



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE TECNOLOGIA



MARALINE CONSERVANI KLINGOHR ZANATTA

Avaliação da toxicidade e análise de risco de lodo de esgoto e metais para
Enchytraeus crypticus

Evaluation and risk analysis of sewage sludge and metals toxicity to
Enchytraeus crypticus

LIMEIRA

2023

MARALINE CONSERVANI KLINGOHR ZANATTA

Avaliação da toxicidade e análise de risco de lodo de esgoto e metais para
Enchytraeus crypticus

Tese apresentada à Faculdade de Tecnologia da
Universidade Estadual de Campinas como parte
dos requisitos exigidos para a obtenção do título
de Doutora em Tecnologia, na área de
Ambiente.

Orientadora: Profa. Dra. Marta Siviero Guilherme Pires

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO FINAL
DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA MARALINE
CONSERVANI KLINGOHR ZANATTA, E ORIENTADA
PELA PROFA. DRA. MARTA SIVIERO GUILHERME
PIRES

LIMEIRA

2023

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Tecnologia
Felipe de Souza Bueno - CRB 8/8577

Z15a Zanatta, Maraline Conservani Klingohr, 1986-
Avaliação da toxicidade e análise de risco de lodo de esgoto e metais para
Enchytraeus crypticus / Maraline Conservani Klingohr Zanatta. – Limeira, SP :
[s.n.], 2023.

Orientador: Marta Siviero Guilherme Pires.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Tecnologia.

1. Análise de risco. 2. Metais pesados. 3. Bioindicador. 4. Solos -
Qualidade. I. Pires, Marta Siviero Guilherme, 1969-. II. Universidade Estadual
de Campinas. Faculdade de Tecnologia. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Evaluation and risk analysis of sewage sludge and metals toxicity
to *Enchytraeus crypticus*

Palavras-chave em inglês:

Risk analysis

Heavy metals

Bioindicator

Soils - Quality

Área de concentração: Ambiente

Titulação: Doutora em Tecnologia

Banca examinadora:

Marta Siviero Guilherme Pires [Orientador]

Cassiana Maria Reganhan Coneglian

Elaine Cristina Catapani Poletti

Maria Aparecida Marin Morales

Ana Paula Justiniano Régo

Data de defesa: 02-09-2023

Programa de Pós-Graduação: Tecnologia

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-1742-9770>

- Currículo Lattes do autor: <https://lattes.cnpq.br/1006484342916129>

FOLHA DE APROVAÇÃO

Abaixo se apresentam os membros da comissão julgadora da sessão pública de defesa de dissertação para o Título de Doutora em Tecnologia na área de concentração de Ambiente, a que submeteu a aluna Maraline Conservani Klingohr Zanatta, em 02 de setembro de 2023 na Faculdade de Tecnologia- FT/ UNICAMP, em Limeira/SP.

Profa. Dra. Marta Siviero Guilherme Pires

Presidente da Comissão Julgadora

Profa. Dra. Cassiana Maria Reganhan Coneglian

FT - UNICAMP

Profa. Dra. Elaine Cristina Catapani Poletti

FT – UNICAMP

Profa. Dra. Maria Aparecida Marin Morales

UNESP

Dra. Ana Paula Justiniano Régo

Justy BioSolutions

Ata da defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria de Pós Graduação da FT.

Dedico aos meus filhos Luiza e Henrique, os maiores presente de Deus para minha vida.

Às minhas duas avós e meu avô, que agora são as minhas estrelas.

AGRADECIMENTOS

Meu agradecimento a Deus, por tudo que vivi nesse tempo, pela saúde, família e amigos. Os próximos agradecimentos vão para meu marido Jonatas, minha filha Luiza e meu filho Henrique que nasceu no meio do processo de doutorado.

Aos meus pais, os melhores que existem, meus alicerces, amores da minha vida. Minha irmã maravilhosa e toda minha família.

À minha querida orientadora Profa. Dra. Marta S. G. Pires que é um exemplo de professora, orientadora, pessoa e amiga para mim. Minha gratidão por todo caminho que percorri ao seu lado, sempre contando com seu apoio e ensinamentos.

Às participantes da banca examinadora, Dra. Cassiana Maria Reganhan Coneglian, Dra. Maria Aparecida Marin Morales, Dra. Elaine Cristina Catapani Poletti e Dra. Ana Paula Justiniano por aceitarem o convite e pelas contribuições.

À doutoranda Marcela Ravanelli Martins que guardo com tanto carinho, pois com ela não tínhamos dia e nem hora para uma ajudar a outra (e como me ajudou). Aos bolsistas de graduação pela ajuda no laboratório e aos técnicos dos laboratórios da FT.

À mestra Mariana Granzoto que me ensinou a cuidar dos organismos com tanto zelo, minha companheira de congresso.

A Unicamp e todo corpo docente que fizeram parte da minha vida acadêmica, desde a faculdade. Tenho muito orgulho dessa instituição.

Ao campus da USP-São Carlos, através da Ma. Dayane Oliveira e professora Dra. Vanessa B. M. Oliveira.

A Capes pelo auxílio financeiro que proporcionou minha permanência integral nesse projeto. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

O lodo de esgoto (LE) apresenta potencial agronômico e já vem sendo utilizado na agricultura em vários países. No entanto, devido à presença de metais tóxicos no resíduo, há possibilidade deste uso afetar a qualidade do solo, causando toxicidade aos organismos edáficos, como os enquitreídeos. O objetivo desse trabalho foi caracterizar e avaliar 3 amostras de diferentes lodos de esgoto quanto ao potencial agronômico, e sua toxicidade quando aplicado ao solo natural, bem como quantificar e realizar análise de risco dos metais presentes nestas amostras a partir do ensaio ecotoxicológico com *E. crypticus*, em dois solos diferentes, natural e artificial. Para a realização dos testes, as amostras de lodo bruto foram armazenadas em bags geotêxtis até a estabilização e após isso, foram caracterizadas quanto seu potencial agronômico e composição química de acordo com CONAMA nº 498/2020 e aplicadas ao solo-teste. Também foram realizados ensaios de reprodução com o organismo *E. crypticus*, para determinar os valores de CENO, CEO e CE50 dos LE e dos metais detectados no resíduo, no solo natural e no solo artificial, em condições controladas de temperatura, umidade e fotoperíodo. Os três LE estudados tiveram valores iguais para CEO e CENO e não apresentaram diferença estatística para CE50, apesar das amostras serem diferentes quanto à composição dos metais. O metal em maior concentração nos LE e o que apresentou maior risco, para o organismo avaliado, foi o Zn, mas o Ni, apesar de estar dentro dos limites preconizados pela resolução brasileira, foi classificado como alto risco, principalmente no solo natural. Também foi calculado o quociente de risco, a partir dos limites máximos preconizados no CONAMA nº 498/2020 e pode-se observar que, baseado na análise de risco, os limites devem ser revisto, pois apresentaram alto risco para os metais Zn, Ni, Cu e Cr. Concluiu-se que não houve efeito tóxico do lodo de esgoto aos *E. crypticus* na taxa recomendada para a cultura de milho. Na taxa de aplicação máxima anual, a soma dos quocientes de risco dos metais resultou em baixo risco, mas as concentrações de metais isoladamente devem ser sempre avaliadas quando a aplicação de LE no solo em longo prazo.

Palavras-chave: Análise de risco, metais tóxicos, bioindicador, qualidade do solo.

ABSTRACT

Sewage sludge (SS) has agronomic potential and has already been used in agriculture in several countries. However, due to the presence of toxic metals in the residue, there is a possibility of this use affecting the quality of the soil, causing toxicity to edaphic organisms, such as enchytreids. The objective of this work was to characterize and evaluate 3 samples of different sewage sludge as the agronomic potential, and its toxicity when applied to natural soil, as well as quantify and perform risk analysis of the metals present in these samples from the ecotoxicological test with *E. crypticus*, in two different soils, natural and artificial. For the tests, the samples of raw sludge were stored in bags geotextiles until stabilization and after that, they were characterized as its agronomic potential and chemical composition according to CONAMA 498/2020 and applied to the test soil. Reproduction tests were also performed with the organism *E. crypticus* to determine the values of NOEC, LOEC and EC50 of the SS and the metals detected in the residue in natural and artificial soil, under controlled conditions of temperature, humidity and photoperiod. The three SS studied had equal values for NOEC and LOEC and showed no statistical difference for EC50, despite the samples being different in terms of metal composition. The metal in higher concentration in the SS and the one that presented greater for the evaluated organism was Zn, but Ni, despite being within the limits recommended by the Brazilian resolution, was classified as high risk, mainly in natural soil. The risk quotient was also calculated, based on the maximum limits recommended in CONAMA 498/2020 and it can be seen that, based on risk analysis, the limits must be reviewed as they are considered high risk for metals Zn, Ni, Cu and Cr. It was concluded that there was no toxic effect of sewage sludge to *E. crypticus* at the recommended rate for maize. At the maximum annual application rate, the sum of the risk quotients of metals resulted in low risk, but the concentrations of metals alone should always be evaluated when the application of SS in the soil in the long term.

Keywords: Risk analysis, toxic metals, bioindicator, soil quality.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mapa do Índice de atendimento urbano por rede de esgoto por capital e estado, distribuído por faixas percentuais.....	20
Figura 2 – Comparação entre as alternativas de disposição do LE para diferentes países.....	26
Figura 3 – Foto do organismo-teste <i>E. crypticus</i> adulto.....	35
Figura 4 - Meio de cultivo com <i>E. crypticus</i> do Laboratório de Ecotoxicologia do Solo (LAECOS/UNICAMP)	41
Figura 5 – LE coletado acondicionado em <i>Bag</i> geotêxtil para estabilização	42
Figura 6 - Foto do <i>E. crypticus</i> na fase adulta, com indicação do clitelo.....	46
Figura 7 – Recipiente contendo solo e organismos à esquerda e recipiente corado com finalizado com álcool 70% e rosa de bengala.....	47
Figura 8 – Resultados dos valores de umidade (%), taxa de estabilização e condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$) dos LE no dia da coleta (T_i) e após o período de estabilização (T_f)	53
Figura 9 – Valor de CE50 (mg kg^{-1}) e erro padrão (EP) dos metais em SN e SAT	67
Figura 10 – Valores de CE50 \pm EP para ensaio de sensibilidade dos <i>E. crypticus</i> , entre 2018 e 2021, com Ácido Bórico.....	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Limites máximos de metais em lodo de esgoto para sua aplicação em solos agrícolas, preconizados nas legislações brasileira (Brasil, 2020), americana (USEPA, 1993) e europeia (EC, 1986).....	28
Tabela 2 – Caracterização química das amostras de solo – SAT e SN utilizadas nas análises ecotoxicológicas	39
Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos dos LE brutos, determinados logo após a coleta nas ETE.....	41
Tabela 4 – Metodologias aplicadas aos parâmetros físico-químicos, químicos e de potencial agrônomo	43
Tabela 5 – Compostos utilizados nos ensaios ecotoxicológicos com <i>E. crypticus</i> e as concentrações aplicadas nos solos-teste	45
Tabela 6 – Valores de N, em kg ha ⁻¹ , para variadas espécies de milho.....	50
Tabela 7 – Resultados das análises físico-químicas e caracterização do potencial agrônomo das amostras de LE estabilizadas.....	51
Tabela 8 – Resultados de metais presentes, em mg kg ⁻¹ , no LEE e comparativo com legislações brasileira, americana e europeia.....	57
Tabela 9 – Resultados de CE50 (±EP), CEO e CENO ($\alpha=0,05$) dos testes com <i>E. crypticus</i> em SN e SAT contaminados pelos metais As, Ba, Cd, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb e Zn, isoladamente, com exposição de 28 dias a 20°C	61
Tabela 10 – Concentração esperada de cada substância (PEC) no solo a partir da taxa de aplicação anual, para a cultura de milho, e da determinação da concentração dos metais presentes no LE	70
Tabela 11 – Valores de Quociente de Risco (QR) calculados a partir das quantificações de metais presentes nas amostras de LE estudadas e a taxa de aplicação, em solo natural (SN) e solo artificial tropical (SAT)	71
Tabela 12 – Ordem decrescente da concentração presente no LE e dos níveis de risco no SN	72
Tabela 13 – Quociente de risco hipotético dos metais para LE que alcancem as concentrações máximas preconizadas no CONAMA n° 498/2020 (Brasil, 2020)	74

Tabela 14 – Resultados de CE50 (\pm EP), CEO e CENO ($\alpha=0,05$) dos testes com <i>E. crypticus</i> em SN com adição de diferentes concentrações de LE, de três ETE distintas, com exposição de 28 dias a 20°C	76
Tabela 15 – Resultados do ensaio de sensibilidade dos <i>E. crypticus</i> nos anos de 2018 a 2021	95
Tabela 16 – Valores de pH inicial e final para todos os tratamentos (metais e LE), nos solos naturais e artificiais.....	97
Tabela 17 - Valores dos testes paramétricos de tratamentos com distribuição normal e homocedásticos, dos metais em SN e SAT, seguidos dos resultados dos testes de Dunnet e CE50	98
Tabela 18 - Valores dos testes não paramétricos de tratamentos com distribuição não normais e/ou heterocedásticos, dos metais em SAT, a partir do teste de Kruskal-Wallis, seguidos dos resultados dos testes de Dunn e CE50	98
Tabela 19 - Valores dos testes paramétricos e não paramétricos das amostras de lodo de esgoto seguidos dos resultados dos testes de Dunnet ou Dunn e CE50	99

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA - Análise de Variância unidirecional

CE - Condutividade Elétrica

CE50 - Concentração Efetiva para 50% de organismos

CENO - Concentração de Efeito Não Observado

CEO - Concentração de Efeito Observado

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

COT - Carbono Orgânico Total

CR - Coeficiente de Retenção hídrica

CTC - Capacidade de Troca Catiônica

EP - Erro padrão

ETE - Estação de Tratamento de Esgoto

FT - Faculdade de tecnologia

IAC - Instituto Agronômico de Campinas

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LAECOS - Laboratório de Ecotoxicologia de Solos

LE – Lodo de Esgoto

Ndisp - Nitrogênio disponível

NTK - Nitrogênio Total Kjeldahl

OASc - Oxidação em Água Supercrítica

ODS - Objetivos de Desenvolvimento Sustentável

PEC - Predicted Environmental Concentrations

PNEC - Predicted No-Effect Concentrations

PIB - Produto Interno Bruto

PNRS - Política Nacional de Resíduos Sólidos

QR - Quociente de Risco

SAT - Solo Artificial Tropical

SN - Solo Natural

ST - Sólidos Totais

SV - Sólidos voláteis

UASB - Reatores anaeróbios do tipo Upflow Anaerobic Sludge Blanket

UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas

VI - Valores Orientadores de Referência de Investigação

VP - Valores Orientadores de Referência de Prevenção

VR - Valores Orientadores de Referência de Qualidade

WHO - World Health Organization (Organização Mundial das Nações)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS.....	18
2.1	Objetivos gerais.....	18
2.2	Objetivos específicos.....	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
3.1	Esgotamento sanitário.....	19
3.2	Lodo de esgoto: Características gerais.....	21
3.3	Composição e tratamentos do lodo de esgoto.....	22
3.4	Reciclagem do lodo de esgoto na agricultura.....	25
3.5	Metais no lodo de esgoto.....	27
3.6	Metais no solo.....	29
3.7	Ecotoxicologia do solo.....	31
3.8	<i>Enchytraeus crypticus</i> como bioindicador.....	34
3.9	Ensaio ecotoxicológico com lodo de esgoto.....	35
3.10	Análise de risco.....	36
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
4.1	Materiais.....	38
4.1.1	Solos.....	38
4.1.2	Amostras de lodo de esgoto.....	40
4.1.3	Cultivo do organismo <i>E. crypticus</i>	41
4.2	Métodos.....	42
4.2.1	Estabilização e caracterização do lodo de esgoto.....	42
4.2.2	Aplicação de lodo de esgoto no solo.....	43

4.2.3	Contaminação do solo com metais.....	44
4.2.4	Toxicidade Aguda com <i>Enchytraeus crypticus</i>	45
4.2.5	Ensaio de sensibilidade para <i>Enchytraeus crypticus</i>	47
4.2.6	Análise estatística	47
4.2.7	Análise de risco ecotoxicológica	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.1	Caracterização do potencial agrônômico do lodo de esgoto.....	51
5.2	Caracterização de substâncias químicas das amostras de lodo de esgoto	56
5.3	Ensaio ecotoxicológico com os metais	59
5.4	Solo natural e artificial – o papel do solo na toxicidade dos metais.....	66
5.5	Avaliação de risco ecotoxicológico	69
5.6	Ensaio de ecotoxicidade do lodo de esgoto	76
6	CONCLUSÃO.....	80
7	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	81

1 INTRODUÇÃO

O Lodo de Esgoto (LE) tem sido gerado em grandes quantidades em virtude da aceleração da urbanização e do conseqüente aumento do volume de esgoto coletado e tratado pelas Estações de Tratamento de Esgotos (ETE). Sendo um resíduo rico em nutrientes e matéria orgânica, pode ser reciclado e utilizado no solo (Gusiatin et al., 2018; Tan et al., 2023) e esta alternativa de disposição apresenta vantagens como: auxiliar a restauração da fertilidade do solo devido ao potencial agrônômico, diminuição da quantidade do resíduo enviada para aterros sanitários e substituição dos fertilizantes que são produzidos a partir de recursos naturais finitos.

Os problemas associados ao LE como, por exemplo, a destinação final do resíduo, têm atraído cada vez mais atenção dos planejadores públicos e urbanos, pela dificuldade que a sociedade moderna enfrenta quanto ao gerenciamento desse resíduo de maneira econômica e ambientalmente aceitável, sendo uma alternativa promissora sua aplicação no solo.

No entanto, o LE pode ser motivo de preocupação quando usado em solo devido à presença de metais, que podem causar toxicidade neste compartimento ambiental (Chen et al., 2023). Altas concentrações de metais tóxicos, quando adicionados no solo agrícola, podem contaminar solo, água e trazer risco em todo o ecossistema terrestre. As legislações brasileira, americana e europeia regulamentam o uso de LE em solos agrícolas estabelecendo limites máximos que consideram apenas parâmetros químicos.

A caracterização do LE por análises químicas é extremamente importante quando se trata de sua aplicação na agricultura, mas é insuficiente para avaliar os riscos no meio ambiente. Portanto, a escolha pela disposição do LE na agricultura não deve ser baseada apenas nos teores de metais detectados (Duan e Feng, 2022), mas também em métodos biológicos, como a ecotoxicologia, os quais podem ser aplicados para auxiliar no gerenciamento desse resíduo (Gusiatin et al., 2018) e garantir uma avaliação do potencial de risco mais realista dos efeitos em longo prazo de LE aplicado em solos agrícolas.

O organismo *E. crypticus* é um bioindicador da mesofauna usado para avaliar a qualidade do solo e toxicidade de elementos químicos e resíduos se dispostos ao solo, mas ainda existem poucos estudos dos efeitos causados nesta espécie para solos que receberam a aplicação de LE e para contaminação de solos por metais, principalmente em solos tropicais naturais. Embora existam alguns trabalhos que avaliam os efeitos dos metais presentes em

solos para organismos edáficos, grande parte deles desenvolvidos em solos artificiais, preparados em laboratórios.

O LE aplicado no solo pode induzir efeitos adversos sobre os organismos de solo, afetando a sua sobrevivência, habilidade reprodutiva, comportamento e capacidade metabólica. Dessa forma, esse estudo tem como objetivo avaliar a toxicidade do LE, em solos naturais, e dos metais preconizados no CONAMA n° 498/2020 (Brasil, 2020), em dois tipos de solos, natural e artificial, na reprodução do organismo edáfico *E. crypticus*, bem como fazer análise de risco da aplicação do LE na agricultura considerando os teores dos metais presentes nos LE, valores de CENO (concentração de efeito não observado) para a reprodução de *E. crypticus* e taxa de aplicação, de acordo com a cultura pretendida.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Avaliar o risco de aplicação de lodo esgoto em solo agrícola e dos metais, por meio de ensaio ecotoxicológico de reprodução de *E. crypticus*, em solo natural e artificial.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a caracterização do potencial agrônomo e de substâncias químicas de 3 amostras de lodos de esgoto;
- Fazer ensaios ecotoxicológicos com *E. crypticus* em solos naturais que receberam aplicação de lodo de esgoto;
- Fazer ensaios ecotoxicológicos com *E. crypticus* em solo natural (SN) e solo artificial tropical (SAT) para os metais previstos no CONAMA n° 498/2020 e avaliação da diferença das toxicidades dos metais nos dois solos;
- Realizar a análise de risco ecotoxicológico e influência dos metais sobre a utilização do lodo de esgoto; e,
- Comparar a toxicidade dos metais e os limites máximos anuais preconizados no CONAMA n° 498/2020.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Esgotamento sanitário

Saneamento básico é definido na Lei brasileira nº 11.445/07 como sendo “o conjunto de serviços, infraestruturas e instalações operacionais de abastecimento de água potável, esgotamento sanitário, limpeza urbana e manejo de resíduos sólidos e drenagem e manejo das águas pluviais urbanas” (Brasil, 2007).

Incluído nessa definição, o esgotamento sanitário deveria atender toda a população, o que não é uma realidade no Brasil. A Secretaria Nacional de Saneamento (SNS) realizou o diagnóstico dos serviços de água e esgoto no Brasil, tendo como ano de referência 2021, e os dados levantados mostram que a média de serviço da rede de esgoto em todo território nacional foi de 55,8%, o que representa 117,3 milhões de habitantes e, do esgoto coletado, 80,8% são tratados, o que corresponde 51,2% de todo LE gerado (SNIS, 2022).

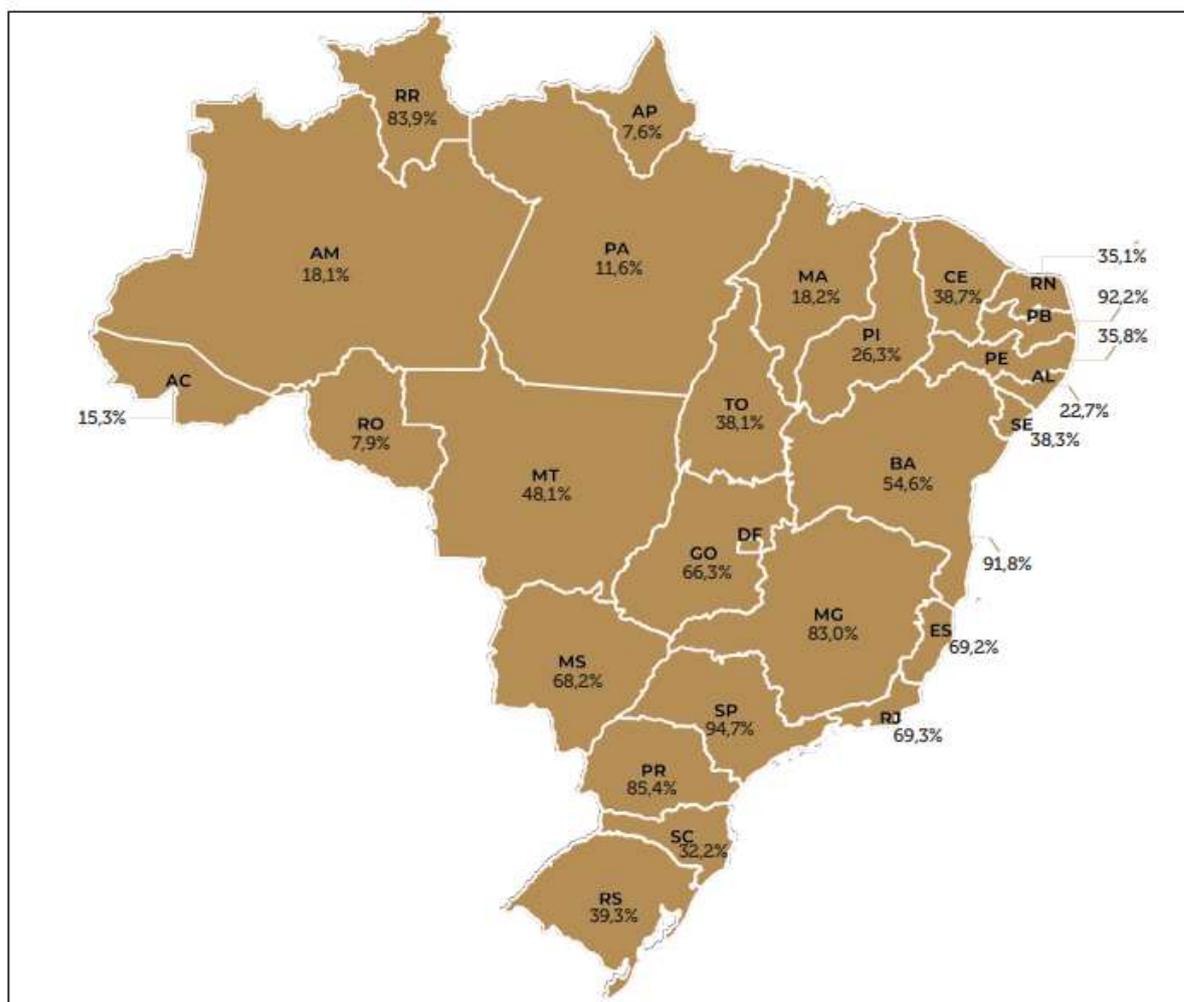
Esses valores refletem a grande necessidade de investimentos e avanços na área de saneamento no Brasil, aqui representado pelo esgotamento sanitário. É possível observar que quase metade da população ainda não tem o serviço disponível e parte do esgoto ainda não é tratada, o que causam riscos à saúde pública e ambientais.

Ainda analisando o diagnóstico dos serviços de água e esgoto no Brasil, quando visto por regiões, o quadro é ainda mais preocupante. No levantamento de 2021 a Região Norte tinha apenas 14,0% da população total atendida com a coleta de esgoto sanitário, enquanto na Região Sudeste o atendimento era de 81,7%, sendo esta a região que mais coleta esgoto (SNIS, 2022).

No Distrito Federal e nos estados São Paulo, Paraná, Roraima, Paraíba e Minas Gerais a coleta de esgoto, em 2021, atendeu mais de 80% da população, já no Maranhão e nos estados do Norte como o Amapá, Acre, Amazonas, Pará e Rondônia, nem 20% da população é atendida por coleta de esgoto (SNIS, 2022). Em volume de esgoto, o Brasil coletou aproximadamente 6 bilhões de m³ de esgoto sanitário, sendo 4 bilhões de m³ só no Sudeste (SNIS, 2022).

A figura 1 apresenta os estados brasileiros e suas capitais, bem como a porcentagem de população que tem o serviço de coleta de esgoto, mostrando o desequilíbrio do saneamento entre os estados.

Figura 1 – Mapa do Índice de atendimento urbano/ rede de esgoto/capital e estado, distribuído por faixas percentuais



Fonte: SNIS, 2022.

Na comparação por estados, destaca-se São Paulo com o maior índice de coleta de esgoto, com índice de 94,7%, já no Amapá o atendimento de coleta do esgoto é de 7,6% da população, o menor índice brasileiro dentre os estados.

O atendimento de serviços básicos de saneamento à população, em especial o esgotamento sanitário, não é deficitário apenas no Brasil. A Organização Mundial das Nações (World Health Organization – WHO) levantou que, entre 2000 e 2017, a população aumentou 1,4 bilhões de pessoas e o acesso ao saneamento duplicou de 1,7 bilhões para 3,4 bilhões de pessoas atendidas nesse mesmo período, o que representa um salto de 28% para 45% de pessoas com acesso sanitário (WHO/UNICEF, 2020). Esse levantamento traz que 4,2 bilhões de pessoas não tem serviços adequados de saneamento e isso ameaça o bem-estar humano e

ambiental. Por mais que houve avanço no setor, ainda mais de metade da população mundial não é atendida com o primordial do serviço de saneamento.

O saneamento no Brasil e no mundo ainda precisa ser expandido para atender toda a população. De acordo com WHO/UNICEF (2020), será necessário quaduplicar a expansão do setor de saneamento para atingir um dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), estabelecido pela Organização das Nações Unidas (ONU), que é ter a cobertura total da população até 2030 com acesso aos serviços de saneamento.

A consequência da expansão no atendimento dos serviços de tratamento de efluentes (Teoh e Li, 2020), do aumento do produto interno bruto (PIB) dos países (Sharma et al., 2017), do crescimento demográfico e da maior eficiência do tratamento é o aumento do volume de LE gerado nas estações de tratamento de esgoto (ETE). Desta forma, é preciso buscar alternativas de gerenciamento e disposição do LE mais sustentável.

3.2 Lodo de esgoto: características gerais

O LE é um resíduo sólido ou semissólido gerado nas estações de tratamento de esgoto (ETE) (USEPA, 2009; Fijalkowski et al., 2017). É possível encontrar definições do LE como sendo subproduto de ETE, mas o mesmo deve ser tratado como resíduo (Fijalkowski et al., 2017) e, por ser considerado um resíduo (e não rejeito), as ETE precisam fazer seu adequado gerenciamento, seguindo a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) que dispõe diretrizes para gestão integrada e para o gerenciamento de resíduos sólidos no Brasil (Brasil, 2010).

O artigo 55 da Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010, que institui a PNRS (Brasil, 2010) prevê que apenas rejeito pode ser disposto em aterros sanitários, já os resíduos precisam ser tratados (quando necessários) e utilizados. A PNRS denomina resíduos sólidos como:

“material, substância, objeto ou bem descartado resultante de atividades humanas em sociedade, a cuja destinação final se procede, se propõe proceder ou se está obrigado a proceder, nos estados sólido ou semissólido, bem como gases contidos em recipientes e líquidos cujas particularidades tornem inviável o seu lançamento na rede pública de esgotos ou em corpos d’água, ou exijam para isso soluções técnica ou economicamente inviáveis em face da melhor tecnologia disponível.”

A PNRS ainda denomina rejeitos como:

“resíduos sólidos, depois de esgotadas todas as possibilidades de tratamento e recuperação por processos tecnológicos disponíveis e economicamente viáveis, não apresentem outra possibilidade que não há disposição final ambientalmente adequada” (Brasil, 2010).

Sendo LE um resíduo que apresenta possibilidades de reciclagem e há tecnologias disponíveis e economicamente viáveis para tal, deve ser evitada sua destinação para aterros sanitários. Atualmente, o envio aos aterros sanitários é a prática mais utilizada pelas companhias responsáveis pelo tratamento de esgoto sanitário, sendo a escolha de 45,6% das ETE que geram LE, como indica o levantamento da Pesquisa Nacional de Saneamento Básico (PNSB) (IBGE, 2020). Por regiões, esse levantamento mostra que apenas a Região Sul tem a agricultura como o principal destino do LE, enquanto as outras optam, majoritariamente, por disposição em aterro sanitário.

A disposição final que se dará ao LE deve ser avaliada cuidadosamente, pois o descarte inadequado desse resíduo pode causar degradação ambiental. Práticas de destinação final do LE mais sustentáveis e economicamente viáveis devem ser consideradas e estudadas. E para definir a disposição final mais adequada para o LE, é importante conhecer sua composição e os tratamentos que devem preceder sua reutilização, para garantir que seja feita com segurança.

3.3 Composição e tratamentos do lodo de esgoto

O LE bruto, não desidratado, normalmente contém 97 a 98% de água, sendo o resíduo heterogêneo e muito complexo, composto por materiais orgânicos, micro-organismos, partículas inorgânicas e coloides (Kacprzak et al., 2017; Guo-Hang et al., 2018). O LE contém matéria orgânica, carbono, fósforo, nitrogênio, micronutrientes e ácidos voláteis que o torna um reservatório de energia e de compostos importantes, sendo alguns escassos na natureza como, por exemplo, o fósforo, portanto deve ser reciclado (Kacprzak et al., 2017).

Pela natureza deste resíduo, o LE é considerado uma matriz desafiadora (Mejías et al., 2021), e características físico-químicas são muito variáveis. As possíveis razões de se obter LE diferentes são: o processo de tratamento adotado para o efluente e lodo, as características do efluente tratado e até mesmo as variações sazonais, entre outros (Sharma et al., 2017). A quantidade gerada também é variável dependendo do tratamento aplicado para o

efluente, e alguns processos, como o de lodos ativados, geram grande quantidade de LE (Teoh e Li, 2020).

Vale ressaltar que a estratégia de gerenciamento de LE deve rejeitar soluções com alto grau de risco ao meio ambiente e que a qualidade do resíduo deve ser monitorada cuidadosamente durante o processo de tratamento, a fim de cumprir o conceito de “reduzir, reutilizar e reciclar” (Kacprzak et al., 2017).

Precedendo a escolha da destinação final, o LE deve passar por tratamentos capazes de reduzir a toxicidade e os impactos negativos na saúde humana e no ecossistema (Chen et al., 2012). O tipo de tratamento aplicado ao LE é definido a partir de suas características originárias, de fatores ambientais e da escolha da destinação final (González et al., 2010).

É muito importante definir os métodos mais eficazes quanto à redução do volume e da toxicidade do LE, principalmente quando a disposição do resíduo for realizada em solos agrícolas. Quanto aos métodos que podem ser adotados têm-se os biológicos, químicos, térmicos e termoquímicos (Theo e Li, 2020). Os sistemas de tratamento de LE consistem em adensamento, desidratação e outros alternativos como, por exemplo, a digestão anaeróbia, tratamento aeróbio, secagem e compostagem (Chen et al., 2012).

Em 2020 houve revisão da resolução CONAMA nº 375/2006 (Brasil, 2006) que dispõe sobre critérios e procedimentos para produção e aplicação de LE em solo. O CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020) apresenta alternativas de tratamento para obtenção de LE que atende aos critérios microbiológicos e químicos, apto a ser aplicado em solos, denominado de biossólido, como: compostagem, secagem térmica, digestão aeróbia, pasteurização e outros.

No levantamento do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 1707 municípios brasileiros geraram LE em suas ETE, e desse total 855 (50%) municípios trataram o todo ou parte do seu resíduo, sendo que aproximadamente 21% fizeram o adensamento, 44% a estabilização, 22% o condicionamento, 78% desidratação, 10% outros (IBGE, 2020).

O adensamento é um processo físico que objetiva concentrar os sólidos no lodo e reduzir a sua umidade e a desidratação (ou desaguamento), a mais usual no Brasil, retira a água de forma mecânica (IBGE, 2020). Ambos resultam na diminuição do volume de LE com impacto importante nos custos de transporte para o destino final.

Considerando o ciclo de vida do LE, TEOH e LI (2020), após reunir vários estudos, concluíram que a digestão anaeróbia, pirólise e oxidação em água supercrítica

(OASc) são os tratamentos mais eficazes tanto para a redução do peso/volume, bem como para redução da toxicidade com menor potencial de aquecimento global.

Tratamentos biológicos para o LE, como digestão anaeróbia, compostagem e *wetland*, são muito eficientes na redução de fármacos e compostos orgânicos, mas não reduzem a toxicidade dos metais, já a pirólise e OASc reduzem os níveis de metais, sendo este último podendo chegar em 99% de redução para Cr, Cu, Zn e Fe (Teoh e Li, 2020). A digestão anaeróbia é o tratamento mais utilizado com o intuito de reduzir e estabilizar o LE e a hidrólise térmica é a abordagem mais difundida industrialmente que traz melhoria na digestão anaeróbia de LE em ETE (Chen et al., 2023).

Diferentes tratamentos também influenciam na forma que o metal vai estar presente no LE e dependendo da reação envolvida no processo há a mudança do estado químico do metal, como mostra o trabalho de CHEN et al. (2023). Os autores concluíram que o processo de hidrólise térmica, em conjunto com a digestão anaeróbia, provocou a diminuição da biodisponibilidade dos metais. Apenas a hidrólise térmica fez com que alguns ácidos solúveis e redutíveis (de Zn, Cu e Ni) fossem convertidos em frações oxidáveis e com a digestão anaeróbia para o Zn, o Zn solúvel aumentou, enquanto o Zn oxidável diminuiu (Chen et al., 2023).

Após o tratamento, o LE deve ser encaminhado para sua destinação final, sendo esta considerada um grande problema ambiental e econômico (Mossa et al., 2017), portanto é necessário a criação de alternativas de gerenciamento de resíduos que reduzam as pressões ambientais (Sharma et al., 2017).

KACPRZAK et al. (2017) afirmam que, se a destinação final do LE considerada for o uso como substrato para fertilização (biossólido) e condicionante do solo, a tecnologia de tratamento aplicada ao resíduo obtém um produto de qualidade, além de possibilitar a reciclagem completa de matéria orgânica e reduzir o risco potencial associado à presença de contaminantes.

O tipo de tratamento dado ao LE definirá a qualidade do resíduo quanto à umidade, estabilidade, patogenicidade, concentração de metais, entre outros. A partir da composição final desse resíduo é possível definir o destino final mais adequado. As ETE brasileiras, na sua maioria, desidratam o resíduo, mas uma pequena parte aplicam outros tipos de tratamento como, por exemplo, a estabilização. Não realizar algum tratamento no LE diminui a possibilidade de reciclagem do LE.

3.4 Reciclagem do lodo de esgoto na agricultura

O LE pode ser usado como recurso para gerar energia e calor (digestão anaeróbia, tratamento térmico), como fertilizante e condicionador de solo, fonte de extração de compostos valiosos (recuperação de fósforo) (Fijalkowski et al., 2017; Kacprzak et al., 2017), dentre outras alternativas.

De acordo com KACPRZAK et al. (2017), a reciclagem do LE gera muitas vantagens econômicas e ao meio ambiente como: (a) redução nas emissões de gases de efeito estufa, (b) melhoria das condições do solo (c) redução no uso de combustíveis fósseis, (d) compensação de custos relacionados aos métodos tradicionais de tratamento de resíduos, (e) redução dos patógenos e (f) redução dos custos de energia pelo uso de biogás e biocombustíveis, que podem substituir parcialmente os combustíveis tradicionais. Essas vantagens mostram que a reciclagem é mais economicamente viável e ambientalmente sustentável, em comparação à disposição em aterro sanitário (Kacprzak et al., 2017).

O interesse na reciclagem e recuperação da matéria orgânica e nutrientes do LE na aplicação na agricultura está aumentando (Mejías et al., 2021). O LE é um resíduo com potencial agrônômico positivo tanto para o solo quanto para a planta (Achkir et al., 2023). O uso agrícola do LE é geralmente considerado como o melhor meio de disposição desse resíduo (Mossa et al., 2017), pois a reciclagem de LE nos solos agrícolas representa uma estratégia sustentável por evitar o envio de matéria orgânica para aterros (Picariello et al., 2021).

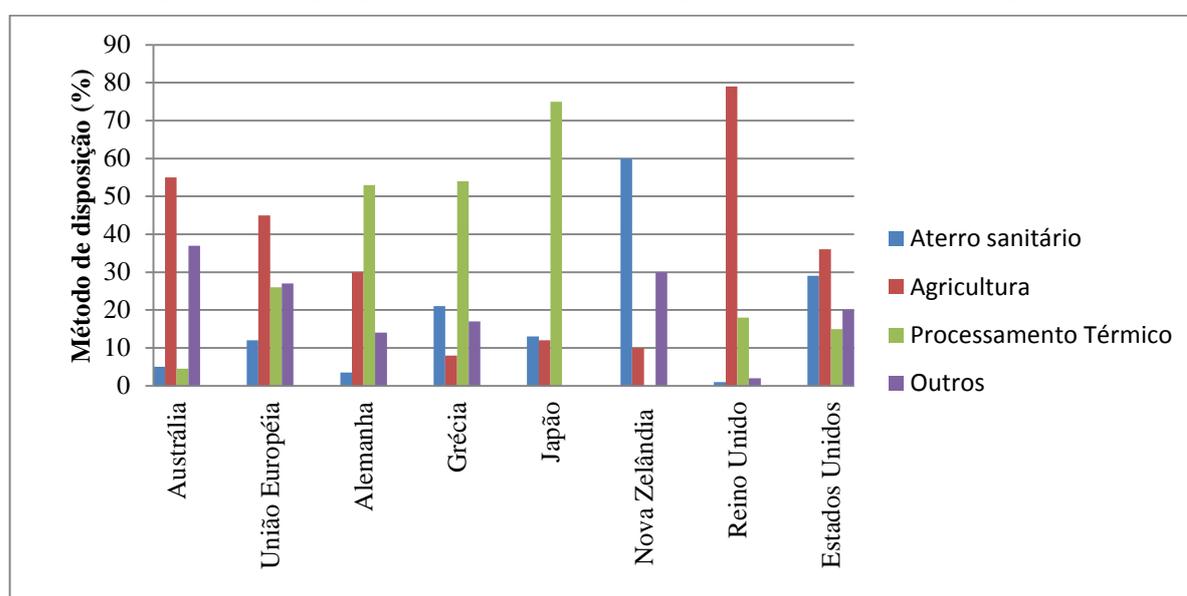
O uso do LE como condicionador de solos altera o conteúdo orgânico do solo, melhorando a qualidade geral do mesmo, devido ao aumento do carbono orgânico, aumento da capacidade de troca catiônica (CTC) e liberação lenta de todos os nutrientes essenciais (Lwin et al., 2018).

O LE é um resíduo rico em matéria orgânica e nutrientes e sua aplicação pode contribuir para a fertilidade do solo, pois fornece macro e micronutrientes necessários para o crescimento das plantas, favorece o aumento da concentração de matéria orgânica, melhora a estrutura do solo, reduz erosão, melhora a fertilidade do solo e a produtividade das culturas (Fang et al., 2017; Fijalkowski et al., 2017; Gonzaga et al., 2017; Sharma et al., 2017; Rajput et al., 2021) e minimiza o uso de fertilizantes químicos (Sharma et al., 2017) que são produzidos a partir de recursos naturais não renováveis.

O uso de fertilizantes minerais em solos agrícolas é a prática de reposição de nutrientes que estarão biodiponíveis aos cultivos (Picariello et al., 2021) e esse uso pode ser substituído pela aplicação do LE de forma gradual, com o objetivo de se adequar ao manejo sustentável.

Países foram citados por SHARMA et al. (2017), quanto a porcentagem em volume do uso de LE, gerado nas ETE, na agricultura: 55% na Austrália, 30% na Alemanha, 8% na Grécia, 12% no Japão, 10% na Nova Zelândia, 79% no Reino Unido e 36% nos Estados Unidos. A figura 2 apresenta esses valores, bem como outras formas de disposição do LE para esses países.

Figura 2 – Comparação entre as alternativas de disposição do LE para diferentes países



Fonte: Dados adaptados de SHARMA et al., 2017.

De acordo com dados apresentados por SHARMA et al. (2017), os baixos valores de uso agrícola do LE no Japão e Grécia são justificados pela forte prática de incineração de LE, sendo 75% e 54%, respectivamente, já para Nova Zelândia 60% do LE é encaminhado para aterros, sendo a maior taxa de destinação entre os países comparados pelos autores. Outro dado interessante nesse trabalho é que o Reino Unido encaminha apenas 1% do LE gerado nas ETE para aterros, enquanto que 79% são destinados para a agricultura.

O poder econômico do país tem relação com a prática de destino final do LE. Em países de alta renda, como EUA, Canadá e Austrália, o LE tratado é amplamente utilizado em solos, já em países menos desenvolvidos é feito descarte do resíduo em aterros, e isso é

possível porque nesses países desenvolvidos, o LE é tratado adequadamente para melhorar sua qualidade e o uso seguro em solo agrícola (Fijalkowski et al., 2017).

De acordo com FIJALKOWSKI et al. (2017) a União Europeia destina 39% do resíduo para agricultura, valor esse baixo na visão dos autores, e esta situação se deve ao fato de que o LE pode conter uma quantidade de diferentes contaminantes que podem gerar riscos.

No Brasil, a difusão dessa prática é muito menor que outros países. Em 2017, 215 do total de 1707 municípios brasileiros (com ETE em operação e que geram LE) destinavam o LE à agricultura, sendo 147 municípios só na região Sul (IBGE, 2020). Não foram encontrados registros mais recentes, quanto ao volume de LE gerado e destinado à agricultura no Brasil.

Os solos que recebem LE como fertilizante têm apresentado melhora agrônômica e rendimentos produtivos comprovados para diferentes espécies de culturas (Sharma et al., 2017), pois há o aumento de matéria orgânica e nutrientes como N e P que favorecem a fertilidade agrícola (Achkir et al., 2023). Mas apesar das vantagens do uso de LE nos solos agrícolas, é importante ter atenção aos riscos que podem acontecer devido a prática.

A prática da aplicação de LE em solos pode ser uma rota importante de contaminação do solo, como, por exemplo, a introdução de compostos xenobióticos em ambientes terrestres (Kinney et al., 2012) e a aplicação à longo prazo pode aumentar o risco de lixiviação, caso a aplicação do resíduo não seja feita com cautela (Achkir et al., 2023).

Portanto, são necessárias algumas precauções quando se deseja usar o LE na agricultura e uma delas é quanto à presença de potenciais contaminantes em que devem atender os limites máximos de concentração no LE como, por exemplo, os metais.

3.5 Metais no lodo de esgoto

A presença de poluentes no LE tratado deve ser considerada, principalmente quando o uso for em solos agrícolas (Fijalkowski et al., 2017; Buta et al., 2021). Os metais tóxicos contidos no LE são elementos químicos de grande preocupação quanto ao risco de contaminação, principalmente em áreas nas quais ocorrem aplicações sucessivas do resíduo (Niva et al., 2016). O aumento das concentrações de metais no LE pode aumentar o risco de poluição ambiental (Chen et al., 2023) e, por esse motivo, é importante que a aplicação do LE na agricultura seja monitorada e controlada.

As concentrações de metais são muito variáveis, podendo ser menores que os limites permitidos nas legislações ou estar em níveis mais elevados (Gusiatin et al., 2018). As

concentrações máximas de substâncias inorgânicas para a aplicação do LE em solos agrícolas estão especificadas no CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020), e esta estabelece as concentrações limites de 11 metais e ainda define o LE em duas classes (1 e 2) que permitem a aplicação na agricultura, sendo a Classe 1 mais restritiva para alguns metais e que também apresenta menos restrições quanto as possibilidades de uso no solo agrícola quando comparada com a Classe 2.

Para os países europeus, a Diretiva Europeia 86/278/EEC (EC, 1986) de LE regula os limites permitidos de Zn, Cu, Ni, Pb, Cd, Cr e Hg, apresentando menores restrições (em número de metais a ser determinados para o uso do LE na agricultura) se comparada à legislação brasileira, mas as concentrações dos metais apresentam limites menores que os brasileiros. O mesmo ocorre com a legislação norte-americana (USEPA, 1994) que apresenta menos elementos para avaliação, mas as concentrações são mais restritivas. A tabela 1 apresenta os valores limites de metais no LE, preconizadas pelas legislações brasileira, americana e europeia.

Tabela 1 - Limites máximos de metais em lodo de esgoto para sua aplicação em solos agrícolas, preconizados nas legislações brasileira (Brasil, 2020), americana (USEPA, 1993) e europeia (EC, 1986)

Elemento traço	Legislações			
	Brasil		EUA	Europa
	Classe 1	Classe 2		
	(mg kg ⁻¹)			
As	41	75	na	na
Ba	1300	1300	na	na
Cd	39	85	20	01/mar
Pb	300	840	190	5-300
Cu	1500	4300	775	50-140
Cr	1000	3000	1450	100-150
Hg	17	57	9	1-1,5
Mo	50	75	na	na
Ni	420	420	230	30-75
Se	36	100	na	na
Zn	2800	7500	1500	150-300

na = não se aplica

⁽¹⁾ Não quantificado, menor que o limite de quantificação.

Muitos países restringem o uso de LE na produção de alimentos devido ao risco potencial de patógenos e contaminações. Outros países como, por exemplo, a Noruega, reciclam o LE e comercializam como fertilizantes, visando maximizar os benefícios da reciclagem e desenvolver tecnologias e sistemas de gestão inovadoras (Kacprzak et al., 2017).

Para tornar a prática mais segura, é necessário conhecer a dinâmica dos metais no solo, resultante da aplicação do LE na agricultura, e os riscos que essa prática pode trazer em curto e em longo prazo para o ecossistema edáfico.

3.6 Metais no solo

Os metais podem ser encontrados naturalmente no solo, fazendo parte da sua composição mineral, mas práticas antrópicas podem contribuir para o aumento da concentração desses metais e interferir, de alguma forma, no funcionamento do ecossistema do solo.

O LE contém metais na sua composição e a aplicação desse resíduo na agricultura pode aumentar a concentração desses metais no solo e, conseqüentemente, colocar em riscos a qualidade e fertilidade do solo, a saúde humana e o ecossistema edáfico. As águas também podem ser afetadas pelo despejo e/ou alto teor de metais no solo, por *run-off* para águas superficiais e por lixiviação para águas subterrâneas. Sendo assim, aplicar LE no solo pode ser preocupante por causa da toxicidade dos metais contidos nesse resíduo, sendo que, quanto maior a concentração de metais, maior o risco de poluição ambiental (Chen et al., 2023).

O CONAMA nº 420/2009 (Brasil, 2009) apresenta critérios e valores orientadores de qualidade do solo, quanto à presença de substâncias químicas, efetuada com base em Valores Orientadores de Referência de Qualidade (VR), de Prevenção (VP) e de Investigação (VI), e classifica o solo em classes que variam de 1 a 4, sendo os solos de classe 1 aqueles que apresentam concentração de metais menor ou igual a VR, considerados solos não contaminados, e classe 4 maior que o valor de investigação (VI), considerados solos contaminados. Ainda nessa legislação é possível encontrar valores orientadores de qualidade do solo, classificação dos solos, prevenção e controle da qualidade dos solos, gerenciamento de áreas contaminadas sem decorrência de atividades antrópicas e, ainda, diretrizes para práticas de aplicação de LE na agricultura.

Para solos que recebem LE como fertilizante, o CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020) estabelece a necessidade de monitoramento do solo quanto aos metais, que deve acontecer com a periodicidade determinada na resolução. Apresenta ainda as cargas

acumuladas teóricas permitidas de substâncias inorgânicas pela aplicação de LE como biossólido, quando se tratar de LE classe 2, mas não apresenta referência dos valores de substâncias químicas às águas subterrâneas, os quais estão definidos no CONAMA nº 420/2009 (Brasil, 2009).

O destino dos metais no solo pode ser influenciado por fatores bióticos e abióticos como, por exemplo, características do solo, espécies vegetais presentes, clima, entre outros. Quando inseridos no ecossistema terrestre, os metais podem apresentar três comportamentos, sendo eles: bioacumulação, bioconcentração e biodisponibilidade.

GUO-HANG et al. (2018), após avaliarem os metais Zn, Cu, Cr, Ni, Cd, Pb, As e Hg em grãos e palhas de trigo e milho, observaram o fator de bioacumulação dos metais semelhantes para os grãos de trigo e milho e as taxas de acumulação encontradas dos metais estão apresentadas a seguir em ordem decrescente: Zn>Cu>Cd>Hg>Ni>Cr>Pb>As e Zn>Cu>Cd>Hg>Cr>Ni>Pb>As, para trigo e milho, respectivamente. Esse estudo demonstrou que o Zn foi o metal com maior bioacumulação nas plantas testadas e o As apresentou menor capacidade de bioacumulação, sendo menos absorvido pelas plantas.

A bioconcentração pode ser usada para indicar a capacidade de transferência de metais dos solos para plantas (Guo-Hang et al., 2018). O acúmulo de metais no solo e a bioconcentração desses elementos no meio ambiente se deve à característica desses contaminantes inorgânicos não serem biodegradáveis, tendo como consequência sua entrada na cadeia alimentar (Fijalkowski et al., 2017) e a aplicação prolongada de LE no solo pode levar ao acúmulo de contaminantes e afetar todo o ecossistema terrestre (Verlicchi e Zambello, 2015; Kacprzak et al., 2017).

A biodisponibilidade é um fator essencial na determinação da toxicidade e absorção de metais nos organismos (Ardestani et al., 2014), sendo que quanto maior a biodisponibilidade do metal, maior a capacidade de absorção da substância pelos organismos e plantas.

Embora teores de metais sejam um dos fatores limitantes do uso de LE no solo sabe-se que a mobilidade, biodisponibilidade e toxicidade do LE para as plantas dependem da forma química que o metal se apresenta no meio (Gusiatin et al., 2018). A avaliação química apresenta limitações como, por exemplo, a impossibilidade de rastrear todos os elementos químicos presentes no resíduo e a falta de conhecimento dos efeitos das interações entre os compostos numa mesma matriz (Renaud et al., 2017).

De acordo com estudo de BARAN et al. (2018), que avaliaram a biodisponibilidade do Zn no solo, foi observado que propriedades do solo, quanto ao conteúdo de carbono orgânico, pH, areia, silte e argila, apresentaram correlação com as formas biodisponíveis de Zn no solo, mas dentre eles o carbono orgânico foi o fator que apresentou maior correlação. Portanto, metais em diferentes solos podem não apresentar a mesma biodisponibilidade.

Solos brasileiros apresentam pH mais ácidos e, de acordo com SOARES et al. (2015), o pH do solo tropical é em torno 5,0 a 6,5. ALVAREZ (2010) indicou que solos com pH mais básicos foram associados aos menores potenciais redox, que coincidiram com baixo teor de Zn disponível e Zn solúvel em água no solo, e menores níveis de absorção de Zn pelas plantas de linho (*Linum ussitatissimum L.*).

De modo geral, os metais presentes no LE se tornaram fator limitante crucial para a aplicação na agricultura, e, mesmo tendo limites estabelecidos regulamentados, pode não ser suficiente para avaliar o risco que essa prática pode trazer aos solos (Duan e Feng, 2022). A utilização de testes de toxicidade, como ensaios complementares às análises químicas é recomendada para estimar os riscos da aplicação desse resíduo.

Pouco se sabe sobre os riscos de transferência de metais na aplicação do LE na agricultura, no entanto, avaliações da concentração e da distribuição de metais no solo estão recebendo maior atenção nos últimos anos e estão sendo propostos índices que medem o risco da aplicação do LE no solo (Gusiatin et al., 2018).

Diante disso, é importante realizar ensaios ecotoxicológicos que permitam monitorar a qualidade do solo, conhecer os níveis tóxicos de substâncias para organismos do solo e, subsequentemente, analisar o risco que essa disposição final do LE pode trazer para o ecossistema edáfico.

3.7 Ecotoxicologia do solo

A ecotoxicologia ganhou mais relevância após 1970, mas no solo, começou a ser estudada com maior intensidade na década de 1990 (Niva, 2019), sendo um assunto mais recente, quando comparado com os estudos de ecotoxicologia da água.

NIVA et al. (2016) realizaram um estudo de caso que apresentou a evolução das regulamentações e dos ensaios de toxicidade do solo no Brasil, nos últimos 30 anos. Os autores observaram que, com a publicação do CONAMA nº 420/2009 (Brasil, 2009), surgiu maior interesse pela avaliação de riscos ambientais, mas ainda tem muito para avançar.

Ensaio ecotoxicológicos têm sido utilizados para avaliar efeitos de substâncias químicas no ambiente, a partir da exposição do contaminante ao organismo bioindicador e possíveis efeitos causados no indivíduo ou população (Menezes-Oliveira et al., 2011). A avaliação do impacto ambiental é feita por ensaios de toxicidade aguda ou crônica, capazes de avaliar os efeitos da exposição aos contaminantes, medindo o crescimento, letalidade e/ou reprodução dos organismos-teste, sendo que o ensaio de reprodução geralmente faz uma projeção mais confiável dos efeitos (Niva, 2019).

A ecotoxicologia é necessária para o desenvolvimento de estratégias de controle para evitar ou minimizar a contaminação em matrizes ambientais (Chen et al., 2015), pois é possível avaliar riscos ao ecossistema, à saúde humana e a qualidade dos recursos naturais. Os ensaios ecotoxicológicos com organismos edáficos podem auxiliar nas tomadas de decisões em relação à aplicação do LE em solo ou então definir diretrizes mais realistas dos cenários de exposição (Niva et al., 2016).

NIVA (2019) afirma que a ecotoxicologia está evoluindo como ciência e, apesar dos ensaios ecotoxicológicos serem considerados ótima ferramenta para avaliação de riscos de substâncias químicas ao ambiente, ainda existem muitos desafios a serem vencidos para que esses testes sejam mais difundidos. De acordo com a autora esses desafios são:

- a) Maior acessibilidade às normas técnicas;
- b) Formação de recursos humanos e a produção de dados científicos, que precisam da ajuda de incentivo técnico e financeiro das agências de fomento e dos centros de pesquisa e universidades;
- c) Maior troca de experiência por meio de encontros entre pessoas que exercem tal atividade, mas para isso é necessário o reconhecimento da importância da área de ecotoxicologia de solos na própria comunidade científica;
- d) Melhor capacitação dos técnicos dos órgãos ambientais;
- e) Elaboração de Resoluções, Diretrizes e outros instrumentos legais que exijam esses ensaios como ferramenta de controle.

Frequentemente, ensaios ecotoxicológicos do solo fazem uso de um substrato artificial do solo, que são insuficientes para avaliar a situação de campo (Jänsch et al., 2005; Sydow et al., 2017). Ensaios ecotoxicológicos, realizados com organismos terrestres em solos artificiais, podem sub ou superestimar a toxicidade dos metais se forem comparados com ensaios em solos naturais, isso por causa da diferença de concentração dos cátions básicos

dissolvidos na água intersticial quando comparado o solo natural com o artificial (Sydow et al., 2017).

A caracterização das propriedades do solo é um passo muito importante para avaliar a produtividade dos solos agrícolas (Tola et al., 2017). A variação nas propriedades do solo também pode causar diferenças na biodisponibilidade e toxicidade dos metais aos organismos edáficos (Luo et al., 2014; Alves et al., 2018). As propriedades do solo são pH, capacidade de retenção de água, textura, tamanho de partículas, condutividade elétrica, umidade, composição química, carbono orgânico total, entre outros.

No Brasil, os valores de prevenção para avaliar o risco ecológico dos metais no solo são baseados apenas em análises químicas e em dados de ensaios ecotoxicológicos realizados em solos de regiões temperadas, mas o solo tropical brasileiro pode apresentar diferentes valores de toxicidade, devido às suas características (Alves et al., 2018).

Ensaio ecotoxicológicos em solo natural brasileiro são muito escassos, e por isso devem ser realizados para que sejam determinados, dentre os tipos de solos que são mais representativos no Brasil, quais são as características que podem ter uma influência direta na toxicidade de diferentes compostos (Niva et al., 2016). Portanto, mais pesquisas são necessárias para avaliar a toxicidade aos bioindicadores em solos naturais e, assim, preencher as lacunas de conhecimento sobre os efeitos das espécies bioindicadoras (Jänsch et al., 2005).

LIN et al. (2019) avaliaram a toxicidade de Ni para *Folsomia candida* em 10 diferentes solos chineses e foram encontrados variados valores de CE50 para os solos, observando correlação entre pH e matéria orgânica do solo aos diferentes valores de toxicidade. Isso reforça a necessidade de testes com os diversos tipos de solos brasileiros.

A escolha do bioindicador (organismo-teste) a ser utilizado nos ensaios ecotoxicológicos também é uma etapa fundamental do delineamento da pesquisa. As espécies *Enchytraeus crypticus* e *Eisenia fetida* são amplamente utilizadas em ensaios laboratoriais para avaliar a toxicidade aguda ou crônica (Menezes-Oliveira et al., 2011). NIVA et al. (2016) constataram que houve o aumento do número de grupos de pesquisas brasileiros que trabalham com os organismos *E. crypticus* e *F. candida* e que as amostras mais avaliadas são de pesticidas, efluentes e resíduos, como exemplo o LE.

Avaliação da toxicidade dos metais Cu, Zn, Pb e Cd com o organismo *F. candida* foi apresentada por LIU et al. (2018) e do Cu com os organismos *E. crypticus* e *F. candida* por CAETANO et al. (2016). Os autores dos dois trabalhos concluíram que essas espécies edáficas são recomendadas para avaliar efeito no solo e de acordo com SANTORUFO et al.

(2012), o *E. crypticus* é mais sensível para os metais testados pelos autores, quando comparados com o *F. candida*. Portanto, com base nessas informações, o *E. crypticus* foi escolhido para a análise de risco deste trabalho.

3.8 *Enchytraeus crypticus* como bioindicador

Os enquitreídeos são pertencentes ao Filo *Annelida* e subclasse *Oligochaeta*. Esses organismos estão presentes por todo o mundo e em diferentes solos, e estão envolvidos nas principais funções do solo como, por exemplo, na dinâmica da estrutura do solo e da matéria orgânica, além da capacidade de construir de galerias, produzir húmus, misturar partículas minerais e orgânicas do solo (Castro-Ferreira et al., 2012; Pelosi e Römbke, 2018) e atuar na ciclagem de nutrientes (Niva, 2019).

As comunidades desses organismos são sensíveis a mudanças no uso e manejo do solo, tanto em termos de abundância da população quanto à diversidade de espécies, no entanto, existe a necessidade de pesquisas que permitam entender melhor a importância funcional desses organismos em especial às pressões antrópicas (Pelosi e Römbke, 2018).

Enquitreídeos também são bons bioindicadores dos efeitos potencialmente tóxicos causados por traços de metais presentes no solo, pois essa espécie, assim como a minhoca, tem contato íntimo com o solo por vias orais e dérmicas (Buch et al., 2017).

É comum o uso de *Enchytraeus albidus* em testes de toxicidade e a norma brasileira ISO 16387/2012 (ABNT, 2012) se refere a essa espécie, mas permite adaptações ao *E. crypticus*. O *E. crypticus* apresenta maior faixa de tolerância aos parâmetros como matéria orgânica e pH se comparado ao *E. albidus*, mas faltam pesquisas sobre as tolerâncias e preferências para diferentes classes de textura do solo para *E. crypticus* (Jänsch et al., 2005).

Uma vantagem do uso de *E. crypticus* comparado ao *E. albidus* se dá pelo tempo de geração. Para *E. albidus* esse período é de 6 semanas, enquanto *E. crypticus* o tempo de geração ocorre em três semanas, e como consequência, um tempo mais curto para se obter os resultados de toxicidade, além de apresentar resultados confiáveis (Castro-Ferreira et al., 2012).

O comprimento de adulto de *E. crypticus* cultivados em laboratório, em meio ágar com temperatura controlada à 21 ± 2 °C, varia de 3 mm a 12 mm e os organismos apresentam um ciclo de vida de aproximadamente 20 dias e sobrevive 85 dias, e conseguem produzir em média 4,6 ovos/dia/ indivíduo, que eclodem em, aproximadamente, 9 dias (Niva et al., 2019). A figura 3 mostra um *E. crypticus* na fase adulta.

Figura 3 – Foto do organismo-teste *E. crypticus* adulto



Fonte: Amorin et al., 2021.

PELOSI e RÖMBKE (2016) avaliaram a relevância dos enquitreídeos como bioindicadores nas práticas de manejo do solo, mas os autores observaram a ausência de relações claras entre práticas agrícolas e atividade das comunidades dessa espécie, bem como raros estudos do fator que afeta os enquitreídeos avaliados isoladamente e poucos estudos que tenham similaridades, tornando-os muito difíceis de serem comparados.

Visto as vantagens dos testes com *E. crypticus* e a ausência de estudos, é importante mais avaliações quanto aos efeitos de resíduos, como o LE, e seus componentes nos diferentes solos a esses organismos.

3.9 Ensaio ecotoxicológico com lodo de esgoto

Ensaio biológico são ferramentas muito importantes para avaliação da ecotoxicidade de matrizes sólidas complexas, como é o caso do LE (Vasícková et al., 2016). A avaliação da toxicidade do LE por quantificação de compostos químicos é extremamente necessária para a adequação dos LE com vista à aplicação na agricultura (Fuentes et al., 2006; Oleszczuk, 2010; Renaud et al., 2017), mas apenas a caracterização de substâncias químicas não é considerada um indicador suficiente para garantir o uso do resíduo com segurança (Fijalkowski et al., 2017; Renaud et al., 2017).

De acordo com VASÍCKOVÁ et al. (2016), métodos químicos não preveem os efeitos de misturas complexas em organismos vivos que podem ser avaliados nos ensaios de ecotoxicidade. Não sendo possível avaliar a disponibilidade dos compostos químicos aos organismos vivos, os ensaios de toxicidade se tornam essenciais e complementares (Fijalkowski et al., 2017; Niva, 2019), pois à medida que a complexidade das misturas aumenta, espera-se que ocorram mais interações entre os compostos presentes e a biota

(Renaud et al., 2020). A toxicidade da mistura pode ser afetada por interações entre metais no solo, no processo de absorção (toxicocinética) e no local de ação tóxica dentro do organismo (toxicodinâmica) (Renaud et al., 2020).

Os ensaios ecotoxicológicos não devem substituir as regulamentações existentes, mas fornecem evidências de eventuais riscos do uso de LE na agricultura e a inclusão dos ensaios ecotoxicológicos na legislação traria benefícios para o monitoramento da aplicação desse resíduo no solo (Groth et al., 2016).

Como já visto no tópico 3.7, as propriedades do solo afetam os resultados do bioensaio, portanto é necessário levar em consideração o tipo de solo (Vasícková et al., 2016; Renaud et al., 2020). Sendo assim, este trabalho avaliou a ecotoxicidade de amostras de LE em solos naturais e, ainda, fez a análise de risco de nove metais em solo natural (SN) e solo artificial tropical (SAT), isoladamente.

O impacto do LE nos ecossistemas edáficos permanece incerto (Mossa et al., 2017). Existe escassez de informações tanto sobre os efeitos do LE nos organismos terrestres (Kinney et al., 2012), como de análises detalhadas dos riscos associados à aplicação de LE no solo, como fertilizantes ou condicionador, informações essas indispensáveis para garantir o menor risco de seu uso (Oleszczuk, 2010). Portanto, foi realizada a análise de risco por ser uma ferramenta importante de avaliação, levando em consideração os teores de metais presentes no LE, as concentrações de efeito não observado (CENO) aos *E. crypticus* e a taxa de aplicação recomendada pelo CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020).

3.10 Análise de risco

Apesar do LE ser rico em nutriente e com grande potencial para ser usado como fertilizante, pouco se sabe sobre os riscos de transferência de metais envolvidos na aplicação em solos (Mejías et al., 2021). DUAN e FENG (2022) mostraram que os valores de limites máximos regulatórios não são suficientes para determinar se o LE é adequado para o uso em solos agrícolas. Os LE são matrizes complexas, e ao identificar a complexidade da contaminação se faz necessária a avaliação dos riscos (González et al., 2010; Niva, 2019; Duan e Feng, 2022).

GONZÁLEZ et al. (2010) usaram a mesma metodologia aplicada neste trabalho para avaliar o risco do nonilfenol no LE no solo. Assim como para os metais, os autores afirmam que o nonilfenol foi encontrado em concentrações diferentes no LE e isso depende de vários fatores como, por exemplo, o uso regional do composto, condições climáticas,

características de cada ETE, população atendida, tipo de tratamento do LE e sistema de descarga (doméstica ou industrial).

MEJÍAS et al. (2021) também realizam a mesma metodologia para avaliar o risco de alguns compostos orgânicos presentes no LE, usando valores ecotoxicológicos encontrados em literatura de organismos bioindicadores aquáticos. A partir desses valores, os autores calcularam a concentração sem efeito previsto (predicted no-effect concentration- PNEC). A dificuldade encontrada no trabalho de MEJÍAS et al. (2021) e GONZÁLEZ et al. (2010) foi reunir valores ecotoxicológicos de solo, portanto optaram por usar organismos aquáticos, assumindo que o $PNEC_{\text{solo}}$ é comparável ao $PNEC_{\text{água}}$.

MEJÍAS et al. (2021) sugerem melhorias na avaliação de risco com dados de organismos terrestres. Diante disso, este trabalho realizou tanto análise de risco para amostras de LE em solo natural, quanto para cada metal encontrado no LE, neste caso comparando o solo natural e o solo artificial, usados neste trabalho, para o organismo *E. crypticus*, da fauna edáfica. Os resultados obtidos são importantes para melhor compreensão dos valores encontrados para a toxicidade em solos diferentes, e podem contribuir para subsidiar discussões acerca da presença de metais no solo e os efeitos na fauna edáfica.

A análise de risco permite monitorar a qualidade do solo, conhecer os níveis tóxicos de substâncias para organismos do solo e mensurar o possível risco que a disposição final do LE pode trazer para o ecossistema edáfico.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Solos

Nesta pesquisa foram utilizados dois tipos de solos – solo artificial tropical (SAT) e solo natural (SN). O SAT foi preparado com areia fina, passada em peneira com abertura de 2 mm, lavada e seca a $60 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas (75%), caulim (20%) e fibra de côco (5%). A composição do SAT seguiu NIEMEYER et al. (2018) e a umidade usada foi de 20%.

A amostra de solo natural (SN), classificada como latossolo vermelho, foi coletada em Itirapina, no interior de São Paulo, região de clima tropical, e armazenada em geladeira por até 4 meses, para preservação de suas características. A escolha do local da coleta se deu por ser uma área sem atividade antrópica e por ser um solo já utilizado pelo grupo de pesquisa. O SN foi seco à $60^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 h em estufa e peneirado (abertura de 2 mm - mesh 9).

O art. nº 31 do CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020) determina que, anterior à aplicação do LE, o solo deve ser caracterizado quanto aos parâmetros de fertilidade, teor de sódio trocável, condutividade elétrica e substâncias químicas. Amostras de solos-testes (SN e SAT) foram encaminhadas, após coleta ou preparo, no caso do SAT, para o laboratório do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) para determinação destes parâmetros. A caracterização de substâncias químicas (tabela 2) seguiram metodologias descritas por RAIJ et al. (2001) e ABNT (2003).

Tabela 2 – Caracterização química das amostras de solo – SAT e SN utilizadas nas análises ecotoxicológicas

Parâmetro	Unidade	SN	SAT	Método
MO	g dm ⁻³	100	29	secagem
pH (KCl)		5,1	5,4	KCl 1M
H+Al	mmolc dm ⁻³	80	17	Tampão SMP
P	mg dm ⁻³	8	4	Resina
K	mmolc dm ⁻³	1	11	Resina
Ca	mmolc dm ⁻³	21	14	Resina
Mg	mmolc dm ⁻³	9	9	Resina
SB	mmolc dm ⁻³	31,1	34,0	Cálculo
CTC	mmolc dm ⁻³	111,1	51,0	Cálculo
CR	%	69,8	na	Cálculo
V%	%	28	67	Cálculo
Na	mmolc dm ⁻³	0,1	na	Acetato de amônio pH7
Al	mmolc dm ⁻³	0	1	Cloreto de Potássio
S	mg dm ⁻³	5	8	Fosfato de Cálcio
B	mg dm ⁻³	0,3	0,66	água quente
CE	dS m ⁻¹	0,1	na	Água 1:1
Cu	mg dm ⁻³	3,2	0,5	DTPA
Fe	mg dm ⁻³	31	7	DTPA
Mn	mg dm ⁻³	16,4	4,5	DTPA
Zn	mg dm ⁻³	0,5	0,6	DTPA

MO = Matéria Orgânica

SB = Soma das Bases

CTC = Capacidade de Troca Catiônica

V% = Saturação por bases

CE = Condutividade Elétrica

CR = Coeficiente de Retenção hídrica

na= não analisado

Foi realizada a distribuição granulométrica do SAT e do SN, pelo IAC. Os resultados obtidos dessa análise para SAT, classificada como franco-arenosa, foi de 14,3% argila, 11,8% de silte e 73,9% de areia. Já para SN os valores foram: 39,1% argila, 10,7% silte, 50,2% areia, sendo considerado um solo textural argiloarenosa. A classificação do SN de latossolo vermelho se deu por ser um solo constituído por material mineral, em estágio avançado de intemperismo, geralmente ácido, solo pouco fértil (V% < 50%), baixa troca catiônica (< 170 mmol kg⁻¹) e textura média (EMBRAPA, 2018).

4.1.2 Amostras de lodo de esgoto

Foram coletadas 3 amostras de LE em diferentes ETE, todas na região metropolitana de Campinas, interior de São Paulo. A primeira amostra de LE (LEA) foi coletada em outubro de 2018, a segunda LE (LEB) em novembro de 2019 e a terceira amostra de LE (LEC) em dezembro de 2020.

O LEA é proveniente do tratamento de efluente em reatores anaeróbios do tipo Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) seguido de floculação química e flotores, com capacidade de tratar 120 l s^{-1} de esgoto. O LEA passou por desidratação mecânica (centrífuga) e a ETE produz, em média, 20 ton dia^{-1} da torta de lodo com 27% de teor de sólidos. O LE é armazenado em caçambas e enviado para aterro sanitário.

A ETE que gera o LEB trata o esgoto com tecnologia que combina os sistemas aeróbio e anaeróbio. Com capacidade de tratamento de esgoto em torno de 45 l s^{-1} , tem eficiência acima de 90% e atende 20 mil habitantes. A produção de LEB em volume não foi informada, mas o tipo de tratamento do efluente aplicado nessa ETE gera baixo volume do resíduo, que é encaminhado para aterro sanitário.

O LEC é proveniente do tratamento através do UASB e decantador lamelar, é desidratado por centrífugas e estocado em leitos de secagem natural. Após secagem é recolhido, estocado em caçambas e enviado para aterro sanitário. A capacidade de tratamento do efluente 44 l s^{-1} e estima-se envio de 100 ton ano^{-1} .

As coletas dos LEA e LEB foram feitas imediatamente na saída do centrífuga, o LEC foi coletado do leito de secagem após 15 dias de exposição ao sol. Todas as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos atóxicos e encaminhadas ao laboratório da FT/UNICAMP.

Foram determinados os valores de umidade, série de sólidos dos LE bruto, pH e condutividade elétrica (CE) no mesmo dia da coleta, e as metodologias estão descritas no item 4.2.1. Todas as amostras apresentavam alto valor de umidade e a relação de sólidos voláteis (SV) e sólidos totais (ST) (que se refere à fração orgânica estabilizada), e estes parâmetros podem ser visualizados na tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos dos LE brutos, determinados logo após a coleta nas ETE

Parâmetros	LEA	LEB	LEC
Umidade (%)	77,6	85,6	49,8
Sólidos totais (ST) % (mm ⁻¹)	22,4	14,4	50,2
Sólidos voláteis (SV) % (m m ⁻¹)	62,9	71,0	53,4
SV/ST	2,80	4,94	1,06
pH (1:5)	7,6	7,0	6,8
Condutividade Elétrica (CE) (1:10) (µs cm ⁻¹)	364	321	1773

Fonte: AUTORA (2023).

4.1.3 Cultivo do organismo *E. crypticus*

Os organismos *E. crypticus* foram cultivados no Laboratório de Ecotoxicologia de Solos (LAECOS) na Faculdade de Tecnologia (FT) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). O meio de cultivo foi preparado com ágar bacteriológico e uma mistura esterilizada de quatro soluções, CaCl₂.2H₂O, MgSO₄, KCl e NaHCO₃, e disposto em placa Petri estéril. As condições do cultivo seguem a ABNT NBR ISO 16387 (ABNT, 2012) adaptada aos *E. crypticus*, mantidos a 20 °C ± 2°C, em fotoperíodo 12:12h (claro/escuro) e alimentados duas vezes por semana com farinha de aveia e água. A figura 3 é uma foto do meio de cultivo utilizado por este trabalho e cultivado no laboratório de Ecotoxicologia do Solo (LAECOS/UNICAMP).

Figura 4 - Meio de cultivo com *E. crypticus* do Laboratório de Ecotoxicologia do Solo (LAECOS/UNICAMP)

Fonte: Autora, 2023.

4.2 Métodos

4.2.1 Estabilização e caracterização do lodo de esgoto

As amostras de LE coletadas foram imediatamente acondicionadas em *bag* geotêxteis, constituídos por 100% poliéster e 880 g m⁻² de gramatura, até atingir a estabilização. Foram coletadas amostras quinzenalmente, e determinados valores de Sólidos Voláteis e Sólidos Totais e a estabilização que é dada pela razão SV/ST, de acordo com a CONAMA n° 498/2020 (Brasil, 2020). O valor recomendado pela Norma para esta taxa de estabilização é de 0,65 ou menor, e este parâmetro é importante para acompanhar a mineralização do LE. Os *bag* geotêxteis ficaram acondicionados em área externa, com cobertura superior, em ambiente claro e temperatura natural, e as amostras de LE ficaram armazenadas nos *bags* que proporcionavam um ambiente escuro e com capacidade de aproximadamente 5 kg de amostra, com lados iguais medindo 39 cm, como mostra a figura 5.

Figura 5 – LE coletado acondicionado em *Bag* geotêxtil para estabilização



Fonte: Autora, 2023.

No art. 8° da Resolução CONAMA n° 498/2020 (Brasil, 2020) é requerida a caracterização quanto ao potencial agrônômico e de substâncias químicas, determinados neste trabalho para os LE estabilizados. A tabela 4 apresenta as metodologias utilizadas para cada parâmetro, sendo que a série de nitrogênio, série de sólidos, pH e condutividade elétrica foram feitos no laboratório da FT, e as análises dos metais, carbono orgânico total e fósforo foram realizados pelo IAC.

Tabela 4 – Metodologias aplicadas aos parâmetros físico-químicos, químicos e de potencial agrônômico

Parâmetros	Extração	Determinação	Método utilizado
As, Ba, Cd, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, Se, Zn	Digestão com HNO ₃ e HCl	ICP-AES	USEPA (2006) USEPA (2007)
Carbono Orgânico Total (COT)	Digestão com H ₂ SO ₄ e K ₂ Cr ₂ O ₇	Volumetria	ANDRADE E ABREU (2006)
Condutividade Elétrica (CE)	Solubilização em água deionizada	Condutivímetro	EMBRAPA (2009)
Fósforo Total (Ptotal)	Digestão com HNO ₃ e HCl	ICP-AES	USEPA (2006) USEPA (2007)
Nitrato + Nitrito (NO ₃ ⁻ + NO ₂ ⁻) Nitrogênio amoniacal (NH ₃ ⁺)	Solubilização em água deionizada	Destilação por arraste a vapor	RAIJ et al. (2001)
Nitrogênio total (NTK)	Digestão em H ₂ SO ₄	Destilação por arraste a vapor	RAIJ et al. (2001)
pH	Solubilização em água deionizada	pHmetro	EMBRAPA (2009)
Sólidos totais (ST)			
Sólidos voláteis (SV)	na	Gravimetria	EMBRAPA (2009)
Umidade			

na = não aplicável

4.2.2 Aplicação de lodo de esgoto no solo

Foram realizados ensaios de ecotoxicidade do LE, após estes estarem estabilizados no *bag*, que se deu em 60 dias para LEA e LEB, e 45 dias para LEC, conforme determinado pelos valores de Sólidos Voláteis por Sólidos Totais (SV/ST). Após a estabilização, foram retiradas as amostras de LE dos *bags* e secas a 60 ± 2 °C, em estufa por 48 h, triturada em moinho de ágata (FRITSCH Mortar Grinder PULVERISETTE 2) e peneiradas em peneira com abertura de 2 mm (mesh 9), seguindo metodologia de DOMENE et al. (2010).

Os *E. crypticus* foram expostos ao LE seco e peneirado aplicado direto no SN, nas concentrações 0,5; 1,5; 5,0; 15,0; 50,0 e 150,0 g kg⁻¹ de solo seco, e então homogeneizado. Após a mistura de LE no solo foi adicionado água destilada para corrigir a umidade do solo a 40% do coeficiente de retenção hídrica (CR), ou seja, 24% de umidade.

Para determinação das concentrações, foi utilizado o trabalho de DOMENE et al. (2010), que avaliaram LE em diferentes solos usando as concentrações 1, 2, 4, 8, 16,1, 32,7, 67,3 e 144 g kg⁻¹ de LE em solo seco e obtiveram CE50 entre 2,7 a 47,2 g kg⁻¹ para a reprodução de *F. candida*. A taxa de aplicação, considerada para o cálculo da análise de risco, também foi levada em conta na escolha das concentrações de LE no solo. EU-TGD (2003) determina o valor da taxa de aplicação de LE no solo agrícola de 0,5 kg m⁻² (aproximadamente 1,5 g kg⁻¹) anual. GONZÁLEZ et al. (2010) também utilizou esse valor para os cálculos de quociente de risco. Sendo assim, este trabalho considerou a concentração de 1,5 g kg⁻¹ como valor referência e valores 10 e 100 vezes maiores, além de valores intermediários, que pudessem ser próximos ao de DOMENE et al. (2010).

4.2.3 Contaminação do solo com metais

Foram realizados ensaios ecotoxicológicos, com metais nos solos natural e SAT. A escolha dos metais para os ensaios ecotoxicológicos ocorreu com base no CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020). Foram determinadas as toxicidades de todos os metais preconizados nesta resolução, exceto Hg e Se, pois ambos não foram detectados nas amostras de LE coletadas.

Foram adicionados ao solo natural e ao SAT os compostos químicos que continham os metais a serem avaliados, em 5 concentrações mais o controle, de acordo com o número mínimo de réplicas preconizado pela norma ABNT NBR ISO 16387 (ABNT, 2012). As concentrações foram determinadas com base em dados reportados na literatura para *E. crypticus* e quando não encontrada para essa espécie, eram usados como referência outros organismos como *E. albidus*, *F. candida* ou *E. fetida*.

Foram feitas as contaminações do solo, para cada metal, a partir da solução-estoque, a qual foi usada para preparar soluções de concentrações pré-definidas em mg kg⁻¹ do contaminante por diluições em água deionizada. Foram usadas as mesmas concentrações no SN e SAT para a maioria dos metais, no entanto, em alguns casos foi necessário diminuir ou aumentar a concentração em um dos solos-testes devido à diferença de toxicidade observada em testes preliminares.

Cada solução-teste foi adicionada em 300 g de solo (SN e SAT) e a umidade corrigida para 40% da capacidade de retenção do solo (CR) (24% de umidade). Os solos foram homogeneizados e armazenados por 2 dias para estabilização dos metais. A tabela 5

apresenta os compostos químicos e as taxas de aplicação no solo-teste para cada elemento químico.

Tabela 5 – Compostos utilizados nos ensaios ecotoxicológicos com *E. crypticus* e as concentrações aplicadas nos solos-teste

Metal	Composto	CAS n°	Concentração (mg kg ⁻¹ de solo seco)	
			SN	SAT
As	Na ₂ HAsO ₄ · 7H ₂ O	10048-95-0	100; 200; 400; 800; 1600	5; 10; 20; 40; 80
Ba	BaCl ₂ ·2H ₂ O	10326-27-9	250; 500; 1000; 2000; 4000	250; 500; 1000; 2000; 4000
Cd	CdCl ₂ ·H ₂ O	35658-65-2	25; 50; 100; 200; 400	25; 50; 100; 200; 400
Cr	K ₂ Cr ₂ O ₇	7778-50-9	25; 50; 100; 200; 400	100; 200; 400; 800; 1600
Cu	CuSO ₄ ·5H ₂ O	7758-99-8	25; 100; 250; 500; 1000	25; 100; 250; 500; 1000
Mo	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	7631-95-0	25; 100; 400; 1600; 3200	100; 200; 400; 800; 1600
Ni	NiCl ₂ ·6H ₂ O	7791-20-0	5; 10; 50; 100; 500	5; 10; 50; 100; 500
Pb	Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ ·3H ₂ O	6080-56-4	200; 400; 800; 1200; 1600	200; 400; 800; 1200; 1600
Zn	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	7446-20-0	10; 100; 150; 200; 400	10; 100; 150; 200; 400

4.2.4 Toxicidade Aguda com *Enchytraeus crypticus*

Foram usados o solo natural (SN) (latossolo) e solo artificial tropical para os ensaios com o bioindicador *E. crypticus*. O ensaio com *E. crypticus* seguiu a ABNT NBR ISO 16387 (ABNT, 2012) adaptada, usando 10 organismos clitelados em cada recipiente-teste. O clitelo indica a fase adulta do organismo e é possível reconhecê-lo, sendo uma estrutura branca dentro do corpo, como mostra a figura 6.

Figura 6 - Foto do *E. crypticus* na fase adulta, com indicação do clitelo



Fonte: Amorin et al., 2021.

Para cada recipiente-teste contendo 30 g de solo, previamente contaminado com a respectiva concentração do metal a ser avaliado e com umidade corrigida. As variáveis controladas durante todo o período de teste foram o fotoperíodo de 12:12 horas (claro:escuro) e a temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Os organismos foram alimentados uma vez por semana com farinha de aveia e, quando necessário, receberam adição de água suficiente para correção da umidade. Para cada concentração da substância-teste foram feitas 4 réplicas ($n=4$) e 8 réplicas para o controle ($n=8$).

Este trabalho optou por 28 dias de incubação. A escolha por este período deve-se aos vários trabalhos com metais, usados como referência, que expuseram os organismos nesse período. Tem sido sugerido reduzir o tempo de exposição de *E. crypticus* para 21 dias pois atende o período geracional do organismo-teste, o número de juvenis é menor e o resultado é obtido mais rápido, mas muitos trabalhos que consideraram 4 semanas para realização do teste, atenderam a todos os critérios de validação (Castro-Ferreira et al., 2012).

Foram obtidos os valores de pH no início e no final do teste para cada concentração e para os controles, em solução aquosa de KCl 1M, na proporção 1:5 (solo: KCl), pesando porções de 10 g de cada amostra, agitando por 5 minutos e mantendo em repouso por 30 minutos antes da medição. Para determinar o pH final, foram armazenadas amostras de solo (controle e das diferentes concentrações testadas) nas mesmas condições de condicionamento, temperatura e fotoperíodo do teste com organismos e após o período de incubação seguiam para o procedimento descrito anteriormente.

Para a finalização do ensaio de reprodução com *E. crypticus*, adicionou-se um volume da solução de etanol a 70% que ultrapassa o nível do solo em cada recipiente-teste e rosa de bengala (1% da solução em etanol) para corar os organismos-testes, conforme mostra a figura 7. O solo foi lavado em pequenas porções e passado por peneira de 53 μm de abertura (mesh 270) para a retenção dos organismos.

Foi quantificado o número total de indivíduos juvenis de cada réplica. Valores de coeficiente de variação menor que 50% no controle validam o teste, de acordo com a ABNT NBR ISO 16387 (ABNT, 2012), que foi observado em cada ensaio.

Figura 7 – Recipiente contendo solo e organismos à esquerda e recipiente corado com finalizado com álcool 70% e rosa de bengala



Fonte: Autora, 2023.

4.2.5 Ensaio de sensibilidade para *Enchytraeus crypticus*

Foram realizados ensaios de sensibilidade com ácido bórico que avalia a qualidade do cultivo dos organismos anualmente, no período dos testes. O SAT foi contaminado por Ácido Bórico nas concentrações 25,0; 50,0; 100,0; 200,0 e 400,0 mg kg^{-1} de H_3BO_3 em solo seco, seguindo NIEMEYER et al. (2018). O ensaio de sensibilidade teve duração de 21 dias de exposição dos organismos e seguiu a ABNT (2012). Os resultados estão apresentados no Anexo 1.

4.2.6 Análise estatística

Foram determinados os valores da Concentração efetiva a 50% da reprodução (CE50), considerando 95% de intervalo de confiança e modelo de regressão não linear a partir do ajuste de curva logística III (dose-resposta), representada pela equação 1, usada no software Statistica 7[®].

$$y=c/(1+(x/CE50)^b) \quad (1)$$

Onde:

y = Número de organismos

c = Diferença entre limite superior da curva e limite inferior da curva

x = Concentração de substrato no solo

CE50 = Dose correspondente a 50% de resposta

b = Declividade da curva em torno de CE50

Também foram aplicadas a Análise de Variância unidirecional (ANOVA) e determinados os valores de Concentração de efeito observado (CEO) e Concentração de efeito não observado (CENO) por teste de Tukey para testar diferenças significativas entre o controle e as diferentes concentrações de metais. Foram realizados teste de normalidade e homogeneidade antes das análises estatísticas pelo teste de Levene e Kolmogoroff-Smirnov, respectivamente, pelo software Origin[®], considerando valor de p maior que o nível de significância ($p > \alpha$) de 0,05.

Para os casos que a normalidade ou homogeneidade não era atendida, eram feitas transformações em \sqrt{x} . Nos casos em que os dados transformados também não atendiam esses parâmetros estatísticos, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal Wallis e o teste de Dunn, sendo que esse último foi usado para determinar CENO e CEO. Os valores resultantes dos tratamentos estatísticos estão apresentados no anexo 3.

4.2.7 Análise de risco ecotoxicológica

A análise de risco foi avaliada usando Quocientes de Risco (QR), conforme trabalho de GONZÁLEZ et al. (2010). Para amostras de LE os QR foram determinados pela razão da concentração encontrada de cada elemento químico presentes no LE (PEC – Predicted Environmental Concentrations) e a concentração sem efeito previsto (PNEC - Predicted No-Effect Concentrations). PNEC foi calculado como sugere o Documento de Orientação Técnica da União Europeia (EU-TGD, 2003) a partir dos valores de CENO de cada metal dividido pelo fator de incerteza. EU-TGD (2003) define os fatores de incerteza para calcular PNEC no solo, considerando número de espécies de diferentes níveis tróficos, tempo de teste (teste agudo ou crônico) e tipo de análise estatística. Neste trabalho foi usado uma espécie, teste crônico e CENO, portanto o fator de incerteza foi de 100.

Esse fator reflete o grau de incerteza dos dados obtidos por ensaios ecotoxicológicos em laboratórios que usam poucas espécies, extrapolando para o ambiente “real”, dando condição de prever efeitos das substâncias nos ecossistemas (EU-TGD, 2003). Sendo assim, quanto mais organismos-testes de níveis tróficos variados, maior a confiança, menor será o fator de incerteza utilizado.

Para solos com adição de LE, os QR foram determinados também pela razão de PEC e PNEC, mas nesse caso foi preciso considerar a taxa de aplicação anual, portanto PEC considera a concentração esperada de cada substância no ambiente. Os resultados de QR foram determinados foram aplicados a equação 2.

$$PEC = C_{\text{lodo}} \times APL_{\text{lodo}} / PROF_{\text{solo}} / DENS_{\text{solo}} \quad (2)$$

Onde:

C_{lodo} = Concentração do metal encontrado no LE (mg kg^{-1});

APL_{lodo} = Taxa de aplicação do LE anual (kg m^{-2}) (Brasil, 2020);

$PROF_{\text{solo}}$ = Profundidade (0,2 m);

$DENS_{\text{solo}}$ = Densidade do solo agrícola (1700 kg m^{-3})

Para determinar a taxa anual de aplicação de cada LE, foi considerado o teor de N disponível nos LE e calculada a partir da equação 3. As taxas de aplicação anuais, determinadas seguindo o CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020), foram de 0,33, 0,60 e 0,34 kg m^{-2} para LEA, LEB e LEC, respectivamente.

$$N_{\text{disp}} (\text{mg kg}^{-1}) = (FM/100) \times (Kj-NH_3) + 0,5 \times (NH_3) + (NO_3^- + NO_2^-) \quad (3)$$

Onde:

FM = Fração de mineralização do nitrogênio (%), estabelecido por estudos realizados no Estado;

Kj = Nitrogênio Kjeldahl (nitrogênio total - NTK) (mg kg^{-1});

NH_3 = Nitrogênio amoniacal (mg kg^{-1});

$NO_3^- + NO_2^-$ = Nitrogênio Nitrato + Nitrito (mg kg^{-1}).

A fração de mineralização considerada para este trabalho foi de 30% (LE digerido aerobiamente) por ser o maior valor estabelecido pela Norma P4.280 (CETESB, 2021) do estado de São Paulo, considerando até um ano após a aplicação do LE. Depois de calculado o valor de nitrogênio disponível foi possível determinar a taxa de aplicação anual de LE que não deverá exceder o valor encontrado na equação 4 para a cultura de milho, a partir da recomendação agrônômica oficial do estado que, para o Estado de São Paulo, se encontra no Boletim Técnico 100 (Raij et al., 1997).

$$\text{Taxa de aplicação (t ha}^{-1}\text{)} = \frac{\text{N recomendado (kg ha}^{-1}\text{)}}{\text{N disponível (kg t}^{-1}\text{)}} \quad (4)$$

A cultura escolhida foi o milho, por ser amplamente cultivado no país e por ser permitido o uso de LE como fertilizante para esta cultura. O valor de N recomendado adotado nesse trabalho foi de 30 kg ha⁻¹, pois se refere à maior taxa de aplicação para as culturas de milho apresentadas na tabela 6, de acordo com Boletim Técnico 100.

Tabela 6 – Valores de N, em kg ha⁻¹, para variadas espécies de milho

Cultura	N (kg ha ⁻¹)
Milho para grãos e silagem	10-30
Milho "safrinha"	30
Milho verde e milho doce	10-30

Fonte: RAIJ et al. (1997).

Os níveis de risco foram considerados da seguinte forma: baixo risco (QR < 0,1), médio risco (QR entre 0,1–1) e alto risco (QR > 1). Sendo assim, foram calculadas as porcentagens de ocorrências em que cada metal apresentou alto risco (QR > 1), pelo número de tratamentos (3 diferentes LE em 2 solos diferentes, resultando em 6 tratamentos). Também foi calculado o número de metais que apresentaram alto risco em cada LE, em porcentagem, para que pudessem ser avaliados quais metais resultam em maior risco, se o LE estudado fosse aplicado no solo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do potencial agrônômico do lodo de esgoto

A composição e as características do LE dependem de vários fatores, como: origem dos efluentes, tipo de tratamento do esgoto, tratamento do lodo para atingir a estabilização, tempo e condições de armazenamento ou os agentes coagulantes utilizados (Chen et al., 2012) o que torna imprescindível a caracterização do LE, principalmente quando a disposição final for em solos agrícolas.

Foram realizadas as caracterizações físico-químicas das amostras de LE, que avalia o potencial agrônômico, assim que as amostras atingiam a taxa de estabilização abaixo de 0,65, conforme detalhado na metodologia (tópico 4.1.2) e recomendado pela legislação (Brasil, 2020). Para a aplicação na agricultura é necessário avaliar a concentração de macronutrientes, que são essenciais para o crescimento das plantas. A tabela 7 apresenta os valores físico-químicos e potencial agrônômico das três amostras de LE.

Tabela 7 – Resultados das análises físico-químicas e caracterização do potencial agrônômico das amostras de LE estabilizadas

Parâmetros físico-químicos			
	LEA	LEB	LEC
Umidade (%)	7,2	9,3	6,5
Sólidos totais (ST) % (m m ⁻¹)	92,8	90,7	93,5
Sólidos voláteis (SV) % (m m ⁻¹)	58,0	42,1	53,0
SV/ST	0,63	0,46	0,57
Tempo para estabilização (dia)	60	60	45
pH (1:5) (resíduo:água)	5,2	5,9	5,5
Condutividade Elétrica (1:10) (µs cm ⁻¹)	3710	4704	3340
Potencial agrônômico (g kg⁻¹ base seca)			
Carbono Orgânico (COT)	274	280	230
Fósforo total (Ptotal)	8,1	6,2	20,8
Nitrato + Nitrito (NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻)	< 0,001 ⁽¹⁾	0,099	0,100
Nitrogênio amoniacal (NH ₃ ⁺)	2,4	2,5	4,0
Nitrogênio disponível (Ndisp)	8,8	5,0	9,0
Nitrogênio total (NTK)	27,8	14,6	27,1

⁽¹⁾ Não quantificado, menor do que o limite de quantificação.

Observa-se que o pH alterou ao longo do período de estabilização (tabela 3 e tabela 7), e os valores do pH nas amostras de LE bruto eram de caráter neutros (6,8 a 7,6) que, após a estabilização, sofreu redução, tornando o material mais ácido (5,2 a 5,9). Isso se deve a decomposição da matéria orgânica, durante o processo de mineralização (Breda et al., 2020) pois esse processo produz H^+ e CO_2 , resultando em ácido carbônico e vários ácidos orgânicos (Achkir et al., 2023), com conseqüente diminuição do pH.

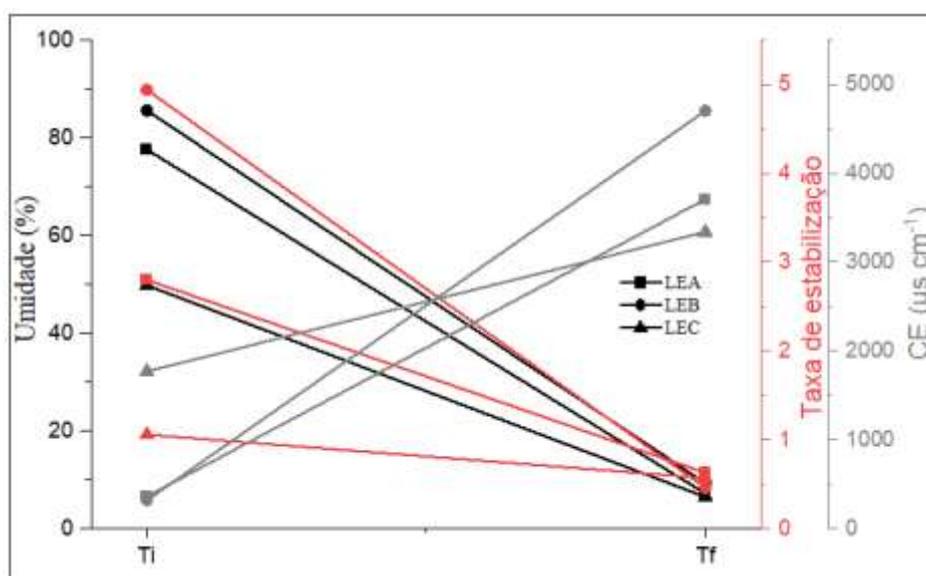
COLLIVIGNARELLI et al. (2019) também encontraram valores de pH que variam nesta mesma faixa de valores (6,5 a 8,0) para LE brutos, que corrobora com este trabalho. FERRAZ et al. (2016) encontraram valores de pH entre 7,6 e 8,2, para LE coletados no Brasil. HOANG et al. (2022) fizeram revisão de literatura e encontraram os valores de pH para LE entre 5 e 8,6.

É conhecido que o pH é um parâmetro que influencia a biodisponibilidade do metal no solo, podendo alterar a sua toxicidade para os organismos edáficos, portanto será levado em consideração que todos os LE estabilizados são de caráter ácido, semelhante aos pH dos solos (SN e SAT), nos quais foram realizados os ensaios de toxicidade com o *E. crypticus*. Comparando as três amostras de LE em estudo, não é possível correlacionar o pH dos LE a sua toxicidade, pois todos apresentaram pH próximos.

O tempo de estabilização do LEC foi menor, pois esse resíduo passou por um processo a mais de tratamento, tendo sido disposto em leitos de secagem por 15 dias, enquanto os LEA e LEB foram coletados já na saída da centrífuga. É possível observar que, somados os dias que esse LE ficou disposto em leito de secagem (15 dias) e o tempo no *bag* (45 dias), os três LE levaram o mesmo tempo para atingir a estabilização.

Os valores de umidade e das taxas de estabilização reduziram à medida que as amostras de LE ficaram armazenadas nos *bags* geotêxteis, enquanto os valores de condutividade elétrica (CE) aumentaram como mostra a figura 8.

Figura 8 – Resultados dos valores de umidade (%), taxa de estabilização e condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$) dos LE no dia da coleta (Ti) e após o período de estabilização (Tf)



Fonte: Autora, 2023.

Os *bags* geotêxteis são eficazes em desidratar resíduos (Sharrer et al., 2009) e, além de reduzir o volume de LE para a disposição final, é um sistema que permite o encapsulamento e isolamento do resíduo. Como esperado, os valores de umidade dos LE estudados sofreram diminuição ao longo da estabilização do LE. Amostras de LE brutos apresentavam umidade de 77,6, 85,6 e 49,8% para LEA, LEB e LEC, respectivamente e atingiram baixo valor de umidade (6,5 a 9,3%).

A redução taxa de estabilização (SV/ST) significa que o LE estabilizou, ou seja, reduziu a quantidade de matéria orgânica e passou a ser um material mais adequado para aplicação agrícola. As amostras de LE sofreram redução desta taxa de 2,8 para 0,63, 4,94 para 0,46 e 1,06 para 0,57 no LEA, LEB e LEC, respectivamente. O LEC bruto apresentou menor quantidade de matéria orgânica e umidade e, conseqüentemente, menor taxa de estabilização, o que está relacionado com o tempo que esteve disposto no leito de secagem, anterior à coleta. Este parâmetro é importante, pois as taxas de estabilização da decomposição da matéria orgânica levam à redução da biodisponibilidade do metal devido aos níveis reduzidos de matéria orgânica solúvel (Sharma et al., 2017).

A Condutividade Elétrica (CE) é um indicador da concentração de sais na amostra. Esse parâmetro é usado para correlacionar várias propriedades físicas e químicas do solo e que afeta a produtividade agrícola e a aplicação do LE no solo aumenta o valor de CE

(Achkir et al., 2023). Altos valores de CE, relacionada à salinidade, podem causar aumento da toxicidade (Chelinho et al., 2019).

Os valores de CE foram significativamente maiores nos LE estabilizados se comparados aos LE brutos, que foram de 364 para 3710, 321 para 4704 e 1773 para 3340 $\mu\text{S cm}^{-1}$ para LEA, LEB e LEC, respectivamente. O aumento de CE acompanhou os resultados da taxa de estabilização do LE, isto é, quanto menor a taxa de estabilização, maior a degradação do LE, portanto maior a quantidade de sais inorgânicos, assim como é possível ver na figura 8, quando T_i e T_f são comparados. KONCZAK e OLESZCZUK (2018) determinaram valor de CE para LE estabilizado de 3200 $\mu\text{S cm}^{-1}$, na Polônia, valor próximo aos encontrados nos lodos avaliados nesta pesquisa.

Quanto aos resultados de Carbono Orgânico Total (COT), os valores foram de 274, 280 e 230 g kg^{-1} para LEA, LEB e LEC, respectivamente. FERRAZ et al. (2016) encontraram valores próximos de COT aos determinados neste trabalho ao avaliar três diferentes amostras de LE de ETE localizadas na região metropolitana de São Paulo. Os autores avaliaram 3 amostras de LE e os valores mínimos e máximos de COT, encontrados pelos autores, foram de 182,4 e 302,6 g kg^{-1} . A pesquisa de NASCIMENTO et al. (2020) avaliaram 19 amostras de LE coletadas em diferentes ETE de São Paulo e os autores verificaram que este parâmetro variou de 203 a 425 g kg^{-1} e relacionaram esta variação ao processo de tratamento do resíduo na ETE. O LE, avaliado por ACHKIR et al. (2023), apresentou valor de COT de 149 g kg^{-1} .

O nitrogênio amoniacal (NH_3^+), ou amônia, pode causar toxicidade em seres edáficos, mas que pode sofrer sorção à matéria orgânica e ter sua toxicidade atenuada (Domene et al., 2010). Portanto em solos com maiores quantidade de matéria orgânica ou que receberam o LE, a toxicidade devido à amônia é menor.

A amônia é liberada a partir da decomposição de materiais orgânicos, que podem ser convertidos, pelo processo de nitrificação, em nitrito que, rapidamente, é convertido em nitrato (Domene et al., 2010). Nitrogênio na forma nitrato e nitrito ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) está mais biodisponível para plantas e representa uma boa fonte de nutriente, mas, ao mesmo tempo, se não assimilado imediatamente pela planta, há um risco potencial de perda de lixiviação de $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$, levando à contaminação da superfície ou das águas subterrâneas (Wong et al., 2001).

Para nitrogênio total (NTK) os valores encontrados nesta pesquisa foram 27,8, 14,6 e 27,1 g kg^{-1} base seca, respectivamente para LEA, LEB e LEC, e FERRAZ et al. (2016)

encontraram valores para amostras de lodo de esgoto coletadas no estado de São Paulo que variaram entre 16,4 a 36,9 g kg⁻¹ base seca. HOANG et al. (2022) reuniram trabalhos que determinaram NTK nos LE e os valores encontrados variaram de 28 a 49 g kg⁻¹ de N nos LE e NASCIMENTO et al. (2020) encontraram valores de 17 a 61 g kg⁻¹ nas amostras de lodo avaliadas.

Os teores de nitrogênio disponível (N_{disp}) foram obtidos a partir dos valores de NTK, NH₃⁺ e NO₃⁻+NO₂⁻. Vale ressaltar que o valor de N_{disp} no LE vai determinar a taxa de aplicação do resíduo no solo, portanto, quanto maior a concentração de N no LE, menor o volume de LE permitido para aplicação nas terras agrícolas, de acordo com a legislação brasileira. O LEB apresentou o menor valor de N_{disp} e, de acordo com o cálculo de taxa de aplicação, esse resíduo pode ser disposto no solo em maiores concentrações. Isto pode carregar maiores concentrações de metais e outros componentes para o solo, quando a taxa de aplicação for baseada apenas na concentração de N_{disp}.

Os elementos N e P são os macronutrientes mais necessários para o crescimento das plantas e podem ser encontrados em diferentes concentrações nos lodos. O P está se tornando um recurso natural de alto custo (Chen et al., 2012) e escasso no meio ambiente. Solos são deficitários de P e precisam de reposição para obter maior produtividade agrícola. Existem muitos países que dependem da exportação desse recurso (Christodoulou e Stamatelatou, 2016). WONG et al. (2001) observaram que as diferenças nos teores de P e N de diferentes LE dependem da eficiência do tratamento e das fontes de esgoto de cada ETE.

Para o fósforo total (P_{total}) os teores encontrados nas três amostras avaliadas foram de 8,1; 6,2 e 20,8 g kg⁻¹ em base seca, para LEA, LEB e LEC respectivamente. Os valores encontrados nos LE por GHERGHEL et al. (2019) variaram de 5 a 23 g kg⁻¹, correspondente ao intervalo de valores aqui encontrado e FERRAZ et al. (2016) encontraram a variação de P entre 24,8 e 44,5 g kg⁻¹ e no trabalho de NASCIMENTO et al. (2020) a faixa de valores encontrada para este parâmetro variou de 7,6 a 21 g kg⁻¹.

Com a aplicação de LE, o teor de matéria orgânica, N_{disp}, NTK e P no solo aumentam significativamente, e podem favorecer o crescimento da cultura (Guo-Hang et al., 2018). A decomposição da matéria orgânica torna o P, Fe, S e Zn mais biodisponível, e isso afeta negativamente a toxicidade do LE no solo (Breda et al., 2020).

De acordo com os resultados obtidos do potencial agrônômico das 3 amostras de LE avaliadas neste trabalho, é possível observar que, após a estabilização atender o valor menor que 0,65, o teor de sólidos é acima de 90%, o que favorece o transporte do LE. Valores

de CE altos que representam amostras mineralizadas. Os valores de pH foram baixos, porém próximos aos valores de pH do solo natural brasileiro. E ainda apresenta concentrações de carbono orgânico, nitrogênio total e fósforo, que podem ser aproveitadas pelas plantas e justificativa para um possível uso do LE na agricultura.

Visto o potencial agrônômico do LE, a partir da caracterização físico-química e presença de nutrientes, é necessária a determinação de metais, denominada no CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020) como caracterização de substâncias químicas.

5.2 Caracterização de substâncias químicas das amostras de lodo de esgoto

O teor de metais é um fator limitante para definir se o LE pode ou não ser aplicado no solo (Chen et al., 2012). A principal fonte de metais no LE são os efluentes industriais e o escoamento superficial (Fijalkowski et al., 2017; Hoang et al., 2022). Apesar dos LE estudados serem considerados domésticos, as ETE podem receber parte de efluente industrial, alterando as características do LE, no final do processo.

Devido à grande importância do conteúdo de metais no LE, a determinação de 11 metais previstos no CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020) para os 3 lodos avaliados estão apresentadas na tabela 8, seguidos dos valores máximos permitidos nas legislações brasileira (Brasil, 2020), americana (USEPA, 1993) e europeia (EC, 1986). É possível observar que a legislação brasileira contempla maior número de metais para análise, mas os metais também monitorados nas legislações europeia e norte-americana apresentam valores mais restritivos, exceto o Cr na legislação dos Estados Unidos.

Tabela 8 – Resultados de metais presentes, em mg kg^{-1} , no LEE e comparativo com legislações brasileira, americana e europeia

Elemento traço	Concentrações no LE			Legislações			
	LEA	LEB	LEC	Brasil (2020)		USEPA (1993)	EC (1986)
				Classe 1	Classe 2		
(mg kg^{-1})							
As	10,9	6,7	<1,0 ⁽¹⁾	41	75	na	na
Ba	349,0	700,0	317,0	1300	1300	na	na
Cd	1,3	2,1	2,9	39	85	20	01-03
Cr	61,3	65,3	43,7	1000	3000	1450	100-150
Cu	447,0	133,0	399,0	1500	4300	775	50-140
Hg	< 1,0 ⁽¹⁾	<1,0 ⁽¹⁾	<1,0 ⁽¹⁾	17	57	9	1-1,5
Mo	8,5	25,1	165,0 ⁽³⁾	50	75	na	na
Ni	73,2	124,0	20,8	420	420	230	30-75
Pb	41,2	44,6	32,0	300	840	190	5-300
Se	< 1,0 ⁽¹⁾	<1,0 ⁽¹⁾	<1,0 ⁽¹⁾	36	100	na	na
Zn	2864,0 ⁽²⁾	1099,0	5610,0 ⁽²⁾	2800	7500	1500	150-300

na = não se aplica

⁽¹⁾ Não quantificado, menor do que o limite de quantificação.

⁽²⁾ Valor acima dos limites estabelecidos pelo CONAMA nº 498/2020, para Classe 1.

⁽³⁾ Valor acima dos limites estabelecidos pelo CONAMA nº 498/2020, para Classe 2.

No trabalho de HOANG et al. (2022) foram apresentados os teores dos metais Cu, Zn, Cr, Ni, Pb, Cd, Hg e As, em amostras de LE reportados em diversas pesquisas, e de acordo com o apresentado, os valores encontrados nas amostras de LEA, LEB e LEC estão de acordo com a literatura, apenas o Cr apresentou valores diferentes. Os teores de Cr na literatura variaram entre 225 e 900 mg Cr kg^{-1} e nas amostras de LE desta pesquisa os valores foram bem abaixo, variando de 43,7 a 65,3 mg Cr kg^{-1} .

De acordo com FERRAZ et al. (2016), em trabalho com 3 lodos do estado de São Paulo, os valores encontrados para As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni e Pb de modo geral estavam em concentrações superiores às encontradas nesta pesquisa, com exceção do Mo, que no LEB e LEC estavam acima dos reportados pelos autores e do Zn, cujos valores para LEC também estavam acima do encontrado. NASCIMENTO et al. (2020) encontraram grande variação da concentração para os metais avaliados nas 19 amostras de LE de São Paulo.

A classificação dos LE em Classe 1 e Classe 2 surgiu no CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020), e essa resolução define Classe 2 como o LE que atende os valores máximos

preconizados para essa categoria e que é menos restritiva que a Classe 1, por isso deverá ser usado com mais cautela. O LE Classe 2 só pode ser usado como bio-sólido se a taxa máxima anual e a carga máxima acumulada de substâncias químicas não exceder os limites também preconizados nessa resolução.

Os LEA e LEC apresentaram valores de Zn acima do permitido pela legislação brasileira para Classe 1 (Brasil, 2020), europeia (EC, 1986) e americana (USEPA, 1993), mas atende a Classe 2 da legislação brasileira. A concentração de Mo no LEC ultrapassa até a Classe 2 da CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020), o que impossibilita o uso agrícola. Portanto LEB está enquadrado na Classe 1, LEA na Classe 2 e LEC não deverá ser utilizado na agricultura, se considerada a legislação brasileira. Vale ressaltar que nos Estados Unidos e União Europeia o Mo não é avaliado.

De acordo com a Directiva 86/278/EEC (EC, 1986) os teores de Cu do LEA e LEC também estão acima do permitido, mas não ultrapassam os limites da legislação brasileira. O Ni no LEB está acima dos limites europeus e o Zn, nas três amostras de LE, não atendem as legislações europeias e americanas.

Os metais Zn, Ba e Cu foram os mais abundantes nas amostras de LE. Em diversos países que realizaram análises de amostras de LE, apresentaram maiores concentrações para Zn, como exemplo a China (Wong et al., 2001; Yang et al., 2017; Chen et al., 2023), o Reino Unido (Charlton et al., 2016), a Alemanha (Fijalkowski et al., 2017) e a Polônia (Gusiatin et al., 2018). GUO-HANG et al. (2018) ainda alertam para a bioacumulação de Zn em grãos de milho e de trigo, sendo maior que outros metais. No trabalho de NASCIMENTO et al. (2020) a faixa de concentração para este metal variou de 245 a 4592 mg kg⁻¹.

Em relação ao Zn, apesar das amostras LEA e LEC apresentarem valores mais altos deste metal, no trabalho de HOANG et al. (2022) o valor máximo deste metal reportado chegou a 7500 mg Zn kg⁻¹. DUAN E FENG (2022) avaliaram LE de 13 ETE diferentes e o Zn foi o elemento que teve a maior variação entre as estações, seguido do Cu. Nesse estudo o valor de Zn foi entre 52,3 e 855 mg Zn kg⁻¹, já o Cu apresentou variação entre 88,6 e 261,0 mg kg⁻¹, mas foi o metal que, a média, foi o mais abundante. Nas amostras de lodo coletadas em SP a faixa de concentração para Cu variou de 85 a 573 mg kg⁻¹, indicando alta variabilidade na sua concentração (Nascimento et al., 2020).

O Ba, assim como o Mo, não apresenta limite nas legislações europeia e americana, portanto não é um metal determinado em LE em diversos países como acontece

nas legislações americana (USEPA, 1993) e europeia (EC, 1986), e neste trabalho as amostras atenderam o limite máximo estabelecido na legislação brasileira.

A caracterização de metais no LE deve sempre ser monitorada, pois grandes variações podem ocorrer entre as estações e até mesmo nos diferentes períodos do ano na mesma ETE. A variação da concentração de metais nos LE é devido às diferentes tecnologias de tratamento de esgoto adotadas, à variação na composição química dos efluentes domésticos recebidos (Sharma et al., 2017), influência de indústrias, tráfego, drenagem, água pluviais, entre outros, mas o que prevalece é o componente antrópico (Duan e Feng, 2022).

Os metais em concentrações maiores que os limites permitidos pelas legislações podem levar à disseminação ao longo da cadeia alimentar e ter consequências graves (Sharma et al., 2017), portanto é importante conhecer as concentrações que causam efeitos tóxicos de cada metal em bioindicadores do ecossistema terrestre, aqui representado pelo *E. crypticus*. Além disso, é de fundamental importância compreender a toxicidade dos metais no solo, principalmente em solos tropicais.

5.3 Ensaio ecotoxicológico com os metais

Ensaio ecotoxicológicos terrestres são realizados, na sua maioria, a partir de substratos artificiais compostos por areia, matéria orgânica (fibra de côco ou esfagnos) e caulim. De acordo com JÄNSCH et al. (2005), essa escolha se dá por razões de padronização e possibilidade de comparação entre os trabalhos, além da importância de usar o SAT como controle no teste pois os organismos utilizados na maioria dos ensaios em solos naturais são aqueles que apresentam bom desempenho no solo artificial.

Neste trabalho a opção do uso de solo natural nos ensaios de ecotoxicologia se deve à carência de estudos sobre a toxicidade dos metais e solos tropicais naturais, sendo mais comum ensaios em substratos artificiais de solo, preparados em laboratório. O uso de solo natural nesses ensaios pode apresentar resultados mais fiéis ao que pode ocorrer no ambiente natural (Sydow et al., 2017).

No início dos testes foram medidos os pH que variou de 4,7 a 5,5 em SN e 4,8 a 6,1 em SAT, e verificou-se que o solo que recebeu maior concentração de LE apresentou maior pH, assim como foi observado por ACHKIR et al. (2023). As variações entre pH inicial e pH final foram pequenas (Anexo 2) e os organismos são capazes de se reproduzir nesta faixa de pH e evitam apenas solos muito ácidos (pH < 4), de acordo com a ABNT (2012).

JÄNSCH et al. (2005) afirmaram que o pH ótimo para *E. crypticus* é entre 5,9 e 6,5, mas estes organismos podem pH tolerar a faixa que varia de 3,6 até 7,7. Em todos os ensaios realizados o pH mínimo foi de 4,6 e máximo de 6,9 então pode-se considerar que o pH atende o tolerável para os organismos testados. Apesar da consideração sobre o pH tolerável para o bioindicador aqui utilizado, é importante entender que o pH em solo influencia a biodisponibilidade dos metais.

O pH do solo acima de 7 pode limitar a disponibilidade de micronutrientes metálicos (Breda et al., 2020), portanto o solo brasileiro, que possui caráter ácido, pode apresentar maior toxicidade já que os metais estão mais biodisponíveis. De acordo com Achkir et al. (2023), quando o pH do solo é aumentado, a toxicidade de certos metais, exceto para selênio e molibdênio, diminuem.

De acordo com CHEN et al. (2023), as concentrações de As, Hg e Cd presentes no LE podem causar risco ecológico quando o LE é aplicado em terras agrícolas com $\text{pH} < 6,5$. Considerando que o solo brasileiro tem pH menor que 6,5, é preciso maior atenção quanto a toxicidade desses metais, caso estejam presentes no LE.

Foram avaliadas as toxicidades dos metais As, Ba, Cd, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb e Zn em SN e SAT. A partir do teste de Tukey para os dados paramétricos e Dunn para os dados não paramétricos foram encontrados os valores de CENO e CEO dos metais nos dois tipos e de solo, e com o ajuste de curva de dose-resposta (logística) foi possível encontrar o CE50 (\pm EP). Esses resultados estão apresentados na tabela 9.

Tabela 9 – Resultados de CE50 (\pm EP), CEO e CENO ($\alpha=0,05$) dos testes com *E. crypticus* em SN e SAT contaminados pelos metais As, Ba, Cd, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb e Zn, isoladamente, com exposição de 28 dias a 20°C

Elemento químico	Tukey/Dunn		Dose-Resposta (Logística)	
	CENO	CEO	CE50	\pm EP
	mg kg ⁻¹			
As SN	200	400	728,8	42,8
As SAT	20	40	11,0	0,8
Ba SN	250	500	1466,4	119,4
Ba SAT	250	500	1066,9	56,4
Cd SN	50	100	224,4	17,8
Cd SAT	50	100	121,2	11,5
Cr SN	25	50	60,2	1,6
Cr SAT	800	1600	618,4	30,9
Cu SN	250	500	383,5	31,3
Cu SAT	250	500	503,6	33,8
Mo SN	25	100	326,3	78,1
Mo SAT	400	800	624,6	55,5
Ni SN	10	50	165,4	33,4
Ni SAT	10	50	134,4	9,7
Pb SN	200	400	970,0	54,6
Pb SAT	800	1200	1331,0	38,5
Zn SN	200 ^(a)	400	221,3	18,6
Zn SAT	150	200	180,3	6,1

^(a) Zn em 100 mg kg⁻¹ tem diferença estatística com o controle, apresentando maior reprodução de juvenis nessa concentração.

O As no solo pode representar um grave risco para os organismos e plantas e para a saúde humana (Vasícková et al., 2016). ALVES et al. (2018) avaliaram os impactos do arsenato de sódio na reprodução de minhocas (*E. andrei*) e colêmbolos (*F. candida*), em SAT e em latossolo e, assim como observado neste trabalho, também obtiveram valores de CE50 muito diferentes entre os dois solos. No latossolo não apresentou efeito para As na reprodução dos organismos para ambos os solos até 135 mg As kg⁻¹ (maior concentração testada). Para o SAT os autores observaram maior toxicidade para este metal, obtendo valores de CE50 de 22,7 mg As kg⁻¹ para minhoca e 26,1 mg As kg⁻¹ para colêmbolo, o que corrobora com este trabalho, pois apresentou valor de CE50 para *E. crypticus* de 11,0 mg As kg⁻¹.

LI et al. (2021) avaliaram a reprodução de *E. crypticus*, também em 28 dias de exposição, e obtiveram valor médio de CE50 de 46,4 mg As kg⁻¹ e 365 mg kg⁻¹ em solo artificial e SN, respectivamente, que corroboram com a avaliação ecotoxicológica deste trabalho.

O Ba é um metal considerado elemento não essencial para os organismos em geral (Alloway, 2013; Silva Junior et al., 2022), e encontrado naturalmente em altas concentrações na crosta terrestre, mas não apresenta alta toxicidade para as plantas, apesar de terem facilidade na absorção (Alloway, 2013). Os valores de CE50 de 1066,9 e 1466,4 mg Ba kg⁻¹, para SAT e SN respectivamente, encontrados nesta pesquisa, mostra a baixa toxicidade do Ba também para *E. crypticus*. Esses valores são próximos ao encontrado por KUPERMAN et al. (2006), em que o CE50 variou de 830 a 1064 mg Ba kg⁻¹ em solo artificial.

O Cd é um elemento não essencial à planta que se acumula no solo e, que ao longo do tempo, não diminui sua biodisponibilidade (Alloway, 2013). SANTOS et al. (2022a) adicionou Cloreto de Cádmio em solo natural (LUFA 2.2, 76,8% da areia), com características granulométricas próximas do SAT e obtiveram CE50 de 607 mg Cd kg⁻¹, também avaliando a reprodução de *E. crypticus*, enquanto neste trabalho os valores encontrados foram de 121,2 e 224,4 mg Cd kg⁻¹, para SAT e SN, respectivamente, apresentando maior toxicidade. CASTRO-FERREIRA et al. (2012) obtiveram CE50 para Cd de 35 mg kg⁻¹, também aplicado em LUFA 2.2 e para o mesmo bioindicador. Com esses resultados, é possível verificar grande variação entre os resultados de CE50 para os *E. crypticus* para este metal.

O Cr pode se apresentar em diversas formas de oxidação, sendo Cr bivalente, trivalente e hexavalente e, assim como o Ba, não é utilizado como nutriente, principalmente pelas plantas (Wyszkowska et al., 2023). Esse metal, em pH menores que 6,0, é encontrado na forma de compostos hexavalentes, altamente solúveis e móveis que migram facilmente no solo e nos seus poros de água, causando toxicidade grave aos organismos vivos (Xia et al., 2020).

SANTOS et al. (2022b) avaliaram a reprodução de *E. crypticus* em solo natural (LUFA 2.2, pH 5,6, composto por 8,3% de argila, 14,9% de silte e 76,8% de areia) contaminado por Cloreto de Cromo hexahidratado e o valor de CE50 foi de 317 mg Cr kg⁻¹. Neste trabalho os valores de CE50 em SN e SAT foi de 60,2 e 618,4 mg Cr kg⁻¹, respectivamente. A distribuição granulométrica de LUFA 2.2 está mais próxima às

características do SAT, o qual causou menor toxicidade ao organismo-teste, quando comparado ao SN.

A forma que o metal se encontra também pode causar diferentes níveis de toxicidade, sendo que na forma hexavalente – Cr (VI) – é considerado de difícil degradação, podendo causar maior risco ao meio ambiente e ser mais tóxico que outras formas do metal como, por exemplo, na forma trivalente - Cr (III) (Xia et al., 2020). Portanto, comparando solos mais próximos quanto sua granulometria (LUFA 2.2 e SAT) é possível verificar que Cr (VI) usado em SAT, por este trabalho, foi mais tóxico que Cr (III) em LUFA 2.2.

O Cr apresentou toxicidade em baixas concentrações, principalmente no SN, isso porque esse metal, em pH menores que 6,0, se encontra na forma $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ou HCrO_4 , o que são dificilmente adsorvidos pelo coloide do solo (Xia et al., 2020). Existem muitas pesquisas sobre as diversas formas de Cr e o complexo comportamento dessas formas, o que resulta em incertezas na previsão da mobilidade do metal e os potenciais riscos ao ecossistema edáfico quando presente no solo (Alloway, 2013).

O Cu é um elemento essencial para todos os organismos, sendo micronutrientes para as plantas (Alloway, 2013). MENEZES-OLIVEIRA et al. (2011) avaliaram densidades populacionais diferentes de *E. crypticus* e *E. fetida* expostas às diferentes concentrações de Cu, e os autores concluíram que apenas na concentração de 300 mg kg^{-1} de Cu em solo natural da Dinamarca, com pH 6,4 (caráter ácido), apresentou efeito adverso na reprodução. Isto corrobora com os valores encontrados neste trabalho, onde até $250 \text{ mg Cu kg}^{-1}$ de Cu não apresenta efeito negativo à reprodução dos organismos, tanto em SAT, como em SN. SANTOS et al. (2022a) obtiveram CE50 de $390 \text{ mg Cu kg}^{-1}$ em LUFA 2.2 para a reprodução de *E. crypticus*, corroborando com os valores de 383,5 e $503,6 \text{ mg Cu kg}^{-1}$ em SN e SAT, respectivamente.

O Hg foi o elemento mais limitante no estudo de GUO-HANG et al. (2018) que determinaram aplicação segura de LE a uma taxa de aplicação de $7,5 \text{ t ha}^{-1}$ no solo por 18 anos. As amostras de LE, do presente trabalho, não apresentaram concentração detectável de Hg, portanto não é o elemento limitante da aplicação deste LE no solo. Desta forma, não foram realizados ensaios para avaliação de sua toxicidade ao organismo *E. crypticus*.

O Mo é essencial para as plantas e, diferente dos metais já citados, apresenta maior mobilidade em solos alcalinos (Alloway, 2013; Achkir et al., 2023) que pode ser menos tóxico em solos brasileiros, predominantemente ácidos. Espera-se que pH mais ácidos (como

é o caso dos solos brasileiros), resulte em maior sorção do ânion molibdato e diminuição da biodisponibilidade e toxicidade do Mo (van Gestel et al., 2011).

VAN GESTEL et al. (2011) obtiveram valores de CE50 da reprodução de *E. crypticus* em 10 solos naturais diferentes e um solo artificial, contaminados por Molibdato de Sódio, cujas concentrações variaram de 301 a 42820 mg Mo kg⁻¹. O intervalo de CE50 foi muito expandido, e muitos dos casos os autores não conseguiram explicar quais fatores poderiam ter causado essa variação.

LIN et al. (2019) avaliaram a toxicidade de Ni para *F. candida* em 10 diferentes solos chineses e encontraram valores de CE50 entre 133 e 1148 mg Ni kg⁻¹, valores estes que variavam para cada tipo de solo. Para comparar a concentração que causou efeito na reprodução deste trabalho com de LIN et al. (2019), foram escolhidos dois solos vermelhos (redsoil), por apresentarem pH próximo à 5,0, assim como o solo aqui testado, e esses apresentaram valores de CE50 de 133 a 345 mg Ni kg⁻¹, valor este próximo ao resultado encontrado de 165,35 ± 33,43 mg Ni kg⁻¹.

O Ni em solos com pH baixos apresenta maior toxicidade pois a biodisponibilidade do metal aumenta (Wang et al., 2018; Lin et al., 2019), o que justifica a alta toxicidade do metal nos solos testados, que apresentaram valores de pH baixo.

O valor da toxicidade de Pb pode variar muito, por isso exige cautela, tendo em vista o trabalho de ZHANG et al. (2019) que avaliaram toxicidade de Pb na reprodução de *E. crypticus* em solos diferentes e os resultados variaram de 81 a 1008 mg Pb kg⁻¹, apresentando CE50 maior em solos com menores teores de argila. LUO et al. (2014) observaram que os efeitos tóxicos na reprodução de *E. crypticus* são acentuados em solos mais ácidos. Os autores avaliaram a biodisponibilidade de Pb em solos de pH > 6,8 e pH ≤ 3,8, sendo solos mais ácidos apresenta maior concentração de Pb biodisponível.

ZHANG e VAN GESTEL (2019) avaliaram a reprodução de *E. crypticus* em solos contaminados por PbO e Pb (NO₃)₂, sendo que os CE50 médio foi de 151 e 94,6 mg Pb kg⁻¹, respectivamente. Esses resultados mostram que a forma com que o metal se encontra também afetará a toxicidade do metal no solo. O PbO é menos solúvel que o Pb(NO₃)₂, portanto menos biodisponível (Zhang e van Gestel, 2019). A forma desse metal usado neste trabalho foi Pb (II), sendo a forma mais solúvel e, mesmo assim, o valor de CE50 foi elevado, sendo de 970 e 1331 mg Pb kg⁻¹ para SN e SAT, respectivamente.

É possível observar que a toxicidade do Pb foi inferior, comparado aos outros metais analisados. O Pb se liga fortemente à matéria orgânica e óxidos de ferro, presentes no

solo (Alloway, 2013), por isso o Pb é pouco biodisponível, e apresenta baixa toxicidade quando há alto teor de matéria orgânica.

O Se apresenta variações de mobilidade, dependendo da força de ligação, tornando a avaliação da sua disponibilidade para as culturas imprecisa, que só é possível obter informações através da metodologia de extração química, mas sabe-se que o aumento do conteúdo de argila aumenta a retenção de Se (Silva Junior et al., 2022). O Se, assim como o Hg, também não foi detectado nas amostras de LE estudadas e, portanto, não foram realizados ensaios de toxicidade com este metal. O Se deve ser considerado, quando presente no LE, principalmente em solos brasileiros que apresentam caráter ácidos, pois esse metal tem maior biodisponibilidade em solos com pH baixos (Achkir et al., 2023).

O Zn é um micronutriente importante para as plantas, mas muitos solos agrícolas têm deficiência desse metal (Alloway, 2013). MOSSA et al. (2017) avaliaram a qualidade do solo, que recebeu LE por 100 anos, a partir da caracterização das comunidades microbianas presentes. Nesse trabalho alguns metais foram avaliados e o Zn foi adotado como bom indicador para o entendimento dos efeitos do LE às diversidades bacteriana e fúngica. Os autores concluíram que de 700 a 1000 mg kg⁻¹ de Zn em solo pareceu um valor ideal para a máxima diversidade desses micro-organismos edáficos e esse valor excede valor limite regulamentado no Reino Unido. É possível observar neste trabalho que *E. crypticus* é mais sensível ao Zn que bactérias e fungos, quando comparado ao trabalho de MOSSA et al. (2017), e que a concentração de 100 mg Zn kg⁻¹ no solo favorece a reprodução de *E. crypticus*.

A partir do teste de Tukey foi possível verificar que no ensaio ecotoxicológico com *E. crypticus* para Zn apresentou duas concentrações com diferença estatística ao controle do SN, 100 e 400 mg kg⁻¹. Em 100 mg kg⁻¹ a diferença estatística se dá pelo aumento da reprodução nessa concentração, já em 400 mg kg⁻¹ a diferença se dá pela diminuição da reprodução. A presença de 100 mg kg⁻¹ de Zn em solo seco contribuiu para melhor resultado de reprodução do *E. crypticus*, visto que o solo natural apresenta concentração de Zn (0,5 mg l⁻¹), valor baixo se comparado ao valor que favorece a reprodução dos organismos.

KOOL et al. (2011) analisaram a toxicidade do Zn para *F. candida* que apresentou média de CE50 de 298 mg kg⁻¹. GOMES et al. (2022) expuseram os *E. crypticus* em solo natural (LUFA 2.2, pH 5,5) contaminado com ZnCl₂ e o CE50 para a reprodução encontrado foi de 143 mg Zn kg⁻¹, que está próximo aos valores encontrados neste trabalho (221 e 180 mg Zn kg⁻¹ para SN e SAT, respectivamente). O baixo pH dos solos estudados está

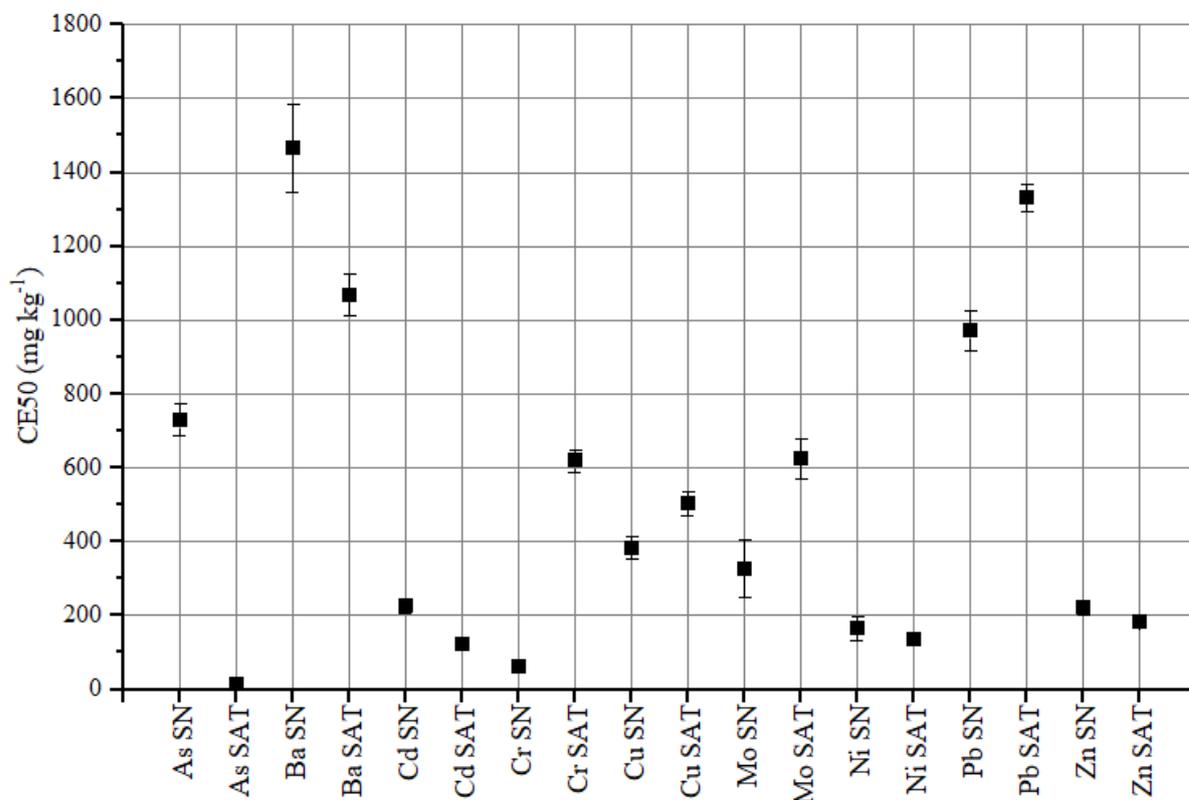
relacionado com a toxicidade do metal pois, de acordo com ALLOWAY (2013), solos mais ácidos aumentam a biodisponibilidade do Zn.

O pH e o carbono orgânico total são os fatores mais determinantes na mobilidade de metais no solo que são alterados com a adição de LE (Achkir et al., 2023). Outra questão da toxicidade causada pelos metais tem relação direta com as características do solo e desta forma, é de fundamental importância avaliar esta toxicidade não apenas em SAT, mas também nos solos naturais e isso pode auxiliar na tomada de decisão da utilização do lodo de esgoto em solos agrícolas, para compreender os efeitos que esta utilização pode ter ao longo do tempo.

5.4 Solo natural e artificial – o papel do solo na toxicidade dos metais

Como já observado, as características do solo, como pH e matéria orgânica, por exemplo, podem influenciar a toxicidade dos metais, sendo importante avaliar os fatores que podem contribuir para aumentar ou diminuir esta toxicidade. De modo geral, os ensaios de toxicidade são realizados em SAT e não há muitos estudos em solos naturais tropicais. WANG et al. (2020) discutem em sua pesquisa que muitas vezes as diferenças de toxicidade para um mesmo metal podem estar relacionadas com estas particularidades dos solos e ainda, de acordo com NIVA et al. (2016), faltam estudos para os solos tropicais brasileiros.

SYDOW et al. (2017) concluem que utilizar dados ecotoxicológicos de metais em solos padronizados apresenta limitações devido à variabilidade das concentrações de cátions básicos dissolvidos na água intersticial, presente entre os poros do solo, o que impossibilita o uso desses dados para prever a toxicidade desses metais em outros solos. Na figura 9 é possível visualizar as diferenças entre os resultados de CE50 de cada metal e em cada solo.

Figura 9 – Valor de CE50 (mg kg^{-1}) e erro padrão (EP) dos metais em SN e SAT

Fonte: Autora, 2023.

Com estes resultados, é possível observar pelo valor de CE50 que o Cr é o metal que causa mais efeito tóxico em latossolo (SN), seguido do Ni, para o organismo avaliado nesta pesquisa. O As foi muito mais tóxico em solo arenoso (SAT). Já o Ba é o elemento que menor apresentou toxicidade no SN estudado e Pb no SAT.

Quando comparado os dois tipos de solo, foi verificado que os metais As, Ba, Cd e Zn foram mais tóxicos em SAT. Os menores valores de CE50 encontrados no SAT podem estar relacionados com o menor teor de matéria orgânica e isso acarretará menor capacidade de adsorver e imobilizar contaminantes (Niemeyer et al., 2018). O Ni não apresentou diferença significativa para os dois solos. Já Cr, Cu, Mo, Pb foram mais tóxicos no SN.

O As apresentou muita diferença quanto a toxicidade nos dois solos o que está de acordo com VASÍCKOVÁ et al. (2016), os quais concluíram que a influência do As presente em amostras de LE pode variar significativamente dependendo do solo para certos organismos edáficos. ALVES et al. (2018), correlacionaram a menor toxicidade do As em latossolo pois esse solo apresenta maiores teores de silicato, óxidos e hidróxidos de Fe e Al que se ligam fortemente ao As e o torna menos biodisponível. O SN, usado neste trabalho,

apresenta maiores concentrações de Fe, Al, P e matéria orgânica, o que justifica o As apresentar toxicidade de aproximadamente 70 vezes mais em SAT.

O Ba é um metal não muito móvel no solo além de ser fortemente adsorvido nas argilas (Silva Junior et al., 2022). Foi possível observar a baixa toxicidade do Ba, sendo ainda menor em SN que contém maior quantidade de argila em sua composição comparado ao SAT.

O Cd apresentou maiores valores de toxicidade no SAT e isso pode estar relacionado à maior concentração de P no SN. O Cd é um metal que tem facilidade em se dissociar e sofrer reações de substituição, interagindo com fosfatos (Mossa et al., 2020). A matéria orgânica do solo, óxi-hidróxidos de Fe, Al e Mn e argilominerais são adsorventes de Cd e o pH tem forte influência na solubilidade do Cd e em pH mais ácidos o metal se torna mais solúvel (Alloway, 2013), sendo que todas essas informações corroboram com os resultados obtidos.

A partir dos testes de Cr feitos com *E. crypticus*, observou que a toxicidade foi maior no SN do que no SAT. No estudo de YANG et al. (2021) a fitotoxicidade do Cr foi afetada, aumentando principalmente em solos com maiores CTC, quantidades de matéria orgânica, argila e Fe+Al, o que é possível comparar com os resultados obtidos neste trabalho, já que esses parâmetros também são maiores em SN do que no SAT. Os autores consideraram não elucidado como as frações de Cr são alteradas nos diferentes solos

A maior solubilidade do Cu acontece em solos com menores valores de pH e baixo teor de matéria orgânica, com exceção dos solos ácidos, em que o Cu dissolvido no solo é complexado com a matéria orgânica dissolvida, que auxilia na mobilidade do metal, aumentando a biodisponibilidade (Alloway, 2013). Essa interação de Cu e matéria orgânica dissolvida, em pH ácidos, é a explicação da maior toxicidade no SN, comparado ao SAT.

Os fatores dos solos mais relevantes, capazes de variar a toxicidade do Mo, são CTC, pH, Ca^{2+} , teor de carbono orgânico, Mn, P e teores de argila, areia e silte, sendo que, para os enquitreídeos, os fatores que mais tiveram correlação com a toxicidade foram pH, teor de argila, Al e P (van Gestel et al., 2011).

O Mo interage com fósforo (P), sendo que a maior presença de P aumenta a disponibilidade do Mo em solos ácidos (Alloway, 2013), isso explica a maior toxicidade do Mo em solo natural, pois apresenta o dobro da concentração de P, comparado ao SAT.

Neste trabalho foi possível observar que os valores de CENO e CEO para Ni foram iguais nos dois solos e o valor de CE50 não apresentou diferença estatística nos dois solos avaliados, mas vale lembrar que o pH dos dois solos tem caráter ácido, e foi o metal

com menor CENO dentre todos. A toxicidade do Ni para organismos edáficos depende das propriedades do solo, sendo o pH o fator isolado mais importante em que quanto maior o pH, menor a biodisponibilidade, portanto menor a toxicidade (Wang et al., 2018; Lin et al., 2019), portanto a diferença de solos, com o mesmo pH, não apresentou diferença significativa na toxicidade.

O Pb, assim como acontece com o Cu, também se liga a matéria orgânica dissolvida do solo, o que aumenta a biodisponibilidade do metal em solos ácidos e com maior quantidade de carbono orgânico (Alloway, 2013), portanto o SN apresenta maior toxicidade. ZHANG et al. (2019) avaliaram 6 diferentes solos naturais e observaram que as propriedades dos solos, como o pH, CTC e concentração de Ca, afetam a disponibilidade e, conseqüentemente, a toxicidade ao *E. crypticus*.

A sorção do Zn aumenta em solos argilosos com alta concentração de matéria orgânica (Alloway, 2013), observado por este trabalho em que Zn em SN foi menos tóxico que em SAT.

É possível verificar que, em solos diferentes, a toxicidade pode variar significativamente e que os metais podem ser mais tóxicos que outros para o organismo *E. crypticus*. As características de solo que mais influenciaram na biodisponibilidade dos metais foram pH, matéria orgânica e quantidade de argila. Portanto, para entender melhor sobre o potencial de contaminação do LE quanto ao seu conteúdo de metais e a toxicidade que pode causar aos organismos edáficos, deve ser feita uma avaliação de risco, que considere o potencial tóxico do metal e a presença nos LE.

5.5 Avaliação de risco ecotoxicológico

É necessário conhecer a influência das substâncias presentes no LE, como os metais, e os efeitos aos organismos de solo, o que pode contribuir para o estabelecimento ou atualização de limites máximos dos compostos químicos presentes no LE e no solo, considerando os riscos ao ecossistema edáfico. De acordo com NIVA et al. (2016), os valores adotados por leis brasileiras, a qual a autora se referia ao CONAMA nº 375/2006, substituída por CONAMA nº 498/2020, não são baseados em testes com solos naturais brasileiros e não indica como a avaliação de risco ecológico deve ser realizada.

Muitas variáveis podem influenciar na toxicidade do LE e por isso a avaliação de risco de compostos, em cada localização geográfica, se faz necessária para prever os efeitos ambientais que o LE pode gerar se aplicado no solo (González et al., 2010).

Os valores da concentração esperada de cada substância (PEC), apresentados na tabela 10, foram calculados como está descrito no item 4.2.7, a partir dos teores de metais nos LE e da taxa de aplicação de 0,33, 0,60 e 0,34 kg m⁻¹ para o LEA, LEB e LEC, respectivamente.

Tabela 10 – Concentração esperada de cada substância (PEC) no solo a partir da taxa de aplicação anual, para a cultura de milho, e da determinação da concentração dos metais presentes no LE

Metal	PEC (mg kg ⁻¹)		
	LEA	LEB	LEC
As	0,011	0,012	nr
Ba	0,349	1,235	0,308
Cd	0,001	0,004	0,003
Cr	0,061	0,115	0,042
Cu	0,447	0,235	0,387
Hg	nr	nr	nr
Mo	0,009	0,044	0,160
Ni	0,073	0,219	0,020
Pb	0,041	0,079	0,031
Se	nr	nr	nr
Zn	2,864	1,939	5,445

nr = não realizado

De acordo com GUO-HANG et al. (2018) os teores de Hg, Zn, Cu, Cd e Pb nos solos aumentaram linearmente com o aumento das taxas de aplicação de LE, e a pesquisa realizada pelos autores estimou que o Hg, em 18 anos se acumularia no solo e atingiria os limites máximos previstos por regulamentações chinesas, seguido de Zn, e para este último esse período seria de 51 anos.

Para os outros metais, os resultados indicaram que seria necessário um prazo maior para atingir os limites máximos, de acordo com a análise de risco. Porém nesse cálculo é levado em conta o conteúdo de metais no solo, o padrão de acumulação dos metais e a taxa de aplicação dos LE comparados aos limites preconizados no país.

Considerar o tipo de solo é um aspecto muito importante da avaliação da toxicidade do LE e metais, pois propriedades dos solos podem apresentar diferenças nos resultados de bioensaios (Vasícková et al., 2016).

Essa variação em testes de reprodução dos organismos, em diferentes solos, contaminados por metais pode ficar ainda mais evidenciada, já que as propriedades do solo e do elemento químico podem apresentar toxicidades diferentes. Tipos de solos podem influenciar na biodisponibilidade dos metais, devido às características como pH e matéria orgânica (Alves et al., 2018; Lin et al., 2019) e cada metal apresenta bioacumulação distinta entre eles (Guo-Hang et al., 2018).

O risco ecotoxicológico foi avaliado pelo cálculo dos quocientes de risco (QR) a partir das concentrações dos metais e das concentrações sem efeitos previstos (PNEC), calculados a partir do CENO de cada metal e da concentração esperada de cada substância (PEC). A tabela 11 apresenta valores de QR dos solos com adição de LE no valor da taxa de aplicação máxima anual, bem como as ocorrências (%) de alto risco para cada metal.

Tabela 11 – Valores de Quociente de Risco (QR) calculados a partir das quantificações de metais presentes nas amostras de LE estudadas e a taxa de aplicação, em solo natural (SN) e solo artificial tropical (SAT)

Metal	LE aplicado no solo						QR>1 (%)
	LEA-SN	LEA-SAT	LEB-SN	LEB-SAT	LEC-SN	LEC-SAT	
As	0,01	0,05	0,01	0,06	0,00	0,00	0,0
Ba	0,14	0,14	0,49	0,49	0,12	0,12	0,0
Cd	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,0
Cr	0,25	0,01	0,46	0,01	0,17	0,01	0,0
Cu	0,18	0,18	0,09	0,09	0,15	0,15	0,0
Hg	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0
Mo	0,03	0,00	0,18	0,01	0,64	0,04	0,0
Ni	0,73	0,73	2,19	2,19	0,20	0,20	33,3
Pb	0,02	0,01	0,04	0,01	0,02	0,00	0,0
Se	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0
Zn	0,72	1,91	0,48	1,29	1,36	3,63	66,7
Σ QR	2,07	3,03	3,95	4,17	2,67	4,16	na
QR>1 (%)	0,0	9,1	9,1	18,2	9,1	9,1	na

na= não se aplica

Com a soma dos valores de QRs é possível observar de maneira geral a diferença da toxicidade nos dois tipos de solo. Para todas as amostras de LE o risco é maior no SAT. De acordo com SHARMA et al. (2017), quanto maior a quantidade de matéria orgânica, menor a disponibilidade dos metais, portanto menos toxicidade. Alguns metais são menos tóxicos em solos argilosos, pois estes apresentam maiores concentrações de matéria orgânica, P, Fe, Al que se ligam ao metal, tornando-o menos biodisponível (Alves et al., 2018; Mossa et al., 2020; Silva Junior et al., 2022).

Considerando que são 11 metais avaliados, a somatória dos QR ($\sum QR$) classifica os LE de médio risco, mas ao avaliar isoladamente, Ni e Zn apresentam alto risco em alguns casos, sendo 33,3% e 66,7% de ocorrência nas amostras estudadas, respectivamente.

CHEN et al. (2023) avaliaram o risco ecológico de metais em solos que recebeu aplicação de LE ($0,75 \text{ kg m}^{-2}$) e concluíram que, quando a aplicação segue a legislação chinesa, o risco é baixo.

Observando no SN, o LEA não apresenta nenhum metal considerado de alto risco, a partir das concentrações encontradas nesse LE. Para LEB o Ni é considerado de alto risco, e no LEC é o Zn que é considerado de alto risco, por causa da alta concentração presente nessa amostra de LE.

O Ba apresenta médio risco em todos os LE estudados, portanto deve ser visto com cautela, mesmo que tenha apresentado baixa toxicidade. O Ba forma precipitados insolúveis no solo devido à adição de LE nos solos e a facilidade de absorção pelas plantas possibilita a transferência ao longo da cadeia alimentar (Alloway, 2013).

Apesar do Mo estar acima do valor máximo estabelecido pelo CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020) e isso o impossibilita de ser usado na agricultura, o metal apresentou médio risco no LEC. A tabela 12 mostra a abundância dos metais encontrados nos LE e o ordem quanto ao risco desses metais.

Tabela 12 – Ordem decrescente da concentração presente no LE e dos níveis de risco no SN

LE	Ordem decrescente de concentração presente no LE	Ordem decrescente quanto ao risco em SN		
		QR <0,1	QR entre 0,1-1,0	QR >1
LEA	Zn>Cu>Ba>Ni>Cr>Pb>As>Mo>Cd>Hg e Se		Ni>Zn>Cr>Cu>Ba	Mo>Pb>As>Cd>Hg e Se
LEB	Zn>Ba>Cu>Ni>Cr>Pb>Mo>As>Cd>Hg e Se	Ni	Ba>Zn>Cr>Mo	Cu>Pb>Cd>As>Hg e Se
LEC	Zn>Cu>Ba>Mo>Cr>Pb>Ni>Cd>As, Hg e Se	Zn	Mo>Ni>Cr>Cu>Ba	Pb>Cd>As, Hg e Se

A ordem decrescente das concentrações foi semelhante a outras pesquisas, tendo sempre o Zn e Cu os mais abundantes e Pb, Cd, Hg e As em menores concentrações (Feng et al., 2018; Chen et al., 2023). O Ba não foi determinado nos estudos de FENG et al. (2018) e CHEN et al. (2023).

O Ni é um metal tóxico, mas estudos sobre a toxicidade do Ni em solo são bastante limitados e os efeitos de várias propriedades do solo não são considerados em estudos (Lin et al., 2019). Quando calculado o QR de amostra de LE, o risco de Ni é alto para todos os casos, tanto em solo argiloso como arenoso e para LEA e LEB foi o metal com maior valor de QR em SN, seguido do Zn, que foi o elemento mais tóxico no LEC.

O Zn e o Ni são os elementos com maior QR, e cabe reforçar que o Ni, mesmo atendendo a legislação brasileira (Brasil, 2020), é um metal que pode ser responsável pela toxicidade do LE no solo. A União Europeia estabelece limites ainda mais restritivos para Ni e Zn (EU, 1986), quando comparados aos exigidos no Brasil (Brasil, 2020).

Um questionamento importante é em relação aos valores preconizados pelo CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020) em que, se os limites máximos definidos nesta norma para os metais fossem alcançados, quais seriam os elementos que trariam riscos ao meio ambiente?

A tabela 13 mostra essa avaliação, considerando taxa de aplicação, para a cultura de milho, a média aritmética dos três LE estudados, considerando o limite máximo para LE da Classe 1 e da Classe 2. O Hg e o Se não foram considerados, pois não tem o valor de CENO, e não foi detectado nos LE estudados.

Tabela 13 – Quociente de risco hipotético dos metais para LE que alcancem as concentrações máximas preconizadas no CONAMA n° 498/2020 (Brasil, 2020)

Metal	Classe 1				Classe 2				QR >1 (%)
	SN		SAT		SN		SAT		
	>tx	<tx	>tx	<tx	>tx	<tx	>tx	<tx	
As	0,02	0,04	0,20	0,36	0,04	0,07	0,36	0,66	0,0
Ba	0,50	0,92	0,50	0,92	0,50	0,92	0,50	0,92	0,0
Cd	0,08	0,14	0,08	0,14	0,17	0,30	0,17	0,30	0,0
Cr	3,88	7,06	0,12	0,22	11,65	21,18	0,36	0,66	50,0
Cu	0,58	1,06	0,58	1,06	1,67	3,04	1,67	3,04	75,0
Mo	0,07	0,12	0,00	0,01	0,22	0,40	0,01	0,03	0,0
Ni	4,08	7,41	4,08	7,41	4,08	7,41	4,08	7,41	100,0
Pb	0,15	0,26	0,04	0,07	0,41	0,74	0,10	0,19	0,0
Zn	1,36	2,47	1,81	3,29	3,64	6,62	4,85	8,82	100,0
ΣQR	10,71	19,48	7,41	13,48	22,37	40,67	12,11	22,02	na
QR >1 (%)	33,3	33,3	22,2	33,3	44,4	44,4	33,3	33,3	na

na= não se aplica

>tx = menor taxa de aplicação dentre os LE estudados (0,33 kg m⁻²)

<tx = maior taxa de aplicação dentre os LE estudados (0,64 kg m⁻²)

Os metais Ni e Zn apresentaram alto risco nos dois tipos de solos, até mesmo considerando a menor taxa de aplicação. Já Cu apresentou risco médio quando considerada a menor taxa nas concentrações que classificam o LE como classe 1 e as outras possibilidades apresentam alto risco. Cr apresentou alto risco em SN e médio risco em SAT.

GARBELLINI et al. (2023) também avaliaram os riscos toxicológicos potenciais dos limites preconizados pelo CONAMA n° 498/2020, sendo que os metais Zn, Cu e Cr apresentaram maiores impactos nos ecossistemas, o que corrobora com os dados observados por este trabalho em que esses 3 metais estão entre os 4 que apresentaram riscos alto. Os autores levantam informações bibliográficas sobre outras localidades do Brasil e países (Europa, Suécia, Dinamarca, Estados Unidos) que também apresentaram riscos considerados críticos para os metais Zn, Cu e Cr e em alguns casos também incluem o Ni.

Observando que o Zn e Cu são muito abundantes nos LE em diferentes países, o Ni apresenta alta toxicidade e o Cr é mais tóxico em SN, tipicamente brasileiro, esses deveriam sofrer mudanças quanto ao limite estabelecido pelo CONAMA n° 498/2020. Os quatro metais mencionados têm limites mais rigorosos em legislações americanas e europeias,

e isto deve ser levado em consideração. Os limites dos teores de metais nos solos devem ser regulados considerando variabilidade que a toxicidade dos metais apresenta de acordo com as diferentes propriedades de solo (Achkir et al., 2023).

RENAUD et al. (2017) observaram que as concentrações de metais estabelecidas em Portugal podem não ser seguras para o ecossistema do solo, pois em alguns casos a carga de contaminante presente nos LE, mesmo apresentando valores abaixo dos limites estabelecidos pelo país, apresentava toxicidade.

O valor de QR para Cu se mantém abaixo de 1 quando o limite atendido é do LE Classe 1 na menor taxa de aplicação estudada, mas quando a taxa de aplicação é mais alta, o risco aumenta, portanto, é importante ficar atento quanto à taxa de aplicação e a concentração deste metal presente no LE para não causar impactos negativos ao solo. Importante ressaltar que, quanto menor a concentração de Ndisp no LE, maior será a taxa de aplicação, o que pode elevar o risco da aplicação em solos. Para Classe 2, o Cu indica risco alto em quaisquer das taxas de aplicação estudadas.

MOSSA et al. (2020) afirmam que os metais Zn, Ni e Cu são metais com alta labilidade, isto é, esses metais se dissociam mais facilmente e sofrem reações substitutivas, como consequência, tem fraca ligação com o solo, ficando mais biodisponível. Os autores afirmam que essa característica dos metais Zn, Ni e Cu devem ser consideradas ao estabelecer limites regulatórios.

O Cr foi o caso mais diferenciado, em que a toxicidade é muito mais alta em SN tropical brasileiro e que alterou significativamente a $\sum QR$ dos metais, tornando o SN com maior risco que o SAT, diferente dos valores apresentados nas tabelas 12 e 13. Os valores do QR do Cr foram muito altos em SN, o maior dentre todos os metais avaliados, portanto deve ser estudado com mais cautela, quando for LE aplicado no solo, podendo ser limitante dependendo das características do solo.

Os outros metais apresentaram baixo ou médio risco, caso estejam no LE à concentração próxima ao limite preconizado. As foi o metal que apresentou menor risco em SN, o que significa que o limite máximo da resolução é seguro tanto para LE da Classe 1 quanto da Classe 2.

A $\sum QR$ também é motivo de preocupação, pois, somando 9 metais, o valor deveria ser menor que 9 e, principalmente nos SN, o resultado foi muito superior, superando o triplo para a Classe 2, considerando SN.

5.6 Ensaios de ecotoxicidade do lodo de esgoto

Avaliar resíduos que contém misturas de metais e outros componentes, como é o caso do LE, se torna uma tarefa mais difícil. O aumento da interação entre os elementos químicos no LE pode afetar a biodisponibilidade dos metais (Renaud et al., 2020). Desta forma, foram realizados ensaios ecotoxicológicos do LE aplicado no SN que avaliou o efeito na reprodução de *E. crypticus*, não apenas dos metais isoladamente, mas sim das amostras de LE.

O ensaio ecotoxicológico do LE no SN mostrou que na taxa de aplicação para cada amostra de LE, recomendada pelo CONAMA nº 498/2020 (Brasil, 2020), não causou efeito tóxico à reprodução de *E. crypticus*. A contagem dos organismos resultou nos valores apresentados do CENO, CEO e CE50, considerando o erro padrão (EP). A tabela 14 apresenta esses resultados e as taxas de aplicação de cada LE, calculadas a partir dos valores de nitrogênio.

Tabela 14 – Resultados de CE50 (\pm EP), CEO e CENO ($\alpha=0,05$) dos testes com *E. crypticus* em SN com adição de diferentes concentrações de LE, de três ETE distintas, com exposição de 28 dias a 20°C

Estação	CENO	CEO	CE50	\pm EP	Taxa de aplicação máxima anual	
	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	kg m ⁻²	g kg ⁻¹ (a)
LEA	50,0	150,0	64,4	28,8	0,34	1,0
LEB	50,0	150,0	68,7	38,0	0,64	1,8
LEC	50,0	150,0	53,3	17,1	0,33	1,0

(a) Para conversão foram considerados: densidade do solo de 1700 kg m⁻³ e profundidade de 0,20 m.

Para os três lodos avaliados, os valores de CENO e CEO foram iguais, sendo 50 e 150 g kg⁻¹, respectivamente. E valor de CENO chegou a ser 50 vezes maior que a taxa de aplicação máxima anual para 2 LE (LEA e LEC) e quase 28 vezes maior no LEB. Isso representa que o LE pode ser tóxico ao longo dos anos de aplicação, mas em curto prazo os LE estudados não apresentaram alta toxicidade para o *E. crypticus*.

A toxicidade dos *E. crypticus* pode ser influenciada pela presença de amônia, sendo que, quanto maior a concentração de amônia livre, maior a toxicidade (Domene et al., 2008). As amostras de LE apresentaram valores de amônia de 2,4, 2,5 e 4,0 g kg⁻¹ para LEA, LEB e LEC, respectivamente, mas como a toxicidade entre as amostras foram estatisticamente

semelhantes, não é possível correlacionar com este composto, mas é somente observar que a presença de amônia nas concentrações aqui apresentadas não tornou o LE tóxico isto porque, de acordo com DOMENE et al. (2010) a amônia (NH₃) é sorvido à matéria orgânica e sua toxicidade pode ser atenuada.

Chen et al. (2023) concluíram que, de acordo com as normas chinesas, o risco do uso de LE nos solos, devido aos metais presentes, é baixo. Os autores ainda afirmam que, a partir do resultado do modelo de previsão do acúmulo de metais no solo, devida a aplicação anual de 0,75 kg m⁻² de LE, não haverá risco durante 15 anos.

O LE é fonte de matéria orgânica e fósforo e esses compostos químicos se acumulam no solo simultaneamente com metais e, com isso há redução da reatividade dos metais e minimização dos riscos potenciais decorrentes da aplicação do LE, podendo ser considerado de baixo risco por mais de 100 anos (Mossa et al., 2020).

De acordo com CONAMA nº 498/2020, o LEB é classificado Classe 1, o LEA Classe 2 e o LEC não atende o limite máximo de Zn e Mo. Mas, apesar dos diferentes valores de metais na composição de cada LE, todas as amostras apresentaram os mesmos valores de CENO e CEO, e os resultados de CE50 não apresentam diferença estatística significativa. Portanto não é possível correlacionar toxicidade do LE com a toxicidade dos metais presentes, visto que, mesmo com as diferenças de concentração dos metais presente em cada LE não houve diferença na toxicidade do LE.

O LE é considerado um corretivo orgânico comumente utilizado, pois a matéria orgânica no solo pode imobilizar os metais, alterando a biodisponibilidade do metal, transformando metais livres que são altamente biodisponível para óxidos metálicos ou carbonatos, considerado de baixa disponibilidade (Lwin et al., 2018).

ACHKIR et al. (2023) observaram que a aplicação do LE melhorou significativamente o teor de carbono orgânico, a principal reserva de nutrientes essenciais para o crescimento de plantas e micro-organismos, em dois solos distintos a partir da adição de 30% de LE seco, o que contribuiu para melhorar as propriedades físicas e químicas do solo. Isso explica o motivo do baixo risco de aplicação do LE no solo, mesmo quando a amostra apresenta altas concentrações de metais.

Metais, como Cd, Cr, Cu e Pb, são imobilizados pela concentração de ácido húmico que se ligam aos metais (Lwin et al., 2018). A dissociação do Cd e Pb diminuiu à medida que a concentração de P no solo aumenta a partir da aplicação de LE (Mossa et al., 2020), outro motivo que diminui a biodisponibilidade dos metais, portanto a diminuição da

toxicidade. WALKER et al. (2004) também relataram que a aplicação de esterco de vaca diminuiu a biodisponibilidade de Cu, Zn e Mn e aumentou o crescimento da parte aérea da ansarina-branca (*Chenopodium album L.*) em comparação com plantas cultivadas sem o uso do esterco.

Foram medidos os pH no início dos testes de ecotoxicidade e os valores variaram de 5,1 e 5,2, como valor mínimo e máximo, respectivamente, em SN. Por causa da pouca diferença entre as medidas, o pH não foi considerado uma variável significativa para ser correlacionada à toxicidade do LE, além disso, de acordo com ABNT (2012), esta faixa de pH não tem efeito negativo na reprodução dos organismos avaliados nesta pesquisa. Medidas de pH entre controle e solos que receberam LE também sofreram pouca variação. As medidas iniciais de pH dos solos que receberam LE foi de 5,1 a 5,6.

É possível observar que o aumento de LE no solo alterou o pH, aumentando o valor na maior concentração de LE aplicado (Anexo 2). Solos com pH ligeiramente ácidos aumentam ao receber LE, tendendo à neutro (Domene et al., 2010).

Mesmo que na taxa anual recomendada (1,0 e 1,8 g kg⁻¹) não tenha apresentado efeito na reprodução de *E. crypticus*, a aplicação do LE em solos agrícolas deve ser realizada com cautela. O LE pode ser considerado para a agricultura, porém existem muitas variáveis que influenciam na toxicidade como, por exemplo, o tipo de solo, o tipo de cultura cultivada, composição do LE e a escolha do tratamento do LE (Sharma et al., 2021), que devem ser estudadas detalhadamente. Portanto, o uso de LE como fertilizante deve ser feito com cuidado, pois existem potenciais riscos ecotoxicológicos relacionado ao seu uso em solo (Mejías et al., 2021).

É importante considerar que a toxicidade do LE pode variar em diferentes solos. DOMENE et al. (2010) avaliaram a toxicidade de um LE para o colêmbolo *Folsomia candida* em nove solos naturais e que a toxicidade foi diretamente relacionada à concentração de amônia, sendo que, quanto maior a concentração desse composto, maior a mortalidade e inibição da reprodução de colêmbolos. Os autores ainda relacionam que maiores teores de carbono orgânico estão associados a menor toxicidade do LE, que pode ser associado à sua maior capacidade de sorção de amônio. Os valores de CE50 feitos por DOMENE et al. (2010) para reprodução de *F. candida* variaram de 2,7 a 47,2 g kg⁻¹ de LE em solo seco.

A aplicação do LE na agricultura pode representar riscos à saúde e vida de organismos expostos aos contaminantes presentes (Buta et al., 2021) e o uso indiscriminado pode comprometer a cadeia alimentar e reduzir a produtividade do solo (Sharma et al., 2021).

Elementos como As, Cd, Cr, Pb e Hg foram classificados pela agência de proteção ambiental (EPA) como cancerígenos humanos, por gerarem falhas sistêmicas ou danos a múltiplos órgãos em níveis muito baixos de exposição (Tamayo-Figueroa et al., 2019), portanto o monitoramento de metais é de extrema importância. GARBELLINI et al. (2023) indica que os limites regulatórios brasileiros deveriam restringir a concentração de Hg, além do Cr, Cu e Zn, discutidos anteriormente.

A análise de risco também deve levar em conta a frequência da aplicação. Os riscos ambientais da aplicação do LE estão relacionados com o aumento de metais, principalmente quando se trata de aplicação agrícola à longo prazo (Achkir et al., 2023). O acúmulo prolongado de metais, mesmo que em baixas concentrações, pode causar efeito tóxico em micro-organismos do solo e, conseqüentemente, redução da qualidade do solo (Buta et al., 2021). DUAN e FENG (2022) afirmam que, embora concentração de metais atendam os valores limites, o uso prolongado em solos agrícolas pode não ser adequado e para suas amostras de LE o tempo máximo de aplicação é de 10 anos.

O Cr e o Ni tiveram concentração aumentada em solo e um dos motivos é a aplicação de LE em solo agrícola (Alloway, 2013). BREDA et al. (2020) observaram que, em 4 aplicações consecutivas de LE em solo, no período de 2 anos, nutrientes como P, Ca, B, Fe e Zn e também matéria orgânica tiveram acúmulo significativo. Os autores realizaram o experimento atendendo as taxas de aplicação calculadas a partir do N para a cultura de milho.

A lixiviação de sais de solos que recebem LE também deve ser levada em conta para evitar a contaminação de águas superficiais e subterrâneas (Achkir et al., 2023). Portanto o gerenciamento e monitoramento do LE e da área agrícola devem ser realizados com cautela com o objetivo de minimizar os riscos ao meio ambiente.

Por mais que a aplicação do LE no solo pareça viável, é importante ressaltar que esse resíduo pode ter características variadas na sua composição, que os metais têm a biodisponibilidade afetada nos diferentes tipos de solos e que o período de aplicação deve ser seguro, considerando a bioacumulação em longo prazo. Além desses pontos, outros compostos presentes no LE podem também trazer riscos no ecossistema edáfico, como os fármacos, compostos orgânicos e patógenos.

6 CONCLUSÃO

A aplicação do LE em áreas agrícolas pode expor a comunidade edáfica aos metais tóxicos, portanto há a necessidade de ampliar os conhecimentos dos efeitos ambientais que a disposição do LE pode causar no solo.

As três amostras de LE apresentaram conteúdo importante de nutrientes para plantas e podem melhorar a qualidade do solo. A caracterização de substâncias química apresenta que as concentrações de metais nos LE estudados divergem entre si, mas nos três LE não foram detectados a presença de Hg e Se.

O Mo foi encontrado no LEC em níveis que impossibilitaria a aplicação do LE como bio sólido, mas, mesmo em concentrações acima do preconizado pelo CONAMA nº 498/2020, apresentou baixo risco, considerando os solos avaliados nesta pesquisa.

Sugere-se que os limites máximos estabelecidos no CONAMA nº 498/2020 sejam revistos, pois, de acordo com a análise de risco adotada neste trabalho, os limites considerados para os metais Cr, Cu, Ni e Zn são altos e a aplicação do LE pode trazer riscos, mesmo atendendo os limites máximos.

O Ni e Zn foram os metais que apresentaram mais riscos aos LE estudados, portanto, devem ser acompanhados com cautela, e seria importante que esses metais fossem fatores limitantes para o uso do LE no solo.

O As foi o metal que apresentou menor risco, quanto ao limite máximo estabelecido, podendo observar que esse metal é o mais restrito na resolução quando observada a toxicidade dele, isoladamente.

Ensaio ecotoxicológico dos LE com *E. crypticus* não apresentou toxicidade na taxa de aplicação recomendada para o cultivo escolhido, no caso o milho, mas é importante ressaltar a necessidade de avaliar outros tipos de solos pois diferentes propriedades podem alterar os níveis de toxicidade. Informações sobre a toxicidade de metais nos solos brasileiros são escassos, e este trabalho preenche parte da lacuna que existe na área da pesquisa ecotoxicológica de solos.

Análise de risco é uma ferramenta importante para avaliar riscos na aplicação de LE em solos e auxiliar nas tomadas de decisão. Outros bioindicadores devem ser estudados, pois isso pode influenciar nos resultados finais de QR, já que o número de organismos usados, de diferentes níveis tróficos, altera os valores a ser considerado no fator de incerteza, valor este, que deve ser levados em consideração no cálculo da análise de risco.

7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABNT (2003). Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) - Agregados - Determinação da composição granulométrica. NM 248:2001. 6p.

_____ (2012). Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) - Qualidade do solo – Efeitos de poluentes em Enchytraeidae (*Enchytraeus sp.*) – Determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência. . ISO 16387/2004. 29 p.

Achkir, A., Aouragh, A., El Mahi, M., Lotfi, E. M, Labjar, N., El Bouch, M., Ouahidi, M. L., Badza, T., Farhane, H., El Moussaoui, T. (2023). Implication of sewage sludge increased application rates on soil fertility and heavy metals contamination risk. *Emerging Contaminants*, v. 9, p. 100200. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2022.100200>

Alloway, Brian J. (Ed.). (2013). Heavy metals in soils: trace metals and metalloids in soils and their bioavailability. Springer Science & Business Media, 3ª edição, ISBN 978-94-007-4470-7 (eBook), 615p. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-4470-7>

Alvarez, J. M. (2010). Influence of soil type and natural Zn chelates on flax response, tensile properties and soil Zn availability. *Plant Soil*, v. 328, p. 217–233. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0103-1>

Alves, P. R. L., da Silva, E. B., Cardoso, E. J. B. N., Alleoni, L. R. F. (2018). Ecotoxicological impact of arsenic on earthworms and collembolans as affected by attributes of a highly weathered tropical soil. *Environmental Science Pollution Research*, v. 25, p. 13217–13225. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6839-2>

Amorim, M. J. B., Gansemans, Y., Gomes, S. I. L. et al. (2021). Annelid genomes: *Enchytraeus crypticus*, a soil model for the innate (and primed) immune system. *Lab Anim*, v. 50, p. 285–294. <https://doi.org/10.1038/s41684-021-00831-x>

Andrade, J.C., Abreu, M.F. (2006) Análise química de resíduos sólidos para monitoramento e estudos agroambientais. Instituto Agronômico de Campinas, 178 p.

Ardestani, M. M., van Straalen, N. M., van Gestel, C. A. M. (2014). The relationship between metal toxicity and biotic ligand binding affinities in aquatic and soil organisms: A

review. *Environmental Pollution*, v. 195, p. 133-147.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2014.08.020>

Baran, A., Wieczorek, J., Mazurek, R., Urbánski, K., Klimkowicz-Pawlas, A. (2018). Potential ecological risk assessment and predicting zinc accumulation in soils. *Environmental Geochemical Health*, v. 40, p. 435–450. <https://doi.org/10.1007/s10653-017-9924-7>

Brasil (2006). Resolução nº 375, de 29 de agosto 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2006.

_____ (2007). Lei nº 11.445, de 05 de janeiro de 2007. Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento básico; altera as Leis nos 6.766, de 19 de dezembro de 1979, 8.036, de 11 de maio de 1990, 8.666, de 21 de junho de 1993, 8.987, de 13 de fevereiro de 1995; revoga a Lei no 6.528, de 11 de maio de 1978; e dá outras providências. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2007.

_____ (2009). Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2009.

_____ (2010). Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2010, n 147, Seção 1, p.3.

_____ (2020). Resolução nº 498, de 19 de agosto de 2020. Define critérios e procedimentos para produção e aplicação de biossólido em solos, e dá outras providências. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 21/08/2020, edição 161, seção 1, p. 265.

Breda, C. C., Soares, M. B., Tavanti, R. F. R., Viana, D. G., Freddi, O, S., Piedade, A. R., Mahl, D., Traballi, R. C., Guerrini, I. A. (2020). Successive sewage sludge fertilization:

Recycling for sustainable agriculture. *Waste Management*, v. 109, p. 38–50
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.04.045>

Buch, A. C., Schmelz, R. M., Niva, C. C., Correia, M. E. F., Silva-Filho, E. V. (2017). Mercury critical concentrations to *Enchytraeus crypticus* (Annelida: Oligochaeta) under normal and extreme conditions of moisture in tropical soils – Reproduction and survival. *Environmental Research*, v. 155, p. 365–372. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2017.03.00>

Buta, M., Hubeny, J., Zielínski, W., Harnisz, M., Korzeniewska, E. (2021). Sewage sludge in agriculture – the effects of selected chemical pollutants and emerging genetic resistance determinants on the quality of soil and crops – a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 214, p. 112070. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112070>

Caetano, A., Marques, C., Gonçalves, F., Silva, E., Pereira, R. (2016). Copper toxicity in a natural reference soil: ecotoxicological data for the derivation of preliminary soil screening values. *Ecotoxicology*, v. 25, p. 163-177. <https://doi.org/10.1007/s10646-015-1577-7>

Castro-Ferreira, M. P., Roelofs, D., van Gestel, C. A. M., Verweij, R. A., Soares, A. M. V. M., Amorim, M. J. B. (2012). *Enchytraeus crypticus* as model species in soil ecotoxicology. *Chemosphere*, v. 87, p. 1222–1227. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.01.021>

CETESB (2021). Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Norma Técnica nº P4.230. Aplicação de lodo de sistemas de tratamento biológico de efluentes líquidos sanitários em solo - diretrizes e critérios para projeto e operação. 2ª edição, maio/2021, 50 páginas.

Charlton, A., Sakrabani, R., Tyrrel, S., Casado, M. R., McGrath, S. P., Crooks, B., Cooper, P., Campbell, C. D. (2016). Long-term impact of sewage sludge application on soil microbial biomass: An evaluation using meta-analysis. *Environmental Pollution*, v. 219, p. 1021-1035
<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.07.050>

Chelinho, S., Pereira, C., Breitenbach, P., Baretta, D., Sousa, J. P. (2019). Quality standards for urban waste composts: The need for biological effect data. *Science of the Total Environment*, v. 694, p. 133602. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133602>

Chen, H., Yan, S.H., Ye, Z. L, Meng, H. J., Zhu, Y. G. (2012). Utilization of urban sewage sludge: Chinese perspectives. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, v. 19, p. 1454–1463. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0760-0>

Chen, G., Den Braver, M. W., van Gestel, C. A. M., van Straalen, N. M., Roelofs, D. (2015). Ecotoxicogenomic assessment of diclofenac toxicity in soil. *Environmental Pollution*, v. 199, p. 253-260. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.01.032>

Chen, Q., Zhao, B., Zhang, Y., Zhu, F., Wang, H., Wang, J., Fu, X. (2023). The function of “Cambi® thermal hydrolysis + anaerobic digestion” on heavy metal behavior and risks in a full-scale sludge treatment plant based on four seasons investigation. *Journal of Hazardous Materials*, v. 445, p. 130579 <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130579>

Christodoulou, A., Stamatelatou, K. (2016). Overview of legislation on sewage sludge management in developed countries worldwide. *Water Sci. Technol.*, v. 73 (3), p. 453–462. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.521>

Collivignarelli, M. C., Canato, M., Abba, A., Miino, M. C. (2019). Biosolids: What are the different types of reuse? *Journal of Cleaner Production*, v. 238, p. 117844. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117844>

Domene, X., Ramírez, W., Mattana, S., Alcañiz, J. M., Andrés, P. (2008). Ecological risk assessment of organic waste amendments using the species sensitivity distribution from a soil organisms test battery. *Environmental Pollution*, v. 155, p. 227–236. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.12.001>

Domene, X., Colón, J., Uras, M. V., Izquierdo, R., Ávila, N., Alcaniz, J. M. (2010). Role of soil properties in sewage sludge toxicity to soil collembolans. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 42, p. 1982-1990. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.07.019>

Duan, B., Feng, Q. (2022). Risk and potential analysis of the agricultural use of sewage sludge in Central Shanxi Province. *Int. J. Res. Public Health*, v. 19, p. 4236. <https://doi.org/103390/ijerph19074236>

EC (1986). European Commission. Council Directive 86/278/EEC of 12 June 1986 on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. OJ L, 181, 4.7. p.6.

EMBRAPA (2009). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes / editor técnico, Fábio Cesar da Silva. - 2. ed. rev. ampl. - Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p. ISBN 978-85-7383-430-7.

_____(2018). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, DF. 2018, 5ª edição, 355 p. ISBN 978-85-7035-800-4.

EU-TGD (2003). European Union Technical Guidance Documents in support of the Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and the Commission Regulation (EC) 1488/94 on risk assessment for existing substances and the Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Ispra, Chapter 2. Italy: European Chemicals Bureau. 332 pp.

Fang, W., Delapp, R. C., Kosson, D. S., van der Sloot, H. A., Liu, J. (2017). Release of heavy metals during long-term land application of sewage sludge compost: Percolation leaching tests with repeated additions of compost. *Chemosphere*, v. 169, p. 271-280. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.086>

Feng, J. J., Jia, L., Liu, Q. Z., Chen, X. L., Cheng, J. P. (2018). Source identification of heavy metals in sewage sludge and the effect of influent characteristics: a case study from China. *Urban Water J.* v. 15 (4), p. 381–387. <https://doi.org/10.1080/1573062x.2018.1483525>

Ferraz, A. V., Momentel, L. T., Poggian, F. (2016). Soil fertility, growth and mineral nutrition in *Eucalyptus grandis* plantation fertilized with different kinds of sewage sludge. *New Forests*, v. 47, p. 861–876. <https://doi.org/10.1007/s11056-016-9549-1>

Fijalkowski, K., Rorat, A., Grobelak, A., Kacprzak, M. J. (2017). The presence of contaminations in sewage sludge - The current situation. *Journal of Environmental Management*, v. 203, p. 1126-1136. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.05.068>

Fuentes, A., Lloréns, M., Sáez, J., Aguilar, M. I., Pérez-Marín, A. B., Ortuño, J. F., Meseguer, V. F. (2006). Ecotoxicity, phytotoxicity and extractability of heavy metals from different stabilized sewage sludges. *Environmental Pollution*, v. 143, p. 355-360.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.11.035>

Garbellini, L. R., Chrispim, M. C., Silveira, J. E., Pacca, S. A. (2023). (Eco)toxicological impact potential from inorganic substances in biosolids: Real data-based suggestions for regulatory improvements. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, v. 20, p. 100846. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2023.100846>

Gherghel, A., Teodosiu, C., de Gisi, S. (2019). A review on wastewater sludge valorisation and its challenges in the context of circular economy. *Journal of Cleaner Production*, v. 228, p. 244-263. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.240>

Gomes, S. I. L., de Boer, T. E., van Gestel, C. A. M., van Straalen, N. M., Soares A. M. V. M., R. D., Amorim, M. J. B. (2022). Molecular mechanisms of zinc toxicity in the potworm *Enchytraeus crypticus*, analysed by high-throughput gene expression profiling. *Science of The Total Environment*, v. 825, p. 153975. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153975>

Gonzaga, M. I. S., Mackowiak, C. L., Comerford, N. B., Moline, E. F. da V., Shirley, J. P., Guimarães, D. V. (2017). Pyrolysis methods impact biosolids-derived biochar composition, maize growth and nutrition. *Soil and Tillage Research*, v. 165, p. 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.still.2016.07.009>

González, M. M., Martín, J., Santos, J. L., Aparicio, I., Alonso, I. (2010). Occurrence and risk assessment of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in sewage sludge from different conventional treatment processes. *Science of the Total Environment*, v. 408, p. 563–570 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.10.027>

Groth, V. A., Carvalho-Pereira, T., Da Silva, E. M., Niemeyer, J. C. (2016). Ecotoxicological assessment of biosolids by microcosms. *Chemosphere*, v. 161, p. 342-348. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.029>

Guo-hang, Y., Guang-yun, Z., He-lian, L., Xue-mei, H., Ju-mei, L., Yi-bing, M. (2018). Accumulation and bioavailability of heavy metals in a soil-wheat/maize system with long-

term sewage sludge amendments. *Journal of Integrative Agriculture* 2018, v. 17(8), p. 1861–1870. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61884-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61884-7)

Gusiatin, Z. M., Kulikowska, D., Klik, B. K., Hajdukiewicz, K. (2018). Ecological risk assessment of sewage sludge from municipal wastewater treatment plants: a case study, *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, v. 53 (13), p. 1167-1176. <https://doi.org/10.1080/10934529.2018.1530333>

Hoang, S. A., Bolan, N., Madhubashan, A. M. P., Vithanage, M., Perera, V., Wijesekara, H., Wang, H., Srivastava, P., Kirkham, M. B., Mickan, B. S., Rinklebe, J., Siddique, K. H. M. (2022). Treatment processes to eliminate potential environmental hazards and restore agronomic value of sewage sludge: A review. *Environmental Pollution*, v. 293, p. 118564. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118564>

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2020). Pesquisa nacional de saneamento básico 2017. Rio de Janeiro, 128p. <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101734.pdf> <disponível em: 01/11/2022>

Jänsch, S., Amorim, M. J., Römbke, J. (2005). Identification of the ecological requirements of important terrestrial ecotoxicological test species. *Environ. Rev.*, v. 13, p. 51–83. <https://doi.org/10.1139/A05-007>

Kacprzak, M., Neczaj, E., Fijałkowski, K., Grobelak, A., Grosser, A., Worwag, M., Rorat, A., Brattebo, H., Almås, A., Singh, B. R. (2017). Sewage sludge disposal strategies for sustainable development. *Environmental Research*, v. 156, p. 39–46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2017.03.010>

Kinney, C. A., Campbell, B. R., Thompson, R., Furlong, E. T., Kolpin, D. W., Burkhardt, M. R., Zaugg, S. D., Werner, S. L., Hay, A. G. (2012). Earthworm bioassays and seedling emergence for monitoring toxicity, aging and bioaccumulation of anthropogenic waste indicator compounds in biosolids-amended soil. *Science of the Total Environment*, v. 433, p. 507–515. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.06.097>

Kończak, M., Oleszczuk, P. (2018). Application of biochar to sewage sludge reduces toxicity and improve organisms growth in sewage sludge-amended soil in long term field experiment.

Science of the Total Environment, v. 625, p. 8–15.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.118>

Kool, P. L., Ortiz, M. D., van Gestel, C. A. M. (2011). Chronic toxicity of ZnO nanoparticles, non-nano ZnO and ZnCl₂ to *Folsomia candida* (Collembola) in relation to bioavailability in soil. Environmental Pollution, v. 159, p. 2713-2719.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.05.021>

Kuperman, R. G., Checkai, R. T., Simini, M., Philips, C. T., Speicher, J. A., Barclift, D. J. (2006). Toxicity benchmarks for antimony, barium, and beryllium determined using reproduction endpoints for *Folsomia candida*, *Eisenia fetida*, and *Enchytraeus crypticus*. Environmental Toxicology and Chemistry, v. 25(3), p. 754–762. <https://doi.org/10.1897/04545R.1>

Li, S., Jia, M., Li, Z., Ke, X., Wu, L., Christie, P. (2021). Ecotoxicity of arsenic contamination toward the soil enchytraeid *Enchytraeus crypticus* at different biological levels: Laboratory studies. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 207, p. 111218.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111218>

Lin, X., Sun, Z., Zhao, L., Ma, J., Wu, Z., Zhou, C., Li, X., Hou, H. (2019). The toxicity of exogenous nickel to soil-dwelling springtail *Folsomia candida* in relation to soil properties and aging time. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 174, p. 475–483.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.017>

Liu, M., Xu, J., Krogh, P., Song, J., Wu, L., Luo, Y., Ke, X. (2018). Assessment of toxicity of heavy metal-contaminated soils toward Collembola in the paddy fields supported by laboratory tests. Environmental Science and Pollution Research, v. 25 (17), p. 16969-16978.
<https://doi.org/10.1007/s11356-018-1864-y>

Luo, W., Verweij, R. A., van Gestel, C. A. M. (2014). Contribution of soil properties of shooting fields to lead bioavailability and toxicity to *Enchytraeus crypticus*. Soil Biology & Biochemistry, v. 76, p. 235-241. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.05.023>

Lwin, C. S., Seo, B. H., Kim, H. U., Owens, G., Kim, K. R. (2018). Application of soil amendments to contaminated soil for heavy metal immobilization and improved soil quality –

a critical review. *Soil Science and plant nutrition* (Tokyo), v. 64(2), p. 156-167.
<https://doi.org/10.1080/00380768.2018.1440938>

Mejías, C., Martín, J., Santos, J. L., Aparicio, I., Alonso, E. (2021). Occurrence of pharmaceuticals and their metabolites in sewage sludge and soil: A review on their distribution and environmental risk assessment. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, v. 30, p. 00125. <http://dx.doi.org/10.1016/j.teac.2021.e00125>

Menezes-Oliveira, V. B., Scott-Fordsmand, Rocco, A., Soares, A. M. V. M., Amorim, M. J. B. (2011). Interaction between density and Cu toxicity for *Enchytraeus crypticus* and *Ensenia fetida* reflecting field scenarios. *Science of the Total Environment*, v. 409, p. 3370-3374.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.04.033>

Mossa, A-W., Dickinson, M. J., West, H. M., Young, S. D., Crout, N. M. J. (2017). The response of soil microbial diversity and abundance to long-term application of biosolids. *Environmental Pollution*, v. 224, p. 16-25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2017.02.056>

Mossa, A-W., Bailey, E. H., Usman, A., Young, S. D., Crout, N. M. J. (2020). The impact of long-term biosolids application (>100 years) on soil metal dynamics. *Science of The Total Environment*, v. 720, p. 137441. <https://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137441>

Nascimento, A. L., de Souza, A. J., Oliveira, F. C., Coscione, A. R., Viana, D. G., Regitano, J. B. (2020). Chemical attributes of sewage sludges: Relationships to sources and treatments, and implications for sludge usage in agriculture. *Journal of Cleaner Production*, v. 258, p. 120746. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120746>

Niemeyer, J. C., Carniel, L. S. C., de Santo, F. B., Silva, M., Klauberg-Filho, O. (2018). Boric acid as reference substance for ecotoxicity tests in tropical artificial soil. *Ecotoxicology*, v. 27, p. 395–401. <https://doi.org/10.1007/s10646-018-1915-7>

Niva, C. C., Niemeyer, J., Júnior, F., Nunes, M., de Sousa, D., Aragão, C., Sautter, K., Espindola, E., Sousa, J., Römbke, J. (2016). Soil ecotoxicology in Brazil is taking its course. *Environmental Science and Pollution Research International*, v. 11, p. 11363-11378.
<https://doi.org/10.1007/s11356-016-6597-1>

Niva, C. C. (2019). *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Editores técnicos: Niva, C.C., Brown, G. G. – Brasília, DF: Embrapa, 258 p.

Oleszczuk, P. (2010). Toxicity of Light Soil Fertilized by Sewage Sludge or Compost in Relation to PAHs Content. *Water, Air & Soil Pollution*, v. 210, p. 347-356. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-0257-8>

Pelosi, C., Römbke, J. (2016). Are Enchytraeidae (Oligochaeta, Annelida) good indicators of agricultural management practices? *Soil Biology and Biochemistry*, v. 100, p. 255-263. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.06.030>

Pelosi, C., Römbke, J. (2018). Enchytraeids as bioindicators of land use and management. *Applied Soil Ecology*, v. 123, p. 775–779. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.05.014>

Picariello, E., Pucci, L., Carotenuto, M., Libralato, G., Lofrano, G., Baldantoni, D. (2021). Compost and Sewage Sludge for the Improvement of Soil Chemical and Biological Quality of Mediterranean Agroecosystems. *Sustainability*, v. 13, p. 26. <https://dx.doi.org/10.3390/su13010026>

Raij, B. van, Cantarella, H., Quaggio, J. A., Furlani, A. M. C. (1997). *Recomendação de adubação e calagem para o Estado de São Paulo*. 2ª ed. Instituto Agrônomo de Campinas - IAC.Campinas. 285p. (Boletim Técnico, 100).

Raij, B. van., Andrade, J. C., Cantarella, H., Quaggio, J. A. (Eds.) (2001). *Análise química para avaliação da fertilidade do solo*. Campinas: Instituto Agrônomo. 285p

Rajput, V. D., Yadav, A. N., Jatav, H. S., Singh, S. K., Minkina, T. (2021), *Management and Utilization of Sewage Sludge*. Switzerland. Springer. 381 p. ISBN 978-3-030-85226-9 (eBook) <https://doi.org/10.1007/978-3-030-85226-9>

Renaud, M., Chelinho, S., Alvarenga, P., Mourinha, C., Palma, P., Sousa, J. P., Natal-da-Luz, T. (2017). Organic wastes as soil amendments – Effects assessment towards soil invertebrates. *Journal of Hazardous Materials*, v. 330, p. 149–156. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.01.052>

Renaud, M., Cousins, M., Awuah, K. F., Jegede, O., Sousa, J. P., Siciliano, S. D., Sousa, J. P., Siciliano, S. D. (2020). The effects of complex metal oxide mixtures on three soil invertebrates

with contrasting biological traits. *Science of the Total Environment*, v. 738, p. 139921. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139921>

Santorufu, L., van Gestel, C. A. M., Maisto, G. (2012). Ecotoxicological assessment of metal-polluted urban soils using bioassays with three soil invertebrates. *Chemosphere*, v. 88, p. 418–425. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.02.057>

Santos, F. C. F., Verweij, R. A., van Gestel, C. A. M., Amorim, M. J. B. (2022a). Toxicokinetics and toxicodynamics of copper and cadmium in the soil invertebrate *Enchytraeus crypticus* (Oligochaeta). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 236, p. 113485. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113485>

Santos, F. C. F., van Gestel, C. A. M., Amorim, M. J. B. (2022b). Impact of chromium on the soil invertebrate model *Enchytraeus crypticus* (Oligochaeta) in standard reproduction and full life cycle tests. *Chemosphere*, v. 291(1), p. 132751. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132751>

Sharma, B., Sarkar, A., Singh, P., Singh, R. P. (2017). Agricultural utilization of biosolids: A review on potential effects on soil and plant grown. *Waste Management*, v. 64, p. 117–132. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2017.03.002>

Sharrer, M. J., Rishel, K., Summerfelt, S. (2009). Evaluation of geotextile filtration applying coagulant and flocculant amendments for aquaculture biosolids dewatering and phosphorus removal. *Aquacultural Engineering*, v. 40(1), p. 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2008.10.001>

Silva Junior, E. C. S., et al. (2022). Geochemistry of selenium, barium, and iodine in representative soils of the Brazilian Amazon rainforest. *Science of the Total Environment*, v. 828, p. 154426. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154426>

SNIS (2022). Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS). Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento – SNS: Diagnóstico Temático: Serviços de Água e Esgotos – 2020. Brasília: SNS/MDR, agosto, 2022. 31 p.: il. [REPUBLICACAO_DIAGNOSTICO_TEMATICO_VISAO_GERAL_AE_SNIS_2022.pdf](https://mdr.gov.br/REPUBLICACAO_DIAGNOSTICO_TEMATICO_VISAO_GERAL_AE_SNIS_2022.pdf) (mdr.gov.br) <disponível em: 13/02/2023>

Soares, L. C., Linhares, L. A., Egreja Filho, F. B., Windmoller, C. C., Yoshida, M. I. (2015). Mercúrio em solos da região sudeste do Brasil sem influências antropogênica e sua correlação com as características químicas e físicas. *Revista Brasileira de Ciência no Solo*, v.39, p.903-914. <https://doi.org/10.1590/01000683rbc20140411>

Sydow, M., Chrzanowski, L., Cedergreen, N., Owsianiak, M. (2017). Limitations of experiments performed in artificially made OECD standard soils for predicting cadmium, lead and zinc toxicity towards organisms living in natural soils. *Journal of Environmental Management*, v. 198, p. 32-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.04.092>

Tamayo-Figueroa, D. P., Castilho, D. P., Brandão, P. F. B. (2019). Metal and metalloid immobilization by microbiologically induced carbonates precipitation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 35, p. 58. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2626-9>

Tan, Y., Cao, S., Chen, S., Ao, X., Li, J., Hu, K., Liu, S., Penttinen, P., Yang, Y., Yu, Xiumei, Liu, A., Liu, C., Zhao, K., Zou, L. (2023). Antibiotic and heavy metal resistance genes in sewage sludge survive during aerobic composting. *Science of The Total Environment*, v. 866, p. 161386. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161386>

Teoh, S. K., Li, L. Y. (2020). Feasibility of alternative sewage sludge treatment methods from a lifecycle assessment (LCA) perspective. *Journal of Cleaner Production*, v. 247, p. 119495. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119495>

Tola, E., Al-Gaadi, K. A., Madugundu, R., Zeyada, A. M., Kayad, A. G., Biradar, C. M. (2017). Characterization of spatial variability of soil physicochemical properties and its impact on Rhodes grass productivity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 24, p. 421–429. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.04.013>

USEPA (1993). United States Environmental Protection Agency. 40 CFR PART 503. Standards or the use or disposal of sewage sludge.

_____ (1994). United States Environmental Protection Agency. A Plain English guide to the EPA Part 503 Biosolids Rule. EPA/832/R-93/003. Washington, DC

_____ (2006). United States Environmental Protection Agency. Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry. Method 6010D (SW-846): Revision 4. Washington, DC.

_____ (2007). United States Environmental Protection Agency. Microwave assisted acid digestion of sediments sludge, soils, and oils. EPA SW 846 3051a.30p,

_____ (2009). Targeted National Sewage Sludge Survey Sampling and Analysis Technical Report, January 2009, EPA-822-R-08-016. https://wcms.epa.gov/sites/production/files/2015-04/documents/targeted_national_sewage_sludge_survey_sampling_and_analysis_technical_report_0.pdf

van Gestel, C. A. M., Borgman, E., Verweij, R. A., Ortiz, M. D. (2011). The influence of soil properties on the toxicity of molybdenum to three species of soil invertebrates. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 74, p. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.10.001>

Vasícková, J., Manáková, B., Sudoma, M., Hofman, J. (2016). Ecotoxicity of arsenic contaminated sludge after mixing with soils and addition into composting and vermicomposting processes. *Journal of Hazardous Materials*, v. 317, p. 585–592. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.06.029>

Verlicchi, P., Zambello, E. (2015). Pharmaceuticals and personal care products in untreated and treated sewage sludge: Occurrence and environmental risk in the case of application on soil - A critical review. *Science of the Total Environment*, v. 538, p. 750–767. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.108>

Walker, D. J., Clemente, R., Bernal, M. P. (2004). Contrasting effects of manure and compost on soil pH, heavy metal availability and growth of *Chenopodium album* L. in a soil contaminated by pyritic mine waste. *Chemosphere*, v. 57, p. 215–224. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.05.020>

Wang, X. Q., Wei, D. P., Ma, Y. B., McLaughlin, M. J. (2018). Soil ecological criteria for nickel as a function of soil properties. *Environ Sci. Pollut. Res.*, v. 25, p. 2137–2146. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0456-6>

WHO/UNICEF (2020). State of the World's Sanitation: An urgent call to transform sanitation for better health, environments, economies and societies. New York: United Nations Children's Fund (UNICEF) and the World Health Organization, 2020. <https://data.unicef.org/resources/state-of-the-worlds-sanitation/>< acessado em: 18/02/2023>

Wong, J. W. C., Li, K., Fang, M., Su, D. C. (2001) Toxicity evaluation of sewage sludges in Hong Kong. *Environment International*, v. 27, p. 373–380. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(01\)00088-5](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00088-5)

Wyszkowska, J., Borowik, A., Zaborowska, M., Kucharski, J. (2023). Sensitivity of *Zea mays* and Soil Microorganisms to the Toxic Effect of Chromium (VI). *International Journal Molecular Sciences*, v. 24, p. 178. <https://doi.org/10.3390/ijms24010178>

Xia, S., Song, Z., Jeyakumar, P., Bolan, N., Wang, H. (2020). Characteristics and applications of biochar for remediating Cr(VI)-contaminated soils and wastewater. *Environ Geochem Health*, v. 42, p.1543–1567. <https://doi.org/10.1007/s10653-019-00445-w>

Yang, K., Zhu, Y., Shan, R., Shao, Y., Tian, C. (2017). Heavy metals in sludge during anaerobic sanitary landfill: Speciation transformation and phytotoxicity. *Journal of Environmental Management*, v. 189, p. 58-66. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.12.019>

Yang, Y., Peng, Y., Ma, Y., Chen, G., Li, F., Liu, T. (2021). Effects of aging and reduction processes on Cr toxicity to wheat root elongation in Cr(VI) spiked soils. *Environ Pollut.*, v. 296, p. 118784. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118784>

Zhang, L., van Gestel, C. A. M. (2019). Effect of ageing and chemical form on the bioavailability and toxicity of Pb to the survival and reproduction of the soil invertebrate *Enchytraeus crypticus*. *Science of the Total Environment*, v. 664, p. 975–983. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.054>

Zhang, L., Verweij, R. A., van Gestel, C. A. M. (2019). Effect of soil properties on Pb bioavailability and toxicity to the soil invertebrate *Enchytraeus crypticus* *Chemosphere*, v. 217, p. 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.146>

ANEXO 1

Ensaio de sensibilidade

De acordo com ABNT (2012) o ensaio de sensibilidade deve acontecer anualmente ou em paralelo aos testes para garantir a adequação das condições do laboratório aos testes. Ainda essa norma sugere o uso de carbendazim como substância referência, mas que sua comercialização já foi proibida. Portanto, o ácido bórico está substituindo o carbendazim em ensaios de sensibilidade. NIEMEYER et al. (2018) desenvolveram análise de sensibilidade com H_3BO_3 usando SAT e encontraram valores médios de CE50 entre 96,8 e 198 $mg\ kg^{-1}$ usando concentrações as mesmas concentrações aqui usadas.

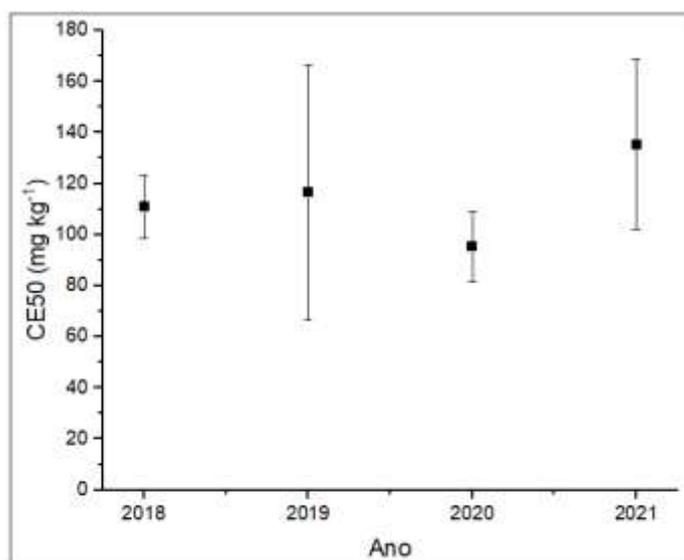
Os ensaios de sensibilidade foram feitos entre 2018 e 2021, uma vez por ano, para o acompanhamento da qualidade do cultivo (tabela 15). Os testes de sensibilidade foram validados de acordo com valores de coeficiente de variação, sendo menores que 50%. O pH do SAT esteve entre 5,5 e 6,5, de acordo com a ABNT (2012).

Tabela 15 – Resultados do ensaio de sensibilidade dos *E. crypticus* nos anos de 2018 a 2021

Ano	Dunn/tukey		Logística	
	CENO	CEO	CE50	$\pm EP$
	$mg\ kg^{-1}$		$mg\ kg^{-1}$	
2018	100	200	110,91	12,46
2019	100	200	116,50	49,90
2020	50	100	95,17	13,68
2021	100	200	135,42	33,45

O ano de 2020 foi o ano de menor movimentação e ensaios no laboratório, por causa da pandemia, e isso pode ter impactado na qualidade do cultivo, apresentando valor de CENO menor que nos outros anos. Mas o cultivo foi recuperado. Na figura 10 é possível observar que não houve diferença significativa entre os valores de CE50 anuais.

Figura 10 – Valores de CE50±EP para ensaio de sensibilidade dos *E. crypticus*, entre 2018 e 2021, com Ácido Bórico



Fonte: Autora, 2023.

ANEXO 2

Tabela 16 – Valores de pH inicial e final para todos os tratamentos (metais e LE), nos solos naturais e artificiais

Elemento químico	pH	Tratamentos						
		T0	T1	T2	T3	T4	T5	
As SN	pH inicial	5,2	5,2	5,1	5,2	5,1	5,0	
	pH final	5,0	5,0	5,0	5,0	5,2	5,2	
As SAT	pH inicial	5,5	5,6	5,5	5,4	5,7	5,7	
	pH final	5,0	5,0	5,0	5,0	5,1	5,4	
Ba SN	pH inicial	5,2	5,2	5,1	5,2	5,1	5,0	
	pH final	5,0	5,0	5,0	5,0	5,2	5,2	
Ba SAT	pH inicial	4,8	4,8	4,9	4,8	4,8	4,7	
	pH final	4,8	5,2	5,1	5,2	5,1	5,0	
Cd SN	pH inicial	4,9	5,1	5,0	5,1	5,1	5,1	
	pH final	4,8	4,9	5,1	4,9	5,0	5,1	
Cd SAT	pH inicial	5,8	5,8	5,9	5,8	5,8	5,8	
	pH final	5,3	5,5	5,5	5,5	5,7	5,5	
Cr SN	pH inicial	4,7	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9	
	pH final	4,8	4,9	4,9	4,9	4,9	5,0	
Cr SAT	pH inicial	4,8	4,9	5,0	5,2	6,4	6,7	
	pH final	5,0	4,9	4,9	5,1	6,3	6,9	
Cu SN	pH inicial	5,5	5,6	5,1	5,3	5,2	4,7	
	pH final	5,2	5,2	5,1	5,3	5,2	4,8	
Cu SAT	pH inicial	6,1	6,0	6,2	5,8	5,5	5,0	
	pH final	5,9	6,0	5,8	5,2	5,3	5,0	
Mo SN	pH inicial	5,4	5,3	5,3	5,4	5,4	5,5	
	pH final	5,2	5,2	5,3	5,3	5,4	5,5	
Mo SAT	pH inicial	5,0	4,9	5,0	5,3	5,8	5,8	
	pH final	4,8	4,6	4,7	4,9	5,3	5,4	
Ni SN	pH inicial	5,2	5,2	5,2	5,2	5,3	5,3	
	pH final	5,0	5,1	5,1	5,2	5,2	5,2	
Ni SAT	pH inicial	6,1	5,8	5,8	5,7	5,7	5,5	
	pH final	5,9	5,5	5,7	5,7	5,8	5,6	
Pb SN	pH inicial	4,9	5,1	5,1	5,1	5,0	5,0	
	pH final	4,8	5,4	5,4	5,4	5,4	5,4	
Pb SAT	pH inicial	5,8	6,2	6,2	6,1	5,6	5,5	
	pH final	5,3	5,3	5,6	5,6	5,7	5,7	
Zn SN	pH inicial	5,0	5,2	5,3	5,2	5,1	5,1	
	pH final	5,2	5,2	5,3	5,2	5,3	5,1	
Zn SAT	pH inicial	5,1	4,7	4,7	4,7	4,7	4,6	
	pH final	5,0	4,8	4,8	4,8	4,9	4,9	
Estação	pH	Tratamentos						
		T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
LEA	pH inicial	5,1	5,3	5,4	5,2	5,4	5,1	5,6
	pH final	5,6	5,7	5,5	6,0	5,8	6,0	6,3
LEB	pH inicial	5,2	5,2	5,2	5,3	5,6	5,5	5,6
	pH final	4,9	5,0	5,4	5,5	5,6	5,7	5,7
LEC	pH inicial	5,1	5,1	5,2	5,2	5,2	5,3	5,6
	pH final	5,1	5,2	4,9	4,9	5,0	5,4	5,5

ANEXO 3

Tabela 17 - Valores dos testes paramétricos de tratamentos com distribuição normal e homocedásticos, dos metais em SN e SAT, seguidos dos resultados dos testes de Dunnet e CE50

	Normalidade		Homogeneidade		Dunnet		Logística	
	Kolmogorov-Smirnov (df=28)		Levene (df=5)		CENO	CEO	CE50	±EP
	p-value	Prob>F	F-value	mg kg ⁻¹		mg kg ⁻¹		
As SN ⁽¹⁾	0,254	0,171	1,724	200	400	728,8	42,8	
Ba SN ⁽¹⁾	0,227	0,152	1,810	250	500	1466,4	119,4	
Ba SAT ⁽¹⁾	0,145	0,089	2,218	250	500	1066,9	56,4	
Cd SN	0,339	0,586	0,763	50	100	224,4	17,8	
Cr SN ⁽¹⁾	0,061	0,332	1,223	25	50	60,2	1,6	
Cu SN	0,083	0,309	1,278	250	500	383,5	31,3	
Mo SN	0,329	0,119	1,996	25	100	326,3	78,0	
Mo SAT	0,112	0,260	1,407	400	800	624,6	55,5	
Ni SN	0,077	0,143	1,859	10	50	165,4	33,4	
Ni SAT ⁽¹⁾	0,143	0,256	1,419	10	50	134,4	9,6	
Pb SN	0,339	0,198	1,613	200	400	970,0	54,6	
Zn SN	0,208	0,161	1,770	200	400	221,3	18,6	
Zn SAT	0,152	0,119	1,999	150	200	180,3	6,1	

⁽¹⁾ foi necessária a transformação de dados (Raiz quadrada)

Tabela 18 - Valores dos testes não paramétricos de tratamentos com distribuição não normais e/ou heterocedásticos, dos metais em SAT, a partir do teste de Kruskal-Wallis, seguidos dos resultados dos testes de Dunn e CE50

	Kruskall-Wallis		Dunn		Logística	
	(df=5)		CENO	CEO	CE50	±EP
	Chi-Square	Prob>Chi-Square	mg kg ⁻¹		mg kg ⁻¹	
As SAT	24,655	1,62E-04	20	40	11,0	0,8
Cd SAT	22,105	5,00E-04	50	100	121,2	11,5
Cr SAT	20,041	0,00123	800	1600	618,4	30,9
Cu SAT	21,338	6,99E-04	250	500	503,6	33,8
Pb SAT	15,529	0,00832	800	1200	1331,0	38,5

Tabela 19 - Valores dos testes paramétricos e não paramétricos das amostras de lodo de esgoto seguidos dos resultados dos testes de Dunnet ou Dunn e CE50

	Normalidade	Homogeneidade		Teste não paramétrico		Dunnet/Dunn		Logística	
	Kolmogorov-Smirnov (df=32)	Levene (df=6)		Kruskall-Wallis (df=6)		CENO	CEO	CE50	±EP
	p-value	Prob>F	F-value	Chi-Square	Prob>Chi-Square	mg kg ⁻¹		mg kg ⁻¹	
LEA ⁽¹⁾	na	na	na	23,338	6,91E-04	50	150	64,4	28,8
LEB ⁽¹⁾	na	na	na	16,674	0,0106	50	150	68,7	38,0
LEC	0,221	0,0503	2,487	na	na	50	150	49,2	6,1

⁽¹⁾ foi aplicado o teste não paramétrico e Dunn

na = não se aplica