



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)**

**APROVEITAMENTO DO LODO DE ETA: BIODEGRADABILIDADE E
IMPLICAÇÕES ECOTOXICOLÓGICAS**

JOSSANDRA ENDYARA DOS SANTOS

**Rio Claro – SP
2023**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)**

**APROVEITAMENTO DO LODO DE ETA: BIODEGRADABILIDADE E
IMPLICAÇÕES ECOTOXICOLÓGICAS**

JOSSANDRA ENDYARA DOS SANTOS

Orientadora: Profa. Dra. Dânia Elisa Christofolletti Mazzeo Morales

Coorientadora: Profa. Dra. Dejanira de Angellis

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências do Câmpus
de Rio Claro, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre
em Biologia Celular, Molecular e
Microbiologia.

**Rio Claro – SP
2023**

S237a Santos, Jossandra Endyara dos
Aproveitamento do lodo de ETA: biodegradabilidade e implicações ecotoxicológicas / Jossandra Endyara dos Santos. -- Rio Claro, 2023
100 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientadora: Profa. Dra. Dânia Elisa Christofolletti Mazzeo Morales
Coorientadora: Profa. Dra. Dejanira de Angellis

1. Resíduos sólidos orgânicos. 2. Resíduos sólidos orgânicos. 3. Biodegradação. 4. Bioestimulação. 5. Fitotoxicidade. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Este estudo contribui para o gerenciamento adequado de resíduos orgânicos provenientes das agroindústrias e também do lodo gerado no processo de tratamento de água, o qual, geralmente, é descartado em rios, causando poluição e prejudicando a vida aquática. Além disso, este trabalho buscou criar um processo efetivo de aproveitamento, detoxificação e biotransformação do lodo de ETA (Estação de Tratamento de Água), que possa ser utilizado em larga escala para produção de um fertilizante orgânico de baixo risco ambiental e com elevada ação fertilizante. Sendo o Brasil um país prioritariamente agrícola e altamente dependente da importação de fertilizantes, a produção nacional desse insumo acarretaria na diminuição de custos da produção, favorecendo diretamente o produtor agrícola e o mercado consumidor. Adicionalmente, espera-se contribuir para avanços significativos na área de recuperação ambiental, agricultura sustentável, água potável e saneamento, produção responsável e proteção da vida terrestre, colaborando com os objetivos de desenvolvimento sustentável da Agenda 2030 propostos pela ONU.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This study contributes to the proper management of organic waste from agroindustries and also the sludge generated in the water treatment process, which is usually discarded in rivers, causing pollution and harming aquatic life. In addition, this work aimed to create an effective process for the use, detoxification, and biotransformation of ETA sludge, which can be used on a large scale for the production of organic fertilizer with low environmental risk and high fertilizing action. As Brazil is primarily an agricultural country and highly dependent on fertilizer imports, domestic production of this input would lead to a reduction in production costs, directly favoring agricultural producers and the consumer market. Additionally, it is expected to contribute to significant advances in the area of environmental recovery, sustainable agriculture, drinking water and sanitation, responsible production and protection of life on earth, collaborating with the sustainable development objectives of the 2030 Agenda proposed by the UN.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: APROVEITAMENTO DO LODO DE ETA: BIODEGRADABILIDADE E IMPLICAÇÕES ECOTOXICOLÓGICAS

AUTORA: JOSSANDRA ENDYARA DOS SANTOS

ORIENTADORA: DÂNIA ELISA CHRISTOFOLETTI MAZZEO MORALES

COORIENTADORA: DEJANIRA DE FRANCESCHI DE ANGELIS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências Biológicas, área: Diversidade Biológica e Biologia Ambiental pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. DÂNIA ELISA CHRISTOFOLETTI MAZZEO MORALES (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia e Produção Vegetal e Animal / UFSCar



Profa. Dra. ELIS MARINA TURINI CLARO (Participação Virtual)
Departamento de Microbiologia / UNOESTE



Prof. Dr. MATHEUS MANTUANELLI ROBERTO (Participação Virtual)
UNIARARAS / Centro Universitário Hermínio Ometto

Rio Claro, 02 de março de 2023

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus.

À professora Dânia, orientadora, e à professora Dejanira, co-orientadora, por acreditarem em mim, mesmo com todos os desafios enfrentados, pela confiança, disposição, paciência e todos os ensinamentos. Obrigada por me ajudarem a realizar esse sonho.

Agradeço à Dilza, que várias vezes se dispôs a me ajudar tanto na parte prática, como na escrita. Ao Zito, Ralyvan, Matheus, Thomaz, por todo auxílio e cooperação no meu trabalho.

À minha família, que muitas vezes veio até Rio Claro para cuidar do meu filho enquanto eu estava no laboratório, sempre me apoiando e incentivando. E em especial meu filho, Kaynan, a quem não meço esforços para propiciar uma educação com qualidade.

Agradeço aos gestores, diretores e operadores do Departamento Autônomo de Água e Esgoto (DAAE) de Rio Claro, por doarem a amostra de lodo para o projeto.

À UNESP, pela infraestrutura para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Obrigada!

RESUMO

Devido às atividades antrópicas, a qualidade das águas dos mananciais está cada vez mais comprometida. Então, antes da água ser distribuída aos seus consumidores, ela precisa passar por um processo de tratamento que visa eliminar as impurezas que podem oferecer risco à saúde pública. Durante esse tratamento, é gerado um resíduo (lodo de ETA), resultado das etapas de coagulação e filtração. Geralmente, este resíduo é constituído de microrganismos, algas, materiais suspensos, matéria orgânica, compostos orgânicos, minerais e, também, alta concentração de ferro ou alumínio, por causa do coagulante utilizado na etapa de coagulação. Como o lodo é produzido em larga escala, pois está relacionado com a demanda de água potável, há uma preocupação em encontrar um descarte adequado, ou seja, que não ofereça risco de contaminação ambiental, à saúde humana e que seja economicamente viável. Dentro das diversas possibilidades para seu aproveitamento, a disposição em solos agrícolas é bastante promissora e sustentável. Entretanto, esse resíduo pode conter contaminantes orgânicos, metais pesados e microrganismos de caráter patogênico, o que tornaria sua disposição em solo inviável. A deposição inapropriada desse resíduo oferece alto risco ambiental, então, este trabalho teve como objetivo propor uma metodologia de baixo custo, empregando outros resíduos, de origem agroindustrial (bagaço de cana-de-açúcar e fibra de coco), como agentes descompactantes e estimulantes para biodegradar os possíveis compostos tóxicos existentes no lodo e biotransformá-lo em um insumo agrícola. Adicionalmente, também foram avaliados os efeitos ecotoxicológicos sobre organismos de diferentes níveis tróficos. Foi realizada a caracterização físico-química e a patogenicidade do lodo, avaliando a presença de coliformes totais, *Escherichia coli* e ovos de *Ascaris* spp.. As amostras foram misturadas em solo, utilizando duas concentrações de lodo (10% e 15%), com e sem incorporação de bagaço de cana-de-açúcar e fibra de coco. O ensaio de respirometria foi aplicado para verificar a biodegradabilidade do lodo de ETA, quantificando a produção de CO₂ das diferentes amostras, durante 120 dias. As amostras, antes e após a biodegradação, foram avaliadas quanto ao seu potencial fitotóxico (sementes de *Lactuca sativa* e *Eruca sativa*), toxicidade aguda (*Daphnia similis* e *Folsomia candida*) e teste de reprodução (*F. candida*). Quanto ao resultado da patogenicidade, o lodo de ETA, antes do processo de biodegradação, apresentou ausência de *E. coli* e ovo de *Ascaris* spp., e número muito baixo de colônias de coliformes totais. Dentre as características físico-químicas, o lodo apresentou pH próximo da neutralidade e baixa concentração de metais, porém continha excesso de líquidos livres, o que tornou indispensável o processo de secagem. A

utilização dos resíduos agroindustriais, otimizou a produção de CO₂, no entanto não contribuiu para a biodegradação do lodo de ETA. No teste de fitotoxicidade, as amostras que continham lodo associado com o bagaço de cana-de-açúcar apresentaram toxicidade moderada a alta, havendo inibição de germinação e diminuição do crescimento da radícula e do hipocótilo. Resultados semelhantes foram observados para *D. similis*, indicando que o bagaço liberou compostos tóxicos hidrossolúveis. No entanto, após a biodegradação, nenhum efeito tóxico foi observado demonstrando que o processo de biotransformação empregado levou à detoxificação das amostras. No teste com *F. candida*, não houve letalidade significativa, porém as amostras que continham lodo na concentração de 10% interferiram negativamente na reprodução desses organismos. Assim, o lodo estudado apresenta características físico-químicas interessantes para utilização como condicionantes e fertilizantes de solos agrícolas, entretanto, pela toxicidade observada, é indispensável a realização de um processo de biodegradação/bioestimulação para promover a eliminação desse efeito e, desse modo, garantir a segurança ambiental, proporcionando um destino sustentável.

Palavras-chaves: Resíduos sólidos orgânicos; biodegradação; bioestimulação; fitotoxicidade; toxicidade aguda; teste de reprodução.

ABSTRACT

Due to anthropic activities, the quality of water is increasingly compromised. So, before the water is distributed to its consumers, the raw water needs to undergo a treatment process that aims to eliminate impurities that may pose a risk to public health. During this treatment, a residue (WTP sludge) is generated, resulting from the coagulation and filtration steps. Generally, this residue consists of microorganisms, algae, suspended materials, organic matter, organic compounds, minerals, and also a high concentration of iron or aluminum, due to the coagulant used in the coagulation stage. As sludge is produced on a large scale, as it is related to the demand for drinking water, there is a concern to find an adequate disposal, to avoid posing a risk of environmental contamination and damage to human health, besides being economically viable. Within the various possibilities for its use, disposal in agricultural soils is very promising and sustainable. However, this residue may contain organic contaminants, heavy metals, and pathogenic microorganisms that would make its disposal in soil unfeasible. The inappropriate disposal of this residue poses a high environmental risk, so this work aimed to propose a low-cost methodology, using other residues, of agro-industrial origin (sugar cane bagasse and coconut fiber), as decompacting and stimulants agents to biodegrade the possible toxic compounds existing in the sludge and biotransform it into an agricultural input. Additionally, the ecotoxicological effects on organisms of different trophic levels were also evaluated. The physical-chemical characterization and the pathogenicity of the sludge were carried out, assessing the presence of total coliforms, *Escherichia coli*, and *Ascaris* ssp. eggs. The samples were mixed in the soil, using two concentrations of sludge (10% and 15%), with and without the incorporation of sugarcane bagasse and coconut fiber. The respirometer test was applied to verify the biodegradability of the WTP sludge, quantifying the CO₂ production of the different samples, for 120 days. The samples, before and after biodegradation, were evaluated for their phytotoxic potential (*Lactuca sativa* and *Eruca sativa* seeds), acute toxicity (*Daphnia similis* and *Folsomia candida*), and reproduction test (*F. candida*). As for the result of pathogenicity, the WTP sludge showed the absence of *Ascaris* ssp. and *E. coli*, and very low numbers of total coliform colonies. Among the physical-chemical characteristics, the sludge showed a pH close to neutrality and a low concentration of metals, but it contained excess free liquids, which made the drying process indispensable. The use of agro-industrial residues optimized the production of CO₂, however, it did not contribute to the biodegradation of the WTP sludge. In the phytotoxicity test, the samples that contained sludge associated with

sugarcane bagasse showed moderate to high toxicity, with germination inhibition and reduction of radicle and hypocotyl growth. Similar results were observed for *D. similis*, indicating that the bagasse released water-soluble toxic compounds. However, after biodegradation, no toxic effect was observed, demonstrating that the biotransformation process employed led to detoxification of the samples. In the test with *F. candida*, there was no significant lethality, but the samples that contained sludge at a concentration of 10% negatively interfered with the reproduction of these organisms. Thus, the sludge studied presented interesting physicochemical characteristics for use as conditioners and fertilizers for agricultural soils. However, due to the observed toxicity, it is essential to carry out a biodegradation/biostimulation process to promote the elimination of this effect and, thus, guarantee environmental security, providing a more sustainable destination.

Keywords: Organic solid waste; biodegradation; biostimulation; phytotoxicity; acute toxicity; reproduction test.

LISTA DE FIGURAS

Artigo 1

Figura 1	Montagem do ensaio para determinação de líquidos livres	30
Figura 2	Etapas da secagem do lodo de ETA. A: Lodo após 24 horas; B: Lodo após 4 dias; C: Lodo após 7 dias de secagem	35
Figura 3	Esquema de um respirômetro de Bartha e Pramer. A: Tampa da cânula; B: Cânula (diâmetro de 1 a 2 mm); C: Rolha de borracha; D: Braço lateral (diâmetro de 40 mm; altura de 100 mm); E: Solução de KOH; F: Amostra; G: Frasco Erlenmeyer (250 mL); H: Válvula; I: Suporte (lã de vidro); J: Filtro de cal sodada (diâmetro de 15 mm; altura de 40 mm)	36
Figura 4	Reta analítica de CO ₂ em função da condutividade medida em solução de KOH	48
Figura 5	Produção de CO ₂ diária observada no ensaio de respirometria	49
Figura 6	Produção acumulada de CO ₂ observada durante os 120 dias de experimento	51
Figura 7	Eficiência de biodegradabilidade das amostras, na ausência do solo, calculada a partir dos dados respirométricos após 120 dias de ensaio	54
Figura 8	Comprimento do hipocótilo de <i>L. sativa</i> após exposição a diferentes amostras, antes e após processo de biodegradação	57
Figura 9	Placas de Petri contendo sementes de alface germinadas. A. Sementes germinadas expostas à amostra S + ETA 10% + B 5% antes do ensaio de respirometria, classificada como altamente tóxica; B. Sementes germinadas referentes ao controle negativo	58

Artigo 2

Figura 1	Comprimento do hipocótilo de <i>E. sativa</i> expostas a diferentes amostras, antes e após processo de bioestimulação	78
Figura 2	Média de organismos vivos (<i>Daphnia similis</i>) expostos às diferentes amostras, antes e após o processo de bioestimulação	79
Figura 3	Quantidade total de colêmbolos, adultos e filhotes, expostos nas diferentes amostras, antes do processo de biodegradação	82

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1	Caracterização química do Lodo de ETA, quanto à presença de compostos inorgânicos	29
Tabela 2	Volumes de reagentes empregados nas soluções utilizadas para a construção da reta analítica e correlação com o íon carbonato	35
Tabela 3	Série de sólidos e porcentagem de carbono total, carbono orgânico e teor de umidade dos materiais empregados	43
Tabela 4	Contagem de bactérias heterotróficas nas diferentes amostras (UFCpor grama de amostra seca)	52
Tabela 6	Avaliação do efeito fitotóxico das amostras sobre a germinação e o comprimento da radícula de <i>Lactuca sativa</i>	56

Artigo 2

Tabela 1	Composição de cada amostra avaliada, com base na massa seca decada material	73
Tabela 2	Fitotoxicidade das amostras quanto aos parâmetros relativos à germinação e comprimento da radícula de <i>Eruca sativa</i> , antes e após bioestimulação das amostras	77
Tabela 3	Resultado do teste de letalidade com <i>F. candida</i> como bioindicador, antes do processo de biodegradação	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
B	Boro
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
Ca	Cálcio
Cl	Cloro
Cm	Centímetros
CN	Controle negativo
CO	Carbono Orgânico
CO ₂	Dióxido de carbono
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CP	Controle positivo
CR	Crescimento relativo
CT	Carbono Total
Cu	Cobre
ds/m	Decisiemens por metro
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ETA	Estação de Tratamento de Água
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
Fe	Ferro
g	Gramas
GR	Germinação relativa
IG	Índice de germinação
K	Potássio
K ₂ CO ₃	Carbonato de potássio
KHC ₈ H ₄ O ₄	Biftalato de potássio
KOH	Hidróxido de Potássio
m ³	Metro cubico
M	Molar
Mg	Magnésio
mL	Mililitro

Mn	Manganês
MO	Matéria Orgânica
Mo	Molibdênio
N	Nitrogênio
ND	Não Determinado
NMP	Número Mais Provável
P	Fósforo
S	Enxofre
S	Solo
SF	Sólidos Fixos
ST	Sólidos Totais
SV	Sólidos Voláteis
TU	Teor de Umidade
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	14
	2.1 Objetivos Específicos	14
3	REVISÃO DA LITERATURA	15
	3.1 Tratamento da água, legislação e produção de lodo	15
	3.2 Características e composição do lodo de ETA	17
	3.3 Problemas ambientais relacionados com o descarte inadequado do lodo de ETA	18
	3.4 Efeitos benéficos da utilização do lodo de ETA para recuperação de solos	19
	3.5 Estratégias para a detoxificação de lodo de ETA	19
	3.6 Bioensaios de toxicidade para avaliação de lodo de ETA	20
	3.7. Avaliação patogênica do lodo de ETA	22
4	RESULTADOS	23
	Artigo 1: Bioestimulação de lodo de tratamento de água visando ao uso sustentável: avaliação respirométrica e fitotoxicidade	
	Artigo 2: Avaliação ecotoxicológica de lodo de tratamento de água, antes e após bioestimulação com resíduos da agroindústria	
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
6	REFERÊNCIAS	88
7	APÊNDICE	93

1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento da população mundial, aumenta também a necessidade de fornecer água potável, sendo assim, as estações de tratamento de água (ETA) ficam responsáveis pelo tratamento da água bruta antes de ser distribuída aos seus consumidores (GOMES *et al.*, 2019; NGUYEN *et al.*, 2022; PHAM *et al.*, 2021). Entretanto, esse processo gera um resíduo denominado lodo, que contém as impurezas da água bruta captada, bem como produtos químicos utilizados no processo de tratamento, como o ferro ou alumínio do coagulante que é empregado no processo de floculação (BATISTA *et al.*, 2021; NGUYEN *et al.*, 2022; QRENAWI; RABAH, 2021).

Geralmente, o lodo gerado nas ETA é descartado *in natura* em aterros sanitários ou em mananciais próximos (SANTOS *et al.*, 2021), causando contaminação do ambiente, além de oferecer riscos à saúde humana, pois este pode conter compostos tóxicos e microrganismos de caráter patogênico (BARAKWAN; TRIHADININGRUM; BAGASTYO, 2019; SILVA; BORTTREL; PEREIRA, 2018). Assim, o maior desafio das ETA e dos gestores ambientais quanto ao lodo produzido é encontrar uma destinação que não cause danos ao ambiente e que seja economicamente viável (AHMAD; AHMAD; ALAM, 2016a).

Atualmente, existem vários estudos sobre o reaproveitamento desse resíduo, desde sua utilização em produtos de construção civil, como tijolos e cimentos, devido à sua composição mineral, até a aplicação em solo (AHMAD; AHMAD; ALAM, 2016b; GOMES *et al.*, 2019). Neste sentido, o lodo de ETA contém compostos orgânicos, inorgânicos e microrganismos, tornando vantajosa sua utilização como condicionantes ou fertilizante de solos (ODIMEGWU *et al.*, 2018). São descritos em diversos estudos os benefícios da utilização do lodo de ETA como condicionante e fertilizante de solos, já que ele auxilia na estrutura, capacidade de retenção de água, troca iônica e fertilidade do solo (AHMAD; AHMAD; ALAM, 2016a; RIBEIRO *et al.*, 2022; SANTOS *et al.*, 2022).

Segundo Barakwan, Trihadiningrum e Bagastyo (2019), o lodo é constituído por uma alta concentração de sílica, alumínio, ferro, cálcio e baixa concentração de orgânicos e outros nutrientes, o que o torna interessante para aplicação em solos agrícolas. Contudo, o acréscimo de resíduos agroindustriais possibilitaria o aumento da quantidade de matéria orgânica e uma maior porosidade ao lodo, por atuarem como agentes de volume, proporcionando, deste modo, a obtenção de um aditivo mais nutritivo, além de auxiliar na diversidade e manutenção da comunidade microbiana (FERNANDO-FONCILLAS *et al.*, 2021; FRANCO *et al.*, 2021).

Antes do resíduo ser disposto em solo, faz-se necessária a detoxificação, visando eliminar os compostos tóxicos existentes, garantindo a segurança do ambiente. A biorremediação é uma tecnologia biológica de descontaminação de matrizes ambientais, na qual os microrganismos vão mineralizar ou degradar contaminantes orgânicos (MALLMANN *et al.*, 2019; SHARMA *et al.*, 2021; SOMMAGGIO *et al.*, 2018a). Neste sentido, a biorremediação apresenta uma série de vantagens, tanto econômica, quanto ambiental, já que não são utilizados produtos sintéticos, não há aumento na geração de resíduos, entre outras (KOUR *et al.*, 2021; MAZZEO *et al.*, 2020). Pensando na otimização do processo, podem ser utilizados aditivos, ou seja, materiais que estimulam o crescimento microbiano, efetivando a degradação dos compostos tóxicos orgânicos, além de diminuir o período de biorremediação. Os agentes estimulantes são responsáveis por aumentar a aeração e/ou contribuir com nutrientes adicionais ao sistema (KOUR *et al.*, 2021; SOMMAGGIO *et al.*, 2018b; TYAGI; FONSECA; CARVALHO, 2011).

A princípio, um composto pode não apresentar toxicidade, mas com o decorrer do tempo, pode sofrer alterações químicas e/ou físicas no ambiente e se tornar tóxico, afetando assim o ecossistema (CORREIA, 2019). Para avaliar o efeito tóxico, a biodisponibilidade para os organismos e comprovar a detoxificação do processo de biorremediação, são utilizadas espécies sensíveis ao estresse químico, a xenobióticos e outros contaminantes orgânicos. Com os bioensaios, é possível observar como o contaminante age sobre os organismos, por exemplo, se causa letalidade, alterações genéticas, comportamentais ou fisiológicas (FELIPE, 2019; MAZZEO *et al.*, 2016a; MAZZEO *et al.*, 2016b; SOMMAGGIO *et al.*, 2018b). Desse modo, os bioensaios são cruciais para a avaliação do potencial tóxico do lodo de ETA, bem como para verificar a efetividade do processo de biorremediação desse resíduo.

2 OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo propor uma tecnologia para a biotransformação de lodo proveniente de ETA em condicionante de solos agrícolas, por meio da associação com bagaço de cana-de-açúcar e fibra de coco como agentes bioestimulantes. Visando à segurança ambiental do produto obtido após a bioestimulação, também foi objetivo desse estudo avaliar a patogenicidade do lodo, o potencial tóxico e a biodegradabilidade dos diferentes tratamentos.

2.1 Objetivos Específicos

O presente estudo teve como objetivos específicos:

- Realizar a caracterização físico-química e microbiológica do lodo de ETA, a fim de se compreender a influência desses parâmetros na estabilização da matéria orgânica;
- Analisar a patogenicidade do lodo de ETA verificando a presença de coliformes termotolerantes e de ovos viáveis de *Ascaris* spp.;
- Avaliar a biodegradabilidade do lodo de ETA por meio do ensaio de respirometria, nos diferentes tratamentos empregados, com o intuito de promover sua bioconversão em um aditivo agrícola;
- Verificar a efetividade da fibra de coco e do bagaço de cana-de-açúcar como agentes estimuladores na biorremediação do lodo de ETA, bem como, comparar a eficácia de cada um deles no processo de estabilização;
- Avaliar a fitotoxicidade e o potencial agrônomo do lodo de ETA, antes e após o processo de biodegradação, por meio do ensaio de fitotoxicidade com sementes de *Lactuca sativa* (alface) e *Eruca sativa* (rúcula);
- Verificar o efeito tóxico do extrato aquoso dos diferentes tratamentos com lodo de ETA e agentes bioestimulantes, antes e após processo de biodegradação, sobre o microcrustáceo *Daphnia similis*;
- Analisar a toxicidade dos diferentes tratamentos em invertebrados de solo, empregando *Folsomia candida* (colêmbolo) como organismo modelo;
- Propor uma alternativa mais sustentável para a disposição do lodo de ETA, de modo a contribuir para a economia circular, possibilitando a reciclagem dos nutrientes presentes nesse resíduo.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Tratamento da água, legislação e produção de lodo

A qualidade dos mananciais de abastecimento está cada vez mais comprometida devido às atividades antrópicas e outras influências ambientais. Por isso, é necessário que haja um tratamento adequado para reter todos os compostos e impurezas nocivos à saúde, antes da água ser distribuída aos seus consumidores finais (SOBRINHO *et al.*, 2019).

Atualmente, a água para consumo humano deve seguir os padrões de potabilidade exigidos pelo Ministério da Saúde, determinados pela Portaria GM/MS nº 888 (BRASIL, 2021). Ainda, os mananciais de abastecimento também precisam ser monitorados e seguir a classificação de água doce para consumo humano exigida pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente, na Resolução nº 357 (BRASIL, 2005). Ficam encarregados de verificar e garantir a qualidade da água, órgãos públicos e entidades responsáveis sendo, para isso, realizado o monitoramento periódico dos mananciais e da água a ser distribuída em pontos vulneráveis do sistema com a realização de análises físico-química e microbiológica, que devem atender a um conjunto de parâmetros exigidos pela legislação (BRASIL, 2006).

No tratamento da água bruta, as duas etapas iniciais, coagulação e floculação, são de extrema importância, pois são responsáveis por eliminar as partículas suspensas e coloidais da água (BARAKWAN; TRIHADININGRUM; BAGASTYO, 2019). O uso de coagulantes à base de alumínio e ferro é bastante frequente, devido à disponibilidade, facilidade e baixo custo de obtenção (ODIMEGWU *et al.*, 2018). Ao adicionar o produto, ocorre a reação de hidrólise e consequentemente a desestabilização das partículas e colóides, o que resultando em sua precipitação (BARAKWAN; TRIHADININGRUM; BAGASTYO, 2019; KAMIWADA; ANDRADE; REIS, 2020).

A etapa seguinte é a floculação, que consiste em uma agitação na água, com o intuito de aglomerar os precipitados resultantes da coagulação. Este processo tem três fases, a floculação pericínética, responsável por causar uma energia na água, resultando no movimento Browniano – aleatório – das partículas que medem menos de 1 µm. A floculação ortocinética, que resulta na colisão de partículas desestabilizadas e microflocos e por fim, a floculação por sedimentação, que causa colisão entre os flocos com diferentes densidades, resultando no aumento de tamanho (MORSELLI *et al.*, 2022; TEIXEIRA *et al.*, 2022).

A sedimentação, ou decantação, é o processo que separa a água dos flocos em suspensão produzidos na etapa anterior, floculação, por ação da gravidade. Nessa etapa, ocorre a produção do lodo (MORSELLI *et al.*, 2022), que contém todas as impurezas da água bruta, além dos resíduos dos coagulantes utilizados no tratamento (SANTOS *et al.*, 2021). Para garantir que não tenha restado nenhuma impureza da sedimentação, a água ainda passa por filtros porosos que promovem a limpeza e a clarificação. Essa etapa é chamada de filtração, onde também ocorre a produção do lodo, porém em quantidade menor do que aquela produzida na sedimentação (CHINVELSKI, 2018; KYNCL, 2008).

A desinfecção, também denominada como pré-oxidação, tem várias finalidades, entre elas, evitar a formação de biofilmes, eliminar matéria orgânica e, principalmente, atuar na eliminação de patógenos que estão relacionados a doenças de veiculação hídrica. Apesar das variedades de agentes químicos e físicos destinados à desinfecção, os compostos clorados continuam sendo os mais utilizados, devido às suas vantagens, como fácil manuseio e baixo custo, além de possuir uma capacidade de oxidar os microrganismos presentes na água (SANTOS, 2020; TEIXEIRA *et al.*, 2022).

Ao término do tratamento, a água está pronta para ser distribuída aos seus consumidores finais. O lodo dos decantadores e filtros vai se aglomerando e, periodicamente, é realizada sua limpeza. As ETA do Brasil e de outros países, em sua maioria, fazem o descarte desse resíduo diretamente em corpos d'água, sem qualquer tratamento (SANTOS *et al.*, 2021). Como essa prática é considerada crime ambiental pela legislação brasileira, vários estudos têm sugerido alternativas sustentáveis para o aproveitamento do lodo (ODIMEGWU *et al.*, 2018, BRASIL, 2010).

3.2 Características e composição do lodo de ETA

O lodo de ETA é classificado pela NBR 10.004 (ABNT, 2004) como resíduo sólido, por se apresentar em estado sólido ou semissólido. As características físicas, químicas e biológicas e o volume produzido estão relacionados diretamente com a fonte e a qualidade da água bruta captada, a quantidade tratada, o tipo e dosagem de produtos químicos utilizados no processo de coagulação e, por fim, no procedimento empregado para o tratamento (QRENAWI; RABAH, 2021). Contudo, o lodo possui, de maneira geral, aproximadamente 95% de água, sólidos entre 2 a 4% em peso úmido e 17 a 23% em peso seco (BARAKWAN; TRIHADININGRUM; BAGASTYO, 2019; TONY, 2022).

Quando comparado com o lodo de esgoto, o lodo de ETA é caracterizado por uma composição mineral mais elevada e matéria orgânica em menor concentração, porém de maior estabilidade (PORTELA *et al.*, 2003).

O lodo pode conter microrganismos, oocistos de protozoários, ovos de helmintos, algas, materiais suspensos, argila, cálcio, sílica e metais pesados, como cromo, chumbo, cádmio, entre outros (BARAKWAN; TRIHADININGRUM; BAGASTYO, 2019; QRENAWI; RABAH, 2021). Após a etapa de coagulação, todos esses materiais interagem formando flocos que, juntamente com a água aprisionada entre as partículas, dão origem ao lodo (TURCHIULI; FARGUES, 2004).

Adicionalmente, outros resíduos químicos de grande relevância na composição do lodo de ETA, que se encontram em concentração bastante elevada, são os coagulantes utilizados durante o processo de tratamento da água (ODIMEGWU *et al.*, 2018). Os coagulantes mais comumente empregados são feitos de sais inorgânicos constituídos de metais trivalentes, como, por exemplo, sulfato de alumínio, cloreto férrico e cloreto de poli-alumínio (PAC) (WEI *et al.*, 2018). A utilização de coagulantes a base de sais de alumínio ou ferro favorece a concentração desses elementos no lodo final, originando o lodo férrico (rico em Fe^{3+}) ou o lodo de alumínio (rico em Al^{3+}) (QRENAWI; RABAH, 2021; TONY, 2022).

3.3 Problemas ambientais relacionados com o descarte inapropriado do lodo de ETA

A elevada concentração de sólidos, a presença de microrganismos e de produtos químicos, principalmente de coagulantes, como cloreto férrico e sulfato de alumínio, faz com que o lodo de ETA se torne um resíduo altamente tóxico ao meio ambiente e à saúde humana, apesar de não apresentar características como corrosividade, inflamabilidade e reatividade (ABNT, 2004).

Quando o lodo é descartado diretamente em corpos d'água sem qualquer tratamento, pode ocorrer a alteração física, química ou biológica desse meio. Entre as alterações relatadas, decorrentes dessa prática, encontram-se mudanças de cor e turbidez das águas, assoreamento, aumento na concentração de sólidos, acúmulo de alumínio e outros metais pesados, inibição das atividades biológicas, entre outras mudanças negativas. Ainda, essa prática pode decorrer na contaminação por ferro, alumínio e outros metais pesados, ocasionando a biocumulação em organismos aquáticos e, conseqüentemente, a contaminação no homem, causando sérios comprometimentos à saúde (SILVA; BORTTREL; PEREIRA, 2018).

Costa *et al.* (2017) observaram que o descarte contínuo de lodo de ETA na represa Gavião (Ceará, Brasil) levou ao desaparecimento da comunidade de macroinvertebrados aquáticos após o ponto de lançamento da ETA, impactando drasticamente o ecossistema local.

Devido ao uso de coagulantes, é normal que o lodo tenha uma alta concentração de alumínio e ferro em sua composição, além de outros metais como zinco, boro e manganês, além de compostos tóxicos, como pesticidas, fármacos, hormônios, entre outros (DUBE *et al.*, 2018). O alumínio apresenta características bioacumulativas nos organismos vivos e, em humanos, a contaminação por alumínio está associada à doença de Alzheimer, atrasos cognitivos em

crianças, transtorno do espectro autista, entre outras doenças. Em algas, causa necroses, cloroses, entre outros efeitos tóxicos (BRENDA *et al.*, 2018; EXLEY; MOLD, 2019). Já a contaminação em peixes causa problemas nos rins, fígado e na reprodução (MWALIKENGA; VITAL, 2020). Outros estudos revelam ainda que, o lodo contendo altas concentrações de alumínio, se aplicado diretamente no solo, pode intoxicar e causar deficiência de fósforo nas plantas, interferindo no seu crescimento radicular (DUBE *et al.*, 2018).

3.4 Efeitos benéficos da utilização do lodo de ETA para recuperação de solos

Com o intuito de diminuir a poluição das águas, solos e propiciar um ambiente mais sustentável, faz-se necessário um gerenciamento de resíduos sólidos que visa a aplicação do conceito dos “5 R”, reduzir, reciclar, reutilizar, reprocessar e recuperar (TONY, 2022). Neste contexto, a reutilização do lodo de ETA para a recuperação de solos vem sendo uma alternativa muito estudada ao longo dos anos, demonstrando-se promissora. O primeiro relato dessa prática foi nos anos 70 e, desde então, vêm sendo realizadas pesquisas e testes para a continuidade dessa utilização (NGUYEN *et al.*, 2022). São citados em vários estudos os benefícios do uso do lodo como condicionador de solo, pois ele promove a melhora da retenção de água, aumento da matéria orgânica, condutividade e de nutrientes, entre outros efeitos positivos (NGUYEN *et al.*, 2022; ODIMEGWU *et al.*, 2018).

Com todos os benefícios citados, se aplicado na dosagem adequada, o lodo pode auxiliar no crescimento das plantas, pela liberação de nutrientes, além de suprir a necessidade de nitrogênio destas (ODIMEGWU *et al.*, 2018; RAK; KUCHARSKI, 2009).

Sabe-se que a aplicação do lodo no solo melhora ainda a condutividade hidráulica, porosidade, estrutura, além de fornecer os macros e micronutrientes necessários para o crescimento das plantas (DASSANAYAKE *et al.*, 2015).

Entretanto, para promover um aumento da concentração da matéria orgânica do lodo de ETA, este pode ser misturado com outros resíduos, como restos agroindustriais, melhorando a capacidade de absorção de fósforo, de retenção de água e estimulando o crescimento da planta, além de ser uma destinação alternativa para esses resíduos (DASSANAYAKE *et al.*, 2015; FRANCO *et al.*, 2021).

3.5 Estratégias para a detoxificação de lodo de ETA

Devido às contaminações que o ambiente vêm sofrendo por ações antrópicas, atualmente, vive-se uma realidade de buscar remediações para conter essas sucessivas agressões. Com base nisso, a biorremediação é uma área muito promissora e bastante utilizada nos dias atuais, pois faz uso de tecnologias que empregam organismos vivos para modificar ou mineralizar contaminantes orgânicos e, ainda, apresentam baixo custo de aplicação (MALLMANN *et al.*, 2019; SHAHIN; MOSSAD; FOUAD, 2019).

No solo, podemos encontrar uma variedade de microrganismos, como bactérias, fungos, protozoários, além de algas e invertebrados, que desempenham papéis importantes nas reciclagens de nutrientes e transformações de compostos tóxicos (KOUR *et al.*, 2021). Entretanto, a necessidade de oxigênio está relacionada com a otimização na degradação de contaminantes. Para isso, a utilização de bioestimulantes aumenta a aeração e porosidade do solo, além de estimular o crescimento da microbiota nativa (SHAHIN; MOSSAD; FOUAD, 2019; SOMMAGGIO *et al.*, 2018b).

O bagaço de cana-de-açúcar caracteriza-se como uma rica fonte de carbono, relacionada à alta concentração de carboidratos e também atua como agente descompactante no solo, otimizando a porosidade e oxigenação (SOMMAGGIO *et al.*, 2018b).

Outro bioestimulante que também pode ser utilizado na detoxificação de lodos, visando seu uso agrícola, é a fibra de coco. Este é um resíduo bem abundante no Brasil, e oferece várias vantagens, como pouca atividade química, baixo custo para produção e alta porosidade. Ao longo dos anos tem ganhado espaço na composição de substratos para plantas, isso devido ao melhoramento nas características físicas do solo, ter baixo custo e ainda contribuir com o descarte sustentável desse resíduo (NUNES, 2021).

A associação do lodo com os bioagentes estimulantes proporciona inúmeras vantagens, pois, são compostos de origem natural e ecologicamente aceitáveis e favorecem o processo de biorremediação. Com isso, atuam como complemento nutricional para o insumo e, consequentemente, estimulam o crescimento das plantas, com custos mais acessíveis.

3.6 Bioensaios de toxicidade para avaliação de lodo de ETA

A ecotoxicologia é a ciência que estuda os efeitos tóxicos de substâncias de origem natural ou sintética em organismos vivos. No momento em que essas substâncias modificam as interações dos organismos, são observados efeitos toxicológicos, os quais podem ocorrer em

vários níveis, como celular, tecidual, individual, entre outros (NIVA; BROWN, 2019; TRAAS; VAN LEEUWEN, 2007).

Devido aos componentes tóxicos e metais pesados que estão presentes no lodo de ETA, ensaios de toxicidade devem ser realizados com o intuito de determinar os impactos causados quando esse resíduo é incorporado ao solo e utilizado como condicionante agrícola (SANTOS; SOMMAGGIO; MARIN-MORALES, 2022). Geralmente, esses bioensaios são realizados em laboratórios, onde os organismos testes, ficam em condições de temperatura e ambiente controladas (NIVA; BROWN., 2019; TRAAS; VAN LEEUWEN, 2007).

Os ensaios de toxicologia são aplicados, principalmente, para verificar se os efeitos danosos dos contaminantes químicos são passados aos vários níveis tróficos pela cadeia alimentar, bem como, para avaliar a biodisponibilidade dos contaminantes (WRIGHT; WELBOURN, 2002) e, também, classificar o quão tóxico é um composto e quais os seus efeitos aos organismos vivos (BLAISE; FÉRARD, 2005). Além disso, também são importantes para avaliar a efetividade de processos de biorremediação em termos de eliminação da atividade tóxica das amostras (MAZZEO *et al.*, 2015, 2016a, 2016b, 2020; SOMMAGGIO *et al.*, 2018a, 2018b).

Atualmente, existe uma ampla diversidade de organismos testes empregados para a avaliação de diferentes matrizes ambientais. As minhocas, enquitreídeos, colêmbolos, sementes de vegetais, entre outras espécies, são utilizados em amostras de solos e resíduos sólidos, enquanto para amostras de água, águas residuais e efluentes, espécies de peixes, microcrustáceos e algas merecem destaque (NIVA; BROWN, 2019; TKACZYK *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2020). Ainda, diferentes parâmetros podem ser avaliados pelos bioensaios, incluindo toxicidade aguda, crônica, reprodução, letalidade e teste de fuga (CRUZ, 2022; TKACZYK *et al.*, 2021).

Entre os bioensaios, o ensaio de fitotoxicidade é simples, de baixo custo, com alta sensibilidade e consiste na observação da germinação de sementes de vegetais, como alface, tomate, rúcula e outras espécies, e também na medição do tamanho da raiz e hipocótilo. Esse ensaio permite inferir se a amostra é segura ambientalmente para ser disposta em solo e se afeta o crescimento da plântula nos primeiros dias de incubação. Caso não ocorra a germinação ou o crescimento apresente alguma anormalidade, infere-se que a amostra estudada contém compostos tóxicos que prejudicam o desenvolvimento das plântulas (GUEVARA *et al.*, 2019; PEDUTO *et al.*, 2019; USEPA, 1996).

A toxicidade aguda também pode ser avaliada por um teste rápido de apenas 48 horas, realizado com microcrustáceos de água doce do gênero *Daphnia* sp. Os primeiros relatos da utilização dos microcrustáceos do gênero *Daphnia* sp. para ensaios de ecotoxicologia com amostras de água ocorreram na década de 40. Esses microcrustáceos são facilmente encontrados na natureza pela ampla distribuição geográfica, sendo vulgarmente conhecidos como pulgas d'água. Seu habitat é em águas doces e se alimentam de partículas suspensas de algas. O objetivo deste ensaio é avaliar a toxicidade de produtos químicos, efluentes e outros compostos em um curto período de tempo de exposição. A *Daphnia* sp é utilizada nesse tipo de ensaio por ser um organismo muito sensível a compostos tóxicos. Ainda, se tornam viáveis para testes de laboratórios, pois são pequenas, de fácil manutenção, com fertilidade elevada, reproduzem-se por partenogênese (DUTTA, 2019; EBERT, 2022; ROSSIANA *et al.*, 2021; TKACZYK *et al.*, 2021).

Os colêmbolos são pequenos artrópodes que vivem no solo e se alimentam da matéria orgânica e microrganismos presentes neste meio, contribuindo para a disseminação dos mesmos. Tratam-se de organismos com ciclo de vida curto, fácil adaptação e reprodução. Além disso, possuem alta sensibilidade a poluentes e modificações nos solos causadas pelo homem. Nesse contexto, os colêmbolos são utilizados como bioindicadores da qualidade de solo, determinando a presença de possíveis contaminantes, sendo possível analisar alterações no padrão de reprodução e também realizar o ensaio de fuga (CRUZ, 2022; OGLIARI *et al.*, 2020; ORTIZ *et al.*, 2019; TINA, 2021).

3.7 Avaliação patogênica do lodo de ETA

A utilização de lodos na agricultura, como já citado, vem sendo uma alternativa muito promissora e de baixo custo. Entretanto, o lodo pode conter organismos que podem oferecer riscos à saúde humana, como bactérias fecais patogênicas, e helmintos (GASPARD; SCHWARTZBROD, 2003; GUZMAN *et al.*, 2020).

Os helmintos são parasitas responsáveis por causar doenças intestinais em animais e humanos, sendo este último, seu hospedeiro definitivo. Esses organismos têm 3 fases principais no seu desenvolvimento, ovo, estágio larval e adulto (ROCHA *et al.*, 2016). Os ovos de *Ascaris* ssp. são envolvidos por uma casca interna, camada intermediária e casca externa proteica, o que o torna resistente e capaz de permanecer viáveis por longos períodos em condições adversas (ROBLES *et al.*, 2020; ROCHA *et al.*, 2016).

Outro grupo de microrganismo de extrema importância epidemiológica são os coliformes totais e *Escherichia coli*, pois tratam-se de microrganismos que pertencem à microbiota do intestino humano, entretanto podem ser potencialmente patogênicos causando infecções gastrointestinais. Além disso, são bioindicadores de qualidade de água e contaminação fecal causada por animais entéricos (SPECIAN *et al.*, 2021).

Essas análises estão sendo incluídas em diversos estudos referentes à utilização de resíduos em solos agrícolas, pois a sobrevivência e ingestão desses patógenos, por solo, água ou alimento contaminados, poderia contribuir com a disseminação de doenças (NGWESE *et al.*, 2020).

4 Resultados

Os resultados deste trabalho são apresentados nas formas dos seguintes artigos:

Artigo 1: Bioestimulação de lodo de tratamento de água visando o uso sustentável: avaliação respirométrica e fitotoxicidade

Artigo 2: Avaliação ecotoxicológica de lodo de tratamento de água, antes e após bioestimulação com resíduos da agroindústria

Artigo 1. Bioestimulação de lodo de tratamento de água visando o uso sustentável: avaliação respirométrica e fitotoxicidade

RESUMO

Durante o tratamento de água, gera-se um resíduo denominado lodo de Estação de Tratamento de Água (ETA), que é resultante da coagulação e decantação das partículas de impurezas presentes na água bruta. Devido à grande quantidade gerada e ao fato de esse resíduo ser rico em minerais, além de conter matéria orgânica, sua utilização na produção de condicionante de solo mostra-se uma alternativa promissora e de baixo custo. Porém, o lodo de ETA pode conter altas concentrações de ferro decorrente do uso de coagulantes, além de outros metais e contaminantes tóxicos, o que inviabilizaria esse uso. Como a disposição imprópria do lodo de ETA traz elevado risco ambiental e à saúde humana, este trabalho teve como objetivo propor um processo de baixo custo e ambientalmente viável, pela associação de resíduos agroindustriais (bagaço de cana-de-açúcar e fibra de coco) como agentes descompactantes e estimulantes, para promover a bioconversão do lodo de ETA em insumo agrícola. Para isso, realizou-se a caracterização físico-química do lodo puro, bem como sua patogenicidade, verificando a presença de ovos viáveis de *Ascaris* spp., coliformes totais e *Escherichia coli*. A biodegradabilidade do lodo de ETA foi avaliada por meio do ensaio de respirometria quantificando a produção de CO₂ das diferentes amostras. Já o potencial fitotóxico foi avaliado a partir de ensaios com sementes de *Lactuca sativa* (alface), antes e depois da biodegradação. O lodo de ETA utilizado apresentou baixa patogenicidade e características físico-químicas adequadas para sua disposição em solos, com exceção da presença de líquidos livres. O ensaio de respirometria revelou que a adição de resíduos vegetais ao lodo de ETA contribuiu para o aumento da produção de CO₂, porém não favoreceu a biodegradação do lodo. Dos tratamentos realizados, apenas amostras que continham bagaço inibiram a germinação de sementes e o crescimento da radícula e do hipocótilo, indicando que a incorporação deste material ao lodo de ETA parece proporcionar a liberação de compostos hidrossolúveis fitotóxicos, comprometendo seu uso agrícola. No entanto, após o período de biodegradação, todas as amostras mostraram-se atóxicas pelo ensaio de fitotoxicidade, e estimularam o crescimento da radícula e do hipocótilo, sugerindo a degradação desses compostos. Assim, desde que propriamente biotransformado, a destinação do lodo de ETA como condicionante de solos pode

representar uma atividade ambientalmente segura e sustentável, contribuindo para a economia circular.

Palavras-chave: gerenciamento de resíduos; bagaço de cana-de-açúcar; fibra de coco; biodegradação; *Lactuca sativa*; sustentabilidade.

1 INTRODUÇÃO

Devido à necessidade do fornecimento de água potável para o consumo humano, as águas destinadas ao abastecimento, que são captadas em mananciais, necessitam de um tratamento prévio para reter as impurezas que podem causar efeitos deletérios em seus consumidores. Assim, antes de ser distribuída para a população, a água deve atender todas as exigências de potabilidade (WHO, 2017). As Estações de Tratamento de Água (ETA) ficam responsáveis pela qualidade da água de abastecimento (MIAN *et al.*, 2021).

Durante o processo de tratamento, as ETA geram um resíduo, denominado lodo, o qual é resultado dos processos de coagulação, floculação, decantação e filtração da água bruta (NAIR; AHAMMED, 2015). O volume de lodo produzido está diretamente relacionado à demanda por água potável para o abastecimento da população (NGUYEN *et al.*, 2022). Embora seja produzido em qualidade e quantidade variável, estima-se que uma ETA, de porte médio, gere, anualmente, cerca 100.000 toneladas (AHMAD; AHMAD; ALAM, 2016a).

Os compostos encontrados no lodo de ETA estão relacionados com a qualidade da água bruta captada, o tipo de tratamento aplicado e os produtos químicos utilizados no processo de tratamento, principalmente quanto ao coagulante e à dosagem aplicada (QRENAWI; RABAH, 2021; ROQUE; MONTALVAN; BOSCOV, 2021). Como o lodo pode conter inúmeras substâncias, incluindo compostos potencialmente tóxicos, a destinação final desse material deve ocorrer de forma segura para a saúde pública e em condições ambientalmente aceitáveis (CORDEIRO, 2001; QRENAWI; RABAH, 2021).

No Brasil, a maioria das ETAs descarta o lodo em aterros sanitários ou *in natura* nos corpos d'água receptores próximos ou, até mesmo, onde foi captada a água para o tratamento (MORSELLI *et al.*, 2022). Entretanto, o descarte em aterros sanitários se torna inviável, pois o lodo precisa ser previamente desidratado, o que acarreta em um gasto de energia muito grande e também pode ocasionar sérios problemas ambientais pela lixiviação de metais tóxicos (NGUYEN *et al.*, 2022; ROQUE; MONTALVAN; BOSCOV, 2021; WANG *et al.*, 2018). Adicionalmente, quando o lodo é lançado diretamente nos corpos d'água, altera significativamente suas características, levando ao assoreamento, alteração na cor e aumento da turbidez, além disso, ainda pode causar contaminação microbiológica e por metais pesados, danos ao ecossistema aquático e aos níveis tróficos superiores associados, incluindo complicações renais e gastrointestinais à população humana (BARAKWAN; TRIHADININGRUM; BAGASTYO, 2019; SILVA; BORTTREL; PEREIRA, 2018).

Existem diversas alternativas mais sustentáveis para disposição final do lodo de ETA, como fabricação de tijolos e materiais cerâmicos, produção de cimento, recuperação de coagulantes, condicionante de solos, entre outros (AHMAD; AHMAD; ALAM, 2016b; SILVA; BORTTREL; PEREIRA, 2018; SOBRINHO *et al.*, 2019). No entanto, como o lodo constitui uma fonte de macronutrientes e micronutrientes que podem ser reaproveitados, seu uso na recuperação de solos agrícola e florestal vem sendo considerado como uma das alternativas mais promissoras por ser mais ambientalmente e economicamente viável quando comparada às outras práticas de destinação final do lodo (ODIMEGWU *et al.*, 2018). Sabe-se que a utilização de lodos como fertilizante e condicionante promove melhorias nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (ASSENHEIMER, 2009), podendo interferir benéficamente em sua densidade, porosidade, capacidade de retenção hídrica, estabilidade dos agregados, selamento, resistência à penetração e infiltração de água, além de promover um aumento na concentração de matéria orgânica e nutrientes (BABATUNDE *et al.*, 2007; NGUYEN *et al.*, 2022; TSUTIYA; HIRATA, 2001).

Contudo, como a composição do lodo de ETA é prioritariamente mineral, o acréscimo de outros materiais, com concentração mais elevada de matéria orgânica e nutrientes ou que atuem como agente de volume, pode favorecer a obtenção de um aditivo de solo mais completo, contribuindo para uma comunidade microbiana mais diversa e ativa (FERNANDO-FONCILLAS *et al.*, 2021). Neste sentido, o aproveitamento de outros tipos de resíduos, como palhas, cascas, fibras e pó de restos vegetais é uma estratégia bastante promissora e de baixo custo (ALVARENGA *et al.*, 2015; SHOU *et al.*, 2017).

A biorremediação emprega tecnologias biológicas que envolvem a capacidade metabólica dos microrganismos em transformar ou mineralizar contaminantes orgânicos, que estejam presentes em águas, solos, sedimentos e outras matrizes ambientais (SHARMA *et al.*, 2021). Pelas suas características econômicas, de segurança e ambientais vantajosas, as técnicas de biorremediação têm sido muito promissoras para promover a detoxificação de lodos (FRANCO *et al.*, 2021; MAZZEO *et al.*, 2015, 2020; SOMMAGGIO *et al.*, 2018a). A incorporação de materiais que estimulem o crescimento de microrganismos pode contribuir para a maior eficácia do processo de degradação de substâncias orgânicas tóxicas (MAZZEO *et al.*, 2014). Esses agentes estimulantes favorecem tanto o aumento da porosidade como a aeração do substrato, agindo como agentes descompactantes e/ou propiciando um acréscimo de energia ao sistema (SOMMAGGIO *et al.*, 2018a, 2018b; XU; LU, 2010).

Devido à elevada complexidade química do lodo, os bioensaios são considerados ferramentas ideais para a avaliação da comprovação do processo de detoxificação, uma vez que permitem detectar o efeito sinérgico dos contaminantes, bem como sua biodisponibilidade para os organismos (FRANCO *et al.*, 2021; MAZZEO *et al.*, 2015, 2016a, 2016b, 2020; SANTOS; SOMMAGGIO; MARIN-MORALES, 2022; SOMMAGGIO *et al.*, 2018a, 2018b).

Frente ao elevado risco ambiental do lodo de ETA quando disposto de maneira imprópria e ao seu alto potencial de aproveitamento, o presente estudo buscou desenvolver uma tecnologia de baixo custo, empregando resíduos provenientes da agroindústria, para aumentar a biodegradabilidade e promover a estabilização do lodo de ETA, visando a sua aplicação agrícola, de modo a contribuir para a economia circular, bem como para o aproveitamento dos nutrientes presentes nesse resíduo. Para isso, a fibra de coco e o bagaço de cana-de-açúcar foram utilizados como agentes bioestimulantes e aceleradores do processo de bioconversão do lodo de ETA. Adicionalmente, análises microbiológicas e avaliações fitotóxicas foram realizadas para garantir a eficácia do processo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta e caracterização dos materiais

O lodo utilizado neste estudo foi obtido na ETA II - José Crespo, localizada no município de Rio Claro – SP (coordenadas geográficas 22°24'21" S e 47°33'19" W), a qual realiza tratamento do tipo convencional (floculação, decantação, filtração, desinfecção e fluoretação). Esta ETA capta suas águas no Rio Corumbataí (classe II pelo CONAMA nº 357) e possui capacidade de operação de 500 L/s, com uma produção diária de 35.000 m³ de água potável, atendendo, aproximadamente, 60% da população do município. Durante o tratamento, é empregado o cloreto férrico como agente coagulante, a cal hidratada para correção do pH, o ácido fluossilícico na fluoretação e cloro como oxidante e desinfetante.

A coleta do lodo de ETA foi realizada em novembro de 2020, durante o procedimento de lavagem mensal dos decantadores, antes de sua disposição nas lagoas de secagem, representando o material sedimentado acumulado durante o mês. Essa limpeza é realizada, manualmente, com o auxílio de jatos d'água sob pressão, o que acarreta na diluição do lodo e, conseqüentemente, na diminuição de seus sólidos totais. As amostras foram acondicionadas em recipientes plásticos com tampa e encaminhadas para o laboratório, onde permaneceram sob refrigeração (4 °C) até o momento da montagem dos experimentos.

Uma parte do lodo coletado nessa mesma campanha amostral foi caracterizada em um outro trabalho (SANTOS, 2023), em relação à sua composição mineral, como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização química do Lodo de ETA, quanto à presença de compostos inorgânicos

Elemento	Concentração
Nitrogênio	5,7 mg/Kg
Fósforo Total	0,47%
Potássio Total	0,24%
Cálcio	1,06%
Magnésio	0,26%
Sódio	0,07%
Zinco	2,09%
Cobre	0,05%
Manganês	0,22%
Ferro	18,96%
Cobalto	<0,01%
Níquel	27,1 mg/Kg
Cádmio	<0,1 mg/Kg
Cromo	53,1 mg/Kg
Chumbo	79,0 mg/Kg

Fonte: Ribersolo – Laboratório de Análises de Solo e Folhas e Laboratório Keller Ambiental (nitrogênio).

Outro resíduo que foi utilizado neste estudo, o bagaço de cana-de-açúcar, foi adquirido em indústrias sucroalcooleiras, após o processo de moagem da cana. Este material foi empregado com função de agente descompactante e estimulante do processo de biodegradação. Após coleta, o mesmo foi triturado grosseiramente, em liquidificador doméstico (Arno, modelo Optimix) e incorporado às amostras.

A fibra de coco, outro rejeito bastante abundante no Brasil, também foi utilizado neste estudo, por se caracterizar em um material que favorece a retenção de umidade e a capacidade de troca de cátions. Este foi obtido em casas de vegetação que comercializam este material como substrato para crescimento de plantas (Golden Mix). Para ajuste da umidade, o produto foi seco em temperatura ambiente (sem controlar a temperatura) e peneirado em peneira de 1,41 mm de abertura, para posteriormente, ser utilizado no preparo das amostras.

O solo utilizado para diluição das amostras foi coletado com uma profundidade entre 10 a 20 cm, em novembro de 2020, na UNESP, Campus Rio Claro, (coordenadas geográficas

22°23'48"S e 47°32'38"W), o qual caracteriza-se por sua textura arenosa e condutividade elétrica de 0,623 dS/m. Sua composição granulométrica, bem como a concentração de micronutrientes e macronutrientes está descrita em Franco (2019). Este foi seco à temperatura ambiente e peneirado em peneira de 1,41 mm de abertura, para facilitar a mistura e incorporação dos materiais durante o preparo das amostras, favorecendo sua homogeneidade.

2.2 Análises físico-químicas

2.2.1 Líquidos Livres

Para a determinação da presença de líquidos livres no lodo de ETA, seguiram-se os procedimentos descritos na NBR 12.988 (ABNT, 1993), como descrito adiante.

Em um funil contendo papel de filtro 0,45 µg e suspenso em um suporte, adicionaram-se 100 g de lodo de ETA (Figura 1). Aguardou-se o período de 5 minutos para escoamento do líquido. O líquido drenado foi recolhido em um Erlenmeyer e medido com o auxílio de uma proveta. O ensaio foi realizado em duplicata e, exclusivamente, com a amostra de lodo.



Figura 1: Montagem do ensaio para determinação de líquidos livres **Fonte:** Autora, 2022.

2.2.2 Mensuração do pH

Para execução deste ensaio, utilizaram-se os procedimentos descritos no Manual de Métodos de Análises de Solo (EMBRAPA, 2017), com algumas modificações. Em um béquer, adicionaram-se 10 g do material úmido (solo ou lodo de ETA) e 25 mL de água destilada. A solução foi homogeneizada por cerca de 1 minuto em agitador magnético e, em seguida, deixada em repouso por 60 minutos para separação das fases. Ao término do repouso, foram feitas as leituras das amostras, utilizando o sobrenadante formado para medição desse parâmetro em pHmetro (Marconi). Este ensaio foi realizado em triplicata.

2.2.3 Série de sólidos e determinação de carbono

Para essas análises, seguiu-se o protocolo proposto por Goldin (1987), com algumas modificações. Inicialmente, cápsulas de porcelana foram secas por 24 h em estufa (FANEM, modelo 315 SE) a 105 °C, resfriadas em dessecador e taradas. Cerca de 10 g de cada um dos materiais foram colocados em cápsulas individuais e submetidas à secagem em estufa a 105 °C por 24 h, visando eliminação de toda a água presente. Após esse período, as cápsulas com as amostras foram resfriadas em dessecador e pesadas para a obtenção da massa seca de cada material (sólidos totais). Então, as cápsulas com as amostras foram acondicionadas em forno do tipo mufla (Lucadema) e incineradas em uma temperatura de 550 °C por 3 h. Posteriormente, as cápsulas foram resfriadas em dessecador e pesadas, para determinação de sólidos fixos e voláteis, de acordo com as equações 1, 2, e 3 (APHA *et al.*, 1998). As análises foram realizadas em triplicata.

$$\% \text{ Sólidos Totais} = \frac{\text{massa seca} * 100}{\text{massa úmida}} \quad (\text{Equação 1})$$

$$\% \text{ Sólidos Fixos} = \frac{\text{massa da amostra calcinada} * 100}{\text{massa seca}} \quad (\text{Equação 2})$$

$$\% \text{ Sólidos Voláteis} = \frac{(\text{massa seca} - \text{massa amostra calcinada}) * 100}{\text{massa seca}} \quad (\text{Equação 3})$$

O teor de matéria orgânica (MO) dos resíduos (lodo de ETA, bagaço de cana e fibra de coco) foi determinado pela diferença entre sua massa seca a 105 °C e a massa final do material incinerado (cinzas), dividido pela sua massa seca. O carbono total inicial (CT) e o carbono orgânico (CO) foram obtidos a partir das equações 4 e 5, respectivamente, as quais, segundo Carmo e Silva (2012), possibilitam a conversão do valor de matéria orgânica presente em

resíduos orgânicos, obtido pelo método da mufla, em carbono total e orgânico, com precisão. Para o solo, foi considerado o fator de van Bemmelen de 0,58 para a transformação de MO em CO (HEATON; FULLENI; BHATTACHARYYA, 2016).

$$\text{Carbono Total Inicial} = 0,463 \times \text{MO} - 0,550 \quad (\text{Equação 4})$$

$$\text{Carbono Orgânico} = 0,425 \times \text{MO} - 2,064 \quad (\text{Equação 5})$$

2.3 Verificação da presença de ovos viáveis de *Ascaris* spp.

Neste ensaio foi utilizada a técnica de centrífugo-flutuação para a quantificação de ovos viáveis de helmintos, adaptado da norma técnica L5.551 (CETESB, 2013). Em um béquer com capacidade de 2 L, foram adicionados 10 g de lodo (massa seca) e água destilada em quantidade suficiente para se completar 1 L. Em seguida, a amostra ficou em repouso por 4 h a 4°C.

Logo após o primeiro repouso, a amostra foi homogeneizada com o auxílio de um agitador magnético por um minuto, em velocidade baixa. Então, a amostra foi dividida em 4 béqueres com capacidade de 1 L cada. Em seguida, os béqueres foram completados para 900 mL com uma solução de detergente 7x a 0,1%, isento de fosfato (ES 7X, MP Biomedicals) e o processo de sedimentação foi repetido por mais 4 h a 4 °C.

Passado o período de sedimentação, o sobrenadante (parte líquida) de cada béquer foi aspirado deixando apenas a camada de sólidos, a qual foi homogeneizada em agitador magnético por 1 minuto, em baixa velocidade. Em seguida, adicionaram 450 mL de água destilada, completando com a solução detergente para 900 mL. Então, os béqueres foram deixados repousando nas mesmas condições anteriormente citadas. Esse mesmo processo foi repetido mais uma vez. No total, os procedimentos de lavagem e sedimentação da amostra foram realizados por 3 vezes consecutivas. Na última aspiração, todo o sobrenadante foi retirado e a parte sólida dos 4 béqueres foram agrupadas em um único recipiente contendo 300 mL da solução de detergente. Com o auxílio do agitador magnético, ocorreu a homogeneização por 5 minutos. Logo após, a amostra foi transferida para um béquer com capacidade de 2 L, passando por uma peneira de 50 mesh, seguida por repouso de 24 h.

2.3.1 Incubação da amostra

Passado o período da última sedimentação, foi aspirado todo o sobrenadante e o material sólido que restou foi completamente removido e dividido, igualmente, em tubos de centrífuga cônicos com capacidade de 50 mL. Em seguida, os tubos foram centrifugados por 10 minutos a 2000 rpm. Posteriormente, o sobrenadante foi vertido, com cautela, para que o sedimento não desprendesse do fundo do tubo, sendo adicionado cerca de 15 mL de solução de sulfato de magnésio gravidade específica 1,20. Os tubos foram homogeneizados em vórtex, por 15 segundos. Completou-se para 40 mL com a mesma solução e os tubos foram centrifugados novamente por mais 10 minutos.

Com uma peneira de 400 mesh umedecida, foi vertido cerca de 25 a 35 mL do sobrenadante de cada tubo em um único béquer. O material retido na peneira foi lavado com o auxílio de uma pisseta contendo água destilada e disposto em um tubo cônico. O volume do tubo foi completado até 50 mL com água destilada e, novamente, foi levado a centrifugação por 5 minutos.

Posteriormente, o sobrenadante foi aspirado e o sólido transferido para um tubo com tampa de capacidade de 15 mL. Foram adicionados 2 mL da solução de formalina 0,5% no tubo de 50 mL com o intuito de remover qualquer vestígio da amostra que tenha restado e vertido no tubo de 15 mL. Repetiu-se o processo mais uma vez. Por fim, este tubo foi incubado em BOD (marca SOC. FABBE LTDA) por 23 dias a 26 ± 1 °C, sendo monitorado a cada 48h, para reposição da solução em caso de evaporação.

2.3.2 Leitura e Resultado

Ao término da incubação, cerca de 1 mL da amostra foi transferido para a câmara de “Sedgewick-Rafter” e, com a utilização do microscópio de luz, no aumento de 40x, foi feita a observação da presença ou ausência de ovos e/ou larvas.

O cálculo foi baseado no número de ovos por grama de sólidos totais, de acordo com a equação (Equação 6), apresentada a seguir:

$$N = \frac{\text{ovos de } \textit{Ascaris} \text{ spp.}}{\text{g de sólidos totais}} \quad (\text{Equação 6})$$

2.4 Detecção de coliformes totais e *Escherichia coli*

A determinação da presença de coliformes totais e *E. coli* no lodo de ETA foi feita, simultaneamente, pelo emprego de um meio cromogênico seletivo e diferencial (Chromocult® Coliform Agar, Merck Millipore), recomendado pela ISO 9308-1 (2014).

Este meio contém dois substratos cromogênicos, o Salmon-GAL, que reage com a enzima β -D-galactosidase produzida pelas bactérias do grupo dos coliformes resultando em colônias com coloração avermelhadas; e o X-glucuronide que reage com a enzima β -D-glucuronidase, produzida exclusivamente pela *E. coli*, resultando em colônias de coloração violeta. Adicionalmente, a presença de lauril sulfato de sódio inibe o crescimento de bactérias Gram-positivas.

Para essa análise, 10 g de lodo foram adicionados em um Erlenmeyer contendo 90 mL de solução salina 0,85 %. A homogeneização ocorreu em *shaker* por 10 minutos, sendo, após esse período, realizada a transferência de 1 mL da solução para placas de Petri, sobre as quais o meio de cultura foi vertido. Então, as placas foram incubadas por 48 h em estufas (marca SOC. FABBE LTDA) a 35 °C. As leituras aconteceram a cada 24 h após a incubação, sem extrapolar o prazo de finalização do ensaio. Este ensaio foi realizado em duplicata.

2.5 Secagem do Lodo de ETA

Para diminuição da quantidade de água presente no lodo de ETA foi realizado um processo de secagem. Primeiramente, as amostras de lodo foram acondicionadas em funis contendo algodão na parte inferior interna. Todo o excesso de líquido foi escoado por um período de 3 dias. Na sequência, o lodo foi disposto em camadas finas com 3 a 5 centímetros de espessura em bandejas, permanecendo em local coberto e ventilado por 7 dias, a temperatura ambiente (Figura 2). Um revolvimento das amostras foi realizado a cada 48 horas. Finalizado esse período, como houve a formação de grânulos, o lodo foi triturado mecanicamente em liquidificador e peneirado em peneira com 1,41 mm de abertura.

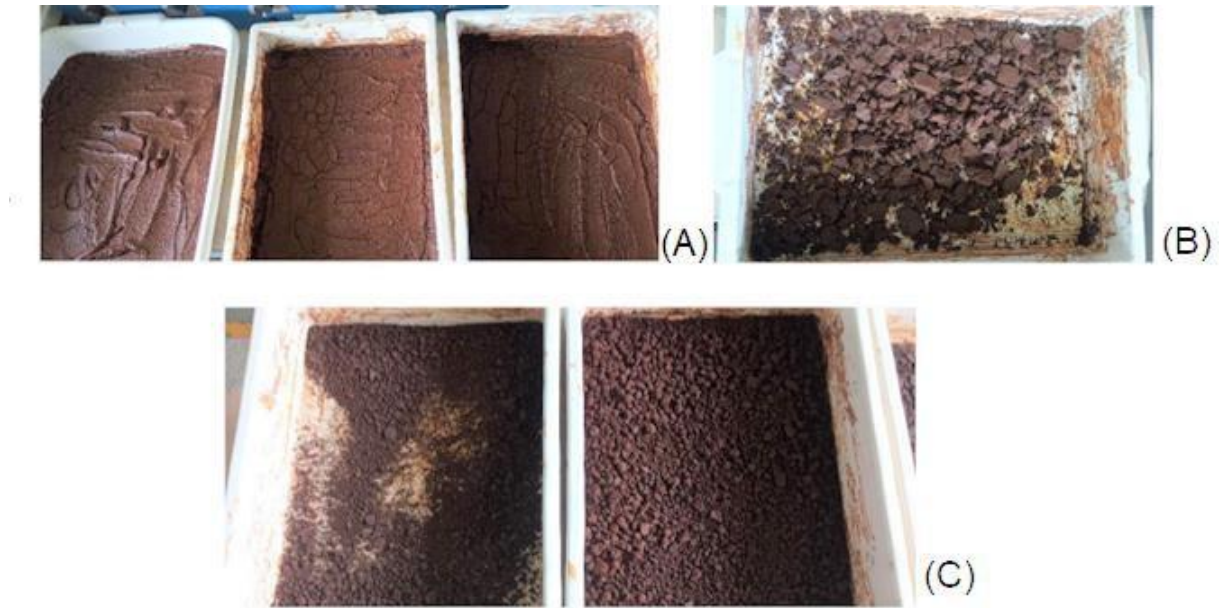


Figura 2: Etapas da secagem do lodo de ETA. A: Lodo após 24 horas; B: Lodo após 4 dias; C: Lodo após 7 dias de secagem **Fonte:** Autora, 2022

2.6 Ensaio de biodegradação por respirometria

A biodegradabilidade das diferentes amostras foi avaliada pela técnica de respirometria proposta por Bartha e Pramer (BARTHA; PRAMER, 1965), onde foram utilizados respirômetros para medir a produção microbiana de CO_2 (Figura 3).

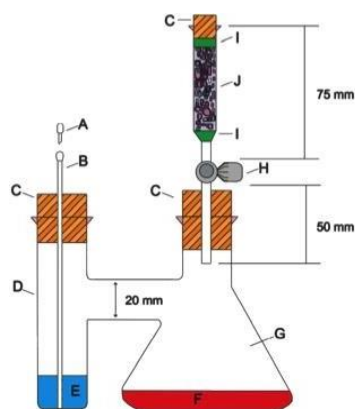


Figura 3: Esquema de um respirômetro de Bartha e Pramer. A: Tampa da cânula; B: Cânula (diâmetro de 1 a 2 mm); C: Rolha de borracha; D: Braço lateral (diâmetro de 40 mm; altura de 100 mm); E: Solução de KOH; F: Amostra; G: Frasco Erlenmeyer (250 mL); H: Válvula; I: Suporte (lã de vidro); J: Filtro de cal sodada (diâmetro de 15 mm; altura de 40 mm). **Fonte:** Montagnolli; Lopes e Bidoia (2009).

O CO_2 produzido foi capturado pela solução de hidróxido de potássio (10 mL; 0,2 N), localizada no braço lateral do respirômetro. A quantidade de gás carbônico absorvida foi medida por um método eletroquímico a partir de leituras de condutividade (STROTMANN *et al.*, 2004). Este método baseia-se no fato de que a solução de KOH é convertida em uma solução de carbonato de potássio, devido à captura do dióxido de carbono. Como a condutividade de uma solução é proporcional à concentração dos eletrólitos nela presentes, é possível estimar a quantidade de dióxido de carbono produzido pela microbiota e fixado na solução de KOH, na forma do íon carbonato, pela medida da condutividade nesta solução alcalina. Para isso, antes do início do experimento, foi realizada a construção de uma reta analítica contendo os valores medidos de condutividade de misturas de proporções conhecidas dos reagentes KOH e K_2CO_3 , com molaridade conhecida, versus a quantidade de CO_2 produzido.

2.6.1 Construção da reta analítica

Primeiramente, fez-se a padronização da solução de KOH por titulação, utilizando uma solução de biftalato de potássio ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$), normalmente utilizado em padronização por ser considerado um padrão primário. Não foi necessária a padronização da solução de K_2CO_3 , pois esta também é considerada um padrão primário (FRANCO *et al.*, 2021).

Posteriormente, foram preparadas 11 soluções com diferentes quantidades de KOH 0,2M e K_2CO_3 0,1 M (Tabela 2). Adicionalmente, também foram adicionados a essas soluções 20 mL de água isenta de dióxido de carbono, a fim de manter as mesmas proporções utilizadas

nas leituras dos respirômetros. Após mensuração da condutividade dessas soluções, os resultados foram utilizados para gerar uma equação de regressão linear com o intuito de transformar os valores de condutividade em μmol de CO_2 produzido (Figura 4). Para isso, considerou-se a estequiometria da reação a seguir (Equação 7), na qual cada mol de CO_2 consumido produz um mol de CO_3^{2-} .



Tabela 2: Volumes de reagentes empregados nas soluções utilizadas para a construção da reta analítica e correlação com o íon carbonato

KOH 0,2M (mL)	K ₂ CO ₃ 0,1M (mL)	H ₂ O	[CO ₃ ²⁻] (μmol)
10,0	0	20,0	0
9,0	1,0	20,0	100
8,0	2,0	20,0	200
7,0	3,0	20,0	300
6,0	4,0	20,0	400
5,0	5,0	20,0	500
4,0	6,0	20,0	600
3,0	7,0	20,0	700
2,0	8,0	20,0	800
1,0	9,0	20,0	900
0	10,0	20,0	1000

2.6.2 Preparo das amostras

Para a realização dos ensaios, o lodo de ETA, após secagem, foi misturado com bagaço de cana-de-açúcar ou fibra de coco e, então, adicionado ao solo. A concentração de cada tratamento foi baseada na massa seca do solo (50 g), adicionando-se 10% (5 g) ou 15% (7,5 g) do lodo, também em base seca. A mesma lógica foi aplicada para os agentes bioestimuladores. Ao final, os seguintes tratamentos foram obtidos:

- Solo (S)
- Solo + Bagaço de cana-de-açúcar 5% (S + B 5%)
- Solo + Fibra de coco 5% (S + F 5%)
- Solo + ETA 10% (S + ETA 10%)
- Solo + ETA 10% + Bagaço de cana-de-açúcar 5% (S + ETA 10% + B 5%)
- Solo + ETA 10% + Fibra de coco 5% (S + ETA 10% + F 5%)
- Solo + ETA 15% (S + ETA 15%)

- Solo + ETA 15% + Bagaço de cana-de-açúcar 5% (S + ETA 15% + B 5%)
- Solo + ETA 15% + Fibra de coco 5% (S + ETA 15% + F 5%)

As proporções de cada resíduo foram escolhidas com base no melhor ajuste do teor de umidade (capacidade de campo ao redor de 60 %) e porosidade. Assim, experimentos de otimização miniaturizados foram realizados previamente para determinação da composição das misturas, considerando uma proporção que utilizasse a máxima carga de lodo de ETA, mas que não inviabilizasse o processo de biodegradação.

2.6.3 Determinação da Capacidade de Campo

Para o cálculo da capacidade de campo, iniciou-se com o acondicionamento das diferentes amostras em funis contendo algodão em seu interior. Em seguida, foi adicionada água às amostras com o objetivo de saturá-las, até que houvesse a passagem desta pela parte inferior do funil. Na sequência, foi feita a selagem da parte superior dos funis com filme plástico para evitar perda de água por evaporação.

Após repouso de 24h das amostras seladas, cerca de 10g de cada amostra saturada do funil foi retirada e transferida para recipientes tarados. Posteriormente, esse material foi colocado em estufa a 105 °C por 24h e, após o seu resfriamento em dessecador, foram pesados novamente.

Por fim, foi feito o cálculo com as diferenças dos pesos iniciais e finais das amostras, descontando a quantidade de água que a própria amostra possuía originalmente (obtida por meio do cálculo da massa seca). Este procedimento foi realizado em triplicata para todas as amostras.

2.6.4 Preparo do inóculo

A fim de se garantir uma população microbiana satisfatória para a realização do ensaio de respirometria, foi preparado um inóculo a partir da amostra de solo para ser adicionado a todos os respirômetros anteriormente ao início do experimento.

Para isso, 10g de solo foram adicionados a um Erlenmeyer contendo 90 mL de caldo nutriente. Este recipiente foi incubado, em incubadora com agitação orbital MA 410/VF da marca Marconi, a 25 °C por 36 h, sob agitação. O inóculo foi preparado em duplicata, sendo as mesmas misturadas antes de sua distribuição, para garantir homogeneidade.

2.6.5 Montagem, incubação e leitura dos respirômetros

As diferentes amostras foram adicionadas aos respirômetros, respeitando a quantia de 50 g de solo (massa seca), acrescida dos demais materiais (lodo de ETA, fibra de coco ou bagaço de cana-de-açúcar).

Cada frasco (5 por amostra) recebeu 2 mL do inóculo e teve sua capacidade de campo ajustada para 60%. Foram acrescentados 10 mL da solução de KOH 0,2 N ao braço lateral e os frascos foram incubados em estufa (SOC FABBE LTDA) a 28°C na ausência de luz.

O ensaio foi realizado por um período de 120 dias após constatação da manutenção da taxa de CO₂ produzido em todos os tratamentos. Durante os primeiros 36 dias, as leituras foram realizadas diariamente para evitar a saturação da solução de KOH. Posteriormente, as leituras foram feitas a cada 48 h, por conta da diminuição da intensidade da respiração. Após cada leitura de condutividade, os respirômetros foram aerados durante 1 minuto através dos filtros de cal sodada para manter a aerobiose do sistema e a solução de KOH foi repostada.

Ao final do experimento, a produção de gás carbônico foi utilizada para estimar a quantidade total de compostos orgânicos mineralizados, possibilitando o cálculo da taxa de eficiência da biodegradação (EB), de acordo com a equação 8.

$$EB = \frac{\text{Total de carbono biodegradado na amostra } (\mu\text{mol})}{\text{Quantidade de carbono orgânico inicial na amostra } (\mu\text{mol})} \times 100 \quad (\text{Equação 8})$$

Como 50% do carbono biodegradado é convertido à CO₂ e a outra metade é adicionada ao solo como húmus e biomassa, considera-se que o total de carbono biodegradado foi referente ao dobro da quantia de CO₂ produzida. Já a quantidade de carbono orgânico inicial de cada amostra foi obtida como descrito no item 3.2.3.

2.7 Quantificação de bactérias heterotróficas totais e fungos

A quantificação de bactérias heterotróficas totais e fungos foi realizada nas amostras iniciais e finais do processo de biodegradação. Ambas as análises foram realizadas em triplicata.

O ensaio de contagem de bactérias heterotróficas totais foi feito por meio de plaqueamento por profundidade (*Pour Plate*), utilizando o meio de cultura Plate Count Agar (PCA), com acréscimo de actidiona (5 ppm), conforme descrito na norma técnica L.5.201 (CETESB, 2006). Em Erlenmeyers contendo 90 mL de solução salina estéril 0,85 %, foram adicionados 10 g de cada uma das amostras, os quais foram homogeneizados, em *shaker*, por

10 minutos. Logo após, foram realizadas diluições sequenciais e 1mL de cada diluição foi transferido para as placas de Petri. Após adição do meio, essas placas foram incubadas invertidas por 48 h em estufa (SOC FABBE LTDA) a 35 °C.

Para a contagem de leveduras e fungos filamentosos, o plaqueamento foi realizado pelo método de espalhamento em superfície “Spread-Plate”, utilizando o meio de cultura Sabouraud Dextrose com a adição dos antibióticos cloranfenicol, estreptomicina e penicilina, na concentração de 200 µg/mL cada. As diluições foram preparadas em Erlenmeyers por meio da homogeneização, em *shaker* (Marconi, modelo MA 410/VF), de 10 g da amostra em 90 mL de solução salina estéril 0,85 %. Após agitação por 10 minutos, foram realizadas diluições sequenciais e uma alíquota de 100 µL foi transferida para as placas contendo o meio. Então, estas foram incubadas em estufa por 7 dias a 28 °C.

As contagens foram realizadas a cada 24 h após a incubação, não extrapolando o prazo de finalização das análises, ou seja, 48 h para bactérias heterotróficas e 7 dias para fungos. Em seguida, os valores foram analisados estatisticamente pelos testes: ANOVA 1 critério (Tukey), para avaliar a significância entre as UFC das amostras e do solo (controle). E o Teste *t* para comparar uma mesma amostra antes e depois do ensaio de biodegradação, sendo considerado o valor de significância $p < 0,05$ para ambos testes.

2.8 Preparo dos extratos aquosos

Os extratos aquosos das amostras foram preparados antes e após o ensaio de biodegradabilidade, seguindo a norma técnica NBR 10.006 (ABNT, 2004), que define os procedimentos para a obtenção de solubilizados a partir de resíduos sólidos. As etapas consistiram em:

- Solubilização de 125 g de cada amostra, referente ao peso seco, em 500 mL de água ultra pura;
- Agitação mecânica constante, pelo tempo de 5 minutos, em velocidade baixa;
- Decantação de materiais em suspensão em frascos cobertos com filme de PVC, por 7 dias a 22 °C em BOD da marca Marconi, modelo MA 415/S;
- Filtração do sobrenadante (parte líquida) em membrana com porosidade de 0,45 µm;

Os extratos aquosos obtidos foram utilizados nos bioensaios com sementes, com o intuito de avaliar o potencial de toxicidade do lodo, bem como, um possível risco de

contaminação dos recursos hídricos, devido à possível presença de compostos tóxicos solúveis em água.

2.9 Testes de fitotoxicidade com sementes de *Lactuca sativa* (alface)

Os ensaios de germinação foram realizados conforme descrito no protocolo OPPTS 850.4200 (USEPA, 1996), utilizando sementes de *Lactuca sativa* (alface, tipo americana, marca Isla). Primeiramente, foram dispostas 20 sementes em placas de Petri contendo papel filtro embebido em 5 mL do extrato aquoso das diferentes amostras. Para o controle negativo, utilizou-se água destilada e o controle positivo foi realizado com sulfato de zinco heptahidratado (0,05 M – ZnSO₄.7H₂O). Após disposição das sementes, as placas foram levadas para incubadora BOD (Marconi, modelo 415/S), a 22 °C ± 1 °C, onde permaneceram por um período de 5 dias (120 horas), na ausência de luz. Após a incubação, as placas foram congeladas para, posteriormente, serem realizadas as medições. O ensaio foi realizado em triplicata.

Após exposição, contaram-se as sementes germinadas e foram realizadas as medições do hipocótilo e da radícula das plântulas recém germinadas com o auxílio de uma régua. Os resultados obtidos forneceram informações quanto ao potencial fitotóxico das amostras, o qual foi avaliado por meio do Índice de Germinação (IG), da Germinação Relativa (GR) e do Crescimento Relativo (CR). Esses índices foram calculados a partir das seguintes equações:

$$\text{IG} = \frac{\text{n}^\circ \text{ sementes germinadas amostra} \times \text{comprimento médio radícula amostra}}{\text{n}^\circ \text{ sementes germinadas controle} \times \text{comprimento médio raiz controle}} \times 100$$

(Equação 9)

$$\text{GR (\%)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ sementes germinadas amostra}}{\text{n}^\circ \text{ sementes germinadas controle}} \times 100 \quad (\text{Equação 10})$$

$$\text{CR (\%)} = \frac{\text{média do crescimento das raízes amostra}}{\text{média do crescimento das raízes controle}} \times 100 \quad (\text{Equação 11})$$

As diferentes amostras também foram classificadas como não tóxicas (IG > 80%); moderadamente tóxicas (IG entre 30 e 80%); e altamente tóxicas (IG < 30%), de acordo com os valores obtidos para o IG, conforme sugerido por Gonçalves *et al.* (2020).

A análise estatística foi feita por meio do teste de Kruskal-Wallis, a 0,05 de nível de significância, comparando as amostras com o controle negativo. Adicionalmente, o teste de Mann-Whitney, a um nível de significância de 0,05, foi utilizado para se comparar os efeitos de uma mesma amostra, antes e após o ensaio de respirometria, a fim de se avaliar a influência do processo de biodegradação sobre a toxicidade da amostra.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização Físico-Química

3.1.1 Líquidos Livres

Entre as características peculiares ao lodo de ETA, encontra-se seu alto teor de água, o qual influencia diretamente nas suas propriedades geotécnicas, incluindo grau de compactação e permeabilidade (SINHA, 1998). A presença de água nesse resíduo pode ser categorizada em quatro diferentes tipos: livre, intersticial, capilar e adsorvida. Entre estes, a água livre, geralmente correspondente a 70%, pode ser definida como aquela que circunda o material sólido e é facilmente removida por gravidade (GURJAR, 2021; XIE, 2015).

No lodo de ETA analisado neste estudo, quando em repouso, havia a formação de duas fases visualmente distintas, sendo a superior líquida e a inferior semissólida, com alta fluidez.

De acordo com a NBR 10.004 (ABNT, 2004), norma que descreve a classificação de resíduos, a verificação da presença de líquidos livres em uma amostra faz parte de sua caracterização. Para essa análise, o lodo de ETA estudado apresentou um volume de $18,75 \pm 1,8$ mL de líquidos livres. A presença de água livre no lodo contribui para um aumento significativo em seu volume, o que encarece os custos com transporte, dificulta sua disponibilização em aterros e favorece seu descarte *in natura* nos corpos hídricos, acarretando na poluição dos mesmos (ACHON *et al.*, 2013; ANDRADE *et al.*, 2014; ZANCAN; TOMIOLLO; MIOTTO, 2015).

Adicionalmente, outra periculosidade de se dispor esse resíduo no solo refere-se à possibilidade de lixiviação dos metais tóxicos presentes e consequente contaminação das áreas circundantes, incluindo as águas subterrâneas (NGUYEN *et al.*, 2022; SELEIMAN; SANTANEN; MÄKELÄ, 2020).

3.1.2 Mensuração do pH

As amostras de solo e lodo apresentaram um pH de $6,08 \pm 0,06$ e $7,02 \pm 0,02$, respectivamente. Os valores do lodo de ETA apontados na literatura apresentam uma ampla faixa de variação. Em um trabalho realizado por Morselli *et al.* (2022), estes autores apresentaram valores para este resíduo entre 5,1 a 8,4. Entretanto, segundo Richter (2001), lodos derivados de tratamento com a utilização de coagulantes férricos apresentam uma maior alcalinidade, com pH variando entre 7,4 a 9,5. Pensando em sua aplicação agrícola, o lodo estudado apresentou um pH adequado por se enquadrar em uma faixa neutra, não havendo necessidade de correção. Em um estudo realizado com lodo de esgoto anaeróbico, Pereira *et al.* (2020), observaram que um pH próximo da neutralidade confere um melhor aproveitamento de suas propriedades agronômicas, favorecendo a liberação de macro e micronutrientes para o solo. Em termos ambientais, o valor do pH do lodo aqui estudado também apresenta-se adequado, uma vez que lodos de ETA com acidez pronunciada, além de levarem à acidificação do solo, favorecem a mobilidade e a biodisponibilidade de metais pesados, incluindo o alumínio, o que pode levar a um comprometimento ambiental (KLUCZA *et al.*, 2017).

3.1.3 Série de sólidos e determinação de carbono

A tabela 3 traz os resultados da caracterização dos sólidos totais, fixos e voláteis, carbono total, carbono orgânico e teor de umidade dos materiais utilizados neste trabalho.

Tabela 3. Série de sólidos e porcentagem de carbono total, carbono orgânico e teor de umidade dos materiais empregados

Amostra	ST (%)	SF (%)	SV (%)	CT (%)	CO (%)	TU (%)
Solo	$89,86 \pm 0,32$	$90,13 \pm 0,37$	$9,87 \pm 0,37$	ND	$5,73 \pm 0,23$	$10,14 \pm 0,32$
Lodo (úmido)	$8,42 \pm 0,72$	$83,51 \pm 0,51$	$16,50 \pm 0,51$	$7,09 \pm 0,24$	$4,95 \pm 0,22$	$91,59 \pm 0,72$
Lodo (seco)	$82,22 \pm 0,16$	$84,70 \pm 0,25$	$15,30 \pm 0,25$	$6,53 \pm 0,12$	$4,44 \pm 0,11$	$17,78 \pm 0,16$
Bagaço	$88,91 \pm 0,06$	$0,48 \pm 0,03$	$99,52 \pm 0,03$	$45,53 \pm 0,01$	$40,23 \pm 0,01$	$11,09 \pm 0,06$
Fibra	$88,23 \pm 6,15$	$4,43 \pm 0,64$	$95,57 \pm 0,64$	$43,70 \pm 0,30$	$38,55 \pm 0,27$	$11,77 \pm 6,15$

Média e desvio padrão de três repetições avaliadas; ST: Sólidos Totais; SF: Sólidos Fixos; SV: Sólidos Voláteis; CT: Carbono Total; CO: Carbono Orgânico; TU: Teor de Umidade; ND: Não Determinado. **Fonte:** Autora, 2022.

Como é possível observar, o lodo recém coletado apresentou um elevado teor de umidade e, conseqüentemente, uma baixa porcentagem de sólidos totais. A incorporação deste

resíduo ao solo, com esse teor de umidade, excedia o valor ideal para ajuste da capacidade de campo das amostras para o ensaio de respirometria. De acordo com Wei e Tongbin (2004), para a compostagem de lodos, os valores de umidade das amostras não devem exceder 50 a 60%. Desse modo, este alto conteúdo de água fez com que fosse necessário realizar um procedimento de secagem do lodo, antes do preparo das amostras.

Após a secagem, a quantidade de sólidos fixos do lodo aumentou em cerca de dez vezes. Embora a realização desse procedimento acarrete na necessidade de uma etapa adicional antes de sua biorremediação, ele se mostrou crucial, não apenas por garantir a umidade ideal para o metabolismo microbiano durante a biodegradação da matéria orgânica, mas também para a diminuição do volume e por facilitar o transporte pela ETA, em caso de aplicação em escala real (REIS; CORDEIRO, 2013). Entretanto aumenta-se o custo de manuseio.

Quanto à quantidade de matéria orgânica, o lodo, após secagem, apresentou mais de 1,5 vezes o valor presente no solo, indicando que este material pode contribuir com o acréscimo de MO ao solo. Além disso, o lodo possui quantidades interessantes de nutrientes como fósforo (0,47%), cálcio (1,06 %), zinco (2,09 %) e ferro (18,96 %), além de quantidades menores de outros micronutrientes como potássio, magnésio, cobre e manganês (Tabela 1), o que agrega ainda mais vantagens ao seu uso agrícola. A quantidade mais pronunciada de ferro deve-se à utilização de cloreto férrico como coagulante. Segundo Richter (2001), lodos provenientes de ETA que empregam esse agente coagulante durante o tratamento apresentam uma variação entre 4,6% a 20,6% de ferro.

Alguns elementos químicos são essenciais para o desenvolvimento da planta, sendo classificados como macro e micronutrientes. Sabe-se que a fertilidade do solo está diretamente relacionada com a disponibilidade desses macros e micronutrientes (KIRKBY; RÖMHELD, 2017). O Nitrogênio (N), Potássio (K), Fósforo (P), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e Enxofre (S) compõem o grupo dos macronutrientes, responsáveis pelo desenvolvimento inicial e crescimento das plantas. No grupo dos micronutrientes encontram-se o Zinco (Zn), Cobre (Cu), Boro (B), Manganês (Mn), Cloro (Cl) e Molibdênio (Mo), que são responsáveis por completar o ciclo de vida da planta (CHIAREGATO, 2021; DIAS *et al.*, 2021).

Dentre os macronutrientes, o fósforo, quantificado no lodo de ETA aqui analisado, atua na fotossíntese, como ácido 3-fosfoglicérico, o primeiro produto estável desse processo, sendo também importante no metabolismo celular com ligações pirofosfatadas (ADP e ATP), essenciais para obtenção de energia e, ainda, está presente nas estruturas dos ácidos nucleicos (MALAVOLTA, 1967a; ROSA, 2021). Já o Ca contribui para o crescimento das plantas e

auxilia no metabolismo do nitrogênio, facilitando a absorção de nitratos. Em associação com o boro, atua no desenvolvimento e funcionamento das raízes, possui papel na ativação enzimática, equilibra o sal e os movimentos osmóticos nas células e, por fim, aciona o potássio para abertura e fechamento dos estômatos (MALAVOLTA, 1967b; NADEEM *et al.*, 2018).

Em relação aos micronutrientes, dentre os mais abundantes no lodo estudado, o Fe tem grande facilidade para realizar ligações com outros grupos, como ácidos orgânicos e fosfatos, sendo aproveitado pelas plantas nas formas di e trivalente (Fe^{2+} e Fe^{3+}) para compor o grupo heme de algumas proteínas encarregadas por transportar elétrons na respiração e a ferridoxina, o primeiro produto redox estável na cadeia transportadora de elétrons da fotossíntese, responsável por transferir elétrons para vários metabólitos essenciais da planta. Também atua na ativação de enzimas e na biossíntese de clorofila, que apesar de não conter ferro em sua composição, depende da presença desse elemento para sua produção (KIRKBY; RÖMHELD, 2007; MALAVOLTA, 1967c). Além dele, o Zn contribui para a ativação de algumas enzimas, atua na síntese de carboidratos, e é necessário para a produção do ácido indolacético (AIA), uma auxina importante no crescimento das plantas (KIRKBY; RÖMHELD, 2007; MALAVOLTA, 1967c).

Adicionalmente, esse lodo também se caracteriza pela presença de metais pesados como níquel, cromo e chumbo (Tabela 1). Entretanto, no Brasil, não há uma legislação que estabeleça os limites máximos de metais para a aplicação do lodo de ETA em solos. Porém, baseado na Resolução CONAMA n° 498/2020 (BRASIL, 2020), que define os critérios para a utilização de lodo de esgoto (resíduo semissólido proveniente das Estações de Tratamento de Esgoto - ETE), os valores desses metais apresentados pelo lodo de ETA aqui estudado encontram-se bem abaixo dos limites máximos determinados por essa resolução, indicando uma baixa periculosidade quanto a esse critério para destinação agrícola. Colaborando com os resultados aqui apresentados, Barakwan, Trihadiningrum e Bagastyo (2019), também encontraram uma baixa concentração dos metais cromo (0,217 mg/L) e cobre (0,559 mg/L) no lodo de ETA. Morselli *et al.* (2022), ao quantificarem as concentrações dos metais arsênio, bário, cádmio, mercúrio, molibdênio, selênio, chumbo, cromo, níquel e cobre, observaram que todos encontravam-se dentro dos limites estabelecidos pelo CONAMA n° 498, demonstrando a conformidade do seu uso em solo agrícola. Contudo, é importante ressaltar que também deve-se levar em conta a taxa máxima anual de aplicação em solos a fim de se evitar a sobrecarga desse ambiente por metais, da mesma forma como ocorre para a aplicação do lodo de esgoto.

3.2 Verificação da presença de ovos viáveis de *Ascaris* ssp.

A disseminação de material contendo parasitas patogênicos no ambiente caracteriza uma relevante preocupação de ordem epidemiológica. Esses ovos quando encontrados no solo, podem persistir por 6 meses a 1 ano (GASPARD; SCHWARTZBROD, 2003). Devido a esse fato, essa análise tem sido incluída em diversos estudos que visam o aproveitamento de resíduo como aditivo agrícola (FRANÇA *et al.*, 2021; FEIRA-DIÁZ; POLO-CORRALES; HERNANDEZ-RAMOS, 2016; PANTANO *et al.*, 2020; ROCHA *et al.*, 2016). Embora a presença de ovos de helmintos seja mais comum em lodos provenientes de Estações de Tratamento de Esgoto, a captação de água bruta de qualidade inferior pode levar ao aparecimento de ovos no lodo de ETA, uma vez que estes resistem ao processo de cloração, necessitando do emprego de tecnologias mais efetivas para sua remoção (ROBLES *et al.*, 2020). Contudo, não foram encontrados ovos de helmintos no lodo em estudo, caracterizando como um material promissor para uso agrícola, do ponto de vista parasitológico.

3.3 Detecção de coliformes totais e *E. coli*

A contagem de coliformes totais no lodo de ETA, antes de sua secagem, revelou a presença de $143 \pm 16,8$ UFC (Unidades Formadoras de Colônias) por grama de sólidos totais. Adicionalmente, foi constatada a ausência de *Escherichia coli* nesta amostra.

Os coliformes totais e termotolerantes são utilizados como indicadores de qualidade da água, pois estes estão relacionados à presença de microrganismos patogênicos de doenças de veiculação hídrica, sendo a espécie *E. coli* a mais importante pela sua associação direta com a microbiota intestinal humana (SPECIAN *et al.*, 2021). A presença desse grupo de microrganismos em solo pode contribuir com a disseminação de patógenos e consequente contaminação de águas e plantações, de modo que, por serem resistentes e capazes de permanecerem viáveis por longos períodos, oferecem riscos direto à saúde humana (GUZMAN *et al.*, 2020; MAKUWA *et al.*, 2020).

Como observado no presente estudo, o lodo de ETA apresentou uma quantidade muito baixa de coliformes totais e ausência de *E. coli*. Como a composição microbiológica do lodo de ETA está diretamente relacionada com a qualidade da água bruta captada, a qual é classificada como classe II, um número baixo de colônias de coliformes é esperado. Adicionalmente, como a água tratada deve atender às exigências descritas na Resolução nº 357 para água potável (BRASIL, 2005), a adição de agentes desinfetantes contribui para a baixa presença desse grupo de microrganismos neste material. Assim, nesse quesito, o lodo de ETA se mostra mais

promissor para aplicação em solo do que o lodo de ETE, uma vez que este possui uma carga microbiana, principalmente de coliformes, muito superior por ser derivado, principalmente, do tratamento de esgoto sanitário (MAKUWA *et al.*, 2020). Miguel *et al.* (2020) estimaram a presença de $2,5 \times 10^6$ e $6,3 \times 10^5$ UFC/g de lodo de esgoto para coliformes totais e *E. coli*, respectivamente. Enquanto que Alves e Marques (2021), ao analisarem amostras de lodo de ETA *in natura* também quantificaram valores bem inferiores a esses, variando entre 10,1 a 19,7 e 1,2 a 1,8 NMP (Número Mais Provável) /g para coliformes totais e *E. coli*, respectivamente. Ao se comparar os valores aqui obtidos com a Resolução n° 498 do Conama (BRASIL, 2020) para disposição de lodo de esgoto em solos, o lodo de ETA estudado enquadra-se bem abaixo do limite máximo de 10^3 *E. coli* por grama de sólidos totais para biossólidos de classe A e 10^6 *E. coli* por grama de sólidos totais para biossólidos de classe B estabelecido por essa legislação.

Além disso, a estabilização da matéria orgânica a partir de processos como compostagem, atenuação natural monitorada, incluindo a bioestimulação proposta no presente estudo, leva à eliminação dos coliformes e sua substituição por outros grupos de microrganismos de caráter não patogênico (MAZZEO *et al.*, 2015; 2020; SOMMAGGIO *et al.*, 2018b).

3.4 Ensaio de respirometria

3.4.1 Reta analítica empregada no ensaio de respirometria

Para possibilitar a conversão das medidas de condutividade em quantidade de CO₂ produzido, foi construída a reta analítica apresentada na figura 4. A partir desta reta, obteve-se a equação 10, a qual foi empregada para a quantificação do CO₂ no experimento de respirometria.

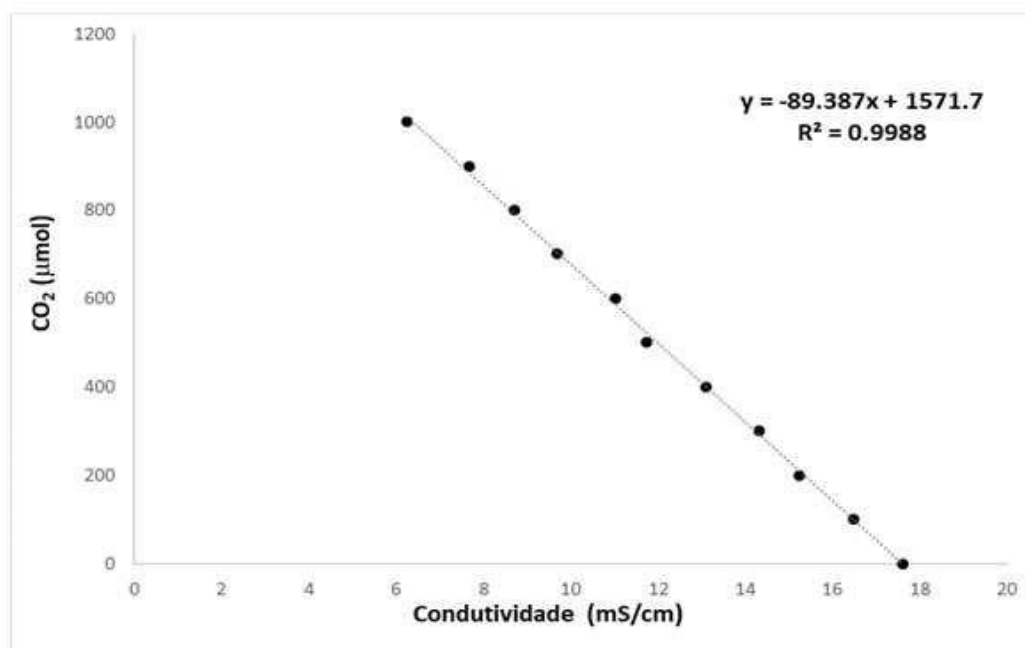


Figura 4. Reta analítica de CO₂ em função da condutividade medida em solução de KOH. **Fonte:** Autora, 2022

$$Y = -89,387x + 1571,7 \quad (\text{Equação 10})$$

3.4.2 Quantificação microbiana, produção de CO₂ e eficiência de biodegradação

A figura 5 mostra a produção diária de CO₂ quantificada ao longo dos 120 dias de experimento. É possível observar que a produção máxima de CO₂ se deu nos primeiros dias de análise, revelando que os microrganismos presentes nas amostras, bem como no inóculo utilizado, estavam adaptados aos substratos. Desse modo, não foi necessário um período de adaptação, já que as condições iniciais foram favoráveis ao crescimento microbiano. Segundo Chandra e Kumar (2017), o emprego de comunidades microbianas autóctones favorece o processo pelo fato dessas já estarem pré-adaptadas aos substratos alvos da biodegradação. Ainda, o aumento ou a introdução de microrganismos com potencial de degradação ao sistema é crucial para diminuir o período de biorremediação (SHARMA *et al.*, 2021).

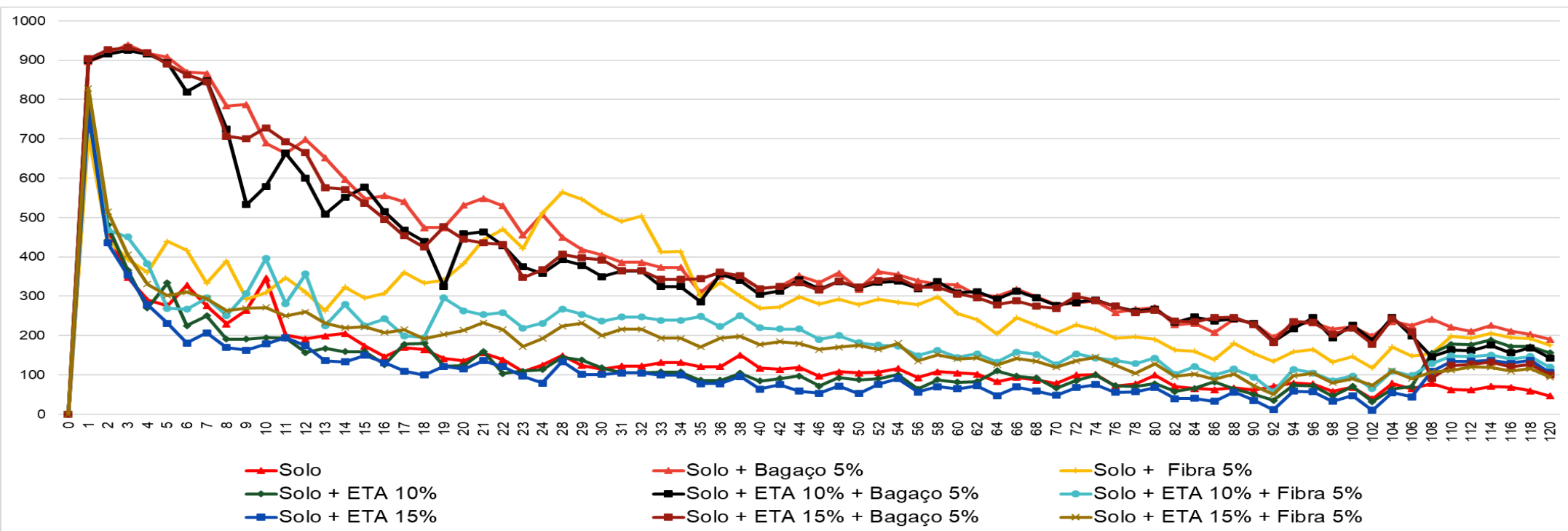


Figura 5. Produção de CO₂ diária observada no ensaio de respirometria. **Fonte:** Autora, 2022

Uma taxa de respiração mais intensa, principalmente, para as amostras contendo bagaço de cana-de-açúcar, fizeram com que as leituras fossem realizadas diariamente até o 36º dia do início da biodegradação. A partir desse período, as leituras passaram a ser realizadas a cada 48 horas. Por volta do 80º dia, foi possível observar uma manutenção na taxa de produção de CO₂ para todas as amostras até o final do experimento (120 dias).

A figura 6 apresenta a produção acumulada de CO₂ observada para cada uma das amostras avaliadas. Assim, pelo comportamento apresentado pelas amostras foi possível separá-las em 3 subgrupos pelas taxas similares de CO₂ produzido. As amostras que mais produziram CO₂ (S + B 5%, S + ETA 10% + B 5% e S + ETA 15% + B 5%), mantendo uma respiração intensa, continham bagaço de cana-de-açúcar em sua composição. Já, todas as amostras que possuíam fibra de coco em sua composição (S + F 5%, S + ETA 10% + F 5% e S + ETA 15% + F 5%) apresentaram uma taxa de produção intermediária. Já as amostras S, S + ETA 10% e S + ETA 15% apresentaram as menores taxas de produção de CO₂ quantificadas. As amostras contendo apenas solo e lodo de ETA (S + ETA 10% e S + ETA 15%) apresentaram uma taxa ainda mais baixa do que o solo controle, indicando que o lodo de ETA inibiu a atividade da população microbiana presente, revelando uma possível toxicidade ou recalcitrância. Tal fato pode ser justificado por sua constituição majoritariamente inorgânica, incluindo a presença de metais pesados (AHMAD; AHMAD; ALAM, 2016b). Além disso, a presença de compostos emergentes no lodo, como pesticidas, medicamentos, produtos de higiene pessoal, mesmo em pequenas quantidades, podem afetar a estabilização desse resíduo (ZHOU *et al.*, 2018). Segundo Jackson *et al.* (2019), a atividade de microrganismos no solo é diretamente influenciada pela biodisponibilidade, qualidade e quantidade de carbono. Sendo assim, quanto menor a recalcitrância do substrato, maior será a disponibilidade de carbono e a biomassa microbiana.

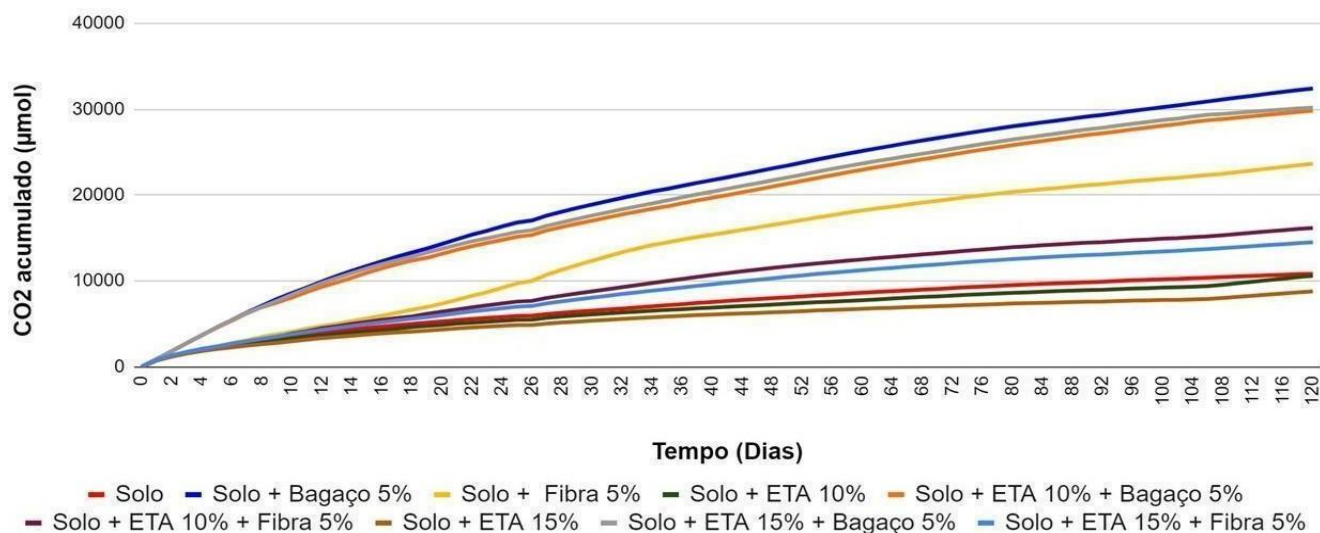


Figura 6. Produção acumulada de CO₂ observada durante os 120 dias de experimento. **Fonte:** Autora, 2022

Mesmo a amostra S + ETA 10% tendo apresentado uma quantidade inicial maior de bactérias heterotróficas quando comparado ao solo (Tabela 4), um aumento relativo da respiração não foi observado (Figuras 7 e 8). Ainda, as amostras S + ETA 10% e S + ETA 15% foram as que apresentaram uma menor quantidade de fungos, dentre todas as outras amostras, incluindo o solo (Tabela 5). Contudo, essa menor quantidade de fungos presentes nessas amostras não parece ter sido a única justificativa para essa baixa respiração. A presença de compostos mais recalcitrantes em proporções mais elevadas também parece contribuir para esse resultado, uma vez que a degradação biológica de compostos orgânicos não biodegradáveis e metais pesados não é efetiva (MIAO *et al.*, 2019).

Tabela 4. Contagem de bactérias heterotróficas nas diferentes amostras (UFC por grama de amostra seca)

Amostra	Antes Biodegradação	Depois Biodegradação
Solo	$1,69 \times 10^3 \pm 0,45$	$1,98 \times 10^6 \pm 2,89$
Solo + Bagaço 5%	$3,23 \times 10^5 \pm 3,23$	$3,15 \times 10^5 \pm 0,34$
Solo + Fibra 5%	$6,73 \times 10^3 \pm 0,72$	$5,4 \times 10^3 \pm 0,92$
Solo + ETA 10%	$2,02 \times 10^4 \pm 0,56$	$3,87 \times 10^5 \pm 0,28$
Solo + ETA 10% + Bagaço 5%	$2,59 \times 10^4 \pm 0,64$	$2,46 \times 10^5 \pm 1,52$
Solo + ETA 10% + Fibra 5%	$8,55 \times 10^3 \pm 4,26$	$1,69 \times 10^5 \pm 0,88$
Solo + ETA 15%	$1,17 \times 10^3 \pm 0,13$	$1,14 \times 10^5 \pm 0,37+$
Solo + ETA 15% + Bagaço 5%	$2,53 \times 10^4 \pm 0,24$	$1,99 \times 10^6 \pm 0,16+$
Solo + ETA 15% + Fibra 5%	$2,66 \times 10^5 \pm 0,72$	$1,78 \times 10^5 \pm 0,13$

*Estatisticamente significativo em relação ao Solo; +Estatisticamente significativo entre a mesma amostra antes e depois do período de biodegradação. **Fonte:** Autora, 2022

Tabela 5. Quantificação de fungos nas diferentes amostras estudadas (UFC por grama de amostra seca)

Amostra	Antes Biodegradação	Depois Biodegradação
Solo	$6,56 \times 10^3 \pm 0,72$	$4,52 \times 10^2 \pm 1,16+$
Solo + Bagaço 5%	$2,22 \times 10^4 \pm 1,61$	$9,55 \times 10^3 \pm 0,40^*$
Solo + Fibra 5%	$2,16 \times 10^3 \pm 0,43$	$2,59 \times 10^3 \pm 0,87$
Solo + ETA 10%	$4,8 \times 10^2 \pm 3,54$	$1,00 \times 10^3 \pm 0,12$
Solo + ETA 10% + Bagaço 5%	$2,9 \times 10^3 \pm 0,78$	$8,05 \times 10^3 \pm 1,23^*$
Solo + ETA 10% + Fibra 5%	$3,21 \times 10^3 \pm 0,45$	$5,09 \times 10^3 \pm 2,44^*$
Solo + ETA 15%	$3,7 \times 10^1 \pm 0,64$	$4,59 \times 10^2 \pm 0,37+$
Solo + ETA 15% + Bagaço 5%	$1,99 \times 10^4 \pm 0,88$	$1,02 \times 10^3 \pm 0,13$
Solo + ETA 15% + Fibra 5%	$5,81 \times 10^3 \pm 1,49$	$6,39 \times 10^3 \pm 3,32^*$

*Estatisticamente significativo em relação ao Solo; +Estatisticamente significativo entre a mesma amostra antes e depois do período de biodegradação. **Fonte:** Autora, 2022

Adicionalmente, também fica claro que a incorporação do bagaço de cana contribuiu para uma maior produção de CO₂. Segundo Bhadha *et al.* (2020), quando este material é incorporado ao solo, uma quantidade maior de matéria orgânica fica biodisponível para os microrganismos, favorecendo o aumento na concentração de carbono orgânico e uma consequente elevação das atividades microbianas. Além disso, o bagaço da cana-de-açúcar pode atuar como fonte de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre (FORTES *et al.*, 2012). Apesar de sua alta recalcitrância, devido à sua composição lignocelulósica (NIJU; SWATHIKA, 2019), bactérias pertencentes aos gêneros *Zymomonas* e *Cellulomonas*, além dos fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Trichoderma* e *Penicillium* podem prontamente realizar a biodegradação do bagaço de cana (FORTES *et al.*, 2012).

Embora a incorporação de fibra de coco ao solo possa contribuir para um aumento da concentração de macro e micronutrientes como potássio, sódio, cálcio, magnésio, sódio, ferro, manganês, zinco, cobre, entre outros, podendo exercer efeitos positivos na microbiota do solo (PAIVA *et al.*, 2022), este material induziu uma menor taxa de produção de CO₂ quando comparado com o bagaço de cana, porém, ainda assim, superior ao observado para as amostras sem a adição desses agentes estimulantes. Embora a fibra de coco também represente um material rico em lignina e celulose, seu teor nutricional é baixo (NUNES, 2021) e este não contém o açúcar livre residual presente no bagaço de cana, que contribui como substrato de fácil assimilação (PAMIDIPATI; AHMED, 2016).

Em termos de eficiência da biodegradação (Figura 7), foi possível confirmar a recalcitrância do lodo de ETA aqui estudado, uma vez que esses valores foram negativos para as amostras S + ETA 10% e S + ETA 15%. Ainda, foi possível observar que a taxa de eficiência dos materiais bioestimulantes (fibra de coco e bagaço de cana) diminui quando o lodo está presente. Isso fica evidente quando uma taxa de quase 60 % de biodegradação é observada para o bagaço isolado (S + B 5%) e este valor decai para menos de 40% na presença do lodo. (S + ETA 10% + B 5% e S + ETA 15% + B 5%). O mesmo comportamento também foi observado para a fibra de coco (S + F5%), onde a eficiência desse material no solo foi superior a 30 %, tendo essa taxa diminuída após a adição do lodo também em cerca de 20% (S + ETA 10% + F 5% e S + ETA 15% + F 5%). Contrariamente aos resultados aqui relatados, Guerra (2005) obteve taxas de eficiência bem mais satisfatórias para lodos de ETA após 118 dias de degradação, tanto puro ou quando misturado ao solo, variando entre 18 a 38%, para proporções de 30, 50, 70 e 100 % de lodo. No entanto, o autor descreveu que embora uma maior proporção de lodo tenha levado a uma maior taxa de produção de CO₂, as maiores taxas de eficiência de biodegradação foram relativas às amostras que continham as menores concentrações de lodo.

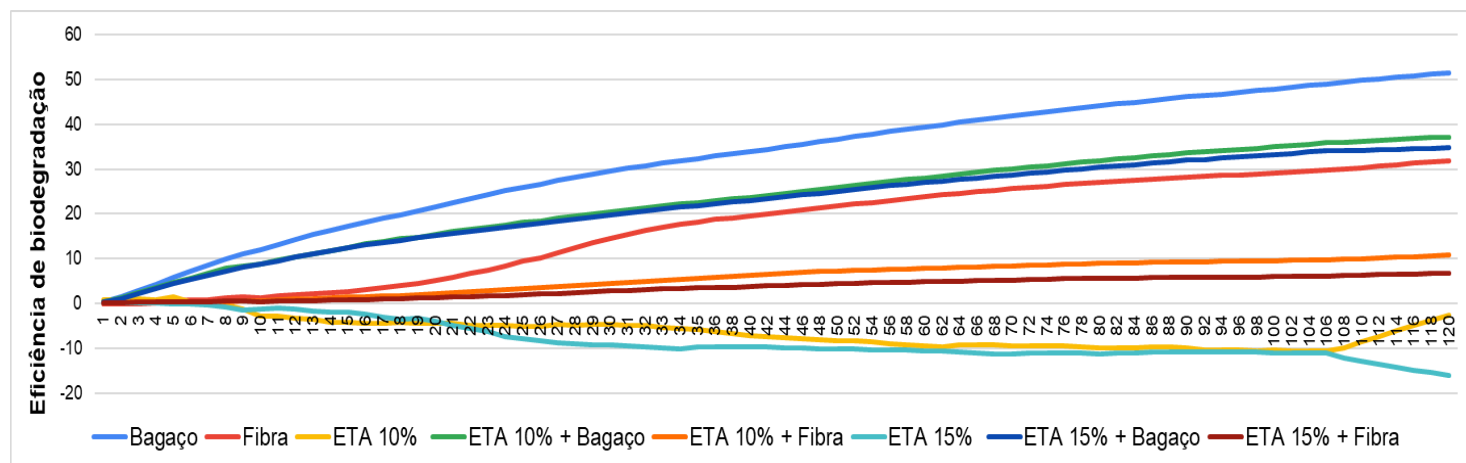


Figura 7. Eficiência de biodegradabilidade das amostras, na ausência do solo, calculada a partir dos dados respirométricos após 120 dias de ensaio. **Fonte:** Autora, 2022

Franco *et al.* (2021) também observaram que uma diminuição da eficiência da biodegradação estava diretamente associada a um aumento na concentração de lodo de ETA nas amostras, o qual inibia a degradação de outros resíduos presentes, por exemplo o lodo de esgoto, indicando possíveis compostos recalcitrantes. A amostra S + ETA 15% + F 5%, obteve a maior quantidade de bactérias na contagem inicial (Tabela 4), porém no processo de biodegradação não chegou a 10% de eficiência.

A possível toxicidade inicial exercida pelo lodo de ETA para os microrganismos parece ter sido minimizada ao longo do período de biodegradação, uma vez que a biomassa microbiana foi superior ao início do experimento (Tabela 4 e 5), sendo esse aumento significativo para a amostra S + ETA 15% para bactérias e fungos. Talvez, com um período maior de avaliação e com a escassez de outras fontes de matéria orgânica presente no substrato, o lodo de ETA pudesse ser biodegradado por uma comunidade microbiana mais específica e melhor adaptada.

Adicionalmente, também foi possível notar que, ao se comparar a biodegradabilidade dos agentes bioestimulantes empregados, o bagaço de cana é mais facilmente biodegradado do que a fibra de coco (Figura 7), corroborando os resultados apresentados por Pamidipati e Ahmed (2016). Além disso, no geral, as amostras contendo bagaço apresentaram quantidade mais elevada de microrganismos do que sua referida amostra contendo fibra (Tabela 4 e 5), demonstrando ser um melhor substrato para crescimento microbiano. Ainda sobre esses materiais, também foi possível observar que as amostras S + B 5% e S + F 5% foram as únicas cuja a comunidade microbiana diminuiu ao final do período de biodegradação avaliado para

ambos os grupos, indicando uma possível estabilização da matéria orgânica desses materiais. Já para as demais amostras, houve um aumento dos microrganismos em pelo menos um grupo (bactérias ou fungos) após o período final de biodegradação avaliado, o que evidencia a presença de compostos orgânicos em quantidade suficiente para elevar a biomassa microbiana.

3.5 Ensaio de fitotoxicidade com sementes de *Lactuca sativa*

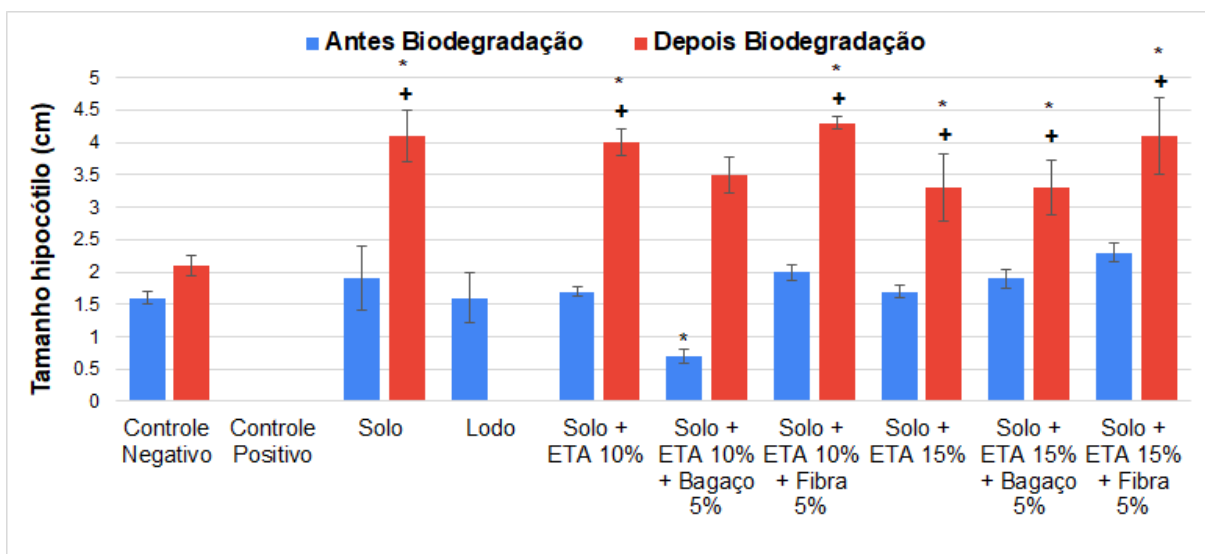
Este ensaio foi realizado com a exposição das sementes aos extratos aquosos (solubilizados) das diferentes amostras, antes e após o processo de biodegradação. Adicionalmente, a fitotoxicidade do lodo de ETA puro também foi avaliada, a fim de se verificar o potencial tóxico do lodo isoladamente. Por ser um teste rápido, fácil e de baixo custo vem sendo amplamente empregado na avaliação da toxicidade de resíduos sólidos como o lodo (FRANCO *et al.*, 2021; SOUZA, 2021; SANTOS; SOMMAGGIO; MARIN-MORALES, 2022).

Dentre as diferentes espécies de plantas sugeridas pela USEPA (1996), sementes de *Lactuca sativa* (alface) são frequentemente escolhidas por sua ampla disponibilidade, alta sensibilidade a substâncias tóxicas e rápido desenvolvimento (TAVARES *et al.*, 2019). Na tabela 6 estão apresentados os resultados do ensaio de fitotoxicidade com as sementes de alface, comparando a germinação relativa (%), o crescimento relativo da raiz (cm), o índice de germinação (%) e a classificação de cada amostra (não tóxica, moderadamente tóxica e altamente tóxica). Já a figura 8 mostra os resultados referentes ao comprimento do hipocótilo após exposição às amostras, antes e depois do ensaio de respirometria, uma vez que este parâmetro não é utilizado no cálculo do índice de germinação, apenas o comprimento da radícula.

Tabela 6. Avaliação do efeito fitotóxico das amostras sobre a germinação e o comprimento da radícula de *Lactuca sativa*.

Amostra	Tratamento	Germinação	Comprimento da Radícula (cm)	Índice de Germinação (%)	Classificação
CN	A/B	86,67 ± 10,41	1,9 ± 0,27	100	Não Tóxico
	D/B	91,67 ± 2,87	2,2 ± 0,23	100	Não Tóxico
CP	A/B	0	-	-	-
	D/B	0	-	-	-
Solo	A/B	81,67 ± 2,89	1,6 ± 0,36	77,66 ± 20,90	Moderadamente Tóxico
	D/B	90 ± 5	2,5 ± 0,25 +	112,92 ± 18,60	Não Tóxico
Lodo	A/B	93,33 ± 7,64	1,7 ± 0,43	98,80 ± 38,60	Não Tóxico
	D/B	-	-	-	-
S + ETA 10%	A/B	81,67 ± 5	1,4 ± 0,10	79,06 ± 12,73	Moderadamente Tóxico
	D/B	88,33 ± 2,87	2,8 ± 0,24 +	119,89 ± 10,54	Não Tóxico
S + ETA 10% + B 5%	A/B	71,67 ± 7,64	0,1 ± 0,02 *	4,38 ± 0,91	Altamente Tóxico
	D/B	91,67 ± 7,64	2,4 ± 0,06 +	109,22 ± 3,84	Não Tóxico
S + ETA 10% + F 5%	A/B	95 ± 8,66	1,7 ± 0,12	99,56 ± 14,30	Não Tóxico
	D/B	93,33 ± 7,64	2,4 ± 0,31 +	113,45 ± 31,37	Não Tóxico
S + ETA 15%	A/B	96,67 ± 5,77	1,4 ± 0,15	84,53 ± 17,95	Não Tóxico
	D/B	91,67 ± 2,89	2,2 ± 0,30 +	101,82 ± 25,60	Não Tóxico
S + ETA 15% + B 5%	A/B	91,67 ± 7,64	1,4 ± 0,17	79,33 ± 23,81	Moderadamente Tóxico
	D/B	85 ± 5	2,4 ± 0,41 +	99,28 ± 11,79	Não Tóxico
S + ETA 15% + F 5%	A/B	90 ± 5	1,7 ± 0,93	91,11 ± 13	Não Tóxico
	D/B	90 ± 5	2,4 ± 0,10 +	106,11 ± 9,56	Não Tóxico

Legenda: (-) Parâmetro não avaliado; (*) Estatisticamente significativo em relação ao Controle Negativo ($p < 0,05$); (+) Estatisticamente significativo para a mesma amostra antes e depois da biodegradação ($p < 0,05$); (A/B) Antes da Biodegradação; (D/B) Depois da Biodegradação. **Fonte:** Autora, 2022.



Legenda: (*) Estatisticamente significativo ($p < 0,05$) em relação ao controle negativo; (+) Estatisticamente significativo para a mesma amostra antes e depois da biodegradação ($p < 0,05$).

Figura 8. Comprimento do hipocótilo de *L. sativa* após exposição a diferentes amostras, antes e após processo de biodegradação. **Fonte:** Autora, 2023

O lodo de ETA puro, após secagem, não interferiu no padrão de germinação, bem como no desenvolvimento da radícula e hipocótilo de *L. sativa* (Tabela 6, Figura 8), sendo considerado como não tóxico. Resultados semelhantes foram obtidos por Franco *et al.* (2021) ao avaliarem a fitotoxicidade de lodo de ETA com essa mesma espécie. Contudo, as amostras S + ETA 10% e S + ETA 15% + B 5% induziram uma toxicidade moderada sobre o organismo teste empregado, apresentando um índice de germinação inferior a 80%. Ainda, a amostra S + ETA 10% + B 5% demonstrou ser altamente tóxica para a espécie, diminuindo significativamente o comprimento da radícula e do hipocótilo (Tabela 6, Figuras 8 e 9). Esses resultados podem ser explicados pelo fato do próprio solo ter sido classificado como moderadamente tóxico. Outro fator importante, é que o bagaço de cana também parece contribuir com uma certa toxicidade para as amostras no período inicial. Outros trabalhos também demonstraram que a incorporação de bagaço de cana como agente estimulante de lodo de esgoto contribuiu para a liberação de compostos tóxicos, capazes de interferirem no desenvolvimento de plantas (GONÇALVES *et al.*, 2020; SOMMAGGIO *et al.*, 2018b; SOUZA, 2018), o que alerta para o uso desses resíduos *in natura*, sem um tratamento prévio. Surpreendentemente, apesar desse efeito fitotóxico para a alfaca, as amostras S + ETA 10% + B 5% e S + ETA 15% + B 5% foram as que apresentaram maior taxa de respiração, sendo superadas apenas pela amostra S + B, o que indica uma tolerância dos microrganismos a esses compostos tóxicos presentes no solo e/ou no bagaço.

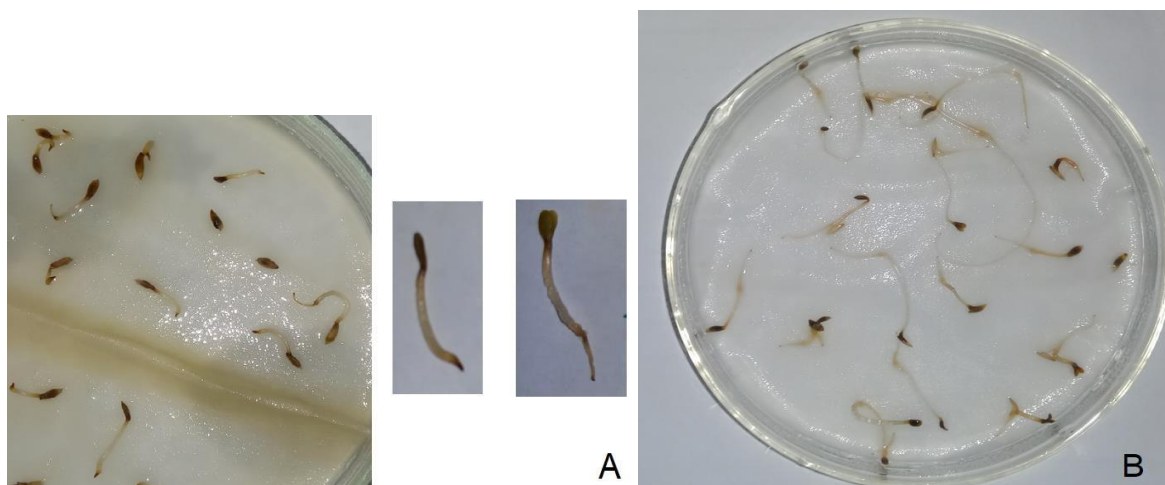


Figura 9. Placas de Petri contendo sementes de alface germinadas. **A.** Sementes germinadas expostas à amostra S + ETA 10% + B 5% antes do ensaio de respirometria, classificada como altamente tóxica; **B.** Sementes germinadas referentes ao controle negativo. **Fonte:** Autora, 2022.

Após 120 dias de biodegradação, nenhuma das amostras apresentou fitotoxicidade, demonstrando que o tratamento foi efetivo para sua eliminação, assim as amostras que apresentaram esse efeito inicialmente e que nenhum metabólito tóxico foi formado ao final do processo para as demais amostras. Além da eliminação da toxicidade inicial, após a biodegradação, todas as amostras apresentaram um valor de comprimento da radícula e do hipocótilo significativamente maior do que antes da biodegradação. Possivelmente isso aconteceu pela formação de substâncias húmicas em decorrência da decomposição da matéria orgânica inicial, as quais levam a um aumento da permeabilidade da membrana das células vegetais, favorecendo a absorção de nutrientes e, conseqüentemente, contribuindo para seu crescimento (GUO; LIU; WU, 2019). Ainda, para as amostras após biodegradação, houve a estimulação do crescimento do hipocótilo (Figura 9), estatisticamente significativa, quando comparada a do controle negativo, indicando um potencial para uso como fertilizante orgânico das amostras testadas.

Assim, ao analisar os resultados em conjunto, é possível notar que o processo de biodegradação foi imprescindível para o decaimento da toxicidade das amostras, comprovado tanto para o ensaio de fitotoxicidade com sementes, como também para o ensaio de respirometria, onde houve um aumento da comunidade microbiana ao final do processo. Mazzeo *et al.* (2020), ao estudarem o aproveitamento de lodo de esgoto para fins agrícolas,

também observaram que o processo de biodegradação aeróbio foi decisivo para a diminuição da toxicidade das amostras, independente do agente bioestimulante utilizado.

Quanto ao potencial agronômico, apesar de sua elevada recalcitrância, comprovado pelo ensaio de respirometria, a ausência de toxicidade do lodo de ETA observada nos organismos testes empregados, faz dele um bom meio de suporte para o cultivo de plantas.

Em relação aos resíduos vegetais utilizados como agentes estimulantes do processo de biodegradação, embora o bagaço de cana aparentemente induziu um efeito tóxico sobre a germinação e o crescimento de *L. sativa*, após a estabilização da matéria orgânica, ambos os materiais se mostraram promissores para este fim. De modo que, a escolha de qual deve ser utilizado pode ser baseada na disponibilidade do mesmo. Contudo, testes com outros organismos e em simulações de campo, em escala real, devem ser realizados para a confirmação desses resultados.

4 CONCLUSÃO

Frente ao exposto anteriormente, conclui-se que, antes do período de biotransformação, o lodo de ETA em associação com o bagaço de cana em solo demonstrou ser altamente tóxico para *L. sativa*, o que sugere que essa mistura leva à liberação de compostos hidrossolúveis fitotóxicos. Entretanto, o período de biodegradação (120 dias) avaliado foi efetivo na eliminação desses compostos.

A baixa patogenicidade e a concentração de metais pesados abaixo do limite estabelecido para lodo de ETE constituem aspectos positivos para a disposição do lodo de ETA em solo, pois não oferece risco ao ecossistema em relação a esses parâmetros. Contudo, a secagem prévia do lodo de ETA é primordial para se evitar a percolação de líquidos contendo possíveis compostos tóxicos para camadas mais profundas do solo e mananciais próximos, ainda mais identificando-se o potencial tóxico antes da biodegradação.

No ensaio de respirometria, a associação do bagaço de cana-de-açúcar e a fibra de coco ao lodo de ETA contribuiu para maiores taxas de respiração microbiana em solo. Ao contrário, o lodo puro em solo apresentou grande recalcitrância e baixas taxas de respiração microbiana.

Desse modo, o lodo de ETA mostrou ser promissor quanto à sua utilização em solo agrícola, uma vez que não induziu danos fitotóxicos aos organismos-teste empregados. Embora a comunidade microbiana seja afetada inicialmente, esta se recupera prontamente após 120 dias de biodegradação. Por outro lado, quando o lodo de ETA passa por um processo de degradação biológica, sua ação como fertilizante é otimizada, de modo que essa biotransformação o torna

um material mais atrativo para ser empregado no crescimento de plantas. Ainda, a associação com outros resíduos, como o bagaço de cana e a fibra de coco, favorece a presença de nutrientes adicionais para o crescimento e manutenção da planta.

5 REFERÊNCIAS

ABNT NBR 12988. Líquidos Livres - Verificação em Amostras de Resíduos. *Associação Brasileira de Normas Técnicas*, 1993.

ABNT NBR 10.006. Procedimento para Obtenção de extrato Solubilizado de Resíduos Sólidos. *Associação Brasileira de Normas Técnicas*, 2004.

ABNT. NBR 10.004 - Classificação de Resíduos Sólidos. *Associação Brasileira de Normas Técnicas*, e. 2, 2004.

ACHON, C. L.; BARROSO, M. M.; CORDEITO, J. S. Resíduos de estações de tratamento de água e a ISO 24512: desafio do saneamento brasileiro. *Eng. Sanit. e Ambient.*, v. 18, p. 115–122, 2013.

AHMAD, T.; AHMAD, K.; ALAM, M. Sustainable Management of Water Treatment Sludge Through 3 ‘R’ concept. *Journal of Cleaner Production*, v. 124, p. 1 - 13, 2016a.

AHMAD, T.; AHMAD, K.; ALAM, M. Characterization of Water Treatment Plant’s Sludge and its Safe Disposal Options. *Procedia Environmental Sciences*, v. 35, p. 950 - 955, 2016b.

ALVARENGA, P. *et al.* Sewage sludge, compost and other representative organic wastes as agricultural soil amendments: Benefits versus limiting factors. *Waste Management*, v. 40, p. 44 - 52, 2015.

ALVES, H. C; MARQUES, G. L. O. Análise Laboratorial De Lodos Desidratados De Estações De Tratamento De Água Da Região Metropolitana De Belo Horizonte – Mg Para Uso Em Pavimentação. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 2, p. 20793-20814, 2021.

AMERICA PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION - AWWA; WATER ENVIROMENT FEDERATION - WEF. Total, Fixed, and Volatile Solids anda Semisolid. *Standard Methodos for the Examination of Water and Wastewater*, ed. 20, cap. 2, p. 2-59 - 2-60, 1998.

ANDRADE, C. F.; SILVA, C. M.; OLIVEIRA, F. C. Gestão ambiental em saneamento: uma revisão das alternativas para tratamento e disposição do lodo de eta e seus impactos na qualidade das águas. *CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL*, 2014, Belo Horizonte, Minas Gerais, Instituto Brasileiro de Estudos Ambientais, 2014.

ASSENHEIMER, A. Benefícios do uso de Biossólidos como Substratos na Produção de Mudanças de Espécies Florestais. *Ambiência*, v. 5, n. 2, p. 321 - 330, 2009.

BABATUNDE, A. O. *et al.* Constructive Approaches Toward Water Treatment Works Sludge Management: an International Review of Beneficial Reuses. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 37, n. 2, p. 129 - 164, 2007.

BARAKWAN, R. A.; TRIHADININGRUM, Y.; BAGASTYO, A. Y. Characterization of alum sludge from Surabaya Water Treatment Plant, Indonesia. *Journal of Ecological Engineering*, v. 20, n. 5, p. 7 - 13, 2019.

BARTHA, R. & PRAMER, D. Features of a Flask and Method for Measuring the Persistence and Biological Effects of Pesticides in Soil. *Soil Science*, v. 10, n. 1, p. 68 - 70, 1965.

BHADHA, J. H. *et al.* Bagasse: A Potential Organic Soil Amendment Used in Sugarcane Production. *IFAS Extension*, University of Florida, Florida, 2020.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Conselho Nacional do Meio Ambiente*, 2005.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 498 de 19 de agosto de 2020. Define critérios e procedimentos para produção e aplicação de bio sólido em solos, e dá outras providências. *Conselho Nacional do Meio Ambiente*, 2020.

CARMO, D. L. DO; SILVA, C. A. Métodos de Quantificação de Carbono e Matéria Orgânica em Resíduos Orgânicos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, MG, v. 36, p. 1211 – 1220, 2012.

CETESB. NORMA TÉCNICA L5.201 - Contagem de Bactérias Heterotróficas: Método de Ensaio. *Companhia Ambiental do Estado de São Paulo*, p. 14, 2006.

CETESB. Norma técnica L5.551 - Ovos Viáveis de *Ascaris* spp - Determinação pela Técnica de Centrifugo-Flutuação em amostras de Lodo de Esgoto. *Companhia Ambiental do Estado de São Paulo*, v. 1, n. 11, p. 1 - 15, 2013.

CHANDRA, R.; KUMAR, V. Detection of androgenic-mutagenic compounds and potential autochthonous bacterial communities during in situ bioremediation of post-methanated distillery sludge. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, 2017.

CHIAREGATO, C. G. Desenvolvimento de materiais contendo macro e micronutrientes para liberação programada: uma agricultura sustentável. *Universidade de São Paulo*, Pirassununga, SP, Dissertação de Mestrado, 2021.

CORDEIRO, J. S. Processamento de Lodos de Estações de Tratamento de Águas (ETAs). Resíduos Sólidos do Saneamento: Processamento, Reciclagem e Disposição Final. *Rede Cooperativa de Pesquisas*, v. 1, p. 121 - 142, 2001.

DIAS, F. S. *et al.* Fatores que Afetam a Disponibilidade de Micronutrientes no Solo. *Revista Tecno-Lógica*, p. 272 – 278, 2021.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. pH do Solo. In: Manual de Métodos de Análise de Solo, *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*, ed. 3, cap. 1, p. 199 - 202, 2017.

FEIRA-DIÁZ, J. J.; POLO-CORRALES, L.; HERNANDEZ-RAMOS, E. J. Evaluación de lodos de coagulación de água cruda tratada con Moringa oleífera para uso agrícola. *Ingeniería e Investigación*, v. 36, n.2, 2016.

FERNANDO-FONCILLAS, C. *et al.* Co-management of sewage sludge and other organic wastes: A scandinavian case study. *Energies*, v. 14, 2021.

FORTES, C.; TRIVELIN, P. C. O.; VITTI, A. C. Long-term decomposition of sugarcane harvest residues in Sao Paulo state, Brazil. *Biomass and Bioenergy*, v. 42, 189 – 198, 2012.

FRANCO, N. M. Manejo de Lodo de Estação de Tratamento de Água, Visando ao Aproveitamento na Agricultura como Condicionante de Solos. Universidade Estadual Paulista, Trabalho de Conclusão de Curso, Rio Claro, SP, 2019.

FRANCO, N. M. *et al.* Biodegradability of water treatment sludge influenced by sewage sludge, focusing its use in agriculture as soil conditioner. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2021.

FRANÇA, M. *et al.* Toxicity Study of the Sanitary Wastewater Treatment Plant Sludge Aiming Its Reuse in Agriculture. *Water, Air, Soil Pollut*, p. 232 - 241, 2021.

GASPARD, P. G.; SCHWARTZBROD, J. Parasite contamination (helminth eggs) in sludge treatment plants: Definition of a sampling strategy. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, p. 117 – 122, 2003.

GOLDIN, A. Reassessing the Use of Loss-On-Ignition for Estimating Organic Matter Content. In: Noncalcareous Soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 18, n. 10, p. 1111–1116, 1987.

GONÇALVES, M. M. C. Phytotoxicity and cytogenotoxicity of composted tannery sludge. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, n. 27, p. 1 -10, 2020.

GUERRA, R. Caracterização e Biodegradação de Lodo de Estações de Tratamento de Água para Descarte em Aterro Sanitário. Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, Dissertação de Mestrado, 2005.

GUO, X.; LIU, H.; WU, S. Humic substances developed during organic waste composting: Formation mechanisms, structural properties, and agronomic functions. *Science of the Total Environment*, v. 662, p. 501 – 510, 2019.

GURJAR, B. R. The Sludge. In: Sludge Treatment and Disposal. *CRC Press*, p. 1-26, 2021.

GUZMAN, M. A. L. G. *et al.* Efficiency of Combined Co-composting, Vermicomposting, and Drying in the Treatment of Cadmium, Mercury, Helminths, and Coliforms in Sludge from Wastewater Facilities for Potential Agricultural Applications. *Philippine Journal Science*, v. 149, n.1, p. 179 – 188, 2020.

HEATON, L; FULLEN, M. A.; BHATTACHAYYA, R. Critical Analysis of the van Bemmelen Conversion Factor used to Convert Soil Organic Matter Data to Soil Organic Carbon Data: Comparative Analyses in a UK Loamy Sand Soil. *Centre for Environment Science and Climate Resilient Agriculture*, v. 6, n. 1, 35-44, 2016.

JACKSON, O. *et al.* Rhizosphere carbon supply accelerates soil organic matter decomposition in the presence of fresh organic substrates. *Plant and Soil*, v. 440, p. 473 – 490, 2019.

KIRKBY, E. A; RÖMHELD, V. Micronutrientes na Fisiologia de Plantas: funções, absorção e mobilidade. *International Plant Nutrition Institute*, n. 118, 2007.

KLUCZKA, J. *et al.* Assessment of aluminum bioavailability in alum sludge for agricultural utilization. *Environmental Monit. Assess.*, v. 189, n. 422, 2017.

MALAVOLTA, E. Adubos Cálculos, Corretivos da Acidez do Solo, Calagem. In: *Manual de Química Agrícola - Adubos e Adubação*, p. 128–167, 1967b.

MALAVOLTA, E. Adubos Fosfatados. In: *Manual de Química Agrícola - Adubos e Adubação*, p. 54–99, 1967a.

MALAVOLTA, E. Uso dos Micronutrientes. In: *Manual de Química Agrícola - Adubos e Adubação*, p. 185 – 215, 1967c.

MAKUWA, S. *et al.* Evaluation of fecal coliform prevalence and physicochemical indicators in the effluent from a wastewater treatment plant in the north-west province, south africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 17, n. 17, p. 1–13, 2020.

MAZZEO, D. E. C. *et al.* Endpoints and Bioassays to Assess Bioremediation Efficiency of Contaminated Soils. *Bioremediation: Processes, Challenges and Future Prospects*, p. 243 – 268, 2014.

MAZZEO, D. E. C. *et al.* Monitoring the Natural Attenuation of a Sewage Sludge Toxicity Using the Allium Cepa Test. *Ecological Indicators*, v. 56, p. 60 - 69, 2015.

MAZZEO, D. E. C. *et al.* Attesting the Efficiency Of Monitored Natural Attenuation in the Detoxification of Sewage Sludge By Means of Mutagenic Bioassays. *Chemosphere*, v. 163, p. 508 - 515, 2016a.

MAZZEO, D. E. C. *et al.* Detoxification of Sewage Sludge By Natural Attenuation and Implications for Its Use as a Fertilizer on Agricultural Soils. *Science of the Total Environment*, v. 572, p. 978 - 985, 2016b.

MAZZEO, D. E. C. *et al.* Effects of biostimulation by sugarcane bagasse and coffee grounds on sewage sludges, focusing agricultural use: Microbial characterization, respirometric assessment and toxicity reduction. *Waste Management*, v. 118, p. 110 - 121, 2020.

MIAN, H. R. *et al.* Drinking water quality assessment in distribution networks: A water footprint approach. *Science of the Total Environment*, v. 775, 25 jun. 2021.

MIAO, L. *et al.* Recent advances in nitrogen removal from landfill leachate using biological treatments – A review. *Journal of Environmental Management*, v. 235, p. 178 – 185, 2019.

MIGUEL, N. *et al.* Study of evolution of microbiological properties in sewage sludge-amended soils: A pilot experience. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 17, p. 1 -17, 2020.

MONTAGNOLLI, R.N.; LOPES, P.R.M.; BIDOIA, E. D. Applied Models to Biodegradationkinetics of Lubricant and Vegetable Oils in Wastewater. *International Biodeterioration e Biodegradation*, v. 63, p. 297 - 305, 2009.

MORSELLI, L. B. G. A. *et al.* Lodo de Estação de Tratamento de água: Possibilidade de Aplicação no Solo. *Scientia Plena*, v. 18, 2022.

NADEEM, F. *et al.* Role of Macronutrients and Micronutrients in the Growth and Development of Plants and Prevention of Deleterious Plant Diseases - A Comprehensive Review. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, v. 14, p. 1 – 22, 2018.

NAIR, A. T.; AHAMMED, M. M. The Reuse of Water Treatment Sludge as a Coagulant for Post-Treatment of UASB Reactor Treating Urban Wastewater. *Journal of Cleaner Production*, v. 96, p. 272 - 281, 2015.

NGUYEN, M. D. *et al.* Beneficial reuse of water treatment sludge in the context of circular economy. *Environmental Technology & Innovation*, v. 28, 2022.

NIJU, S.; SWATHIKA, M. Delignification of sugarcane bagasse using pretreatment strategies for bioethanol production. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 20, 2019.

NUNES, F. K. M. Influência do composto à base de Fibra de Coco nas Propriedades Químicas do Solo de um Plantio de Coqueiro Anão Verde em Santa Izabel do Pará. Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Trabalho de Conclusão de Curso, 2021.

ODIMEGWU, T. C. *et al.* Review on Different Beneficial Ways of Applying Alum Sludge in a Sustainable Disposal Manner. *Civil Engineering Journal*, v. 4, n. 9, p. 2230 - 2241, 2018.

PANTANO, G. S. *et al.* Remediation of Eutrophic Aquatic Ecosystems: Evaluation of Phosphorus Adsorption by Sawdust. *Integrated Environmental Assessment and Management*, v. 16, p. 78 - 89, 2020.

PAIVA, A. B. *et al.* Chemical and microbiological attributes of sandy soil fertilized with crushed green coconut shell. *Revista Ciência Agronômica*, v. 53, 2022.

PAMIDIPATI, S.; AHMED, A. Degradation of Lignin in Agricultural Residues by locally Isolated Fungus *Neurospora discreta*. *Appl Biochem Biotechnol*, v. 181, p. 1561 – 1572, 2017.

PEREIRA, I. S. *et al.* Agricultural use and pH correction of anaerobic sewage sludge with acid pH. *Journal Environment Management*, v. 275, 2020.

QRENAWI, L. I.; RABAH, F. K. J. Sludge management in water treatment plants: literature review. *International Journal of Environment and Waste Management*, v. 27, n. 1, p. 93 - 123, 2021.

REIS, R. F.; CORDEIRO, J. Sustainable uses and method for water treatment plants sludges. *11th Global Conference on Sustainable Manufacturing*, Berlim, Germany, p. 120 – 124, 2013.

RICHTER, C. Resíduos das Estações de Tratamento de Água. *Tratamento de Lodos de Estações de Tratamento de Água*, p. 1 – 9, 2001.

ROBLES, I. *et al.* Inactivation of helminth eggs in an electro-Fenton reactor: Towards full electrochemical disinfection of human waste using activated carbon. *Chemosphere*, v. 250, 2020.

ROCHA, M. C. V. *et al.* Quantification of viable helminth eggs in samples of sewage sludge. *Water Research*, v. 103, p. 245 - 255, 2016.

ROQUE, A.; MONTALVAN, E. L. T.; BOSCOV, M. E. G. Caracterização mineralógica, química e geotécnica do lodo da estação de tratamento de água Taiaçupeba. *Geotecnia*, n. 151, p. 33 - 52, 12 mar. 2021.

ROSA, P. H. A. ADUBAÇÃO DE SISTEMA COM FÓSFORO E POTÁSSIO NA SUCESSÃO SOJA/MILHO EM CONDIÇÕES DE CERRADO. *Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia*, Rio Verde, Monografia, 2021.

SANTOS, T.; SOMMAGGIO, L. R. D.; MARIN-MORALES, M. A. Phyto-genotoxicity assessment of different associations between sludges from Water and Sewage Treatment Plants, before and after the bioremediation process. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 29, n. 26, p. 40029–40040, 2022.

SANTOS, R. A. Biodegradação de lodo de eta e ete avaliada mediante ensaios de toxicidade e caracterização microbiológica. Tese. Doutorado em Ciências Biológicas - Microbiologia Aplicada. UNESP, Rio Claro, 129 p., 2023.

SELEIMAN, M. F.; SANTANEN, A.; MÄKELÄ, P. S. A. Recycling sludge on cropland as fertilizer: Advantages and risks. *Resources, Conservation & Recycling*, v. 155, 2020.

SHARMA, P. *et al.* Critical review on microbial community during in-situ bioremediation of heavy metals from industrial wastewater. *Environmental Technology and Innovation*, v. 24, de 1 nov. 2021.

SHOU, Z. *et al.* Mitigating inhibition of undissociated volatile fatty acids (VFAs) for enhanced sludge-rice bran composting with ferric nitrate amendment. *Bioresource Technology*, v. 244, p. 672 - 678, 2017.

SILVA, R. P. T.; BORTTREL, E. C.; PEREIRA, R. O. Possibilidades De Utilização Dos Resíduos De Estação De Tratamento De Água: Estudo De Caso Eta-Jf/Mg. *Universidade Federal de São João Del-Rei*, 2018.

SINHA, R. Stabilization of Water Treatment Plant (WTP) Residual Using Sorbond. *New Jersey Institute of Technology*, Department of Civil and Environmental Engineering, 1998.

SOBRINHO, M. A. M. *et al.* Geração, Tratamento e Disposição Final dos Resíduos das Estações de Tratamento de Água do Estado de Pernambuco. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 24, n. 4, p. 761–771, 2019.

SOMMAGGIO, L. R. D. *et al.* Evaluation of the potential agricultural use of biostimulated sewage sludge using mammalian cell culture assays. *Chemosphere*, v. 199, p. 10 - 15, 2018a.

SOMMAGGIO, L. R. D. *et al.* Ecotoxicological and microbiological assessment of sewage sludge associated with sugarcane bagasse. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 147, n. May 2017, p. 550–557, 2018b.

SOUZA, M. N. Efetividade da Biorremediação de Lodo de Esgoto Aeróbio Bioestimulado, Avaliada pelo Ensaio de *Allium Cepa*. *Universidade Estadual Paulista*, Rio Claro, SP, Trabalho de conclusão de Curso, 2018.

SOUZA, A. C. Z. Uso sustentável do lodo de tratamento de água e esgoto: efeitos fitotóxicos, genotóxicos e possibilidade de uso antes e depois da biorremediação. *Universidade Estadual Paulista*, Rio Claro, SP, Dissertação de Mestrado, 2021.

SPECIAN, A. M. *et al.* Ocorrência de bactérias heterotróficas, coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras de água de abastecimento público de dois municípios do Estado de São Paulo. *BEPA*, v. 18, n. 205, p. 13 – 22, 2021.

STROTMANN, U. *et al.* Development and evaluation of an online CO₂ evolution test and a multicomponent biodegradation test system. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 70, n. 8, p. 4621–4628, 2004.

TAVARES, R. G. *et al.* Avaliação da toxicidade do lodo de estação de tratamento de água e esgoto, antes e após vermicompostagem, usando teste de germinação com semente de alface (*Lactuca sativa*). *Revista DAE*, v. 67, n. 218, 156 – 167, 2019.

TSUTIYA, M. T.; HIRATA, A. Y. Aproveitamento e Disposição Final de Lodos de Estações de Tratamento de Água Do Estado de São Paulo. *Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 2001.

USEPA. *Ecological Effects Test Guidelines* (OPPTS 850.4200). Seed Germination Root Elongation Toxicity Test, 1996.

XIE, L. Advanced Engineering and Technology II: Proceedings of the 2nd Annual Congress on Advanced Engineering and Technology (CAET 2015), Hong Kong, 4-5 April 2015.

XU, Y.; LU, M. Bioremediation of Crude Oil-Contaminated Soil: Comparison of Different Biostimulation and Bioaugmentation Treatments. *Journal of Hazardous Materials*, v. 183, n. 1 - 3, p. 395 - 401, 2010.

WANG, L. *et al.* A novel type of controlled low strength material derived from alum sludge and green materials. *Construction and Building Materials*, v. 165, p. 792 - 800, de 20 mar. 2018.

WEI, L.; TOGBIN, C. The impact of humidity on physicochemical and properties of the compost. *Journal of Ecology*, v. 24, n. 11, p. 2656 – 2663, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. W.H.O. Guidelines for Drinking-Water Quality: First Addendum to the Fourth Edition; *World Health Organization: Geneva*, Switzerland, p. 631, 2017.

ZANCAN, N. P.; TOMIOLLO, M.; MIOTTO, N. Reaproveitamento de Resíduos ETA, uma Alternativa para o Desenvolvimento Sustentável. *VI Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental*, Porto Alegre, RS, 2015.

ZHOU, Z. *et al.* Optimized removal of natural organic matter by ultrasound-assisted coagulation of recycling drinking water treatment sludge. *Ultrasonics sonochemistry*, v. 48, p. 171-180, 2018.

Artigo 2. Avaliação ecotoxicológica de lodo de tratamento de água, antes e após bioestimulação com resíduos da agroindústria

RESUMO

O tratamento da água bruta pelas Estações de Tratamento de Água (ETA) gera um resíduo denominado lodo de ETA, o qual contém as partículas suspensas na água bruta e produtos químicos utilizados no tratamento. Pela elevada quantidade de lodo de ETA produzida, uma das maiores preocupações ambientais da atualidade é encontrar uma disposição sustentável e de baixo custo para esse resíduo. Entre as formas de reaproveitamento, a alternativa que mais se destaca é a aplicação em solos agrícolas como condicionantes e fertilizantes, devido à presença de matéria orgânica, macro e micronutrientes. No entanto, o lodo de ETA pode conter compostos tóxicos, os quais poderiam contaminar o ecossistema. Com isso, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos ecotoxicológicos do lodo de ETA, em diferentes níveis tróficos, empregando organismos não-alvos (*Daphnia similis* e *Folsomia candida*) e organismo alvo (*Eruca sativa*). Esses mesmos bioensaios foram empregados para verificar a efetividade do processo de bioestimulação, a partir da incorporação de bagaço de cana-de-açúcar e a fibra de coco, na eliminação de possíveis compostos tóxicos, visando seu uso agrícola. Para isso, misturou-se solo ao lodo (concentrações de 10% e 15%) e aos agentes bioestimulantes (5%). O teste de fitotoxicidade, realizado com sementes de rúcula (*E. sativa*) expostas ao extrato aquoso das amostras por 5 dias, indicaram que as amostras que associavam o lodo de ETA com o bagaço possivelmente liberaram compostos hidrossolúveis tóxicos capazes de inibir a germinação e interferir negativamente no crescimento da radícula e do hipocótilo. Essas mesmas amostras também foram tóxicas para *D. similis* no ensaio de toxicidade aguda por 48h. Entretanto, após 120 dias de bioestimulação, nenhum efeito tóxico foi observado para essas espécies indicando que esses compostos foram degradados. No teste com *F. candida*, nenhuma amostra induziu letalidade, porém o ensaio de reprodução, por 28 dias, demonstrou que as amostras contendo lodo de ETA 10% e lodo 10% + bagaço, interferiram significativamente no número de descendentes, levando a diminuição da população. Com base nos resultados apresentados, é possível utilizar o lodo de ETA como condicionantes ou fertilizantes de solos, desde que haja o tratamento adequado para tornar essa disposição ambientalmente segura e sustentável.

Palavras-chave: Lodo de ETA; *Eruca sativa*; *Daphnia similis*; *Folsomia candida*; bagaço de cana-de-açúcar; fibra de coco; sustentabilidade.

1 INTRODUÇÃO

A disponibilidade de água potável que atenda a demanda populacional crescente, continua a ser uma preocupação prioritária e constante no cenário mundial (MISHRA *et al.*, 2021; SALEEM; MIAN; HU, 2019). As Estações de Tratamento de Água (ETA) são peças-chave para promover o correto tratamento e a distribuição da água dentro dos critérios para a potabilidade da água, estabelecidos pela legislação de cada país. Contudo, durante esse processo, gera-se um resíduo denominado lodo de ETA, cuja produção mundial diária é estimada em mais de 100.000 toneladas (TELESCA; IBRIS; MARROCCOLI, 2021). Sua excessiva produção impõe um desafio adicional para o seu correto gerenciamento e acarreta em um complexo problema ambiental, uma vez que, a grande maioria das ETA descartam o lodo diretamente nos corpos d'água (OOI *et al.*, 2018).

Diversas alternativas vêm sendo propostas na tentativa de promover o aproveitamento do lodo de ETA, incentivando a economia circular. Entre elas destacam-se sua utilização para recuperação de coagulantes, em produtos cerâmicos, fabricação de tijolos, telhas, cimento, concreto e outros materiais de construção civil (AHMAD; AHMAD; ALAM, 2016; GOMES *et al.*, 2019). No entanto, como o lodo apresenta em sua composição matéria orgânica, macro e micronutrientes, que podem ser absorvidos pelas plantas e estimular o crescimento (ODIMEGWU *et al.*, 2018; TANTAWY, 2015), seu uso como fertilizante e condicionante de solos é considerado como um destino bastante sustentável (AHMAD; AHMAD; ALAM, 2016, 2016; RIBEIRO *et al.*, 2022; SILVA; BORTTREL; PEREIRA, 2018; SOBRINHO *et al.*, 2019). Entretanto, o lodo pode conter ainda as impurezas da água bruta captada, incluindo substâncias tóxicas, metais, hormônios, pesticidas, microrganismos, entre outros, além de resíduos dos produtos químicos utilizados como coagulantes no tratamento da água (DUBE *et al.*, 2018). Desse modo, antes de ser disposto em solo, é necessário realizar a avaliação ecotoxicológica do lodo a fim de se evitar a dispersão de contaminantes e comprometer a saúde ambiental e dos organismos associados.

O uso de bioensaios possibilita a obtenção de resultados precisos sobre a carga poluidora, a biodisponibilidade dos contaminantes para os organismos e o grau de periculosidade do resíduo (GUERIN, 2022). O efeito tóxico da aplicação direta do lodo de ETA no solo pode ser avaliado pela utilização de macroinvertebrados do solo. Neste sentido, a espécie *Folsomia candida* se destaca pela sua relevância ecológica nesse meio físico, além de apresentar diferentes vias de exposição (oral e dérmica), o que aumenta sua sensibilidade aos resíduos sólidos orgânicos (PUDDEPHATT; MCCARTHY; SERRE, 2022).

Adicionalmente, a avaliação da toxicidade de compostos hidrossolúveis liberados pelo lodo de ETA também é de extrema importância, uma vez que se esse resíduo for disposto no solo, esses compostos poderiam atingir os recursos hídricos adjacentes. Desse modo, o organismo teste *Daphnia* sp. tem sido considerado como um dos mais sensíveis para a avaliação de extratos aquosos de resíduos sólidos (SHOJI *et al.*, 2008). Complementarmente, ensaios de fitotoxicidade com sementes, além de serem rápidos e de baixo custo, avaliam o efeito desse resíduo sobre organismos-alvo com elevada sensibilidade e confiabilidade (FRANCO *et al.*, 2021; GUEVARA *et al.*, 2019; PEDUTO; JESUS; KOHATSU, 2019; USEPA, 1996).

Ainda, sabe-se que para um melhor aproveitamento de resíduos orgânicos, estes devem passar por processos de estabilização da matéria orgânica, os quais viabilizam o aproveitamento de seus nutrientes e diminuem o risco ambiental pela utilização desses resíduos (SHARMA *et al.*, 2019). A bioestimulação de resíduos sólidos orgânicos, a partir da incorporação de resíduos agroindustriais, pode acelerar sua estabilização pelo aumento da comunidade microbiana autóctone, além de contribuir para transformá-lo em um fertilizante mais nutritivo (FERNANDO-FONCILLAS *et al.*, 2021; MAZZEO *et al.*, 2020; 2023).

Visando o correto gerenciamento do lodo de ETA e seu aproveitamento como condicionante de solos, este estudo propôs avaliar os efeitos ecotoxicológicos, em diferentes níveis tróficos, deste resíduo, antes e após processo de bioestimulação com bagaço de cana-de-açúcar ou fibra de coco. Para isso, foram empregados organismos alvo (*Eruca sativa*) e não-alvo (*Daphnia similis* e *Folsomia candida*) para se compreender o efeito da aplicação do lodo de ETA em solos e a sua influência sobre o ecossistema associado. Adicionalmente, este estudo também avaliou a efetividade do processo de biotransformação do lodo de ETA na eliminação de sua possível toxicidade e na geração de um composto com maior valor agregado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Lodo de ETA e agentes bioestimulantes

O lodo estudado foi proveniente da ETA II (José Crespo), localizada no município de Rio Claro – SP (Brasil), coordenadas geográficas 22°24'21" S e 47°33'19" W, sendo responsável pelo fornecimento de água potável para, aproximadamente, 125.000 habitantes. Esta ETA apresenta tratamento do tipo convencional, com capacidade de operação de 500 L/s e produção diária de 35.000 m³, empregando cloreto férrico como agente coagulante para a formação dos flocos.

A coleta foi realizada, seguindo os procedimentos de amostragem para resíduos contidos na norma NBR 10007 (ABNT, 2004), durante a lavagem dos decantadores, os quais continham material sedimentado acumulado por um período mínimo de um mês. Este lodo apresentou pH 7,02 ($\pm 0,02$); 8,42 % ($\pm 0,72$) de sólidos totais; 83,51% ($\pm 0,51$) de sólidos fixos e 16,5% ($\pm 0,51$) de sólidos voláteis.

Devido à elevada porcentagem de água presente neste material, o mesmo foi seco em laboratório como detalhado anteriormente (ver artigo 1, item 2.5), tendo a quantidade de sólidos totais elevada para 82,22% ($\pm 0,16$). Outras características químicas como presença de metais, macro e micronutrientes estão apresentadas como material suplementar (Tabela S1).

O solo utilizado foi coletado em uma área verde na UNESP, Campus Rio Claro, coordenadas geográficas 22°23'48"S e 47°32'38"W, a uma profundidade variando de 10 a 20 cm. Este solo foi previamente caracterizado (FRANCO, 2019), apresentando textura arenosa e condutividade elétrica de 0,623 dS/m. Anteriormente ao preparo das amostras, o solo foi seco à temperatura ambiente e peneirado em peneira de 1,41 mm de abertura.

Como agentes bioestimulantes, foram utilizados outros dois resíduos, porém derivados de atividades agroindustriais, o bagaço de cana-de-açúcar e a fibra de coco. O primeiro foi obtido em uma indústria sucroalcooleira, após o processo de moagem da cana. Então, o bagaço foi seco em temperatura ambiente, triturado em liquidificador e misturado às amostras de solo e lodo, com função de agente de volume e estimulante do processo de biodegradação. Já a fibra de coco foi adquirida em casa de vegetação como substrato para crescimento de plantas (Golden Mix) e utilizado neste estudo também como agente descompactante e estimulante do processo de biodegradação. Para facilitar o ajuste da umidade, o mesmo foi seco em temperatura ambiente e peneirado em peneira de 1,41 mm de abertura, para posteriormente, ser utilizado no preparo das amostras.

2.2 Preparo das amostras e bioestimulação

Para a realização dos ensaios de bioestimulação do lodo de ETA, diferentes amostras foram preparadas seguindo as proporções apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Composição de cada amostra avaliada, com base na massa seca de cada material.

Amostra	Solo (g)	Lodo de ETA seco (g)	Bagaço de cana-de-açúcar (g)	Fibra de coco (g)
Solo (S)	50	-	-	-
Solo + ETA 10% (S + ETA 10%)	50	5	-	-
Solo + ETA 10% + Bagaço 5% (S + ETA10% + BAG)	50	5	-	-
Solo + ETA 10% + Fibra 5% (S + ETA 10% + FIB)	50	5	-	2,5
Solo + ETA 15% (S + ETA 15%)	50	7,5	-	-
Solo + ETA 15% + Bagaço 5% (S + ETA 15% + BAG)	50	7,5	2,5	-
Solo + ETA 15% + Fibra 5% (S + ETA 15% + FIB)	50	7,5	-	2,5

Fonte: Autora, 2022

Então, cada uma das amostras foi submetida ao processo de biodegradação aeróbia por 120 dias, seguindo os passos descritos nos itens 2.6.4 e 2.6.5, do artigo 1.

2.3 Preparo dos extratos aquosos

A fim de se verificar o efeito tóxico de compostos hidrossolúveis foram preparados extratos aquosos das amostras antes e após o processo de biodegradação, seguindo os procedimentos para a obtenção de solubilizados descritos na norma técnica NBR 10.006 (ABNT, 2004). Desse modo, 125 g de cada amostra (massa seca) foram adicionadas a 500 mL de água ultra pura. O material foi homogeneizado em agitador, por 5 minutos, em velocidade baixa, seguido por decantação por 7 dias a 22 °C em BOD, marca Marconi e modelo MA 415/S.

Posteriormente, o sobrenadante (extrato aquoso) foi filtrado em membrana com porosidade de 0,45 µm.

2.4 Testes de fitotoxicidade com sementes de *Eruca sativa* (rúcula)

Para realização deste ensaio, seguiu-se os procedimentos descritos no protocolo OPPTS 850.4200 (USEPA, 1996). Em placas de Petri individuais contendo papel filtro umedecido com 5 mL do extrato aquoso de cada amostra, foram dispostas 20 sementes da espécie *Eruca sativa* (rúcula). As placas foram incubadas em uma BOD da marca Marconi e modelo 415/S, a 22 °C ± 1 °C por 5 dias (120 horas), envoltas com papel alumínio para que não houvesse interferência da luz. Para o controle negativo, utilizou-se água destilada e o controle positivo foi realizado com sulfato de zinco heptahidratado (0,05 M – ZnSO₄.7H₂O). O ensaio foi realizado em triplicata.

Decorrido o tempo de exposição, as placas foram levadas ao congelador para preservação das plântulas. Posteriormente, contabilizadas as sementes germinadas e realizadas a mensuração do comprimento do hipocótilo e da radícula das sementes germinadas. A partir desses valores foram calculados os parâmetros Germinação Relativa (GR), Crescimento Relativo (CR) e Índice de Germinação (IG) por meio das equações 1, 2 e 3.

$$GR (\%) = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ sementes germinadas amostra}}{\text{n}^{\circ} \text{ sementes germinadas controle}} \times 100 \text{ (Equação 1)}$$

$$CR (\%) = \frac{\text{média do crescimento das raízes amostra}}{\text{média do crescimento das raízes controle}} \times 100 \text{ (Equação 2)}$$

$$IG = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ sementes germinadas amostra} \times \text{comprimento médio radícula amostra}}{\text{n}^{\circ} \text{ sementes germinadas controle} \times \text{comprimento médio raiz controle}} \times 100$$

(Equação 3)

Adicionalmente, cada amostra foi classificada a partir do seu IG em não tóxica (IG > 80%); moderadamente tóxica (IG entre 30 e 80%); e altamente tóxica (IG < 30%), de acordo com Gonçalves *et al.* (2020).

A análise estatística foi feita por meio do teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$), comparando cada uma das amostras com o controle negativo. Adicionalmente, para avaliar a efetividade do processo de bioestimulação, quanto à indução de toxicidade, comparou-se os efeitos de uma mesma amostra, antes e após o ensaio de biodegradabilidade, por meio do teste de Mann-Whitney, a um nível de significância de 0,05.

2.5 Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*

Este ensaio foi realizado seguindo as instruções da norma técnica NBR 12713 (ABNT, 2016). Em tubos de ensaio contendo 10 mL do extrato aquoso de cada uma das amostras, sem diluição, foram distribuídos neonatos com idade entre 6 e 24 horas de vida. O ensaio foi realizado em quadruplicata, sendo 5 indivíduos por tubo. O controle negativo foi realizado com a mesma água utilizada no cultivo desses microcrustáceos. Posteriormente, os tubos foram incubados em uma câmara de germinação da marca FANEM e modelo 347, a 20 ± 2 °C, no escuro, por um período de 48 horas, sem alimentação. Após a exposição, foi contabilizado o número de organismos mortos em cada réplica. O teste foi considerado válido quando o número de organismos mortos no controle negativo foi $\leq 10\%$.

A significância dos resultados foi analisada pelo teste estatístico ANOVA, 1 critério, comparando cada amostra com o controle negativo. O sucesso da bioestimulação, em termos de ausência de toxicidade, foi verificado a partir do teste de Mann-Whitney, utilizando o software BioEstat, com significância $p < 0,05$, comparando a mesma amostra antes e depois do processo de biodegradação (ALMEIDA *et al.*, 2021).

2.6 Teste de toxicidade com *Folsomia candida* (colêmbolo)

O ensaio com colêmbolos seguiu o protocolo descrito na norma 232 da OECD (2016). Este teste foi realizado apenas com as amostras do período inicial, antes do processo de biodegradação. Em frascos plásticos com tampa foram acondicionadas 50 g de cada amostra, as quais tiveram sua capacidade de campo ajustada para 60%. Posteriormente, em cada frasco, foram adicionados 10 colêmbolos, com idade máxima de 10 dias. Então, os frascos foram incubados em BOD, marca Etik, a 20 ± 1 °C, com fotoperíodo controlado para 16 horas no claro e 8 horas no escuro. Para o controle negativo, foi utilizado o solo empregado no preparo das amostras. O ensaio foi realizado em quintuplicata.

Para garantir a oxigenação dos frascos, os mesmos foram abertos 1 vez na semana. A alimentação dos colêmbolos foi realizada no início do ensaio e após 14 dias com fermento

biológico seco contendo *Saccharomyces cerevisiae* (Fleischmann). O experimento teve duração de 28 dias.

Após esse período, cerca de 100 mL de água foram adicionados aos frascos, acrescidos de 5 gotas do corante nanquim, a fim de possibilitar a flutuação dos colêmbolos vivos (adultos e filhotes) e aumentar o contraste dos indivíduos para facilitar a visualização. Então, a superfície de cada frasco foi fotografada e, com o auxílio do software ImageJ®, foi contabilizado o número de indivíduos adultos (teste de letalidade) e o número total de juvenis (teste de reprodução) (ALVES *et al.*, 2014; ARAÚJO, 2021; PUDDEPHATT; MCCARTHY; SERRE, 2022).

A análise estatística foi realizada pelo software BioEstat, escolhendo o teste ANOVA 1 critério, nível de significância $p < 0,05$ (ALVES *et al.*, 2014). A porcentagem de letalidade foi calculada a partir do número de indivíduos adultos, a fim de avaliar o efeito tóxico da amostra sobre os organismos (PUDDEPHATT; MCCARTHY; SERRE, 2022; SANTOS *et al.*, 2012).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

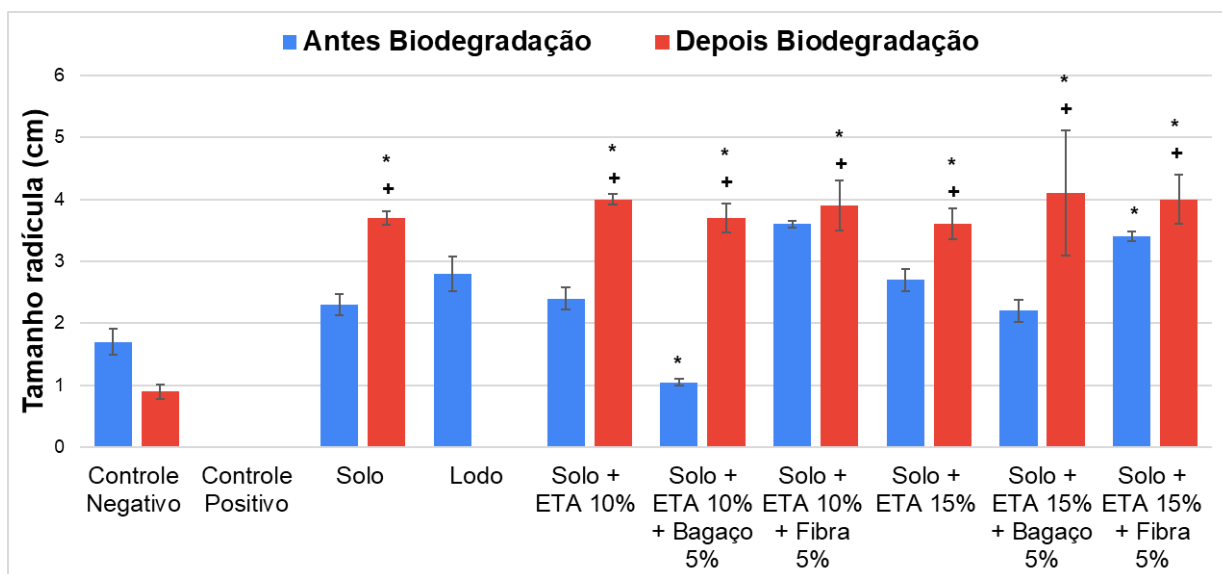
3.1 Teste de fitotoxicidade com sementes de *Eruca sativa*

Os resultados referentes ao ensaio com sementes de *Eruca sativa* (rúcula) estão apresentados na tabela 2 e figura 1. Esta espécie vem sendo altamente recomendada como um excelente organismo teste para a avaliação de fitotoxicidade de resíduos sólidos orgânicos (EID *et al.*, 2020; FRANÇA *et al.*, 2021; FRANCO *et al.*, 2021).

Tabela 2. Fitotoxicidade das amostras quanto aos parâmetros relativos à germinação e comprimento da radícula de *Eruca sativa*, antes e após bioestimulação das amostras.

Amostra	Período	Germinação (%)	Comprimento da Radícula (cm)	Índice de Germinação (%)	Classificação
Controle Negativo	Inicial	91,67 ± 7,64	2,1 ± 0,60	100	Não Tóxico
	Final	96,67 ± 5,77	3,1 ± 0,51	100	Não Tóxico
Controle Positivo	Inicial	0	-	-	-
	Final	0	-	-	-
Solo	Inicial	78,33 ± 15,28	1,6 ± 0,17 *	21,02 ± 45,81	Altamente Tóxico
	Final	91,67 ± 2,89	3,4 ± 0,15 +	107,80 ± 13,56	Não Tóxico
Lodo	Inicial	95 ± 5	2,5 ± 0,08	84,91 ± 21,02	Não Tóxico
	Final	-	-	-	-
Solo + ETA 10%	Inicial	93,33 ± 7,64	3,5 ± 0,26	116,07 ± 25,19	Não Tóxico
	Final	95 ± 2,89	3,8 ± 0,10	125,66 ± 12,17	Não Tóxico
Solo + ETA 10% + Bagaço 5%	Inicial	75 ± 17,32	0,3 ± 0,06 *	5,98 ± 1,03	Altamente Tóxico
	Final	90 ± 5	3,2 ± 0,57 +	101,47 ± 33,73	Não Tóxico
Solo + ETA 10% + Fibra 5%	Inicial	93,33 ± 11,54	3,6 ± 0,26	120,19 ± 35,02	Não Tóxico
	Final	85 ± 8,66	3,4 ± 0,26	99,29 ± 9,70	Não Tóxico
Solo + ETA 15%	Inicial	95 ± 5	3,1 ± 0,17	101,70 ± 16,42	Não Tóxico
	Final	98,33 ± 2,89	3,2 ± 0,32	105,98 ± 8,72	Não Tóxico
Solo + ETA 15% + Bagaço	Inicial	98,33 ± 2,89	1,7 ± 0,32 *	60,96 ± 22,24	Moderadamente Tóxico
	Final	86,67 ± 2,89	3,5 ± 0,27 +	104,65 ± 13,08	Não Tóxico
Solo + ETA 15% + Fibra	Inicial	90 ± 5	3,5 ± 0,18	110,38 ± 18,39	Não Tóxico
	Final	90 ± 5	3,8 ± 0,53	115,95 ± 7,45	Não Tóxico

Legenda: (-) Parâmetro não avaliado; (*) Estatisticamente significativo em relação ao Controle Negativo ($p < 0,05$); (+) Estatisticamente significativo para a mesma amostra antes e depois da biodegradação ($p < 0,05$). **Fonte:** Autora, 2022.



Legenda: (*) Estatisticamente significativo em relação ao Controle Negativo ($p < 0,05$); (+) Estatisticamente significativo para a mesma amostra antes e depois da biodegradação ($p < 0,05$).

Figura 1. Comprimento do hipocótilo de *E. sativa* expostas a diferentes amostras, antes e após processo de bioestimulação. **Fonte:** Autora, 2022.

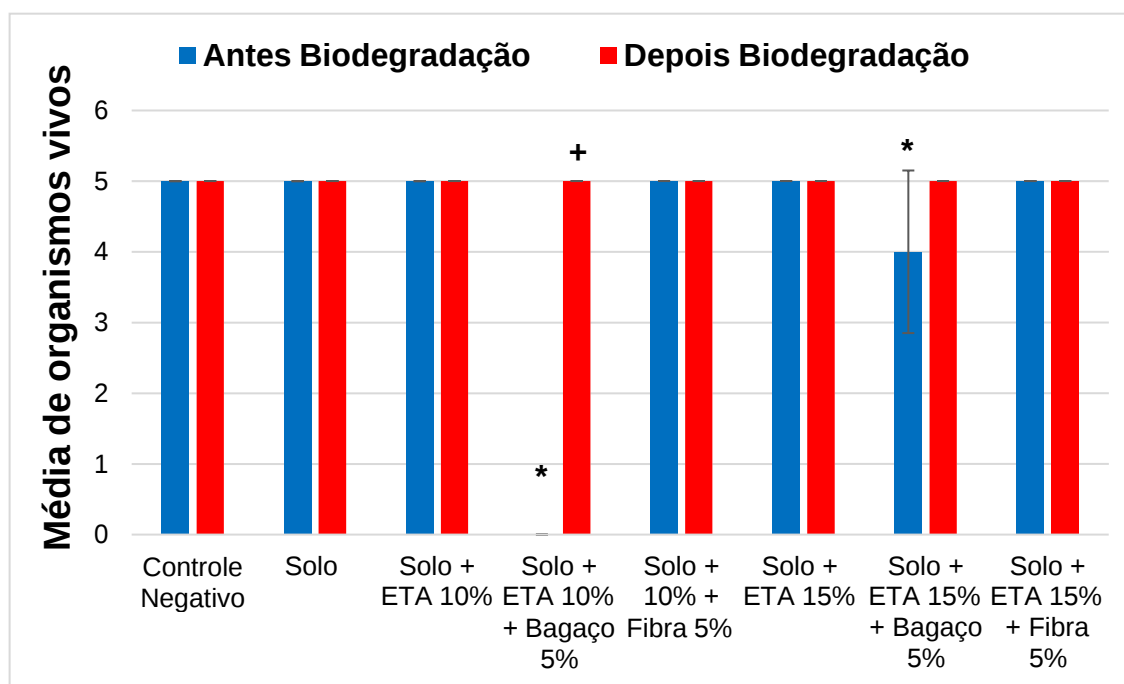
Os resultados obtidos para *E. sativa* indicaram que o lodo de ETA puro não induziu nenhum efeito fitotóxico em relação aos parâmetros analisados, revelando a baixa periculosidade ambiental desse resíduo. A ausência de toxicidade desse resíduo também foi relatada por Franco *et al.* (2021) ao avaliarem os parâmetros de germinação e comprimento do hipocótilo e radícula das espécies *E. sativa* e *Lactuca sativa*. Adicionalmente, Santos, Sommaggio e Marin-Morales (2022) também observaram que o lodo de ETA não interferiu no padrão de germinação de sementes da espécie *Allium cepa* (cebola).

Contudo, quando o lodo foi misturado com o bagaço de cana observou-se um grau de toxicidade de moderada a elevada. Assim, as sementes expostas às amostras ETA 10% + BAG e ETA 15% + BAG apresentaram inibição significativa do comprimento de suas radículas. Ainda, a amostra ETA 10% + BAG também induziu diminuição significativa do tamanho do hipocótilo. Um outro trabalho, realizado com essas mesmas amostras, confirmou esse efeito inibitório para a espécie *L. sativa* (ver artigo 1, item 3.5). Como esse efeito inibitório não foi observado para as demais amostras, possivelmente, o bagaço deve conter substâncias tóxicas, justificando os resultados aqui obtidos. Outros autores já relataram um aumento da toxicidade em plantas quando as mesmas foram expostas a amostras de lodo de esgoto onde houve incorporação de bagaço de cana (SOMMAGGIO *et al.*, 2018; SOUZA, 2018). Contudo, após o processo de bioestimulação, houve a eliminação desse efeito tóxico para todos os parâmetros avaliados. Além disso, após 120 dias de bioestimulação, todas as amostras apresentaram um

comprimento do hipocótilo significativamente maior do que no período inicial, evidenciando o potencial agrônomo na promoção do crescimento vegetal dessas amostras. Tal fato demonstra que o decaimento dos níveis de toxicidade está diretamente relacionado ao processo de estabilização da matéria orgânica em condições aeróbias, independentemente da incorporação de agentes bioestimulantes. Mazzeo *et al.* (2020) também concluíram que a adição de materiais bioestimulantes como o bagaço de cana e a borra de café não influenciou diretamente a eliminação da toxicidade de amostras de lodo de esgoto, mas sim o período de biodegradação em aerobiose durante 70 dias.

3.2 Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*

Para obtermos resultados quanto à presença de substâncias hidrossolúveis com potencial tóxico em organismo aquático, foi realizado o bioensaio com os microcrustáceos da espécie *D. similis* com o extrato aquoso do lodo de ETA. Os resultados da sobrevivência desses organismos podem ser observados na figura 2.



Legenda: (*) Estatisticamente significativo em relação ao Controle Negativo ($p < 0,05$); (+) Estatisticamente significativo para a mesma amostra antes e depois da biodegradação ($p < 0,05$).

Figura 2. Número de organismos vivos (*Daphnia similis*) expostos às diferentes amostras, antes e após o processo de bioestimulação.

Fonte: Autora, 2022

Corroborando com os resultados de fitotoxicidade, dentre todas as amostras analisadas, apenas aquelas que continham o bagaço de cana-de-açúcar apresentaram letalidade sobre *D. similis*. A amostra S + ETA 10% + BAG demonstrou ser a mais tóxica, resultando na letalidade de todos os indivíduos. No entanto, os 120 dias de bioestimulação foram suficientes para degradar os compostos tóxicos existentes no lodo, bem como, não levaram à formação de metabólitos intermediários tóxicos. Desse modo, após o período de bioestimulação, nenhuma das amostras ocasionou um efeito letal a esses microcrustáceos.

Em um estudo realizado por Yuan *et al.* (2020), a taxa de sobrevivência de *D. magna*, uma espécie com sensibilidade e características bastante similares à utilizada neste estudo, foi igual ou superior a 96% após exposição a diferentes concentrações de lodo de ETA. Em um outro estudo, o qual comparou a toxicidade do lodo de ETA férrico (alta concentração de ferro, devido ao coagulante aplicado na ETA) e lodo de alume (alta concentração de alumínio, devido ao coagulante utilizado pela ETA), foi observado que nenhum desses tipos de lodo induziu toxicidade aguda em *D. similis*, embora tenham levado ao decréscimo do número de filhotes com o aumento do período de exposição (SOTERO-SANTOS; ROCHA; POVINELLI, 2005). Resultados semelhantes foram obtidos por esses mesmos autores, porém em um outro trabalho que avaliou exclusivamente o efeito do lodo férrico (SOTERO-SANTOS; ROCHA; POVINELLI, 2007). Ainda, Bernegossi *et al.* (2022) relataram em sua revisão que, dentre todos os trabalhos citados sobre a toxicidade aguda em diferentes espécies de crustáceos, apenas um único estudo observou um efeito relativo à toxicidade aguda em *D. magna*, após 72h de exposição. Desse modo, pela ausência de toxicidade observada para o lodo puro, infere-se que os efeitos encontrados para as amostras S + ETA 10% + BAG e S + ETA 15% + BAG sejam, realmente, em decorrência da presença do bagaço.

A maior problemática da associação do bagaço de cana-de-açúcar com o lodo de ETA visando sua disposição em solos é que, além da contaminação do próprio solo, existe a possibilidade de percolação de líquidos contendo compostos tóxicos que levariam à contaminação de águas superficiais e/ou subterrâneas próximas (KELLER; MCGRATH; DUNHAM, 2002). Desse modo, é indispensável que ocorra a mineralização dos compostos tóxicos hidrossolúveis antes de sua utilização no solo.

3.3 Teste de toxicidade e reprodução com *Folsomia candida*

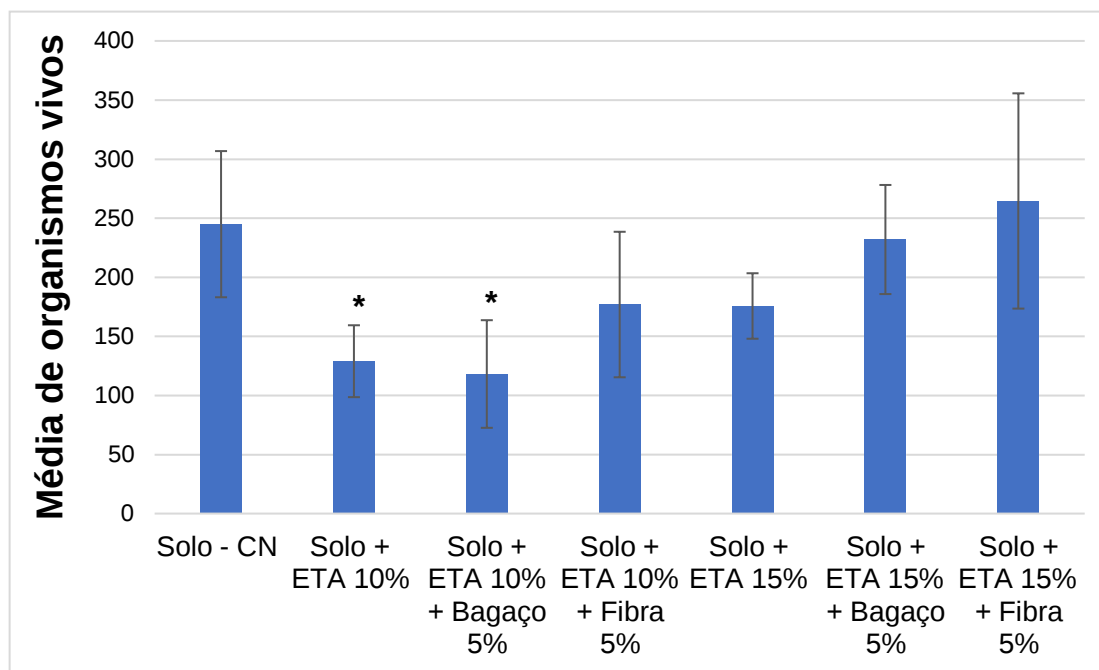
Referente ao teste de letalidade (Tabela 3), como os valores de mortalidade obtidos foram iguais ou inferiores a 20%, para os indivíduos adultos, nenhuma das amostras causou efeito letal sobre os colêmbolos (ISO, 2014). O emprego dessa espécie para a avaliação da toxicidade aguda de outros resíduos orgânicos com potencial de reaproveitamento na agricultura também demonstrou a ausência desse efeito. Groth *et al.* (2016), ao avaliar os efeitos tóxicos de biossólidos sobre *F. cândida*, não encontraram valores significativos de letalidade. Ainda, em outros estudos com lodo de esgoto, uma porcentagem inferior a 20% foi obtida, comprovando a ausência de toxicidade desse resíduo para essa espécie (ARAÚJO, 2021; NATAL-DA-LUZ *et al.*, 2009).

Tabela 3. Resultado do teste de letalidade com *F. candida* como bioindicador, antes do processo de biodegradação.

Amostra	Sobreviventes (%)
Controle Negativo – Solo	92
Solo + ETA 10%	88
Solo + ETA10% + Bagaço 5%	80
Solo + ETA 10% + Fibra 5%	90
Solo + ETA 15%	94
Solo + ETA 15% + Bagaço 5%	84
Solo + ETA 15% + Fibra 5%	98

Fonte: Autora, 2022

Apesar desse teste de sobrevivência ser importante para estudos ecotoxicológicos, a realização do ensaio de reprodução contribui com resultados mais completos e proporciona a observação de efeitos sub-letais (FRANÇA *et al.*, 2021). Os resultados da figura 3 são referentes ao teste de reprodução com *F. candida*. Este ensaio indicou que as amostras contendo 10% de lodo, tanto na presença como na ausência de bagaço, inibiram a reprodução dessa espécie, induzindo um efeito sub-letal estatisticamente significativo. Neste caso, esse efeito parece ter sido ocasionado pelo próprio lodo, exclusivamente na concentração de 10%. Contudo, sugere-se a avaliação dessas amostras após o processo de bioestimulação para verificar a permanência ou não desses efeitos.



Legenda: (*Estatisticamente significativo em relação ao Controle Negativo ($p < 0,05$)).

Figura 3: Quantidade total de colêmbolos, adultos e filhotes, expostos às diferentes amostras, antes do processo de biodegradação.

Fonte: Autora, 2022

De acordo com Bernegossi *et al.* (2022), a avaliação da toxicidade de amostras sólidas contendo lodo de ETA é quase que exclusivamente realizada empregando plantas, havendo uma necessidade urgente da incorporação de representantes de outros níveis tróficos para uma melhor caracterização do risco ecotoxicológico desse resíduo. Esses mesmos autores sugerem a inclusão da espécie *F. candida* nessas avaliações por ser um teste internacionalmente padronizado (BERNEGOSSI *et al.*, 2022). Desse modo, os resultados aqui obtidos são de extrema relevância ambiental, pois a ausência de efeito em uma espécie (p.e. *E. sativa* e *D. similis*) não pode ser generalizada para as demais, já que isso estaria subestimando os efeitos tóxicos desse material para organismos não-alvos.

De modo geral, o lodo de ETA aqui estudado apresenta uma baixa concentração de metais (Tabela S1) e ausência de compostos tóxicos capazes de induzir toxicidade aguda. Contudo, o efeito negativo ocasionado pelas amostras contendo 10% sobre a reprodução de *F. candida* indica cautela na utilização desse resíduo *in natura*. Outros autores também sugerem que outros testes capazes de avaliar efeitos sub-letais e por períodos mais longos de exposição sejam incluídos na bateria de ensaios para verificação de risco ecotoxicológico do lodo de ETA (YUAN *et al.*, 2020).

Ainda, a incorporação de bagaço ao lodo não bioestimulado acarretou em toxicidade para todos os organismos estudados. De acordo com Thode Filho *et al.* (2019), os efeitos tóxicos do bagaço de cana-de-açúcar podem estar relacionados a presença de metabólitos secundários da degradação da lignina, como ácidos fenólicos, fenóis, derivados de flavonóides, ácidos cinâmicos, entre outros compostos.

4 CONCLUSÃO

Com base nos resultados de toxicidade aguda, podemos concluir que, o lodo puro (nas concentrações testadas) ou associado com solo e/ou a fibra de coco, antes do processo de bioestimulação, não induziu um efeito capaz de interferir na germinação e crescimento de sementes de *E. sativa*, bem como na sobrevivência de *D. similis* e *F. candida*. Contudo, o efeito na diminuição do número de descendentes de *F. candida* para amostras de lodo (concentração de 10%) sugere que este resíduo induz algum nível de estresse sobre estes organismos e que este material requer passar por um processo de detoxificação antes de sua aplicação em solo.

Adicionalmente, o uso de bagaço de cana acarretou em uma elevada toxicidade para todos os organismos aqui estudados, demonstrando que esse resíduo não deve ser incorporado diretamente ao solo, sem tratamento prévio.

Contudo, o processo de bioestimulação empregado mostrou-se eficiente na diminuição da toxicidade, podendo servir como base para estudos de tratamento de resíduos orgânicos como o lodo de ETA. No entanto, a incorporação de agentes bioestimulantes como o bagaço de cana-de-açúcar e a fibra de coco devem ser utilizados caso o poder nutritivo do composto final seja melhorado, já que para a diminuição da toxicidade, a bioestimulação em solo por 120 dias já foi suficiente. Desse modo, o lodo de ETA pode ser destinado para solos agrícolas, desde que este passe por um período de detoxificação.

5 REFERÊNCIAS

ABNT-NBR 10.006. Procedimento para Obtenção de extrato Solubilizado de Resíduos Sólidos. *Associação Brasileira de Normas Técnicas*, 2004.

ABNT-NBR 10.007. Procedimentos para Amostragem de Resíduos. *Associação Brasileira de Normas Técnicas*, 2004.

ABNT-NBR 12713. Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia spp* (Crustacea, Cladocera). *Associação Brasileira de Normas Técnicas*, 2016.

AHMAD, T.; AHMAD, K.; ALAM, M. Characterization of Water Treatment Plant's Sludge and its Safe Disposal Options. *Procedia Environmental Sciences*, v. 35, p. 950–955, 2016.

ALMEIDA, E. J. R. *et al.* Simultaneous energy generation, decolorization, and detoxification of the azo dye Procion Red MX-5B in a microbial fuel cell. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 9, 2021.

ALVES, P. R. L. *et al.* Seed dressing pesticides on springtails in two ecotoxicological laboratory tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 105, p. 65-71, 2014.

ARAÚJO, R. S. Toxicidade de Imidacloprido para Colêmbolos *Folsomia Candida*: Efeitos Individuais e de Misturas com Fipronil ou Clotianidina. *Universidade Federal Fronteira do Sul*, Chapecó, Trabalho de Conclusão de Curso, 2021.

BERNEGOSI, A. C. *et al.* A systematic review of the water treatment sludge toxicity to terrestrial and aquatic biota: state of the art and management challenges. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, v. 57, n. 4, p. 282-297, 2022.

DUBE, S. *et al.* Effects of sludge water from a water treatment works on soil properties and the yield and elemental uptake of *Brachiaria decumbens* and lucerne (*Medicago sativa*). *Agricultural Water Management*, v. 208, p. 335-343, 2018.

EID, E. M. *et al.* Uptake Prediction of Ten Heavy Metals by *Eruca sativa* Mill. Cultivated in Soils Amended with Sewage Sludge. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 104, n.1, p. 134-143, 2020.

FERNANDO-FONCILLAS, C. *et al.* Co-management of sewage sludge and other organic wastes: A scandinavian case study. *Energies*, v. 14, 2021.

FRANCO, N. M. Manejo de Lodo de Estação de Tratamento de Água, Visando ao Aproveitamento na Agricultura como Condicionante de Solos. *Universidade Estadual Paulista*, Trabalho de Conclusão de Curso, Rio Claro, SP, 2019.

FRANCO, N. M. *et al.* Biodegradability of water treatment sludge influenced by sewage sludge, focusing its use in agriculture as soil conditioner. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2021.

FRANÇA, M. *et al.* Toxicity Study of the Sanitary Wastewater Treatment Plant Sludge Aiming Its Reuse in Agriculture. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 232, n. 6, 2021.

GOMES, S. C. *et al.* Progress in manufacture and properties of construction materials incorporating water treatment sludge: A review. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 145, p. 148–159, 2019.

GONÇALVES, M. M. C. *et al.* Phytotoxicity and cytogenotoxicity of composted tannery sludge. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, p. 34495-34502, 2020.

GROTH, V. A. *et al.* Ecotoxicological assessment of biosolids by microcosms. *Chemosphere*, v. 161, p. 342-348, 2016.

GUERIN, T. F. Phytotoxicity complements chemical assessment for re-use and re-purposing of refinery wastes for soil amendment purposes after bioremediation. *Journal of Environmental Management*, 317, 2022.

GUEVARA, M. D. F. Fitotoxicidade em águas residuárias domésticas utilizando sementes como bioindicadores. *Revista DAE*, v. 67, n. 216, p. 44-51, 2019.

ISO 11267. Soil Quality - Inhibition of Reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by Soil Pollutants. *International Organization for Standardization*, Geneva, Switzerland, 2014.

KELLER, C.; MCGRATH, S. P.; DUNHAM, S. J. Trace Metal Leaching through a Soil–Grassland System after Sewage Sludge Application. *Journal of Environmental Quality*, v. 31, n. 5, p. 1417-1756, 2002.

MAZZEO, D. E. C. *et al.* Effects of biostimulation by sugarcane bagasse and coffee grounds on sewage sludges, focusing agricultural use: Microbial characterization, respirometric assessment and toxicity reduction. *Waste Management*, v. 118, p. 110–121, 2020.

MAZZEO, D. E. C. *et al.* Endocrine disrupting activity in sewage sludge: Screening method, microbial succession and cost-effective strategy for detoxification. *Journal of Environmental Management*, v. 330, 2023.

MISHRA, B. *et al.* Water Security in a Changing Environment: Concept, Challenges and Solutions. *Water*, v. 13, n. 4, p. 490, 14 fev. 2021.

NATAL-DA-LUZ, T. *et al.* The use of sewage sludge as soil amendment. The need for an ecotoxicological evaluation. *Journal of Soils and Sediments*, p. 246-260, 2009.

ODIMEGWU, T. C. *et al.* Review on Different Beneficial Ways of Applying Alum Sludge in a Sustainable Disposal Manner. *Civil Engineering Journal*, v. 4, n. 9, p. 2230–2241, 2018.

OECD. Collembolan Reproduction Test in Soil. *GUIDELINES FOR TESTING CHEMICALS*, 2016.

OOI, T. Y. *et al.* Optimization of aluminium recovery from water treatment sludge using Response Surface Methodology. *Journal of environmental management*, v. 228, p. 13-19, 2018.

PEDUTO, T. A. G.; JESUS, T. A.; KOHATSU, M. Y. Sensibilidade de diferentes sementes em ensaio de fitotoxicidade. *Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Inovação*, v. 4, n. 2, p. 200-212, 2019.

PUDDEPHATT, K. J.; MCCARTHY, L. H.; SERRE, B. M. Assessing the potential chronic, sublethal and lethal ecotoxicity of land-applying biosolids on *Folsomia candida* and *Lumbricus terrestris*. *Ecotoxicology*, v. 31, p. 1520-1535, 2022.

RIBEIRO, P. L. *et al.* Water treatment residuals for ameliorating sandy soils: Implications in environmental, soil and plant growth parameters. *Geoderma*, v. 407, 2022.

SALEEM, S.; MIAN, H. R.; HU, G. (2019). Water Distribution System. *Encyclopedia of Water*, 1–11. doi:10.1002/9781119300762.wsts019

SANTOS, M. J. G. *et al.* Pesticide application to agricultural fields: Effects on the reproduction and avoidance behaviour of *Folsomia candida* and *Eisenia andrei*. *Ecotoxicology*, v. 21, p. 2113-2122, 2012.

SANTOS, T.; SOMMAGGIO, L. R. D.; MARIN-MORALES, M. A. Phyto-genotoxicity assessment of different associations between sludges from Water and Sewage Treatment Plants, before and after the bioremediation process. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 29, n. 26, p. 40029-40040, 2022.

SHARMA, B. *et al.* Recycling of organic wastes in agriculture: an environmental perspective. *International journal of environmental research*, v. 13, p. 409-429, 2019.

SHOJI, R. *et al.* Ecotoxicity assessment of sludge and leaching test eluates of sludge. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, v. 43, n. 9, p. 1042-1047, 2008.

SILVA, R. P. T.; BORTTREL, E. C.; PEREIRA, R. O. Possibilidades De Utilização Dos Resíduos De Estação De Tratamento De Água: Estudo De Caso Eta-Jf/Mg. *Universidade Federal de São João Del-Rei*, 2018.

SOBRINHO, M. A. M. *et al.* Geração, Tratamento e Disposição Final dos Resíduos das Estações de Tratamento de Água do Estado de Pernambuco. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 24, n. 4, p. 761-771, 2019.

SOMMAGGIO, L. R. D. *et al.* Ecotoxicological and microbiological assessment of sewage sludge associated with sugarcane bagasse. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 147, n. May 2017, p. 550-557, 2018.

SOTERO-SANTOS, R. B.; ROCHA, O.; POVINELLI, J. Toxicity of ferric chloride sludge to aquatic organisms. *Chemosphere*, v. 68, n. 4, p. 628-636, 2007.

SOUZA, M. N. Efetividade da Biorremediação de Lodo de Esgoto Aeróbio Bioestimulado, Avaliada pelo Ensaio de Allium Cepa. *Universidade Estadual Paulista*, Rio Claro, SP, Trabalho de conclusão de Curso, 2018.

TANTAWY, M. A. Characterization and pozzolanic properties of calcined alum sludge. *Materials Research Bulletin*, v. 61, p. 415-421, 2015.

TELESCA, A.; IBRIS, N.; MARROCCOLI, M. (2021). Use of potabilized water sludge in the production of low-energy blended calcium sulfoaluminate cements. *Applied Sciences*, v. 11, n. 4, 2021.

THODE FILHO, S. T. *et al.* Avaliação ecotoxicológica do extrato solubilizado de bagaço de cana-de-açúcar residual via germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). *Revista de Estudos Ambientais*, v. 21, n. 1, p. 46-55, 2019.

USEPA. *Ecological Effects Test Guidelines* (OPPTS 850.4200). Seed Germination Root Elongation Toxicity Test, 1996.

YUAN, N. *et al.* The physiological and biochemical responses of *Daphnia Magna* to dewatered drinking water treatment residue. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 17, n. 16, p. 1-14, 2020.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O lodo de ETA estudado apresentou características físico-químicas interessantes que são importantes para as plantas e manutenção do solo, além de baixa patogenicidade. Em relação a esses parâmetros, a disposição do lodo em solo não oferece nenhum risco ambiental. Entretanto, o lodo contém grande quantidade de água, sendo essencial realizar um processo de secagem para evitar que ocorra a percolação de líquidos com possíveis contaminantes para águas superficiais e/ou subterrâneas e camadas profundas do solo.

Com base nos resultados obtidos de fitotoxicidade, toxicidade aguda e no teste de reprodução, o lodo puro ou associado com solo e/ou a fibra de coco, não teve efeitos tóxicos sobre os organismos alvos. Com tudo, no teste de reprodução, a amostra que continha lodo na concentração 10% (na presença ou ausência do bagaço de cana), inibiu significativamente a geração de descendentes, indicando que o lodo, nessa concentração, causa estresse sobre *F. candida*. Isso impõe a necessidade de tratamentos de detoxificação antes de sua utilização agrícola.

As amostras que continham o bagaço de cana-de-açúcar associado com o lodo de ETA apresentaram toxicidade moderada a alta em todos os bioensaios, indicando que essa mistura também requer um tratamento de detoxificação antes de ser disposta em solo. Contudo, após o período de 120 dias de biodegradação mostrou ser o suficiente para eliminar esses efeitos tóxicos apresentados nos ensaios de fitotoxicidade e toxicidade aguda, tornando segura a disposição em solos agrícolas.

Após o processo de biodegradação, o lodo tem sua ação de fertilizante otimizada, proporcionando um maior crescimento dos órgãos vegetais. A associação dos agentes bioestimulantes não favorece o processo de biodegradação, mas podem contribuir com nutrientes adicionais, complementando os já presentes no lodo de ETA ou melhorar a característica física do composto.

6 REFERÊNCIAS

- ABNT. NBR 10.004 - Classificação de Resíduos Sólidos. *Associação Brasileira de Normas Técnicas*, e. 2, 2004.
- AHMAD, T.; AHMAD, K.; ALAM, M. Characterization of Water Treatment Plant's Sludge and its Safe Disposal Options. *Procedia Environmental Sciences*, v. 35, p. 950–955, 2016a.
- AHMAD, T.; AHMAD, K.; ALAM, M. Sustainable Management of Water Treatment Sludge Through 3 'R' concept. *Journal of Cleaner Production*, v. 124, p. 1–13, 2016b.
- BARAKWAN, R. A.; TRIHADININGRUM, Y.; BAGASTYO, A. Y. (2019). Characterization of alum sludge from Surabaya Water Treatment Plant, Indonesia. *Journal of Ecological Engineering*, v. 20, n. 5, p. 7–13, 2019.
- BATISTA, I. F. *et al.* Potential Contribution water treatment plant (WTP) sludge to river pollution. *Scientia Plena*, v. 17, n. 10, 2021.
- BLAISE, C.; FÉRAD, J-F. Overview of contemporary toxicity testing. *Small-Scale Freshwater Toxicity Investigations*, v. 1, p 1-68, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria GM/MS No 888, de 4 de maio de 2021. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS no 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 07 mai. 2021, s. 1, e.58, p. 127, 2021.
- BRASIL. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Conselho Nacional do Meio Ambiente*, 2005.
- BRASIL. *Secretária Nacional de Vigilância Sanitária*. Vigilância e Controle da Qualidade da Água para Consumo Humano. Brasília, DF, 2006.
- BRASIL. Lei 12.305. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências, Brasília, DF, 2010. Disponível em: planalto.gov.br.
- BRENDA, M. *et al.* Efeitos ecotoxicológicos de metais aos organismos aquáticos. *Fórum Ambiental da Alta Paulista*, v. 14, n. 4, 2018.
- CHINVELSKI, F. T. W. *Avaliação do Processo de Coagulação/Floculação para Tratamento de Água Potável de Manancial Superficial*. universidade Federal da Fronteira do Sul, Cerro Largo, Trabalho de Conclusão de Curso, 2018.
- CORREIA, J. E. Histórico Da Aplicação De Vinhaça Em Canaviais: Bioensaios De Toxicidade Terrestre E Aquática Jorge Evangelista Correia. *Universidade Estadual Paulista*, Rio Claro, São Paulo, Tese de Doutorado, 2019.
- COSTA, T. *et al.* Bioindicators Assessing Water Quality and Environmental Impacts of Water Treatment Plant Sludge. *International Journal of Environment and Sustainable Development*, v. 16, n. 1, p. 25-42, 2017.

- CRUZ, D. C. M. V. Ecotoxicidade de cascalhos de perfuração de poços de petróleo: aspectos ecológicos para a disposição em solo. *Universidade Federal de Santa Catarina*, Curitiba, SC, Dissertação de Mestrado, 2022.
- DASSANAYAKE, K. B. *et al.* A Review on Alum Sludge Reuse with Special Reference to Agricultural Applications and Future Challenges. *Waste Management*, v. 38, n. 1, p. 321–335, 2015.
- DUBE, S. *et al.* Effects of sludge water from a water treatment works on soil properties and the yield and elemental uptake of *Brachiaria decumbens* and lucerne (*Medicago sativa*). *Agricultural Water Management*, v. 208, p. 335-343, 2018.
- DUTTA, J. M. A. A. Acute and Chronic Toxicity of Fluoroquinolone Antibiotics through Fresh Water cladocera *Daphnia magna*. *ResearchGate*, p. 874-879, 2019.
- EBERT, D. *Daphnia* as a versatile model system in ecology and Evolution. *EvoDevo*, v. 13, n. 1, 2022.
- EXLEY, C.; MOLD, M. Aluminium in human brain tissue: how much is too much?. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, v. 24, n. 8, p. 1279-1282, 2019.
- FELIPE, M. C. Bioensaios de toxicidade utilizando invertebrados aquáticos em exposição Alquilbenzeno Linear Sulfonado. *Universidade de São Paulo*, São Carlos, São Paulo, Tese de doutorado, 2019.
- FERNANDO-FONCILLAS, C. *et al.* Co-management of sewage sludge and other organic wastes: A scandinavian case study. *Energies*, v. 14, 2021.
- FRANCO, N. M. *et al.* Biodegradability of water treatment sludge influenced by sewage sludge, focusing its use in agriculture as soil conditioner. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2021.
- GASPARD, P. G.; SCHWARTZBROD, J. Parasite contamination (helminth eggs) in sludge treatment plants: Definition of a sampling strategy. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 206, n. 2, p. 117–122, 2003.
- GOMES, S. C. *et al.* Progress in manufacture and properties of construction materials incorporating water treatment sludge: A review. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 145, p. 148–159, 2019.
- GUEVARA, M. D. F. Fitotoxicidade em águas residuárias domésticas utilizando sementes como bioindicadores. *Revista DAE*, v. 67, n. 216, p. 44-51, 2019.
- GUZMAN, M. A. L. G. *et al.* Efficiency of Combined Co-composting, Vermicomposting, and Drying in the Treatment of Cadmium, Mercury, Helminths, and Coliforms in Sludge from Wastewater Facilities for Potential Agricultural Applications. In *Science* (Vol. 149, Issue 1).
- KAMIWADA, W. Y.; ANDRADE, P. V.; REIS, A. G. Use of polyaluminium chloride in studies of water supply treatability through coagulation, flocculation, and sedimentation. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 25, n. 5, p. 667–676, 2020.
- KOUR, D. *et al.* Beneficial microbiomes for bioremediation of diverse contaminated environments for environmental sustainability: present status and future challenges. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 28, p. 24917-2439, 2021.

- KYNCL, M. OPPORTUNITIES FOR WATER TREATMENT SLUDGE RE. *GeoScience Engineering*, v. 1, p. 11–22, 2008.
- MALLMANN, V. *et al.* As Vantagens da Biorremediação na Qualidade Ambiental. *Ensaio e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e Da Saúde*, v. 23, n. 1, p. 12-15, 2019.
- MAZZEO, D. E. C. *et al.* Monitoring the Natural Attenuation of a Sewage Sludge Toxicity Using the Allium Cepa Test. *Ecological Indicators*, v. 56, p. 60 - 69, 2015.
- MAZZEO, D. E. C. *et al.* Attesting the Efficiency Of Monitored Natural Attenuation in the Detoxification of Sewage Sludge By Means of Mutagenic Bioassays. In *Chemosphere*, v. 163, p. 508–515, 2016a.
- MAZZEO, D. E. C. *et al.* Detoxification of sewage sludge by natural attenuation and implications for its use as a fertilizer on agricultural soils. *Science of the total Environment*, v. 163, p. 508–515, 2016b.
- MAZZEO, D. E. C. *et al.* Effects of biostimulation by sugarcane bagasse and coffee grounds on sewage sludges, focusing agricultural use: Microbial characterization, respirometric assessment and toxicity reduction. *Waste Management*, v. 118, p. 110–121, 2020.
- MORSELLI, L. B. G. A. *et al.* Lodo de Estação de Tratamento de água: Possibilidade de Aplicação no Solo. *Scientia Plena*, v. 18, 2022.
- MWALIKENGA, M. K.; VITAL, F. A. C. Perfil de Contaminação das Águas e Peixes por Metais Pesados e suas Consequências para a Saúde Humana. *Revista Brasileira de Ciências Biomédicas*, v. 1, n. 1, p. 16-23, 2020.
- NIVA, C. C.; BROWN, G. G. Ecotoxicologia Terrestre: Métodos e Aplicações dos Ensaio com Oligoquetas. In: *Ecotoxicologia Terrestre: Métodos e Aplicações dos Ensaio com Oligoquetas*. EMBRAPA, p. 23-76, 2019.
- NGUYEN, M. D. *et al.* Beneficial reuse of water treatment sludge in the context of circular economy. *Environmental Technology & Innovation*, v. 28, 2022.
- NGWESE, M. M. *et al.* Diagnostic Techniques of Soil-Transmitted Helminths: Impact on Control Measures. *Tropical Medicine and infectious Disease*, v. 5, 2020.
- NUNES, F. K. M. Influência do composto à base de Fibra de Coco nas Propriedades uímicas do Solo de um Plantio de Coqueiro Anão Verde em Santa Izabel do Pará. *Universidade Rural da Amazônia*, Belém, Amazônia, Trabalho de Conclusão de Curso, 2021.
- ODIMEGWU, T. C. *et al.* Review on Different Beneficial Ways of Applying Alum Sludge in a Sustainable Disposal Manner. *Civil Engineering Journal*, v. 4, n. 9, p. 2230–2241, 2018.
- OGLIARI, A. J., *et al.* Ecotoxicological Evaluation of Forest Biomass Ash on Springtails and Earthworms in Subtropical Soils of Brazil. *Journal of Agricultural Studies*, v. 8, n. 1, p. 208-226, 2020.
- ORTIZ, D. C. *et al.* Diversity of springtails (Collembola) in agricultural and forest systems in Southern Santa Catarina. *Biota Neotropica*, v. 19, n. 3, 2019.
- PEDUTO, T. A. G.; JESUS, T. A.; KOHATSU, M. Y. Sensibilidade de diferentes

sementes em ensaio de fitotoxicidade. *Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Inovação*, v. 4, n. 2, p. 200-212, 2019.

PHAM, P. N. *et al.* Properties of mortar incorporating untreated and treated drinking water treatment sludge. *Construction and Building Materials*, v. 280, 2021.

PORTELA, K. F. *et al.* Caracterização Físico-Química do lodo Centrifugado da Estação de Tratamento de Água Passaúna - Curitiba/ PR. *22º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária Ambiental*, Joinville, 2003.

QRENAWI, L. I.; RABAH, F. K. J. Sludge management in water treatment plants: literature review. *International Journal of Environment and Waste Management*, v. 27, n. 1, p. 93 - 123, 2021.

RAK, J. R.; KUCHARSKI, B. Sludge Management in Water Treatment Plants. *Environment Protection Engineering*, v. 35, n. 2, p. 15–21, 2009.

RIBEIRO, P. L. *et al.* Water treatment residuals for ameliorating sandy soils: Implications in environmental, soil and plant growth parameters. *Geoderma*, v. 407, 2022.

ROBLES, I. *et al.* Inactivation of helminth eggs in an electro-Fenton reactor: Towards full electrochemical disinfection of human waste using activated carbon. *Chemosphere*, v. 250, 2020.

ROCHA, M. C. V.; BARÉS, M. E.; BRAGA, M. C. B. Quantification of viable helminth eggs in samples of sewage sludge. *Water Research*, v. 103, p. 245–255, 2016.

ROSSIANA, N. *et al.* Using *Daphnia magna* Straus to monitor toxicity of sustainable oil sludge bio-phytoremediation. *E3S Web of Conferences*, v. 249, 2021.

SANTOS, C. T. C. Proposição de Alternativa para a Desinfecção de Água no Campus Central da UFRN. *Universidade Federal do Rio Grande do Norte*, Natal, Trabalho de Conclusão de Curso, 2020.

SANTOS, L. A. R. *et al.* Verificação Da Produção De Lodo De Eta Em Função Da Quantidade E Da Qualidade Da Água Bruta. *Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas*, v. 15, n. 2, p. 235–258, 2021.

SANTOS, T.; SOMMAGGIO, L. R. D.; MARIN-MORALES, M. A. Phyto-genotoxicity assessment of different associations between sludges from Water and Sewage Treatment Plants, before and after the bioremediation process. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 29, n. 26, p. 40029–40040, 2022.

SHAHIN, S. A.; MOSSAD, M.; FOUAD, M. Evaluation of copper removal efficiency using water treatment sludge. *Water Science and Engineering*, v. 12, n. 1, p. 37–44, 2019.

SHARMA, P. *et al.* Critical review on microbial community during in-situ bioremediation of heavy metals from industrial wastewater. *Environmental Technology and Innovation*, v. 24, 2021.

SILVA, R. P. T.; BORTTREL, E. C.; PEREIRA, R. O. Possibilidades De Utilização Dos Resíduos De Estação De Tratamento De Água: Estudo De Caso Eta-Jf/Mg. *Universidade Federal de São João Del-Rei*, 2018.

SOBRINHO, M. A. M. *et al.* Geração, Tratamento e Disposição Final dos Resíduos das Estações de Tratamento de Água do Estado de Pernambuco. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 24, n. 4, p. 761–771, 2019.

SOMMAGGIO, L. R. D. *et al.* Evaluation of the potential agricultural use of biostimulated sewage sludge using mammalian cell culture assays. *Chemosphere*, v. 199, p. 10–15, 2018a.

SOMMAGGIO, L. R. D. *et al.* Ecotoxicological and microbiological assessment of sewage sludge associated with sugarcane bagasse. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 147, p. 550–557, 2018b.

SPECIAN, A. M. *et al.* Ocorrência de bactérias heterotróficas, coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras de água de abastecimento público de dois municípios do Estado de São Paulo. *BEPA*, v. 18, n. 205, p. 13 – 22, 2021.

TEIXEIRA, K. C. *et al.* Tratamento de água para abastecimento público utilizando pré-oxidação com ácido peracético e coagulação com sulfato de alumínio. *Conjecturas*, v. 22, n. 1, p. 1505–1519, 2022.

TINA, J. K. Impacto de inseticidas sobre o comportamento de colêmbolos *Folsomia candida* (COLLEMBOLA). *Universidade Federal da Fronteira do Sul*, Chapecó, Trabalho de Conclusão de Curso, 2021.

TKACZYK, A. *et al.* *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review. *Science of the Total Environment*, v. 763, 2021.

TONY, M. A. Valorization of undervalued aluminum-based waterworks sludge waste for the science of “The 5 Rs’ criteria”. *Applied Water Science*, v. 12, n. 2, 2022.

TRAAS, T. P.; VAN-LEEUEWEN, C. J. Ecotoxicological Effects. *In: Risk Assessment of Chemicals*, 281-282, 2007.

TURCHIULI, C.; FARGUES, C. Influence of structural properties of alum and ferric flocs on sludge dewaterability. *Chemical Engineering Journal*, v. 103, p. 123-131, 2004.

TYAGI, M.; FONSECA, M. M. R.; CARVALHO, C. C. C. R. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation*, v. 22, n. 2, p. 231–241, 2011.

USEPA. *Ecological Effects Test Guidelines* (OPPTS 850.4200). Seed Germination Root Elongation Toxicity Test, 1996.

WEI, L.; TOGBIN, C. The impact of humidity on physicochemical and properties of the compost. *Journal of Ecology*, v. 24, n. 11, p. 2656 – 2663, 2004.

WRIGHT, D. A.; WELBOURN, P. Methodological Approaches. *Environmental Toxicology*, p. 97-217, 2002.

ZHANG, C. *et al.* Ecotoxicology of strobilurin fungicides. *Science of the Total Environment*, v. 742, 2020.

7 APÊNDICE

Tabela suplementar 1: Caracterização química do lodo de ETA.

Elementos	Concentração
Macronutrientes	
Nitrogênio	5,7 mg/Kg
Potássio Total	0,24%
Fósforo Total	0,47%
Cálcio	1,06%
Magnésio	0,26%
Micronutrientes	
Zinco	2,09%
Cobre	0,05%
Manganês	0,22%
Sódio	0,07%
Ferro	18,96%
Metais	
Cobalto	<0,01%
Níquel	27,1 mg/Kg
Cádmio	<0,1 mg/Kg
Cromo	53,1 mg/Kg
Chumbo	79,0 mg/Kg
Matéria Orgânica	15,30 ± 0,25
Carbono Total	6,53 ± 0,12

Tabela 2: Medições diárias do ensaio de respirometria

Tratamentos

Dias	Solo	Solo + Bagaço de cana-de açúcar 5%	Solo + Fibra de coco 5%	Solo + ETA 10%	Solo + ETA 10% + Bagaço de cana-de-açúcar 5%	Solo + ETA 10% + Fibra de coco 5%	Solo + ETA 15%	Solo + ETA 15% + Bagaço de cana-de-açúcar 5%	Solo + ETA 15% + Fibra de coco 5%
1	8.49 ± 0.35	6.59 ± 0.03	8.66 ± 0.18	7.65 ± 0.10	6.56 ± 0.03	7.94 ± 0.50	7.97 ± 0.18	6.51 ± 0.03	7.35 ± 0.05
2	11.56 ± 0.42	6.62 ± 0.05	11.89 ± 0.42	11.48 ± 0.11	6.62 ± 0.06	11.63 ± 0.34	11.99 ± 0.22	6.50 ± 0.04	11.10 ± 0.51
3	13.14 ± 0.20	6.53 ± 0.03	12.64 ± 0.60	12.94 ± 0.14	6.69 ± 0.09	12.00 ± 0.23	13.07 ± 0.28	6.61 ± 0.05	12.50 ± 0.26
4	13.62 ± 0.17	6.61 ± 0.03	12.84 ± 0.85	13.84 ± 0.27	6.62 ± 0.12	12.58 ± 0.40	13.75 ± 0.38	6.58 ± 0.06	13.17 ± 0.45
5	13.68 ± 0.07	6.61 ± 0.21	11.86 ± 2.31	13.03 ± 0.26	6.77 ± 0.19	13.76 ± 0.27	14.19 ± 0.30	6.81 ± 0.14	13.39 ± 0.28
6	12.98 ± 0.36	6.91 ± 0.24	11.98 ± 2.84	14.12 ± 0.28	7.47 ± 0.61	13.65 ± 0.37	14.61 ± 0.22	6.98 ± 0.24	13.16 ± 0.19
7	13.70 ± 0.23	7.09 ± 0.23	13.06 ± 0.98	13.99 ± 0.58	7.29 ± 0.31	13.48 ± 0.21	14.47 ± 0.34	7.33 ± 0.32	13.49 ± 0.31
8	14.15 ± 0.28	7.95 ± 0.62	12.37 ± 2.55	14.58 ± 0.27	8.60 ± 0.92	13.91 ± 0.15	14.83 ± 0.43	8.81 ± 1.05	13.78 ± 0.39
9	13.65 ± 0.33	7.80 ± 0.20	13.34 ± 0.27	14.48 ± 0.19	10.65 ± 0.56	13.17 ± 1.81	14.79 ± 0.26	8.78 ± 0.93	13.60 ± 0.35
10	12.83 ± 2.47	8.99 ± 0.38	13.24 ± 0.91	14.53 ± 0.16	10.23 ± 0.45	12.27 ± 2.61	14.70 ± 0.17	8.56 ± 0.81	13.67 ± 0.14
11	14.45 ± 0.20	9.29 ± 0.67	12.83 ± 2.14	14.55 ± 0.37	9.29 ± 0.65	13.56 ± 0.18	14.53 ± 0.29	8.96 ± 0.45	13.91 ± 0.14
12	14.48 ± 0.29	8.81 ± 0.79	13.16 ± 0.36	14.88 ± 0.46	9.91 ± 0.55	12.64 ± 2.60	14.67 ± 0.12	9.18 ± 0.45	13.71 ± 0.27

13	14.43 ± 0.23	9.36 ± 0.65	13.71 ± 0.74	14.78 ± 0.28	10.96 ± 0.37	14.15 ± 0.43	15.13 ± 0.10	10.21 ± 0.36	14.06 ± 0.19
14	14.33 ± 0.11	9.94 ± 0.59	13.01 ± 0.49	14.84 ± 0.17	10.46 ± 0.12	13.50 ± 0.83	15.14 ± 0.07	10.23 ± 0.39	14.17 ± 0.11
15	14.72 ± 0.16	10.54 ± 0.38	13.35 ± 0.18	14.88 ± 0.15	10.20 ± 0.56	14.14 ± 0.07	14.99 ± 0.15	10.66 ± 0.26	14.17 ± 0.25
16	14.83 ± 0.32	10.25 ± 0.24	13.02 ± 0.13	15.05 ± 0.10	10.71 ± 0.40	13.75 ± 0.91	15.00 ± 0.20	10.92 ± 0.31	14.14 ± 0.11
17	14.67 ± 0.18	10.53 ± 0.40	12.54 ± 0.24	14.58 ± 0.95	11.33 ± 0.93	14.34 ± 0.22	15.34 ± 0.10	11.49 ± 0.12	14.16 ± 0.18
18	14.64 ± 0.17	11.16 ± 0.44	12.74 ± 0.35	14.45 ± 1.27	11.55 ± 0.55	14.29 ± 0.20	15.35 ± 0.13	11.72 ± 0.16	14.32 ± 0.23
19	14.90 ± 0.15	11.17 ± 0.55	12.66 ± 0.36	15.11 ± 0.08	12.85 ± 3.98	13.17 ± 1.08	15.12 ± 0.07	11.15 ± 1.36	14.21 ± 0.30
20	14.81 ± 0.29	10.38 ± 0.58	12.04 ± 0.38	14.93 ± 0.33	11.20 ± 0.28	13.38 ± 0.75	15.04 ± 0.30	11.35 ± 0.43	13.93 ± 0.25
21	14.67 ± 0.19	10.27 ± 0.58	11.46 ± 0.50	14.63 ± 0.19	11.22 ± 0.37	13.58 ± 0.19	14.89 ± 0.30	11.54 ± 0.29	13.81 ± 0.37
22	15.02 ± 0.17	10.65 ± 0.43	11.31 ± 0.50	15.42 ± 0.19	11.78 ± 0.55	13.68 ± 0.38	15.22 ± 0.14	11.75 ± 0.20	14.17 ± 0.21
23	15.33 ± 0.09	11.45 ± 0.49	11.83 ± 0.58	15.31 ± 0.10	12.35 ± 0.09	14.09 ± 0.51	15.46 ± 0.18	12.65 ± 0.22	14.61 ± 0.21
24	14.99 ± 0.17	10.71 ± 0.80	10.66 ± 0.56	15.12 ± 0.29	12.38 ± 0.18	13.80 ± 0.99	15.50 ± 0.14	12.28 ± 0.15	14.24 ± 0.39
25	15.13 ± 0.24	11.29 ± 0.63	10.63 ± 0.59	15.20 ± 0.12	12.21 ± 0.09	14.05 ± 0.16	15.38 ± 0.05	12.21 ± 0.16	14.22 ± 0.24
26	15.50 ± 0.21	13.05 ± 0.33	12.38 ± 0.29	15.50 ± 0.41	13.64 ± 0.16	14.89 ± 0.14	15.77 ± 0.19	13.53 ± 0.24	14.92 ± 0.32
27	14.14 ± 0.14	9.90 ± 0.65	8.36 ± 0.23	13.88 ± 1.05	10.21 ± 0.44	12.50 ± 0.47	14.50 ± 0.08	10.71 ± 0.36	12.97 ± 0.25
28	14.90 ± 0.21	11.53 ± 0.51	10.24 ± 0.42	14.95 ± 0.16	12.17 ± 0.40	13.57 ± 0.17	15.07 ± 0.06	12.02 ± 0.26	14.07 ± 0.22
29	15.17 ± 0.11	11.89 ± 0.47	10.45 ± 0.57	15.02 ± 0.21	12.33 ± 0.20	13.72 ± 0.21	15.42 ± 0.07	12.11 ± 0.22	13.97 ± 0.29

30	15.30 ± 0.25	12.04 ± 0.38	10.83 ± 0.67	15.25 ± 0.44	12.66 ± 0.26	13.92 ± 0.16	15.44 ± 0.18	12.18 ± 0.10	14.33 ± 0.39
31	-	-	11.06 ± 0.70	-	-	-	-	-	-
32	13.91 ± 0.30	8.01 ± 0.55	11.01 ± 0.91	14.29 ± 0.95	8.50 ± 0.27	11.13 ± 0.38	14.30 ± 0.31	8.49 ± 0.23	11.82 ± 0.29
33	-	-	11.63 ± 1.15	-	-	-	-	-	-
34	13.66 ± 0.34	8.26 ± 0.58	11.98 ± 1.29	14.20 ± 0.40	9.34 ± 0.19	11.26 ± 0.57	14.38 ± 0.12	8.94 ± 0.26	12.28 ± 0.43
35	-	12.90 ± 0.16	13.00 ± 0.99	-	13.16 ± 0.30	13.57 ± 0.62	-	12.50 ± 0.47	14.45 ± 0.14
36	13.56 ± 0.43	12.34 ± 0.31	12.52 ± 1.16	14.34 ± 0.47	12.28 ± 0.73	13.77 ± 0.47	14.52 ± 0.18	12.22 ± 0.21	14.10 ± 0.20
38	13.25 ± 0.29	8.81 ± 0.33	9.89 ± 1.43	14.29 ± 0.45	9.01 ± 0.43	11.01 ± 0.34	14.48 ± 0.20	8.75 ± 0.43	12.20 ± 0.22
40	13.47 ± 0.32	8.96 ± 0.34	10.07 ± 1.38	14.21 ± 0.41	9.29 ± 0.27	11.18 ± 0.36	14.68 ± 0.14	8.96 ± 0.59	12.13 ± 0.39
42	13.49 ± 0.23	8.80 ± 0.55	9.96 ± 0.88	14.02 ± 0.40	9.04 ± 0.28	11.20 ± 0.36	14.36 ± 0.20	8.79 ± 0.33	11.92 ± 0.27
44	14.16 ± 0.28	8.93 ± 0.67	10.14 ± 0.57	14.63 ± 0.51	9.15 ± 0.21	11.95 ± 0.63	15.49 ± 0.10	9.33 ± 0.65	12.80 ± 0.32
46	14.06 ± 0.32	8.73 ± 0.69	9.94 ± 0.57	14.62 ± 0.49	9.11 ± 0.35	11.97 ± 0.57	15.02 ± 0.16	9.16 ± 0.54	12.54 ± 0.06
48	14.27 ± 0.33	8.67 ± 0.68	10.15 ± 0.57	14.61 ± 0.24	9.14 ± 0.42	12.23 ± 0.53	15.11 ± 0.12	9.12 ± 0.4	12.88 ± 0.43
50	14.20 ± 0.28	9.43 ± 0.60	10.31 ± 0.55	14.59 ± 0.20	9.35 ± 0.24	12.48 ± 0.63	15.37 ± 0.82	9.29 ± 0.46	12.63 ± 0.43
52	14.09 ± 0.48	8.35 ± 0.82	9.93 ± 0.52	14.44 ± 0.34	8.96 ± 0.54	12.54 ± 0.46	14.77 ± 0.20	8.85 ± 0.44	12.77 ± 0.21
54	14.10 ± 0.45	8.76 ± 0.70	10.34 ± 0.51	14.46 ± 0.44	9.14 ± 0.53	12.82 ± 0.42	14.68 ± 0.46	8.94 ± 0.62	12.67 ± 0.38
56	14.38 ± 0.34	8.86 ± 0.65	10.24 ± 0.73	15.03 ± 0.18	9.32 ± 0.23	13.12 ± 0.44	15.19 ± 0.07	9.24 ± 0.68	13.43 ± 0.41

58	14.04 ± 0.36	9.06 ±1.05	9.79 ± 1.24	14.50 ± 0.23	8.92 ± 0.46	12.81 ± 0.38	14.89 ± 0.06	9.24 ± 0.69	13.06 ± 0.20
60	14.27 ± 0.34	9.28 ± 0.64	10.90 ± 0.67	14.81 ± 0.45	9.71 ± 0.46	13.40 ± 0.32	15.18 ± 0.17	9.79 ± 0.77	13.47 ± 0.33
62	14.46 ± 0.25	9.97 ± 0.37	11.36 ± 0.59	14.89 ± 0.20	9.76 ± 0.54	13.29 ± 0.22	15.12 ± 0.10	10.10 ± 0.98	13.53 ± 0.17
64	14.51 ± 0.28	9.66 ± 0.79	11.79 ± 0.77	13.90 ± 1.37	9.81 ± 0.54	13.41 ± 0.28	15.31 ± 0.32	10.15 ± 1.02	13.56 ± 0.28
66	14.54 ± 0.28	9.52 ± 0.31	11.15 ± 0.71	14.48 ± 0.54	9.64 ± 0.62	13.10 ± 0.40	15.09 ± 0.17	10.20 ±1.32	13.45 ± 0.21
68	14.73 ± 0.16	10.00 ± 0.44	11.64 ± 0.68	14.61 ± 0.44	10.06 ± 0.54	13.27 ± 0.71	15.36 ± 0.23	10.53 ± 1.00	13.66 ± 0.24
70	14.63 ± 0.27	10.15 ± 0.47	11.78 ± 1.18	14.91 ± 0.30	10.20 ± 0.69	13.56 ± 0.41	15.31 ± 0.18	10.37 ± 0.55	13.72 ± 0.10
72	14.68 ± 0.33	10.58 ± 0.37	11.82 ± 0.72	15.00 ± 0.54	10.54 ± 0.44	13.47 ± 0.87	15.39 ± 0.31	10.19 ± 0.61	13.89 ± 0.20
74	14.99 ± 0.32	10.80 ± 0.28	12.44 ± 0.83	15.02 ± 0.58	10.75 ± 0.59	14.05 ± 0.45	15.57 ± 0.13	10.80 ± 0.48	14.01 ± 0.28
76	15.43 ± 0.16	11.26 ± 0.30	12.71 ± 1.01	15.43 ± 0.51	10.90 ± 0.77	13.98 ± 0.56	15.80 ± 0.16	10.91 ± 0.39	14.25 ± 0.26
78	15.35 ± 0.16	11.10 ± 0.39	12.67 ± 0.87	15.49 ± 0.50	11.23 ± 0.76	14.19 ± 0.69	15.79 ± 0.11	11.30 ± 0.41	14.74 ± 0.82
80	15.12 ± 0.45	11.28 ± 0.33	13.10 ± 0.32	15.62 ± 0.41	11.37 ± 0.65	14.15 ± 0.59	15.84 ± 0.15	11.45 ± 0.41	14.50 ± 0.28
82	16.06 ± 0.53	12.56 ± 0.26	13.99 ± 0.61	16.35 ± 0.47	12.43 ± 0.62	15.37 ± 0.55	16.76 ± 0.10	12.35 ± 0.35	15.50 ± 0.21
84	15.67 ± 0.33	11.97 ± 0.20	13.55 ± 0.41	15.66 ± 0.35	11.60 ± 0.71	14.43 ± 0.53	16.23 ± 0.17	11.88 ± 0.32	14.86 ± 0.16
86	15.39 ± 0.31	12.14 ± 0.99	13.67 ± 0.90	14.95 ± 1.64	11.48 ± 1.20	14.58 ± 0.59	16.04 ± 0.21	11.29 ± 0.65	14.80 ± 0.27
88	15.66 ± 0.24	11.74 ± 0.33	13.11 ± 0.74	15.72 ± 0.31	11.72 ± 0.75	14.57 ± 0.63	15.89 ± 0.17	11.64 ± 0.49	14.87 ± 0.09
90	15.56 ± 0.45	11.78 ± 0.40	13.46 ± 0.59	15.79 ± 0.25	11.75 ± 0.84	14.80 ± 0.71	16.12 ± 0.12	11.83 ± 0.73	15.30 ± 0.18

92	14.70 ± 0.31	11.91 ± 0.17	13.26 ± 0.75	15.49 ± 0.29	12.17 ± 0.73	15.01 ± 0.56	16.02 ± 0.08	12.19 ± 0.43	15.15 ± 0.17
94	15.40 ± 0.34	12.05 ± 0.20	13.61 ± 0.34	15.52 ± 0.36	12.31 ± 0.89	14.62 ± 0.36	15.86 ± 0.22	11.89 ± 0.51	14.98 ± 0.21
96	15.45 ± 0.12	11.96 ± 0.22	13.50 ± 0.40	15.55 ± 0.46	11.67 ± 1.48	14.82 ± 0.55	15.88 ± 0.19	11.95 ± 0.51	14.85 ± 0.18
98	15.63 ± 0.48	12.09 ± 0.15	13.97 ± 0.28	15.88 ± 0.79	12.60 ± 1.00	15.02 ± 0.38	16.20 ± 0.38	12.37 ± 0.42	15.14 ± 0.31
100	15.54 ± 0.34	12.09 ± 0.21	13.78 ± 0.31	15.48 ± 0.23	12.01 ± 1.04	14.89 ± 0.41	16.02 ± 0.13	12.20 ± 0.56	15.05 ± 0.15
102	15.52 ± 0.31	11.96 ± 0.56	13.76 ± 0.18	15.68 ± 0.46	12.21 ± 1.09	14.94 ± 0.49	16.18 ± 0.26	12.42 ± 0.41	14.74 ± 1.03
104	14.49 ± 0.25	10.96 ± 0.60	12.41 ± 0.14	14.80 ± 0.81	10.72 ± 1.10	13.79 ± 0.31	15.01 ± 0.36	10.80 ± 0.38	13.77 ± 0.21
106	14.81 ± 0.31	11.23 ± 0.25	12.93 ± 0.21	14.69 ± 0.46	11.80 ± 0.73	14.07 ± 0.23	15.27 ± 0.19	11.56 ± 0.37	14.23 ± 0.16
108	14.72 ± 0.21	11.07 ± 0.36	13.02 ± 0.29	13.02 ± 0.67	13.20 ± 1.05	13.60 ± 0.17	14.04 ± 0.47	14.43 ± 0.24	14.07 ± 0.07
110	14.95 ± 0.16	11.39 ± 0.21	11.90 ± 0.33	12.36 ± 0.17	12.68 ± 0.81	13.03 ± 0.33	13.35 ± 0.29	13.57 ± 0.34	13.83 ± 0.33
112	15.04 ± 0.22	11.72 ± 0.36	12.09 ± 0.42	12.48 ± 0.38	12.80 ± 0.96	13.15 ± 0.14	13.41 ± 0.44	13.57 ± 0.33	13.73 ± 0.29
114	14.99 ± 0.41	11.52 ± 0.63	11.98 ± 0.29	12.35 ± 0.31	12.65 ± 0.95	13.21 ± 0.18	13.50 ± 0.20	13.61 ± 0.32	13.91 ± 0.10
116	14.93 ± 0.36	11.72 ± 0.47	12.08 ± 0.21	12.61 ± 0.19	12.97 ± 0.85	13.33 ± 0.25	13.57 ± 0.15	13.76 ± 0.41	14.00 ± 0.28
118	14.92 ± 0.34	11.69 ± 0.68	11.95 ± 0.48	12.39 ± 0.28	12.46 ± 0.82	12.96 ± 0.19	13.18 ± 0.26	13.41 ± 0.30	13.66 ± 0.19
120	15.19 ± 0.32	11.98 ± 0.65	12.29 ± 0.24	12.75 ± 0.20	13.03 ± 0.85	13.56 ± 0.15	13.87 ± 0.12	13.99 ± 0.52	14.12 ± 0.45