



NOELY BOCHI SILVA

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E ECOTOXICOLÓGICA DE
LODOS DE ESGOTO VISANDO À UTILIZAÇÃO NA
AGRICULTURA**

**CAMPINAS
2012**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL, ARQUITETURA E
URBANISMO**

NOELY BOCHI SILVA

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E ECOTOXICOLÓGICA DE
LODOS DE ESGOTO VISANDO À UTILIZAÇÃO NA
AGRICULTURA**

Orientador: Prof. Dr. Bruno Coraucci Filho

Dissertação de Mestrado apresentada a Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo da Unicamp, para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil, na área de Saneamento e Ambiente.

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA
DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA NOELY BOCHI SILVA E
ORIENTADA PELO PROF. DR. BRUNO CORAUCCI FILHO.**

**CAMPINAS
2012**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

Si38a Silva, Noely Bochi
Avaliação química e ecotoxicológica de lodos e
esgoto visando à utilização na agricultura / Noely
Bochi Silva. --Campinas, SP: [s.n.], 2012.

Orientador: Bruno Coraucci Filho.
Dissertação de Mestrado - Universidade
Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia
Civil, Arquitetura e Urbanismo.

1. Logo de esgoto. 2. Ecotoxicidade. 3.
Resíduo na agricultura. I. Coraucci Filho, Bruno,
1948-. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e
Urbanismo. III. Título.

Título em Inglês: Chemical and ecotoxicological assessment of sewage
sludge aiming its use in agriculture

Palavras-chave em Inglês: Sewage sludge, Ecotoxicity, Agriculture residue

Área de concentração: Saneamento e Ambiente

Titulação: Mestra em Engenharia Civil

Banca examinadora: Francisco Suetonio Bastos Mota, Ricardo de Lima Isaac

Data da defesa: 31-07-2012

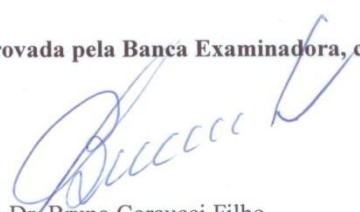
Programa de Pós Graduação: Engenharia Civil

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL, ARQUITETURA E
URBANISMO**

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E ECOTOXICOLÓGICA DE
LODOS DE ESGOTO VISANDO A UTILIZAÇÃO NA
AGRICULTURA**

Noely Bochi Silva

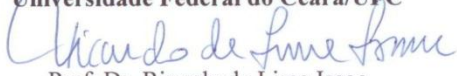
Dissertação de Mestrado aprovada pela Banca Examinadora, constituída por:



**Prof. Dr. Bruno Coraucci Filho
Presidente e Orientador
Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP**



**Prof. Dr. Francisco Suetonio Bastos Mota
Universidade Federal do Ceará/UFC**



**Prof. Dr. Ricardo de Lima Isaac
Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP**

Campinas, 31 de Julho de 2012.

Dedico esse trabalho aos meus pais (Jose Vicente e Angela) e ao meu namorado (Wellington), que sempre estiveram ao meu lado, me incentivando para que meus sonhos sejam realizados.

AGRADECIMENTOS

Meus eternos agradecimentos a todos que contribuíram para o preenchimento de mais essa página da minha vida, em especial:

À Deus fonte de luz e inspiração.

Aos meus familiares avós, tios e primas que sempre me apoiaram e me incentivaram a seguir nos estudos. Em especial aos meus pais Angela e Jose meu espelho de dignidade, força, amor e respeito. Minhas conquistas são suas também!

Ao meu namorado Wellington pelo companheirismo, incentivo e compreensão das minhas ausências para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Bruno Coraucci Filho, pela oportunidade do desenvolvimento da pesquisa, me propiciar crescimento profissional e pessoal e por acreditar em minha capacidade.

À Prof^a. Dr^a. Marta Siviero Guilherme Pires os maiores e mais sinceros agradecimentos pela valiosa orientação, disponibilidade, paciência, incentivo e amizade.

Ao Prof. Dr. Marcus Da Matta e a Prof^a. Dr^a. Gisela Umbuzeiro por permitirem o uso do IPLE no meu trabalho e por sanarem minhas dúvidas sempre que precisei.

Ao Prof. Dr. Francisco Anaruma Filho pela amizade, ensinamentos e contribuição à minha pesquisa, principalmente, nas análises de helmintos.

Aos técnicos de laboratório Enelton, Lígia, Fernando, Gilberto, Ádria, Anjaína e Josiane por me ensinarem, tirarem dúvidas e incentivo na realização dos ensaios. Em especial, ao Giovani pelo apoio, ajuda no cultivo das *Daphnias* e amizade que conquistamos.

Ao Prof. Dr. Tadeu França, funcionário da Sabesp, por fornecer as amostras para a realização dessa pesquisa.

À equipe do LABREUSO Luccas, Daniel, Thiago, Danielle Ramirez, Jorge e Giuliano, pelas pequenas e grandes ajudas que tanto me auxiliaram e pelos momentos de descontração.

A minha querida amiga Danielle Tonon, pelos ensinamentos, conselhos e apoio sempre que precisei. Nossa amizade começou durante o meu mestrado e continuará durante nossas vidas.

Aos bolsistas: Érika, Fernanda, Matheus, Felipe, Wellington, Daniel, Giucélia, Karla, Juliana e Helaine, pelo auxílio e amizade que conquistamos durante a realização dos ensaios.

As alunas de pós-graduação da FEAGRI: Camila, Gabriela, Adriana e Flávia pelas dicas de laboratório e amizade.

As minhas amigas de república em Campinas: Raquel e Cinthia por me incentivar, me ouvir e me aconselharem nos momentos difíceis e momentos de diversão.

Às minhas amigas de república em Limeira: Eloisa, Marisa, Andreza, Luiza e Layza pela amizade, hospedagem e apoio desde a graduação.

RESUMO

SILVA, N. B. **Avaliação química e ecotoxicológica de lodos de esgoto visando a utilização na agricultura.** Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo. Universidade Estadual de Campinas, 97p, 2012.

A destinação final de lodo de esgoto gerado nas estações de tratamento para a agricultura destaca-se por ser uma alternativa promissora e sustentável. Contudo, para se evitar efeitos adversos ao ecossistema e a saúde humana, este resíduo deve passar por uma rígida caracterização e monitoramento antes da sua aplicação. A Resolução CONAMA 375/2006 normatiza essa prática no Brasil, mas se restringe a alguns critérios químicos e biológicos que precisam ser monitorados. Recentemente, foi proposto um Índice de Perigo de Lodo de Esgoto (IPLE) baseado em ensaios ecotoxicológicos com organismos representativos, que expressa a periculosidade de lodos de esgoto quanto aos efeitos causados ao ecossistema. O objetivo deste trabalho foi realizar uma avaliação física, química, biológica e também ecotoxicológica em diferentes amostras de lodo de esgoto, para validar o IPLE e verificar a possibilidade do uso agrícola. De acordo com os resultados obtidos, as amostras de lodo de esgoto das ETEs dos municípios de Bernardino de Campos, Coronel Macedo, Fartura, Franca e Itaberá atendem aos limites preconizados por Brasil (2006) referentes aos metais potencialmente tóxicos e à concentração de patógenos, mas, segundo o IPLE, apenas as amostras de lodo de esgoto das estações de tratamento de esgoto dos municípios de Franca, após 5 meses de acondicionamento em recipientes de polietileno, e de Sarutaiá estão aptas ao uso agrícola. Portanto, espera-se que a utilização do índice baseado em testes ecotoxicológicos se constitua em ferramenta auxiliar na caracterização inicial do lodo de esgoto para sua liberação e disposição na agricultura, na tentativa de proporcionar maior segurança aos integrantes da cadeia alimentar que deverão utilizar os recursos originados do ambiente agrícola onde foi utilizado o biossólido.

Palavras-chave: lodo de esgoto, toxicidade com lodo, índice de perigo.

ABSTRACT

SILVA, N. B. **Chemical and ecotoxicological assessment of sewage sludge aiming its use in agriculture.** Thesis (Master). Civil Engineering, Architecture and Urbanism. State University of Campinas, 97p, 2012.

The disposal of sewage sludge generated at treatment plant for agriculture stands out as a promising and sustainable alternative. However, to avoid adverse effects to the ecosystem and human health, this residue must undergo into a strict characterization and monitoring prior to implementation the Resolution 375/2006, regulates the practice in Brazil, but it is restricted to some chemical and biological criteria that need to be monitored. Recently, it has been proposed a Hazard Index of Sewage Sludge (IPLE), based on ecotoxicological tests with representative organisms, which expresses the danger of sewage sludge on the effects caused to the ecosystem. The aim of this study was the physical, chemical, biological and ecotoxicological evaluation on different samples of sewage sludge, in order to validate the IPLE and verify the possibility of its agricultural use. According to the obtained results, the sewage sludge samples from treatment plant for municipal sewage of Bernardino de Campos, Coronel Macedo, Fartura, Franca and Itaberá comply with the limits recommended by Brazil (2006) concerning potentially toxic metals and pathogens concentration. Nevertheless, according to IPLE, only samples of sewage sludge from treatment plant for municipal sewage of Franca, after 5 months packaged in polyethylene containers, and Sarutaiá, are suitable for agricultural use. Therefore, it is expected that the use of the index based on ecotoxicological tests should constitute an auxiliary tool on initial sludge characterization for its agricultural release and arrangement in an attempt to provide improved safety to food chain members that should use resources from agricultural environment where sludges have been used.

Keywords: sewage sludge, sludge toxicity, hazard index.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	vii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
SUMÁRIO	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
INDICE DE TABELAS	xvi
LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS	xviii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 <i>Objetivos Específicos</i>	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 <i>Panorama do saneamento básico no Brasil</i>	4
3.2 <i>Lodo de esgoto</i>	6
3.3 <i>Tratamento do lodo de esgoto</i>	7
3.3.1 <i>Acondicionamento do lodo de esgoto em bolsa produzida com manta degeotêxtil</i>	8
3.4 <i>Formas de destinação do lodo de esgoto</i>	9
3.5 <i>Uso agrícola do lodo de esgoto</i>	10

3.5.1 Aspectos positivos	12
3.5.2 Aspectos negativos.....	14
3.6 Legislação	15
3.7 Ensaio ecotoxicológicos.....	19
3.7.1 Teste de toxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i>	21
3.7.2 Teste de toxicidade aguda com <i>Vibrio fischeri</i>	22
3.7.3 Teste de fitotoxicidade aguda com <i>Lactuca sativa</i>	23
3.8 Índice de Perigo de Lodo de Esgoto.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 Local de amostragem	26
4.1.1 Estação de Tratamento de Esgoto do município de Franca - SP	28
4.1.2 Estações de Tratamento de Esgoto dos municípios de Bernardino Campos, Coronel Macedo, Fartura, Itaberá, Sarutaiá.	29
4.2 Coleta e preservação das amostras	31
4.2.1 Armazenamento e coleta mensal das amostras de lodo das ETEs dos municípios de Fartura e Franca-SP	31
4.3 Metodologia das análises químicas	32
4.4 Metodologia das análises biológicas	34
4.5 Preparo dos extratos aquosos dos lodos.....	34
4.6 Metodologia de cultivo do organismo <i>Daphnia similis</i>	36
4.7 Teste de Toxicidade Aguda com <i>Daphnia similis</i>	37
4.8 Teste de Toxicidade Aguda com <i>Vibrio fischeri</i>	38
4.9 Teste de Toxicidade Aguda com <i>Lactuca sativa</i>	39
4.10 Cálculo do Índice de Perigo do Lodo de Esgoto.....	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1 Caracterização das amostras de lodo de esgoto.....	44
5.1.1 Análises biológicas	44
5.1.2 Análises de metais potencialmente tóxicos	47
5.1.3 Potencial agrônômico	49

5.2	<i>Avaliação ecotoxicológica das amostras de lodo de esgoto.....</i>	55
5.3	<i>Avaliação do decaimento do IPLE nas amostras de lodo de esgoto das ETEs dos municípios de Fartura e Franca.</i>	61
5.4	<i>Controle da sensibilidade dos organismos-teste às substâncias de referências</i>	63
5.5	<i>Fatores de interferência nos testes ecotoxicológicos</i>	65
5.5.1	<i>Processamento das amostras</i>	65
5.5.2	<i>Interferentes nos testes ecotoxicológicos</i>	66
6	CONCLUSÕES	68
7	RECOMENDAÇÕES.....	70
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1 - Evolução percentual das principais variáveis do esgotamento sanitário no Brasil entre os anos 2000 a 2008.....	5
Figura 4.1 - Localização dos municípios onde foram coletadas amostras de lodo de esgoto.	27
Figura 4.2 - Recipientes de polietileno com amostras de lodos de esgoto das ETEs dos municípios de Fartura e Franca - SP.....	32
Figura 4.3 – Amostra de lodo nos béqueres antes (esquerda) e depois (direita) de ser centrifugada.....	35
Figura 4.4 - Metodologia para teste de toxicidade com <i>Daphnia similis</i>	37
Figura 4.5 - Metodologia para a realização do teste com <i>Lactuca sativa</i>	41
Figura 4.6– Curva neperiana do Índice de Perigo de Lodo de Esgoto (IPLE) em relação a somatória das unidades tóxicas (UTs) na amostra	43
Figura 5.1: Ilustração de ovos de <i>Ascaris sp</i> presente na amostra de lodo de esgoto da ETE do município de Coronel Macedo.....	46
Figura 5.2 – Concentrações dos metais: Bário, Cobre, Cromo e Zinco (mg kg^{-1} em base seca) em comparação com os limites preconizados por Brasil (2006), USEPA (1993) e Council (1986)	48
Figura 5.3 - Concentrações dos metais: Arsênio, Cádmiio, Mercúrio e Molibdênio (mg kg^{-1} em base seca) em comparação com os limites preconizados por Brasil (2006), USEPA (1993) e Council (1986).....	48
Figura 5.4 - Concentrações dos metais: Chumbo, Níquel e Selênio (mg kg^{-1} em base seca) em comparação com os limites preconizados por Brasil (2006), USEPA (1993) e Council (1986)	49

Figura 5.5 - Índices de Perigo de Lodo de Esgoto (IPLE) em amostras de seis ETEs do estado de São Paulo, Brasil e o limite sugerido por Da Matta (2011) ao uso agrícola	57
Figura 5.6 - Avaliação dos IPLEs das amostras de lodo das ETEs dos municípios de Fartura e Franca - SP durante 5 meses de acondicionamento.	61
Figura 5.7 - Teste de sensibilidade do organismo <i>Daphnia similis</i> ao Cloreto de Sódio.	64
Figura 5.8 - Teste de sensibilidade da semente <i>Lactuca sativa</i> ao Sulfato de Zinco	64
Figura 5.9 - Teste de sensibilidade da bactéria <i>Vibrio fischeri</i> ao Sulfato de Zinco...	65

INDICE DE TABELAS

Tabela 3.1 - Quantidade de lodo destinado a uso agrícola no Brasil, ano base 2001 em base seca.....	11
Tabela 3.2 - Via de exposição mais restritiva de acordo com a avaliação de risco realizada pela USEPA (1992).....	17
Tabela 3.3 - Concentração máxima aceitável de metais potencialmente tóxicos (mg Kg ⁻¹ base seca) permitida no lodo de esgoto a ser aplicado de acordo com Brasil, Estados Unidos e Europa.....	18
Tabela 3.4. - Concentração máxima aceitável de metais potencialmente tóxicos (mg Kg ⁻¹ base seca) permitida no lodo de esgoto a ser aplicado de acordo com Brasil, Estados Unidos e Europa.....	18
Tabela 3.5 - Concentração máxima de patógenos permitida no lodo de esgoto a ser aplicado na agricultura de acordo com a resolução CONAMA N° 375 de 2006.....	19
Tabela 4.1- Principais características sócio-econômicas dos municípios com ETEs amostradas.....	28
Tabela 4.2- Principais características das ETEs que tiveram seus lodos acondicionados em “BAGs”.....	30
Tabela 4.3- Metodologias para as análises químicas.....	33
Tabela 4.4 - Metodologias para as análises de substâncias inorgânicas.....	34
Tabela 5.1 - Análise quantitativa de coliformes termotolerantes, <i>Salmonella sp</i> e o ovos viáveis de helmintos em amostras de lodo de esgoto	44
Tabela 5.2- Quantificação de ovos de <i>Ascaris sp</i> , <i>Ancilostomídeo</i> , <i>Toxocara sp</i> , <i>Trichuris sp</i> e <i>Hymenolepis sp</i> nas amostras de lodo de esgoto.....	46
Tabela 5.3 - Características físicas e químicas das amostras de lodo de esgoto, incluindo os macronutrientes, em base seca.....	50

Tabela 5.4 - Taxa de aplicação superficial das amostras de lodo de esgoto a serem utilizadas nas culturas de café, eucalipto e cana-de-açúcar.	54
Tabela 5.5 - Índice de Lodo de Esgoto (IPLE) e respostas dos bioensaios obtidos em seis amostras de lodo do Estado de São Paulo, Brasil.	56
Tabela 5.6 – Valores obtidos de IPLEs comparados a frequência percentual de não conformidades com as legislações brasileira, americana e européia.....	60
Tabela 5.7 - Aptidão das amostras de lodo de esgoto ao uso agrícola.....	62
Tabela 5.8 - Parâmetros que devem ser atendidos para não ocorrer interferência nos resultados de ensaios ecotoxicológicos com <i>V. fischeri</i> e <i>D. magna</i>	66

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CE50 - Concentração causadora de efeito adverso efetivo médio a 50% dos organismos estudados

ETE - Estação de Tratamento de Esgoto

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

NBR - Norma Técnica Brasileira

OD - Oxigênio Dissolvido

OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development

pH - potencial hidrogeniônico

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IPLÉ - Índice de Perigo de Lodo de Esgoto

UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas

USEPA - United States Environmental Protection Agency

UT - Unidade Tóxica

WHO - World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)

1 INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas atuais para o ser humano é o baixo índice de atendimento ao saneamento básico. Estima-se que 1,1 bilhão de pessoas em todo o mundo não possuem acesso a fontes seguras de água potável e 2,4 bilhões não tem acesso a nenhum tipo de instalação sanitária adequada, sendo os países mais afetados aqueles que vivem em condições extremas de pobreza, tanto em área urbana quanto rural (WHO, 2010).

No Brasil, 55,2% dos municípios brasileiros possuem serviço de esgotamento sanitário através de rede coletora e menos de 1/3 efetuam o tratamento de seus esgotos (IBGE, 2010). A Agência Nacional de Águas (2010) estima que R\$47,8 bilhões precisam ser investidos para que 85% dos municípios possuam rede coletora e tratamento de esgoto.

A coleta e o tratamento de esgoto beneficiam diretamente o ambiente e a saúde pública. No entanto, traz uma questão importante sobre a gestão do lodo, como minimizar sua geração, dispor e reaproveitá-lo adequadamente, diminuindo os impactos que podem ser causados.

A utilização do lodo de esgoto na agricultura se destaca como uma alternativa promissora e sustentável, uma vez que, possibilita a incorporação de micronutrientes e macronutrientes no solo, propiciando melhorias em suas propriedades físicas, químicas e biológicas, além do incremento na produtividade e na qualidade das culturas.

O uso, entretanto, deve ser criterioso, pois, quando não caracterizado e monitorado adequadamente, na área de aplicação, pode causar a poluição do solo e da água, além de problemas sanitários que representam riscos diretos e indiretos para os seres humanos e os animais.

A legislação vigente no Brasil, a Resolução CONAMA nº 375 de 2006, se restringe a preconizar limites para onze metais potencialmente tóxicos, indicadores biológicos e agentes patogênicos, o que causa preocupação quanto aos outros componentes, à viabilidade das análises a serem realizadas e ao efeito conjunto das substâncias que interagindo podem afetar o ecossistema e a saúde humana.

Para complementar a avaliação de lodos de esgoto, Da Matta (2011) propôs o Índice de Perigo de Lodo (IPLE), que, através de testes ecotoxicológicos de curta duração e baixo custo, expressa a periculosidade de lodos quanto aos efeitos causados aos organismos aquáticos e do solo e ao desenvolvimento da planta, subsidiando decisões mais rápidas quanto a sua aplicação na agricultura.

Diante deste contexto, este trabalho teve como objetivo a avaliação física, química e biológica de diferentes amostras de lodos de esgoto do estado de São Paulo, a fim de verificar a possibilidade de uso na agricultura, conforme os limites preconizados por Brasil (2006) e através de testes ecotoxicológicos, avaliar os possíveis impactos causados ao ambiente, aplicando e validando o Índice de Perigo do Lodo de Esgoto (IPLE).

2 OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo principal a avaliação física, química, biológica e ecotoxicológica de diferentes lodos de estações de tratamento de esgoto do estado de São Paulo, visando à utilização na agricultura.

2.1 *Objetivos Específicos*

Os objetivos específicos deste estudo referem-se a:

1) Avaliar, segundo critérios físicos, químicos e biológicos preconizados por Brasil (2006), amostras de lodo de esgoto de diferentes ETEs do Estado de São Paulo;

2) Avaliar a sensibilidade dos organismos-teste *Daphnia similis*, *Vibrio fischeri* e *Lactuca sativa* aos extratos aquosos das amostras de lodo de esgoto de diferentes ETEs do Estado de São Paulo;

3) Aplicar o Índice de Perigo do Lodo de Esgoto às amostras de lodo de esgoto de diferentes ETEs do Estado de São Paulo;

4) Verificar o decaimento da toxicidade e do IPLE das amostras de lodo de esgoto de diferentes ETEs do Estado de São Paulo, após cinco meses de acondicionamento em recipientes de polietileno,

5) Avaliar o lodo de esgoto quanto a sua adequação para aplicação na agricultura, mediante os limites preconizados por Brasil (2006) e ao sugerido por Da Matta (2011) para o Índice de Perigo de Lodo de Esgoto.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

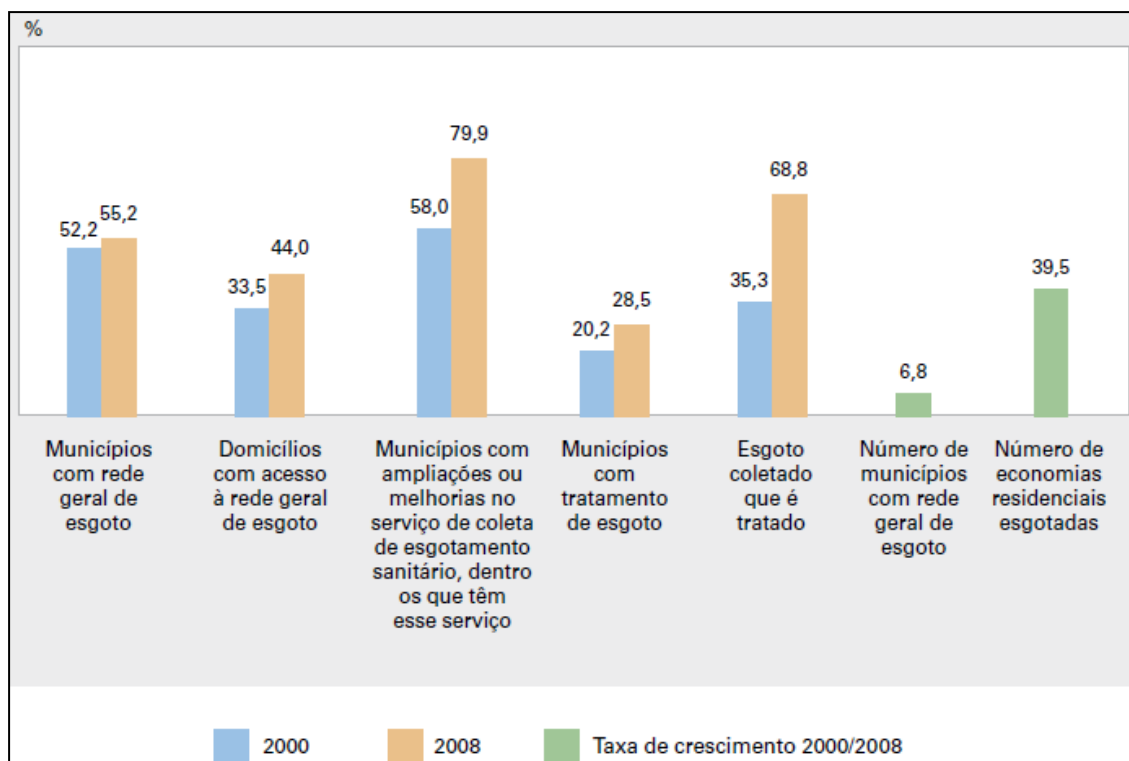
3.1 Panorama do saneamento básico no Brasil

Com o crescimento das populações e as necessidades de consumo, houve um grande aumento do número de indústrias em todo o mundo. Entretanto, alguns fatores importantes para o desenvolvimento sustentável não se fizeram presentes, resultando em problemas ambientais de grandes dimensões (LEAL *et al.*, 2008).

De acordo com as pesquisas realizadas pelo Banco Mundial (2012), mais de 2,6 bilhões de pessoas no mundo não tem acesso aos serviços de saneamento básico e até 2015 o mundo não atingirá a meta proposta pelo programa das Nações Unidas para o desenvolvimento “Objetivos e Desenvolvimento do Milênio” (ODM), entre os quais está a redução em 50% no número das pessoas sem acesso à água de qualidade.

No Brasil, cerca de 40% da população rural é atendida pelo serviço de saneamento e quase 90% da população urbana tem esse serviço a sua disposição (IBGE, 2010). Já nos países desenvolvidos, 100% da população é atendida com serviços melhorados de saneamento, seja ela uma população rural ou urbana (WHO, 2010). A Figura 3.1 apresenta a evolução, em termos de porcentagem, das principais variáveis do esgotamento sanitário no Brasil entre os anos de 2000 a 2008, de acordo com o IBGE (2010).

Figura 3.1 - Evolução percentual das principais variáveis do esgotamento sanitário no Brasil entre os anos 2000 a 2008



Fonte: IBGE (2010), Pesquisa Nacional de Saneamento básico 2000/2008.

Os dados do IBGE (2010) sobre o saneamento básico no Brasil indicam que no período de 2000 a 2008 houve uma expansão do serviço de esgotamento sanitário de 6,8%, de serviços de coleta de esgoto sanitário, de 58%, em 2000, para 79,9% em 2008 e de municípios com tratamento de esgoto de 20,2%, em 2000, para 28,5%, em 2008.

De acordo com Coscione *et al.* (2010) e Mota *et al.* (2009) existe uma pressão sobre os agentes públicos no sentido de ampliar o número de ETE em cidades grandes, médias e pequenas, na tentativa de solucionar o problemas de poluição das águas, da escassez de recursos hídricos e da saúde pública, o que poderia garantir o estado de completo bem-estar físico, mental e social da população.

3.2 Lodo de esgoto

O tratamento de esgoto por diferentes sistemas visa à aceleração da depuração da matéria orgânica presente no esgoto e à remoção de substâncias indesejáveis, por processos físicos, químicos e biológicos, para atender os requisitos do padrão de qualidade vigente encontrados em nossa legislação (von SPERLING, 2005).

Os resíduos sólidos, semissólidos ou líquidos gerados nos processos de tratamento de esgoto sanitário em uma estação de tratamento são chamados de lodos de esgoto (BRASIL, 2006a; USEPA, 1997).

Para von Sperling (2001), o termo “lodo” tem sido utilizado para designar os subprodutos sólidos do tratamento de esgoto, e também pode ser chamado de “biossólido”, devido parte da matéria orgânica compor a biomassa microbiana do processo biológico e os aspectos benéficos considerando suas características químicas e biológicas para a utilização agrícola.

Sua composição química é variável, devido a uma série de fatores como processos de tratamento e pós-tratamento (uso de sais, adição de surfactantes, entre outros), tipo de composição da matriz orgânica contida no esgoto, das atividades industriais, agroindústrias ou atividades misturadas que podem agregar sais, íons, patógenos e organismos patogênicos e materiais húmicos (SCHOWANEK *et al.*, 2004).

Tipicamente, apresenta-se constituído de 99,9% de água, sendo o restante composto por sólidos, os quais de 70 a 80% correspondem à matéria orgânica, que inclui óleo e graxas (MELO e MARQUES, 2000).

O lodo de esgoto primário é constituído por sólidos removidos no processo de sedimentação, seja nos decantadores ou nos tanques sépticos onde ocorre a digestão anaeróbia. O lodo secundário pode ser formado no processo de lodo ativado

convencional ou nos reatores aeróbios com biofilmes e, normalmente, não está estabilizados, precisando de uma etapa posterior de digestão (von SPERLING, 2005).

O sistema de lodos ativados com aeração prolongada e reatores aeróbios com biofilmes é constituído por micro-organismos aeróbios que utilizam da matéria orgânica para crescerem e se reproduzirem, porém, por ocorrer a respiração endógena, o lodo gerado encontra-se digerido (von SPERLING, 2005).

Em sistema de tratamento por lagoa de estabilização (lagoas facultativas; lagoas anaeróbias - facultativas, lagoas aeradas de mistura completa e lagoas de decantação) e por reatores anaeróbios (UASB), o processo de tratamento ocorre predominantemente em condições anaeróbias e a matéria orgânica sofre hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, sendo estabilizada (von SPERLING, 2005).

3.3 Tratamento do lodo de esgoto

Um dos maiores problemas relacionados às ETEs do país está na falta de planejamento da etapa final do processo, a destinação do lodo, que representa entre 20 a 60% do total de gastos operacionais da estação (ANDREOLI *et al.*, 2001).

Os processos de tratamento de lodo visam reduzir o teor de material orgânico biodegradável, a concentração de organismos patogênicos e o teor de água para que se obtenha um material sólido e estável, que não constitua perigo à saúde e possa ser manipulado e transportado com facilidade, diminuindo o custo desse material para a empresa gestora (HAANDEL *et al.*, 2006).

Dentre as tecnologias de tratamento de lodo mais utilizadas pelas companhias de saneamento do país, podem ser citadas: o deságue natural em lagoas e leitos de secagem, o adensamento mecânico em centrífugas e o uso de filtros prensa (ANDREOLI *et al.*, 1999; VIDAL, 1999; HAANDEL *et al.*, 2006) .

França (2010) relata que em muitas cidades do estado de São Paulo que utilizam o tratamento de esgoto por meio do uso de lagoas de estabilização, a retirada do lodo se faz após um longo período de operação da ETE (10 a 20 anos) e o desaguamento tem impacto importante nos custos de transporte e destinação final do lodo. Mas, segundo Vidal (1999), alguns aspectos negativos devem ser considerados nesse tipo de tratamento como: necessidade de grandes áreas, alto custo na construção, risco de transbordamento no período de chuva, risco de rompimento das barragens de contenção e dificuldade de separação das partes líquida e sólida.

3.3.1 Acondicionamento do lodo de esgoto em bolsa produzida com manta de geotêxtil

A fim de minimizar os problemas de descarte de resíduo, uma técnica mais recente, descoberta nos anos 80, a técnica de acondicionamento de lodos de esgoto em bolsas produzidas com manta de geotêxtil, também conhecida como “BAG”, está sendo empregada em vários países, como a Holanda, Alemanha, França, Japão e Estados Unidos da América.

O objetivo principal da utilização do “BAG” é conter pequenos ou grandes volumes de material de variadas naturezas, visando, através do deságue de resíduos sólidos, melhoria na qualidade da água drenada, impacto mínimo sobre o ambiente, confiança no confinamento do material, menor custo no transporte e destinação do resíduo (VIDAL, 1999; PIEPER, 2008).

O “BAG” pode ser confeccionado com duas camadas, sendo a primeira camada, interna, responsável pela filtração e a segunda, externa, responsável pela resistência às tensões geradas. A costura entre essas mantas precisa ser compatível com o meio onde serão expostas e suportar os esforços durante o processo de preenchimento e consolidação (PIEPER, 2008).

Outro fator importante é o local para o desaguamento, que deve ser definido em função dos propósitos do sistema (o reaproveitamento ou não do lodo e a natureza dos contaminantes) e a impermeabilização do pátio para a acomodação.

Na cidade de Vickburg (Mississippi, EUA) foram utilizados “BAGs” em estações de tratamento de esgoto. Essa técnica foi utilizada em virtude da proibição pela EPA e do Departamento de Qualidade do Meio Ambiente, do uso de lagoas de sedimentação de resíduos. Na ocasião, ensaios de filtração e consolidação demonstraram que os “BAGs” foram eficientes no processo de desaguamento e na qualidade da água drenada (FOWER *et al.*, 2002).

Outro exemplo empregando a tecnologia de desidratação de lodo usando “BAGs” ocorreu na estação de tratamento de esgoto Limoeiro, que atende a cidade de Presidente Prudente (São Paulo, Brasil). No intuito de manter a eficiência do processo de tratamento, buscando maior economia, os “BAGs” foram utilizados em substituição ao sistema de desidratação por centrífuga que apresentava limitações como complexidade de operação, reposição constante de componentes de alto custo, interrupções frequentes, alto consumo de polímero, percolado de baixa qualidade e alto consumo de energia. O projeto foi concebido para condicionar e desidratar um volume de $400 \text{ m}^3 \text{ dia}^{-1}$ de lodo adensado, a um teor de sólidos de 1,9% e apresentou eficiência na redução de DBO e DQO e no processo de secagem, com menor volume de lodo, representando economia com transporte e disposição (MELO *et al.*, 2008).

3.4 Formas de destinação do lodo de esgoto

No Brasil, o lodo gerado na estação de tratamento de esgoto deve atender aos requisitos para destinação final como resíduo sólido ou rejeito. A Política Nacional de Resíduos Sólidos estabelece objetivos, instrumentos, metas, diretrizes e ações para o gerenciamento adequado de resíduos sólidos na seguinte ordem de prioridade, “não geração, redução, reutilização, reciclagem e tratamento dos resíduos sólidos, bem

como disposição final ambientalmente adequada dos rejeitos”, sob a responsabilidade compartilhada envolvendo sociedade, empresas, cidadãos e governos (BRASIL, 2010).

Existem vários métodos para a destinação do lodo, como: o uso agrícola, aplicação de áreas florestais, disposição em aterros, reúso industrial, incineração, recuperação de solos, conversão em óleo combustível e a disposição oceânica (TSUTIYA *et al.*, 2002; BETTIOL e CAMARGO, 2006).

Uma das alternativas de destinação de lodo de esgoto mais utilizada atualmente é a aplicação na agricultura por ser uma fonte de matéria orgânica, macro e micronutrientes que contribui principalmente, na manutenção da fertilidade do solo, além de ser um dos procedimentos mais adequados e econômicos para a reciclagem deste tipo de resíduo (TSUTIYA *et al.*, 2002).

3.5 Uso agrícola do lodo de esgoto

A aplicação de lodo de esgoto na agricultura apresenta um panorama mundial variado, de acordo, com as condições econômicas, infraestrutura e a legislação de cada país (BASTOS, 2012).

Países mais desenvolvidos apresentam políticas e normas bem estabelecidas quanto à destinação do lodo gerado. Por exemplo, na Europa, estima-se que no ano de 2005 tenham sido produzidos 10 milhões de toneladas (base seca)/de lodo e 45% desse foi aplicado na agricultura, variando de país a país, conforme o tipo de cultivo, clima e produção de lodo. Nos EUA, em 2004, foram gerados 7,2 milhões de toneladas (base seca) de lodo e 55% foram destinadas para áreas agrícolas, de silvicultura, e restauração de solo (UN – HABITAT, 2008, BASTOS, 2012).

Em contra partida, em países do continente africano, onde é limitado o acesso ao saneamento básico, a utilização de resíduo na agricultura é através do armazenamento da excreta de fossas, tanques sépticos e banheiros secos após o

decaimento dos organismos patogênicos em um período determinado. Na Etiópica (África), por exemplo, 74% das residências tem banheiros com fossas sépticas, o que também ocorre em Mali, África (UN-HABITAT, 2008, BASTOS, 2012).

No Brasil, estima-se que apenas 3% do lodo de esgoto sejam destinados para a agricultura (BETTIOL e CAMARGO, 2006).

Entretanto, é considerada uma prática em potencial, uma vez que, o agronegócio contribui com aproximadamente 30% do PIB (ANA, 2006). A Tabela 3.1 apresenta a quantidade de lodo de esgoto usado na agricultura de algumas ETEs.

Tabela 3.1 - Quantidade de lodo destinado a uso agrícola no Brasil, ano base 2001, em base seca

Local	Quantidade toneladas	Teor de sólidos (%)	Quantidade toneladas
Distrito Federal	24.966	15,0	3.745
São Paulo (Franca)	16.400	27,5	4.510
São Paulo (Jundiaí)	21.900	18,0	3.942
Rio Grande do Sul (Santa Maria)	4.745	20,0	9.49
Paraná	26.400	30,0	7.920
Total	94.411	-	21.066

Fonte: Adaptado de Sampaio, 2010 *apud* Bastos (2012).

Cerca de 21.000 toneladas (base seca) de lodo de esgoto são destinadas todos os anos ao uso agrícola, destacando-se os estados do Paraná, São Paulo, Rio Grande do Sul e o Distrito Federal.

A ETE Franca, no estado de São Paulo, foi a primeira estação a aplicar lodo de esgoto na agricultura, em 1998, em uma cultura de café. Para isso, foi elaborado e implementado um programa de utilização do uso de lodo na agricultura, denominado Sabesfertil, orientando o futuro usuário do lodo de esgoto, os operadores de estações

de tratamento e os tomadores de decisão sobre os procedimentos de geração do lodo, os métodos de higienização adequados ao uso agrícola, as vantagens, fatores limitantes e procedimentos para o uso do resíduo em áreas de produção, além de orientação para a elaboração de Plano de Distribuição de Lodo e monitoramento da atividade (SABESP, 2012).

3.5.1 Aspectos positivos

Para crescer e reproduzir, as plantas necessitam de 16 elementos químicos encontrados no solo (Nitrogênio, Fósforo, Potássio, Cálcio, Magnésio, Silício, Cobre, Ferro, Manganês, Zinco, Molibdênio, Bário e Cloro), no ar e na água (Carbono, o Hidrogênio e o Oxigênio) (TSUTIYA *et al.*, 2002).

No ambiente agrícola é comum a utilização de fertilizantes para enriquecer o solo e garantir maior produtividade das culturas. Estudo realizado por Fixen (2009) mostra que, apesar de haver reservas mundiais e recursos para nitrogênio, fósforo e potássio, foram observados picos extremos alcançados pelos altos preços de fertilizantes, prognosticando um aumento ainda maior no custo de produção, à medida que esses materiais sejam consumidos.

Segundo o autor, o fósforo é o nutriente com maior limitação, apresentando uma reserva brasileira para 43 anos de exploração e, em nível mundial, a longevidade das reservas é de 93 anos. A utilização de resíduos orgânicos, como o lodo de esgoto, colabora com o manejo racional dos nutrientes, prolongando o tempo de exploração das reservas minerais.

Coscione *et al.*, (2010) relatam que a utilização de lodos de esgoto sanitário em solos agrícolas, quando devidamente tratados e ou compostados, pode proporcionar uma melhoria nas propriedades físico-químicas e biológicas do solo, elevação dos teores de carbono orgânico e da capacidade de troca catiônica,

neutralização da acidez do solo, aumento da disponibilidade de nutrientes e incrementos na produtividade e na qualidade das culturas.

Os nutrientes encontrados em maiores quantidades no lodo de esgoto são: o nitrogênio e o fósforo e, em menores quantidades, o cálcio e o magnésio. O potássio, geralmente, está presente em pequenas quantidades; mas em forma assimilável pelas plantas e normalmente é suplementado por fertilizantes químicos nos solos adubados com lodo (TSUTIYA *et al.*, 2002).

Von Sperling (2001) afirma que as quantidades de microelementos são variáveis nos lodos, contendo, geralmente, maior quantidade de Cobre (Cu), Ferro (Fe), Zinco (Zn) e Manganês (Mn) e menores de Bário (B), Molibdênio (Mo) e Cloro (Cl). Quando aplicado como única fonte de Nitrogênio (N) para as plantas, as quantidades de micronutrientes adicionadas, na maioria das vezes, são suficientes para atender às suas demandas nutricionais, sendo que, em níveis elevados, pode resultar em efeitos tóxicos.

Diversos experimentos vêm sendo desenvolvidos, destacando-se o uso do lodo na recuperação de áreas degradadas e como fertilizantes em diversas culturas como: algodão, café, soja, sorgo, milho, feijão, cana-de-açúcar e espécies florestais.

Estudos desenvolvidos no CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura) mostram que a aplicação do lodo de esgoto doméstico pode substituir o uso de adubo mineral nitrogenado no cultivo da cana-de-açúcar, porque supre o nitrogênio necessário e contém 30% do fósforo, embora precise de reposição do potássio. Além disso, esses estudos apontam para o aumento de 12% da produtividade da cana de açúcar, além de colaborar na redução de custos de produção pela economia com fertilizantes químicos. O estudo comprovou também que se aplicado de forma correta (de acordo com as normas de BRASIL, 2006b), não há a contaminação do solo e do lençol freático (PESQUISA FAPESP, 2010).

Em experimentos realizados por Martins *et al.*, (2005) a aplicação de lodo de esgoto da ETE Franca, comercialmente conhecido como Sabesfertil, em uma cultura comercial de café da variedade Acaiá IAC-474, não afetou a qualidade da bebida, avaliada pela atividade da enzima polifenoloxidase (PFO) e por análise sensorial em dezessete talhões com doses diferentes de lodo em triplicata entre 2001 e 2002.

3.5.2 Aspectos negativos

Atualmente, existe uma grande tendência mundial em utilizar o lodo de esgoto como insumo agrícola, entretanto, quando é desconhecida sua constituição química e suas características toxicológicas, os poluentes tóxicos, caso estejam presentes, podem ser incorporados ao solo e serem absorvidos pelas plantas, que são capazes de biotransformá-los e/ou acumulá-los em seus tecidos, atingindo o homem e/ou outros animais no momento do consumo (UMBUZEIRO, 2009).

De acordo com Melo *et al*, (2010), um dos principais riscos ambientais na aplicação de lodo de esgoto na agricultura está relacionado aos metais pesados, que, após os processos de solubilização e mineralização pela microbiota, podem ser: adsorvidos, complexados, precipitados e coprecipitados, podendo atingir as águas subterrâneas.

Ainda segundo os autores, a aplicação de lodo de esgoto não é permitida em olerícolas, pastagens, raízes e tubérculos, para proteger a entrada de metais pesados na cadeia alimentar humana, sejam através da absorção e translocação dos metais para as partes reprodutivas e para o sistema radicular, ou através do pastejo dos animais.

Oliveira *et al.* (2001) relatam que a mobilidade dos metais pesados: Chumbo, Cromo e Cobre é baixa e concentra-se na superfície do solo, enquanto, os metais Zinco, Manganês, Níquel e Cádmiio apresentam maior risco de contaminação de água subterrânea por terem relativamente maior mobilidade.

Outro fator de importância é a variedade de micro-organismos presente nos lodos de esgoto, como as saprófitas (decompositores que se alimentam de matéria orgânica morta), bactérias e fungos, além de vírus e organismos patogênicos, como protozoários e helmintos, que podem causar graves problemas à população potencialmente exposta (TSUTIYA *et al.*, 2002).

Estudos realizados por Navarro *et al.*, (2009), na África do Sul, com aplicação de lodo de banheiro seco, com concentrações conhecidas de ovos de helmintos, em solo para plantio de culturas de espinafre e cenoura, indicaram o fator de risco para espinafre, de $2 \cdot 10^{-2}$ a $9 \cdot 10^{-2}$, aplicando 1,3 a 37,5 toneladas de lodo e para cenoura de $6 \cdot 10^{-3}$ a $1 \cdot 10^{-2}$ aplicando de 7 a 35 ton ha⁻¹, sendo maior que o risco aceitável proposto pela EPA, que é 10^{-4} .

Em relação às substâncias orgânicas presentes no esgoto, Harrison *et al.* (2006) afirmam que podem ser volatilizadas, degradadas, adsorvidas no lodo ou descartadas no efluente depois do tratamento. Além disso, durante o processo de degradação também pode ocorrer a formação de outros produtos mais ou menos tóxicos que o composto original.

3.6 Legislação

Em 1986, o Conselho Diretor da Comunidade Econômica Europeia promulgou a Directiva 86/278/EEC que estabelece limites de metais pesados e patógenos no lodo de esgoto, concentração máxima do metal no solo após a aplicação do lodo e critérios agronômicos e de estabilidade para a proteção ambiental. Com o desenvolvimento científico sobre os efeitos nocivos dos poluentes no lodo e ao ser aplicado no solo, vários países membros aprovaram e aplicaram valores limites mais rigorosos para os metais potencialmente tóxicos e para outros contaminantes (COUNCIL, 1986).

Nos EUA, por exemplo, a EPA publicou em 1993 a norma 40 CFR (Part 503, conhecida como Seção 503; EPA, 1993) que regulamenta o uso de lodo de esgoto no solo usado para fins agrícolas. Esta regulamentação estabelece entre outros limites mínimos de ocorrência de 9 metais, a ocorrência de patógenos e alguns procedimentos para diminuição da atração de vetores mecânicos de doenças como roedores e moscas. A mesma norma estabeleceu como lodo Classe A, aqueles que sofreram algum tratamento para eliminar agentes patogênicos e lodos Classe B, aqueles que foram submetidos a algum tipo de redução de agentes patogênicos, porém ainda presentes.

De forma a balizar o estabelecimento de limites aceitáveis de metais pesados que possam estar no lodo a ser aplicado no solo, de forma a não prejudicar a saúde humana, ambiental e animal, foram estabelecidas 14 possíveis vias de contaminação. O risco associado com cada uma das vias foi calculado para cada um dos metais. O limite padrão de contaminação foi gerado pela determinação da concentração mais baixa, que representava um risco aceitável de acordo com legislação dos EUA. Esse caminho foi chamado de "a via mais restritiva". Surpreendentemente para muitos, para cinco dos nove metais regulamentados (Tabela 3.2) a via "ingestão de lodo por criança" foi considerada como sendo o caminho mais limitante, gerando o nível mais baixo aceitável. Cada via de contaminação foi avaliada de forma independente e nenhuma tentativa foi feita para avaliar o risco da exposição através de vários caminhos ao mesmo tempo ou os efeitos de mais de um contaminante de cada vez.

Tabela 3.2 - Via de exposição mais restritiva de acordo com a avaliação de risco realizada pela USEPA (1992)

Substâncias	Via de exposição mais restritiva
Arsênio	Ingestão de lodo por crianças
Cádmio	Ingestão de lodo por crianças
Cobre	Fitotoxicidade
Chumbo	Ingestão de lodo por crianças
Mercúrio	Ingestão de lodo por crianças
Molibdênio	Alimentação animal
Níquel	Fitotoxicidade
Selênio	Ingestão de lodo por crianças
Zinco	Fitotoxicidade

Fonte: USEPA (1992)

Diante da necessidade de estabelecer-se regulamentação para o uso agrícola do lodo de esgoto frente as demandas locais, alguns estados brasileiros desenvolveram normas e/ou manuais técnicos dando orientações sobre o uso do lodo, como por exemplo, a Norma Técnica P4. 230 elaborada pela CETESB, em 1999, para o Estado de São Paulo, e manuais técnicos pela Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR) (COSCIONE *et al.*,2010).

Em 2006, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da Instrução Normativa SDA nº 27, de 5 de julho de 2006, regulamenta o registro de fertilizantes orgânicos para serem produzidos, importados ou comercializados no Brasil e, define parâmetros agrônômicos, limites de metais e patógenos nos fertilizantes orgânicos de classe “D”, permitindo a mistura de lodo de esgoto com outros resíduos para a formulação do fertilizante (BRASIL, 2006b).

Atualmente, a resolução federal vigente no Brasil é a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA Nº 375, de 29 de agosto de 2006, que define critérios e procedimentos para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações

de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, levando em consideração a proteção do meio ambiente e a saúde da população. Para tanto, estabelece que a caracterização do lodo de esgoto a ser aplicado deve incluir os aspectos: a) potencial agrônômico, b) substâncias inorgânicas e orgânicas potencialmente tóxicas, c) indicadores bacteriológicos e agentes patogênicos e d) estabilidade.

Em relação aos metais potencialmente tóxicos, as concentrações máximas aceitáveis podem variar entre os países (Tabela 3.3 e Tabela 3.4), destacando-se que os metais: arsênio, bário, cobalto, molibdênio e selênio não apresentam limites estabelecidos na Directiva 86/278/EEC.

Tabela 3.3 - Concentração máxima aceitável de metais potencialmente tóxicos (mg Kg^{-1} base seca) permitida no lodo de esgoto a ser aplicado de acordo com Brasil, Estados Unidos e Europa

	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Brasil - CONAMA	39	1000	1500	17	420	300	2800
Brasil - MAPA	3	200		1	70	150	
EUA/EQ	39	1200	1500	17	420	300	2800
Directiva 86/278/EEC	20-40	-	1000 - 1750	16-25	300 - 400	750 - 1200	2500-4000

Tabela 3.4. - Concentração máxima aceitável de metais potencialmente tóxicos (mg Kg^{-1} base seca) permitida no lodo de esgoto a ser aplicado de acordo com Brasil, Estados Unidos e Europa

	As	Ba	Mo	Se
Brasil - CONAMA	41	1300	50	100
Brasil - MAPA	20	-	-	80
EUA/EQ	41	-	-	36

Devido à preocupação com a saúde da população e do meio ambiente, Brasil (2006a) também estabelece algumas restrições à concentração máxima de patógenos

(tabela 3.5), classificando-o em “A”, o qual poderá ser utilizado para quaisquer culturas, respeitadas as restrições previstas nos arts. 12 e 15 ou em “B”, restrita ao cultivo de café, silvicultura, culturas para produção de fibras e óleos, com a aplicação mecanizada, em sulcos ou covas, seguida de incorporação, respeitadas as restrições previstas no art. 15 e no inciso XI, do art. 18.

Tabela 3.5 - Concentração máxima de patógenos permitida no lodo de esgoto a ser aplicado na agricultura, de acordo com a resolução CONAMA N° 375 de 2006

Tipo de lodo de esgoto	Concentração de patógenos
A	Coliformes Termotolerantes $< 10^3$ NMP g ⁻¹ de ST Ovos viáveis de helmintos $< 0,25$ ovo g ⁻¹ de ST <i>Salmonella sp</i> ausência em 10 g ⁻¹ de ST Vírus $< 0,25$ UFP ou UFF g ⁻¹ de ST
B	Coliformes Termotolerantes $< 10^6$ NMP g ⁻¹ de ST Ovos viáveis de helmintos < 10 ovo g ⁻¹ de ST

ST: Sólidos Totais; NMP: Número Mais Provável; UFF: Unidade Formadora de Foco;
 UFP: Unidade Formadora de Placa.
 Fonte: Brasil, (2006).

A legislação CONAMA nº 375 de 2006, faz uma ressalva que, decorridos 5 anos a partir da data de publicação, somente será permitida a aplicação de lodo de esgoto ou produto derivado de classe A e propõe novos critérios e limites para a aplicação de lodo de esgoto de Classe B, garantida a proteção do ambiente e a saúde populacional.

3.7 Ensaios ecotoxicológicos

Para avaliar a qualidade das águas e a carga poluidora de efluentes faz-se uso de análises químicas tradicionais, cujos limites encontram-se estabelecidos nas legislações ambientais. Entretanto, não são suficientes para avaliar o potencial de risco ao ecossistema aquático, por não distinguir as substâncias inertes e as que afetam os

sistemas biológicos. Assim, a interação entre testes de toxicidade e as análises químicas pode ser uma importante ferramenta por fornecer uma medida direta e adequada dos impactos dos contaminantes no ambiente em amostras de natureza química complexa (HERNANDO *et al.*, 2005; COSTA *et al.*, 2008).

A ecotoxicologia é uma ciência multidisciplinar que engloba várias áreas do conhecimento para estudar os efeitos ocasionados por agentes químicos e físicos sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais e vegetais, constituintes do ecossistema e da biosfera (COSTA *et al.*, 2008 e ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

Neste contexto, a ecotoxicologia aquática faz uso de espécies representativas da coluna d'água e por meio de uma cadeia de causalidade estuda as emissões e entradas de poluentes, assim como, sua forma de transferência na cadeia biológica e também, avalia tanto qualitativamente, quanto quantitativamente os efeitos tóxicos dos poluentes ao ecossistema (COSTA *et al.*, 2008 e ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

Para a realização dos testes de toxicidade é recomendável a utilização de organismos de fácil manutenção e cultivo no laboratório, com disponibilidade e abundância, estabilidade genética e pertencentes a diferentes níveis tróficos da cadeia alimentar, pois o efeito tóxico de uma substância pode ser diferente para cada organismo (COSTA *et al.*, 2008, RAND, 1995; ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

Um dos testes mais utilizados na ecotoxicologia é o teste de toxicidade aguda que estima a dose ou concentração do agente tóxico que causa efeitos adversos aos organismos-teste, durante um curto período de tempo em relação ao período de sua vida. Os resultados dos ensaios de toxicidade são normalmente expressos como CL50 e CE50, isto é, a Concentração Letal e a Concentração Efetiva (respectivamente) mediana da amostra-teste que causa efeito agudo a 50% dos organismos expostos a um determinado tempo de exposição, através de métodos estatísticos não paramétricos

como o “*Trimmed Spearman-Kärber*”, que apresenta boas propriedades estatísticas com intervalo de confiança de 95% (COSTA *et al.*,2008, CETESB,1994).

3.7.1 Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*

As espécies do gênero *Daphnia* (Filo: *Arthropoda*, Subfilo: *Crustacea*, Classe: *Branchiopoda*, Ordem: *Cladocera*) são microcrustáceos planctônicos, também conhecidos como pulgas-d’águas. Caracterizam-se por apresentarem comprimento de 0,5 a 5,0 mm, uma carapaça bivalve transparente e segmentação reduzida do corpo, além de possuírem tórax e abdômen fundidos em um tronco (DOMINGUES e BERTOLETTI, 2006; ROCHA e GÜNTZEL, 1999).

Os dafinídeos são capazes de se reproduzir por partenogênese, resultando em uma população, geneticamente uniformes, permitindo assim, organismos-teste com sensibilidade constante (DOMINGUES e BERTOLETTI, 2006, COSTA *et al.*, 2008). Além disso, características como a ampla distribuição geográfica, facilidade de cultivo no laboratório e grande produção de neonatos, tornam as espécies *Daphnia similis* e *Daphnia magna* as mais cultivadas em laboratórios para a realização de ensaios ecotoxicológicos (DUTKA, 1997; MORALES, 2004; SHAW *et al.*, 2008).

O teste de toxicidade aguda ou crônica com as espécies do gênero *Daphnia* tem sido amplamente utilizado no mundo para investigar e/ou monitorar o impacto das substâncias químicas sobre o ambiente aquático e desempenha um papel importante no estabelecimento de critérios por agências internacionais de meio ambiente (SHAW *et al.*, 2008).

No Brasil, a Resolução CONAMA nº 430/2011 dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes e determina que os ensaios ecotoxicológicos realizados em efluentes utilizem organismos aquáticos de pelo menos dois níveis tróficos diferentes, e a CETESB utiliza o organismo *Daphnia similis* para o monitoramento da qualidade da água (BRASIL, 2011; BERTOLETTI, 2008).

3.7.2 Teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*

Vibrio fischeri é uma enterobactéria, Gram negativa, pertencente à família *Vibrionaceae*, encontrada em ambientes marinhos, seja em águas de clima temperado ou subtropicais. Suas células são em formato de bastão com medida de 0,003 mm e a bioluminescência produzida é usada para atrair hospedeiro, como a lula (*Euprymna scolopes*) e nele usufruir de nutrientes (JENNINGS *et al.*, 1999).

O ensaio de toxicidade utilizando *Vibrio Fischeri* foi desenvolvido por Bullich, em 1979, e patenteada como Sistema Microtox por Beckman Instruments Inc., em 1982.

Apresenta como princípio a verificação das variações da luminescência por unidade de tempo, emitida em uma cultura de bactérias de um milhão de células, quando em contato com um agente tóxico. Nessas bactérias, a enzima luciferase utiliza a flavina – um aldeído de cadeia longa – em sua forma reduzida e oxigênio para a produção de luz. Bioquimicamente, a via da bioluminescência é uma parte da cadeia de transporte de elétrons (uma das etapas da respiração). Então, nessas bactérias, a emissão de luz é o resultado do processo total da célula, ou seja, é a expressão da taxa total em que uma série de reações bioquímicas produtoras de energia estão ocorrendo (BULLICH, 1979).

Este bioensaio tem sido amplamente utilizado para monitorar e avaliar a toxicidade de um amplo espectro de contaminantes químicos, especialmente quando se pretende avaliar misturas complexas contendo diferentes compostos orgânicos e inorgânicos, além de análise de água superficial e subterrânea, de efluentes industriais e domésticos, água intersticial de sedimentos, e solubilizados de solos contaminados e resíduos sólidos (CETESB, 2001; PARVEZ *et al.*, 2005). É um teste rápido, sensível e reprodutível, uma ferramenta poderosa de triagem quando se tem um número muito grande de amostras e necessidade de respostas em curto espaço de tempo (PARVEZ *et al.*, 2006, UMBUZEIRO e RODRIGUES, 2004).

Como principal desvantagem, Umbuzeiro e Rodrigues (2004) citam o elevado investimento para a implantação do teste, com custo do equipamento e a possibilidade de variações na toxicidade de alguns compostos, ocasionadas pela necessidade de ajuste osmótico, dificultando as comparações dos resultados obtidos para espécies de água doce.

3.7.3 Teste de fitotoxicidade aguda com *Lactuca sativa*

Os vegetais são a base da cadeia alimentar dos seres humanos, sendo a principal fonte de alimento e, por isso, o rendimento da colheita e a sua qualidade são critérios muito importantes na agricultura. Nos últimos 50 anos, muitos estudos foram realizados em testes de toxicidade com poluentes orgânicos em indústrias de pesticidas, mas pouco se estudou em amostras de lodo de esgoto (SCHOWANEK *et al.*, 2004),

O bioensaio de toxicidade com sementes de alface, *Lactuca sativa L.* é um teste de toxicidade aguda que pode avaliar os efeitos fitotóxicos de compostos puros ou combinados no processo de germinação das sementes e no desenvolvimento das plântulas e hipocótilo, durante os primeiros dias de crescimento, pois nesse período ocorrem numerosos processos fisiológicos, cuja presença de uma ou mais substâncias tóxicas pode interferir alterando a sobrevivência e o desenvolvimento normal da planta (DUTKA, 1997; BARBERO *et al.*, 2001; Morales, 2004).

A utilização de plantas em testes de fitotoxicidade oferece vantagens sobre a utilização de outros organismos, pelo baixo custo, facilidade de manipulação e estocagem, alta sensibilidade na indicação da presença de substâncias tóxicas ou inibidoras biológicas capazes de interferir, no desenvolvimento vegetativo na agricultura e boa correlação com outros bioensaios, podendo, por isso, ser utilizado para complementar a avaliação de qualidade dos lodos de esgoto (SILVA, 2007; VALERIO *et al.*, 2007).

O teste com alongamento de raiz de sementes foi padronizado e validado pelo Canadá e Estados Unidos (USEPA, 1996) e é utilizado por diversos órgãos de proteção ambiental, como por exemplo, a USEPA (United States Environmental Protection Agency) e a CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) no Setor de Qualidade do Solo. Sendo uma das ferramentas para complementar a avaliação físico-química das águas residuárias e dos resíduos que serão dispostos em solo.

3.8 Índice de Perigo de Lodo de Esgoto

O Índice de Perigo de Lodo de Esgoto (IPLE) foi proposto por Da Matta (2011), para “avaliar a periculosidade de lodo de esgoto, utilizando ensaios de curta duração e baixo custo para subsidiar decisões mais rápidas quanto a sua aplicação em solo agrícola”.

No desenvolvimento do IPLE foram adaptados os modelos matemáticos utilizados para avaliação de perigo de substâncias químicas (PPA), índice de qualidade de água (IQA) e índice de carga tóxica de efluentes (PEEP), visando, através de testes de toxicidade em diferentes níveis tróficos com *Vibrio fischeri*, *Daphnia similis*, *Lactuca sativa* e *Brassica juncea*: à integração de vários resultados de testes de toxicidade em um único índice; à relação de índice de perigo e ocorrência de toxicidade em mais de um teste e à comparação proporcional dos resultados quanto à escala de perigo, ou seja, quanto menor o índice, menor o perigo (Da MATTA, 2011).

Para a aplicação do índice, o autor utilizou os dados publicados pela CETESB de caracterização química e ecotoxicológica de 28 amostras de lodo de esgoto coletadas durante os anos de 2007 e 2008 em 7 Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) do estado de São Paulo: Barueri, Suzano, Parque Novo Mundo, Americana, Jundiaí, Vinhedo e Franca.

Segundo os limites preconizados de substâncias químicas em diferentes normas de uso agrícola de lodo de esgoto, o IPLE foi testado pela avaliação do percentual de amostras não conformes por faixa de índice, cujos resultados foram: 15 amostras apresentaram IPLE acima de 2 e maior frequência de não conformidade quando comparado com as 13 amostras que apresentaram índice abaixo de 2. Assim, o autor sugeriu, quanto ao uso de lodo de esgoto na agricultura, reprovação para $IPLE \geq 2$ e aprovação quando o IPLE for < 2 .

Portanto, o modelo matemático proposto por Da Matta (2011) é uma importante ferramenta que integra vários testes de toxicidade em valor numérico adimensional, auxiliando na caracterização inicial do lodo para a sua liberação e disposição no solo, sem a necessidade da realização de todas as análises químicas solicitadas na Resolução CONAMA 375/2006, além de, acompanhar e gerir a qualidade do lodo gerado pelas estações de tratamento de esgoto.

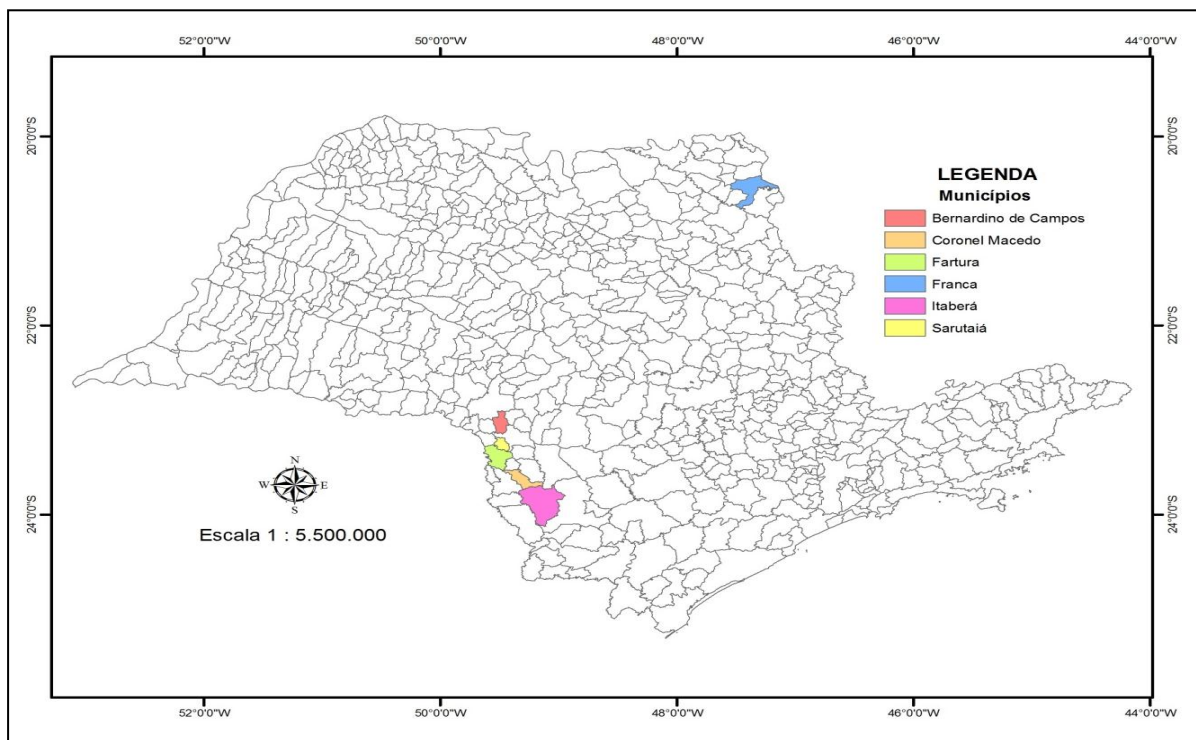
4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 *Local de amostragem*

Foi realizada amostragem de lodos de esgoto acondicionados em “*BAGs*”, nas seguintes ETEs dos municípios de: Bernardino de Campos, Coronel Macedo, Fartura, Itaberá e Sarutaiá (São Paulo, Brasil).

Na ETE do município de Franca (São Paulo, Brasil), também foi realizada uma amostragem do lodo de esgoto após o desague em filtro de esteira. A Figura 4.1 apresenta a localização dos municípios onde foram coletadas amostras de lodo de esgoto.

Figura 4.1 - Localização dos municípios onde foram coletadas amostras de lodo de esgoto



Fonte: Autora, 2012.

O município de Franca é um dos integrantes da Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos, UGRHI-8-Sapucaí-Mirim e Grande, localizado na região nordeste do Estado de São Paulo (SABESP, 2012).

O município possui uma população de 318.785 habitantes e a economia voltada para a indústria calçadista (uma das maiores do País, com grande produção para exportação), indústria alimentícia (principalmente de laticínio), além de ser uma grande região produtora de café, braquiária, cana-de-açúcar e soja. Destaca-se também como um centro de produção e difusão de conhecimento tecnológico, atraindo muitas pequenas empresas (IBGE, 2010; SABESP, 2012).

Os municípios de Coronel Macedo, Fartura, Itaberá e Sarutaiá estão inseridos na UGRHI -14 e o município de Bernardino de Campos na UGRHI-17. Ambos

correspondentes à Bacia Hidrográfica do Alto Paranapanema, localizada na região sudoeste do Estado de São Paulo e apresentam uma economia agropecuária, conforme apresenta a Tabela 4.1.

Tabela 4.1- Principais características socioeconômicas dos municípios com ETEs amostradas

Municípios amostrados	População em 2010 (habitantes)	Principais atividades econômicas
Bernardino de Campos	10.777	Agropecuária, (gado de corte, cana de açúcar, milho e soja) e indústria alimentícia, de ração animal, embalagens plásticas, além de destilaria e confecções.
Coronel Macedo	4.006	Agropecuária
Fartura	15.324	Agropecuária, indústria de cosmético, cerâmica, confecções, entre outras.
Franca	318.785	Agricultura (café), indústrias: confecções, fundição, joias e lapidação de diamantes, metalúrgicas, alimentos e bebidas, cosméticos, entre outras. Comércio e desenvolvimento tecnológico.
Itaberá	17.861	Agropecuária (feijão e gado)
Sarutaiá	3.622	Agropecuária

Fonte: IBGE (2010)

4.1.1 Estação de Tratamento de Esgoto do município de Franca - SP

A Estação de Tratamento de Esgoto do município de Franca - SP trata 90% de todo esgoto coletado do município, utilizando o sistema de tratamento de lodos ativados convencional.

A ETE, atualmente, trata uma vazão média diária de 361L s⁻¹ com eficiência de remoção de Demanda Bioquímica de Oxigênio de 96%, e de Sólidos Suspensos Totais de 93%.

No processo de desidratação do lodo, utiliza-se o filtro de esteira (“*belt press*”) adicionando-se polieletrólito catiônico à massa, na base de 2 a 4% em peso, resultando um material com teor de sólidos entre 20 e 25% e um volume de lodo desidratado de, aproximadamente, $53 \text{ m}^3 \text{ dia}^{-1}$ (SABESP, 2012).

4.1.2 Estações de Tratamento de Esgoto dos municípios de Bernardino Campos, Coronel Macedo, Fartura, Itaberá, Sarutaiá.

Os municípios de Bernardino Campos, Fartura, Sarutaiá e Itaberá possuem tratamento de esgoto por sistema australiano. Nos anos de 2007, 2008 e 2009 foi finalizada a remoção dos lodos das lagoas anaeróbias e foram acondicionados em “*BAGs*”.

Já no município de Coronel Macedo, o sistema de tratamento de esgoto é por lagoa facultativa primária, sendo que, no ano de 2008 foi realizada a remoção do lodo e o acondicionamento em “*BAG*”.

Nesses municípios amostrados foi adicionado polímero catiônico com dosagem média estimada de 3 a 6 kg t^{-1} (Base seca), antes de ser acondicionados em “*BAG*”. A Tabela 4.2 apresenta uma descrição das principais características das ETEs que tiveram os seus lodos acondicionados.

Tabela 4.2- Principais características das ETEs que tiveram seus lodos acondicionados em “BAGs”

	Bernardino de Campos	Coronel Macedo	Fartura	Itaberá	Sarutaiá
Sistema de tratamento de esgoto	Lagoa anaeróbia + Lagoa facultativa	Lagoa facultativa Primária	Lagoa anaeróbia + Lagoa facultativa	Lagoa anaeróbia + Lagoa facultativa	Lagoa anaeróbia + Lagoa facultativa
Início de operação da ETE	1982	1990	1993	1989	1990
Origem do lodo removido	Lagoa anaeróbia	Lagoa facultativa	Lagoa anaeróbia	Lagoa anaeróbia	Lagoa anaeróbia
Dimensões superficiais da lagoa	57 m X 57 m	Formato irregular	53 m X 53 m	50,30 m X 33,50	27,4 m X 27,4 m
Profundidade útil da lagoa	3,90 m	1,5 m	3,0 m	3,00 m	3,00 m
Vazão média do efluente tratado	11 L s ⁻¹	8,1 L s ⁻¹	21 L s ⁻¹	20 L s ⁻¹	3,8 L s ⁻¹
Corpo receptor do efluente tratado	Córrego Douradão	Ribeirão Lageado	Rio Fartura	Rio Lavrinhas	Ribeirão Água Branca
Volume removido de lodo	2000 m ³	9599 m ³	2500 m ³	3.338 m ³	500 m ³
Término da remoção do lodo (início do acondicionamento no “BAG”)	Dez/2008	Dez/2008	Dez/2008	Fev/2007	Dez/2009
Tempo de acondicionamento no “BAG” até a amostragem	3 anos e 2 meses	3 anos	3 anos e 4 meses	3 anos	1 ano e 8 meses
Polímero catiônico ao processo	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

Fonte: Autora, 2012.

4.2 Coleta e preservação das amostras

Foi realizada uma amostragem de lodo em cada ETEs, no período de 2010 a 2011. Para as coletas de lodo acondicionados em “BAGs” foram coletadas amostras compostas das partes superiores, intermediárias e inferiores, buscando reproduzir as características do material a ser analisado para a realização dos ensaios químicos e ecotoxicológicos. Já a amostra de lodo da ETE do município de Franca foi coletada após o desague em filtro de esteira.

As coletas foram realizadas por profissionais que trabalham na operação das ETEs, cada alíquota foi acondicionada em sacos plásticos atóxicos e o transporte foi realizado sob temperatura ambiente dentro de caixas de isopor, para garantir a confiabilidade dos resultados. Após as amostras chegarem à Unicamp, o armazenamento foi realizado em câmara fria a 4°C e, de acordo com a necessidade de cada ensaio, as amostras foram utilizadas “*in natura*”, base seca ou extrato aquoso.

4.2.1 Armazenamento e coleta mensal das amostras de lodo das ETEs dos municípios de Fartura e Franca-SP

A amostra de lodo de esgoto acondicionado no “BAG” da ETE do município de Fartura e a amostra da ETE do município de Franca foram coletadas em maior quantidade e armazenadas em recipientes de polietileno, furados e expostos às intempéries climáticas, em área experimental do Departamento de Saneamento e Ambiente da Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, no campus da Unicamp, no município de Campinas-SP.

Foram realizadas análises ecotoxicológicas com os organismos *Daphnia similis*, *Lactuca sativa* e *Vibrio fischeri*, durante os meses de novembro de 2011 a março de 2012 e cálculo do IPLE para verificar o decaimento da toxicidade das amostras de lodo de esgoto. A Figura 4.2 apresenta uma ilustração dos lodos armazenados em recipientes de polietileno furados.

Figura 4.2 - Recipientes de polietileno com amostras de lodos de esgoto das ETEs dos municípios de Fartura e Franca - SP



Fonte: Autora, 2012

4.3 Metodologia das análises químicas

Para a caracterização do potencial agrônomo das amostras de lodo, foram utilizadas as metodologias descritas em Embrapa (2009) e em Brasil (2006a), apresentadas na Tabela 4.3.

Os parâmetros Carbono Orgânico Total, Fósforo Total e Enxofre Total foram analisados no Laboratório de Fertilizantes e Resíduos do Instituto Agrônomo de Campinas e os demais parâmetros apresentados na Tabela 4.3 foram analisados no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia Agrícola - FEAGRI/UNICAMP.

Tabela 4.3- Metodologias para as análises químicas

Parâmetros	Metodologias
pH em água (1:10)	Camargo <i>et al.</i> (1986)
Umidade	APHA, 2005
Sólidos Totais	APHA, 2005
Sólidos Voláteis	APHA, 2005
Carbono Orgânico	NBR 11489, 1989
Nitrogênio Total	Raij <i>et al</i> (2001)
Nitrogênio Amoniacal	Raij <i>et al</i> (2001)
Nitrito + Nitrato	Raij <i>et al</i> (2001)
Fósforo Total	SW 846-3051A, determinação por ICP-AES
Potássio Total	SW 846-3051A, Emissão Atômica
Sódio Total	SW 846-3051 ^a , Emissão Atômica
Enxofre Total	SW 846-3051A, determinação por ICP-AES
Cálcio Total	SW 846-3051A, determinação por ICP-AES
Magnésio Total	SW 846-3051A, determinação por ICP-AES

A Tabela 4.4 apresenta as metodologias que foram utilizadas para a caracterização química do lodo de esgoto quanto à presença de substâncias inorgânicas, conforme a Resolução CONAMA N° 375 de 2006, anexo II, e IV.

As substâncias Arsênio (Ar), Bário (Ba), Mercúrio (Hg), Mobildênio (Mo) e Selênio (Se) foram analisadas no Laboratório de Fertilizantes e Resíduos do Instituto Agrônomo de Campinas e as substâncias Cádmi (Cd), Chumbo (Pb), Cobre (Co), Cromo (Cr), Níquel (Ni) e Zinco (Zn) foram analisadas no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia Civil - FEC/UNICAMP.

Tabela 4.4 - Metodologias para as análises de substâncias inorgânicas

Substâncias	Metodologias
Arsênio	SW 846-3051A, determinação por ICP-AES
Bário	SW 846-3051A, determinação por ICP-AES
Cádmio	SW 846-3051A, absorção atômica
Chumbo	SW 846-3051A, absorção atômica
Cobre	SW 846-3051A, absorção atômica
Cromo	SW 846-3051A, absorção atômica
Mercúrio	SW 846-3051 A, determinação por ICP- AES
Molibdênio	SW 846-3051A, determinação por ICP- AES
Níquel	SW 846-3051A, absorção atômica
Selênio	SW 846-3051A, determinação por ICP- AES
Zinco	SW 846-3051A, absorção atômica

4.4 Metodologia das análises biológicas

Para a caracterização das amostras de lodos de esgoto quanto à presença de indicadores bacteriológicos, foram analisados os parâmetros Coliformes Termotolerantes, pelo método de Substrato Cromogênico (kit Colilert®), *Salmonella sp*, através de Biocontrol 1-2 Test e quantificação de ovos viáveis de helmintos, de acordo com o procedimento analítico EPA/625/R-92/013.

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia Agrícola, FEAGRI, e no Laboratório de Reúso da Faculdade de Engenharia Civil, FEC/UNICAMP.

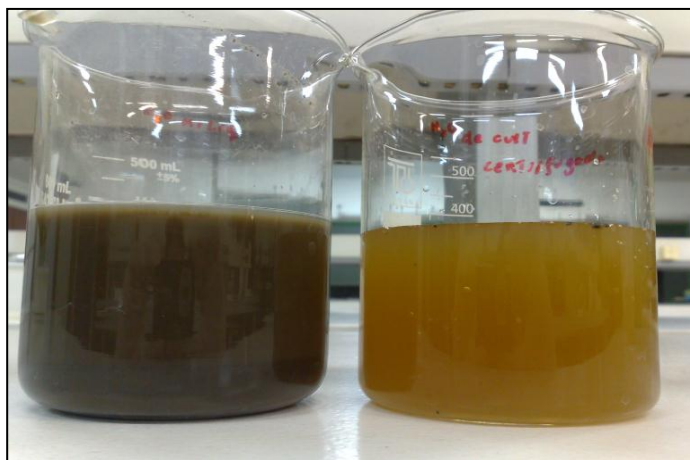
4.5 Preparo dos extratos aquosos dos lodos

De acordo com procedimento proposto por Matthews e Hastings (1987), cada amostra de lodo foi seca até peso constante, triturada e em seguida homogeneizada. Pesaram-se 100g desse lodo e adicionaram-se 400 mL de água altamente purificada

para a realização dos testes de toxicidade com *Lactuca sativa L.* e *Vibrio fischeri* e de água de cultivo para os testes de toxicidade com *Daphnia similis*, ou quantidades que mantiveram a proporção entre amostra e água de 1:4 em frasco de vidro. Este foi colocado em um agitador mecânico (por tombamento) a 30 rpm durante 22 ± 2 horas, à temperatura ambiente. Após a agitação os frascos foram deixados em repouso por 1 hora e foram retiradas alíquotas do sobrenadante para serem centrifugadas em frasco atóxico por 10 minutos a 3500 rpm (Figura 4.3). O extrato aquoso resultante foi armazenado em geladeira (no máximo 48 horas) ou em congelador (no máximo por três meses).

A extração aquosa das amostras de lodo de esgoto foi realizada no Laboratório de Microbiologia Aplicada da Faculdade de Tecnologia- FT/UNICAMP em Limeira.

Figura 4.3 – Amostra de lodo nos béqueres antes (esquerda) e depois (direita) de ser centrifugada



Fonte: Autora, 2012.

4.6 Metodologia de cultivo do organismo *Daphnia similis*

Segundo ABNT NBR 12.713 (2009) a metodologia de cultivo do organismo-teste *Daphnia similis* (*Cladocera*, *Crustacea*) tem como objetivo a manutenção do organismo-teste em laboratório, sob condições que permitam a avaliação da toxicidade de amostras de efluentes líquidos, águas continentais superficiais ou subterrâneas e substâncias químicas solúveis ou dispersas em água, assegurando o controle da saúde e sensibilidade desta.

A água de cultivo foi preparada adicionando-se 20 mL da solução 1 de $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e 10 mL da solução 2 (KCl, NaHCO_3 e $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) em 970 mL de água ultra purificada, aerada por 24 horas para solubilização total dos sais, saturação do oxigênio dissolvido e estabilização do pH. Essa água também foi utilizada para a preparação do extrato aquoso e para preparar as diluições do extrato aquoso para o ensaio.

Os organismos-teste foram cultivados em água de cultivo, com pH variando de 7,0 a 7,6, dureza entre 40 a 48 mg L^{-1} de CaCO_3 e mantidos em lotes de 25 adultos por litro, em recipiente de 1.000 mL, com luminosidade difusa (fotoperíodo de 16 h de luz) e temperatura de 18 °C a 22 °C.

A água do cultivo foi renovada duas vezes por semana, evitando-se a diferença de temperatura maior que 2 °C. No manuseio do organismo foram utilizadas pipetas de diâmetro adequado ao tamanho do mesmo, com borda arredondada. Lotes de organismos com idade superior a 28 dias foram descartados.

Como alimento foi utilizada a alga verde *Scenedesmus subspicatus*, fornecendo a quantia de 1 a 5 10^6 células por organismo adulto diariamente, e 1 mL em cada litro de um complemento alimentar a base de ração fermentada.

Para cultivo da alga, manteve-se uma cultura-estoque que serviu como inóculo, à temperatura de 4 °C a 10 °C, em meio líquido, por no máximo 15 dias, para obtenção de células viáveis para semeadura (ABNT, 2009).

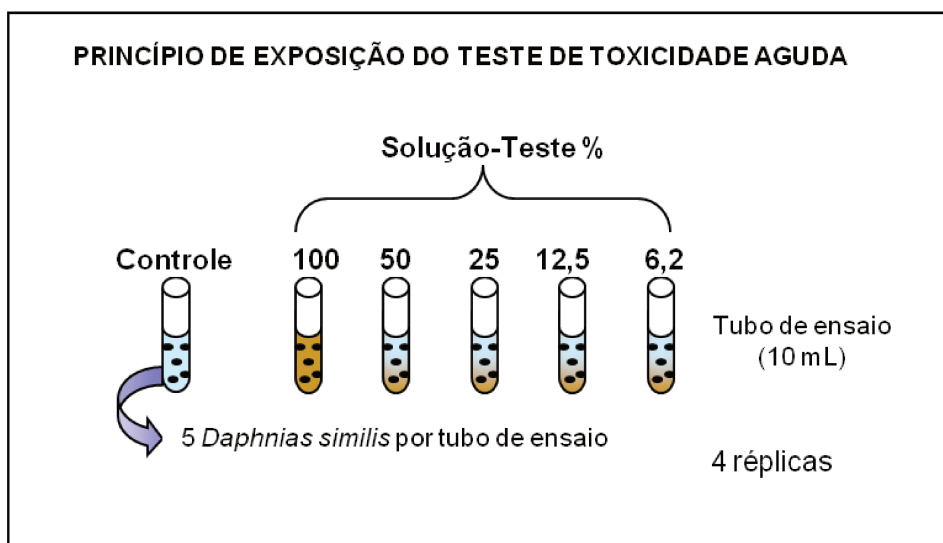
4.7 Teste de Toxicidade Aguda com *Daphnia similis*

O cultivo e a realização dos testes de toxicidade com *Daphnia similis* ocorreu no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia Agrícola/UNICAMP em Campinas.

O ensaio consistiu na exposição de neonatos de *Daphnia similis*, de 2 a 26 horas de idade, em diluições da amostra com água de cultivo, por um período de 48 horas.

Em cada diluição e controle foram adicionados 20 neonatos, distribuídos em número de cinco em cada uma das quatro réplicas. Este esquema pode ser observado na Figura 4.4.

Figura 4.4 - Metodologia para teste de toxicidade com *Daphnia similis*



Fonte: Autora, 2012.

O ensaio foi mantido de 18° C a 22 °C por 48 h, em ambiente escuro, sem alimentação dos organismos e os tubos de ensaios foram cobertos com tampas de polietileno.

Foi realizado ensaio preliminar para estabelecer um intervalo de soluções-teste a ser utilizado no ensaio definitivo.

Após 48 horas foram realizadas as leituras do número de indivíduos imóveis de cada diluição. A partir destes dados, foi calculada a concentração da amostra, que causa efeito agudo (imobilidade) a 50% dos organismos expostos (EC50), usando o método estatístico “*Trimmed Sperman - Karber Method*”.

4.8 Teste de Toxicidade Aguda com *Vibrio fischeri*

O teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* foi realizado no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia Agrícola/UNICAMP em Campinas, seguindo a norma L5. 227 da CETESB (2001).

O ensaio consistiu em expor as bactérias bioluminescentes à amostra por 15 minutos, registrando a quantidade de luminescência inicial (I0) e aquela obtida após a exposição (I15).

A bactéria adquirida foi mantida a -25°C, retirando somente para a realização do ensaio, e o equipamento utilizado foi o *Toxicity Analyser M500, Microbics®*.

Por tratar-se de uma bactéria salina, foi realizado o ajuste da pressão osmótica da amostra com uma solução salina (NaCl 20%) na maior concentração utilizada neste ensaio, que foi de 81,9%. Usualmente, foram utilizadas diluições em série 1:2, que foram: 81,9%, 40,95%, 20,47% e 10,23% da amostra do extrato aquoso de lodo.

A sensibilidade do organismo-teste foi determinada utilizando o sulfato de zinco como substância referência. O ensaio seguiu a metodologia descrita na Norma Técnica ABNT 15411-2 (2006) e foram realizados na mesma data dos ensaios com as amostras de extrato aquoso de lodo.

Os resultados obtidos com amostras para *Vibrio fischeri* foram expressos por CE50 (I15), representando a concentração que reduziu 50% da luminescência produzida pela bactéria, durante a exposição de 15 minutos, a 15 °C. A partir dos dados brutos foi gerada uma curva de regressão linear com valores de gama (relação entre luz perdida e luz remanescente) e concentrações da diluição serial, utilizando o programa estatístico específico da *Microbics®*.

4.9 Teste de Toxicidade Aguda com *Lactuca sativa*

O teste de toxicidade com *Lactuca sativa* foi realizado no Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental Prof^o Dr. Abílio Lopes (LEAL), FT/UNICAMP em Limeira.

Para a realização do teste de toxicidade aguda com *Lactuca sativa* foi utilizada a variedade Regina de Verão, pela sua rápida germinação, isenção de pesticidas e praguicidas, além da fácil aquisição em lojas de produtos agropecuários.

A metodologia que foi utilizada está descrita na Norma U.S. EPA “Ecological Effects Teste Guidelines” OPPTS 850.4200 – Seed Germination/Root Elongation Toxicity Teste (U.S.EPA, 1996), que avalia o efeito fitotóxico de soluções aquosas das amostras de lodo no processo de germinação das sementes e no desenvolvimento das raízes das plântulas nos primeiros dias de alongamento.

O método consistiu em preparar um controle negativo com água deionizada e extratos aquosos de cada amostra de lodo de esgoto diluídos em água deionizada nas seguintes concentrações: 100%; 50%; 10%; 5%; 1%; 0,5% e 0,1%.

Em cada placa de Petri foi colocado um papel de filtro que foi saturado com 4 mL da diluição da amostra e com o auxílio de pinça foram adicionadas 20 sementes, em triplicata.

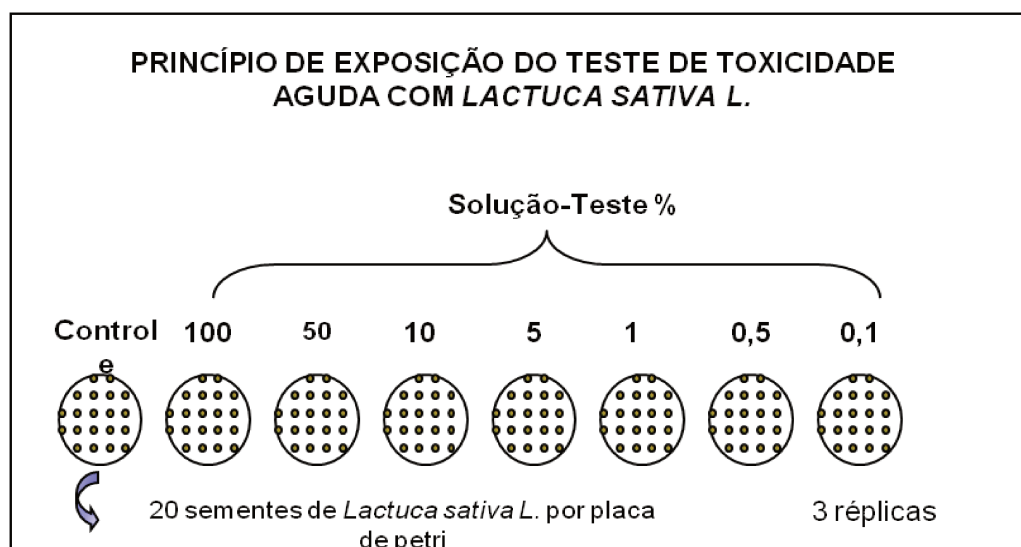
Para não ocorrer perda de umidade, a placa de Petri foi fechada, sendo logo em seguida coberta com papel escuro, evitando luminosidade. As placas foram incubadas por 120 h ou 5 dias, à temperatura de 22 ± 1 °C.

Terminado o tempo de exposição, foram medidas cuidadosamente os comprimentos das raízes de cada uma das plântulas, correspondentes a cada concentração. Foram quantificados os números de sementes que não germinaram e a porcentagem de variação do crescimento das raízes.

Em paralelo, foram realizados testes de sensibilidade com a substância de referência Sulfato de Zinco ($ZnSO_4$); utilizaram-se 7 concentrações (0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; 3,2; 6,4 g L⁻¹) e um controle negativo (água deionizada), seguindo a mesma metodologia do teste com amostra.

A concentração efetiva mediana (CE50), que corresponde à concentração de lodo que causa 50% de inibição no alongamento das raízes foi calculada com auxílio do software Excel. A Figura 4.5 apresenta uma ilustração da metodologia para a realização do teste de toxicidade com *Lactuca sativa* aos extratos aquosos das amostras de lodo de esgoto.

Figura 4.5 - Metodologia para a realização do teste com *Lactuca sativa*



Fonte: Autora, 2012.

4.10 Cálculo do Índice de Perigo do Lodo de Esgoto

Para a realização do cálculo do IPLE, Da Matta (2011) estabeleceu a seguinte equação (1):

$$IPLE = Ln \left[1 + n \times \left(\frac{\sum_{i=1}^N T_i}{N} \right) \right]$$

Onde:

- *IPLE* é o valor numérico na escala de índice de perigo;
- *n* representa o número de testes que exibiram resultado positivo;
- *N* é a quantidade de testes realizados e;

- Ti é o resultado dos testes de toxicidade expressos em unidade tóxica, conforme a seguinte equação (2):

$$UT = \frac{100}{CE50(\%)}$$

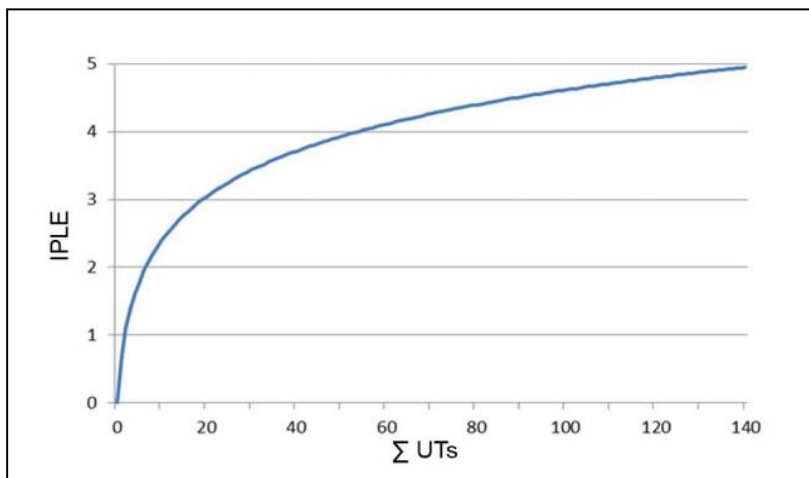
Onde UT é a Unidade Tóxica adimensional e CE50(%) é a Concentração Efetiva 50%, expressa em % da amostra.

Na aplicação da equação 1, Da Matta relata que podendo ocorrer:

- “Para amostras que apresentem toxicidade em todos os indicadores ($n = N$), o Índice será igual ao logaritmo natural da soma de 1 com o total das Unidades Tóxicas (UTs),
- Para amostras que apresentem toxicidade para alguns indicadores ($n < N$), o Índice será igual ao logaritmo natural da soma de 1 com um valor que será menor que a soma das Unidades Tóxicas (UTs),
- Para amostras em que nenhum indicador apresente toxicidade ($n = 0$), o Índice resultará no logaritmo natural de 1, que é zero”. Da Matta (2011).”

Segundo Da Matta (2011), a escala do IPLE varia de 0 a 5, sendo que o Índice é bastante sensível para valores de 0 a 2, já que, nessa faixa, as variações de Unidades Tóxicas são pequenas, conforme apresenta a Figura 4.6 e sugere quanto ao uso de lodo de esgoto na agricultura, reprovação para $IPLE \geq 2$ e aprovação quando o IPLE for < 2 .

Figura 4.6– Curva neperiana do Índice de Perigo de Lodo de Esgoto (IPLE) em relação à somatória das unidades tóxicas (UTs) na amostra



Fonte: Da Matta, 2011.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização das amostras de lodo de esgoto

5.1.1 Análises biológicas

A Tabela 5.1 apresenta a caracterização das amostras de lodo de esgoto, segundo os parâmetros biológicos: coliformes termotolerantes, *Salmonella sp* e ovos viáveis de helmintos.

Tabela 5.1 - Análise quantitativa de coliformes termotolerantes, *Salmonella sp* e o ovos viáveis de helmintos em amostras de lodo de esgoto, no período de amostragem entre 2010 e 2011

Municípios amostrados e tempo de armazenamento nos "BAGs"	Coliformes termotolerantes (NMP g ⁻¹ ST)	<i>Samonella sp</i> em 10 g de ST	Ovos viáveis de helmintos (ovos g ⁻¹ ST)	Classificação por Brasil (2006)
B. Campos (3 anos e 2 meses)	231	Ausente	0	Classe A
C. Macedo (3 anos)	0	Ausente	1.10 ⁻³	Classe A
Fartura (3 anos e 4 meses)	0	Ausente	0	Classe A
Franca	164	Ausente	0,1. 10 ⁻³	Classe A
Itaberá (3 anos)	0	Ausente	120. 10 ⁻³	Classe A
Sarutaiá (1 ano e 8 meses)	74	Ausente	5. 10 ⁻³	Classe A

Todas as amostras de lodo de esgoto das ETE dos municípios de Bernardino de Campos, Coronel Macedo, Fartura, Franca, Itaberá e Sarutaiá apresentaram densidades inferiores aos limites preconizados por Brasil (2006a) para coliformes termotolerantes e ovos viáveis de helmintos e também ausência de *Salmonella sp.* Desta forma, foram classificadas como lodo de esgoto de Classe A, aptas ao uso agrícola, desde que sejam respeitadas as restrições previstas nos artigos 12 e 15.

Segundo Tsutiya *et al.*, (2002) e von Sperling (2005), além das condições socioeconômicas e sanitárias da população, o processo de tratamento de esgoto influencia diretamente na redução da concentração de patógenos presentes em lodo de esgoto. Estudos realizados por von Sperling (2005), em 186 lagoas facultativas e de maturação, em diferentes partes do mundo, apresentaram valores médios de eficiência na remoção de coliformes termotolerantes de 98%, para lagoas facultativas primárias, de 90% para lagoas facultativas secundárias e de 94% para lagoa de maturação em série.

França (2010), ao avaliar o processo de tratamento de esgoto por lagoa facultativa do município de Coronel Macedo-SP e o acondicionamento do lodo de esgoto em “BAG”, não constatou a presença de *Salmonella sp.* nas amostras e, após um período de acondicionamento de 5 meses, a densidade de coliformes termotolerantes e ovos viáveis de helmintos apresentaram conformidades com os limites preconizados por Brasil (2006a), classificando-as como lodo de Classe A, apto para o uso na agricultura.

Assim, neste caso, o tempo de acondicionamento do lodo de esgoto em “BAG”, influenciou na redução da densidade de coliformes termotolerantes e ovos viáveis de helmintos, já que a perda de água no processo de deságue, as variações climáticas no local de armazenamento e os processos oxidativos envolvidos no processo, poderiam estar influenciando no desenvolvimento fisiológico e na sobrevivência dos patógenos.

A Tabela 5.2 apresenta a quantidade de ovos dos principais helmintos (*Ascaris* sp, Ancilostomídeo, *Toxocara* sp, *Trichuris* sp e *Hymenolepis* sp) presentes no equivalente a 30 gramas de lodo de esgoto na base seca.

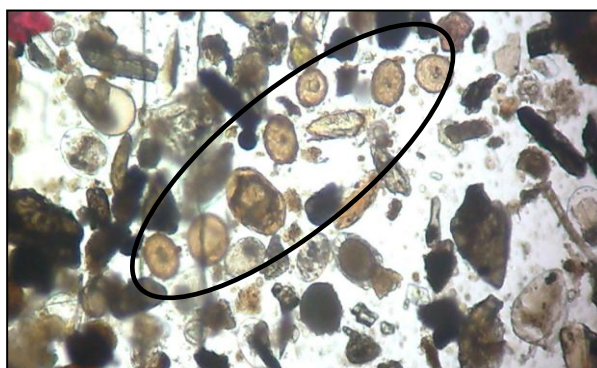
Tabela 5.2- Quantificação de ovos de *Ascaris* sp, *Ancilostomídeo*, *Toxocara* sp, *Trichuris* sp e *Hymenolepis* sp nas amostras de lodo de esgoto no período de amostragem entre 2010 e 2011

Ovos de helmintos*	B. de Campos	C. Macedo	Fartura	Franca	Itaberá	Sarutaiá
<i>Ascaris</i> sp	47	676	96	5	324	72
<i>Ascaris</i> larvado	0	10	0	1	1716	460
Ancilostomídeo	14	21	0	1	4	0
<i>Toxocara</i> sp	2	11	33	14	4	5
<i>Trichuris</i> sp	61	192	1	4	39	80
<i>Hymenolepis</i> sp	2	1	2	4	49	27

*Valores encontrados em amostras de 30 gramas de lodo de esgoto (base seca)

Todas as amostras de lodo de esgoto apresentaram ovos de *Ascaris* sp, sendo que, as amostras das ETEs dos municípios de Coronel Macedo, Franca, Itaberá e Sarutaiá apresentaram ovos larvados (Figura 5.1).

Figura 5.1: Ilustração de ovos de *Ascaris* sp presente na amostra de lodo de esgoto da ETE do município de Coronel Macedo coletada em dezembro de 2011



Fonte: Autora, 2012.

Destaca-se a ocorrência do gênero *Toxocara sp*, o que poderá sugerir uma maior atenção junto os gestores do saneamento das cidades pesquisadas, pois trata-se de um parasito exclusivo do cão ou do gato e a sua ocorrência no esgoto sanitário é, no mínimo, curiosa, ou seja, provavelmente a população está descartando as fezes dos seus animais domésticos nos vasos sanitários ou está ocorrendo um preocupante aporte de águas pluviais originárias das vias públicas, praças, jardins ou de quintais para o sistema de esgotamento sanitário das cidades.

Com relação à contagem “zero” de ovos de helmintos (Tabela 5.2), ressalta-se o fato de isto não ser garantia de inexistência de ovos viáveis, em razão da limitação da metodologia preconizada, pois ela apresenta alta especificidade, porém baixa sensibilidade (REY, 2008).

Outro fator que deve ser discutido com muito cuidado é a importância da ocorrência de ovos viáveis de helmintos em um biossólido com potencial de uso agrícola, pois são incontáveis as variáveis tanto ambientais quanto a do hospedeiro potencial que possam estar influenciando no poder infectante destes ovos, ou seja, a simples ocorrência de ovos viáveis (larvados) não garante que, se ingeridos, chegarão a desenvolvê-los (CABARET *et al.*, 2002).

5.1.2 Análises de metais potencialmente tóxicos

Nas Figuras 5.2, 5.3 e 5.4 estão representadas as concentrações dos metais potencialmente tóxicos encontrados nas amostras de lodo de esgoto analisadas e os limites preconizados pelas legislações CONAMA 375 (BRASIL, 2006a), 40 CFR Part 503 (USEPA,1993) e Directiva 86/ 276/EEC (COUNCIL, 1986).

Figura 5.2 – Concentrações dos metais: Bário, Cobre, Cromo e Zinco (mg kg^{-1} em base seca) em comparação com os limites preconizados por Brasil (2006a), USEPA (1993) e Council (1986) no período de amostragem entre 2010 e 2011

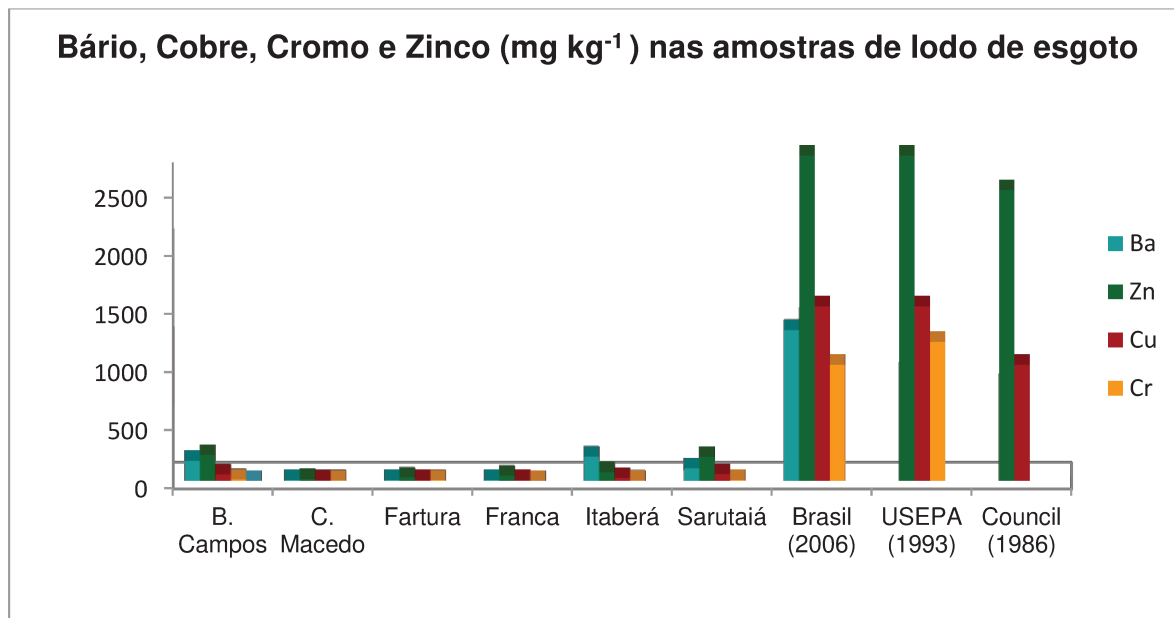


Figura 5.3 - Concentrações dos metais: Arsênio, Cádmiio, Mercúrio e Molibdênio (mg kg^{-1} em base seca) em comparação com os limites preconizados por Brasil (2006a), USEPA (1993) e Council (1986) no período de amostragem entre 2010 e 2011

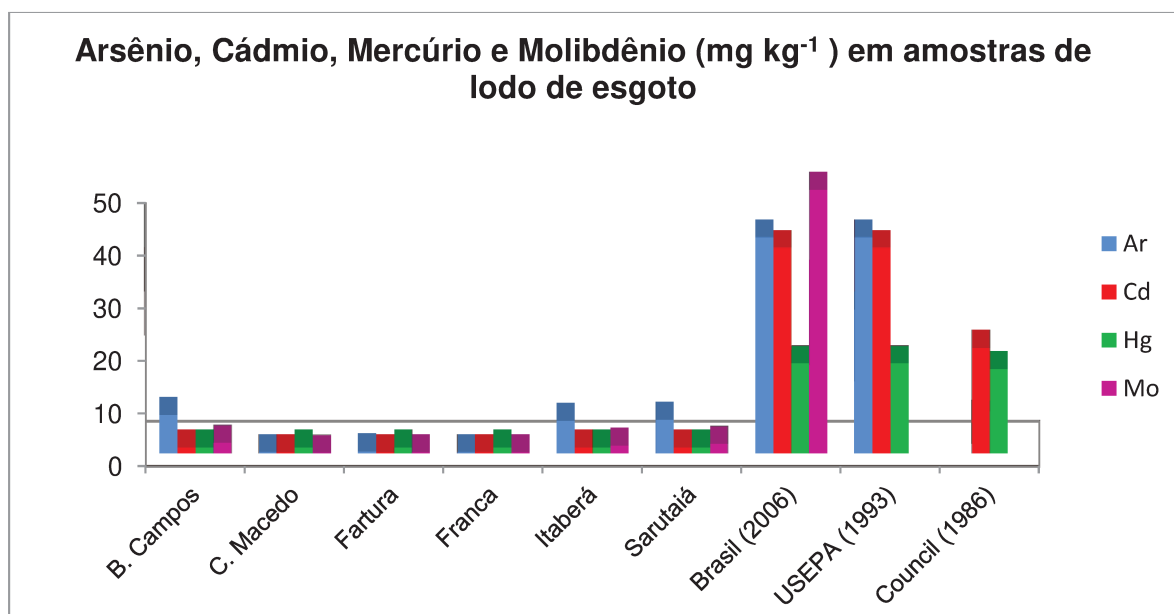
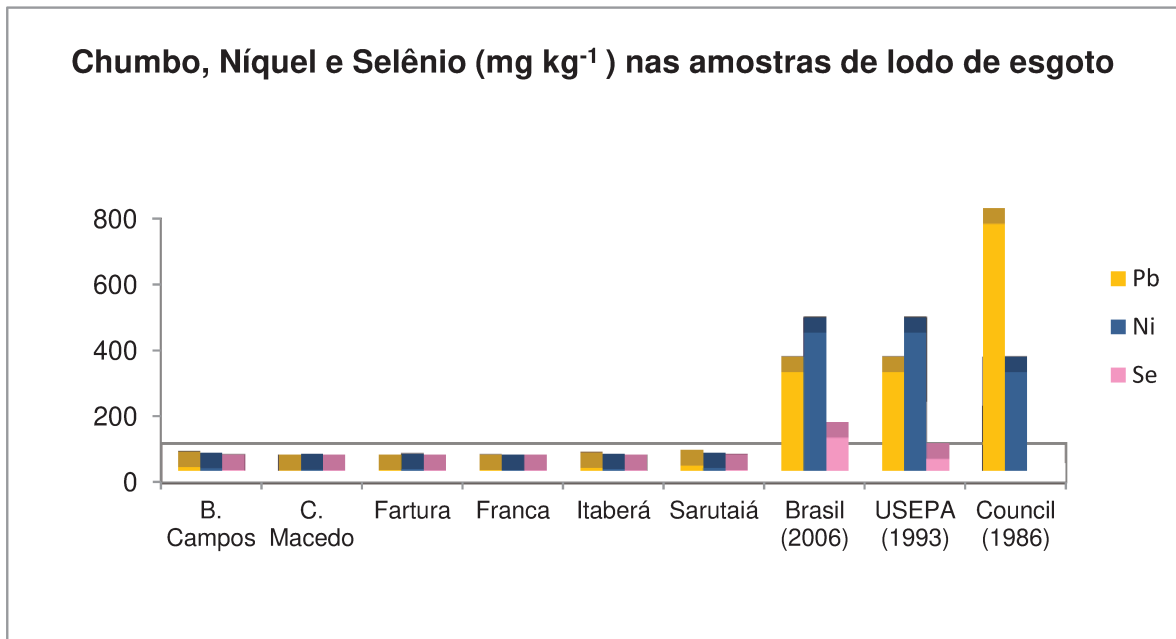


Figura 5.4 - Concentrações dos metais: Chumbo, Níquel e Selênio (mg kg^{-1} em base seca) em comparação com os limites preconizados por Brasil (2006a), USEPA (1993) e Council (1986) no período de amostragem entre 2010 e 2011



Todas as amostras de lodo de esgoto, apresentaram conformidade aos limites preconizados pelas legislações CONAMA 375 (BRASIL, 2006), 40 CFR Part 503 (USEPA,1993) e Directiva 86/276/EEC (COUNCIL, 1986) a todos os metais potencialmente tóxicos analisados (Arsênio, Bário, Cádmio, Chumbo, Cobre, Cromo, Mercúrio, Molibdênio, Níquel, Selênio e Zinco).

5.1.3 Potencial agrônômico

Foram realizadas análises físicas e químicas, incluindo os macronutrientes Fósforo, Enxofre, Potássio, Sódio, Cálcio e Magnésio total para a caracterização do potencial agrônômico das amostras de lodo de esgoto das ETE dos municípios de Bernardino de Campos, Coronel Macedo, Fartura, Franca, Itaberá e Sarutaiá, cujos resultados estão apresentados na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 - Características físicas e químicas das amostras de lodo de esgoto, incluindo os macronutrientes, em base seca, no período de amostragem entre 2010 e 2011

Parâmetros	B. de Campos	Coronel Macedo	Fartura	Franca	Itaberá	Sarutaiá
Umidade (% (m/m))	80,70	66,00	52,00	64,50	59,30	74,30
pH	5,69	3,80	3,75	8,75	4,05	4,44
Sólidos Totais (% (m/m))	19,30	34,00	48,00	35,50	40,70	25,70
Sólidos Voláteis (% (m/m))	8,70	12,10	20,10	17,80	12,20	10,90
S.V/S.T	0,50	0,40	0,40	0,50	0,30	0,40
C.Orgânico (g kg ⁻¹)	290	186	302	263	142	196
N.Total (g kg ⁻¹)	22,20	21,00	27,90	33,80	13,90	21,10
N.Amoniacal (mg kg ⁻¹)	93,70	55,10	395,40	896,90	36,50	229,10
N. Orgânico (g kg ⁻¹)	22,19	20,95	27,51	32,90	13,86	20,87
N. Nitrito + Nitrato (mg kg ⁻¹)	39,80	18,40	31,90	43,10	15,30	25,60
N. disponível (g kg ⁻¹)	8,96	8,42	11,23	13,65	5,58	8,49
Carbono/Nitrogênio	13/1	8/1	10/1	7/1	10/1	9/1
Fósforo (mg kg ⁻¹)	6,00	2,50	4,30	3,70	2,70	3,20
Enxofre (mg kg ⁻¹)	16,30	46,20	86,50	217,80	8,20	11,80
Potássio (mg kg ⁻¹)	1,80	6,13	9,30	4,29	0,94	2,20
Sódio (mg kg ⁻¹)	4,40	5,09	5,13	5,02	2,10	6,40
Cálcio (mg kg ⁻¹)	47,70	67,40	126,60	73,70	13,50	1,20
Magnésio (mg kg ⁻¹)	6,70	12,54	17,08	10,91	1,80	11,80

Todas as amostras de lodo de esgoto foram consideradas estáveis, ou seja, os valores da relação entre sólidos voláteis e sólidos totais foram inferiores a 0,70, não apresentando potencial de geração de odores e atração de vetores para o uso agrícola (BRASIL, 2006a).

Em relação ao parâmetro pH, a amostra de lodo da ETE do município de Franca apresentou pH de 8,75. Enquanto, as amostras de lodo de esgoto acondicionadas em “BAGs” apresentaram valores entre 3,7 a 5,7. Destaca-se que os municípios onde foram coletados amostras de lodo de esgoto apresentam características socioeconômicas distintas (Tabela 4.1) e sistemas de tratamento de esgoto diferentes (1 amostra de ETE por lodos ativados e 4 amostras de ETE por lagoa de estabilização que estavam acondicionadas em “BAG”), justificando, desta forma, esta variação.

No caso do uso do lodo na agricultura, segundo Raji *et al.*, (1996) a acidez ou a alcalinidade podem interferir na forma de vários elementos químicos, disponibilizando-os ou não para a absorção das plantas. A faixa ideal de pH para as plantas sobreviverem nos solos é de 6,0 a 7,0. A aplicação de lodo no solo, inicialmente, provoca uma diminuição do pH, devido a formação de ácidos orgânicos que, após a estabilização por meio de reações bioquímicas com elementos do próprio solo, promove o seu aumento (BARBOSA *et al.*, 2006).

O valor de Carbono Orgânico nas amostras de lodo de esgoto variou de 186 a 302 g kg⁻¹ (base seca); esses resultados concordam com os obtidos por Boeira *et al.* (2002) em amostras de lodo de esgoto das ETEs dos municípios de Franca e Barueri-SP, ambas com processo de tratamento por digestão anaeróbia do lodo ativado e segundo Coscione *et al.* (2010), é um importante parâmetro para indicar o potencial do lodo em atribuírem efeitos como de melhoria de densidade, estrutura do solo, retenção de água, aeração, capacidade de troca de cátions e adsorção de nutrientes.

A variação das concentrações dos macronutrientes Fósforo total, Enxofre total, Potássio total, Sódio total, Cálcio total e Magnésio total foram de 2,5 a 6; 8,2 a 217,8; 0,94 a 9,3; 2,1 a 6,4; 1,2 a 126,6 e de 1,8 a 17,8 mg kg⁻¹ em base seca, respectivamente.

Assim como os valores encontrados por Andreolli *et al.* (1999), as amostras de lodo de esgoto apresentaram maior concentração de Enxofre, Cálcio e Magnésio total e, segundo Tsutiya *et al.* (2002), na maioria das culturas, pequenas aplicações de lodo de esgoto podem suprir as necessidades de magnésio e enxofre do solo.

Os macronutrientes fósforo, enxofre e potássio, de acordo com Berton (2000) mesmo em excesso, não oferecem risco de fitotoxicidade e contaminação de águas subterrâneas, devido à deficiência dos solos brasileiros, principalmente, ao fósforo. Entretanto, podem apresentar risco de contaminação de águas superficiais, através do arraste do material sólido superficial por erosão.

As amostras de lodo de esgoto das ETEs dos municípios de Fartura e Itaberá apresentaram relação C:N de 10:1, considerada por Carneiro *et al.* (2005), como uma proporção ótima à quantidade de Nitrogênio consumido no processo de mineralização e utilizada no crescimento e decomposição microbiana.

Já, valores inferiores, como os obtidos nas amostras de lodo de esgoto das ETEs dos municípios de Coronel Macedo, Franca e Sarutaiá, segundo os mesmos autores, são encontrados na maioria das amostras de lodos de esgoto domésticos, podendo ocasionar maior imobilização do Nitrogênio.

Os valores de nitrogênio total foram entre 13 e 34 g kg⁻¹, de nitrogênio amoniacal entre 36 a 896 mg kg⁻¹, na forma de nitrato e nitrito entre 15 a 43 mg kg⁻¹ e de nitrogênio orgânico de 13 a 33 g kg⁻¹. Esses resultados concordam com os valores obtidos por Augustini *et al.* (2007) em amostra de lodo de esgoto da ETE do município

de Pato Branco-PR e por França (2010) em amostra de lodo acondicionada em “BAG” da ETE do município de Coronel Macedo-SP.

Para a aplicação de lodo na agricultura é importante o conhecimento das concentrações das diferentes formas do nitrogênio, a fim de evitar perdas por percolação, volatilização, desnitrificação e arraste superficial (CARNEIRO *et al.*, 2005; AUGUSTINI, 2007) e calcular a taxa de nitrogênio necessária para cada cultura (BRASIL, 2006a).

No processo de decomposição do lodo de esgoto o nitrogênio orgânico é convertido em amônio ou nitrato e, dependendo das condições físicas e bioquímicas presentes, pode ocorrer a desnitrificação, processo pelo qual o nitrogênio do nitrato é transformado em nitrogênio gasoso. A quantidade de nitrogênio na forma de nitrato ou amônio presente no lodo de esgoto é importante para se calcular o Nitrogênio disponível às plantas e evitar que o seu excesso seja lixiviado e acumule nos lençóis mais próximos, contaminando-os (BOEIRA *et al.*, 2002; CARNEIRO *et al.*, 2005; AUGUSTINI, 2007).

De acordo com os valores de Nitrogênio disponível (Tabela 5.3) e a quantidade de Nitrogênio recomendado para aplicação superficial nas culturas de café, eucaliptos e cana-de-açúcar, estabelecidos pelo Boletim 100 do Instituto Agrônomo de Campinas (RAIJ *et al.*, 1996), foi possível calcular a taxa de aplicação superficial em base seca de cada amostra de lodo de esgoto (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 - Taxa de aplicação superficial das amostras de lodo de esgoto a serem utilizadas nas culturas de café, eucalipto e cana-de-açúcar

	Taxa de aplicação para a cultura do café (t ha⁻¹)	Taxa de aplicação para a cultura de eucalipto (t ha⁻¹)	Taxa de aplicação para a cultura de cana-de-açúcar (t ha⁻¹)
B. de Campos	11,16	15,84	13,39
C. Macedo	11,87	16,86	14,25
Fartura	8,90	12,64	10,68
Franca	7,32	10,40	8,79
Itaberá	17,92	25,45	21,51
Sarutaiá	11,79	16,73	14,14

As amostras apresentaram taxa de aplicação de lodo de esgoto variando entre 7,32 a 17,82 t ha⁻¹ para a cultura de café, 10,40 a 25,45 t ha⁻¹ para a cultura de eucalipto e 8,79 a 21,51 t ha⁻¹ para a cultura de cana-de-açúcar.

A amostra de lodo de esgoto da ETE do município de Franca apresentou a menor taxa de aplicação, devido a maior concentração de Nitrogênio disponível no lodo. Enquanto, a amostra da ETE do município de Itaberá apresentou a maior taxa de aplicação, pois a concentração de Nitrogênio disponível foi a menor.

Diversos estudos foram realizados para avaliar a produção de diversas culturas quanto à aplicação de lodo no solo e demonstraram produtividade igual ou superior ao tratamento com adubação mineral, como os obtidos nos exemplos a seguir:

Maldonado (2009), ao aplicar quatro doses de lodo de esgoto da ETE do município de Jundiaí-SP, equivalente a 0, 50, 100 e 150%, nitrogênio a 0, 33, 67 e 100% e fósforo a 0, 33, 67 e 100%, segundo as concentrações recomendadas à cultura de eucalipto, concluiu que houve a redução de 33% no uso do adubo fosfatado e 100%

do adubo nitrogenado, sem causar prejuízos ao crescimento, à nutrição do eucalipto e propiciando aumento na produtividade da madeira.

Martins *et al.* (2005), ao utilizarem lodo de esgoto da estação de tratamento de esgoto de Franca-SP, em seis tratamentos, sendo dezessete talhões com diferentes doses e três repetições, 60 dias antes do plantio das mudas de café da variedade Acaiá IAC-474, constataram que a aplicação do lodo não afetou a qualidade da bebida e o tamanho dos grãos, como também, não alterou os teores de nutrientes nas folhas e frutos e de metais pesados nos frutos.

Tasso Junior *et al.* (2007), ao aplicar lodo de esgoto da ETE do município de Franca-SP, em cultura de cana-de-açúcar, como fonte de N e de vinhaça como fonte de K (lodo de esgoto + KCl; vinhaça + uréia e lodo de esgoto + vinhaça), a dois modos de aplicação (na linha de plantio ou em área total) e em duas doses (100 e 200% do N e K), concluíram que para a cana-planta as produtividades de colmo e de açúcar foram mantidas quando utilizado lodo e vinhaça e ao utilizar esses resíduos separadamente, houve um aumento na produtividade de colmo e açúcar para a cana-soca.

5.2 Avaliação ecotoxicológica das amostras de lodo de esgoto

De acordo com os resultados dos testes ecotoxicológicos com *Daphnia similis*, *Lactuca sativa* e *Vibrio fischeri*, expressos em Concentração Efetiva 50% (EC50) e transformados em unidade tóxica (UT), foi calculado o Índice de Perigo de Lodo de Esgoto (IPLE), segundo apresenta a Tabela 5.5.

Tabela 5.5 - Índice de Lodo de Esgoto (IPLE) e respostas dos bioensaios obtidos em seis amostras de lodo do Estado de São Paulo, Brasil, no período de amostragem entre 2010 e 2011

ETE amostrada	<i>Daphnia similis</i> UT	<i>Lactuca sativa</i> UT	<i>Vibrio fischeri</i> UT	Resultados positivos	IPLE
B.de Campos	1,2	2,0	4,7	3	2,2
C. Macedo	11,5	1,6	20	3	3,5
Fartura	7,9	0	49,5	2	4,2
Franca	6,4	6,2		2	2,6
Itaberá	23,4	0	14,1	2	3,3
Sarutaiá	0	1,2	2,7	2	1,3

A faixa de toxicidade obtida para o *Vibrio fischeri* foi a maior, cuja amplitude de variação foi de 2,7 UT a 49,5 UT, seguido de *Daphnia similis* com resultados que variaram de não tóxico a 23,4 UT e por fim, a *Lactuca sativa* com oscilação de não tóxico a 6,2 UT.

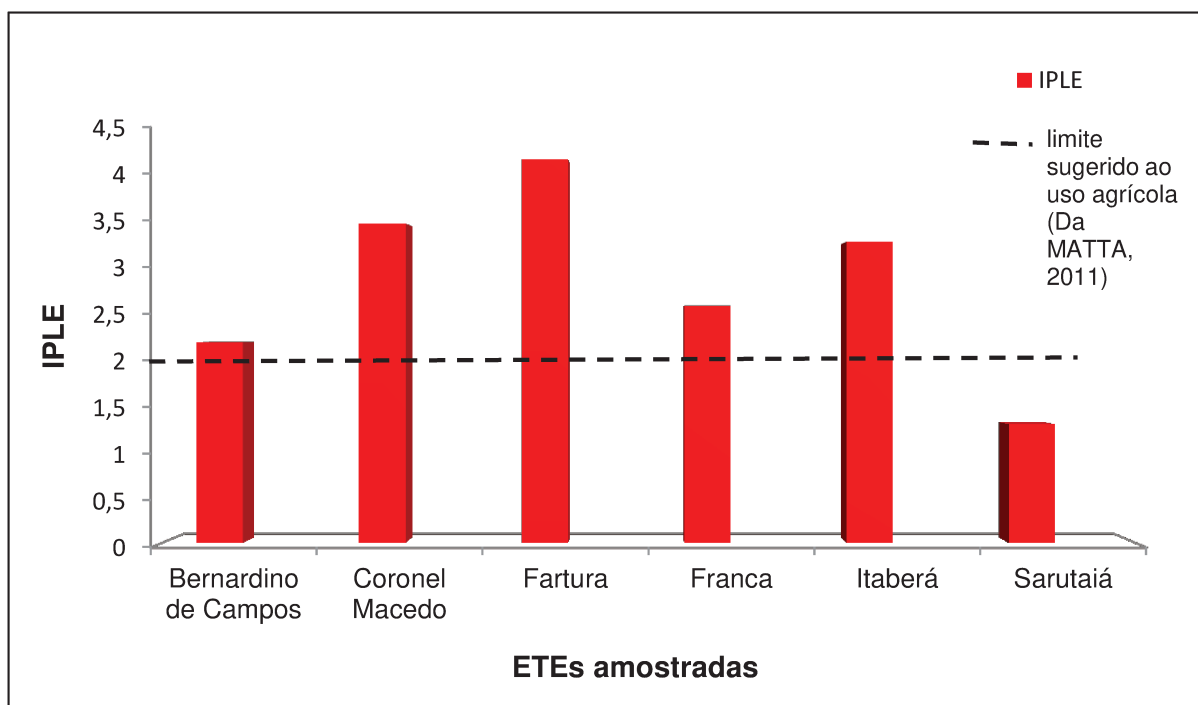
Vibrio fischeri foi o organismo que apresentou maior sensibilidade e suscetibilidade tóxica para todas as amostras de lodo de esgoto e a *Lactuca sativa* foi o organismo menos sensível, tanto que, duas amostras de lodo de esgoto não apresentaram efeito tóxico a esse organismo.

Os organismos testes apresentaram respostas variadas à mesma amostra, por exemplo, para a amostra de lodo de esgoto acondicionado em “BAG” da ETE do município de Itaberá, o organismo mais sensível foi *Daphnia similis*, seguido de *Vibrio fischeri*, e para a *Lactuca sativa* a amostra de lodo não apresentou toxicidade. Em comparação com a amostra de lodo de esgoto acondicionado em “BAG” da ETE do município de Sarutaiá, os organismos-teste também apresentaram sensibilidades diferentes, pois, *Vibrio fischeri* foi o mais sensível, seguido de *Lactuca sativa* e não apresentou toxicidade para a *Daphnia similis*.

Sendo assim, as utilizações dos três organismos-testes para cálculo do IPLE foram consideradas complementares, pois os testes não apresentaram correlação, ou seja, cada organismo apresentou sensibilidade distinta às amostras, não podendo uma espécie ser substituída pela outra. Isso pode ser explicado, pela baixa concentração de metais (abaixo dos valores preconizados pela legislação brasileira) nas amostras do presente estudo.

A Figura 5.5 compara as amostras de lodo de esgoto quanto aos valores obtidos de IPLEs e ao limite sugerido por Da Matta (2011) ao uso agrícola.

Figura 5.5 - Índices de Perigo de Lodo de Esgoto (IPLE) em amostras de seis ETEs do estado de São Paulo, Brasil e o limite sugerido por Da Matta (2011) ao uso agrícola, no período de amostragem entre 2010 e 2011.



Conforme Figura 5.5, pode-se observar que as amostras de lodo de esgoto das ETEs dos municípios de Bernardino de Campos, Coronel Macedo, Fartura, Franca e Itaberá apresentaram $IPLE \geq 2$, ultrapassando o limite sugerido por Da Matta (2011), sendo reprovadas ao uso agrícola.

Já a amostra de lodo de esgoto da ETE do município de Sarutaiá foi a única que apresentou valor de $IPLE < 2$ e, portanto, está apta a ser utilizada na agricultura.

Diversos estudos utilizando testes de toxicidade com *Vibrio fischeri* e *Daphnia similis* apontam a sensibilidade desses organismos em detectar toxicidade em baixas concentrações de metais e compostos orgânicos, evidenciando a necessidade de se relacionar as análises químicas com a ecotoxicologia para harmonizar métodos a serem empregados na classificação de resíduos.

Estudos realizados por Mantis *et al.* (2005) avaliaram o perigo ao ambiente de amostras de lodo de esgoto de duas ETEs (uma com influência predominantemente urbana e a outra industrial) da região Tessalônica, Grécia. Foram realizadas análises químicas de sete bifenilos policlorados (PCBs), 13 hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), carbono orgânico total (COT) e sete metais potencialmente tóxicos (As, Cd, Cr, Cu, Pb, Mn, e Zn) e análises ecotoxicológicas com *Vibrio fischeri* em lodos provenientes de dois procedimentos de lixiviação. Com relação ao seu teor de metais potencialmente tóxicos, ambos os lodos atenderam aos limites para a utilização na agricultura e quanto aos procedimentos de lixiviação, o método EC mostrou maior sensibilidade aos poluentes e apresentou correlação do efeito no *V. fischeri* com as concentrações de PCBs e As no lixiviado. Deste modo, os autores afirmam como promissor o teste com a bactéria *Vibrio fischeri* na complementação da caracterização de lodos de esgoto para uso agrícola.

Seco *et al.* (2003) compararam individualmente a sensibilidade da *Daphnia magna* à vários metais. Os mesmos autores avaliaram uma amostra de lixiviado contaminado por metais referentes à resíduos de processos industriais. Os valores

encontrados foram de CE50 de 0,4 mg L⁻¹ para o Cr, 1,9 mg L⁻¹ para o Cd, 5,5 mg L⁻¹ para o Pb, 5,7 mg L⁻¹ para o As, 10,6 mg L⁻¹ para o Ni e 11,6 mg L⁻¹ para o Zn. Já em relação à sensibilidade do organismo-teste, a concentração dos metais no lixiviado do resíduo não apresentou uma correlação direta, devido a fatores de interferência como o pH.

A utilização de plantas em testes de toxicidade oferece também uma boa correlação com outros bioensaios. Estudos realizados por Valério *et al.*, (2007) em amostra de extrato aquoso de solo contaminado com altas concentrações de Pb, As, Zn, Co e Ni em sementes de *Lactuca sativa* indicaram que as variáveis mais sensíveis foram a taxa de germinação e a necrose radicular, provocando uma redução de 44% e 67%, respectivamente, em relação ao controle (água destilada) e concluíram que o teste pode ser utilizado para caracterizar solos contaminados por poluentes solúveis na água.

Da Matta (2011) relacionou os valores obtidos nos IPLEs de 4 campanhas de amostragem em 7 ETEs do Estado de São Paulo e as concentrações de metais potencialmente tóxicos obtidas nas amostras de lodo, com limites preconizados nas legislações do Brasil (BRASIL, 2006a), dos Estados Unidos (USEPA, 1996) e da União Europeia (COUNCIL, 1986), através do cálculo da frequência percentual (ANC%) de parâmetros não conformes por faixa de IPLE, apresentados na Tabela 5.6.

Tabela 5.6 – Valores obtidos de IPLEs comparados a frequência percentual de não conformidades com as legislações brasileira, americana e europeia

Índice de Perigo de Lodo de Esgoto (IPLE)												
	< 1	1 --2	2 --3	3 --5	< = 2	> 2						
	(n=4)	(n=0)*	(n=9)	(n=1)*	(n=8)	(n=2)*	(n=7)	(n=3)*	(n=13)	(n=1)*	(n=15)	(n=5)*
BRASIL (2006)												
ANC %	0	0	0	0	0	0	71	0	0	0	33	0
EUA/EQ												
ANC %	0	0	0	0	0	0	57	0	0	0	27	0
Diretiva 86/278/EEC												
ANC %	0	0	0	0	25	0	57	0	0	0	40	0

n = número de amostras no intervalo

* resultados obtidos pela autora

FONTE: adaptado de Da Matta (2011).

De acordo com os resultados obtidos por Da Matta (2011), 33% das amostras que tiveram índices acima de 2 estavam em não conformidade com os limites de substâncias químicas preconizados por Brasil (2006a).

Em relação à norma da USEPA (1993), menos restritiva que a brasileira, 27% das amostras que estavam em não conformidade apresentaram índices superiores a 2 e em 57% destas os índices foram superiores a 3.

Para a Directiva Europeia (COUNCIL, 1986), por apresentar limites mais restritivos para cobre e níquel, houve reprovação de 40% das amostras para uso agrícola, sendo que 57% estavam com índices entre 3 e 5.

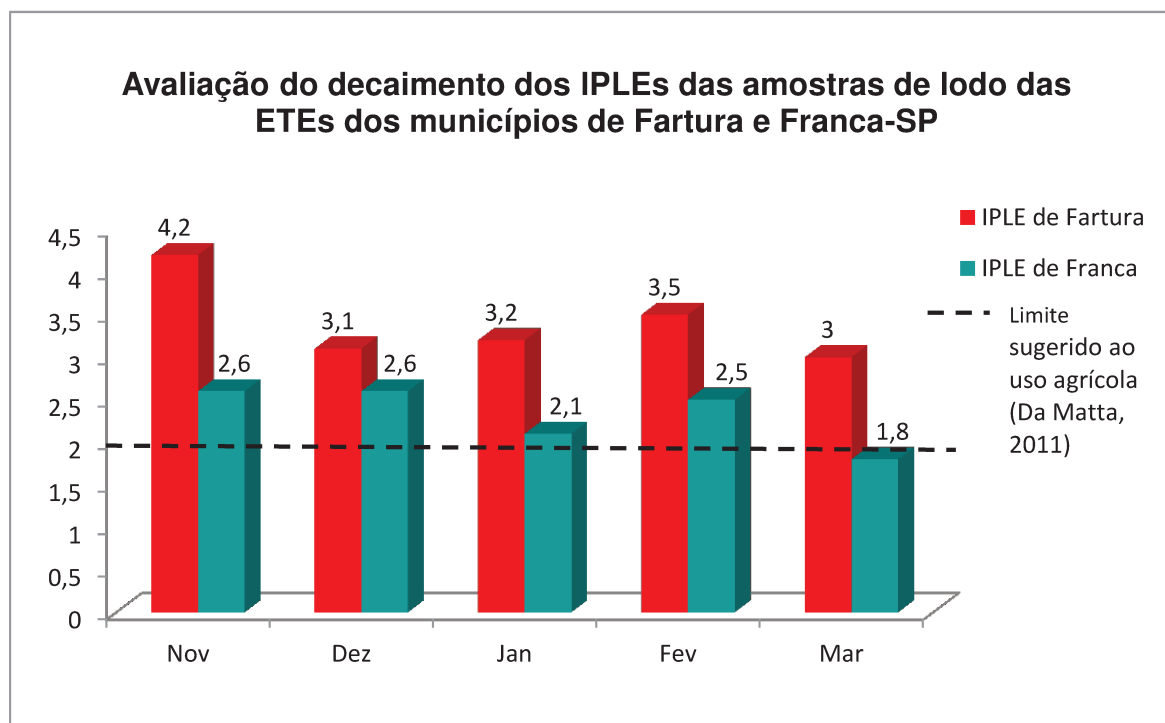
Em relação às amostras de lodo de esgoto analisadas neste trabalho, não apresentaram concentrações de metais potencialmente tóxicos superiores aos limites preconizados pelas legislações brasileira, americana e europeia. Desta forma, outros

compostos tóxicos presentes nas amostras podem ter contribuído aos efeitos obtidos nos indicadores que compõem o IPLE.

5.3 Avaliação do decaimento do IPLE nas amostras de lodo de esgoto das ETEs dos municípios de Fartura e Franca.

Considerando que a maioria das amostras de lodo de esgoto teve IPLEs superiores a 2, foi avaliado se haveria o decaimento dos IPLEs para as amostras de lodo de esgoto das ETEs dos municípios de Fartura e Franca-SP durante cinco meses de acondicionamento em recipientes de polietileno (Figura 5.6).

Figura 5.6 - Avaliação dos IPLEs das amostras de lodo das ETEs dos municípios de Fartura e Franca - SP durante 5 meses de acondicionamento entre os anos de 2011 e 2012.



Conforme apresentado na Figura 5.6, foi possível verificar em ambas amostras, que não houve um decaimento linear entre os meses analisados. Isso pode ter sido ocasionado pelas reações bioquímicas nas amostras expostas às variações climáticas.

Decorridos cinco meses de armazenamento das amostras de lodo de esgoto, foi possível verificar uma redução de aproximadamente 30% nos valores iniciais de IPLEs e segundo o limite sugerido por Da Matta (2011), a amostra de lodo da ETE do município de Franca se tornou apta ao uso agrícola. Entretanto, a amostra de lodo da ETE do município de Fartura ainda apresenta IPLE superior a 2, não podendo ser utilizada como insumo agrícola.

A Tabela 5.7 apresenta a aptidão das amostras de lodo de esgoto considerando os limites estabelecidos por Brasil (2006a) e o sugerido por Da Matta (2011).

Nessa tabela “0” significa que o resultado analítico obtido mostrou-se abaixo (conformidade) aos limites preconizados por Brasil (2006a) ou por Da Matta (2011) e o “1”, que estava acima (não conformidade).

Tabela 5.7 - Aptidão das amostras de lodo de esgoto ao uso agrícola

Municípios amostrados	Parâmetros preconizados por Brasil (2006)	IPLE
B. de Campos	0	1
C. Macedo	0	1
Fartura	0	1
Franca	0	0
Itaberá	0	1
Sarutaia	0	0

As amostras de lodo de esgoto que apresentaram conformidades aos limites preconizados por Brasil (2006a) e ao sugerido por Da Matta (2011) e estão aptas ao uso agrícola foram a amostra de lodo de esgoto acondicionado em “BAG” da ETE do município de Sarutaiá e a amostra da ETE do município de Franca após ser acondicionado por 5 meses em recipientes de polietileno.

Já as amostras de lodo de esgoto das ETEs dos municípios de Bernardino de Campos, Coronel Macedo, Fartura e Itaberá, foram restritas ao uso agrícola pelo limite sugerido por Da Matta (2011). Isso comprova a importância de se investigar outras substâncias químicas que não apresentam limites preconizados em Brasil (2006a) e causam efeitos adversos aos organismos-teste.

5.4 Controle da sensibilidade dos organismos-teste às substâncias de referências

Em paralelo aos ensaios ecotoxicológicos com amostras de lodo de esgoto foram realizados testes com substâncias de referência para controle da sensibilidade dos organismos que visam assegurar a qualidade e a reprodutividade, garantindo a validação dos mesmos (ZAGATTO, 2006).

Foram utilizadas como substâncias de referência o Cloreto de Sódio para *Daphnia similis* (BRASIL, 2009) e o Sulfato de Zinco para *Lactuca sativa* (U.S.EPA, 1996) e *Vibrio fischeri* (CETESB, 2001), cujos resultados estão apresentados nas Figuras 5.7, 5.8 e 5.9.

Figura 5.7 - Teste de sensibilidade do organismo *Daphnia similis* ao Cloreto de Sódio

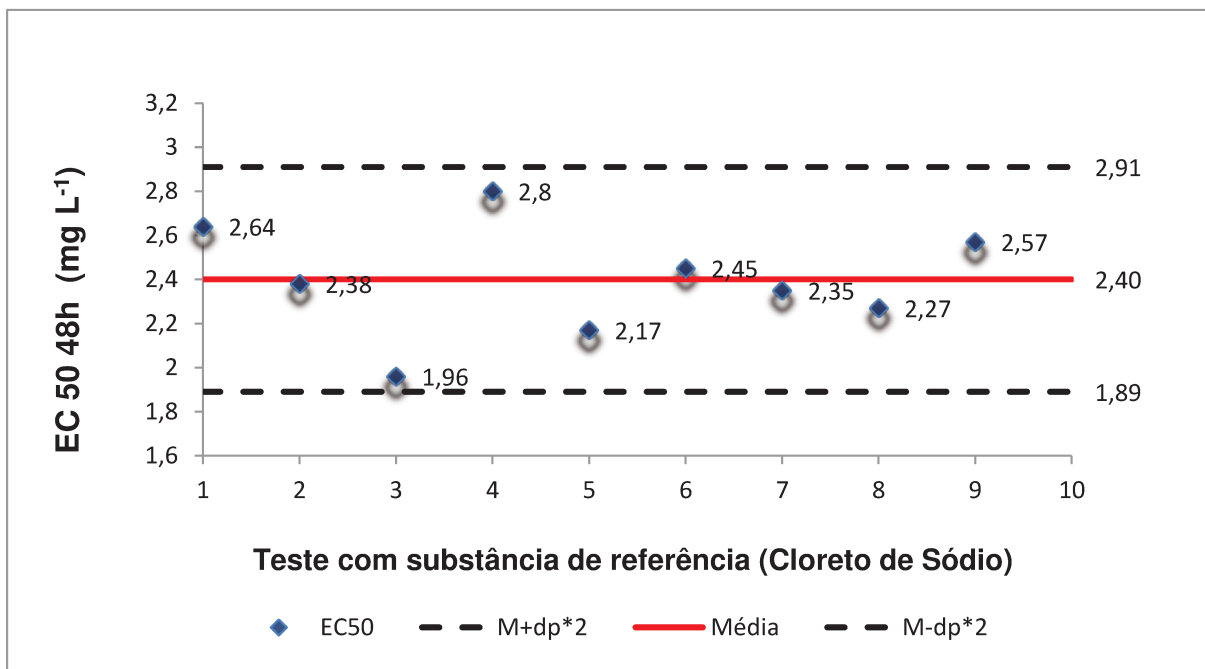


Figura 5.8 - Teste de sensibilidade da semente *Lactuca sativa* ao Sulfato de Zinco

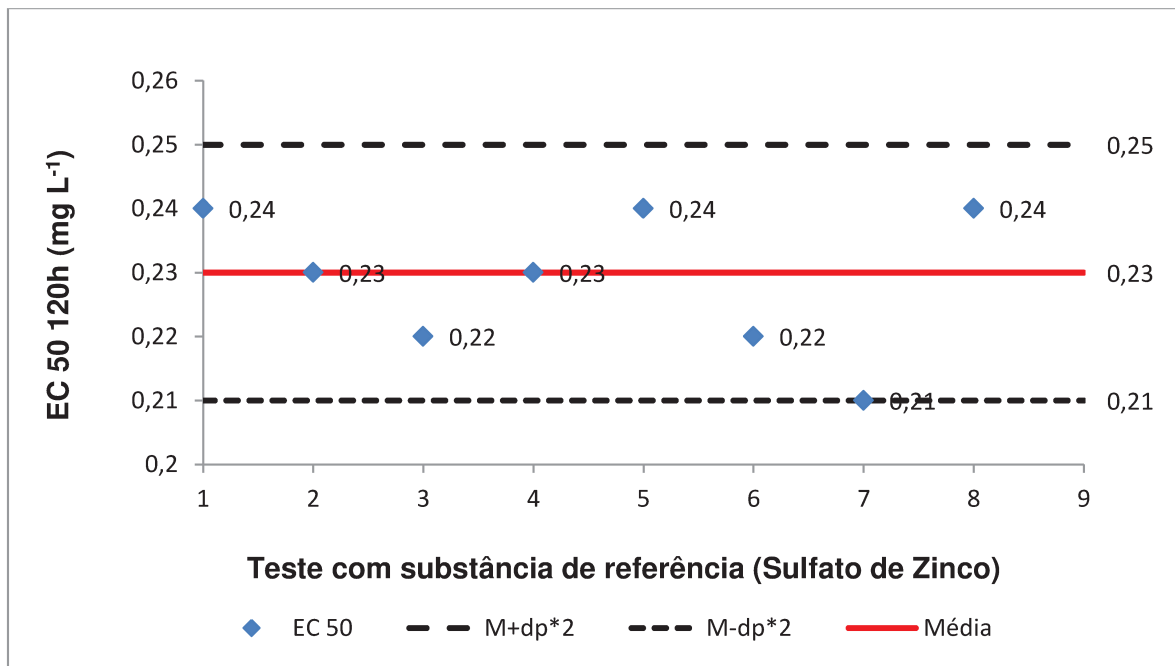
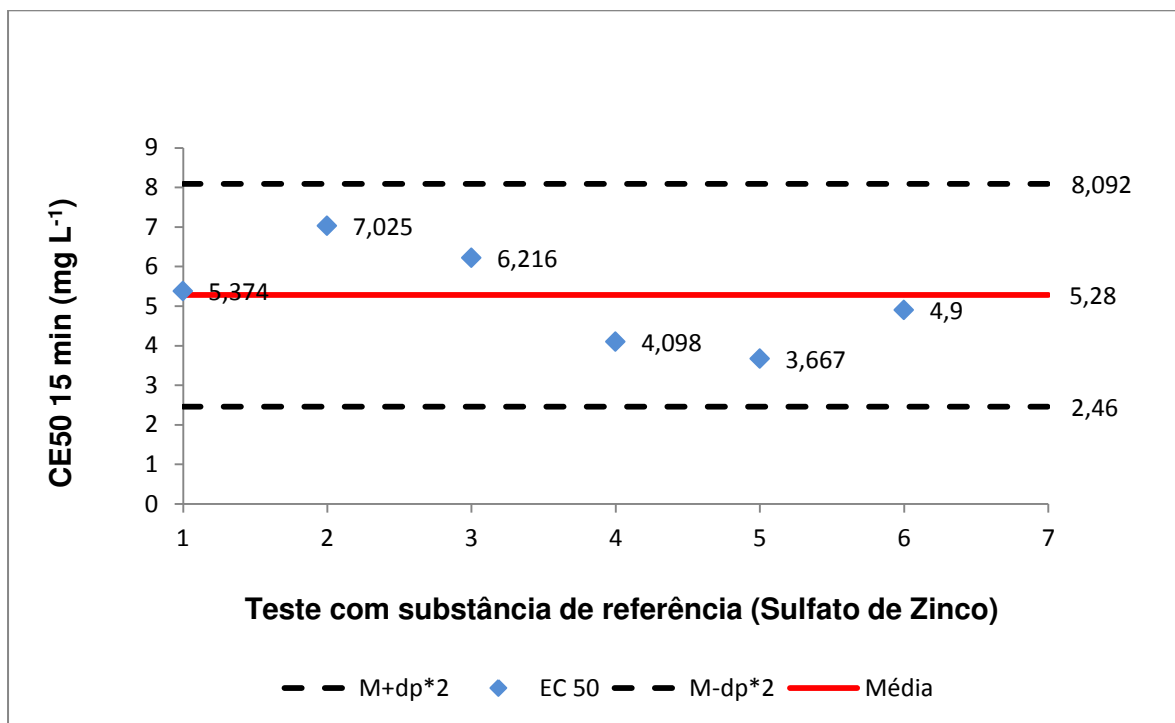


Figura 5.9 - Teste de sensibilidade da bactéria *Vibrio fischeri* ao Sulfato de Zinco



As diferenças nos coeficientes de variação de cada organismo-teste utilizado nos ensaios ecotoxicológicos podem ser explicadas por fatores como: utilização de diferentes lotes de sementes de *Lactuca sativa* e de bactérias *Vibrio fischeri* e variação na quantidade de sais de cada recipiente de água mineral, utilizada no cultivo do organismo *Daphnia similis*.

5.5 Fatores de interferência nos testes ecotoxicológicos

5.5.1 Processamento das amostras

O preparo das amostras utilizadas nos testes ecotoxicológicos envolveu a extração aquosa dos lodos de esgoto, através da metodologia adaptada proposta por Mathews e Hastings (1987).

Em comparação à metodologia preconizada pela ABNT (BRASIL, 2004) para classificar os resíduos de acordo com a lixiviação e solubilização, esse método possui tempo de agitação superior e tempo de repouso inferior, possibilitando uma condição extrema de solubilização às substâncias hidrossolúveis, mas não contempla os compostos orgânicos pouco solúveis, apesar de parte estar presente na matéria orgânica dissolvida (Da MATTA, 2011).

5.5.2 Interferentes nos testes ecotoxicológicos

Alguns fatores podem interferir na resposta dos organismos-testes como: pH, temperatura, luz, salinidade, oxigênio dissolvido e contaminantes naturais do tipo amônia, nitrito e sulfetos de nitrogênio. A Tabela 5.8 apresenta os resultados desses fatores de mascaramento apontados durante a caracterização toxicológica realizada pela CETESB e utilizada por Da Matta (2011)

Tabela 5.8 - Parâmetros que devem ser atendidos para não ocorrer interferência nos resultados de ensaios ecotoxicológicos com *V. fischeri* e *D. magna*

Ensaio	pH	O ₂ (% sat)	Nitrito (mg L ⁻¹)	Amônia (mg L ⁻¹) (°C.pH, sal)	Sulfeto (mg L ⁻¹)	Cl (g L ⁻¹)	Condutividade (µS mm ⁻¹)	Salinidade (‰)
<i>Vibrio fischeri</i>	6-8,5	>30	<70	<1000 (15,8,32)	<3,3	<20	<4600	18-35
<i>Daphnia similis</i>	5,5-9,5	>20	<10	<60 (20,7,5,nm)	<2,8	<650	-	-

FONTE: Postma *et al*, (2001) *apud* Da Matta (2011).

Neste trabalho, para a realização dos testes ecotoxicológicos houve o controle e adequação do pH, OD e salinidade para *Vibrio fischeri* e OD e pH para *Daphnia similis*, sendo que os interferentes sulfeto, nitrito, amônia e cloro não foram mensurados nos extratos aquosos das amostras de lodo de esgoto, assim, são fatores de incertezas.

O extrato aquoso da amostra de lodo de esgoto da ETE do município de Franca - SP apresentou alta cor e turbidez, que, segundo Umbuzeiro (2004), é considerado um parâmetro de interferência no teste com a bactéria *Vibrio fischeri*. Deste modo, não foi utilizado na composição do cálculo do IPLE.

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nesse trabalho, foi possível concluir:

Quanto à avaliação física, química, biológica e o potencial agrônômico:

- Todas as amostras de lodo de esgoto estavam em conformidade aos limites de metais potencialmente tóxicos preconizados pelas legislações CONAMA 375 (BRASIL, 2006a), 40 CFR Part 503 (USEPA,1993) e Directiva 86/ 276/EEC (COUNCIL, 1986);
- Todas as amostras de lodo de esgoto apresentaram conformidades aos limites preconizados por Brasil (2006a) para os parâmetros biológicos (coliformes termotolerantes, *Salmonella sp* e ovos viáveis de helmintos), classificando-as como lodo de classe A, aptas ao uso agrícola e;
- Todas as amostras apresentaram-se estáveis e com características físicas e químicas semelhantes a valores obtidos em outras pesquisas, indicando potencial agrônômico a serem utilizadas em culturas como de café, eucalipto e cana-de-açúcar.

Quanto aos testes ecotoxicológicos e ao IPLE:

- Os organismos-teste (*Daphnia similis*, *Lactuca sativa* e *Vibrio fischeri*) apresentaram sensibilidade distinta, tanto à mesma amostra quanto em

amostras diferentes, provavelmente em razão da baixa concentração de metais potencialmente tóxicos.

- A escolha dos organismos-teste demonstrou ser em complementares para se estabelecer o IPLE, entretanto, é importante a análise crítica da magnitude de interferentes ao efeito tóxico;
- De acordo com os limites preconizados pela legislação brasileira (Brasil 2006a) e o limite sugerido para o IPLE (Da MATTA, 2011), a amostra de lodo de esgoto da ETE do município de Sarutaiá atende a ambos e está apta a ser utilizada na agricultura;
- Após cinco meses de acondicionamento em recipiente de polietileno, houve o decaimento da toxicidade da amostra de lodo de esgoto da ETE do município de Franca, atendendo ao limite sugerido para o IPLE (Da MATTA, 2011), estando apta ao uso agrícola;
- A utilização do IPLE baseado em testes ecotoxicológicos se constituiu em uma importante ferramenta complementar na caracterização inicial do lodo para sua liberação e disposição no solo, na tentativa de proporcionar maior segurança aos integrantes da cadeia alimentar que deverão utilizar os recursos originados do ambiente agrícola onde foi utilizado o biossólido.

7 RECOMENDAÇÕES

- Investigar e quantificar a presença de compostos orgânicos e outras substâncias potencialmente tóxicas, tanto na amostra “*in natura*”, quanto no extrato aquoso, acrescentando informações na avaliação do perigo da amostra.
- Avaliar se a compostagem é uma técnica viável a ser utilizadas para adequar as amostras de lodo que apresentaram não conformidade aos limites preconizados pela legislação e/ou sugerido por Da Matta.
- Avaliar, desde o início do acondicionamento, após quanto tempo as amostras de lodos de esgoto tornam-se viáveis a serem utilizadas na agricultura, por meio de análises físicas, químicas, biológicas e ecotoxicológicas que compõem os limites preconizados por Brasil (2006a) e o limite sugerido por Da Matta (2011).
- Realizar testes ecotoxicológicos com outras amostras de lodos de esgoto de diferentes ETEs, utilizando metodologias diferentes, aprimoradas ou iguais às empregadas neste trabalho e por Da Matta (2011), visando, à validação e aplicação do IPLE.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT NBR 12713. **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp* (Cladocera, Crustácea)**. Rio de Janeiro. 2009.

ABNT NBR 10006. **Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos**. Rio de Janeiro. 2004.

AGUSTINI, D.; ONOFRE, S.B. **Caracterização físico-química e microbiológica do lodo de esgoto produzido pela estação de tratamento de esgoto (ETE) de Pato Branco – PR**. Revista de Biologia e Saúde da UNISEP – ISSN: 1982-2774. Biology & Health Journal. v.1, n.1, 2. 2007.

ANA - Agência Nacional de Águas (Brasil). **Athas Brasil: abastecimento urbano de água nacional**. Brasil.v.1.2010.

ANDREOLI, C. V. (Coord.). **Uso e manejo do lodo de esgoto na agricultura**. Curitiba: SANEPAR, Projeto PROSAB, 1999. 98 p.

ANDREOLI, C.; SPERLING, M.V.; FERNANDES, F. **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte. Curitiba: DESA-UFMG, SANEPAR, 2001.

APHA/AWWA/WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21^a ed. Washington: American Public Health Association. 1082p. 2005.

BARBERO, P.; BELTRAMI, M.; BAUDO, R.; ROSSI, D. **Assessment of Lake Orta sediments phytotoxicity after the liming treatment.** J. Limnol. 2001.

BARBOSA, G.M.; FILHO, J.T. **Uso agrícola do lodo de esgoto: influência nas propriedades químicas e físicas do solo, produtividade e recuperação de áreas degradadas.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 27, n. 4, p. 565-580, 2006.

BASTOS, K.V. **Detecção e quantificação de ovos viáveis de Ascaris sp e ovos de outros helmintos em lodo de esgoto.** Tese (Mestrado) – Escola Politécnica da Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Saúde Pública. São Paulo. 2012. 82p.

BERTOLETTI, E. **Controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no Estado de São Paulo.** São Paulo: CETESB, 2008.

BETTIOL, W.; CAMARGO O.A. **Lodo de Esgoto: Impactos Ambientais na Agricultura.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006.

BOEIRA, R.C.; LIGO, M.A.V.; DYNIA, J.F. **Mineralização de nitrogênio em solo tropical tratado com lodos de esgoto.** Pesquisa agropecuária brasileira. Brasília, v. 37, n.11, p. 1639-1647, nov.2002.

BRASIL. Presidente do Conselho Nacional do Meio Ambiente. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução Nº 430 de 13 de maio de 2011.** Diário Oficial da União, Brasília (DF), 2011.

BRASIL. Presidente do Conselho Nacional do Meio Ambiente. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução Nº 375 de 29 de agosto de 2006.** Diário Oficial da União, Brasília (DF), 2006a. 30 ago. Seção n.167, seção 1, p.141-146.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa SDA Nº 27**. Diário Oficial da União, Brasília (DF), 2006b 09 jun. n 110, seção 1, p.15-16.

BRASIL. **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. Diário Oficial da União, Brasília (DF), 2010. n 147, Seção 1, p.3.

BULLICH, A. A. **Use of luminescent bacteria for determining toxicity in aquatic environment**. In Aquatic Toxicology (L. L. Markings and R. A. Kimerie, Eds), pp. 97 – 105. ASTM, Philadelphia. 1979.

CABARET, J. **The use of urban sewage sludge on pastures: the cysticercosis threat**. Veterinary Research, v. 33, n. 5, p. 575-597, 2002.

CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S. **Métodos de análises químicas, mineralógica e física de solos do Instituto Agrônomo de Campinas**. Campinas: Instituto Agrônomo. 1986. 94p. (Boletim técnico, 106).

CARNEIRO, C.; SOTTOMAIOR, A.P.; ANDREOLI, C.V. **Dinâmica de nitrogênio em lodo de esgoto sob condições de estocagem**. Revista Brasileira de Ciências do Solo, 29:987-994, 2005.

CETESB L5.018. **Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*: método de ensaio**. São Paulo, 1994.

CETESB, L5.227. **Teste de toxicidade com a bactéria luminescente *Vibrio fischeri*: método de ensaio**. São Paulo, 2001.

COSCIONE, A. R.; NOGUEIRA, T.R.; PIRES, A.M.M. **Uso agrícola de lodo de esgoto: avaliação após a resolução nº 375 do CONAMA**. Botucatu: Ed. FEPAF, 2010. 407p.

COSTA, C.R.; OLIVI, P.; BOTTA, C.M.R.; ESPINDOLA, E.L.G.. **A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação.** Química Nova. vol.31, n.7, pp. 1820-1830, 2008.

COUNCIL, Directive 86/278/EEC de 12 Junho de 1986. **The protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture.** 1986.

Da MATTA, M. E. M. **Índice de perigo para subsidiar a aplicação de lodo de esgoto em solo agrícola [tese].** São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011. 100p.

DOMINGUES, D.F. & BERTOLETTI, E. **Seleção, Manutenção e Cultivo de Organismos Aquáticos.** In: Zagatto, P.A. & Bertoletti, E. Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações. Ed. Rima. São Carlos, 2006.

DUTKA, B.J. **Methods for microbiological and toxicological analysis of waters, wastewaters and sediments.** Ottawa: National Water Research Institute Environmental Canada, 1997.

EMBRAPA. **Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627p.

FIXEN, P. E. **Reservas mundiais de nutrientes dos fertilizantes.** Informações Agronômicas, IPNI, Piracicaba. N°. 126, 2009, p. 8-14.

FOWLER, J., DUKE, M., SCHMIDT, M.L., CRABTREE, B., BAGBBY, R.M., TRAINER, E. **Dewatering sewage sludge and hazardous sludge with geotextile tubes.** GEOSYNTHETICS - 7TH ICG, 2002, Nice. Anais...Nice, 2002. p. 1007-1012.

FRANÇA, J. T. L. **Remoção de lodo de lagoa facultativa: avaliação quantitativa e qualitativa do lodo acumulado e seu acondicionamento em bag.** Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP. 2010. 149p.

HAANDEL, A.; SOBRINHO, P.A. **Produção, Composição e Constituição de Lodo de Esgoto.** In: ANDREOLI, C.V. (coordenador). Alternativas de Uso de resíduos do saneamento. Rio de Janeiro: ABES. Projeto PROSAB. 2006. 417p.

HARRISON, E. Z. **Organic Chemicals in Sewage Sludges.** Science of the Total Environment. v. 367, 2006.

HERNANDO, M.D.; FERNÁNDEZ-ALBA, A.R.; TAULER, R.; BARCELÓ D. **Toxicity assays applied to wastewater treatment.** Talanta, Volume 65, Issue 2, 30 January 2005, Pages 358-366.

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa nacional de saneamento básico 2008.** Rio de Janeiro: IBGE; 2010 p. 219.

JENNINGS, V. L. K.; RAYNER-BRANDES, M. H.; BIRD, D. **Assessing chemical with the bioluminescent photobacterium (*Vibrio fischeri*): a comparison of three commercial systems.** Chemosphere, 1999.

LEAL, G. C. S.; FARIAS, M. S.S.; ARAUJO, A. F. **O progresso de industrialização e seus impactos no meio ambiente urbano.** QUALIT@S Revista Eletrônica. ISSN 1677-4280 v.7.n.1. Ano 2008.

MALDONADO, C.A.B. **Fertilidade do solo, nutrição e crescimento de plantas de eucalipto ao longo de 46 meses após aplicação de lodo de esgoto.** Tese (Doutorado). Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2009. 116p.

MANTIS I, VOUTSA D, SAMARA C. **Assessment of the environmental hazard from municipal and industrial wastewater treatment sludge by employing chemical and biological methods.** *Ecotoxicol.* 2005; v.62, n.3, pp. 397-407.

MARTINS, D. R.; CAMARGO, O. A. BATACLIA, O. C. **Qualidade do grão e da bebida em cafeeiros tratados com lodo de esgoto.** *Bragantia.* 2005, vol.64, n.1, pp. 115-126. ISSN 0006-8705.

MATTHEWS, J.E.; HASTINGS, L., **Evaluation of Toxicity Test Procedure for Screening Treatability Potencial of Waste in Soil.** *Toxicity Assessment: An Internation Quaterly*, v.2, p. 265-281, 1987.

MELO, W. J.. **A resolução Conama 375 e os metais pesados.** In: COSCIONE, A. R.; NOGUEIRA, T.R.; PIRES, A.M.M. *Uso agrícola de lodo de esgoto: avaliação após a resolução nº 375 do CONAMA.* Botucatu: Ed. FEPAF, 2010. 407p.

MELO, W.J.; MARQUES, M.O. **Potencial do lodo de esgoto como fonte de nutrientes para as plantas.** In: BETTIOL, W. CAMARGO, O.A. *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto.* Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

MELO, L.C.Q.C; RIBEIRO, J.A.M.; CASTRO, N.P.B. **Uso de tubos de geotêxtil para desidratação de lodo gerado em estação de tratamento de esgoto por processo de lodos ativados – ETE Limoeiro.** In: Encontro técnico AESABESP, 2008. Disponível em: <ftp://ftp.optimale.com.br/Fenasan2008/PAP0081.pdf>. Acesso em 05 de junho de 2012

MORALES, G. C. (ed). **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones.** México: IMTA, 2004. 172p.

MOTA, F.S.B.; VON SPERLING, M. (coord.) **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. Rio de Janeiro: ABES, 2009.

NAVARRO I, JIMÉNEZ B, CIFUENTES E, LUCARIO S. **Application of helminth ova infection dose curve to estimate the risks associated with biosolid application on soil**. *Journal of Water and Health*. 2009; v. 7, n.1, p: 31-44.

OLIVEIRA, F. C.; MATTIAZZO, M.E. **Metais pesados em latossolo tratado com lodo de esgoto e em plantas de cana-de-açúcar**. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, 2001, v. 58, p.581-593.

PARVEZ, S., VENKATARAMAN, C. & MUKHERJI, S. **A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals**. *Environ. Int.*, 2005, v.32. p: 265-268.

PESQUISA FAPESP. **Linha de Produção: Lodo substitui adubo mineral**. Revista Edição 173. Disponível em: <<http://www.revistapesquisa.fapesp.br/index.php?art=6591&bd=2&pg=1&lg=>>. Acesso em 29 de julho de 2011.

PIEPER, K. M. C. **Avaliação do uso de geossintético para o deságüe e geocontenção de resíduos sólidos de estação de tratamento de água**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS. 2008.143p.

RAND, G. M. **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment**. 2nd edition. North Palm Beach, Florida:Taylor e Francis. 1995. 1125p.

RAIJ, van B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: IAC, 1996 (Boletim Técnico, 100).

RAIJ, van B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: IAC, 2001. 285p.

REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem dos trópicos ocidentais**. 4^o ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

ROCHA, O.; GÜNTZEL, A. **Crustáceos Branquiópodos**. In: JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Orgs.). Biodiversidade do estado de São Paulo. Síntese do conhecimento ao final do século XX. (Vol 4: Invertebrados de Água Doce). FAPESP, São Paulo, pags. 107-120, 1999.

SABESP. Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. Disponível em: www.sabesp.com.br. Acessado em: 15/03/2012.

SCHOWANEK, D. *et al.*, **A risk-based methodology for deriving quality standards for organic contaminants in sewage sludge for use in agriculture: conceptual framework**. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2004, v. 40, p.227-251.

SECO JI, FERNÁNDEZ-PEREIRA C, VALE J. **A study of the leachate toxicity of metal-containing solid wastes using *Daphnia magna***. Ecotoxicol. Environ. Saf. 2003; 56(3): 339-350.

SHAW JR, *et al.* **Daphnia as an emerging model for toxicological genomics**. Advances in Experimental Biology. H. Christer e K. Peter: Elsevier, Vol. 2, 2008; p. 165-219, 327-328.

SILVA, N. B. **Desenvolvimento de testes de toxicidade em sementes de flores para avaliação do uso de percolado de aterro na irrigação de jardins.** Trabalho de Graduação Interdisciplinar. Faculdade de Tecnologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP. 2007. 94p.

TASSO JUNIOR, L. C. *et al.* **Produtividade e qualidade de cana-de-açúcar cultivada em solo tratado com lodo de esgoto, vinhaça e adubos minerais.** *Eng. Agríc.* 2007, vol.27, n.1, pp. 276-283. ISSN 0100-6916.

TSUTIYA, M.T. *et al.*; **Biossólidos na agricultura.** São Paulo: ABES/SP, 2002. 468 p.

UMBUZEIRO, G. A. & RODRIGUES, P. F. **O teste de toxicidade com bactérias luminescentes e o controle da poluição. Informativo técnico publicado pela CETESB.** Ano 4 – nº 007. 2004.

UMBUZEIRO, G. A. **Implantação e validação de métodos para avaliação toxicológica de lodos de esgoto doméstico.** In CETESB, Atualização e Aperfeiçoamento de Metodologias Analíticas. Relatório Final. São Paulo; 2009. 70p.

UN-HABITAT – **United Nations Human Settlements Programme. Global Atlas of excreta, wastewater sludge, and biosolids management: Moving forward the sustainable and welcome uses of a global resource.** Nairobi, KE; 2008.

USEPA United States Environmental Protection Agency. **Technical Support Document for Land Application of Sewage Sludge,** Vol. I. U. S. E. P. A. Prepared for Office of Water. Washington, DC, Eastern Research Group, Lexington, MA, 1992a.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. **Standards for the use or disposal of sewage sludge: final rule.** Federal Regulation, 58. 32: 9248–9415, 1993.

USEPA United States Environmental Protection Agency - **Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.4200 – Seed germination / Root Elongation Toxicity Test**. P.a. T. S. Prevention. Washington D.C., USEPA: 6, 1996.

USEPA, 40CFR 503,1993. **Code of Federal Regulations (CFR), Title 40, Part 503, Standards for the Use Disposal of sewage Sludge**. Disponível em <<http://ecfr.gpoaccess.gov/>>. Acesso em: junho/2011.

USEPA. **Ecological Effects Teste Guidelines OPPTS 850.4200 – Seed Germination / Root Elongation Toxicity Teste**. Washington, DC, USA. 1996.

VALERIO ME, GARCÍA JF, PEINADO FM. **Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on a bioassay with lettuce (*Lactuca sativa L.*)**. Sci. Total Environ. 2007; v.378, n.1-2, p: 63-66.

VIDAL, D.; FABRIN. T. W.; MONTEZ, F. T. **O conceito de fatores de redução aplicados às propriedades dos geossintéticos**. In: GEOSSINTÉTICOS 99 . Out., 1999, Rio de Janeiro.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**.- 3. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais. Volume 1. 2005. 452 p.

VON SPERLING, M. **Lodo de esgoto: tratamento e disposição final**. 3. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais. Volume 6. 2001. 484 p.

WHO. **O abastecimento de água, o saneamento e o uso de águas residuárias**. Em: <http://www.who.int>. Acessado em 18/08/2011.

WORLD BANK. Disponível em: <http://www.worldbank.org/pt/country/brazil>. Acessado em 16/06/2012.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: Rima; 2008. 486 p.

ZAGATTO, P. A. **Ecotoxicologia**. In: Zagatto, P.A. & Bertoletti, e. Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações. Ed. Rima. São Carlos, 2006. p. 153 – 184.