo metodologias descritas em *American Public Health Association* (APHA, 2001). Uma melhor compreensão do comportamento das bactérias enteropatogênicas em vegetais de salada deve ajudar a prevenir os eventos de contaminação inicial e a persistência microbiana até o ponto de venda. A segurança alimentar em produtos prontos para comer, especialmente alimentos crus, tem sido um objeto de estudo há muito tempo. A fim de avaliar eficazmente todas as etapas em uma planta e analisar toda a cadeia de produção de alimentos, é importante identificar a origem dos contaminantes prováveis.

Palavras-Chave: Alface; Bactérias; Olericultura; Pós- colheita

MICROBIOLOGICAL AND PARASITOLOGICAL EVALUATION OF *Lactuca sativa* cv. POST-HARVEST VALENTINE PRODUCED IN THE AGROECOLOGICAL SYSTEM

ABSTRACT

Lactuca sativa, lettuce, a crop planted and consumed throughout the Brazilian territory, despite climatic differences and consumption habits. Studies conducted in Brazil have verified food contamination by helminths, molds and yeast, due to the ingestion of raw consumed vegetables. Some etiological agents of these pathologies are: *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Proteus spp.*, *Listeria sp.*, and *Shigella sp.* One of the main foodborne diseases is salmonellosis, caused by bacteria of the genus *Salmonella spp.* The present work aims to analyze the presence or absence of Enterobacteriaceae bacteria in *Lactuca sativa* after harvest, as well as to identify and quantify, determining the degree of bacteriological contamination and to evaluate the parasitic contamination in three different agroecological fertilizers being filter cake (TF), manipueira (MA) and agroindustrial waste (RA) in samples of *Lactuca sativa* cv. valentina using the following dosages: TF / T1: No fertilization, TF / T2: 3.6 kg m² and TF / T3: 7.2 kg m². MA / T1: Without fertilizer, MA / T2: 4.32 L m² and MA / T3: 8.64 L m² and RA / T1: Without fertilizer, RA / T2: 3.6 Kg m² and RA / T3: 7, 2 kg m². in *L. sativa*. Randomly harvested 20 leaves of *L. sativa* cultivated with each fertilizer, three were chosen: chicken litter, filter cake and agroecological system in the same periodicity. Parasitological analyzes will be performed by the Faust and Lutz methods by washing the leaves and stems with a 0.5% neutral detergent solution. The samples will be transported to Uningá's clinical analysis laboratory, where they will be evaluated. Microbiological analyzes will be performed according to methodologies described in the American Public Health Association (APHA, 2001). A better understanding of the behavior of enteropathogenic bacteria in salad vegetables should help to prevent initial contamination events and microbial persistence to the point of sale. Food safety in ready-to-eat products, especially raw foods, has been a subject of study for a long time. In order to effectively evaluate all steps in a plant and analyze the entire food production chain, it is important to identify the source of likely contaminants.

Keywords: Lettuce; Bacteria; Fruit growing; Post Harvest

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição do meio de cultura PCA segundo a média, mínimo, máximo e desvio padrão, de acordo com os tipos de adubação.....33

Tabela 2: Distribuição do meio de cultura segundo a média, mínimo, máximo e desvio padrão, segundo os tipos de adubação.....34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Canteiro de produção de alfaces.....	9
Figura 2: Área experimental torta de filtro.....	12
Figura 3: Área experimental manipueira.....	13
Figura 4: Área experimental resíduos agroindustriais.....	14
Figura 5: Identificação e separação de materiais para análise.....	20
Figura 6: Lavagem das amostras.....	21
Figura 7: Centrífuga utilizada no estudo.....	22
Figura 8: Microscópio utilizado no estudo.....	22
Figura 9: Sobrenadante com uma gota de lugol.....	23
Figura 10: Sacos plásticos estéreis com água peptonada e amostra das alfaces.....	25
Figura 11: Solução aquosa de selenito cistina.....	26
Figura 12: Caldo Rappaport.....	26
Figura 13: Esquema de metodologia.....	28

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Porcentagem de helmintos encontrados na análise da alface com adubo Torta de filtro em cada tratamento utilizado.....30

Gráfico 2: Porcentagem de helmintos encontrados na análise da alface com adubo Manipueira em cada tratamento utilizado.....31

Gráfico 3: Porcentagem de helmintos encontrados na análise da alface com adubo Resíduo Agroindustrial em cada tratamento utilizado.....31

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Valores das características químicas obtidos da análise do solo do experimento.....	15
Quadro 2: Dosagens de fertilizantes utilizados e distribuídos nos tratamentos, segundo DUARTE et al, 2012.....	19

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO	03
2.1 ALFACE.....	03
2.2 SEGURANÇA ALIMENTAR DE HORTALIÇAS EM SISTEMA AGROECOLÓGICO.....	04
2.3. ENTEROPARASITOSE.....	05
2.5 SISTEMA AGROECOLÓGICO DE PRODUÇÃO DE OLERÍCOLAS.....	08
2.6 FERTILIZANTES.....	11
2.6.1 Adubação e irrigação na torta de filtro.....	12
2.6.2 Adubação e irrigação na manipueira.....	13
2.6.3 Adubação e irrigação com resíduos agroindustriais.....	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 ANÁLISE DO SOLO.....	15
3.2 TRANSPLANTIO.....	17
3.2.1 Transplântio manipueira.....	17
3.2.2 Transplântio resíduo agroindustrial.....	18
3.2.3 Transplântio torta de filtro.....	19
3.3 ANÁLISE PARASITOLÓGICA.....	20
3.4 COLETA E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	24
3.4.1 Análises microbiológicas.....	24
3.4.2 Etapa de pré-enriquecimento.....	25
3.4.3 Preparo das amostras.....	25
3.5 METODOLOGIA DOS MICRORGANISMOS ANALISADOS.....	28

3.5.1 Contagem padrão em placas de microrganismos aeróbios mesófilos.....	28
3.5.2 Contagem de coliformes totais, coliformes termotolerantes.....	28
3.5.3 Enriquecimento em caldo seletivo.....	29
3.5.4 Análises estatísticas	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	30
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
6. REFERÊNCIAS.....	38

1. INTRODUÇÃO

Os vegetais de folhas verdes foram identificados como o grupo de alimentos de maior preocupação, numa perspectiva de segurança microbiológica. Os riscos das doenças transmitidas por alimentos incluem uma variedade de bactérias patogênicas, vírus e parasitas. A Organização Mundial da Saúde (OMS) em estimativa cautelosa calcula que 600 milhões de pessoas – quase uma em cada dez no mundo - adoecem após ingerir alimentos contaminados. Ao contrário dos produtos de origem animal, os vegetais, especialmente os folhosos, são muitas vezes consumidos crus. Incluem-se neste grupo todos os vegetais os quais a folha é destinada ao consumo, tais como a alface (*Lactuca sativa*; todas as variedades; FAO, 2019).

Entre o segmento de folhosas a alface (*Lactuca sativa*) é a hortaliça mais consumida pelo brasileiro e representa 50% de toda a produção e comercialização nacional do segmento. A cultura é também a terceira em maior volume de produção perdendo apenas para melancia e tomate movimentando 8 bilhões de reais no Varejo, com produção de mais de 1,5 milhão de toneladas por ano (MONTEIRO, 2016).

O consumo de vegetais frescos faz parte de uma dieta saudável fornecendo muitos nutrientes que o corpo necessita, como vitaminas, minerais e antioxidantes (JUNG et al., 2014).

A hipótese de que o consumo de hortaliças e vegetais crus possa ser fonte de infecção por coliformes, *Salmonella* sp e outros enteroparasitos, é objeto de estudo de muitas pesquisas. A presença de cistos de protozoários, ovos e larvas de helmintos nestes alimentos tem grande importância para saúde pública. (GREGÓRIO et al., 2012).

Os vegetais podem ser expostos a microrganismos patogênicos durante a produção, transporte, manuseio e processamento constituindo risco a saúde do consumidor. Muitos destes produtos olerícolas destinam-se ao consumo fresco o que pode potencializar o aparecimento de Doenças de Origem Alimentar (DOA; FAO/WHO, 2008) tendo grandes implicações na saúde pública (JUNG et al., 2014).

A prevenção de riscos de contaminação por agentes patogênicos em folhas de alface passa pelas boas práticas agrícolas que vão desde a semeadura até a colheita, além de outros importantes aspectos, passando ainda pelo processo do cultivar — como a qualidade da água usada para irrigação, o emprego de práticas sanitárias adequadas por parte dos produtores na manipulação das plantas e a higiene do agricultor no campo. Com isso, a indústria alimentar deve monitorar e controlar toda a cadeia de produção desde o campo até seu destino que é os consumidores (HOHWEYER et al., 2016).

As fontes da contaminação são as mais variadas, podendo acontecer através da água, do solo, do ar, de insetos, das mãos e dos alimentos, sendo a água o principal veículo de contaminação, pois, pode acumular e transportar os enteroparasitas. Todavia, a propagação é influenciada, principalmente, pelo homem ou animal infectado ocasionando a disseminação de ovos e larvas no ambiente através de seus dejetos. Esta forma de propagação é considerada veículo de contaminação do solo, água e conseqüentemente dos alimentos representando um importante problema de saúde pública (BARROS et al, 2018).

A orientação aos consumidores quanto aos cuidados no armazenamento e na manipulação apropriada do produto fresco deve ser incentivada pelas autoridades sanitárias como forma de evitar doenças veiculadas pelos alimentos.

Procedimentos ao consumo seguro, do ponto de vista higiênico-sanitário, estão regulamentados pela legislação vigente instituída pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar/pesquisar fontes de contaminação em *Lactuca sativa* produzidas na região noroeste do Paraná no sistema agroecológico. Hortaliças essas produzidas para o consumo humano e seus riscos de contaminação ao consumidor final.

2. REVISÃO

2.1 ALFACE

A alface (*Lactuca sativa*), pertencente à família Asteraceae, originária da região do Mediterrâneo, é uma planta herbácea e muito delicada com um caule pequeno não ramificado ao qual suas folhas se prendem. Utilizada na alimentação

desde 550 a.C., acredita-se ter sido introduzida no Brasil pelos portugueses no século XVI, atualmente sendo uma das hortaliças folhosas mais cultivadas e consumidas em diversos países, ela pode ser considerada a mais importante na alimentação do brasileiro (MUNIZ et al, 2018).

Apreciada em todo o mundo para o consumo em saladas frescas, essa hortaliça geralmente é consumida *in natura*, sendo muito apreciada para o uso em dietas. Nos meses de inverno, no sul do Brasil, existem períodos do ano com condições climáticas que desfavorecem o desenvolvimento da cultura, pela ocorrência de temperaturas inferiores a 10°C e precipitações pluviométricas prolongadas ocorrendo danos físicos e retração do crescimento das plantas (BARBOSA et al, 2016).

Na agricultura nacional sua expressividade econômica é assegurada principalmente por garantir o fluxo econômico e a sustentabilidade para pequenas e médias propriedades rurais, gerando até cinco empregos diretos por hectare (LEITE et al., 2016).

Em 2014 a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura FAO, declarou este o Ano Internacional da Agricultura Familiar, AIAF 2014. No contexto da reflexão do AIAF 2014 o plano mestre objetiva aumentar a visibilidade da agricultura familiar e dos pequenos agricultores, focalizando a atenção mundial em seu importante papel na erradicação da fome e pobreza, provisão de segurança alimentar e nutrição, melhora dos meios de subsistência, gestão dos recursos naturais, proteção do meio ambiente e o desenvolvimento sustentável, particularmente nas áreas rurais (LEITE et al., 2016).

No Brasil são produzidas em média cerca de 1,5 milhão de toneladas de alface por ano, cultivadas em uma área de 91.454 hectares, movimentando em média R\$ 8 bilhões somente no varejo (ABCSEM, 2016).

A cultura da alface é propagada por meio de sementes, as quais enfrentam grandes adversidades no meio externo, pois, a maioria das cultivares são de clima amenos com temperaturas variando entre 2 a 20 °C. A qualidade, principalmente fisiológica e sanitária, é fundamental para garantir o rápido estabelecimento e uniformidade no campo, condicionantes para o sucesso produtivo desta oleícola (PINHEIRO; PANOZZO, 2018).

2.2 SEGURANÇA ALIMENTAR DE HORTALIÇAS EM SISTEMA AGROECOLÓGICO

A preocupação do homem com a qualidade e a segurança dos alimentos vem crescendo. Por essa razão, na escolha dos alimentos, os consumidores cada vez mais levam em consideração os riscos alimentares que os produtos podem oferecer à dinâmica da agricultura (POZZEBON, 2018).

Todos os alimentos devem ser produzidos seguindo práticas que resultem em produtos seguros para serem consumidos. Isso também é verdadeiro tanto para o sistema orgânico de cultivo como para o convencional, o temor recai também sobre a qualidade do que se produz gerando incertezas sobre a eficiência e a qualidade dos grandes sistemas agroalimentares, em virtude principalmente do tipo de adubação (NASCIMENTO, et al, 2019).

Tendo em vista a exigência crescente tanto por parte das empresas de refeição coletiva como por parte do consumidor do fornecimento de alimentos seguros e que no sistema de produção da alface minimamente processada várias etapas podem oferecer algum risco à saúde do consumidor quer seja pela introdução de microrganismos ou suas respectivas toxinas, quer seja pela contaminação com resíduos de agrotóxicos ou produtos usados para sanificação. A relação equilibrada entre ser humano e natureza é o princípio básico de manutenção da saúde (AZEVEDO, 2018).

Na sanitização dos vegetais com hipoclorito utilizar uma solução com uma concentração de 100 a 200 ppm (partes por milhão) de cloro residencial livre com monitoramento da concentração do mesmo através de papel indicador ou testes colorimétricos, como os utilizados em piscinas e, neste caso, observar as diluições necessárias para determinar o nível residual do cloro. Os vegetais ficam em contato com essa solução por um período mínimo de 15 minutos. Se necessário, promover o enxague com água potável (EMBRAPA, 2004).

O Brasil vivencia importantes mudanças no padrão alimentar da população. Nas duas últimas décadas, aumentou o consumo de carnes, leites e derivados, açúcar refinado, alimentos processados e ultra processados. Por outro lado, houve a redução do preparo e do consumo domiciliar de alimentos *in natura*, em especial frutas, hortaliças e leguminosas. Predomina no mundo um modelo de produção e

consumo que considera o alimento mercadoria prevalecendo a produção em larga escala e o consumo de produtos alimentícios produzidos por indústrias a partir de matérias-primas oriundas de uma produção agrícola baseada na monocultura com elevado uso de agrotóxicos, fertilizantes químicos e organismos geneticamente modificados (MACHADO et al, 2016).

Mesmo considerando leis e decretos de incentivo à aquisição de alimentos não convencionais há sete anos o Brasil ocupa o lugar de maior consumidor de agrotóxicos do mundo e aumentou a compra de insumos agrícolas em 190% na última década. A Associação Brasileira de Saúde Coletiva publicou o dossiê “Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde” em 2015 o qual relacionou a produção, exposição e consumo de alimentos convencionais assim como também o consumo de água contaminada por agrotóxicos a intoxicações agudas e crônicas, ocorrência de neoplasias, má formação, neuropatias, imunotoxicidade, alterações endócrinas, alterações do sistema reprodutor, do desenvolvimento e do crescimento (ABRASCO, 2015). Por esse motivo, o consumo de alimentos orgânicos e/ou agroecológicos deve ser estimulado e é definido como uma prática alimentar saudável (BRASIL, 2014).

2.3. ENTEROPARASITOSE

Os parasitas intestinais, também conhecidos como enteroparasitas, organismos dos filos Protozoa, Platyhelminthes, Nematoda e Acantocephala, são um importante problema de saúde pública com consequências individuais e sociais tais como deficiências no desempenho escolar e no trabalho e despesas com serviços de saúde. Transmitidos oralmente pela ingestão de água ou alimentos contaminados e, portanto, comuns em áreas onde as condições sanitárias são inadequadas (NUNES et al, 2017).

Enteroparasitoses possuem alta prevalência em todo mundo, sendo de grande relevância para saúde pública, pois, apresentam uma taxa de prevalência mais elevada em países que ainda estão em desenvolvimento. A contaminação se dá principalmente pela ingestão de formas parasitárias contidas nos alimentos e na

água, como ovos, larvas, cistos e oocistos, sendo mais prevalentes em áreas nas quais as condições higiênico sanitárias são precárias (NUNES et al, 2017).

As enteroparasitoses são apontadas como um indicador do desenvolvimento socioeconômico de um país. Elas têm como agentes etiológicos helmintos ou protozoários, os quais causam enfermidades no ser humano em pelo menos uma das fases de seu ciclo biológico, localizam-se no aparelho digestivo do homem podendo provocar diversas alterações patológicas. Fatores como falta de saneamento básico, escassa educação em saúde e má higiene alimentar estão diretamente relacionados ao índice de parasitose em uma região e são determinantes para avaliar as condições de vida da população (HERNANDES et al, 2018).

O modo como determinada hortaliça é cultivada pode torná-la suscetível a contaminações, portanto fatores como o contato da mesma com insetos, aves, roedores, o tipo de irrigação e adubação, na qual pode incluir dejetos de animais ou mesmo do homem, influem fortemente para que haja a contaminação desse alimento (HERNANDES et al, 2018).

Uma das principais vias de transmissão de enteroparasitos para os seres humanos é o consumo de verduras, frutas e hortaliças, quando não higienizadas adequadamente, podendo assim trazer riscos à saúde, pois, geralmente, esses alimentos são consumidos na forma in natura. No entanto, o aparecimento de doenças parasitárias ou parasitoses pode alterar a saúde do hospedeiro a longo prazo, extraindo nutrientes que são necessários à sua sobrevivência, modificando seu metabolismo, retardando o desenvolvimento, propiciando a reinfecções e em alguns casos podendo levar à morte. A partir do exposto, surge a necessidade de mais estudos sobre o tema, com o intuito de auxiliar no controle da saúde humana, proporcionando melhor qualidade de vida a população e consciência sobre a importância da higiene adequada para o consumo de alimentos in natura partindo da exposição dos riscos que podem ocorrer quando esses cuidados não ocorrem (HERNANDES et al, 2018) .

2.4 ÁGUA

Para as culturas agrícolas o fornecimento de água interfere de forma direta na produção vegetal, bem como no processo de maturação das sementes. O acesso à água potável preocupa cada vez mais quando se avalia estudos sobre a disponibilidade de recursos hídricos até o final do século essa situação fica ainda mais evidente. O quadro é agravado devido às alterações climáticas e os danos ambientais que afetam esse importante recurso em todo o mundo (ARAÚJO, 2017).

Os vegetais e legumes se caracterizam pela necessidade de grande volume de água para que ocorra seu desenvolvimento de modo satisfatório. Levando-se em conta a alface, foco do estudo, o seu consumo médio de água por metro quadrado é de 3 litros diários, sendo que a quantidade varia de acordo com a idade da planta e época do ano. Neste sentido, a irrigação desempenha papel crucial para evitar o estresse hídrico, especialmente durante a formação da “cabeça” da planta (QUITAISKI, 2018).

A água é recurso vital para a sobrevivência, não somente para consumo. Ela é fundamental para a produção de alimentos sendo que apenas 0,008% da água do planeta é própria para o consumo e que ainda cerca de 12% do total da água doce existente no planeta está no Brasil (EMBRAPA, 2018).

A agricultura, anualmente, é responsável por 87% do consumo total de água no mundo. Em termos globais, a indústria usa 24% e consome 4% da água hoje aproveitada e seu uso excessivo pode acarretar a diminuição do volume ou o esgotamento dos aquíferos subterrâneos. Em áreas sem rede de esgotos, a contaminação das águas pode ocorrer por efluentes domésticos, nos quais existem elevadas concentrações de produtos químicos e variadas concentrações de organismos patogênicos, podendo causar impactos significativos sobre a saúde humana (SANDRI e ROSA 2017).

O desenvolvimento da agricultura e o uso de novas tecnologias para o aumento da produtividade são extremamente dependentes da disponibilidade dos recursos hídricos (MENG et al., 2016).

A maioria dos produtores rurais não possui orientação sobre a importância das características físico-químicas e microbiológicas da água de irrigação para o

desenvolvimento da planta e para produtividade da lavoura, principalmente para o cultivo de hortaliças. Estas características podem ser um indicativo das condições sanitárias da produção, pois ao carregar bactérias patogênicas a água pode atuar como veículo de disseminação de doenças contaminando o solo e toda produção agrícola (JOBINS e ALEXANDER, 2015).

A utilização da água de qualidade é de fundamental relevância para o sucesso na produção de culturas que dispõem de sistemas irrigados. Porém, esta avaliação é, muitas vezes, ignorada durante a elaboração de projetos de irrigação. Conseqüentemente, a utilização de água de má qualidade poderá ocasionar efeitos indesejáveis na condução de uma cultura comercial ou servir como meio para contaminação da população, pela presença de compostos químicos e microbiológicos danosos à saúde humana (LIMA et al., 2014).

Assim, o conhecimento da qualidade da água é de fundamental importância para a produtividade e para o controle da disseminação de doenças microbianas em áreas de produção (VAN DYK et al., 2016).

2.5 SISTEMA AGROECOLÓGICO DE PRODUÇÃO DE OLERÍCOLAS

Embora seja um setor em expansão, a produção de hortaliças orgânicas está sujeita a riscos. Além daqueles inerentes à agricultura convencional tem-se: baixa escala de produção; maior uso de mão de obra; uso de embalagens adequadas para a certificação; custos com a certificação, que oneram o produto final o que também representa um risco de mercado. Na produção de hortaliças, algumas práticas são essenciais para condução das hortas e a produção de insumos destinados ao sistema orgânico, dentre elas o uso dos fertilizantes orgânicos (LIMA; SANTOS; SEDIYAMA, 2014).



Figura 1: Canteiro de produção de alface.
Fonte: Arquivo pessoal do autor, 2018.

O Brasil é atualmente o principal consumidor mundial de pesticidas, e esse consumo acompanhou os avanços na produção agrícola. Desde a publicação de *Silent Spring*, de Rachel Carson em 1962 - chamada de pedra angular do ambientalismo contemporâneo (LYTLE, 2007)-, o mundo, cientistas, políticos e organizações têm denunciado os efeitos adversos dos diferentes tipos de pesticidas na saúde humana e no ambiente (HESS, PORTO, 2014).

Nas últimas décadas vem de forma crescente se conscientizado dos riscos dos pesticidas (CARVALHO et al, 2017).

Muitas publicações, vários tipos de pesticidas foram proibidos ou seu uso abandonado, enquanto outros surgiram no mercado, a agricultura sofreu modificações que abriram caminho para a existência da agricultura tradicional de base ecológica. No entanto, apesar desse debate, do recente desenvolvimento da agroecologia (um sistema agrícola que não usa agrotóxicos) e da demanda por produtos orgânicos os pesticidas ainda estão sendo usados em grande escala e em quantidades sem precedentes (VIEIRA et al, 2018).

De 2000 a 2012, o consumo brasileiro de ingredientes ativos em agrotóxicos e produtos relacionados por hectare plantado mais que dobrou, segundo a sexta edição do Indicadores de Desenvolvimento Sustentável (IDS) publicada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE). Em 2002, 2,7 kg / ha foram comercializados; neste ano, o valor chegou a 6,9kg / ha (IBGE, 2015).

Gliessman (2005) apresenta seis dimensões sem as quais a sustentabilidade não é alcançada em agro-ecossistemas de produção (RIEPE, 2015):

1º refere-se à dimensão Ecológica, a qual não se restringe apenas as melhorias das condições físicas, químicas e biológicas do solo, mas também na manutenção e melhoria da biodiversidade, das reservas e mananciais hídricos assim como dos recursos naturais em geral.

2º refere-se à dimensão Social, de modo que “a preservação ambiental e a conservação dos recursos naturais adquirem relevância quando o produto gerado nos agro-ecossistemas possam ser apropriados e usufruídos pelos diversos seguimentos da sociedade”.

3º refere-se à dimensão Econômica, de forma que a sustentabilidade de agro-ecossistemas supõe a necessidade de obter-se balanço agro energético positivo, sendo necessário compatibilizar a produção agropecuária e o consumo de energias não renováveis.

4º refere-se à dimensão Cultural, que numa intervenção em bases agroecológicas consideram-se os saberes, os conhecimentos e os valores locais das populações rurais.

5º se refere à dimensão Política, que tem a ver com os processos participativos e democráticos que se desenvolvem no contexto da produção agrícola e do desenvolvimento rural.

6º refere-se à dimensão Ética, que requer a adoção de valores, que não necessariamente serão homogêneos. Como o resgate da cidadania e da dignidade humana, a luta contra a miséria e a fome ou a eliminação da pobreza e suas consequências sobre o meio ambiente

2.6 FERTILIZANTES

A mistura de fertilizantes minerais e orgânicos gera os fertilizantes organominerais. A composição dos fertilizantes organominerais permite a redução de perdas de nutrientes no solo levando a uma liberação gradual de nutrientes e também acrescenta matéria orgânica ao solo. O fertilizante organomineral promove a redução de impactos ambientais da atividade agropecuária, aumento na fertilidade do solo e ainda reduz o uso de fertilizantes químicos (SOUZA, 2014).

Os fertilizantes orgânicos apresentam composição variável conforme sua origem, teor de umidade e processamento, antes de sua aplicação. No sistema orgânico de produção são geralmente utilizados adubos verdes, restos de colheitas, tortas e farinhas de vegetais fermentados, compostos orgânicos bioestabilizados, resíduos industriais e agroindustriais isentos de agentes químicos ou biológicos com potencial poluente e de contaminação, fosfatos naturais e semissolubilizados, farinhas de ossos, termo fosfatos, escórias e rochas minerais moídas como fonte de cálcio, magnésio, fósforo, potássio e micronutrientes (sempre de baixa solubilidade) (silva, 2016).

São capazes de melhorar as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, além de serem uma alternativa ecologicamente correta são todos os produtos originários de resíduos animais, vegetais e industriais ou urbanos que possuem altos teores de componentes orgânicos (lima et al., 2015).

A adição de fertilizante mineral ao orgânico faz com que a aplicação do fertilizante organomineral garanta maior uniformidade nas concentrações e disponibilidade de nutrientes no produto final. o fertilizante organomineral aumenta a concentração de nutrientes, minimizando as taxas de aplicação no campo (silva, 2016).

Isto ocorre pela capacidade de troca catiônica, geralmente muito superior aos argilominerais, apresentando efeito quelatizante sobre o mesmo. Desta forma os fertilizantes organominerais promovem uma liberação lenta de nutrientes garantindo o suprimento das necessidades da planta durante todo o ciclo (RODRIGUES et al., 2015).

2.6.1 Adubação e irrigação na Torta de Filtro



Figura 2: Área experimental torta de filtro
Fonte: Arquivo pessoal do autor, 2018.

O composto do resíduo denominado de torta de filtro (TF) é obtido nos filtros rotativos após extração da sacarose residual da borra. Sua composição é variável em função da variedade da cana, tipo de solo, maturação da cana, processo de clarificação do caldo e outros (SANTOS et al, 2018).

Durante o processo de clarificação do caldo, a adição de produtos que auxiliam na floculação das impurezas pode aumentar o teor de alguns minerais, principalmente fósforo e cálcio. Cerca de 30% do conteúdo total de fósforo aparece na forma orgânica e o nitrogênio predomina na forma proteica propiciando lenta liberação desses elementos e conseqüentemente alto aproveitamento pelas plantas (SANTOS et al, 2018).

2.6.2 Adubação e irrigação na Manipueira



Figura 3: Área experimental manipueira
Fonte: Arquivo pessoal do autor, 2018.

A manipueira, ou água de mandioca, é o líquido amarelo resultante da prensagem das raízes da mandioca durante o processo de fabricação da farinha. Neste líquido contem ácido cianídrico que é venenoso e nocivo à alimentação humana e animal (ALMEIDA e SILVA, 2018).

Sua contribuição na agricultura orgânica e no fortalecimento da sustentabilidade da agricultura familiar fica evidenciada por reunir condições e características capazes de convertê-la em importante insumo agrícola e pecuário agroecológico, seja como adubo de solo e foliar, inseticida e fungicida naturais (ALMEIDA e SILVA, 2018).

Nas farinheiras, a água de prensa equivale a cerca de 300L por tonelada de raízes e para fecularias a água de extração pela diluição chega a 600L. A alta concentração de matéria orgânica interfere na granulometria do solo devido ao aumento da massa de partículas de solo por unidade de volume diminuindo, portanto, os espaços ocupados pelos poros maiores e aumentando a microporosidade (OLIVEIRA, 2016).



Figura 4: Área experimental resíduos agroindustriais
Fonte: Arquivo pessoal do autor, 2018.]

Resíduos agroindustriais são provenientes de indústrias aviárias (cascas de ovos, ovos não eclodidos, pintainhos não comerciais), cama de frango (dejetos de avicultura), remanentes de cereais (grãos em geral), resíduos de abatedouros bovino e suíno e ainda maravalha (FIORI; SCHOENHALS, FOLLADOR, 2008).

A utilização de resíduos da agroindústria, como componente para substratos, pode propiciar a redução de custos, bem como auxiliar na redução da poluição decorrente do acúmulo desses materiais no meio ambiente. Algumas das técnicas de transformação de resíduos orgânicos e de grande alcance, tendo em vista da sua praticidade e resultados alcançados, é a compostagem, pois ela possibilita a transformação de resíduos orgânicos em adubo orgânico de grande valor fertilizante para as plantas (JESUS, 2016).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho de pesquisa foi realizado no Núcleo Experimental de Agronomia do Centro Universitário Ingá – UNINGÁ em Maringá, Paraná entre os meses de abril a julho de 2018 com as coordenadas geográficas de S 23°22'95" W 51°53'72" e altitude 497m.

3.1. ANALISE DO SOLO

De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região caracteriza-se por ser CFA – úmido subtropical mesotermal, traduzido por verões quentes e reduzida ocorrência de temperaturas baixas e ainda nos meses de verão há ocorrência de chuvas constantes e no inverno período mais seco. A média das temperaturas nos meses mais quentes está próxima a 22°C e nos meses de temperaturas mais baixas próximo a 18°C. Os solos do experimento apresentam as seguintes características químicas:

Quadro 1. Valores das características químicas obtidos da análise do solo do experimento

	Manipueira	Resíduo agroindustrial	Torta de Filtro
pH em CaCl ²	5,60	5,40	5,00
MO (g dm ⁻³)	20,36	21,50	26,65
P (mg dm ⁻³)	14,54	15,58	8,16
K ⁺ (cmolc dm ⁻³)	0,46	0,66	0,35
Ca ²⁺ (cmolc dm ⁻³)	6,76	7,50	6,41
Mg ²⁺ (cmolc dm ⁻³)	2,31	1,95	1,38
H ⁺ Al (cmolc dm ⁻³)	3,55	4,61	5,55
CTC (pH 7,0) (cmolc dm ⁻³)	13,08	14,72	13,69
Al ³⁺ (cmolc dm ⁻³)	0,00	0,00	0,00
S (mg dm ⁻³)	3,77	4,10	4,78
B (mg dm ⁻³)	0,47	1,03	0,25

Fe ²⁺ (mg dm ⁻³)	35,14	40,26	65,99
Mn (mg dm ⁻³)	133,00	116,70	116,50
Cu (mg dm ⁻³)	24,58	39,94	49,74
Zn (mg dm ⁻³)	11,99	24,20	11,01

Para o presente trabalho foi utilizada a alface crespa Valentina, de ciclo médio (55 dias) por possuir qualidades como: rusticidade em qualquer situação e adaptação às condições tropicais de cultivo – juntamente com novas características, como: plantas de porte grande, com folhas compridas, talo grosso e sistema radicular muito vigoroso (SAKATA, 2017).

A área total destinada ao cultivo da *Lactuca sativa* na presente pesquisa foi de 77,76 m², sendo esta, dividida em dois canteiros com as metragens subsequentes de 1,20 metro de largura x 38,9 metros de comprimento. Compondo uma área total de 47,4 m² e após 10 dias do preparo dos canteiros, foi realizada a etapa de transplântio, sendo as mudas acondicionadas em 4 linhas de 1,2 metros de comprimento e espaçadas entre si na linha por 0,30 m, conforme sugerido pela empresa, correspondendo assim a 16 plantas, avaliando-se apenas as quatro plantas centrais, constituindo assim a área útil da parcela. Nos meses de abril e maio foi realizado o preparo de solo, efetuando duas gradagens com trator Massey Ferguson 4x4, 75 cv, em seguida utilizada enxada rotativa com canteirador 115-200 BC – FC, da marca MEC-RUL. Largura entre ponteira 1,50m, altura do canteiro 25-45cm.

3.2 TRANSPLANTIO

3.2.1 *Transplântio manipueira*

As características físicas e químicas da manipueira são: sólidos sedimentáveis (17,20 ml/L¹), pH (4,08), Nitrogênio (980 mg/L¹), Potássio (740 mg/L¹), Fósforo (1970 mg/L¹), Sódio (460 mg/L¹), Cálcio (240 mg/L¹), Magnésio (360 mg/L¹), Zinco (2,60 mg/L¹), Cobre (2,80 mg/L¹), Manganês (20,00 mg/L¹), Ferro (10,00 mg/L¹). (DUARTE, 2012).

A manipueira utilizada neste trabalho foi fornecida pela empresa Amidos Pasquini, Nova Esperança, Paraná. O resíduo foi aplicado no solo via regador seguindo as dosagens $0 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, $15 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, $30 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, $45 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ e $60 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, no dia anterior ao transplântio.

Neste trabalho, consideramos o teste a campo simulando a realidade da maioria dos produtores dessa hortaliça. Trabalho semelhante foi realizado onde pode ser testado doses equidistantes, em casa de vegetação, sendo os tratamentos compostos das seguintes doses de manipueira: $0 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, $5 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, $15 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, $25 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, $45 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ e $65 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ (DUARTE, 2012).

A obtenção da manipueira deu-se em duas condições de coleta: a) no primeiro caso, coletada e armazenada dez dias antes da aplicação em galão de 150L. b) no segundo caso, a manipueira coletada fresca com 24h da aplicação no solo. Esse procedimento visou verificar se ocorreria perdas em suas propriedades e se, eventualmente, poderia interferir negativa ou positiva nas plantas.

Sua aplicação foi realizada manualmente cobrindo toda a área da parcela utilizando regador de 10L e um galão com as dosagens aferidas e gravadas na sua lateral. As mudas foram adquiridas de empresa idônea na região no mês de maio e, em bandejas de poliestireno expansível com 200 células preenchidas com substrato Carolina Soil, cultivadas em ambiente protegido até apresentarem quatro folhas definitivas.

Para a realização do transplântio as mudas deveriam apresentar em média 5 cm de altura ($\pm 1 \text{ mm}$) e bem formadas. O sistema de irrigação usado no experimento foi do tipo gotejamento, espaçados em 30cm cada gotejo na linha e 30 cm entre linhas, resultando em 1,5 litros H_2O / hora, totalizando a média de 600 litros de água no canteiro, distribuído em dois horários durante o dia, nos períodos mais quentes.

3.2.2 Transplântio resíduo agroindustrial

A área destinada ao cultivo da cultura em estudo possui 1,20 metro de largura x 58,5 metros de comprimento, totalizando área total de $70,2 \text{ m}^2$ e, após 8 dias do preparo dos canteiros, foi realizada a etapa de transplântio, sendo as mudas acondicionadas em 4 linhas de 1,20 metros de comprimento e espaçadas entre si na

linha por 0,30 m, conforme sugerido pela empresa correspondendo assim a 16 plantas.

As mudas foram adquiridas de empresa idônea na região, no mês de maio e, em bandejas de poliestireno expansível com 200 células preenchidas com substrato TNGOLD, cultivadas em ambiente protegido até apresentarem quatro folhas definitivas. Para a realização do transplântio as mudas deveriam apresentar em média 4 cm de altura e bem formadas.

O sistema de irrigação usado no experimento foi do tipo gotejamento, espaçados em 30cm cada gotejo na linha e 30 cm entre linhas. A bomba possui uma vazão de 584 litros por hora, já o canteiro possui 585 bicos gotejadores proporcionando uma vazão de 1(um) litro por hora por bico gotejador. A irrigação foi ligada duas vezes ao dia, a primeira na parte da manhã e a segunda na parte da tarde totalizando uma quantidade de 1170 litros de água por dia no canteiro, em média 1,625 litro e seiscentos e vinte cinco ml de água por planta ao dia.

O resíduo agroindustrial, composto orgânico, foi fornecido pela Incoa Comércio de Fertilizantes e Máquinas de Maringá PR, e foi aplicado em cada parcela de acordo com as doses experimentais em cobertura e incorporado ao solo do canteiro 8 dias antes do transplante das mudas.

3.2.3 Transplântio torta de filtro

Nos meses de abril e maio foi realizado preparo de solo com gradagens e levantados os canteiros com encanteiradora com altura média de 0,25cm, após 12 dias do preparo dos canteiros e incorporado a torta de filtro, foi realizada a etapa de transplante, sendo as mudas acondicionadas em 4 linhas de 1,2 metros de comprimento e espaçadas entre si na linha por 0,30 m, conforme sugerido pela empresa, correspondendo assim a 16 plantas, avaliando-se apenas as quatro plantas centrais, constituindo assim área útil da parcela.

As mudas foram adquiridas de empresa idônea na região no mês de maio e, em bandejas de poliestireno expansível com 200 células preenchidas com substrato Tngold EC 0,4, cultivadas em ambiente protegido até apresentarem quatro folhas definitivas, com semeadura realizada em 10 de abril 2018, fonte da semente

fornecedora Sakata, adubação no período do viveiro com fértil irrigação em nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), nitrato de potássio (KNO_3) e monopotássio (KH_2PO_4). Para a realização do transplante as mudas deveriam apresentar, em média, 5 cm de altura e bem formadas.

O sistema de irrigação usado no experimento foi do tipo aspersão, com quatro (4) aspersores da marca Agropolo modelo Ny30°, com bico do tipo longo verde ER 5,00 x 4,60 mm com encaixe de 1 polegada com pressão de trabalho de 20 a 45mca. Espaçados em 12m entre aspersor na linha e 12m entre linhas, resultando em 2,17 a 3,26m³/horas para cada aspersor, totalizando a média de 10,84m³/horas de água nos canteiros, distribuído em dois horários de 30 minutos cada, nos períodos da manhã e à tarde.

A composição química da torta de filtro determinada pelos métodos descritos por Abreu et al., (2009), apresentou na matéria seca:

MACRO: C= 17,91%; MO= 32,60%; N= 1,02%; CaO= 1,86%; MgO= 0,31%, K₂O= 0,11%; P₂O₅= 0,47%; Rel.C/N=17,1%; pH/ CaCl₂=6,75%;

MICRO: Fe²⁺= 1882,29 mg kg⁻¹, Cu= 172,57 mg kg⁻¹, Mn= 790,13mg kg⁻¹; Zn= 153,60 mg kg⁻¹.

O resíduo orgânico, torta de filtro, foi fornecido pela Usina Santa Terezinha de Iguatemi e foi aplicado em cada parcela de acordo com as doses experimentais e incorporadas ao solo, já o transplante das mudas da *Lactuca sativa* foi realizado com doze (12) dias após a torta de filtro ser incorporada ao solo.

3.3 ANÁLISE PARASITOLÓGICA

Um total de 54 amostras foram colhidas no núcleo experimental de agronomia da Uningá, no qual 18 foram cultivadas com a fonte torta de filtro (TF), irrigadas por aspersão, 18 com a adubação de manipueira (MA), irrigadas por gotejamento, e 18 com a fonte de resíduos agroindustrial (RA), irrigadas por gotejamento.

Quadro 2. Dosagens de fertilizantes utilizados e distribuídos nos tratamentos, segundo DUARTE et al, 2012.

Dose Fertilizante	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3
Torta de filtro	Ausência	3,6 Kg m ²	7,2 Kg m ²
Manipueira	Ausência	4,32 Kg m ²	8,64 Kg m ²
Resíduos agroindustrial	Ausência	3,6 Kg m ²	7,2 Kg m ²

As amostras foram coletadas e acondicionadas em sacos plásticos limpos, sendo identificadas de acordo com o tratamento recebido: torta de filtro, manipueira e resíduos agroindustriais, e a concentração da adubação pela metodologia em blocos de repetição, levadas ao Laboratório de Análises Clínicas do Centro Universitário Ingá– Uningá para a realização das análises, utilizando-se duas metodologias (Hoffman; Faust), de diagnóstico parasitológico.



Figura 5: Identificação e separação de materiais para análise.
Fonte: Arquivo cedido por Ecker, A.B.S., 2018.

Foi realizada a desfolhação manual de cada pé de alface com uso de luvas de procedimento. As amostras de hortaliças foram preparadas separando folha por folha, desprezando-se as deterioradas, e em seguida lavadas em um recipiente plástico retangular com auxílio de luvas cirúrgicas não estéreis individualmente lavadas com uma solução com detergente neutro a 0,5%.



Figura 6: Lavagem das amostras.

Fonte: Arquivo cedido por Ecker, A.B.S., 2018.

O fluido de lavagem foi escoado através de um cálice de sedimentação cônico, identificadas de acordo com o tratamento recebido, com ajuda de uma peneira. O filtrado ficou descansando por 24 horas. Para a análise, utilizou-se aproximadamente 2 gotas do sedimento em duplicata analisada em um microscópio óptico à 40x, segundo Lutz (1919).

Em seguida, o fluido de lavagem obtido anteriormente, foi transferido para um tubo de ensaio com uma diluição 1:10 com solução de Sulfato de Zinco a 33%, centrifugado por 60 segundos a 2300 rotações por minuto e o sobrenadante foi utilizado para observar cistos e oocistos por meio de microscópio óptico à 40x com a adição de uma gota de lugol, segundo Faust (1938).

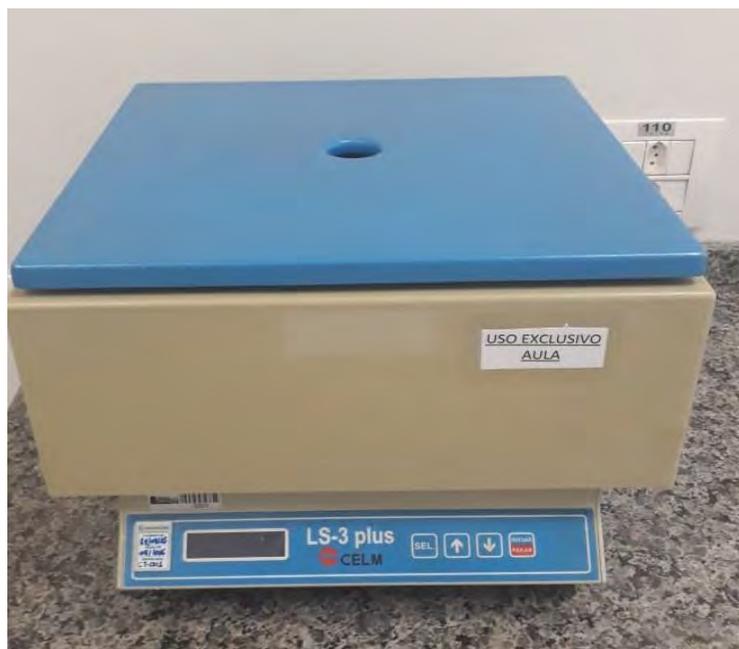


Figura 7: Centrífuga utilizada no estudo.
Fonte: Arquivo pessoal do autor, 2018.



Figura 8: Microscópio utilizado no estudo.
Fonte: Arquivo pessoal do autor, 2018.

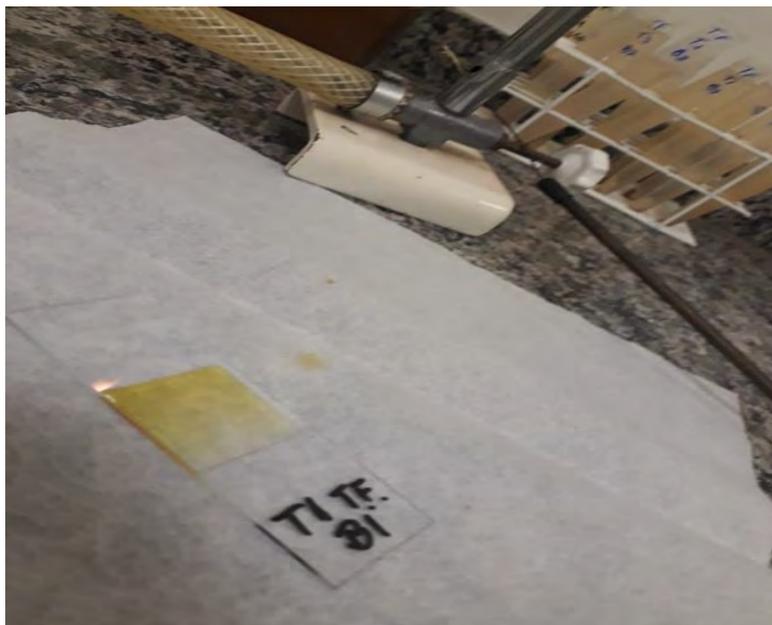


Figura 9: Sobrenadante com uma gota de lugol.

Fonte: Arquivo pessoal do autor, 2018.

3.4 COLETA E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

3.4.1 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas segundo metodologias descritas em American Public Association (APHA, 2001).

As alfaces (*Lactuca sativa*) foram coletadas em seu local de cultivo. No procedimento de coleta da alface foram utilizados sacos plásticos apropriados contendo as informações do local de coleta, horário, data, tipo de tratamento ao qual foi submetido. O transporte ocorreu em uma caixa térmica evitando o atrito e possíveis danos. Desde o local de coleta ao início das análises o procedimento durou, em média, duas horas.

Foram realizadas análises microbiológicas para estimativa do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 45 °C e para presença/ausência de *Salmonella* spp, bactérias para as quais existem padrões estabelecidos pela ANVISA (BRASIL, 2001) e também para aeróbios mesófilos e coliformes totais ,para uma melhor avaliação das condições higiênico-sanitárias das amostras.

Nas análises microbiológicas foram utilizadas as metodologias tradicionais descritas por Silva; Junqueira e Silveira (2001), de acordo com a American Public Health Association, descrita no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, 1992).

3.4.2 Etapa de pré-enriquecimento

As etapas necessárias para o isolamento e identificação de algumas espécies seguem uma sequência que inclui as etapas de pré-enriquecimento, pois estas auxiliam no desenvolvimento e recuperação da bactéria ao mesmo tempo em que devem impedir o desenvolvimento de microrganismos competidores.

Utilizou-se a água peptonada como meio pré-enriquecedor por possibilitar a recuperação dos micro-organismos estressados ou danificados e recuperar sua capacidade de crescimento sem, necessariamente, promover sua multiplicação.

A água peptonada a 0,1% é um meio indicado para pré-enriquecimento de amostras em análises de pesquisa de coliformes, mesófilos e enterobactérias em amostras de alimentos.

A maioria dos protocolos indicam que o tempo mínimo de incubação em meios de pré-enriquecimento deve ser de 16 horas a 37° C. Após a incubação, via de regra, 1 ml do caldo pré-enriquecedor é transferido para 10 ml de caldo seletivo, com exceção do caldo Rappaport, para o qual deve-se transferir 0,1 ml em 10 ml do caldo.

3.4.3 Preparo das amostras

Cada amostra foi dividida em dois sacos plásticos estéreis tarados e pesados. Para as análises de coliformes totais e termotolerantes, aeróbios mesófilos, foram feitas as diluições das amostras adicionando o volume de diluente água peptonada 0,1% para diluição inicial desejada, de 1:1, ou seja, 1,0 ml de diluente por grama de amostra de forma que cada mililitro do lavado correspondesse a um grama de amostra.



Figura 10: Sacos plásticos estéreis com água peptonada e amostra das alfaces

Fonte: Arquivo pessoal do autor, 2018.

As amostras foram lavadas agitando vigorosamente o saco, por 50 vezes, massageando a hortaliça com as mãos, por fora do saco, tomando os devidos cuidados para que pontas ou outras protuberâncias não furassem a embalagem. Fase de pré-enriquecimento, incubada por 16-20 horas a 37° C. Após esse período, as amostras foram transferidas para um enriquecimento seletivo, onde 0,1 ml da amostra foi adicionado a 10 ml do caldo Rappaport (RVS), em seguida realizou-se diluições seriadas de 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} .

Para as análises de *Salmonella* spp foram feitas as diluições das amostras adicionando o volume de diluente solução aquosa de selenito cistina para diluição inicial desejada, de 1:1, ou seja, 1,0 ml de diluente por grama de amostra, de forma que cada mililitro do lavado correspondesse a um grama de amostra. Cada amostra foi lavada agitando vigorosamente o saco, por 50 vezes, massageando a hortaliça com as mãos, por fora do saco.

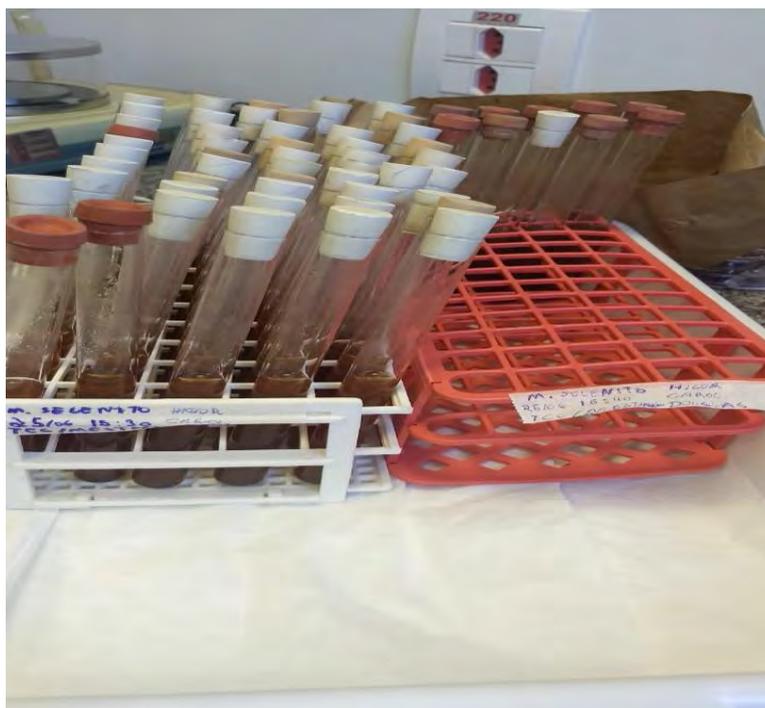


Figura 11: Solução aquosa de selenito cistina, 2018

Fonte: Arquivo pessoal do autor, 2018.



Figura 12: Caldo Rappaport

Fonte: Arquivo pessoal do autor, 2018.

3.5 METODOLOGIA DOS MICRORGANISMOS ANALISADOS

3.5.1 Contagem padrão em placas de microrganismos aeróbios mesófilos

Para contagem total dos aeróbios mesófilos nas amostras de alface foram selecionadas as diluições 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} , adicionando 1 ml de cada diluição do material, no fundo de uma série de placas de Petri estéreis, identificadas (código da amostra, microrganismo pesquisado, diluição, data e horário) e em seguida foram vertidos, em cada placa, 15 ml de Ágar Padrão para Contagem (PCA) fundido e resfriado a 45°C , de acordo com Silva; Junqueira e Silveira (2001).

As placas inoculadas ainda dentro da Câmara de Fluxo Laminar foram homogeneizadas com movimentos suaves, na forma de oito, misturando o inóculo. Aguardou-se a completa solidificação do meio, invertendo as placas e incubando a série a 35°C por 48 h, para a contagem de Unidade Formadora de Colônias - UFC. Assim obtivemos a microbiota geral do alimento, através da contagem de aeróbios por placa (PCA).

Após a incubação foram selecionadas, da série, as placas contendo entre 25 e 250 colônias. Realizou-se a contagem do respectivo número de colônias, com auxílio do contador de colônias, multiplicando o número de colônias pela recíproca da diluição correspondente, obtendo a UFC por grama de alface ou mililitro de água. O método utilizado foi por plaqueamento em profundidade. Os resultados obtidos das amostras de alface foram comparados com os padrões estabelecidos para o estudo até 106 UFC/g.

3.5.2 Contagem de coliformes totais, coliformes termotolerantes

Para pesquisa de coliformes, utilizamos 1ml da água peptonada 0,1 % com 16 a 20 horas de incubação após fase de pré-enriquecimento. Semeamos em meio Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA). O qual metade do meio VRBGA foi vertido em placa de Petri, deixando solidificar e então vertida a outra metade (semi-anaeróbio).

Foi determinada através do Número Mais Provável, utilizando um método clássico de fermentação da lactose, por meio da técnica dos tubos múltiplos de acordo com Silva; Junqueira e Silveira (2001), que permite a recuperação de células

injurizadas pelo enriquecimento. Esta técnica se divide em teste presuntivo, teste confirmativo para coliformes totais, teste confirmativo para coliformes termotolerantes e teste confirmativo para *E. coli* método tradicional.

3.5.3 Enriquecimento em caldo seletivo

Após a fase de pré-enriquecimento, descrita no item 3.4.2, foi realizado o enriquecimento seletivo, transferindo 1ml do pré-enriquecimento para um tubo de ensaio contendo 9 ml Caldo Rappaport incubando-se a 42 °C por 24 horas, e o mesmo a outro tubo de ensaio contendo 9ml de Caldo Selenito Cistina (SC). Incubou-os a 37°C por 24 horas, em seguida de cada tubo foi estriado um leve inoculo da cultura nos meios Hecktoen (HE) e o Ágar Salmonella Shigella (SS). De cada colônia suspeita foi realizada a coloração de GRAM.

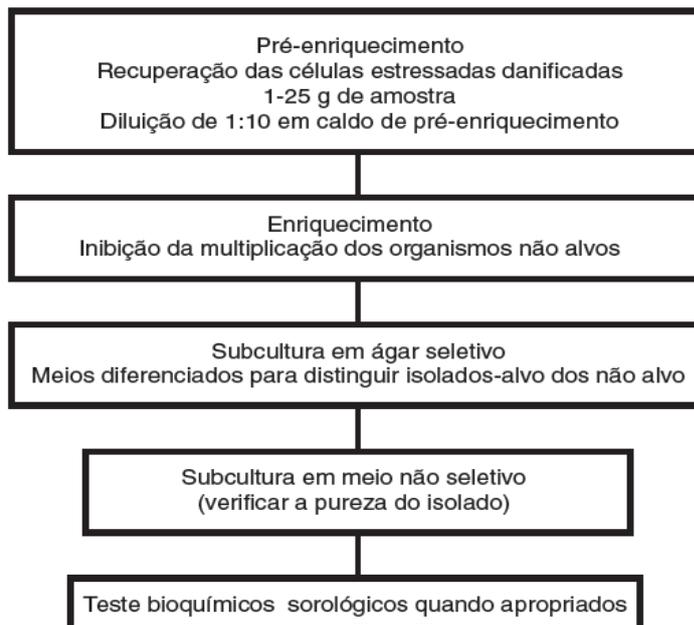


Figura 13: Esquema de metodologia
Fonte: Arquivo pessoal do autor, 2018.

3.5.4 Análises estatísticas

Para análises microbiológicas os dados obtidos foram digitados em planilha do programa Microsoft Excel 2010 e analisados estatisticamente com o auxílio do *Software Statistica Single User versão 13.2*. As variáveis qualitativas foram dispostas em tabelas de frequência com o teste Exato de Fisher que avalia associações entre as variáveis de acordo com os grupos. Já as variáveis quantitativas foram apresentadas em tabelas com média, mínimo, máximo e desvio padrão seguido do teste *Kruskal-Wallis* para a comparação dos grupos seguindo do teste de *Dunn* para avaliar quais grupos diferem-se entre si, o nível de significância adotado nos testes foi de 5%, ou seja, foram consideradas significativas as comparações cujo $p < 0,05$.

4. Resultados e discussões

Todas as amostras analisadas apresentaram contaminações simultaneamente por algum ovo ou larva de helminto, entretanto nenhuma amostra apresentou estruturas características de cistos de protozoários.

Em relação à adubação com TF, o Gráfico 1 demonstra que em todas as amostras analisadas observou-se a presença de larvas de ancilostomídeo (AC), independente da concentração de adubação utilizada, sendo encontrado em T2/TF a presença das três formas evolutivas dos helmintos detectados. Em alguns tratamentos foram encontrados ovos de *Taenia* sp.

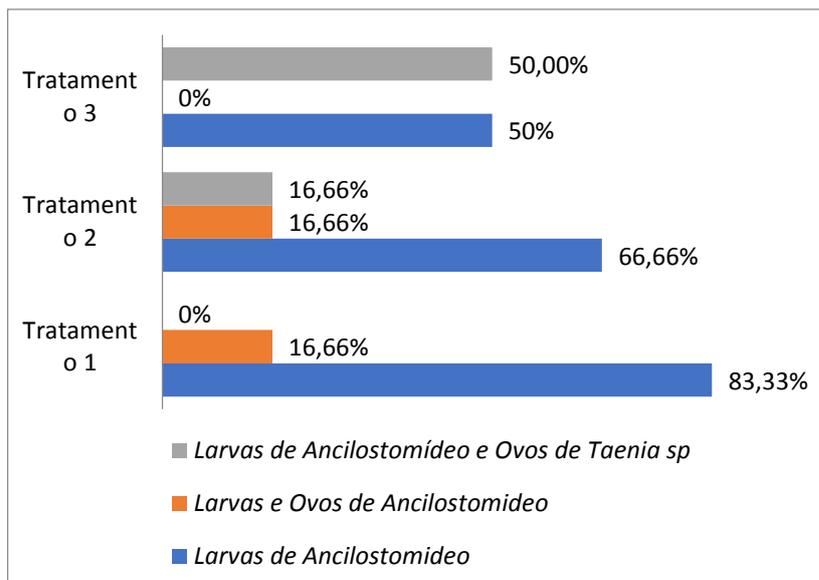


Gráfico 1: Porcentagem de helmintos encontrados na análise da alface com adubo Torta Filtro em cada tratamento utilizado

Fonte: O autor, 2018.

Se levando em conta de que o tratamento 1 representa a ausência de adubação, e que neste foram observadas as maiores porcentagens de positividade para ovos e larvas de helmintos, pode-se inferir que o solo estava previamente contaminado e que a adubação proveu efeito protetor sobre a contaminação das alfaces.

Na adubação com MA demonstra que em todas as amostras analisadas foram visualizadas a presença de larvas de ancilostomídeo (AC) bem como ovos de *Taenia* sp, independente da concentração de adubo utilizada (Gráfico 2).

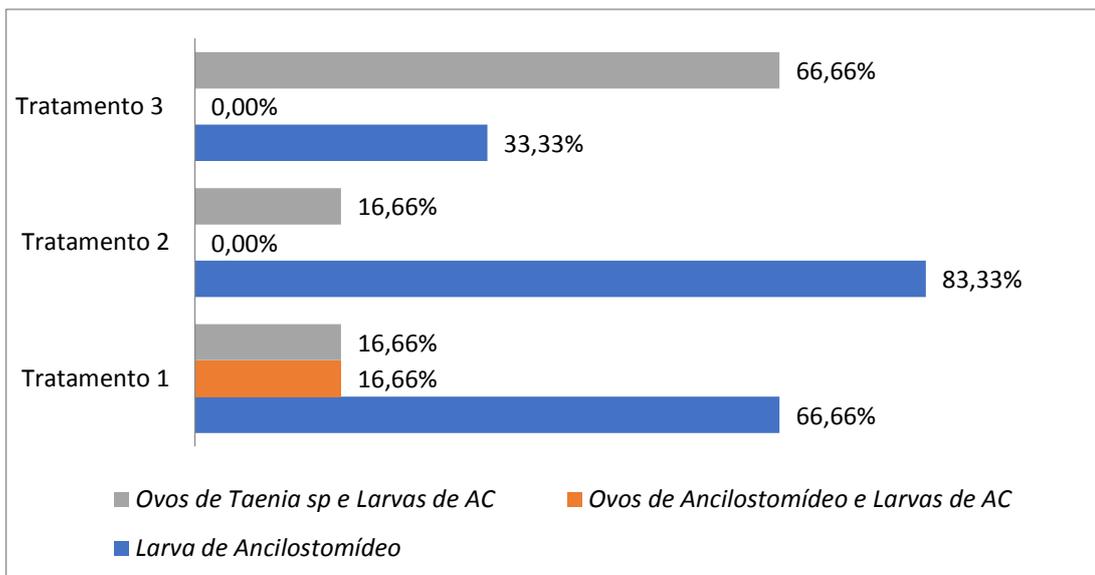


Gráfico 2: Porcentagem de helmintos encontrados na análise da alface com adubo Manipueira em cada tratamento utilizado

Fonte: O autor, 2018.

Na adubação com RA, observada no gráfico 3, há presença de larvas de AC em todas as doses testadas, no entanto não foi verificada a presença de ovos de AC, como nos demais adubos agroecológicos, havendo aumento da presença de ovos de *Taenia sp*. Acredita-se que o aumento na concentração do adubo possa ser fator predisponente para eclosão dos ovos encontrados em T1, e este o motivo para encontrar-se mais larvas do que ovos na alface.

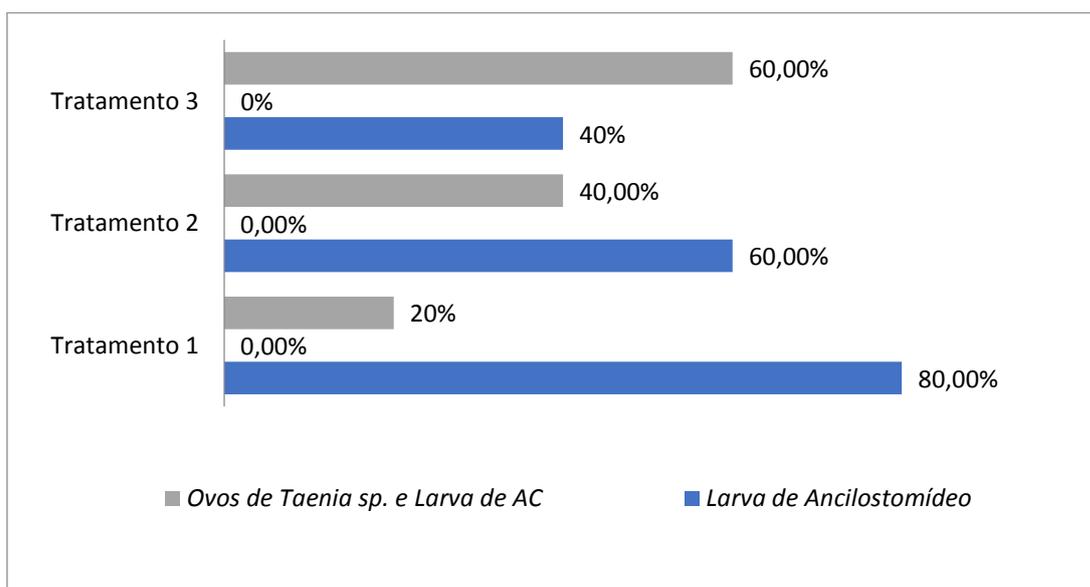


Gráfico 3: Porcentagem de helmintos encontrados na análise da alface com adubo Resíduo Agroindustrial em cada tratamento utilizado

Fonte: O autor, 2018.

A doença ancilostomose popularmente conhecida como amarelão, ou doença do Jeca Tatu, apresenta duas espécies da família *Ancilostomyidae* mais comuns no Brasil sendo *Necator americanus* Stiles e *Ancylostoma duodenale* (NEVES et al., 2012).

Estima-se a existência de 1,5 bilhões de pessoas infectadas mundialmente por helmintos transmitidos pelo contato com o solo. Estas parasitoses são frequentes em áreas tropicais e subtropicais, com os maiores índices registrados nos continentes africano, asiático e latino-americano, tendo em vista que as condições climáticas e de saneamento básico são mais propícias para o desenvolvimento e transmissão das mesmas. As manifestações clínicas em seres humanos incluem penetração dérmica pela infecção de larvas, passagem transpulmonar, sintomas gastrointestinais agudos e comprometimento nutricional crônico. (ROCHA et al, 2019). O presente estudo apresentou presença de larvas deste parasito na totalidade das amostras de alface analisadas.

No ambiente, o ancilostomídeo apresenta parte de seu ciclo terrestre quando as condições ideais de desenvolvimento são oferecidas (oxigenação satisfatória, umidade e temperatura elevadas). Larvas de Ancilostomídeos eclodem dos ovos com cerca de 24 horas de permanência no solo tornando-se menos protegidas do que as de outras espécies de geohelmintos, que evoluem no interior dos ovos e somente eclodem quando os ovos são ingeridos por hospedeiro suscetível (CHIEFFI, 2015).

O ciclo de vida da *Taenia* sp não apresenta fase terrestre, portanto sua presença em alimentos é um indicativo de que houve contaminação fecal (EDUARDO et al, 2002). A morfologia dos ovos desse parasito não permite distinguir as espécies *Taenia solium* ou *Taenia saginata*, sendo a aquela proveniente de suínos e esta de bovinos. Quanto maior a quantidade de adubo proveniente de resíduos agroindustriais utilizado no cultivo da alface maior a presença deste helminto. Este tipo de resíduo é composto por sobras de abatedouros bovino e

suíno. A ingestão de ovos de *Taenia* causa patologias helmínticas como a teníase e a cisticercose cerebral, excepcionalmente causada pela *Taenia solium*.

Entre os riscos de adquirir a cisticercose proveniente da ingestão de ovos de *T. solium* ressalta-se a neurocisticercose e sua grande representatividade entre as patologias inflamatórias do sistema nervoso central, que pode levar à morte e a cisticercose intraocular, que pode levar a cegueira (RIBEIRO; TELLES; BALIAN, 2012).

Em estudos relacionados com a contaminação em hortaliças pelo Brasil, em específico alfaces crespas vendidas em mercados e feiras livres, registrou-se que os índices de contaminação entre protozoários e helmintos variou de 1% a 37,8% (BELINELO et al., 2009).

Em um estudo recente com alfaces comercializadas em feira livre da cidade de Barro– CE observou a presença de enteroparasitas, como ancilostomídeo em 85% das amostras analisadas, estes dados corroboram este estudo, o que segundo Rey (2002) é um indicativo de contaminação fecal humana (NASCIMENTO et al, 2017)

De acordo com JÚNIOR, GONTIJO e SILVA (2012) avaliou-se 19 amostras de alfaces de 10 restaurantes em Gurupi-TO, em 2 restaurantes foram positivados para parasitos, sendo as estruturas de *Endolimax nana* e *Balantidium coli* não corroboram este estudo na qual foram observados ovos de helmintos.

No estudo de Guimarães et al. (2003) a água de irrigação das hortaliças representou a principal fonte de contaminação. O estudo realizado em Lavras-MG analisou 81 amostras de água provenientes de 44 áreas rurais utilizadas na irrigação de hortaliças que em sua totalidade estavam contaminadas por coliformes fecais.

Mesmo utilizando-se 2 tipos de irrigações distintas, notou-se os mesmos microrganismos contaminantes nas amostras analisadas. Uma hipótese é de que o solo seja a principal fonte de contaminação, carregado pela irrigação por aspersão e/ou pela chuva. De acordo com Cantos et al (2004) microrganismos são carregados e disseminados em frutas e hortaliças desde a pós-colheita, pelo ar, pela irrigação, chuva, vetores, como por: animal de pequeno ou grande porte, insetos, falta de higiene dos manipuladores, equipamentos não higienizados, má conduta de operários e caixas de coleta/transporte não lavadas.

Os padrões microbiológicos de alimentos para consumo humano no Brasil são determinados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução RDC Nº 12 (BRASIL, 2001). As bactérias relacionadas às limitações estabelecidas por esta legislação quase sempre não alteram a aparência dos alimentos contaminados. No entanto, a possibilidade da presença desses microrganismos nos alimentos pode colocar em risco a saúde do consumidor.

Tanto na diluição -3 quanto na -5 no meio de cultura PCA, as amostras que foram cultivadas em adubação Manipueira apresentou valores inferiores quando comparadas as demais adubações (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição do meio de cultura PCA segundo a média, mínimo, máximo e desvio padrão, de acordo com os tipos de adubação.

Grupo (Meio de cultura PCA)	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	
Dil. -3 ¹					
Adubação Manipueira	3,5		47	4,7	,0001*
Adubação Torta de Filtro	3,7		138	9,7	
Adubação Res. Agro.	9,3	1	173	7,2	
Dil. -5 ¹					
Adubação Manipueira	0,3		117	3,2	,0004*
Adubação Torta de Filtro	05,3	7	253	8,3	
Adubação Res. Agro.	2,7	3	151	0,6	

*p valor significativo pelo teste *Kruskal-Wallis* considerando nível de significância de 5%;

¹Adubação Manipueira difere das demais (Teste de Dunn).

Na diluição -3, a adubação Manipueira apresentou valores inferiores quando comparado às demais adubações (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição do meio de cultura segundo a média, mínimo, máximo e desvio padrão, segundo os tipos de adubação.

Grupo	Média	Mínimo	Máximo	M desvio Padrão	
Dil. -3 ¹					
Adubação Manipueira	0,9	0	2,9	0,8	0,0070*
Adubação Torta de Filtro	1,7	0	3,5	1,7	
Adubação Resíduo Agroindustrial	0,6	0	2,4	0,8	
Dil. -5					
Adubação Manipueira	1,2	0	5,7	6	0,3852
Adubação Torta de Filtro	2,9	0	9,1	4,3	
Adubação Resíduo Agroindustrial	9,4	0	7,9	1,6	

*p valor significativo pelo teste *Kruskal-Wallis* considerando nível de significância de 5%;

¹Adubação Manipueira difere dos demais (Teste de *Dunn*).

O Ágar de Contagem em Placa (PCA), é um meio de crescimento microbiológico comumente usados para avaliar ou monitorar o crescimento bacteriano "total" ou viável de uma amostra, não sendo um meio seletivo. No presente trabalho a amostra foi semeada em meio seletivo para crescimento de *Salmonella*, encontramos colônias com características semelhantes a mesma. Aqui utilizada para obter a microbiota geral do alimento através da contagem de aeróbios por placa.

Os padrões microbiológicos de alimentos para consumo humano no Brasil são determinados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através

da Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001). Contaminação através da água, solo, ar, insetos, mãos e alimentos, tendo a água como o principal veículo de contaminação (BARROS et al, 2018). Todas as amostras apresentam-se de acordo com a Resolução da ANVISA para *Salmonella* spp.

Como o objetivo do trabalho foi avaliar a presença ou não de enteroparasitoses na alface cultivada em sistema agroecológico, e a *Salmonella* é o gênero de maior relevância na família *Enterobacteriaceae*, selecionou-se colônias que cresceram com características de *Salmonella* e foi realizada a confirmação.

Uma vez selecionadas colônias sugestivas nos meios indicadores seletivos estas foram transferidas para meios de triagem, aqui utilizamos o meio Rugai com Lisina o qual destina-se à identificação presuntiva de enterobactérias. Sua finalidade principal é a triagem bioquímica de colônias isoladas nos meios seletivos.

A *Salmonella* sp. é um dos microrganismos mais amplamente distribuídos na natureza, sendo o homem e os animais seus principais reservatórios naturais. A existência de portadores assintomáticos e a sua permanência no ambiente e alimentos fazem com que ela assuma um papel de grande relevância na Saúde Pública mundial. Aves e bovinos são responsáveis pela maioria da disseminação desse agente patógeno (SHINOHARA, 2008).

Não houve crescimento de *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras analisadas, determinando que todas as amostras estavam de acordo com a Resolução da ANVISA (BRASIL, 2001), que estabelece a ausência de *Salmonella* spp. em 25g de hortaliças, frescas, “in natura”, inteiras, selecionadas ou não. Bonilha e Falcão (1994) encontraram *Salmonella* spp. em 6% das amostras de água de irrigação e 2% das alfaces lavadas ou não, sendo isolados *S. miami*, *S. bredney* e *S. Abaetetuba*, correlacionando o fato a toxinfecção alimentar ocorrida no mesmo período, na cidade de Araraquara – SP, por *S. miami*. Palú et al. (2002) em suas análises microbiológicas de frutas e hortaliças encontraram os resultados: das 15 amostras de saladas com hortaliças frescas servidas em restaurantes do tipo self-service encontraram 4 (26,7%) das saladas cruas fora dos limites estabelecidos pela legislação para *Salmonella* spp, sendo 1 (6,7%) salada de alface.

Takayanagui et al. (2000), ao avaliarem hortaliças em sua maioria alface de 129 hortas do município de Ribeirão Preto-SP encontraram 4 hortas com presença de microrganismos patogênicos *Salmonella spp.* Takayanagui et al. (2007), ao analisarem 88 hortas produtoras de verduras após a implantação do sistema de fiscalização em Ribeirão Preto-SP, isolaram uma cepa de *Salmonella panamá*.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Comparando os resultados apresentados nesta pesquisa com os citados devemos levar em conta que mesmo não observando a presença de *Salmonella spp.*, os produtores precisam considerar medidas preventivas de saneamento e orientação aos manipuladores.

Nas análises parasitológicas, as alfaces cultivadas apresentaram contaminação por diferentes formas evolutivas de parasitos, em sua totalidade por possível transmissão fecal humana nas diferentes formas e concentrações de adubações, estando fora dos padrões de consumo normatizado pela comissão nacional de normas e padrões para alimentos, Resolução - CNNPA nº 12, de 1978, na qual estabelece a ausência total de parasitos e larvas em verdura.

Como a análise começou desde o início do transporte a qualidade das alfaces foi insatisfatória, fica evidente a importância da utilização de práticas de higienização adequadas antes do consumo e a necessidade do fortalecimento do sistema de vigilância sanitária para que haja maior fiscalização desse setor e melhor qualidade higiênica da alface. Ressalta-se também a necessidade de ações educativas destinadas aos produtores e o monitoramento parasitológico constante de hortaliças e de todo o seu processo, desde o cultivo até o consumo.

6. REFERÊNCIAS

ABCSEM. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS. **Projeto para levantamento dos dados socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil**. Campinas-SP: ABCSEM, 2016. 16 p. Disponível em: < http://www.abcsem.com.br/upload/arquivos/O_mercado_de_folhosas__Numeros_e_Tendencias_-_Steven.pdf> Acesso em: 12 jun. 2017

ABCSEM. **Mapeamento e qualificação da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil**. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. Brasília: CNA, 2017.

ALMEIDA, R, S. SILVA, F. **Uso de manipueira na produção de biomassa de plantas espontâneas**. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE AGROECOLOGIA. 11., 2018, Anais... v. 13, n 1, jul. 2018. Disponível em: < <http://cadernos.aba-agroecologia.org.br/index.php/cadernos/index> >. Acesso em: 10 set. 2018.

AMORIM, N. C. S.; AMORIM, E. L.C.; KATO, M. T. et al. **Efeito da inibição da metanogênese, concentração de inóculo e substrato na produção de hidrogênio e ácidos carboxílicos a partir de efluente de mandioca**. Biodegradação (20, 18) 29: 41. Disponível em, <https://doi.org/10.1007/s10532-017-9812-y>, acesso em 26 de setembro de 2018.

ARAÚJO, A. C. **Viabilidade econômica e sanitária do cultivo da alface em sistema hidropônico com diferentes tipos de água**. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais) – Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2017.

ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S; STERTZ, S. C.; CARVALHO, L. A. **Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais**. Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.30 supl.1 Campinas May 2010, disponível em <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612010000500033>> .Acesso 05 de mar de 2019.

Associação Brasileira de Saúde Coletiva. Dossiê ABRASCO. **Um alerta sobre o impacto dos Agrotóxicos na Saúde**. Parte 1- Agrotóxicos, Segurança Alimentar e Saúde. Rio de Janeiro: ABRASCO; 2015.

AZEVEDO, E.; **Alimentos orgânicos: ampliando conceitos de saúde humana, ambiental e social**. Tubarão: Editora Unisul, 2018.

BALIONI, A. B.et al. Avaliação higiênico-sanitária de alfaces agro-ecológicas e cultivadas com agrotóxicos, comercializadas na região de Campinas – SP. Hig. Alim., v. 17, n. 112, p.73-78, 2003

BARBOSA, V. A. A.; FILHO, F. C. C.; SILVA, A. X. L.; OLIVEIRA, D. G. S.; ALBUQUERQUE, W. F.; BARROS, V. C. **Comparação da contaminação de alface (*Lactuca sativa*) proveniente de dois tipos de cultivo.** Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal (v.10, n.2) p. 231 – 242, abr – jun/2016.

BARROS, D. M.; SANTOS C. Y. B.; SILVA, F. A.; MOURA, D. F.; ROCHA, T. A.; FERREIRA, S. A. O.; CAVALCANTE, M. K. A.; BRAZ, M. M. S. **Foods contaminated by enteroparasites: a public health Brazilian Journal of health question.** Review Braz. J. Hea. Rev., Curitiba, v. 2, n. 1, p. 277-289, jan./feb. 2019. ISSN 2595-6825 277 Recebimento dos originais: 09/11/2018 Aceitação para publicação: 11/12/2018 .

Brasil. Ministério da Saúde. (2001) Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.** Portal Anvisa, Brasília. Recuperado em 2016, 20 de dezembro de http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b .

BONILHA, P.R.M. **Comparação das condições sanitárias entre as alfaces cultivadas e comercializadas na cidade de Araraquara.** Alimentação Nutritiva., v. 4, p.125-130, 1992.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira.** Brasília: Ministério da Saúde; 2014.

CARVALHO, M. M. X.; NODARI, E. S.; NODARI, R. O. **“Defensivos” ou “pesticidas”? Uma história do uso e percepção de agrotóxicos no estado de Santa Catarina, Brasil, 1950-2002.** Hist. cienc. saude-Manguinhos vol.24 no.1 Rio de Janeiro Jan./Mar. 2017.

CHIEFFI, P. P. **Helmintoses e alterações ambientais e climáticas.** Arquivos Médicos Hospitalares. Faculdade Ciências Médicas Santa Casa. São Paulo. 60:27-31. 2015.

COMAS, C. C. **Agricultura é uma aliada no uso e conservação d'água.** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa, Manejo de Recursos Hídricos. Outubro, 2018.

DUARTE, L. G. C.; ACOSTA, M. B. R.; **Pesquisa da existência de bactérias Gram negativas endofíticas potencialmente patogênicas para o homem em hortaliças provenientes de cultivos orgânicos.** Rev. Venez. Endocrinol. Metab. vol.13 no.1 Mérida mar. 2015.

DUARTE, A. S. ROLIN, M. M. **Alterações dos atributos físicos e químicos de um Neossolo após aplicação de doses de manipueira.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 17, n. 9, p. 938–946, 2013. Acesso em set. 2018

EMBRAPA; **Manual de Segurança e Qualidade na Produção de Alface Minimamente Processada.** Brasília: EMBRAPA/SEDE, 2004. 43 p. (Qualidade e

Segurança dos Alimentos). Projeto PAS Campo. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA.

FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura), **O ônus das doenças transmitidas por alimentos e os benefícios do investimento na alimentação segura**. OMS, OMC, AU. n CA2809PT, Rome: World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2019.

FAO/WHO (2008) **Microbiological hazards in fresh leafy vegetables and herbs: Meeting Report**. Microbiological Risk Assessment Series, 14. Rome. 151pp. Disponível em <http://www.fao.org/3/ai0452e.pdf> Acesso em 19/06/16.

FAOSTAT. **Food and agriculture organization of the united nations**. 2012. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> Acesso em: 15 fev.2018.

FRAGA, Rosana Araújo et al. Desempenho morfológico de alface proveniente de mudas desenvolvidas em diferentes substratos alternativos. **Cadernos de Agroecologia**, [S.l.], v. 11, n. 2, dec. 2016. ISSN 2236-7934. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/cad/article/view/21323>. Acesso em: 03 fev. 2019.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**, 3 ed. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 421 p. 2008.

GOMES GP; AZEREDO LSG; SEKIYA A; EUZEBIO MP; ROBAINA RR; MARINHO CD. 2016. **Registro e proteção de olerícolas no Brasil, período de 1998 a 2014**. Horticultura Brasileira 34. Mar.2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/hb/v34n1/1806-9991-hb-34-01-00019.pdf>. Acesso em: 04 mar.2018.

GREGÓRIO, D.S; MORAES, G.F.A.; NASSIF, J.M.; ALVES, M.R.M.; CARMO, N.E.; JARROUGE, M.G.; BOUÇAS, R.I.; SANTOS, A.C.C.; BOUÇAS, T.R.J. 2012. **Estudo da contaminação por parasitas em hortaliças da região leste de São Paulo**. Science in Health., 3(2): 96-103.

HERNANDES et al. **Enteroparasitos em alfaces (Lactuca sativa) do Sul do Rio Grande do Sul, Brasil**. Revista Panam Enfoque Informativo 2018; 1(1):21-27.

HERNANDES J. C.; BACCEGA B.; SANTOS L. F.; VELLEDA C. S.; NAGEL, A. S.; VILLELA M. M. **Prevalência de enteroparasitos em alfaces (Lactuca sativa) comercializadas em estabelecimentos no Sul do Rio Grande do Sul, Brasil**. Programa de pós-graduação em Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas/RS-Brasil. Rev Panam Enf Inf 2018; 1(1):21-27. 2018.

HESS, S. C.; PORTO, M.F. S. **Agrotóxicos, como controlar as nossas necessidades**. Disponível em: <http://bscca.ufsc.br/files/2012/12/CartilhaAgrotoxicos.pdf> . p.1-16. Acesso em: 24 jul. 2018. 2014.

HOHWEYER, J., CAZEAUX, C., TRAVAILLÉ, E., LANGUET, E., DUMÈTRE, A., AUBERT, D., TERRY, C., DUBEY, J.P., AZAS, N., HOUSSIN, M., LOIC, F., VILLENA, I., LA CARBONA, S. **Simultaneous detection of the protozoan parasites Toxoplasma, Cryptosporidium and Giardia in food matrices and their persistence on basil leaves**. Food Microbiology 57(3),36–44. 2016.

HORTIFRUTI BRASIL. **Chove na minha horta em 2018?** CEPEA, ano16; - nº175. Fevereiro, 2018. Disponível em: <<http://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/completo/chove-na-minha-horta-em-2018.aspx>>. Acesso em 08 mar.2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Consumo nacional de compostos orgânicos e vegetais por área plantada**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=p&o=8&i=P&c=771> . Tabela 771: Acesso em: 29 jul. 2018. 2015.

JESUS, R. P. **Qualidade de mudas de eucalipto e acácia em substratos de resíduos agroindustriais**. 167 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.

JOBBINS, S.E.; ALEXANDER, K.A. **Whence they came - antibiotic-resistant *Escherichia coli* in African wildlife**. Journal of Wildlife Diseases, v. 51, n. 4, p. 1-10, 2015.

JUNG, Y., JANG, H., MATTHEWS, K.R. **Effect of the food production chain from farm practices to vegetable processing on outbreak incidence**. Microbial Biotechnology 7,517-527. 2014.

JUNIOR, M. A. P. O. ; ORRICO, A. C. A.; JUNIOR, J. L. **Compostagem dos resíduos da produção avícola: cama de frangos e carcaças de aves**. Rev. Eng. Agríc., Jaboticabal, v.30, n.3, p.538-545, maio/jun. 2010.

LEITE, D.; MIGLIAVACCA, R. A.; MOREIRA, L. A.; ALBRECHT, A. J. P.; FAUSTO, D. A. **Viabilidade econômica da implantação do sistema hidropônico para alface com recursos do PRONAF em Matão-SP**. Revista iPecege, Piracicaba-SP, v. 2, n. 1, p. 57-65, 2016.

LIMA, B. V. et al. **A adubação orgânica e a sua relação com a agricultura e o meio ambiente**. V Encontro Científico e Simpósio de Educação Unisalesiano, Lins, v. 5, p.1-12, out. 2015. Acesso em 22 fev. de 2019.

LIMA, J. O. G. de; FRANÇA, A. M. M.; LOIOLA, H. G. **Implicações Hidroquímicas da Condutividade Elétrica e do Íon Cloreto na Qualidade das Águas Subterrâneas do Semiárido Cearense.** Revista Virtual de Química, Ceará, v. 6, n. 2, p. 279-292, 2014.

LÚCIO, A. D.; HAESBAERT, F. M.; SANTOS, D.; BENZ, V. **Estimativa do tamanho de parcela para experimentos com alface.** Hortic. Bras. vol.29 no.4 Brasília Oct./Dec. 2011, acesso em 04 de março de 2019.

LYTLE, M. H. **O gentil subversivo: Rachel Carson, “Primavera silenciosa” e a ascensão do movimento ambientalista.** Nova York: Oxford University Press. 2007.

MACHADO, P.P.; OLIVEIRA, N. R. F.; MENDES, A. N. **O indigesto sistema do alimento mercadoria.** Saúde e Sociedade, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 505-515, 2016.

MARTINS, A. P. B. et al. **Participação crescente de produtos ultraprocessados na dieta brasileira (1987-2009).** Revista de Saúde Pública, São Paulo, v.47, n. 4, p. 656-665, ago. 2013.

MELO, R. A. de C. e M.; BOTREL, N.; MADEIRA, N. R. ; AMARO, G. B.; AZEVEDO, U. S.; **Avaliação de acessos de fisális sob duas formas de condução de plantas em sistema agroecológico nas condições do Cerrado** Embrapa Hortaliças Brasília, DF 2016 .BOLETIM DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO NUM. 140, ISSN 1677-2229, ACESSO EM 26 DE SET 2018. Novembro, 2016

MEIRELLES, A. F. M.; BALDOTTO, M. A. ; BALDOTTO, L. E. B.; **Produtividade da alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta à aplicação de ácidos húmicos e bactérias diazotróficas, em condições de campo** **Rev. Ceres vol.64 no.5** Viçosa set./out. 2017 , acesso em 26 de out de 2018 <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737x201764050014> .

MENG, Q.; CHEN, X.; LOBELL, D. B.; CUI, Z.; ZHANG, Y.; YANG, H. et al. **Growing sensitivity of maize to water scarcity under climate change.** **Scientific Reports.** v. 6, p. 19605, 2016.

MONTEIRO, I. **Mercado de alface cresce continuamente no Brasil.** Rev. Grupo cultivar de publicações. Out. 2016.

MOGHARBEL, A. D.; MASSON, M. L. **Perigos associados ao consumo da alface, (*Lactuca sativa*), in natura.** Alimentos e Nutrição Araraquara, v. 16, n. 1, p. 83-88, 2005.

MUNIZ, P. H. P. C.; MARQUES, M. G.; PEIXOTO, G. H. S.; SIMÃO, K. G.; CARVALHO, D. D. C. **Caracterização morfológica de *Alternaria alternata***

associado a sementes de alface americana cv. 'Astra'. Revista de Agricultura Neotropical, Cassilândia-MS, v. 5, n. 1, p. 82-86, jan./mar. 2018. ISSN 2358-6303. 2018.

NASCIMENTO, W. M.; DIAS, D. C. F. S.; SILVA, P. P. **Qualidade da semente e estabelecimento de plantas de hortaliças no campo**. In: **NASCIMENTO, W. M. (Ed.)**. Hortaliças: tecnologia de produção de sementes. Brasília-DF: Embrapa Hortaliças p. 79-106. 2011.

NASCIMENTO, S.G.S.; BECKER, C.; SILVA, F. N.; CALDAS, N. V.; ÁVILA M. R. **Produção agroecológica e Segurança Alimentar e Nutricional (Brasil)**. Rev. de Ciências Agrárias vol.42 no.1 Lisboa mar. 2019. Acesso em Mai. 2019.

NOLLA A. C.; CANTOS G. A. **Relação entre a ocorrência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos e aspectos epidemiológicos em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil**. Caderno Saúde Pública. 2005; 21:641-645.

NUNES, A. M.; BRAUER, W.; SILVA, J. C.; SOUZA, A. A.; SOUZA, A. A. **Intestinal parasites among employees of restaurants and cafeterias in a city of Brazil**. Rev. salud pública v. 19 n. 5 Sep-Oct 2017

OLIVEIRA, C.D.; SILVA J.R.; SILVA, M. A. **Impacto do descarte irregular dos resíduos da mandioca em solos do assentamento Sílvio Vianano em São Luiz do quintude**. Ciências exatas e tecnológicas. Maceió v. 3, n.2, p. 71-80. 2016. Acesso em 10 set. 2018.

PEREIRA, I. S.; PEREIRA, M. T. **Olericultura**. NT Editora; Brasília, 2016. Disponível em: <http://avant.grupont.com.br/dirVirtualLMS/portais/livros/pdfs_demo/Olericultura_Demo.pdf>. Acesso em: 01 Mar.2018.

PINHEIRO, R. M.; PANOZZO, L. E. **Beneficiamento de sementes de alface**. South American Journal of Basic Education, Technical and Technological. V.5, n. 2, p. 232-243, ago. 2018. ISSN: 2446-4821.

POZZEBON, L.; RAMBO, A. G.; GAZOLLA, M. **As Cadeias Curtas das Feiras Coloniais e Agroecológicas Autoconsumo e Segurança Alimentar e Nutricional. Desenvolvimento em Questão**. Ed. Unijuí. ano 16, n. 42, p. 405-441. jan./mar. 2018.

QUITAISKI, P. P.; FINGER, L.; QUITAISKI, K. P.; JÚNIOR, E. S.; POZZO, D. M. D. **Sistema de reaproveitamento de águas pluviais para irrigação automatizada de hortaliças**. Braz. J. of Develop., Curitiba, v. 4, n. 7, Edição Especial, p. 4259-4276, nov. 2018

REGHIN, M. Y. et al. **Viabilidade do sistema de produção de mudas em bandejas em três cultivares de cebola.** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 31, n. 4, p. 1075-1084, jul./ago., 2007.

RIBEIRO, N. A. S.; TELLES, E. O.; BALIAN, S. DE C. **O Complexo Teníase Humana-Cisticercose: ainda um sério problema de saúde pública.** Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP, v. 10, n. 1, p. 20-25, 11.

RIEPE, A. J. **Produção agroecológica de hortaliças no assentamento contestado.** Revista Qualidade Emergente, 2015, V. 6, N. 1: 27-40 Lapa- Paraná.

RODRIGUES, R. R. et al. Desenvolvimento inicial de brócolis em diferentes disponibilidades hídricas. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 10-41, 2013.

ROCHA, M. J.; WEBER, D. M.; COSTA, J. P. **Prevalência de larvas migrans em solos de parques públicos da cidade de Redenção, estado do Pará, Brasil.** Rev Pan-Amaz Saude vol.10 Ananindeua 2019 Epub 01-Jul-2019

RODRIGUES, V. W. B. et al. **Eficiência do fertilizante organomineral produzido a partir de resíduos agroindustriais na cultura da cana-de-açúcar.** IV Simpósio Internacional Sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais, Rio de Janeiro, v. 4, p.1-4, maio 2015.

SANTOS, B. C.; MENDONÇA, A. P. L.; CARVALHO, E. R.; SILVA, M. V. P.; LEONARDO, N. B.; VALLONE, H. S. **Substituição do substrato comercial por vermicomposto de torta de filtro na produção de mudas de couve.** Anais do II Seminário de Pesquisa e Inovação Tecnológica, Uberaba, MG, v.2, n.1, set., 2018.

SANDRI, D.; ROSA, R. R. B. Atributos químicos do solo irrigado com efluente de esgoto tratado, fertirrigação convencional e água de poço. IRRIGA - Brazilian Journal of Irrigation and Drainage, Botucatu, v. 22, n. 1, p.18-33, 2017.

SCHERER, K.; GRANADA, C. E.; STÜLP, S.; SPEROTTO, R. A. **Avaliação bacteriológica e físico-química de águas de irrigação, solo e alface (*Lactuca sativa* L.).** Rev. Ambient. Água vol.11 no.3 Taubaté July/Sept. 2016. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-993X2016000300665&lang=pt Acesso 01 set. 2019.

SCHERER, K.; GRANADA C. E.; STULP, S.; SPEROTTO, R. A. **Avaliação bacteriológica e físico-química de águas de irrigação, solo e alface (*Lactuca sativa*).** Revista Ambiente Água vol.11 no.3 Taubaté jul./set. 2016 <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1829> acesso em 26 de set. de 2018.

SCHIAVON JÚNIOR, A. A. **Produtividade e qualidade de brócolos em função da adubação e espaçamento entre plantas**. 2008. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo.

SCHMIDT, E. I. **Estudo e qualidade das águas subterrâneas na região sudoeste do município de Estrela - RS. 2006**. 91p. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Centro Universitário Univates, Lajeado, 2006.

SEDIYAMA, M. A. N.; SANTOS, I. C.; LIMA, P. C. **Cultivo de hortaliças no sistema orgânico**. Revista Ceres, Viçosa, v. 61, Suplemento, p. 829-837, nov/dez, 2014.

SILVA, André Luiz Pereira da. **Adubação fosfatada e potássica para brócolis e couve-flor em Latossolo com alto teor desses nutrientes**. / André Luiz Pereira da Silva. Tese (Doutorado) – Jaboticabal, 2013.

SILVA, T. C.; RODRIGUES, T. P.; DE CARVALHO, P. D.; OLIVEIRA, T. B.; CAMPOS, D. M. B. Encontro de Rhabditis sp em alface *Lactuca sativa* comercializada em Anápolis, Goiás, Brasil. Revista de Patologia Tropical, v. 42, n. 2, 2013.

SILVA, H. C. **Biossólido e torta de filtro na composição de fertilizantes organominerais na cultura do feijoeiro comum**. 2016. Trabalho de conclusão de curso - universidade federal de Uberlândia instituto de ciências agrárias curso de agronomia Uberlândia 2016.

SOUZA, R. T. X. **Fertilizante Organomineral para produção de cana-de-açúcar**. 2014. 87 f. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal de Uberlândia. 2014. Uberlândia, MG. 2014.

TANGUNE, Bartolomeu Félix. **Produção de brócolis irrigado por gotejamento, sob diferentes tensões de água no solo**. Dissertação de Mestrado. – Lavras: UFLA; 73 p. 2012.

VAN DYK, B. N.; DE BRUIN, W.; DU PLESSIS, E. M.; KORSTEN, L. **Microbiological food safety status of commercially produced tomatoes from production to marketing**. Journal of Food Protection, v. 79, n. 3, p. 392-406, 2016.

VIEIRA, M. M.; CARVALHO, A. M. P.; ZULIANI, D. Q.; VIEIRA, M. M.; **As intenções do uso de agrotóxicos no Brasil: políticas públicas, debate socio-ambiental e agronegócio**. Seminário Nacional de Sociologia da UFS Programa de Pós-Graduação em Sociologia – PPGS Universidade Federal de Sergipe – 25 a 27 de Abril de 2018 ISSN: 2526-3013. 2018.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 317 p.

SAKATA; Informativo da sakata . 18 ed. Janeiro/ fevereiro/ março de 2017.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Committee on Microbiological for Foods**. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4.ed. Washington:American Public Health Association, 2001. 676p.

VANDERZANT C. e SPLITTSTOESSER D. F., **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3 ed Washington: American Public Health Association, 1992. 1219p.

FIORI, M. G. S.; SCHOENHALS M.; FOLLADOR, F. A. C. **Análise da evolução tempo-eficiência de duas composições de resíduos agroindustriais no processo de compostagem aeróbia**. Engenharia ambiental, Espírito Santo do Pinhal, v. 5, n. 3, p. 178-191, set/ dez 2008.

SHINOHARA, N. K. Sakugawa et al. **Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos**. *Ciênc. saúde coletiva* [online]. 2008, vol.13, n.5, pp.1675-1683. ISSN 1413-8123.

TAKAYANAGUI, Osvaldo M. et al. **Fiscalização de hortas produtoras de verduras do município de Ribeirão Preto, SP**. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [online]. 2000, vol.33, n.2, pp.169-174. ISSN 0037-8682.