

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Caracterização microbiológica, química e presença de poluentes orgânicos
em amostras de lodo de esgoto de São Paulo**

Altina Lacerda Nascimento

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Solos e Nutrição de
Planta

**Piracicaba
2016**

Altina Lacerda Nascimento
Engenheira Agrônoma

**Caracterização microbiológica, química e presença de poluentes orgânicos em amostras
de lodo de esgoto de São Paulo**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientadora:
Profa. Dra. **JUSSARA BORGES REGITANO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Solos e Nutrição de
Planta

Piracicaba
2016

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Nascimento, Altina Lacerda

Caracterização microbiológica, química e presença de poluentes orgânicos em amostras de lodo de esgoto de São Paulo / Altina Lacerda Nascimento. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.

87 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Biossólido 2. Poluentes orgânicos emergentes 3. Sequenciamento illumina I. Título

CDD 631.869
N244c

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

A minha amada mãe Clery Oliveira e ao meu amado pai Luiz Rodrigues (In memoriam), meu alicerce, exemplos de simplicidade, vida, dedicação, amor e compreensão.

DEDICO

Aos meus irmãos Joaquim, Márcia e Elzeli e aos meus sobrinhos Thiago, Thays, Vinicyus,

Mariana, Felipe e Ana Livia

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por mais esta etapa concluída.

A todos os meus familiares, pais, irmãos, sobrinhos, tios e avós, por sempre acreditarem em mim e compreenderem a minha ausência nos bons e maus momentos vividos nos últimos anos;

À Dr. Jussara Borges Regitano pela confiança e orientação;

À Dr^a. Linda Lee pela oportunidade de estudo no exterior;

Ao Prof. Regynaldo Arruda Sampaio pelos ensinamentos, incentivo, estímulo e amizade;

Ao Prof. Fernando Dini Andreote pela disponibilização do laboratório para realização das análises microbiológicas, ensinamentos e revisão de texto;

Ao Dr. Fernando Carvalho Oliveira pela ajuda na obtenção das amostras e pela ajuda durante toda a condução do trabalho;

Ao Dr. Michael Mashtare pelos ensinamentos que permitiram desenvolver as análises de compostos orgânicos;

À Chloé de Perre pelos ensinamentos técnicos, amizade e companheirismo durante a estadia no exterior;

À Dr^a. Aline Renee Coscione Gomes pela disponibilização do Laboratório no Instituto Agrônomo de Campinas para realização de parte das análises;

À Dr^a. Sônia Claudia do Nascimento de Queiroz pela disponibilização do laboratório de Laboratório de Resíduos e Contaminantes, da Embrapa Meio Ambiente, para treinamento e análise de compostos orgânicos;

Ao pessoal do laboratório de microbiologia, Pedro Andrade, Sônia Pires, Denise Mescolotti, Ademir Durrer e Armando Dias pela imensurável ajuda nas análises microbiológicas;

A Wilson Bergamini, Maria Bergamini, Santo Bergamini, Daniele Magrini, Rafinha, Anita Lucafó e Elder Palma pelos momentos de alegria e por me fazer sentir em casa, a 900 km dos meus familiares;

Aos amigos da pós-graduação Sheila Santos, Leticia Pierri, Flávio Araújo, João Antonangelo, Thalita Abbruzzini, Alexys Boim, Rafael Leal, Fabricio Giori, Eloá Moura, Adijailton de Souza, Eloana Bonfleur, Lucas Lommez, Cintia Lopes, Matheus Barreto, Ruan Firmano, Sabrina Novaes, Bruna Botin, Thiago Tonieto pelos momentos felizes e amizade;

À Martinha pelo café que me manteve acordada quando mais precisava, a Dorival Grisotto e a Anderson pela ajuda nas coletas;

Aos coordenadores do programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de plantas da Esalq, pela oportunidade de realização do trabalho;

Ao Laboratório Mérieux NutriSciences (Bioagri) pela disponibilização do laboratório para execução das análises de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) por parte da bolsa de estudo no Brasil e pela bolsa de estudo no exterior;

A FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela bolsa de estudo de doutorado (Proc. 2013/00897-0).

A todos aqueles que, de forma direta ou indireta, ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

"Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós.
Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós."

Antoine de Saint-Exupéry

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
LISTA DE FIGURAS	17
LISTA DE TABELAS	19
1 INTRODUÇÃO.....	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 Contaminantes orgânicos no lodo de esgoto	23
2.1.1 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	24
2.1.2 Hormônios	26
2.1.3 Fármacos e produtos de uso industrial	28
2.2 Análises microbiológicas independentes de cultivo.....	31
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1 Presença de nutrientes de plantas e elementos inorgânicos no lodo de esgoto	33
3.2 Presença de contaminantes orgânicos no lodo de esgoto	35
3.2.1 Contaminantes orgânicos emergentes	35
3.2.2 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	37
3.3 Estrutura da comunidade bacteriana do lodo de esgoto	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1 Presença de nutrientes de plantas e elementos inorgânicos no lodo de esgoto	41
4.2 Contaminantes orgânicos no lodo de esgoto	55
4.2.1 Contaminantes orgânicos emergentes	55
4.2.2 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	59
4.2.3 Estrutura da comunidade bacteriana.....	64
5 CONCLUSÕES	77
REFERÊNCIAS	79

RESUMO

Caracterização microbiológica, química e presença de poluentes orgânicos em amostras de lodo de esgoto de São Paulo

Objetivou-se com este trabalho avaliar o potencial agrícola do lodo de esgoto produzido no estado de São Paulo, bem como, verificar a possibilidade de interação entre a composição química e a abundância relativa de bactérias no lodo. Foram realizadas coletas de amostra de lodo de esgoto em 19 estações de tratamento de esgoto, em três épocas distintas. Nas amostras provenientes das três épocas foram determinados as concentrações dos 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) listados como prioritários no monitoramento ambiental pela USEPA (acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(ghi)perileno, benzo(k)fluoranteno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, indeno(1,2,3-cd)pireno, naftaleno e pireno). Nas amostras da segunda época de coleta, além da presença de HPAs, determinou-se as concentrações de poluentes orgânicos emergentes (hormônios, produtos farmacêuticos e produtos de uso industrial), realizou-se a caracterização completa segundo a Resolução CONAMA 375/2006 (umidade, pH, N-Kjeldahl e inorgânico, carbono orgânico, cálcio, potássio, fósforo, magnésio, enxofre, boro, cobre, ferro, níquel, manganês, molibdênio, selênio, zinco, alumínio, arsênio, bário, cádmio, cromo, chumbo, mercúrio e sódio) e a caracterização da comunidade bacteriana através de metodologia independente de cultivo (sequenciamento illumina). Os macronutrientes em maiores concentrações no lodo de esgoto são: $N > Ca > S > P > Mg > K$. Os elementos inorgânicos Ni e Zn apresentaram concentração superior à máxima permitida para utilização agrícola pela resolução Conama 375/2006 em 1 e 3 amostras, respectivamente. A substância inorgânica que mais limita o enquadramento do lodo de esgoto como adubo orgânico (Instrução Normativa 27/2006) é o Hg. Os compostos benzilparabeno, bisfenol AF (BPAF), ácido perfluorooctanoico (PFOA) e tetrabromobisfenol A (TBBPA) não foram detectados. Por outro lado, cimetidina, metilparabeno, bisfenol A (BPA) e triclocarban foram detectados nas 19 amostras avaliadas. O composto presente em maior concentração é o triclocarban. As concentrações de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos são baixas, de acordo com a norma Europeia. Os filos *Proteobacteria* e *Bacteroidetes* estão presentes em maior abundância relativa. Existe uma comunidade bacteriana núcleo nas estações de tratamento de esgoto do estado de São Paulo, composta por 81 gêneros, presentes nas 19 ETEs avaliadas, dos quais, os que estão em maior abundância relativa são *Treponema*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Syntrophus* e *Desulfobulbus*. A elevação do pH a valores próximos de 12 reduz a diversidade microbiana. Considerando a abundância relativa e a composição química do lodo de esgoto, as estações podem ser agrupadas em três grupos distintos, sendo que um deles é influenciado principalmente pelos teores de Ca, Zn e Cu, o outro pelos teores de Fe e S e o terceiro grupo que foi influenciado pelos demais fatores avaliados.

Palavras-chave: Biossólido; Poluentes orgânicos emergentes; Sequenciamento illumina

ABSTRACT

Microbiological and chemical characterization and presence of organic pollutants in sewage sludge samples from São Paulo

The aim of this work was to evaluate the agricultural potential of sewage sludge produced in the São Paulo state - Brazil, as well as to verify the possibility of interaction between the chemical composition and sewage sludge bacterial abundance. Samples were collected from 19 wastewater treatment plants in three different periods. On the samples from the three times were determined the presence and concentrations of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (HPAs) that are listed as priorities in environmental monitoring by the USEPA (acenaphthene, acenaphthylene, anthracene, benzo (a) anthracene, benzo (a) pyrene, benzo (b) fluoranthene, benzo (ghi) perylene, benzo (k) fluoranthene, chrysene, dibenz (a, h) anthracene, phenanthrene, fluoranthene, fluorene, indeno (1,2,3-cd) pyrene, naphthalene and pyrene). On the samples of the second collect time, besides HPAs, were determined the concentrations of emerging organic pollutants (hormones, pharmaceuticals and industrial products). It was performed the complete characterization according to CONAMA 375/2006 (moisture, pH, Kjeldahl and inorganic Nitrogen, organic carbon, calcium, potassium, phosphorus, magnesium, sulfur, boron, copper, iron, nickel, manganese, molybdenum, selenium, zinc, aluminum, arsenic, barium, cadmium, chromium, lead, mercury and sodium); and characterization of bacterial communities through cultivation-independent methods (Illumina sequencing). Macronutrients in higher concentrations in sewage sludge are: $N > Ca > S > P > Mg > K$. The inorganic elements Ni and Zn showed up in higher concentration than the maximum allowable for agricultural use by CONAMA Resolution 375/2006, at 1 and 3 samples, respectively. The inorganic element that most limits sewage sludge usage as organic fertilizer (MAPA, 2006) is the Hg. The compounds benzylparaben, bisphenol AF (BPAF), perfluorooctanoic acid (PFOA) and tetrabromobisphenol A (TBBPA) were not detected. On the other hand, methylparaben, cimetidine, bisphenol A (BPA) and triclocarban were detected in all 19 samples. The compound present in highest concentration is triclocarban. The concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons are low, according to the European standard. *Proteobacteria* and *Bacteroidetes* phyla are present in greatest relative abundance. There is a bacterial core in the sewage sludge treatment plants of the São Paulo State, comprising 81 genera present in all WWTPs evaluated. Those who are at a higher relative abundance are *Treponema*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Syntrophus* and *Desulfobulbus*. The elevation of pH to values close to 12 reduces the microbial diversity. Considering the relative abundance and chemical composition of sewage sludge, the stations can be grouped into three distinct groups, one of which is influenced mainly by Ca, Zn and Cu, the other by Fe and S and the third group that was influenced by the others evaluated factors.

Keywords: Biosolids; Emerging organic pollutants; Illumina sequencing

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Quantidade de lodo de esgoto produzida por dia, processos de tratamento empregados e origem do lodo.....	33
Figura 2 - pH do lodo de esgoto produzido em estações de tratamento de esgoto de São Paulo	41
Figura 3 – Valores médios do conteúdo de nitrogênio em 19 amostras de lodo de esgoto do estado de São Paulo	42
Figura 4 - Carbono orgânico no lodo de esgoto produzido no Estado de São Paulo	43
Figura 5 - Valores médios do conteúdo de Ca, P, K, Mg, S e Na em lodo de esgoto do estado de São Paulo	44
Figura 6 - Abundância relativa da comunidade bacteriana (média de 3 amostras) nas 19 amostras de lodo de esgoto	66
Figura 7 - Análise de coordenadas principais (PCoA) da abundância relativa da comunidade bacteriana de 19 estações de tratamento de esgoto do estado de São Paulo - Brasil	73
Figura 8 - Análise de Redundância (RDA) correlacionando a abundância relativa da comunidade bacteriana com os dados da composição química dos lodos.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estimativas de excreção de estrógenos por humanos ($\mu\text{g}/\text{dia}/\text{pessoa}$).....	27
Tabela 2 - Caracterização, tempo de retenção e padrão interno dos compostos analisados.....	36
Tabela 3 - Primers usados na reação de PCR para sequenciamento illumina	39
Tabela 4 – Teores de Ca, P, K, Mg, S e Na em 19 amostras de lodo de esgoto gerado no Estado de São Paulo.....	45
Tabela 5 - Elementos Inorgânicos em lodo de esgoto gerado no estado de São Paulo	47
Tabela 6 - Comparação das concentrações de elementos inorgânicos nas amostras de lodo de esgoto das 19 ETEs com a concentração máxima permitida (BRASIL, 2006) para utilização agrícola do lodo de esgoto e concentração máxima admitida em fertilizantes orgânicos (MAPA, 2006).....	49
Tabela 7 - Concentração media de elementos inorgânicos em lodo de esgoto, esterco bovino, suíno e de galinha e em fertilizantes fosfatados (mg kg^{-1})	50
Tabela 8 - Concentração média dos compostos orgânicos em amostras de lodo de esgoto do estado de São Paulo - Brasil ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	56
Tabela 9 - Teores de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em lodo de esgoto do estado de São Paulo (mg kg^{-1})	60
Tabela 10 - Diversidade bacteriana nas amostras de lodo de esgoto de São Paulo-BR	69
Tabela 11 – Coeficientes de correlação de Pearson entre a composição química do lodo de esgoto e filamentos de bactérias	72

1 INTRODUÇÃO

Aquecimento global, redução na disponibilidade hídrica, segurança alimentar, redução na disponibilidade de fertilizantes químicos, degradação e poluição do solo são exemplos de tópicos atuais que exigem alterações urgentes nos hábitos da sociedade. Com o aumento da população e da industrialização, inevitavelmente, ocorreu aumento da quantidade de resíduos gerados e a degradação dos recursos naturais, principalmente pela disposição inadequada dos resíduos. Isto levou ao questionamento sobre a disposição final desses resíduos, forçando os gerenciadores, tanto público quanto privado, a reavaliarem as estratégias de disposição do lodo de esgoto, e o poder público a estabelecer diretrizes nacionais para o saneamento básico, visando formas adequadas de manejo dos resíduos para preservação da saúde pública e proteção do meio ambiente.

Considerando o alto custo de adubos químicos, o possível esgotamento das reservas naturais de adubos, como as reservas de fósforo, por exemplo, a presença de nutrientes de plantas e matéria orgânica no lodo de esgoto e os riscos causados pela disposição inadequada do resíduo, sua utilização na agricultura tem sido reportada como a forma mais adequada de disposição final. Entretanto, a presença de contaminantes orgânicos e inorgânicos e organismos patogênicos podem inviabilizar esta forma de disposição.

A sociedade moderna é dependente de uma gama de compostos químicos cujo destino final, na maioria das vezes, é o esgoto. Além disso, parte dos medicamentos ingeridos pela população, para o tratamento de doenças, não são totalmente metabolizados, sendo eliminados nas excretas, bem como, são eliminados também hormônios naturais e sintéticos. O objetivo principal dos processos de tratamento do esgoto é a eliminação de contaminantes (orgânicos, inorgânicos e microbiológicos), para que os recursos hídricos recebam efluentes de estações de tratamento de esgoto da melhor qualidade possível. Esta redução de contaminantes no esgoto é realizada principalmente pela degradação microbiológica e sorção dos contaminantes ao lodo de esgoto.

Há na literatura relatos de teores de elementos inorgânicos e nutrientes de plantas em lodo de esgoto, mas a maioria deles envolvem lodos originados de poucas estações. Além disso, a mudança de hábitos da sociedade pode resultar na alteração das características do lodo produzido e constantes avaliações são necessárias. Os relatos de compostos orgânicos no lodo de esgoto são escassos, principalmente devido à complexidade envolvida nas metodologias empregadas e a disponibilidade de equipamentos para realização das análises. As tecnologias de sequenciamento de DNA segunda geração são relativamente novas e

permitem a geração de milhões de pares de bases em uma única análise, fornecendo informações completas da estrutura da comunidade microbiana. Além de escassos, os estudos envolvendo contaminantes orgânicos emergentes e composição microbiológica do lodo de esgoto descrevem estes fatores isoladamente.

Portanto, esta pesquisa teve por objetivo principal caracterizar química e biologicamente amostras de lodo de esgoto do estado de São Paulo. Para tal, amostras de lodo de 19 estações de tratamento de esgoto do estado de São Paulo foram coletadas e quantificadas quanto à: i) presença de poluentes orgânicos (HPAs, hormônios, compostos farmacêuticos, agentes antimicrobianos e compostos de uso industrial) e inorgânicos (As, Ba, B, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Zn, Fe e Al); ii) composição da comunidade bacteriana (sequenciamento Illumina) e iii) concentração dos nutrientes de plantas. Além disso, os resultados gerados foram comparados aos da literatura e com as legislações vigentes, com o intuito de analisar a viabilidade da aplicação agrícola do resíduo e, principalmente, averiguar a possível existência de correlações entre os fatores avaliados e, no caso de observância de correlações, se essas estariam associadas à natureza ou ao tipo de tratamento do lodo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Contaminantes orgânicos no lodo de esgoto

O aumento da fabricação de produtos orgânicos para usos domésticos e industriais tem favorecido o aumento das concentrações dessas substâncias nos afluentes das estações de tratamento de esgoto (ETEs) e lodo de esgoto. Medicamentos de uso humano e veterinário são continuamente lançados no ambiente durante o processo de fabricação, através do descarte de produtos não utilizados ou expirados e/ou pelas excretas, e o destino final destes compostos geralmente é o esgoto. (DIAZ-CRUZ; ALDA; BARCELÓ, 2003, HAYNES; MURTAZA; NAIDU, 2009; PETRIE; BARDEN; KASPRZYK-HORDERN, 2015).

Durante o processo de tratamento de águas residuais, muitos compostos orgânicos, em particular os compostos hidrofóbicos, ligam-se ao lodo de esgoto e são concentrados por várias ordens de grandeza. Outra possibilidade seria a completa mineralização ou a degradação parcial, o que gera metabólitos que podem ou não serem mais seguros do que os compostos originais. A presença e as concentrações de contaminantes orgânicos em lodos de esgoto dependem da origem do afluente, das propriedades físico-químicas do composto, dos parâmetros operacionais das estações de tratamento de esgoto e das condições climáticas e ambientais da região onde está localizada a estação (DIAZ-CRUZ; ALDA; BARCELÓ, 2003; HAYNES; MURTAZA; NAIDU, 2009; PETRIE; BARDEN; KASPRZYK-HORDERN, 2015; SUBEDI; KANNAN, 2015; TIAN et al., 2012). Quando aplicado ao solo, os efeitos negativos desses contaminantes podem ser mitigados pelos processos de degradação microbiana (biodegradação); no entanto, a sorção destes contaminantes pode retardar a sua degradação e permitir que eles se acumulem, aumentando a sua persistência e o potencial de exposição (GOTHWAL; SHASHIDHAR, 2014).

Embora existam legislações em muitos países que regulamentam a aplicação de lodo de esgoto em solos, estas não incluem contaminantes orgânicos emergentes, como hormônios, medicamentos, antibióticos e pesticidas. Em razão do aumento da preocupação com a possível contaminação humana e ambiental por estas substâncias, prevê-se que a legislação ambiental será expandida para cobrir uma gama de contaminantes orgânicos não legislados (PETRIE; BARDEN; KASPRZYK-HORDERN, 2015). A maior parte dos estudos sobre o destino de poluentes emergentes é desenvolvida principalmente na América do Norte, Europa e China (GOTHWAL; SHASHIDHAR 2014). Apesar disso, a Comissão Europeia planeja estabelecer limites para poluentes orgânicos no lodo de esgoto há 14 anos; mas nenhuma legislação foi

implementada. Este fato deve-se principalmente à ausência de dados de contaminação do lodo de esgoto por poluentes orgânicos e seus potenciais efeitos negativos sobre o ecossistema e a saúde humana (GOTHWAL; SHASHIDHAR, 2014, SUCIU; LAMASTRA; TREVISAN, 2015).

Uma vez que existem poucas informações disponíveis sobre a composição do lodo de esgoto em várias partes do mundo, tais como a Oceania, África, América do Sul e partes da Ásia, excluindo a China, o desenvolvimento de um banco de dados mundial, com ampla gama de condições climáticas, de tropical a ártica, é essencial para a criação de normas e orientações a fim de reduzir os riscos e mitigar a poluição ambiental (GOTHWAL; SHASHIDHAR, 2014). Além de possibilitar o avanço de pesquisas direcionadas ao desenvolvimento de metodologias que possam reduzir a presença de agentes contaminantes específicos em cada região.

2.1.1 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) constituem uma classe de compostos caracterizada por possuir dois ou mais anéis aromáticos condensados. Esses compostos têm ampla distribuição e são encontrados em diversos compartimentos ambientais, sendo inúmeras as fontes naturais e antropogênicas. Eles são formados e liberados durante a combustão incompleta e/ou pirólise de material orgânico, em processos industriais e outras atividades humanas, tais como o processamento de petróleo, gás natural e carvão; a produção de alumínio, ferro e aço; o aquecimento em usinas e residências (petróleo, gás, carvão, fogões à lenha); a combustão do lixo e, principalmente, a queima de combustíveis em automóveis (HAFIDI et al., 2008; SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD, 2002).

Vários efeitos toxicológicos causados pelos HPAs foram observados em animais, tais como efeitos hematológicos, toxicidade reprodutiva e desenvolvimento de imunotoxicidade, mas é o potencial carcinogênico e genotóxico destes compostos que têm atraído mais atenção. Estudos epidemiológicos mostram que a exposição ambiental a HPAs está associada ao aumento na incidência de câncer de pulmão, mama, pele, esôfago e próstata em seres humanos (GUO et al., 2011; MASTRANGELO; FADDA; MARZIA, 1996; RYBICKI et al., 2006; SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD, 2002; ZHAO et al., 2012).

Os HPAs são compostos semi-voláteis e, uma vez emitidos, parte permanece na atmosfera na forma de gases ou partículas, podendo ser carreados a longas distâncias, e parte deposita-se no solo e na água. Com as chuvas, esses compostos são arrastados para cursos de

água e esgotos (YAN et al., 2012). Nas ETEs, o destino desses compostos irá depender de suas propriedades físico-químicas. Normalmente, os HPAs que oferecem maiores riscos à saúde humana (maior quantidade de anéis aromáticos) são removidos do efluente por sorção às partículas do lodo de esgoto (TIAN et al., 2012). Os autores observaram relação significativa entre a eficiência de remoção dos HPAs do afluente e o seu valor de $\log K_{ow}$; ou seja, quanto mais lipofílica a molécula, maior a sua remoção do afluente.

A aplicação de lodo de esgoto contendo HPAs pode levar a sua inserção na cadeia alimentar. Cai et al. (2008) observaram que a aplicação de lodo de esgoto aumenta a biodisponibilidade de HPAs no solo, uma vez que houve correlação positiva entre as doses e o somatório de HPAs em plantas de rabanete. PARAÍBA et al. (2010) constataram risco de contaminação dos grãos de milho em solos que receberam aplicações de lodo de esgoto por 5 anos consecutivos. Neste estudo, os HPAs com baixo potencial de sorção ao solo e alto fator de concentração no fluxo de transpiração foram mais propensos a serem absorvidos pela planta de milho; enquanto que as moléculas mais lipofílicas (maior peso molecular) apresentaram menor potencial de acumulação nos grãos de milho. Os autores concluíram que lodos de esgoto contendo altas concentrações de HPAs com baixos pesos moleculares não devem ser utilizados em culturas agrícolas destinadas à alimentação, apesar de sua menor toxicidade. A agência de notícias da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), em 2009, já alertava para o aumento das concentrações de HPAs em solos adubados com lodo de esgoto, o que poderia comprometê-los a médio e longo prazo (FAPESP, 2009).

A presença de tais substâncias no lodo de esgoto é preocupante, pois elas podem ser biodisponibilizadas. Assim sendo, alguns países definiram as concentrações máximas aceitáveis para determinados HPAs no lodo de esgoto para uso agrícola. A União Europeia, por meio do “3rd Draft of Working Document on Sludge”, estabeleceu que a soma de acenafteno, fenantreno, fluoreno, fluoranteno, pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(j)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(ghi)perileno, indeno(1,2,3-c,d)pireno não pode ser superior a $6,0 \text{ mg kg}^{-1}$ (EUROPEAN UNION, 2000). Os EUA, por meio de sua Agência de Proteção Ambiental (CFR 40 Parte 503, USEPA), impuseram diretrizes para a redução de patógenos e limites para a concentração de metais pesados no lodo de esgoto, entretanto, não regulamentam os poluentes orgânicos por considerarem que não haviam dados suficientes para a avaliação de risco.

A USEPA estabeleceu 16 HPAs como poluentes orgânicos prioritários para o monitoramento ambiental: acenafteno acenaftileno, antraceno, benzo(a)antraceno,

benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(ghi)perileno, benzo(k)fluoranteno, criseno, dibenzo(a,h) antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, indeno(1,2,3-cd)pireno, naftaleno e pireno. Nos anos de 2006/2007, esta agência promoveu um estudo de monitoramento para obtenção de estimativas nacionais das concentrações de 145 poluentes (114 eram orgânicos e 04 pertenciam a classe dos HPAs: benzo(a)pireno, 2-metilnaftaleno, fluoranteno e pireno) em 84 amostras de lodos de esgoto provenientes de 74 ETEs. Os HPAs foram encontrados na maioria das amostras, em concentrações que variaram de 10 a 14.000 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (USEPA, 2009).

Em outros países, diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de monitorar a presença e a concentração de contaminantes orgânicos no lodo de esgoto uma vez que seu uso agrícola é crescente, implicando em riscos ao meio ambiente e à saúde humana. Na Tunísia foi constatado que a soma dos 16 HPAs (prioritários pela USEPA) variou de 0,096 a 7,72 mg kg^{-1} de lodo de esgoto, sendo baixo o seu potencial de contaminação ambiental (KHADHAR et al., 2010). Na China, os lodos de esgoto provenientes de estações de tratamentos de esgotos industriais apresentaram teores de HPAs superiores (4,65 – 6,58 mg kg^{-1}) aos de estações de tratamentos de esgotos exclusivamente domésticos (1,96 – 2,62 mg kg^{-1}) (ZHAI; TIAN; LIU, 2011). Na Espanha, embora as concentrações médias de HPAs tenham sido relativamente baixas, algumas amostras apresentaram valores superiores a 6 mg kg^{-1} (ROIG et al., 2012) e o fenantreno foi o HPA presente em maiores concentrações, independentemente do processo de obtenção e tratamento do lodo. A variação nos resultados das pesquisas demonstra a necessidade de estudos locais para conhecimento das concentrações desses contaminantes presentes no lodo de esgoto destinado à utilização agrícola.

No Brasil, os critérios e procedimentos para uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados são definidos pela Resolução n.º 375 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), publicada em 29/08/2006 (BRASIL, 2006). Esta resolução apresenta apenas a lista de substâncias orgânicas a serem determinadas, não especificando quaisquer limites para esses contaminantes no lodo de esgoto ou produto derivado. Dentre os poluentes orgânicos, foram citados os seguintes HPAs: benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(k)fluoranteno, indeno(1,2,3-c,d)pireno, naftaleno e fenantreno.

2.1.2 Hormônios

Os riscos associados à presença de tais substâncias no lodo de esgoto estão relacionados à sua ação como desreguladores endócrinos. Os efeitos adversos destes produtos químicos

devem-se à sua capacidade de imitar ou antagonizar o efeito de hormônios naturais, afetar a sua síntese e metabolismo, bem como afetar os receptores hormonais (SONNENSCHNEIN; SOTO, 1998). Vários efeitos adversos, tais como diminuição da eclosão de ovos de aves, peixes e de tartarugas; feminização de peixes; problemas no sistema reprodutivo de peixes, répteis, aves e mamíferos e mudanças no sistema imunológico dos mamíferos marinhos, têm sido associados à exposição a disruptores endócrinos. Em alguns casos, estes efeitos podem conduzir à diminuição da população. Em seres humanos, os efeitos incluem redução na contagem de espermatozoides, aumento da incidência de câncer da mama, testicular e de próstata e endometriose (BILA; DEZOTTI, 2007).

Existem dois tipos de substâncias que causam desregulação endócrina: as substâncias naturais, que incluem hormônios sexuais (estrogênios, progesterona e testosterona) e fitoestrogênios, e as substâncias xenobióticas, que incluem hormônios sintéticos (contraceptivo 17 α -etinilestradiol) e outros produtos químicos sintéticos e seus derivados (pesticidas, agentes de limpeza, retardadores de chama etc.) (CLARA et al., 2004). Estrogênios naturais, como estrona (E1), 17 β -estradiol (E2) e estriol (E3) e o sintético 17 α -etinilestradiol (EE2) são os mais amplamente encontrados em águas residuais (RACZ; GOEL, 2010).

Hormônios naturais são excretados por todas as espécies de animais em quantidades que dependem da espécie, idade, sexo e estágio reprodutivo. Na tabela 1 são apresentadas estimativas da excreção diária dos hormônios por humanos. E1, E2 e E3 são predominantemente hormônios femininos, importantes na manutenção dos tecidos reprodutivos, seios, pele e cérebro saudável. Estes hormônios estão envolvidos no ciclo estral e são excretados em urinas e fezes. Ambos os estrogênios, naturais e xenoestrógenos, foram detectados em esgoto, lodo de esgoto e produtos derivados do lodo de esgoto (HAYNES; MURTAZA; NAIDU, 2009; LANGE et al., 2002; SHAFRIR; AVISAR, 2012; SILVA; OTERO; ESTEVES, 2012; TERNES et al., 2002; ZHOU; ZHA; WANG, 2012).

Tabela 1 - Estimativas de excreção de estrógenos por humanos ($\mu\text{g}/\text{dia}/\text{pessoa}$)

	E1	E2	E3	Total
Homens	3,9	1,6	1,5	7,0
Mulheres (período fértil)	8,0	3,5	4,8	16,30
Mulheres (menopausa)	4,0	2,3	1,0	7,3
Mulheres (grávida)	600	259	6.000	6.859

(JOHNSON; BELFROID; CORCIA, 2000)

Com o objetivo de evitar os possíveis riscos causados pelos estrógenos em ambientes aquáticos, sua remoção do efluente das estações de tratamento de esgoto, antes do lançamento no meio ambiente, é extremamente importante. Por isso, pesquisas têm sido intensificadas para melhorar a eficiência da degradação e/ou a remoção destes compostos, incluindo a eventual sorção no lodo de esgoto durante seu processo de tratamento (SILVA; OTERO; ESTEVES, 2012). Andersen et al. (2003) verificaram que o sistema de lodos ativados elimina eficientemente os estrógenos naturais e sintéticos. A eficiência de eliminação dos estrógenos naturais (E1 e E2) excedeu 98%, enquanto que o EE2 foi reduzido em mais de 90%. Apenas cerca de 5% dos estrógenos foram sorvidos no lodo de esgoto, o que sugere a sua ampla degradação durante o tratamento do esgoto.

Mesmo em baixas concentrações, hormônios presentes no lodo podem representar riscos ao ambiente. Estes compostos foram detectados em lodo e produtos derivados do lodo de esgoto em quantidades da ordem de $\mu\text{g kg}^{-1}$ (ANDERSEN et al., 2003; MULLER et al., 2008; MULLER et al., 2010; NIETO et al., 2010; SHAFRIR; AVISAR, 2012; SILVA; OTERO; ESTEVES, 2012; YAN et al., 2012). Ternes et al. (2002) detectaram concentrações de até $37 \mu\text{g kg}^{-1}$ de estrona e $49 \mu\text{g kg}^{-1}$ de 17β -estradiol em lodo de esgoto ativado de origem doméstica. Shafir e Avisar (2012) detectaram concentrações de $160 \mu\text{g kg}^{-1}$ de estrona e $21 \mu\text{g kg}^{-1}$ de 17β -estradiol em amostras de lodo de esgoto compostadas. De acordo com estes autores, os hormônios não são totalmente removidos durante o processo de tratamento do lodo e podem persistir mesmo depois do processo de compostagem. Assim, o biossólido pode ser fonte de liberação de hormônios no meio ambiente, e esta questão deve ser levada em consideração quando utilizado como fertilizante.

2.1.3 Fármacos e produtos de uso industrial

Os antibióticos podem ser definidos como agentes quimioterapêuticos, que restringem ou impedem o crescimento de microrganismos e têm sido eficaz e extensivamente utilizados em medicamentos humanos e veterinários. No entanto, são considerados contaminantes emergentes, sendo que muitos foram encontrados em recursos hídricos, efluentes de indústrias, lodos de esgoto, esterco, solos, plantas e outros organismos (GOTHWAL; SHASHIDHAR, 2014).

O problema mais importante da liberação de antibiótico no meio está relacionado ao desenvolvimento de resistência, que reduz a sua capacidade terapêutica contra patógenos humanos e animais, sendo responsável pelo desenvolvimento de muitas infecções não

tratáveis. Os mecanismos da resistência genética e bioquímica são bem compreendidos. No entanto, os esforços para prevenir o desenvolvimento de resistência em hospitais e comunidades não foram muito bem sucedidos (DAVIES, 2013; GOTHWAL; SHASHIDHAR, 2014; SPELLBERG et al., 2008). O efeito dos antibióticos sobre a biosfera não se limita ao desenvolvimento da resistência, uma vez que estes compostos podem apresentar impacto sobre a estrutura e a atividade da comunidade microbiana no ambiente (MARTÍNEZ, 2009).

A ocorrência natural de antibióticos deve-se à biossíntese destes compostos por microrganismos do solo e de sedimentos. Entretanto, o lodo de esgoto e o esterco animal constituem as principais fontes de entrada da maioria dos antibióticos no solo e a aplicação repetida destes, como adubos orgânicos, pode resultar em acúmulo dos compostos (GOTHWAL; SHASHIDHAR, 2014). A contaminação do solo pode também ser causada pela presença de bactérias resistentes que podem estar presentes no lodo de esgoto (MUNIR WONG; XAGORARAKI, 2011). Neste caso, a análise do lodo de esgoto apenas para resíduos de antibióticos pode subestimar os riscos.

Os antifúngicos azóis são compostos totalmente sintéticos. O modo de ação destes fármacos envolvem mecanismos que alteram as propriedades da membrana dos fungos, que passam a não desempenhar as funções básicas necessárias ao seu desenvolvimento (BERGOLD; GEORGIADIS, 2004, GOODMAN; GILMAN, 1996; WILLIAMS; LEMKE, 2002). A aplicação tópica de compostos farmacêuticos resulta em elevada emissão de ingredientes ativos no meio, pois apenas uma pequena porção (5 a 10%) é absorvida pela pele. Após a aplicação, estes compostos podem ser removidos do corpo por lavagem ou por meio da excreção renal. O uso excessivo dos azóis levou ao aparecimento de resistência em espécies susceptíveis, além destes compostos ainda apresentarem a desvantagem da resistência cruzada (BERGOLD; GEORGIADIS, 2004, LETZEL; METZNER; LETZEL 2009; PENG et al., 2012).

A cimetidina é um fármaco que tem sido amplamente utilizado em seres humanos para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, tais como, úlcera gástrica ou duodenal, doença do refluxo gastroesofágico e estados patológicos de hipersecreção. Ela tem sido relatada como contaminante ambiental, pois exerce efeitos adversos sobre o crescimento e a dinâmica de populações de invertebrados em ambientes aquáticos após longo prazo de exposição (HOPPE; ROSI-MARSHALL; BECHTOLD, 2012; LEE et al., 2015)

Os parabenos são amplamente utilizados como conservantes em uma gama de produtos de cuidados pessoais, tais como pastas de dentes, desodorantes, cremes, shampoos e também

em alimentos enlatados, bebidas e produtos farmacêuticos. Apesar de serem prontamente biodegradáveis em condições aeróbias, eles podem ser considerados como contaminantes "pseudo" persistentes devido ao elevado consumo e introdução contínua no ambiente. Em relação aos seus efeitos toxicológicos, estes compostos mostraram atividade estrogênica e são potencialmente tóxicos a determinados organismos aquáticos (ALBERO et al., 2012; GONZÁLEZ-MARIÑO et al., 2011). O triclocarban, assim como os parabenos, é um agente antimicrobiano amplamente usado em produtos de cuidados pessoais, tais como pasta de dente, sabão, desodorizante, cosmético, creme etc. Não é muito solúvel em água, mas apresenta boa solubilidade em tecidos gordurosos, atravessando facilmente a membrana celular (HALDEN; PAUL, 2005; YING; YU, KOOKANA, 2007).

O BPA é utilizado, principalmente, na produção de policarbonato e em vernizes epoxi. O policarbonato é um polímero que apresenta alta transparência e resistências térmica e mecânica, sendo utilizado na fabricação de mamadeiras e copos infantis (chuquinhas). Este polímero é também utilizado em garrações retornáveis (20 litros) de água mineral, além de outras embalagens, utensílios e vernizes utilizadas para revestimentos de embalagens metálicas de alimentos (ANVISA, 2015). Em lodo de esgoto foram relatadas concentrações de até $4.700 \mu\text{g kg}^{-1}$ de BPA (YU et al., 2015). A partir do BPA é sintetizado o tetrabromobisfenol A (TBBPA), portanto, eles têm estruturas moleculares e grupos funcionais muito semelhantes. TBBPA foi detectado em 15 de 17 amostras de lodo de esgoto, em concentrações que variaram de $0-472 \mu\text{g kg}^{-1}$ (GORGA et al., 2013).

O ácido perfluorooctanóico (PFOA) tem sido usado ao longo dos últimos 60 anos em uma grande variedade de produtos de consumo e industrial, tais como retardantes de chamas, tintas, papel, lubrificantes, cosméticos, estofamentos etc. Como resultado da grande produção e ampla aplicação, está comumente presente no ambiente (WEN et al., 2015).

O uso de lodo esgoto contaminado é um problema uma vez que produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais, os quais são prontamente biotransformados em laboratório, podem persistir no solo por longos períodos de tempo (WALTERS; MCCLELLAN; HALDEN et al., 2010). Além disso, produtos farmacêuticos podem ser absorvidos pelas plantas, entrando subsequentemente na cadeia alimentar (EGGEN et al., 2011). Assim, é fundamental conhecer a composição do lodo de esgoto produzido no Brasil, uma vez que estes podem ser aplicados ao solo como fertilizantes e muito pouco se sabe sobre seu potencial de contaminação por compostos orgânicos.

2.2 Análises microbiológicas independentes de cultivo

Os métodos dependentes de cultivo baseiam-se no isolamento, cultivo e identificação de bactérias em meio de cultura. Apesar de modificações nas metodologias tradicionais resultarem no isolamento de microrganismos previamente não cultiváveis, os métodos dependentes de cultivo acessam apenas um pequeno subconjunto do total da diversidade microbiana. Uma das principais razões para falha no cultivo de microrganismos é o não fornecimento das condições necessárias para o desenvolvimento destes no laboratório. Os microrganismos podem depender da combinação específica de condições ambientais ou serem sensíveis a compostos não identificados. Além disso, no meio ambiente, pode haver o desenvolvimento de relações sinérgicas não identificadas ou difíceis de serem estimuladas em laboratório (TYSON; BANFIELD, 2005). Desta forma, os métodos utilizados para identificação da estrutura e diversidade funcional das comunidades microbianas na natureza têm sofrido mudança de orientação, passando de métodos clássicos, baseados no cultivo de microrganismos, para métodos independentes de cultivos (OROS-SICHLER et al., 2006).

As técnicas convencionais de biologia molecular, como, por exemplo, hibridização fluorescente *in situ* (FISH), eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE), polimorfismo no comprimento dos fragmentos de restrição terminal (T-RFLP) não requerem o isolamento e cultivo do microrganismo, permitindo assim a detecção de várias espécies microbianas. No entanto, devido às suas limitações inerentes, informações completas sobre as estruturas da comunidade microbiana dificilmente podem ser reveladas por esses métodos (HU et al., 2012). A tecnologia de sequenciamento de DNA Sanger, sequenciamento de primeira geração, surgiu nos anos 70 e tornou-se o método prevalente de sequenciamento de DNA nos 30 anos posteriores. A técnica desenvolvida por Sanger e colaboradores, permitiu o sequenciamento completo de genes e genomas. Entretanto, a grande quantidade de tempo e recursos exigidos motivou o desenvolvimento de tecnologias mais eficientes para sequenciamento (DIJK et al., 2014).

As novas tecnologias de sequenciamento, denominadas de tecnologias de sequenciamento de segunda geração, começaram a ser comercializadas em 2005 e estão evoluindo rapidamente. Essas tecnologias promovem o sequenciamento de DNA em plataformas capazes de gerar informação sobre milhões de pares de bases em uma única análise e são mais eficientes devido ao uso da cópia da informação genética *in vitro* e de sistemas de suporte sólido para as unidades de sequenciamento, não precisando mais do intensivo trabalho laboratorial de produção de clones bacterianos, da montagem das placas de

sequenciamento e da separação dos fragmentos em géis ou polímeros. Dentre as novas plataformas de sequenciamento, duas já possuem ampla utilização em todo o mundo: a plataforma 454 FLX da Roche e a Solexa da Illumina (CARVALHO; SILVA, 2010). A plataforma Illumina é atualmente a líder no mercado (DIJK et al., 2014) e a maioria dos protocolos de preparação da biblioteca são compatíveis com esse sistema. Além disso, é a que oferece maior quantidade e qualidade de sequências entre todas as plataformas, resultando num menor custo por base sequenciada (LIU et al., 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Presença de nutrientes de plantas e elementos inorgânicos no lodo de esgoto

As amostras de lodo de esgoto foram coletadas em 19 estações de tratamento de esgoto (ETE) do Estado de São Paulo, Brasil. Na região metropolitana, foram coletadas as amostras SS2, SS6, SS7, SS8 e SS9. No interior, foram coletadas as amostras SS1, SS3, SS4, SS5, SS10, SS11, SS12, SS13, SS14, SS15, SS16, SS17, SS18 e SS19. As principais características do processo de tratamento e as quantidades produzidas de lodo estão apresentadas na Figura 1. Como pode ser observado, o lodo foi coletado em estações com diferentes processos de tratamentos, distintas quanto à quantidade tratada de esgoto e à quantidade de lodo de esgoto produzida, variando de 1 até 300 t d⁻¹, sendo que 53% delas geram até 50 t d⁻¹ de lodo de esgoto, 26% entre 50 e 100 t d⁻¹ e 21% produz acima de 100 t d⁻¹. Como critério de seleção das estações de tratamento de lodo de esgoto, foi utilizada ainda a distribuição das mesmas dentro do estado de São Paulo, sendo selecionadas estações representativas de todas as regiões.

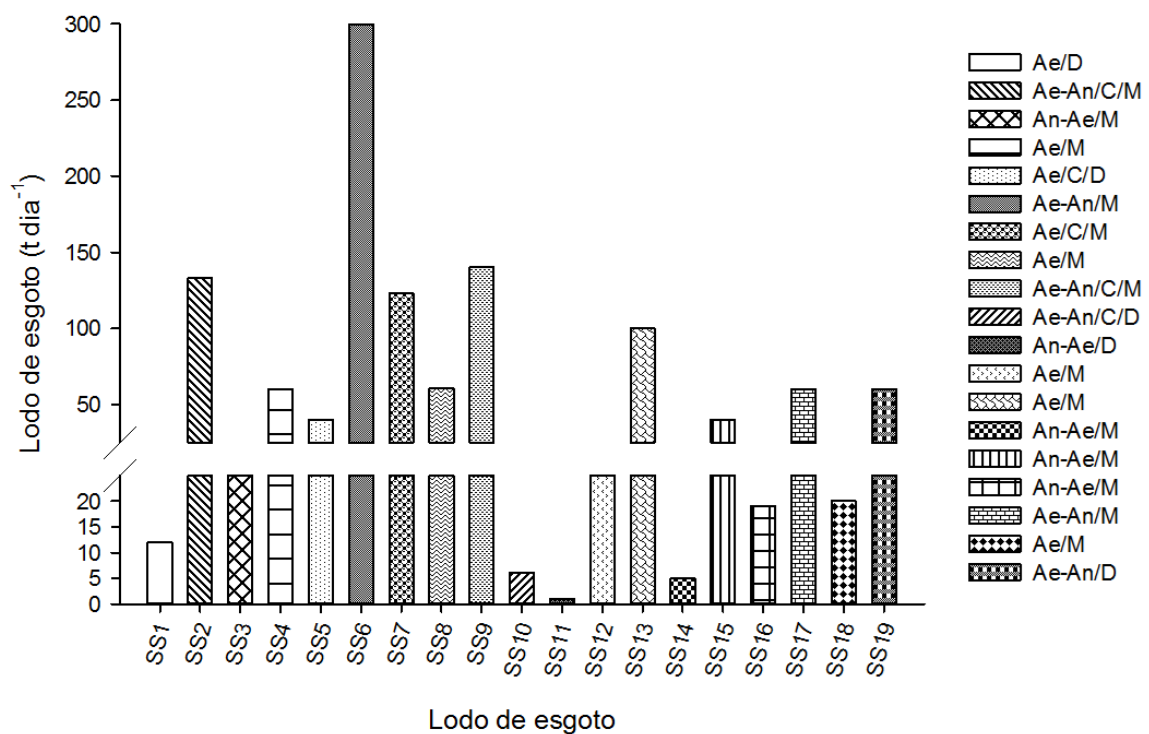


Figura 1 - Quantidade de lodo de esgoto produzida por dia, processos de tratamento empregados e origem do lodo

Ae - Aerobio, An - Anaerobio = Processo de tratamento do lodo de esgoto; C - Aplicação de hidróxido de cálcio no lodo; D - doméstico / M - doméstico e industrial = origem do esgoto

A coleta foi realizada no ponto de desaguamento do lodo, tendo sido recolhidas 5 amostras simples, de aproximadamente 200 g, esperando-se 10 min entre cada coleta. Posteriormente, as amostras simples foram misturadas e homogeneizadas para formar as amostras compostas representativas da ETE, que foram acondicionadas em frasco de vidro e mantidas refrigeradas até o momento das análises, conforme descritas na resolução CONAMA 375/2006 (BRASIL, 2006).

A umidade foi determinada em 100 g de amostra, seca em estufa com ventilação forçada a 65°C, por 48 h. O processo foi repetido, sendo a amostra mantida na estufa por mais 2 h para verificação da variação da massa, admitindo-se variação < 4%.

O nitrogênio inorgânico foi determinado a partir de 5 g de amostra úmida, extraída com 50 ml de solução de KCl 1,0 mol L⁻¹, por meio de destilação a vapor, com 0,2 g de MgO e 0,2 g de liga de Devarda. O N destilado foi recebido em 5 mL de solução de H₃BO₃ (20 g L⁻¹), que posteriormente foi titulada com solução padronizada de H₂SO₄ (0,0025 mol L⁻¹).

Para determinação do nitrogênio Kjeldahl, pesou-se 0,05 g da amostra seca em estufa (65°C) e adicionou-se 3 mL de H₂SO₄ concentrado. A mistura foi colocada em bloco digestor (± 360°C) por 3 h. Para a destilação, adicionou-se 20 mL de NaOH (10 mol L⁻¹). O N destilado foi recebido em 20 mL de solução de H₃BO₃ (20 g L⁻¹), que posteriormente foi titulada com solução padronizada de H₂SO₄ (0,0025 mol L⁻¹).

O pH foi determinado em água usando 2 g de amostra úmida e 20 mL de água deionizada, cuja suspensão foi agitada por 5 min, em agitador circular horizontal, a 220 rpm. Após 30 min de descanso, determinou-se o pH.

Para determinação do carbono orgânico, 0,015g de amostra seca em estufa (65°C) foi colocada em tubo digestor, onde se adicionou 5 mL de solução de dicromato de potássio (0,167 mol L⁻¹) e 7,5 mL de H₂SO₄ concentrado. A mistura foi colocada em bloco digestor a 150°C, por 30 min. Para a determinação, 5 mL de H₃PO₄ concentrado e 5 gotas do indicador difenilamina foram adicionados antes da titulação com solução padronizada de sulfato ferroso amoniacal (0,2 mol L⁻¹).

Os elementos Ca, K, P, Mg, S, B, Cu, Fe, Ni, Mn, Mo, Se, Zn, Al, As, Ba, Cd, Cr, Pb, Hg e Na foram extraídos em forno microondas, de acordo com o método EPA 3051. Amostras de 0,5 g de lodo secas em estufa (65°C) e 10 mL de ácido nítrico concentrado foram misturadas. Após 15 min, os tubos foram colocados em forno micro-ondas por 30 min. A determinação de K e Na foi realizada por fotometria de chama e os demais elementos por espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES).

3.2 Presença de contaminantes orgânicos no lodo de esgoto

3.2.1 Contaminantes orgânicos emergentes

As amostras de lodo de esgoto foram coletadas em 19 estações de tratamento de esgoto do Estado de São Paulo, Brasil, descritas no item 3.1. Cinco amostras simples, cerca de 500 g cada, foram coletadas imediatamente após o ponto de desidratação de lodo de esgoto, com intervalos de 10 minutos entre cada coleta. As amostras simples foram combinadas, misturadas e homogeneizadas para formar a amostra composta representativa da ETE. As amostras foram colocadas em frascos de vidro e transportadas em ambiente refrigerado para o laboratório, onde foram liofilizadas e armazenadas até o momento das análises.

As análises foram executadas no Environmental Organic Chemistry Laboratory, na Universidade de Purdue, nos Estados Unidos. A extração foi realizada em triplicata. Em tubos de centrifuga (polipropileno, 15 ml) foram adicionados 4 ml de metanol (MeOH) com hidróxido de amônio (0,1%) e 0,2 g de lodo de esgoto liofilizado. As amostras foram misturadas durante 30s, sonicadas por 30 min e agitadas durante 20 h, no escuro. Após o tempo de equilíbrio, os tubos foram centrifugados durante 25 min a 3.000 rpm (1.800 g). O sobrenadante foi recolhido em novo tubo de centrífuga (polipropileno). O ciclo de extração foi repetido três vezes, seguido de uma quarta extração utilizando 3 mL de MeOH com 0,1% de ácido acético. Os extratos, básicos e ácidos, foram combinados e armazenados a 4°C até o momento das determinações.

Alíquotas de ~1,3 g do extrato foram transferidos para frascos de HPLC e evaporadas até aproximadamente 0,1 g, sob fluxo suave de nitrogênio. Alíquotas adicionais do extrato foram adicionadas aos frascos e a fase de evaporação foi repetida três vezes. Na terceira vez, o extrato foi totalmente evaporado e redissolvido em 0,5 mL de metanol com padrões internos (Tabela 2).

Tabela 2 - Caracterização, tempo de retenção e padrão interno dos compostos analisados

Modo Positivo				
	USO	m/z (Da)	TR (min)	PI
Androstenediona	Hormônio	287,2010	3,4	SPI
Progesterona	Hormônio	315,2326	3,81	SPI
Difenidramina	Farmacêutico	256,1701	2,42	Difenidramina d4
Miconazole	Farmacêutico	416,9911	3,42	SPI
Cimetidina	Farmacêutico	253,1235	0,32	SPI
Modo negativo				
Estrona	Hormônio	269,1549	5,77	SPI
Doxiciclina	Farmacêutico	443,1459	2,87	ibuprofen
Triclocarban	Antibacteriano	312,9700	7,66	triclocarban
BPA	Industrial	227,1080	5,73	BPA
Benzilparabeno	Industrial	227,1080	5,71	butilparabeno
Metilparabeno	Industrial	151,0399	2,99	metilparabeno
BPAF	Industrial	335,0799	6,26	BPA
TBBPA	Industrial	540,7429	7,79	BPA
PFOA	Industrial	412,9660	13,52	BPA

TR – Tempo de retenção; PI – Padrão interno; SPI – Sem padrão interno

A análise foi executada em cromatógrafo líquido (Shimadzu Nexera X2), acoplado a espectrômetro de massa sequencial (Sciex TripleTOFTM 5600+), no modo de ionização positivo e negativo. No modo negativo, a separação foi realizada com injeções de 30 μL do extrato em coluna Phenomenex Kinetex® 5 μm EVO C18 100 Å 100 \times 2,1 milímetros, com gradiente de eluição com ácido acético 0,15% em água ultrapura (Barnstead NANOpure® Diamond™ Analytical ultrapure water system) [solvente A] e metanol [solvente B] a 0,75 mL min^{-1} . A composição de fase móvel inicial foi de 10% de solvente B durante 0,5 min. Utilizou-se dois gradientes lineares sucessivos, o primeiro a 30% de solvente B até 1 min, depois 100% de solvente B até 10 min. Solvente B foi mantido a 100% durante 5,5 min, em seguida a fase móvel retornou às condições iniciais com 10% de solvente B dentro de 2 minutos. Esta condição foi mantida até o final da corrida, que foi de 19 min.

No modo positivo, a separação foi realizada injetando 40 μL do extrato na mesma coluna utilizada no modo negativo. Ácido fórmico (0,1%) em água ultrapura foi empregado como solvente A e metanol como solvente B. O fluxo de 0,75 mL min^{-1} foi mantido constante. A composição da fase móvel inicial foi 10% de solvente B, mantido durante 0,3 min, seguido de gradiente linear até 100% de solvente B, em 4 min. A condição de 100% do solvente B foi mantida durante 4 min. A fase móvel retornou para as condições iniciais com 10% de solvente

B, em 0,5 min, e foi mantida a 10% de solvente B até o final da corrida, que foi de 11 minutos. Os tempos de retenções e m/z estão apresentados na Tabela 2. As análises foram quantificadas usando curvas independentes de calibração com padrões de verificação analisados a cada 10 amostras. Padrões internos foram usados para avaliar os efeitos da matriz e estão descritos na Tabela 2. As quantificações dos compostos foram realizadas no programa MultiQuant™ Software, Version 3.0.1.

3.2.2 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Visando contemplar a possível variação sazonal, foram realizadas três coletas de lodo de esgoto em cada uma das 19 ETEs descritas anteriormente. As coletas foram realizadas durante os meses de novembro de 2013 (A), maio de 2014 (B) e dezembro de 2014 (C). As amostras foram coletadas no ponto de desaguamento do lodo, tendo sido coletadas 5 amostras simples, de aproximadamente 200 g, esperando-se 10 minutos entre cada coleta. Posteriormente, as amostras simples foram misturadas e homogeneizadas para formar a amostra composta representativa da ETE, que foi acondicionada em frasco de vidro e mantida refrigerada até o momento das análises, realizadas no laboratório Mérieux NutriSciences (Bioagri).

A solução padrão contendo 2 mg mL⁻¹ de cada HPA estudado, em diclorometano:benzeno (50:50 v/v) foi obtida da AccuStandard Inc. (New Haven, CT, USA). O sulfato de sódio anidro foi obtido da Anidrol Produtos Laboratoriais (Diadema, SP, Brasil) e o Diclorometano obtido da Merck KGaA (Darmstadt, HE, Alemanha).

Amostras de 5 g de lodo de esgoto foram transferidas para frascos de 40 ml. Adicionou-se sulfato de sódio anidro até retirada da umidade da amostra. Após a adição de 20 ml de diclorometano as amostras foram sonicadas em banho ultrassônico por 35 minutos e centrifugadas por 5 minutos a 2.000 rpm. Alíquotas de 10 ml do sobrenadante foram transferidas para frascos de 40 ml e concentradas para 0,5 ml em concentrador Tec Vap, à temperatura de 35°C, com fluxo contínuo de nitrogênio. A solução concentrada foi transferida para tubos de 2 ml e a identificação e quantificação dos 16 HPAs listados como prioritários no monitoramento ambiental pela United States Environmental Protection Agency (acenafteno acenaftileno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(ghi)perileno, benzo(k)fluoranteno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fenantreno, fluoran-

teno, fluoreno, indeno(1,2,3-cd)pireno, naftaleno e pireno) foi realizada por cromatografia gasosa (Termo Finningan – CG 14), acoplado a espectrômetro de massas.

3.3 Estrutura da comunidade bacteriana do lodo de esgoto

As amostras de lodo de esgoto foram coletadas em 19 estações de tratamento de esgoto do estado de São Paulo, descritas no item 3.1. A amostragem foi realizada no ponto de desaguamento do lodo, tendo sido coletadas em triplicata, com aproximadamente 100 g cada. As amostras foram acondicionadas em frascos plásticos e mantidas refrigeradas, sendo encaminhadas ao laboratório para extração do DNA.

O DNA total foi extraído a partir de 0,4 g de amostra, de acordo com metodologia descrita para o Kit Power Soil DNA Isolation (MoBio, EUA). O resultado da extração foi avaliado por meio de eletroforese em gel agarose 1,0%, onde foram aplicados 5 µL do produto de DNA extraído.

Para o sequenciamento da região 16S rRNA, fez-se diluição em água (1:1000) do DNA extraído e 1 µL do DNA diluído foi utilizado para realizar uma PCR com os primers universais para a região 16S rRNA, 27F (5'GAGAGTTTGATCCTGGCTCA) e 1492R (TACGGYTACCTTGTTACGACT). A reação foi realizada para o volume final de 25 µL, neste caso compondo 0,03 µL de cada 100 pmol primer, 2,5 µL de 10X PCR Buffer, 3,75 µL de 50 mM MgCl₂, 1,25 µL de 10 µL/mL Formamida, 2 µL de 2.5 mM DNTP's, 0,25 µL de 5U Taq DNA polimerase e 14,19 µL de água Milli-Q esterilizada. A mistura foi colocada em termociclador (Applied Biosystems® Veriti® Thermal Cycler) programado para gerar uma desnaturação inicial de quatro minutos a 94°C e 30 ciclos de 94°C, 30 segundos; 63°C, um minuto; 72°C, um minuto; seguidos de uma extensão final de dez minutos a 72°C. Após a amplificação da região 16S rRNA, 5 µL do produto de PCR foi utilizado para observação por meio de eletroforese em gel de agarose (1,2%), tendo como resultado a geração de um fragmento amplificado com aproximadamente 1500 pb.

Posteriormente, o produto da PCR com os primers 27F e 1492R foi submetido à reação de PCR com os primers próprios para o sequenciamento Illumina, 16S Forward e Reverse, cuja sequência de bases é apresentada na Tabela 3. A reação foi realizada para um volume final de 25 µL, neste caso compondo 16 µL de água Milli-Q esterilizada, 3 µL de 10X PCR Buffer, 2,5 µL de 50 mM MgCl₂, 2 µL de 2,5 mM DNTP's, 0,1 µL de cada 100 pmol primer e 0,3 µL de 5U Taq DNA polimerase. A mistura foi colocada em termociclador

(Applied Biosystems® Veriti® Thermal Cycler) programado para gerar uma desnaturação inicial de três minutos a 95°C e 30 ciclos de 95°C por 45 segundos; 57°C por 1 minuto e 45 segundos; 72°C por um minuto; seguidos de uma extensão final de 4 minutos a 72°C. Foi utilizado 5 µL do produto de PCR para observação por meio de eletroforese em gel de agarose (1,2%), tendo como resultado um fragmento amplificado com aproximadamente 430 pb. As amostras foram purificadas e realizou-se a PCR para ligação dos adaptadores. Cada amostra sequenciada recebeu um par de index destino para identificação da origem de cada sequência obtida. Esta etapa e as posteriores foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Animal do Departamento de Zootecnia da ESALQ-USP.

Tabela 3 - Primers usados na reação de PCR para sequenciamento illumina

16SV4FPCR1_1 F	5' TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGAYTGGGYDTAAAGNG
16SV4FPCR1_2 F	5' TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNAYTGGGYDTAAAGNG
16SV4FPCR1_3 F	5' TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNAYTGGGYDTAAAGNG
16SV4FPCR1_4 F	5' TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNNAYTGGGYDTAAAGNG
16SV4RPCR1_1 R	5' GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGCCGTCAATTCMTTTRAGT
16SV4RPCR1_2 R	5' GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNCCGTCAATTCMTTTRAGT
16SV4RPCR1_3 R	5' GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNCCGTCAATTCMTTTRAGT
16SV4RPCR1_4 R	5' GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNCCGTCAATTCMTTTRAGT

Para análise das sequências obtidas foi utilizado o programa QIIME (*Quantitative Insights into Microbial Ecology*). A seleção dos dados com base no valor de qualidade, fixado em 20, foi realizado no programa CLC Genomics Workbench 6 (CLCbio). O agrupamento das OTUs (Unidade Taxonômica Operacional) foi realizado para o nível de distância de 3% (97% de similaridade) e a classificação taxonômica foi realizada pelo RDP *Classifier* (*Ribosomal Database Project*). A tabela de OTUs foi também utilizada para estimar os parâmetros ecológicos através dos índices de diversidade Chao 1, Simpson e Shannon. A análise de agrupamento das amostras foi realizada através da análise dos componentes principais (PCA) e a abundância relativa dos micro-organismos foi correlacionada com os dados de composição química das amostras de lodo de esgoto (pH, N - NH₄⁺, N - NO₃⁻, N-Inorgânico total, N - Kjeldahl, carbono orgânico, K, Ca, Fe, P, S, Mg, Na, B, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Zn, Al, As e Ba) por meio de análise de redundância (RDA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Presença de nutrientes de plantas e elementos inorgânicos no lodo de esgoto

O valor médio de pH das amostras de lodo foi de 8,42 (Figura 2). Se desconsideradas aquelas que passaram por processo de estabilização química (SS2, SS5, SS7, SS9 e SS10), o valor médio de pH seria igual a 7,84, o que determina a natureza alcalina do lodo, independentemente do seu tratamento.

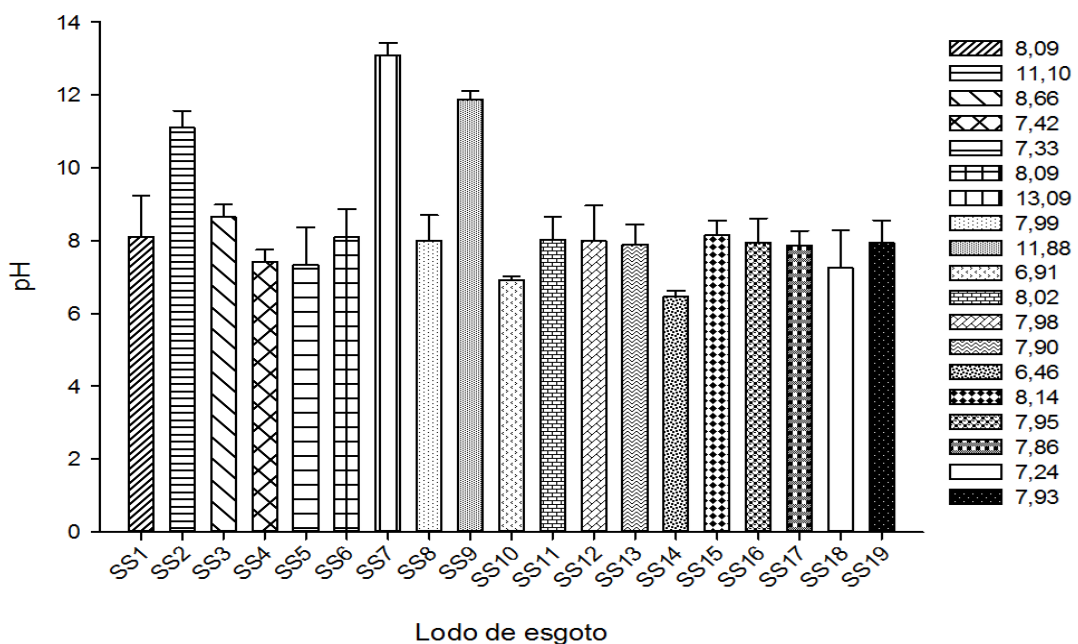


Figura 2 - pH do lodo de esgoto produzido em estações de tratamento de esgoto de São Paulo

O N-orgânico é a principal forma deste elemento no lodo de esgoto, correspondendo a mais de 99% do N total (Figura 3). Já o N-amoniacal foi a principal forma de N-inorgânico. De acordo com o anexo III da Resolução CONAMA 375/2006 (BRASIL, 2006), essas amostras de lodo de esgoto possuem, em média, $16,85 \text{ g kg}^{-1}$ ou kg t^{-1} de N-disponível. Portanto, para uma cultura que demanda a aplicação de 100 kg ha^{-1} de N, seriam necessárias $5,9 \text{ t ha}^{-1}$ de lodo de esgoto, o que implicaria na introdução de uma carga relativamente baixa de elementos inorgânicos potencialmente tóxicos no solo.

O valor médio de N-Kjeldhal deste estudo (4,2%) foi superior ao obtido no estado do Paraná-BR (1,7%), para lodos de esgoto derivados de tratamentos aeróbios e anaeróbios (BITTENCOURT et al., 2014). Vale ressaltar que todo o lodo do Paraná passou por processo de estabilização com CaO ou CaO+MgO (30 a 50% do valor de sólidos totais), o que diminui

os teores de N pela diluição e aumenta a sua perda pela volatilização da amônia devido ao aumento do pH.

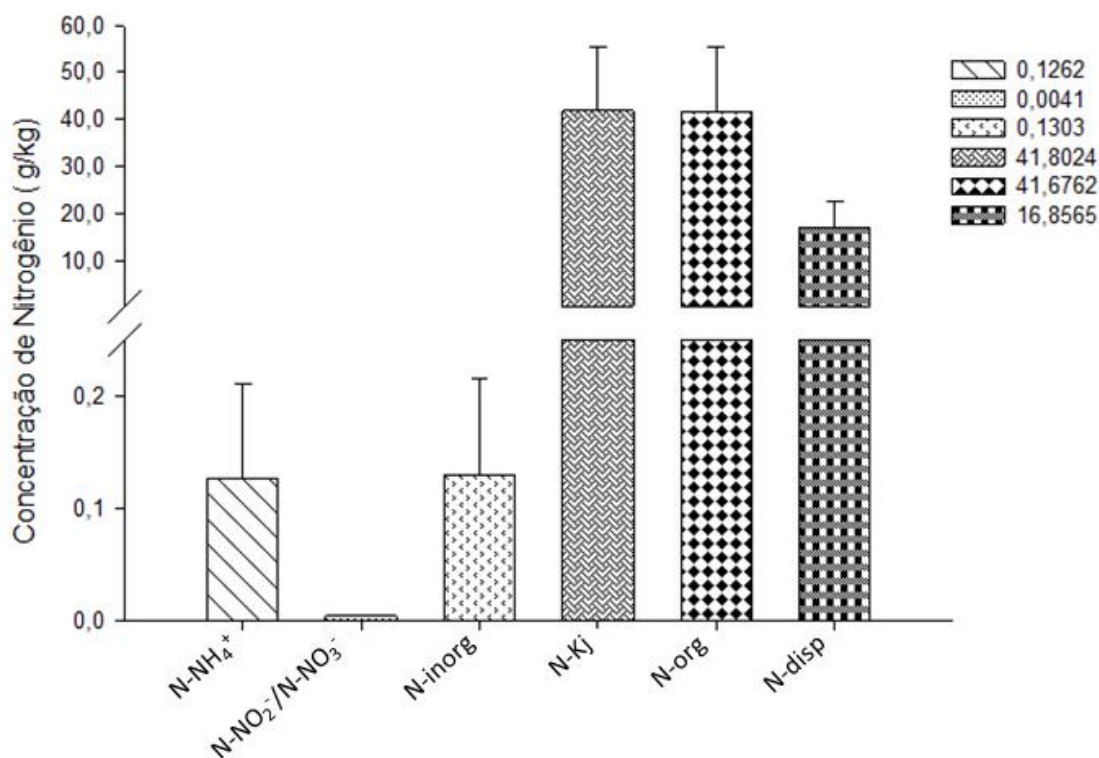


Figura 3 – Valores médios do conteúdo de nitrogênio em 19 amostras de lodo de esgoto do estado de São Paulo

Amônio (N-NH₄⁺); nitrito e nitrato (N-NO₂⁻/N-NO₃⁻); amônio, nitrito e nitrato (N-inorg); nitrogênio Kjeldahl (N-Kj); nitrogênio orgânico (N-Kj - N-NH₄⁺) e nitrogênio disponibilizável de acordo com o anexo III da Resolução Conama 375/2006, considerando o fator de mineralização para lodo não digerido e aplicação superficial.

Apesar do baixo teor de N-inorgânico em relação ao N-orgânico, o primeiro representa o N-disponível, enquanto o segundo necessita da degradação da matéria orgânica para que seja absorvido pelas plantas. Esta necessidade de degradação e, conseqüentemente, a liberação parcelada no solo pode ser vantajosa frente aos adubos nitrogenados convencionais por resultar em menor perda de N do sistema.

Os teores de carbono orgânico variaram de 225 a 425 g kg⁻¹, com média de 338 g kg⁻¹ (Figura 4). Considerando que a matéria orgânica possui 58% de carbono orgânico, o teor médio de matéria orgânica no lodo de esgoto foi de 582 g kg⁻¹ (ou 58%), em base seca. O restante (42%) corresponde a materiais inorgânicos, tais como areia, metais etc.

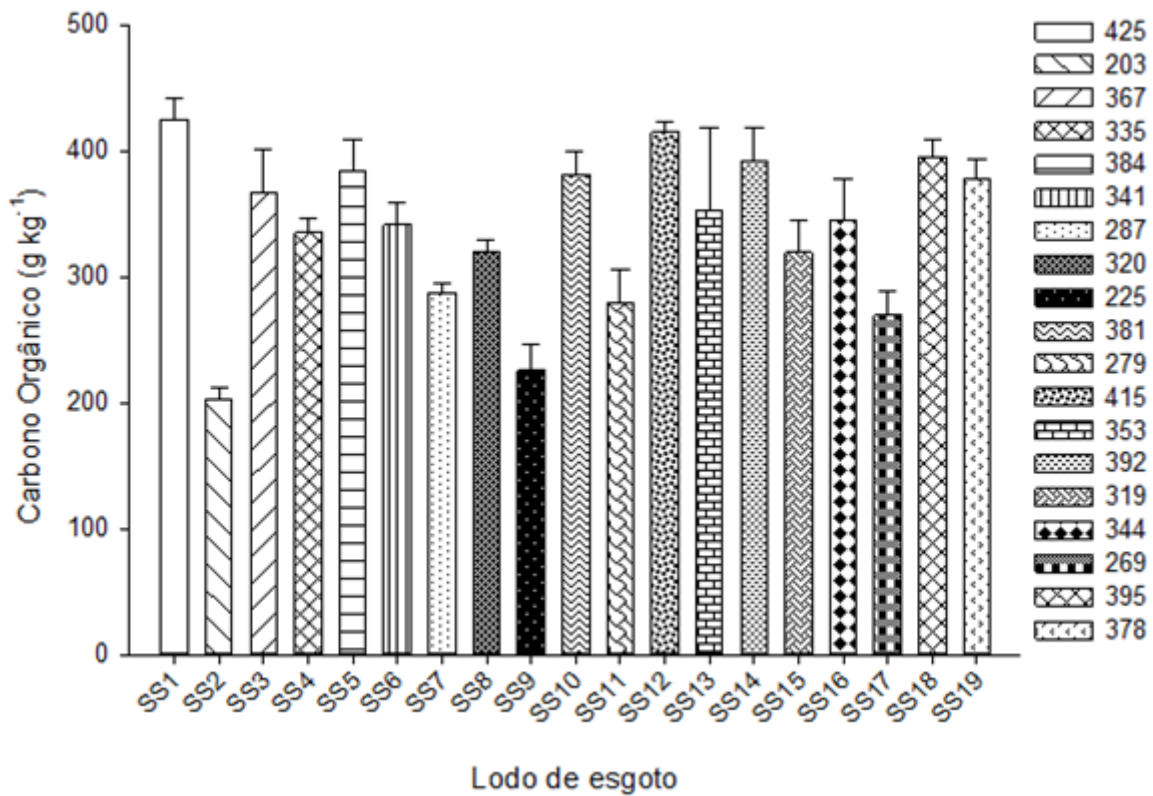


Figura 4 - Carbono orgânico no lodo de esgoto produzido no Estado de São Paulo

Portanto, o valor médio da relação C/N dessas amostras de lodo foi baixo (8,1), o que favorece o processo de mineralização e ratifica a sua viabilidade de uso como fonte de nitrogênio tanto no solo como em processos de compostagem.

Na Figura 5 são apresentados os teores médios de cálcio, fósforo, potássio, magnésio, enxofre e sódio. Os teores de Ca sofreram as maiores variações entre todos os nutrientes, sendo que o menor valor foi observado na amostra SS5 (7,2 g kg⁻¹) e o maior valor na amostra SS9 (142,9 g kg⁻¹) (Tabela 4). Esta grande variação é resultado da estabilização química do lodo em algumas estações de tratamento de esgoto. Entretanto, mesmo as amostras que passaram por processo de caleação (SS2, SS5, SS7, SS9 e SS10) apresentaram teores de cálcio inferiores à média observada em lodos de esgoto caleados produzidos no estado do Paraná (BITTENCOURT et al., 2014).

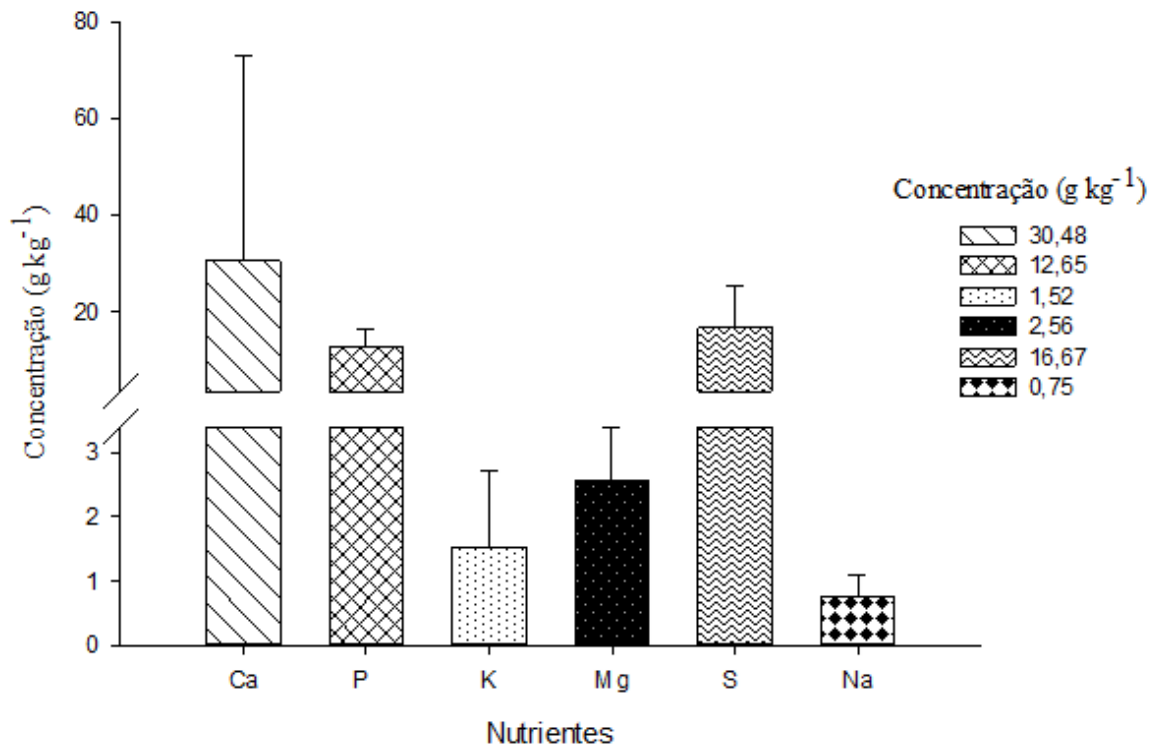


Figura 5 - Valores médios do conteúdo de Ca, P, K, Mg, S e Na em lodo de esgoto do estado de São Paulo

Tabela 4 – Teores de Ca, P, K, Mg, S e Na em 19 amostras de lodo de esgoto gerado no Estado de São Paulo

Lodo de esgoto	Ca	P	K	Mg	S	Na
	g kg ⁻¹					
SS1	12,9 ± 8,8	16,8 ± 2,3	2,3 ± 0,5	2,0 ± 0,0	11,8 ± 1,4	0,6 ± 0,0
SS2	115,3 ± 14,4	16,4 ± 2,1	0,8 ± 0,0	2,4 ± 0,1	10,7 ± 1,9	0,5 ± 0,0
SS3	9,9 ± 0,2	13,9 ± 1,1	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,1	17,3 ± 1,5	0,7 ± 0,0
SS4	12,3 ± 1,6	10,2 ± 0,8	1,9 ± 0,2	2,2 ± 0,0	7,9 ± 0,9	1,2 ± 0,0
SS5	7,2 ± 1,0	13,6 ± 0,6	3,9 ± 0,9	3,8 ± 0,1	8,1 ± 0,7	0,1 ± 0,0
SS6	15,5 ± 1,9	15,0 ± 1,0	1,1 ± 0,1	2,9 ± 0,3	18,4 ± 2,9	0,6 ± 0,0
SS7	118,0 ± 14,8	10,6 ± 0,6	0,9 ± 0,0	2,6 ± 0,2	5,7 ± 1,2	0,4 ± 0,0
SS8	14,7 ± 1,4	10,6 ± 0,7	0,7 ± 0,0	1,5 ± 0,1	36,9 ± 6,5	1,6 ± 0,1
SS9	142,9 ± 16,1	9,5 ± 0,9	0,5 ± 0,0	2,1 ± 0,2	14,1 ± 2,3	0,9 ± 0,0
SS10	14,4 ± 2,2	20,5 ± 1,8	3,5 ± 1,1	4,5 ± 0,1	13,4 ± 1,3	0,8 ± 0,0
SS11	10,5 ± 3,6	7,7 ± 5,0	1,3 ± 0,1	2,5 ± 0,2	19,3 ± 7,2	0,5 ± 0,1
SS12	13,2 ± 3,0	9,9 ± 4,5	1,3 ± 0,3	2,4 ± 0,4	14,9 ± 4,7	0,4 ± 0,0
SS13	12,9 ± 1,8	11,0 ± 1,0	0,9 ± 0,1	2,2 ± 0,1	24,9 ± 0,3	1,4 ± 0,0
SS14	8,4 ± 0,8	14,8 ± 1,3	4,6 ± 0,1	3,6 ± 0,4	8,7 ± 2,2	1,1 ± 0,0
SS15	15,4 ± 4,8	7,6 ± 1,0	0,7 ± 0,1	2,4 ± 0,2	28,7 ± 9,2	0,6 ± 0,1
SS16	14,1 ± 2,0	11,9 ± 1,3	0,6 ± 0,1	2,4 ± 0,4	19,9 ± 2,6	0,6 ± 0,0
SS17	7,9 ± 1,1	14,3 ± 1,1	1,1 ± 0,1	1,8 ± 0,2	7,9 ± 2,7	0,6 ± 0,1
SS18	13,8 ± 1,5	8,5 ± 0,9	1,1 ± 0,1	2,7 ± 0,1	32,6 ± 1,8	0,5 ± 0,1
SS19	19,7 ± 5,5	17,7 ± 1,5	1,0 ± 0,1	3,7 ± 0,4	15,5 ± 1,9	0,4 ± 0,1
Média	30,5	12,7	1,5	2,6	16,7	0,8

A rocha fosfática é o principal material utilizado para a produção de fertilizantes fosfatados e a demanda por esse material tem aumentado devido a inúmeros fatores, dentre eles o aumento da população. Inevitavelmente, a demanda por rochas fosfáticas irá exceder sua capacidade de oferta, sendo o fósforo considerado um recurso finito. Globalmente, o P é perdido em vários fluxos de resíduos e representa ameaça para o meio ambiente, resultando em problemas ecológicos graves, como a eutrofização dos cursos de água (KARUNANITHI et al., 2015). Como pode ser observado na Tabela 4, as amostras de lodo representam uma fonte potencial de fósforo, uma vez que os teores variaram de 7,6 (SS15) a 20,5 g kg⁻¹ (SS10). O valor médio (12,7 g kg⁻¹) foi cerca de 26% inferior ao constatado por Nogueira et al. (2010), durante os anos de 1997 a 2006, em lodo de esgoto proveniente de apenas uma estação de tratamento de esgoto, e 11% inferior ao valor constatado pela CETESB em lodos de esgoto originados de 7 diferentes estações de tratamentos (CETESB, 2009).

Os teores de K variaram de 0,5 a 4,6 g kg⁻¹, sendo o teor médio igual a 1,5±1,2 g kg⁻¹. Wen et al. (1997) também observou baixa concentração de K em amostras de lodo de esgoto. Isto provavelmente deve-se à sua alta solubilidade e à sua forma iônica, o que faz com que esse elemento tenda a permanecer em solução ao longo do processo de tratamento de esgoto. Além disso, parte do K é perdida durante o processo de desidratação do lodo. Desta forma, a complementação química com K é constantemente observada quando o lodo de esgoto é aplicado ao solo (BUENO et al., 2011; NOGUEIRA et al., 2010; WEN et al., 1997). Bittencourt et al. (2014) constatou que o lodo de esgoto fornece apenas 35% do K₂O exigido pelas culturas.

O enxofre é um nutriente essencial para o desenvolvimento das plantas e é requerido em quantidades similares à do fósforo. Ele é exigido na síntese de proteínas e enzimas, sendo componente dos aminoácidos metionina e cisteína. Desta forma, sua deficiência resulta na redução da qualidade e produtividade das culturas. Áreas com deficiência de enxofre tem se tornado comum em todo o mundo devido ao aumento na produtividade das culturas, à agricultura intensiva, à redução no uso de fungicidas contendo S e à redução da deposição atmosférica, resultante de regulamentos de emissões mais rigorosos (SCHERER, 2001). Os teores de S variaram de 5,7 a 36,9 g kg⁻¹, sendo que o teor médio (16,7 ± 8,8 g kg⁻¹) foi superior ao observado em esterco de galinha (10,8 g kg⁻¹) e de suíno (5,6 g kg⁻¹) (BAO et al., 2010).

Tabela 5 - Elementos Inorgânicos em lodo de esgoto gerado no estado de São Paulo

(Continua)

Lodo de esgoto	As	Ba	B	Cd	Cr	Cu	Hg
	----- mg kg ⁻¹ -----						
SS1	5,3 ± 7,9	366,9 ± 116,6	12,4 ± 2,5	3,5 ± 1,5	466,4 ± 124,9	290,1 ± 13,0	5,2 ± 2,7
SS2	4,9 ± 3,8	303,5 ± 20,2	15,7 ± 3,1	5,0 ± 2,1	349,8 ± 75,5	289,8 ± 111,3	4,8 ± 3,9
SS3	8,1 ± 1,9	287,7 ± 10,6	4,1 ± 4,1	4,8 ± 2,0	24,1 ± 3,9	84,6 ± 2,2	3,8 ± 3,9
SS4	6,8 ± 4,5	677,8 ± 45,5	16,1 ± 0,8	0,9 ± 0,6	469,7 ± 105,3	195,7 ± 6,1	7,9 ± 2,8
SS5	1,9 ± 2,7	369,1 ± 21,1	19,6 ± 1,8	3,1 ± 5,1	226,5 ± 55,1	327,5 ± 19,4	11,3 ± 5,4
SS6	7,0 ± 2,6	480,7 ± 52,0	7,8 ± 0,9	2,6 ± 0,9	193,2 ± 50,4	520,3 ± 18,9	2,4 ± 0,7
SS7	4,6 ± 7,9	89,9 ± 4,9	3,3 ± 0,9	4,6 ± 1,8	592,7 ± 134,1	572,9 ± 25,5	8,5 ± 4,2
SS8	6,1 ± 1,0	603,6 ± 63,9	14,9 ± 1,4	3,1 ± 1,1	379,9 ± 50,2	434,3 ± 13,7	7,3 ± 1,8
SS9	10,7 ± 0,8	380,1 ± 0,7	6,6 ± 0,6	2,8 ± 1,1	104,3 ± 19,8	424,0 ± 8,6	10,9 ± 8,8
SS10	8,9 ± 2,3	379,6 ± 9,8	11,5 ± 0,7	1,1 ± 0,7	59,6 ± 16,6	154,1 ± 8,3	8,5 ± 8,7
SS11	10,2 ± 5,5	473,1 ± 109,7	4,7 ± 0,8	1,3 ± 0,6	31,5 ± 18,8	198,5 ± 70,4	5,1 ± 8,9
SS12	4,2 ± 3,8	411,0 ± 94,2	6,4 ± 1,3	1,1 ± 0,9	31,3 ± 9,2	155,8 ± 31,6	8,3 ± 7,4
SS13	3,2 ± 4,3	1.081,7 ± 48,6	11,4 ± 0,5	6,9 ± 1,6	106,6 ± 30,5	492,6 ± 16,1	4,4 ± 4,3
SS14	5,5 ± 3,8	314,6 ± 22,8	22,4 ± 0,7	0,2 ± 0,4	15,7 ± 1,7	141,7 ± 8,2	6,7 ± 2,8
SS15	8,6 ± 9,9	549,9 ± 25,8	2,4 ± 2,1	2,3 ± 0,9	582,8 ± 109,9	228,4 ± 336,9	4,8 ± 8,3
SS16	9,6 ± 8,4	706,4 ± 64,5	7,4 ± 3,2	3,1 ± 0,6	65,5 ± 6,1	466,0 ± 24,6	1,7 ± 2,8
SS17	8,6 ± 2,0	281,9 ± 7,3	1,9 ± 1,5	0,9 ± 0,5	82,0 ± 15,9	154,5 ± 13,3	3,3 ± 2,2
SS18	8,8 ± 3,5	592,9 ± 51,1	7,5 ± 1,9	2,1 ± 0,7	48,7 ± 10,8	475,9 ± 30,1	5,3 ± 0,8
SS19	7,8 ± 1,7	598,3 ± 11,5	3,5 ± 1,1	1,6 ± 0,7	78,5 ± 14,5	321,2 ± 9,8	7,0 ± 7,0
Média	6,9	471,0	9,4	2,7	205,7	312,0	6,2

Tabela 5 – Elementos Inorgânicos em lodo de esgoto gerado no estado de São Paulo

Lodo de esgoto	Mn	Mo	Ni	Pb	Se	Zn	Fe	Al
	mg kg ⁻¹					g kg ⁻¹		
SS1	246,7 ± 43,8	3,1 ± 0,8	18,1 ± 3,9	79,9 ± 3,7	4,9 ± 3,9	4.367,1 ± 935,8	19,9 ± 6,1	7,0 ± 2,6
SS2	449,4 ± 495,4	2,7 ± 0,6	126,1 ± 13,4	68,5 ± 1,1	2,6 ± 4,6	1.047,7 ± 518,9	84,6 ± 13,8	8,2 ± 0,7
SS3	133,3 ± 25,9	0,5 ± 0,8	8,2 ± 2,0	25,6 ± 1,4	1,1 ± 1,8	245,3 ± 52,9	86,8 ± 13,6	15,9 ± 0,9
SS4	275,4 ± 90,6	1,7 ± 0,5	31,1 ± 3,2	26,6 ± 2,0	4,2 ± 3,8	618,2 ± 200,7	13,7 ± 2,9	10,8 ± 2,5
SS5	200,5 ± 12,2	1,5 ± 0,4	32,8 ± 3,5	17,0 ± 1,5	5,9 ± 1,3	324,6 ± 64,3	4,5 ± 1,0	5,5 ± 0,2
SS6	247,3 ± 51,4	2,9 ± 0,7	90,4 ± 9,7	42,8 ± 1,0	1,6 ± 2,8	1.509,1 ± 304,3	22,8 ± 4,5	22,4 ± 0,2
SS7	304,2 ± 21,9	1,3 ± 0,7	71,1 ± 7,5	28,5 ± 2,8	nd	4.592,2 ± 485,1	29,9 ± 4,9	6,8 ± 0,5
SS8	251,3 ± 27,9	4,9 ± 1,8	522,7 ± 47,8	32,8 ± 1,8	1,1 ± 1,9	417,3 ± 82,4	42,4 ± 5,3	18,4 ± 1,8
SS9	243,4 ± 83,7	12,3 ± 2,7	147,1 ± 49,6	28,3 ± 0,9	1,8 ± 3,2	4.099,1 ± 782,0	38,0 ± 5,5	21,1 ± 1,0
SS10	141,3 ± 16,4	1,5 ± 0,9	8,9 ± 2,8	26,8 ± 3,3	1,6 ± 2,7	852,9 ± 286,0	10,8 ± 4,6	10,2 ± 1,7
SS11	157,4 ± 49,9	2,1 ± 1,0	66,5 ± 93,1	25,9 ± 2,6	3,00 ± 2,1	1.126,4 ± 1.196,5	18,3 ± 0,5	13,6 ± 2,0
SS12	147,0 ± 110,9	2,6 ± 0,6	107,3 ± 80,3	26,9 ± 2,7	4,3 ± 4,4	1.449,4 ± 735,6	14,8 ± 6,6	9,7 ± 2,7
SS13	231,9 ± 52,4	18,7 ± 3,8	69,6 ± 7,9	118,8 ± 2,9	3,0 ± 3,8	2.288,6 ± 239,8	21,6 ± 4,2	18,9 ± 1,5
SS14	135,5 ± 10,9	1,9 ± 0,8	6,5 ± 1,5	37,1 ± 2,2	3,0 ± 3,6	356,7 ± 51,1	4,4 ± 1,1	6,7 ± 1,0
SS15	244,7 ± 24,8	3,2 ± 1,0	390,7 ± 29,3	49,6 ± 4,4	11,0 ± 9,4	2.184,8 ± 443,9	28,4 ± 5,0	18,4 ± 3,2
SS16	200,5 ± 16,3	3,9 ± 1,5	77,5 ± 4,8	37,8 ± 3,1	4,9 ± 5,4	1.681,0 ± 123,9	12,4 ± 1,3	19,8 ± 3,1
SS17	166,7 ± 49,9	1,1 ± 1,1	41,7 ± 4,5	15,9 ± 2,4	1,6 ± 2,7	319,4 ± 65,6	22,5 ± 2,9	48,5 ± 4,3
SS18	194,9 ± 17,5	6,5 ± 2,0	44,1 ± 4,8	37,6 ± 0,9	2,1 ± 2,9	1.412,7 ± 119,0	24,2 ± 3,8	18,3 ± 1,2
SS19	176,9 ± 17,2	5,6 ± 1,7	78,1 ± 5,6	41,6 ± 2,9	0,9 ± 1,5	1.308,7 ± 114,9	20,9 ± 2,6	22,8 ± 1,7
Média	218,3	4,1	102,0	41,0	3,1	1.589,5	27,4	15,9

nd – Não detetado; n=3

Tabela 6 - Comparação das concentrações de elementos inorgânicos nas amostras de lodo de esgoto das 19 ETEs com a concentração máxima permitida (BRASIL, 2006) para utilização agrícola do lodo de esgoto e concentração máxima admitida em fertilizantes orgânicos (MAPA, 2006)

Substância Inorgânica	CMP (mg kg ⁻¹)	MCA (mg kg ⁻¹)	CM (mg kg ⁻¹)	ACMP ¹	CAP (kg ha ⁻¹)	QML ¹ (t ha ⁻¹)	QML ² (t ha ⁻¹)	MFO (mg kg ⁻¹)	ACMP ²
Arsênio	41	10,65	6,9	0	30	4.348	2817	20	0
Bário	1.300	1082	471	0	265	563	245	NR	-
Cádmio	39	6,93	2,7	0	4	1.493	577	3	8
Chumbo	300	119	41	0	41	1.000	345	150	0
Cobre	1.500	573	312	0	137	439	239	NR	-
Cromo	1.000	593	206	0	154	748	260	200	7
Mercúrio	17	11,34	6,2	0	1,2	194	106	1	19
Molibdênio	50	18,69	4,1	0	13	3.163	696	NR	-
Níquel	420	523	102	1	74	725	141	70	9
Selênio	100	11,03	3,1	0	13	4.221	1179	80	0
Zinco	2.800	4592	1590	3	445	280	97	NR	-

CMP - Concentração Máxima permitida no lodo de esgoto ou produto derivado destinado à agricultura

MCA - Valor observado na amostra com máxima concentração do elemento (média de 3 repetições)

CM - Concentração média do elemento nas 19 amostras

ACMP¹ - Número de amostras com concentração do elemento acima da máxima permitida de acordo com a resolução CONAMA 375/2006 (BRASIL, 2006).

CAP - Carga acumulada teórica permitida de elementos inorgânicos pela aplicação do lodo de esgoto (BRASIL, 2006)

QML¹ - Quantidade máxima de lodo de esgoto que pode ser aplicada ao solo para não ultrapassar a carga acumulada teórica permitida do elemento, considerando a média dos 19 lodos.

QML² - Quantidade máxima de lodo de esgoto que pode ser aplicada ao solo para não ultrapassar a carga acumulada teórica permitida de elementos inorgânicos, considerando o valor observado na amostra com máxima concentração (MCA)

MFO - Máxima concentração admitida em fertilizantes orgânicos (MAPA/2006)

ACMP² - Número de amostras com concentração do elemento acima da máxima permitida, de acordo com a Instrução Normativa N° 27, de 5 de junho de 2006 (MAPA, 2006)

NR - Não regulamentado.

Os teores de As variaram de 1,9 a 10,7 mg kg⁻¹, sendo o valor médio (6,9 mg kg⁻¹) seis vezes menor que o máximo estabelecido para utilização agrícola do lodo de esgoto (BRASIL, 2006). Este valor também é inferior ao valor médio constatado em amostras de esterco suíno (Tabela 7). Considerando o teor médio nas amostras, a carga acumulada teórica permitida de 30 kg ha⁻¹ seria atingida com a aplicação de 4.348 t ha⁻¹ de lodo de esgoto (Tabela 6). Se considerada a dose anual de 5,9 t ha⁻¹, baseada no N-disponível, esta carga acumulada teórica seria atingida após aplicações anuais e sequenciais em 737 anos.

Tabela 7 - Concentração média de elementos inorgânicos em lodo de esgoto, esterco bovino, suíno e de galinha e em fertilizantes fosfatados (mg kg⁻¹)

	Lodo de esgoto ^a	Esterco bovino ^b	Esterco suíno ^b	Esterco de Aves ^b	Fertilizantes fosfatados ^c
As	6,87	2,44	7,52	3,27	NA
Cd	2,68	0,43	18,20	1,60	8,7
Cr	206	0,88	4,50	88,35	40
Cu	312	31,06	663,80	65,32	8,7
Pb	41	2,27	2,57	3,83	66,60
Zn	1.590	127,19	614,10	298,02	10

^a - Lodo de esgoto do estado de São Paulo (n = 19)

^b - Zhang et al., 2012

^c - Mehmood et al., 2009

NA - Não avaliado

A maior concentração de Ba nas amostras de lodo foi de 1.082 mg kg⁻¹ (SS13, tabela 5). A Resolução Conama 375 (BRASIL, 2006) estabelece como 1.300 mg kg⁻¹ a sua concentração máxima em amostras destinadas à agricultura. Portanto, o teor de Ba não limita a aplicação do lodo de esgoto em áreas agrícolas e a carga acumulada teórica permitida deste elemento seria atingida com a aplicação de 245 t ha⁻¹ da amostra SS13. O teor médio de Ba das amostras (471 ± 215 mg kg⁻¹) foi 27% superior ao teor médio constatado pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 2009). Neste caso, a carga acumulada teórica permitida seria atingida em 41 anos de aplicações sequenciais de 5,9 t ha⁻¹.

O requerimento de B é altamente variável entre as espécies de plantas, sendo que este elemento apresenta a mais estreita faixa de concentração entre os níveis de deficiência e toxidez (PRINCI et al., 2016). Nas amostras, os teores de B variaram de 1,7 a 22,4 mg kg⁻¹ (média = 9,4 ± 6,1 mg kg⁻¹). Estes valores estão abaixo da concentração média encontrada em solos (30 mg kg⁻¹) (HOWE, 1998; PRINCI et al., 2016) e em amostras de lodo de esgoto (58,98 mg kg⁻¹) analisadas pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 2009).

O Cd é um metal pesado não essencial e altamente tóxico às plantas, entre outros. É conhecido por sua influência negativa sobre os sistemas enzimáticos de células, pelo estresse oxidativo e indução à deficiência nutricional em plantas (IRFAN et al., 2013). Os principais meios de contaminação do solo advêm da utilização de fertilizantes fosfatados, adubos orgânicos contaminados, águas residuais, mineração e emissões industriais e veiculares (WUANA; OKIEIMEN, 2011; ZHANG et al., 2012). Os seus teores variaram de 0,2 a 6,9 mg kg⁻¹ (Tabela 5). O valor máximo constatado foi inferior ao máximo estabelecido para a utilização agrícola (Tabela 6) (BRASIL, 2006). A concentração média de Cd (2,7 mg kg⁻¹) foi próxima à média (3,93 mg kg⁻¹) constatada pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB 2009), foi superior à média constatada para amostras de esterco bovino (0,43 mg kg⁻¹) e de aves (1,60 mg kg⁻¹) e cerca de 3 e 6 vezes inferior à média constatada em adubos fosfatados e amostras de esterco suíno, respectivamente (Tabela 7). Considerando o teor médio nas amostras e a dose de 5,9 t ha⁻¹, levaria, em média, 251 anos para atingir a carga acumulada teórica permitida de 4 kg ha⁻¹.

As principais fontes contaminação por Cr incluem a indústria de galvanoplastia e a utilização de resíduos contaminados (WUANA; OKIEIMEN, 2011). Os teores de Cr variaram de 17,7 a 592,8 mg kg⁻¹. O teor médio de 206 mg kg⁻¹ corresponde à 21% da concentração máxima permitida para utilização agrícola (Tabela 6) e é inferior ao valor médio (762 mg kg⁻¹) constatado para o lodo de esgoto de Barueri, durante os anos de 1997 a 2006 (NOGUEIRA et al., 2010). Entretanto, a concentração de Cr no lodo de esgoto foi superior à outras fontes de fertilizantes. Por exemplo, o seu teor médio no lodo foi 2 e 5 vezes maior que no esterco de aves e fertilizantes fosfatados, respectivamente (Tabela 7).

Cobre é o terceiro metal mais usado no mudo, sendo um micronutriente requerido no desenvolvimento tanto das plantas como dos animais. É frequentemente encontrado em água destinada ao consumo humano, devido ao uso de tubulações de cobre, bem como, ao emprego de aditivos para evitar o desenvolvimento de algas. Apesar de sua interação com o meio ambiente ser complexa, pesquisas mostram que a maior parte do Cu introduzida no meio ambiente é ou torna-se rapidamente estável (WUANA; OKIEIMEN, 2011). Os teores de Cu nessas amostras variaram de 84,6 a 572,9 mg kg⁻¹. O teor médio (312 ± 151 mg kg⁻¹) é cerca de 4,8 vezes inferior à concentração máxima permitida em lodo de esgoto destinado à aplicação agrícola (Tabela 6), 75% do valor constatado para amostras de lodo de esgoto coletadas nos anos de 2007 a 2008 (CETESB, 2009) e representa 50% do teor de Cu em esterco suíno. Entretanto, o teor médio no lodo de esgoto foi superior ao encontrado para o esterco bovino e de aves e para os fertilizantes fosfatados (Tabela 7).

A combustão do carvão é importante fonte de liberação de Hg no ambiente e as principais vias de exposição da população são o consumo de peixes, amálgamas dentárias e vacinas (CLARKSON; MAGOS; MYERS, 2003; WUANA; OKIEIMEN, 2011). A sorção ao solo, sedimentos e materiais húmicos é importante mecanismo de remoção de Hg de soluções (WUANA; OKIEIMEN, 2011). Desta forma, a sua presença em amostras de lodo de esgoto têm sido relatada em alguns trabalhos (ALCANTARA et al., 2015; XUE et al., 2015). O teor médio aqui encontrado foi de $6,2 \text{ mg kg}^{-1}$. A concentração máxima detectada ($11,3 \text{ mg kg}^{-1}$) foi inferior ao limite máximo para utilização agrícola (Tabela 6), mas superior ao constatado em 7 amostras de lodo de esgoto do estado de São Paulo (CETESB, 2009)

O Mn e o Mo são micronutrientes essenciais às plantas, que estão presentes no lodo de esgoto, mas podem ser tóxicos se aplicados em quantidades excessivas. As concentrações mínima, máxima e média foram, respectivamente, iguais a 33,3, 449,4 e $218,0 \text{ mg kg}^{-1}$ para o Mn e a 0,7, 18,7 e $4,1 \text{ mg kg}^{-1}$ para o Mo (Tabela 5). A concentração média de Mn foi semelhante à observada por Nogueira et al. (2010), durante 9 anos de avaliação (239 mg kg^{-1}). Já a concentração máxima de Mo foi inferior à máxima permitida para aplicação do lodo em áreas destinadas à agricultura (BRASIL, 2006). Considerando a concentração média deste elemento, a carga acumulada teórica permitida (13 kg ha^{-1}) seria atingida com a aplicação de 3.163 t ha^{-1} de lodo de esgoto (Tabela 6). Portanto, o Mo não limita a aplicação do lodo de esgoto na agricultura.

As principais fontes de contaminação com Ni advêm da indústria de metalização, da combustão de combustíveis fósseis e da mineração e refino do elemento (KHODADOUST; REDDY; MATURI, 2004). A concentração máxima de Ni no lodo de esgoto não deve ultrapassar 420 mg kg^{-1} (BRASIL, 2006). No entanto, a concentração de $522,7 \text{ mg kg}^{-1}$ foi encontrada na amostra SS8 (Tabela 5). Dentre todos os elementos químicos avaliados, apenas o Ni e o Zn tiveram amostras cuja concentração ultrapassou o limite máximo permitido para a aplicação agrícola.

O chumbo ocupa o 5º lugar na lista da produção industrial de metais, perdendo apenas para o Fe, Cu, Al e Zn. É usado na construção civil, munição, pigmentos, entre outros (WUANA; OKIEIMEN, 2011). Nos amostras avaliadas, os teores de Pb variaram de 15,9 a $118,8 \text{ mg kg}^{-1}$ (Tabela 5). O valor médio ($40,0 \text{ mg kg}^{-1}$) representa apenas 13,3% da concentração máxima permitida para aplicação em solos agrícolas (Tabela 6), 62% da concentração média presente em adubos fosfatados (Tabela 7) e a 125% da concentração média em solos (WUANA; OKIEIMEN, 2011). Este valor foi inferior à média observada por Nogueira et al. (2010).

Selênio é um não metal integrante de muitas enzimas antioxidantes. Este elemento tem importância na regulação do crescimento celular e manutenção da fertilidade. Sua deficiência conduz a várias consequências clínicas, incluindo câncer, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares. Por outro lado, o consumo em excesso pode causar perda de cabelo, lesão na pele, problemas no sistema nervoso e irritabilidade (KOHLMEIER, 2003; KUMARA; PRIYADARSINI, 2014). As concentrações de Se variaram de 0,0 a 11,0 mg kg⁻¹ (média = 3,1 mg kg⁻¹). Este elemento não limita a utilização agrícola do lodo, uma vez que a concentração máxima permitida no lodo de esgoto, de acordo com a Resolução Conama 375/2006, é de 100 mg kg⁻¹ (Tabela 6). Além disso, considerando a concentração média, é necessário aplicar 4.221 t ha⁻¹ do lodo para atingir a carga acumulada teórica (Tabela 6), o que levaria 715 anos de aplicações anuais sequenciais de 5,9 t ha⁻¹.

O Zn é um micronutriente presente no lodo de esgoto, que em elevadas concentrações pode ser tóxico às plantas e animais. A concentração média de zinco foi igual a 1.590 mg kg⁻¹, muito próximo àquela observada pela CETESB (1.597 mg kg⁻¹) (CETESB, 2009). Este valor é inferior à concentração máxima permitida no lodo de esgoto destinado à utilização agrícola (BRASIL, 2006). No entanto, algumas amostras (SS1, SS7 e SS9) apresentaram valores superiores à concentração máxima permitida pela Resolução Conama 375/2006 (Tabela 6). Se considerarmos a concentração média de Zn e a carga acumulada teórica permitida (445 kg ha⁻¹), a quantidade de lodo de esgoto que poderia ser aplicada ao solo seria de 280 t ha⁻¹, sendo esta a segunda substância inorgânica mais limitante à aplicação do lodo no solo. A primeira substância seria o Hg (197 t ha⁻¹). Além disso, em média, o lodo de esgoto possui concentrações de Zn superiores ao esterco suíno (614 mg kg⁻¹), esterco de aves (298 mg kg⁻¹) e esterco bovino (127 mg kg⁻¹) (Tabela 7).

Vale ressaltar que o Zn e o Ni são micronutrientes de plantas, cujo problema de deficiência tem aumentado de modo acentuado, principalmente na região do Cerrado. Os principais motivos para o aparecimento desses problemas estão relacionados ao aumento da produtividade das culturas, o que representa maior remoção de todos os nutrientes; a incorporação inadequada de calcário ou utilização de doses elevadas; e o aumento da produção e utilização de fertilizantes NPK de alta concentração (LOPES, 1999). Considerando a concentração de Zn no lodo de esgoto, o alto custo dos adubos que contém este elemento e o aumento das restrições para disposição final do lodo de esgoto, parece plausível considerar a possibilidade de agregação de valor ao lodo de esgoto por meio da estabilização por processo de compostagem ou secagem térmica, por exemplo, e complementação com micronutrientes, o que viabilizaria o uso deste resíduo como fonte de

micronutrientes e não como fonte de N. Desta forma, as doses aplicadas ao solo seriam reduzidas, reduzindo também os riscos de contaminação por outros elementos inorgânicos. Assim sendo, fecha-se o ciclo e outros elementos, como o N e o P, estariam sendo reaproveitados.

Os teores de Fe e Al foram os mais elevados e variaram de 4,4 a 86,8 (média = 27,4) e de 5,5 a 48,5 (média = 15,9) g kg⁻¹, respectivamente. Estes elementos são abundantes também no solo e em condições adequadas de cultivo agrícola, não oferecem riscos de toxidez às plantas uma vez que são precipitados em valores de pH-H₂O > 5,5.

A Instrução Normativa Nº 27 (MAPA, 2006) dispõe sobre as concentrações máximas de elementos tóxicos em fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes. As concentrações máximas de As (10,7 mg kg⁻¹, SS9), Pb (119,0 mg kg⁻¹, SS13) e Se (11,0 mg kg⁻¹, SS15) estão abaixo dos limites máximos estabelecidos por esta Instrução Normativa (Tabela 6). No entanto, os teores de Cd foram superiores à concentração máxima permitida no adubo orgânico (3 mg kg⁻¹) em 8 amostras. Para o Cr, foram encontradas concentrações 3 vezes superiores à máxima permitida (200 mg kg⁻¹). Os teores de Hg foram superiores ao teor máximo (1 mg kg⁻¹) em todas as amostras. Para o Ni, 9 amostras não atendem ao requisito de concentração máxima. Portanto, pode-se concluir que a Instrução Normativa 27/2006 é bem mais restritiva que a Resolução Conama 375/2006.

Se considerados os teores máximos permitidos nesta Instrução Normativa e os teores máximos de metais nas 19 amostras avaliadas, constata-se aptidão para a maioria dos lodos apenas como matéria prima para compor a produção de fertilizantes orgânicos, incluindo a necessidade de processos adicionais de tratamento, como, por exemplo, a compostagem, para que este possa ser transformado em fertilizante orgânico. É notório que este fato constitui um fator determinante na obtenção do produto de uso seguro na agricultura, sendo de suma importância para o aproveitamento e reciclagem deste resíduo. Apesar da Resolução Conama 375/2006 ser menos restritiva quanto à concentração máxima de elementos inorgânicos no lodo de esgoto, esta resolução apresenta uma série de restrições quanto às áreas onde será aplicado o lodo, culturas, monitoramento etc., que constituem barreiras operacionais à prática da reciclagem deste resíduo, que não são exigidas para produtos registrados pelo MAPA.

4.2 Contaminantes orgânicos no lodo de esgoto

4.2.1 Contaminantes orgânicos emergentes

Os compostos benzilparabeno, bisfenol AF (BPAF), ácido perfluorooctanoico (PFOA) e tetrabromobisfenol A (TBBPA) não foram detectados em nenhuma das amostras. Por outro lado, cimetidina, metilparabeno, bisfenol A (BPA) e triclocarban foram detectados em todas as amostras avaliadas (Tabela 8). Considerando os compostos encontrados em todas as amostras, a cimetidina foi detectada em menor concentração (de 18 a 129 $\mu\text{g kg}^{-1}$) enquanto que o triclocarban foi o composto predominante, presente em teores que variam de 1.445 a 65.556 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Entre os hormônios, a estrona apresentou a concentração mais elevada e estava presente em 16 das 19 amostras avaliadas. A androstenediona estava presente em 6 e a progesterona em 2 amostras. Houve correlação positiva entre os teores de hormônios encontrados e os valores de pH das amostras de lodo de esgoto ($r = 0,60$; $0,53$ e $0,51$ para progesterona, estrona e androstenediona, respectivamente) ($p < 0,001$).

O valor de pKa (constante de dissociação ácida) do hormônio estrona é de 10,4. Quando o $\text{pH} > \text{pKa}$, significa que mais da metade das moléculas do composto apresenta-se carregado negativamente (NGHIÊM; SCHÄFER 2002), o que desfavorece o processo de sorção, mas favorece a dessorção. Consequentemente, parte será liberada da matriz orgânica presente no lodo de esgoto. O pH das amostras de lodo de esgoto neste experimento variou 6,46 a 13,9, estando acima dos valores de pKa para algumas amostras. Ivashechkin et al. (2004) observaram que quantidade considerável de BPA foi dessorvida, aparentemente devido à desprotonação do BPA ($\text{pKa} = 10,3$) quando o valor do pH atingiu 12,4 durante o processo de condicionamento do lodo com $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Como os hormônios têm valor de pKa na mesma faixa, os autores concluíram que a estabilização alcalina pode resultar na remoção de hormônios do lodo de esgoto. Apesar da maior disponibilidade para a biodegradação em valores altos de pH, o lodo de esgoto tratado com cal apresenta menor atividade microbiana (WONG; FANG, 2000), o que poderia resultar em menor biodegradação do composto.

Tabela 8 - Concentração média dos compostos orgânicos em amostras de lodo de esgoto do estado de São Paulo - Brasil ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

Amostra	Modo positivo					Modo negativo			
	Androstenediona	Progesterona	Difenidramina	Miconazole	Cimetidina	Estrona	Triclocarban	BPA	MeP
SS1	22±14	0	0	422 ± 90	45±41	5343 ± 226	33012 ± 5508	218 ± 135	1045 ± 263
SS2	0	0	0	445 ± 53	40±14	10780 ± 839	20913 ± 753	7682 ± 1694	834 ± 91
SS3	0	0	0	0	124±18	0	3118 ± 1776	3134 ± 2535	1127 ± 215
SS4	0	0	176 ± 31	1883 ± 88	90±26	2763 ± 771	15120 ± 2805	369 ± 173	1148 ± 254
SS5	0	0	240 ± 20	545 ± 84	47±5	2555 ± 562	34651 ± 8189	454 ± 147	1209 ± 175
SS6	104±14	0	0	0	47±16	1478 ± 542	9874 ± 5334	5693 ± 229	1028 ± 97
SS7	310±135	468 ± 179	43 ± 12	1673 ± 294	18±16	7661 ± 5825	17401 ± 3032	2053 ± 302	684 ± 262
SS8	0	0	0	114 ± 101	77±12	1311 ± 466	5745 ± 2936	3341 ± 1221	865 ± 226
SS9	0	0	0	0	20±10	3209 ± 1794	10068 ± 1419	1285 ± 125	545 ± 33
SS10	0	0	236 ± 21	3308 ± 990	126±30	2335 ± 381	65556 ± 21117	626 ± 86	2362 ± 668
SS11	0	26 ± 9,2	951 ± 861	26 ± 44	99±17	501 ± 129	23452 ± 19591	446 ± 116	1677 ± 130
SS12	52±13	0	200 ± 60	518 ± 144	69±22	2000 ± 297	29740 ± 7720	859 ± 79,7	3308 ± 157
SS13	0	0	612 ± 80	513 ± 118	72±30	2130 ± 623	15857 ± 1495	12209 ± 16500	800 ± 84
SS14	26±27	0	134 ± 10	1626 ± 137	62±25	3267 ± 422	18374 ± 2814	397 ± 175	1667 ± 195
SS15	0	0	0	0	31 1± 16	0	1445 ± 962	667 ± 26	2010 ± 148
SS16	0	0	315 ± 55	1658 ± 182	129 ± 1	2695 ± 63	52437 ± 12671	889 ± 51	3013 ± 538
SS17	0	0	103 ± 87	200 ± 35	117 ± 22	924 ± 152	32382 ± 27165	2269 ± 175	1208 ± 249
SS18	0	0	0	0	83 ± 33	0	1548 ± 104	1386 ± 1724	1171 ± 214
SS19	64±37	0	0	0	79 ± 20	532 ± 65	21366 ± 16079	3164 ± 645	3619 ± 501

Entre os compostos farmacêuticos (cimetidina, miconazol e difenidramina), o antifúngico miconazol esteve presente em 13 amostras de lodo de esgoto e foi detectado em maiores concentrações (25,7 a 3.308,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Para Huang et al. (2010), a concentração máxima de miconazol em amostras de lodo de esgoto foi de 1.405 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Devido à lipofilicidade do miconazol, este apresenta forte tendência de ficar retido na fase sólida do lodo. Portanto, o lodo de esgoto tende a funcionar como via importante de remoção deste composto quando presente nas águas residuais (HUANG et al., 2010). Além disso, o miconazol mostrou-se persistente em solo adubado com biossólido (CHEN et al., 2013). No entanto, apesar de presente no lodo de esgoto, a sua absorção pelas plantas não foi detectada em condições de campo (SABOURIN et al., 2012).

O triclocarban é um agente antimicrobiano frequentemente detectado em amostras de lodo de esgoto. As concentrações média e máxima encontradas foram de 21.687 e 65.556 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente, as quais foram compatíveis às de outros países. Nos Estados Unidos, em pesquisa realizada com amostras de 110 biossólidos coletados em 94 estações de tratamento de águas residuais, a concentração média detectada foi $36.060 \pm 8.049 \mu\text{g kg}^{-1}$ (MCCLELLAN; HALDEN, 2010). No entanto, concentrações mais elevadas (187 - 441.000 $\mu\text{g kg}^{-1}$) foram relatadas em pesquisa desenvolvida pela EPA (*Targeted National Sewage Sludge Survey*), em 84 amostras de lodo de esgoto provenientes de 74 estações públicas de tratamento (USEPA, 2009). As concentrações médias relativamente elevadas de triclocarban em lodo de esgoto estão de acordo com o uso intenso e o seu alto coeficiente de partição octanol/água ($\text{Log Kow} = 4,9$), o que ratifica seu alto potencial de sorção ao lodo de esgoto (HALDEN; PAULL, 2005; MCCLELLAN; HALDEN, 2010).

A concentração de BPA nas amostras de lodo de esgoto variou de 212 a 12.209 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (média = $2.481 \pm 3.078 \mu\text{g kg}^{-1}$). A concentração máxima detectada foi superior à constatada em 76 amostras de lodo de esgoto dos Estados Unidos (4.700 $\mu\text{g kg}^{-1}$) (YU et al., 2015). BPA é um composto orgânico usado predominantemente na produção de plástico policarbonato e resinas epoxi que revestem latas de alimentos e bebidas (GOODMAN; PETERSON, 2014). Desta forma, a ingestão é a principal fonte de exposição ao BPA em seres humanos, sendo que o consumo humano diário estimado, extrapolado a partir da análise de amostra de urina, varia de 0 a 2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ por dia (ALLARD, 2014). Como BPA está presente em nosso cotidiano, supõe-se que estará presente também no lodo de esgoto e a utilização agrícola do resíduo pode resultar em acumulação do composto no solo. De fato, múltiplas aplicações de lodo de esgoto, em longo prazo, resultaram na elevação da concentração de BPA no solo, mas o resultado foi diferente em estudo de curta duração (ZHANG et al., 2015). Estes resultados apoiam a teoria

de que existe uma fração de BPA recalcitrante, resistente ou não disponível à degradação, e que esta fração recalcitrante poderia permanecer em solos por longo prazo. Por outro lado, verificou-se que as plantas apresentam baixo risco de absorção de BPA, pois a fração biodisponível é rapidamente biodegradada e a fração recalcitrante é fortemente ligada, ficando efetivamente imobilizada no solo. É importante ressaltar que as concentrações de BPA (614-651 $\mu\text{g kg}^{-1}$) nas amostras de lodo de esgoto do trabalho citado foram menores que as detectadas nas amostras de São Paulo (212 - 12.209 $\mu\text{g kg}^{-1}$).

Parabenos pertencem a um grupo de substâncias comumente utilizadas como conservantes, principalmente em produtos de cuidados pessoais, farmacêuticos e alimentos. Dois parabenos foram analisados nas amostras: o benzilparabeno, que não foi detectado em nenhuma amostra, e o metilparabeno, conservante mais usado nos produtos de cuidados com a saúde e a beleza (BŁĘDZKA; GROMADZIŃSKA; WAŚOWICZ, 2014), que foi detectado em todas as amostras, em concentrações que variaram de 545 a 3.619 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (média = 1.543 \pm 911 $\mu\text{g kg}^{-1}$). As concentrações de metilparabeno detectadas neste estudo foram superiores às detectadas no lodo de esgoto da China (350-508 $\mu\text{g kg}^{-1}$) e Espanha (5,1 e 26,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$) (ALBERO et al., 2012, LI et al., 2015). Embora presente no lodo de esgoto, o metilparabeno não foi absorvido pelas culturas de tomate, batata, cenoura e milho doce (SABOURIN et al., 2012). Neste trabalho, além das concentrações de metilparabeno terem sido inferiores aos teores detectados no lodo de esgoto de São Paulo, a forma de manejo das culturas diferencia daquela geralmente adotada no Brasil. Por exemplo, as práticas agrícolas da província de Ontário, Canadá, requerem o intervalo de 1 ano entre a aplicação do biossólido ao solo e a colheita de culturas para o consumo humano.

Os resultados do presente estudo indicam que a concentração de alguns compostos no lodo de esgoto de São Paulo é superior àquelas encontradas em outros países. No entanto, é importante ressaltar que o lodo de esgoto utilizado neste estudo foi analisado in natura, ou seja, sem passar por processos de estabilização da matéria orgânica, como a compostagem, por exemplo, que poderia resultar em redução dos teores de compostos orgânicos contaminantes. A correlação positiva entre valores de pH e os teores de hormônios sugerem que a estabilização química pode resultar em elevação da biodisponibilidade de alguns compostos e estudos para avaliar a possível absorção pelas plantas e o efeito sobre a biota do solo são necessários nesta circunstância.

4.2.2 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

As concentrações de HPAs no lodo de esgoto proveniente das ETEs estudadas foram baixas (Tabela 9). Considerando a soma dos 16 HPAs, a concentração máxima foi de 2,24 mg kg⁻¹, na segunda época de coleta (maio/2014), em SS9. Na primeira coleta (outubro/2013) e terceira coleta (dezembro/2014), a concentração máxima observada foi de 1,59 e 0,80 mg kg⁻¹, respectivamente, também em SS9. O valor máximo observado (2,24 mg kg⁻¹) representa pouco mais de 1/3 do máximo permitido pela legislação Europeia para lodo de esgoto e produtos derivados de lodo de esgoto (6,0 mg kg⁻¹) destinados à utilização agrícola.

Considerando as 3 épocas de coletas, 8 compostos foram identificados: fenantreno (3 ETEs em outubro/2013, 5 ETEs em maio/2014 e 1 ETE em dezembro/14), com concentração máxima de 1,28 mg kg⁻¹ em SS9, pireno (6 ETEs em outubro/2013, 2 ETEs em maio/2014 e 2 ETEs em dezembro/14), com concentração máxima de 0,96 mg kg⁻¹, na ETE SS9. Nas amostras da ETE SS9 também foi detectado o fluoranteno na primeira e terceira coleta em concentração máxima 0,66 mg kg⁻¹. O composto benzo(b)fluoranteno foi detectado em 1 ETE em outubro/2013 e 1 ETE em dezembro/14 com concentração máxima de 0,66 mg kg⁻¹ na primeira coleta. Na 3ª coleta, também foram detectados os compostos acenafteno, antraceno, criseno e naftleno.

A Resolução n.º 375 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 2006), apresenta 6 HPAs a serem determinados em lodo de esgoto e produtos derivados, dos quais apenas o fenantreno e o naftaleno foram identificados, sendo observados em 7 ETEs durante as três épocas de coleta.

Tabela 9 - Teores de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em lodo de esgoto do estado de São Paulo (mg kg⁻¹)

(Continua)

	SS1			SS2			SS3			SS4			SS5		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Naftaleno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	<0,01
Acenaftileno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	<0,01
Acenafteno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	0,01
Fluoreno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	<0,01
Fenantreno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	0,59	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	<0,01
Antraceno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	0,01
Fluoranteno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	<0,01
Pireno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	0,33	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	<0,01
Benzo(a)antraceno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	<0,01
Criseno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	0,02
Benzo(b)fluoranteno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	0,01
Benzo(k)fluoranteno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	<0,01
Benzo(a)Pireno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	<0,01
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	<0,01
Dibenzo(a,h)antraceno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	<0,01
Benzo(g,h,i)perileno	<0,1	<0,01	<0,01	<0,08	<0,07	<0,01	<0,90	<0,07	<0,01	<0,04	<0,01	<0,01	<0,13	<0,02	<0,01
∑ (HPAs)	0	0	0	0	0	0	0	0,59	0	0,33	0	0	0	0	0,05

Tabela 9 - Teores de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em lodo de esgoto do estado de São Paulo (mg kg⁻¹)

HPA	(continuação)														
	SS6			SS7			SS8			SS9			SS10		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Naftaleno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	0,41	<0,81	<0,13	<0,01
Acenaftileno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	<0,01	<0,81	<0,13	<0,01
Acenafteno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	<0,01	<0,81	<0,13	<0,01
Fluoreno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	<0,01	<0,81	<0,13	<0,01
Fenantreno	0,15	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	1,28	0,16	<0,81	<0,13	<0,01
Antraceno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	<0,01	<0,81	<0,13	<0,01
Fluoranteno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	0,66	<0,54	0,10	<0,81	<0,13	<0,01
Pireno	<0,09	<0,08	<0,01	0,12	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	0,93	0,96	0,13	<0,81	<0,13	<0,01
Benzo(a)antraceno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	<0,01	<0,81	<0,13	<0,01
Criseno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	<0,01	<0,81	<0,13	<0,01
Benzo(b)fluoranteno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	<0,01	<0,81	<0,13	<0,01
Benzo(k)fluoranteno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	<0,01	<0,81	<0,13	<0,01
Benzo(a)Pireno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	<0,01	<0,81	<0,13	<0,01
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	<0,01	<0,81	<0,13	<0,01
Dibenzo(a,h)antraceno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	<0,01	<0,81	<0,13	<0,01
Benzo(g,h,i)perileno	<0,09	<0,08	<0,01	<0,08	<0,06	<0,01	<0,73	<0,08	<0,01	<0,62	<0,54	<0,01	<0,81	<0,13	<0,01
∑ (HPAs)	0,15	0	0	0,12	0	0	0	0	0	1,59	2,24	0,80	0	0	0

Tabela 9 - Teores de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em lodo de esgoto do estado de São Paulo (mg kg⁻¹)

HPA	(Continuação)														
	SS11			SS12			SS13			SS14			SS15		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Naftaleno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Acenaftileno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Acenafteno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Fluoreno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Fenantreno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	0,60	<0,01
Antraceno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Fluoranteno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Pireno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	0,21	0,76	0,11	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Benzo(a)antraceno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Criseno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Benzo(b)fluoranteno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Benzo(k)fluoranteno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Benzo(a)Pireno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Dibenzo(a,h)antraceno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
Benzo(g,h,i)perileno	<0,08	<0,08	<0,02	<0,97	<0,10	<0,02	<0,03	<0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,77	<0,07	<0,01
∑ (HPAs)	0	0	0	0	0	0	0,21	0,76	0,11	0	0	0	0	0,60	0

Tabela 9 - Teores de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em lodo de esgoto do estado de São Paulo (mg kg⁻¹)

HPA	(conclusão)											
	SS16			SS17			SS18			SS19		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Naftaleno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
Acenaftileno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
Acenafteno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
Fluoreno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
Fenantreno	<0,96	<0,12	<0,01	0,12	<0,01	<0,01	<1,02	0,90	<0,01	0,21	0,39	<0,01
Antraceno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
Fluoranteno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
Pireno	<0,96	<0,12	<0,01	0,14	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	0,20	<0,09	<0,01
Benzo(a)antraceno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
Criseno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
Benzo(b)fluoranteno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	0,10	<0,09	<0,01
Benzo(k)fluoranteno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
Benzo(a)Pireno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
Dibenzo(a,h)antraceno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
Benzo(g,h,i)perileno	<0,96	<0,12	<0,01	<0,11	<0,01	<0,01	<1,02	<0,10	<0,01	<0,09	<0,09	<0,01
∑ (HPAs)	0	0	0	0,26	0	0	0	0,90	0	0,51	0,39	0

A - Coleta em outubro de 2013/ B – Coleta em maio de 2014 / C – coleta em dezembro de 2014.

4.2.3 Estrutura da comunidade bacteriana

Por meio da plataforma de sequenciamento em larga escala *Illumina* obteve-se as sequências do gene 16S rRNA de bactérias das amostras de lodo de esgoto provenientes das 19 ETEs. Considerando as 57 amostras (19 lodos de esgoto x 3 repetições), obteve-se o total de 7.219.247 sequências alvo, divididas em 2.857.617 OTUs. Analisando as amostras individualmente, observou-se variação de 23.950 a 233.133 sequências por amostra. Para processamento dos dados, as amostras foram normalizadas visando obter 23.950 sequências alvo por amostra, sendo esta a quantidade presente na amostra com o menor número de sequências identificadas. Este processo faz-se necessário para eliminar interferências do tamanho da amostra na comparação entre elas.

O *RDP Classifier* foi utilizado para nomear as sequências alvos nos diferentes níveis taxonômicos (como exemplificado na Figura 6 para a classificação em filos). Ao todo, foram identificados 68 filos, sendo que 29 eram comuns a todas as estações de tratamento de esgoto e 5, incluindo *Euryarchaeota* e *Caldithrix*, encontravam-se presentes em apenas uma estação. Das sequências obtidas, 10,06% não foram classificadas em nível de filo.

Como pode ser observado na Figura 6, letra A, as distintas estações de tratamento de esgoto apresentam diferenças na estrutura da comunidade bacteriana, entretanto, 2 filos foram dominantes em todas as amostras: *Proteobacteria* e o *Bacteroidetes*, que juntos foram representados por 62,2% das sequências identificadas.

Considerando a média das 19 estações de tratamento esgoto, *Proteobacteria* foi o filo dominante, sendo observados entre 17,3% (SS2) e 57,9% (SS9), com média de 32,8% das sequências pertencentes a este filo. O filo *Bacteroidetes* apresentou valores médios de 29,4%. O lodo de esgoto com a maior e menor quantidade de sequências pertencentes ao filo *Bacteroidetes* foram, respectivamente, SS1 (52,42%) e SS3 (8,68%). Avaliando a composição da comunidade bacteriana em esgoto de estações com diferentes processos de tratamento, Hu et al. (2012) constataram que os filos *Proteobacteria* e *Bacteroidetes* foram dominantes em todas as amostras.

Os filos *Firmicutes*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria* e *Spirochaetes* ocorreram em menores frequências, com valores médios de 10,9, 2,3, 2,1 e 2,0%, respectivamente. Vale ressaltar que estes filos foram identificados em todas as amostras, assim como os filos *Planctomycetes*, *Synergistetes*, *Nitrospirae*, entre outros. Estes resultados corroboram os de Bibby; Viau e Peccia (2010), os quais constataram que os filos dominantes em lodo de esgoto

de 3 estações de tratamento de esgoto dos Estados Unidos são *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* e *Actinobacteria*.

Dentro do filo *Proteobacteria*, a classe *Betaproteobacteria* foi a dominante, correspondendo a 37% das sequências de proteobactérias identificadas (Figura 6, letra B). As classes *Deltaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* e *Epsilonproteobacteria* apresentaram valores médios de 26, 16, 11 e 1%, respectivamente. A ordem *Burkholderiales* representou a maior parte das sequências identificadas das *Betaproteobacteria* (49%), observou-se também correlação positiva entre esta ordem e os teores de Ca e pH do lodo (coeficiente de correlação de Pearson de 0,66 e 0,64, respectivamente). As ordens *Rhodocyclales* (29%), *Nitrosomonadales* (3%), *Hydrogenophilales* (1%), *ASSO-13* (1%) e *Neisseriales* (1%) também foram representadas (Figura 6, letra C).

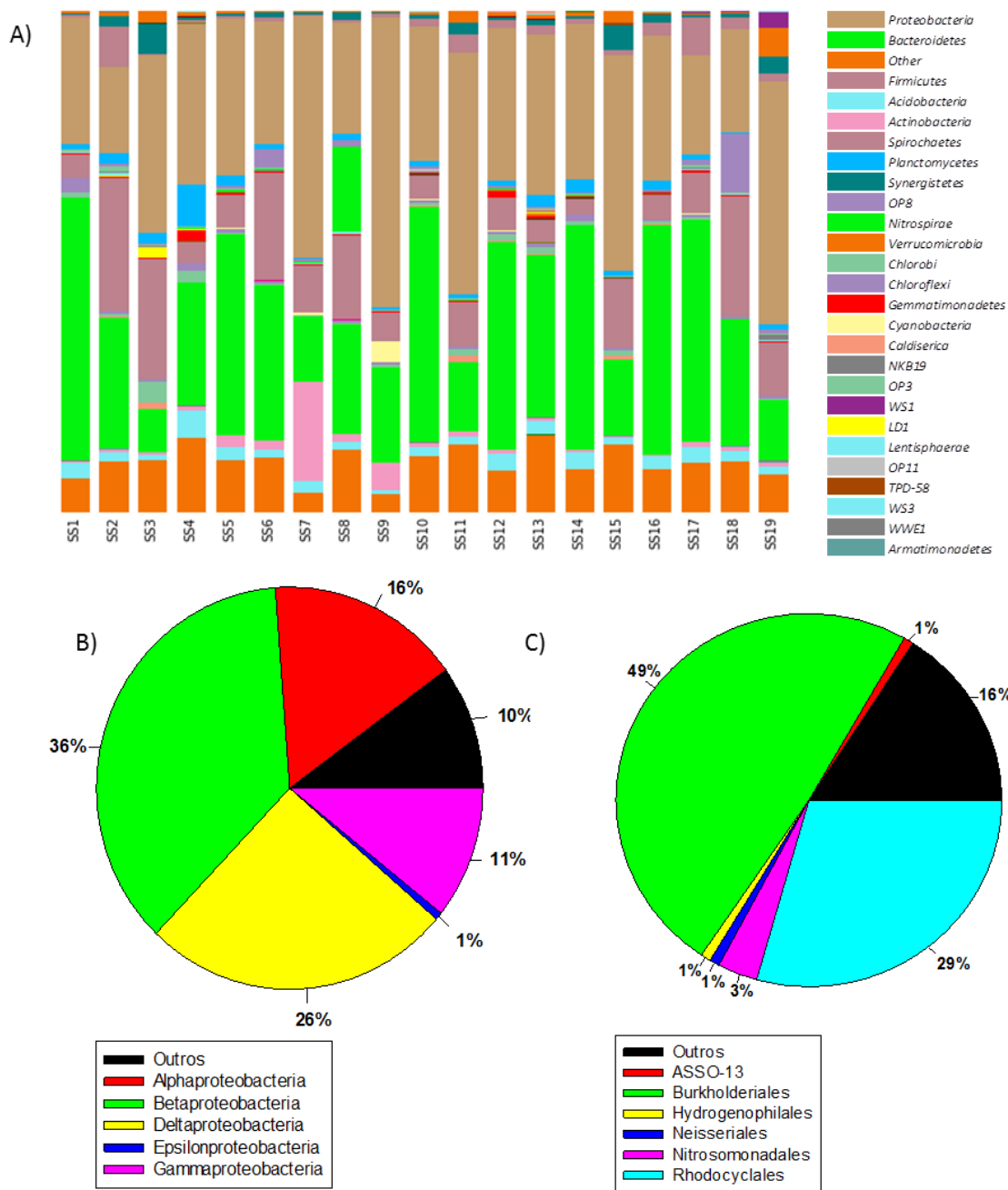


Figura 6 - Abundância relativa da comunidade bacteriana (média de 3 amostras) nas 19 amostras de lodo de esgoto

A) Abundância relativa do total de bactérias agrupadas por filo. B) Abundância relativa do filo *Proteobactéria*. C) Abundância relativa da classe *Betaproteobactéria*.

Foi identificado o total de 164 classes bacterianas, das quais 54 são comuns a todas as amostras, dentre elas destacam-se as classes *Saprospirae*, *Betaproteobacteria*, *Bacteroidia*, *Clostridia*, *Deltaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes*, *Synergistia*, *Nitrospira*, *Flavobacteriia* etc. Por outro lado, 18 classes, incluindo *Rhodothermi* (SS16) e *Caldithrixae* (SS13), são raras, aparecendo somente em 1 amostra de lodo de esgoto.

Ao nível de ordem, 275 foram identificadas, das quais 80 são comuns à todas as amostras. *Saprospirales*, *Bacteroidales*, *Clostridiales*, *Burkholderiales*, *Syntrophobacterales*, *Rhodocyclales*, *Desulfobacterales*, *Actinomycetales* e *Spirochaetales* são alguns exemplos. 37 ordens apareceram em somente 1 amostra de lodo de esgoto, sendo que 15 delas foram identificadas no lodo de esgoto SS13. Dentre as ordens presentes em apenas 1 amostras encontram-se *Methanomicrobiales* (SS15), *Chloracidobacterales* (SS14), *Rhodothermales* (SS16), *Halanaerobiales* (SS13), *Methylomirabiliales* (SS13), *Natranaerobiales* (SS8), *Desulfurellales* (SS15) e *Thermodesulfobacteriale* (SS13).

Ao todo 315 famílias foram identificadas, sendo que as famílias em maior abundância relativa foram *Chitinophagaceae* e *Comamonadaceae*. Além destas, as famílias *Saprospiraceae*, *Rhodocyclaceae*, *Peptostreptococcaceae*, *Syntrophaceae*, *Porphyromonadaceae*, *Spirochaetaceae*, *Clostridiaceae*, *Caulobacteraceae*, entre outras, apareceram em todas as amostras. Como observado para ordem, a estação SS13 apresentou o maior número de famílias raras, sendo 7 das 36 identificadas. Dentre as famílias raras identificadas encontram-se *Chloracidobacteraceae* (SS14), *Cellulomonadaceae* (SS8), *Cryptosporangiaceae* (SS9), *Caldithrixaceae* (SS13), *Oscillochloridaceae* (SS5), *Symbiobacteriaceae* (SS4), *Anaerobrancaceae* (SS8), *Anaplasmataceae* (SS8), *Methylomirabiliaceae* (SS13). As amostras SS3, SS7, SS15 e SS17 não continham famílias não observadas em outras amostras.

Dos 665 gêneros de bactérias identificados 81 são comuns a todas as amostras. Considerando a média das 19 estações de tratamento de esgoto, o que está em maior abundância é o *Treponema*, seguido de *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Syntrophus*, *Desulfobulbus*. Treponemas são micro-organismos fortemente espiralados com 3 flagelos inseridos na extremidade da célula, o que confere mobilidade. Algumas espécies do gênero estão associadas com doenças em humanos como, por exemplo, a espécie *T. Pallidum* (sífilis e boubá), *T. vincentii* (gengivite necrosante aguda), *T. denticula*, *T. pectinovorum* e *T. macrodentium*, que habitam a cavidade bucal humana e estão relacionadas com doenças

periodontal (JORGE, 2010). Vale ressaltar que o gênero *Treponema* apresentou correlação positiva com os teores de K (0,61) e B (0,53). Não foram constatadas correlações entre os demais gêneros em maior abundância relativa (*Clostridium*, *Propionibacterium*, *Syntrophus*, *Desulfobulbus*) e os dados da composição química do lodo de esgoto.

Identificou-se 121 gêneros raros, dos quais *Escherichia* (SS9), *Ferrimicrobium* (SS2) *Arsenicococcus* (SS1), *Chlorobaculum* (SS9), *Desulfotomaculum* (SS4) são alguns exemplos. O lodo de esgoto SS2 possui elevadas quantidades de ferro (Tabela 5), devido à adição de cloreto férrico no processo de tratamento do esgoto, o que pode justificar a presença de *Ferrimicrobium* neste lodo (JOHNSON et al., 2009).

Levando-se em consideração apenas os 10 gêneros em maior abundância relativa em cada uma das 19 estações de tratamento de esgoto, 51 diferentes gêneros foram identificados. O gênero *Peptostreptococcaceae Clostridium* foi o que apareceu em maior quantidade de amostras (16 amostras no total), o *Clostridiaceae Clostridium* em 15 amostras, o *Treponema* em 14, o *Desulfobulbus* em 13, o *Syntrophus* em 13 e o *Paludibacter* em 10 amostras. Possivelmente estes gêneros executam papel importante na mineralização da matéria orgânica presente no lodo de esgoto, independentemente da composição química do lodo, das condições climáticas do local onde está localizada a estação e dos processos de tratamento do lodo de esgoto, uma vez que as amostras possuem origem, tratamento e composição química variada.

Diversidade bacteriana nas amostras

Além da análise baseada na classificação taxonômica das sequências, estes dados permitem a inferência ecológica, onde a tabela de OTUs é usada como entrada para a estimativa de diversos parâmetros ecológicos, com destaque para medidas de diversidade e riqueza. Considerando que espécies abundantes, facilmente detectadas, contém pouca informação sobre as espécies não detectadas em uma amostra e que as espécies raras, dificilmente detectadas, podem oferecer boa relação com as espécies não detectadas, o estimador Chao 1 utiliza informações de frequências de espécies raras na amostra para estimar o número de espécies não detectadas. Este índice leva em consideração o número de *singletons* e *doubletons*, ou seja, o número de espécies representadas por um espécime e o número de espécies representadas por dois espécimes (GOTELLI; CHAO, 2013). Como pode ser observado na Tabela 10, de acordo com o índice Chao1, número estimado de espécies no lodo de esgoto variou de 288.738 na amostra SS7 a 816.203 na amostra SS4.

Tabela 10 - Diversidade bacteriana nas amostras de lodo de esgoto de São Paulo-BR

Lodo de esgoto	Chao1	Simpson	Shannon
SS1	635.356	0,9984	15,10
SS2	573.445	0,9995	15,22
SS3	442.668	0,9993	14,83
SS4	816.203	0,9998	15,85
SS5	710.791	0,9999	15,83
SS6	576.737	0,9999	15,65
SS7	288.738	0,9953	12,59
SS8	371.395	0,9975	14,37
SS9	401.678	0,9952	12,83
SS10	341.665	0,9928	13,58
SS11	359.776	0,9990	14,46
SS12	632.437	0,9998	15,55
SS13	725.021	0,9999	15,25
SS14	430.456	0,9985	14,62
SS15	346.288	0,9992	14,44
SS16	537.494	0,9996	15,16
SS17	694.013	0,9992	15,41
SS18	440.478	0,9975	14,31
SS19	381.490	0,9985	14,04

O índice de Simpson baseia-se na proporção entre os indivíduos, atendo-se à probabilidade de que dois indivíduos tomados aleatoriamente da comunidade pertençam à mesma espécie. Os resultados variam de 0 a 1 e quanto maior for o valor maior será a dominância. Ou seja, os maiores valores correspondem a amostras cuja abundância total é dominada por um ou um número reduzido de espécies (SOMERFIELD; CLARKE; WARWICK, 2008; CATANOZI, 2011). Como pode ser observado na Tabela 10, os valores de Simpson variaram entre 0,9928 (SS10) e 0,9999 (SS5, SS6 e SS13), correspondendo às amostras com menor e maior dominância, respectivamente. Estes valores são comparáveis aos obtidos por Hu et al. (2012) para amostras de esgoto.

O índice de Shannon-Wiener (H) é um dos mais amplamente utilizados nos estudos ecológicos de comunidades. É uma medida logarítmica da diversidade que atribui peso maior às espécies raras em relação ao índice Simpson. Numericamente, ele varia entre 0 e valor

máximo qualquer e quanto maior for o valor de H maior a diversidade, conseqüentemente, menor dominância. Uma das vantagens deste índice é não ser consideravelmente afetado pelo tamanho da amostra (SPELLERBERG, 2008; CATANOZI, 2011). Nas amostras de lodo de esgoto o índice de Shannon-Wiener variou de 12,59 (SS7) a 15,85 (SS4). A análise de correlação de Pearson entre este índice e as características químicas do lodo de esgoto mostrou correlação negativa moderada ($p < 0,001$) com o pH e os teores de Ca (coeficientes de -0,50 e -0,54, respectivamente). Desta forma, conclui-se que quanto maior o pH do lodo, menor a diversidade da amostra.

O pH das amostras de lodo de esgoto variou de 6,46 (SS13) a 13,09 (SS7) (Figura 2). Sabe-se que a maioria das bactérias desenvolvem-se melhor em pH próximo da neutralidade. Entretanto, existe o grupo alcalino-tolerantes de bactérias capazes de crescer em valores de pH próximo de 9, e o grupo de bactérias alcalófilas, que crescem melhor em pH superior a 9 (BERLEMONT; GERDAY, 2011). A condição extrema de pH observada em algumas amostras reduz a diversidade mas não exclui o desenvolvimento de bactérias neutrófilas ou acidófilas, uma vez que mecanismos como o desenvolvimento em colônia e/ou presença de biofilmes podem possibilitar a sobrevivência destes grupos (STANDING; KILLHAM, 2006), justificando, por exemplo, a presença de bactérias reconhecidamente acidófilas como as do gênero *Thiobacillus* (RAWLINGS, 2001) no SS2, SS7 e SS9, que possuem pH acima de 11.

Correlação entre os dados microbiológicos e a composição química do lodo

Os coeficientes de correlação de Pearson entre a composição química do lodo de esgoto (pH, $N-NH_4^+$, $N-NO_3^-$, N-Inorgânico total, CO, N-Kjeldahl, K, Ca, Fe, P, S, Mg, Na, B, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Zn, Al, As e Ba) e filos de bactérias são apresentados na Tabela 11.

Aumentos dos teores de Ca e do pH do lodo favoreceram o desenvolvimento de *Actinobacteria*. De acordo com Shviltala e Satyanarayana (2015), a fisiologia diversa e flexibilidade metabólica das extremofílicas/extremotolerantes actinobactérias, capacitam-nas a sobreviver em condições hostis e desfavoráveis como as condições de pH acima de 11 encontrada em algumas amostras. Membros deste filo desempenham papel importante na degradação de compostos e supressão de organismos patogênicos pela secreção de vários antibióticos (FRANKE-WHITTLE et al., 2009).

Os teores de K e B correlacionaram positivamente com o filo *Fibrobacter*. Assim como, os teores de Fe e a abundância relativa do filo Firmicutes. Whittleston et al. (2013)

constataram que a redução do Fe(III) foi associada ao aumento da biblioteca de clones genéticos pertencentes ao filo Firmicutes, sugerindo que estas espécies foram responsáveis pela redução do Fe(III) observada.

Tabela 11 – Coeficientes de correlação de Pearson entre a composição química do lodo de esgoto e filios de bactérias

	pH	N -Kjeld	K	Ca	Fe	P	Mg	Na	B	Mn	Mo	Ni	Pb
<i>AC1</i>	-0,10	-0,22	-0,09	-0,10	-0,08	-0,12	-0,08	0,39	0,09	0,12	0,61	-0,05	0,67
<i>AD3</i>	-0,15	0,05	0,05	-0,12	-0,13	-0,15	-0,11	0,31	0,25	0,58	-0,15	-0,09	-0,15
<i>Actinobacteria</i>	0,70	-0,05	-0,13	0,62	0,03	-0,17	0,01	-0,19	-0,23	0,00	-0,06	-0,02	-0,18
<i>Bacteroidetes</i>	-0,41	0,54	0,50	-0,33	-0,48	0,38	0,27	0,09	0,41	-0,12	-0,09	-0,32	0,12
<i>Caldiserica</i>	-0,01	-0,41	-0,21	-0,15	0,34	-0,28	-0,32	-0,20	-0,35	-0,05	-0,15	0,00	-0,08
<i>Elusimicrobia</i>	-0,23	0,39	0,47	-0,12	-0,17	0,21	-0,01	0,28	0,61	0,21	-0,08	-0,24	0,28
<i>Fibrobacteres</i>	-0,34	0,37	0,67	-0,23	-0,30	0,13	0,20	0,37	0,71	0,03	-0,04	-0,22	0,17
<i>Firmicutes</i>	0,18	-0,36	-0,40	0,13	0,71	-0,02	-0,27	-0,21	-0,16	-0,31	-0,14	0,24	0,01
<i>Hyd24-12</i>	-0,10	-0,26	-0,13	-0,10	-0,05	-0,07	-0,11	0,30	0,02	0,08	0,54	-0,09	0,61
<i>KSB3</i>	-0,30	0,39	0,64	-0,21	-0,32	0,25	0,46	0,37	0,48	-0,22	0,06	-0,12	-0,03
<i>LD1</i>	0,05	-0,16	-0,12	-0,10	0,65	0,08	-0,44	-0,05	-0,16	-0,04	-0,18	-0,17	-0,11
<i>Nitrospirae</i>	-0,07	-0,02	-0,15	-0,09	0,16	-0,11	-0,28	0,57	0,21	-0,05	0,06	0,73	-0,07
<i>OP11</i>	-0,28	0,43	0,47	-0,14	-0,26	0,53	0,62	0,07	0,18	-0,19	-0,14	-0,22	-0,13
<i>SBR1093</i>	-0,14	0,02	0,05	-0,09	-0,12	-0,12	-0,11	0,28	0,26	0,58	-0,10	-0,13	-0,07
<i>Synergistetes</i>	-0,02	-0,29	-0,33	-0,18	0,53	-0,06	-0,27	-0,19	-0,40	-0,23	-0,13	0,25	0,00
<i>WS2</i>	-0,09	-0,28	-0,12	-0,08	-0,01	-0,10	-0,11	0,24	-0,03	0,19	0,55	0,11	0,46
<i>Caldithrix</i>	-0,10	-0,21	-0,10	-0,09	-0,08	-0,11	-0,07	0,35	0,07	0,09	0,57	-0,05	0,62
<i>Chlorobi</i>	-0,13	-0,13	-0,04	-0,26	0,38	-0,09	-0,45	0,07	-0,07	0,24	-0,15	-0,22	-0,01
<i>Thermi</i>	0,36	0,04	-0,08	0,27	0,00	-0,12	0,02	-0,13	-0,10	-0,09	-0,08	-0,04	-0,06

* São apresentados somente os filios que obtiveram coeficiente de correlação acima de 0,50 ou abaixo de -0,50 como pelo menos 1 elemento.

De acordo com os dados apresentados na análise de coordenadas principais (Figura 7), percebe-se que a comunidade bacteriana nas estações de tratamento de esgoto não é homogênea, sendo que, as amostras podem ser separadas em 3 grupos distintos. O primeiro é composto pelas amostras SS7 e SS9, o segundo grupo é composto pelas amostras SS3, SS11 e SS15 e o terceiro grupo é composto pelas amostras SS1, SS2, SS4, SS5, SS6, SS8, SS10, SS12, SS13, SS14, SS16, SS17, SS18 e SS19.

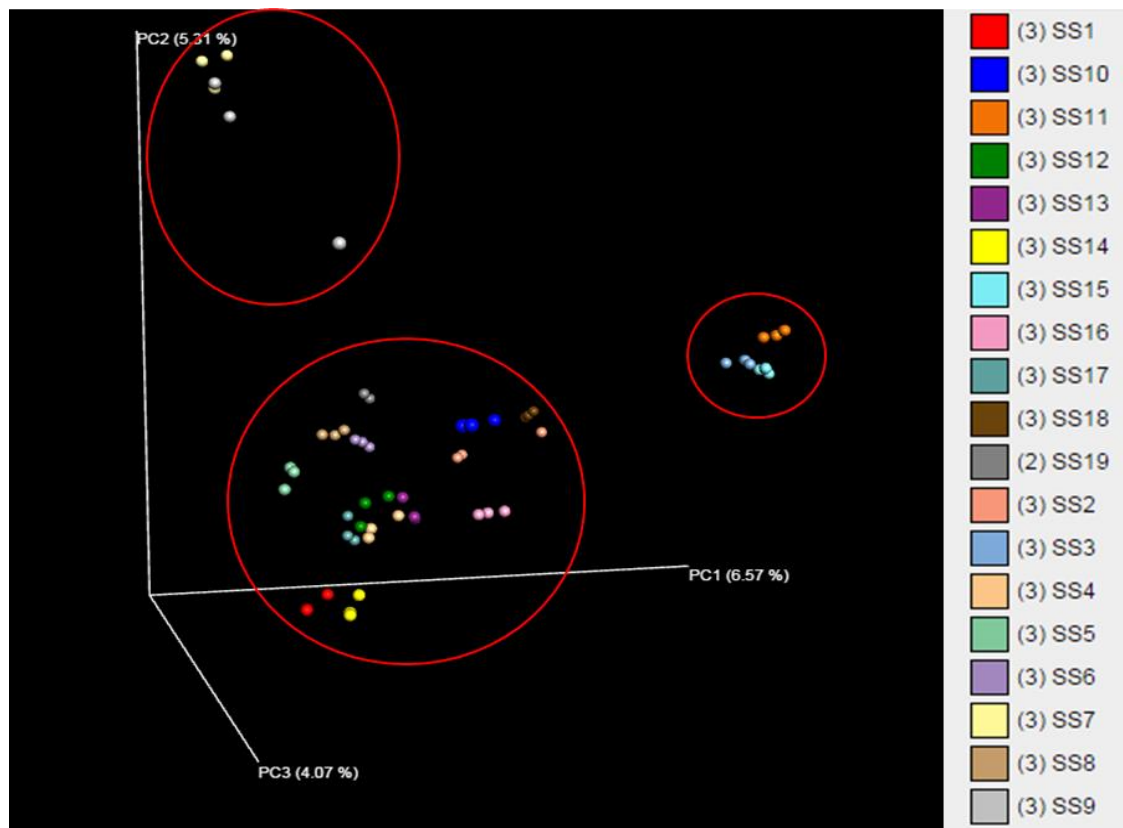


Figura 7 - Análise de coordenadas principais (PCoA) da abundância relativa da comunidade bacteriana de 19 estações de tratamento de esgoto do estado de São Paulo - Brasil

Um passo seguinte é o ranqueamento das variáveis ambientais que explicam esta separação. Para tanto, a abundância relativa dos grupos componentes das comunidades bacterianas foi correlacionada com os dados da composição química dos lodos de esgoto em uma análise de redundância (RDA), onde os fatores que atuam de forma significativa para esta separação foram nomeados ($P < 0,05$) (Figura 8). Observa-se separação semelhante à que ocorreu na análise de coordenadas principais, com dois grupos de amostras apresentando separação nítida das demais. O primeiro, composto pelas amostras SS7 e SS9, fortemente

influenciado pelos teores de Ca, Cu e Zn das amostras. Este grupo é composto por lodos dominados pelas bactérias do gênero *Propionibacterium*, *Comamonas*, *Brevundimonas*, *Cloacibacterium* e *Methylobacterium*. Estas estações de tratamento de esgoto têm produção média de lodo de esgoto de 123 e 140 t dia⁻¹, respectivamente. Ambas aplicam hidróxido de cálcio para estabilização química do lodo, o que justifica os teores de cálcio de 118 e 142 g kg⁻¹, enquanto a média observada nas 19 estações foi de 30,48 g kg⁻¹, e os maiores valores de pH (13,07 em SS7 e 11,88 em SS9).

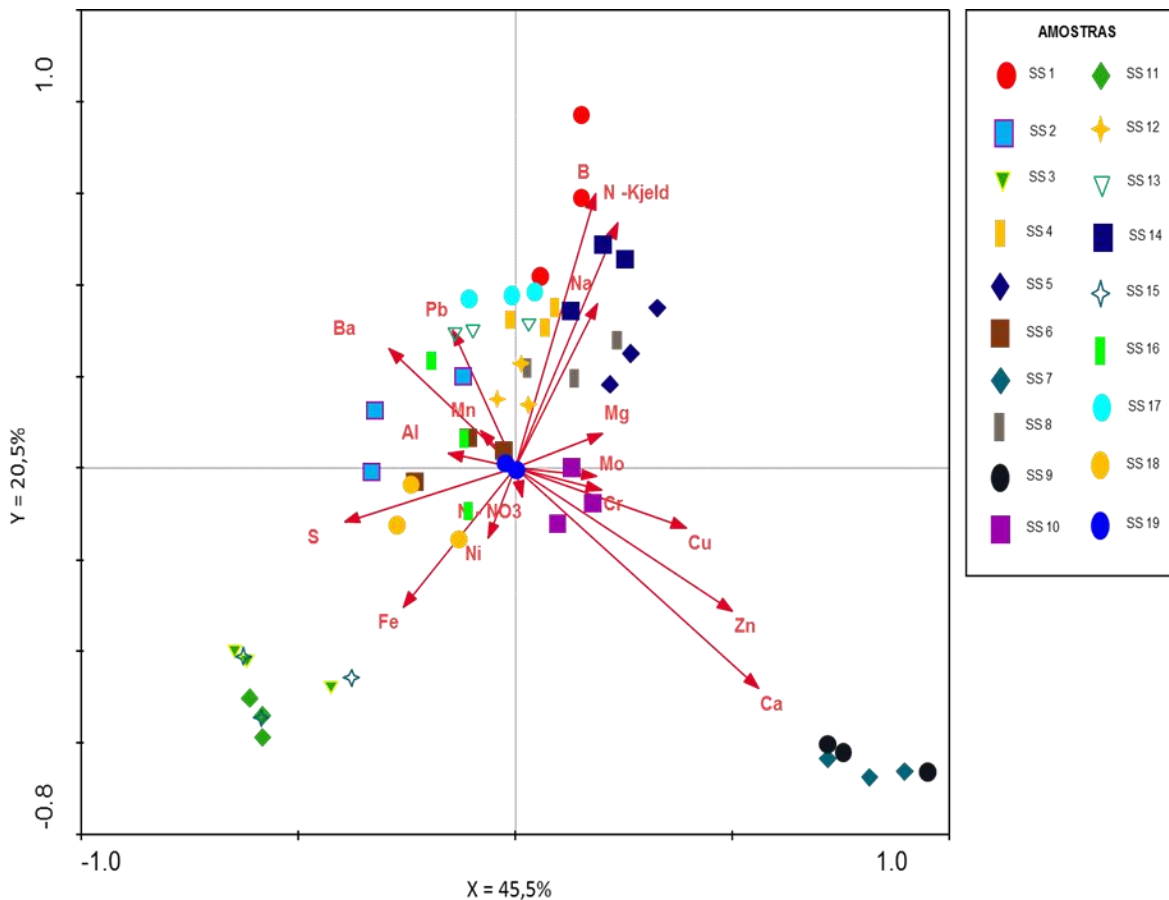


Figura 8 - Análise de Redundância (RDA) correlacionando a abundância relativa da comunidade bacteriana com os dados da composição química dos lodos

O segundo grupo formado inclui as amostras SS3, SS11 e SS15 que foram influenciadas pelos teores de Fe e S. Os gêneros de bactérias em maior abundância relativa nestas amostras foram *Clostridium*, *Syntrophus*, *Desulfovibrio*, *Desulfobulbus*, *Paludibacter*, *Desulfococcus* e *Treponema*. O tratamento do esgoto nestas 3 estações envolvem processos aeróbio e anaeróbio e a quantidade gerada em ambas é inferior à 50 t dia⁻¹ (25, 1 e 40 t dia⁻¹).

em SS3, SS11 e SS15, respectivamente). O pH do lodo de esgoto gerado é levemente básico (8,66 em SS3; 8,02 em SS11 e 8,14 em SS15) e os teores de S e Fe em SS3, SS11 e SS15 são, respectivamente, 17,26, 19,33 e 28,67 g kg⁻¹ e 86,82, 18,33 e 28,41 g kg⁻¹.

As demais amostras de lodo de esgoto não mostram separação clara como os dois grupos anteriormente descritos, embora possa perceber tendência de separação das amostras SS1, SS14, SS5, SS8 e SS4, influenciadas pelos teores de B, Na e N-Kjeldahl.

5 CONCLUSÕES

Os macronutrientes em maiores concentrações no lodo de esgoto são: $N > Ca > S > P > Mg > K$.

Considerando os teores máximos permitidos de substâncias inorgânicas no lodo de esgoto pela Resolução CONAMA 375/2006 e as concentrações máximas nas amostras, os elementos que limitariam primeiro a aplicação do lodo de esgoto seriam o Zn e Hg, cuja máxima quantidade que poderia ser aplicada ao solo seria 97 e 106 t ha⁻¹, respectivamente.

Considerando os teores máximos permitidos de substâncias inorgânicas no lodo de esgoto pela Resolução CONAMA 375/2006 e as concentrações máximas nas amostras, o lodo de esgoto produzido no estado de São Paulo possui potencial para utilização agrícola, visto que, das 19 amostras avaliadas, apenas 4 amostras não se enquadraram nos requisitos desta resolução, sendo que, 1 amostra apresentou concentração superior à máxima permitida para Ni e 3 amostras para Zn.

Para ser registrado como fertilizante orgânico, de acordo com a IN 27/2006, com relação à elementos inorgânicos contaminantes, o lodo de esgoto é apenas uma matéria-prima e necessita obrigatoriamente passar por alguma forma de tratamento, uma vez que a maioria das amostras não atende aos requisitos para Cd, Cr, Hg e Ni.

Os compostos benzilparabeno, BPAF, PFOA e TBBPA não foram detectados no lodo de esgoto de São Paulo.

Os compostos metilparabeno, BPA, triclocarban e cimetidina foram detectados em todas as 19 amostras de lodo de esgoto.

Entre os compostos estudados, o triclocarban esteve presente em maiores concentrações.

As concentrações de HPAs no lodo de esgoto são baixas, não ultrapassando o máximo permitido em lodo de esgoto pela legislação europeia, nas três épocas de coleta.

Considerando a média das 19 ETEs, os filos *Proteobacteria* e *Bacteroidetes* estão presentes em maior abundância relativa.

Existe uma comunidade bacteriana núcleo nas estações de tratamento de esgoto do estado de São Paulo, composta por 81 gêneros que estão presentes nas 19 ETEs avaliadas, dos quais, os que estão em maior abundância relativa são *Treponema*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Syntrophus* e *Desulfobulbus*.

A elevação do pH a valores próximos de 12 reduz a diversidade microbiana.

Considerando a abundância relativa e a composição química do lodo de esgoto, as estações podem ser agrupadas em três grupos distintos, sendo que um deles é influenciado principalmente pelos teores de Ca, Zn e Cu, o outro pelos teores de Fe e S e o terceiro grupo que foi influenciado pelos demais fatores avaliados.

REFERÊNCIAS

- ALBERO, B.; PÉREZ, R.A.; BRUNETE, C.S.; TADEO, J.L. Occurrence and analysis of parabens in municipal sewage sludge from wastewater treatment plants in Madrid (Spain). **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 239–240, p. 48–55, 2012.
- ALCANTARA, H.J.P.; DORONILA, A.I.; NICOLAS, M.; EBBS, S.D.; KOLEV, S.D.; Growth of selected plant species in biosolids-amended mine tailings. **Minerals Engineering**, Oxford, v. 80, p. 25–32, 2015.
- ALLARD, P. Bisphenol A. In: GUPTA, R.C. **Biomarkers in Toxicology**. Elsevier: 2014, p. 459-474.
- ANDERSEN, H.; SIEGRIST, H.; SØRENSEN B.; TERNES, T. Fate of Estrogens in a Municipal Sewage Treatment Plant. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 37, p. 4021-4026, 2003.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Bisfenol A. Disponível em: <http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/Fto>. Acesso em: 03 dez. de 2015.
- BAO, Y.; GUAN, L.; ZHOU, Q.; WANG, H.; YAN, LI. Various sulphur fractions changes during different manure composting. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 7841–7848, 2010.
- BERGOLD, A.M; GEORGIADIS, S. Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, p. 159 -172, 2004.
- BERLEMONT, R.; GERDAY, C. **Extremophiles**. *Comprehensive Biotechnology*. 2nd ed. , v. 1, p. 229-242. 2011.
- BIBBY, K.; VIAU, E.; PECCIA, J. Pyrosequencing of the 16S rRNA gene to reveal bacterial pathogen diversity in biosolids. **Water Research**, New York, v. 44, p. 4252 – 4260.
- BILA, D.M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, p.651-666, 2007.
- BITTENCOURT, S.; SERRAT, B.M.; AISSE, M.M.; GOMES, D. Sewage Sludge Usage in Agriculture: a Case Study of Its Destination in the Curitiba metropolitan Region, Paraná, Brazil. **Water, Air and Soil Pollution** : an international journal of environmental pollution, Dordrecht, v. 225, p. 2074, 2014.
- BŁĘDZKA, D.; GROMADZIŃSKA, J.; WĄSOWICZ, W. Parabens. From environmental studies to human health. **Environment International**, New York, v. 67, p. 27–42, 2014.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução n. 375, de 29 de agosto de 2006**. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados. Brasília, 2006. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=506>> . Acesso em: 26 nov. 2015.

BUENO, J.R.P.; BERTON, R.S.; SILVEIRA, A.P.D.; CHIBA, M.K.; ANDRADE, C.A.; MARIA IC. Chemical and microbiological attributes of an oxisol treated with successive applications of sewage sludge. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, 35, p. 1461-1470, 2011.

CAI Q. Y.; MO C.H.; WU, Q.T.; ZENG, Q.Y.; Polycyclic aromatic hydrocarbons and phthalic acid esters in the soil-radish (*Raphanus sativus*) system with sewage sludge and compost application. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 1830 – 1836, 2008.

CARVALHO, M.C.C.G.; SILVA, D C.G. Sequenciamento de DNA de nova geração e suas aplicações na genômica de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, p. 735 - 744, 2010.

CATANOZI, G. Importância dos aspectos ecológicos na análise qualiquantitativa da macrofauna edáfica. **Revista Ibirapuera**, São Paulo, n. 1, p. 42-52, 2011.

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Relatório Técnico: **Caracterização físico-química, microbiológica, parasitológica e ecotoxicológica de lodos de estações de tratamento de esgoto de São Paulo**. 2009.

CHEN, Z.F.; YING, G.G.; MA, Y.B.; LAI, H.J.; CHEN, F.; PAN, C.G. Occurrence and dissipation of threeazole biocides climbazole, clotrimazole and miconazole in biosolid-amended soils. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 452–453, p. 377–383, 2013.

CLARA, M.; STRENN, B.; SARACEVIC, E.; KREUZINGER, N. Adsorption of bisphenol-A, 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol to sewage sludge. **Chemosphere**, Oxford, v.56, p.843–851, 2004.

CLARKSON, T. W.; MAGOS, L.; MYERS, G.J. The Toxicology of Mercury - Current Exposures and Clinical Manifestations. **The New England Journal of Medicine**. Boston, v. 349, p. 1731-1737, 2003.

DAVIES, J. Brenner's Encyclopedia of Genetics. 2nd ed. 2013. p.135–137.

DÍAZ-CRUZ, M.S.; ALDA, M.J.L.; BARCELO, D. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 22, p. 340-351, 2003.

DIJK, E.L.; AUGER, H.; JASZCZYSZYN, Y.; THERMES, C. Ten years of next-generation sequencing technology. **Trends in Genetics**, Amsterdam, v. 30, p. 418 - 426, 2014.

EGGEN, T; ASP, T. N.; GRAVE, K.; HORMAZABAL, V. Uptake and translocation of metformin, ciprofloxacin and narasin in forage and crop plants. **Chemosphere**, Oxford, v.85, p.26–33, 2011.

EUROPEAN UNION. **Working Document on Sludge**. 3rd Draft. ENV.E.3/LM. European Union, Brussels, 2000.

FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo. **Alerta para o lodo**. 2009. Disponível em: <<http://agencia.fapesp.br/11056>> acesso em: 08 Dez. 2015.

FRANKE-WHITTLE; I.H.; KNAPP, B.A.; FUCHS, J.; KAUFMANN, R.; INSAM, H. Application of COMPOCHIP microarray to investigate the bacterial communities of different composts. **Microbial Ecology**, New York, v. 57, p. 510–521, 2009.

GONZÁLEZ-MARIÑO, I.; QUINTANA, J.B.; RODRÍGUEZ, I.; CELA, R. Evaluation of the occurrence and biodegradation of parabens and halogenated by-products in wastewater by accurate-mass liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry (LC-QTOF-MS), **Water Research**, New York, v. 45, p. 6770–6780, 2011.

GOODMAN, J.E.; PETERSON, M.K. Reference Module in Biomedical Sciences. **Encyclopedia of Toxicology**. 3rd. Ed. 2014. p.514–518.

GOODMAN, L.S.; GILMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro:McGraw-Hill Interamericana editores. 1996. 1436p.

GORGA, M.; MARTINEZ, E.; GINEBREDÀ, A.; ELJARRAT, E.; BARCELO, D. Determination of PBDEs, HBB, PBEB, DBDPE, HBCD, TBBPA and related compounds in sewage sludge from Catalonia (Spain). **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 444, p. 51-59 2013.

GOTELLI, N.J.; CHAO, A. Measuring and Estimating Species Richness, Species Diversity, and Biotic Similarity from Sampling Data. In: LEVIN S.A. (Ed.) **Encyclopedia of Biodiversity**. Waltham, MA: Academic Press, 2013. p. 195-211.

GOTHWAL, R.; SHASHIDHAR, T. Antibiotic Pollution in the Environment: A Review. **Clean – Soil, Air, Water**, Weinheim, v. 42, p. 1–11, 2014.

GUO, Y.; WU, K.; HUO, X.; XU, X. Distribution, and toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Environmental Health**, Denver, v.73, p.22-5, 2011.

HAFIDI, M.; AMIR, S.; JOURAIPHY, A.; WINTERTON, P.; GHAROUS, M.; MERLINA, G.; REVEL, J.-C. Fate of polycyclic aromatic hydrocarbons during composting of activated sewage sludge with green waste. **Bioresource Technology**, Essex, v.99, p.8819–8823, 2008.

HALDEN, R.U.; PAULL, D.H. Co-occurrence of triclocarban and triclosan in US water resources. **Environmental Science & Technology**, Easton, Pa., v. 39, p. 1420–1426, 2005.

HAYNES, R.J.; MURTAZA, G.; NAIDU, R. Inorganic and Organic Constituents and Contaminants of Biosolids: Implications for Land Application. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 104, p. 165-267, 2009.

HOPPE, P.D.; ROSI-MARSHALL, E.J.; BECHTOLD, H.A. The antihistamine cimetidine alters invertebrate growth and population dynamics in artificial streams. **Freshwater Science**, Chicago, v. 31, p. 379–388, 2012.

HOWE, P.D. A Review of Boron Effects in the Environment. **Biological Trace Element Research**. Clifton, v. 66, p. 153-166, 1998.

HU, M.; WANG, X.; WEN, X.; XIA, YU. Microbial community structures in different wastewater treatment plants as revealed by 454-pyrosequencing analysis. **Bioresource Technology**, Essex, v. 117, p. 72–79, 2012.

HUANG, Q.; YUA, Y.; TANGA, C.; PENG, X. Determination of commonly used azole antifungals in various waters and sewage sludge using ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1217, p. 3481–3488, 2010.

IRFAN, M.; HAYAT, S.; AHMAD, A.; ALYEMENI, M. N. Soil cadmium enrichment: Allocation and plant physiological manifestations. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Riyadh, v. 20, p. 1–10, 2013.

IVASHECHKIN, P.; CORVINI, P. F. -X.; DOHMANN M. Behaviour of endocrine disrupting chemicals during the treatment of municipal sewage sludge. **Water Science and Technology**. Oxford, v 50, p. 133–140, 2004.

JOHNSON, A.C.; BELFROID, U.A.; CORCIA, A. Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 256, p. 163-173, 2000.

JOHNSON, D.B.; BACELAR-NICOLAU, P.; OKIBE, N.; THOMAS, A.; HALLBERG, K. B. *Ferrimicrobium acidiphilum* gen. nov., sp. nov. and *Ferrithrix thermotolerans* gen. nov., sp. nov.: heterotrophic, iron-oxidizing, extremely acidophilic actinobacteria. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 59, p. 1082–1089, 2009.

JORGE, A.O.C. Espiroquetas. In: _____. **Princípios de microbiologia e imunologia**. Santos: Livraria Santos Editora, 2010. Capí. 10, p. 143-149.

KARUNANITHI, R.; SZOGI, A.A.; BOLAN, N.; NAIDU, R.; LOGANATHAN, P.; HUNT, P.G.; VANOTTI, M.B.; SAINT, C.P.; OK, Y.S.; KRISHNAMOORTHY, S. Phosphorus Recovery and Reuse from Waste Streams. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 31, p. 173–250, 2015.

KHADHAR, S.; HIGASHIB, T.; HAMDIA, H.; MATSUYAMAB, S.; CHAREFA, A. Distribution of 16 EPA-priority polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sludges collected from nine Tunisian wastewater treatment plants. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v.183, 98–102, 2010.

KHODADOUST, A. P.; REDDY, K. R.; MATURI, K. Removal of nickel and phenanthrene from kaolin soil using different extractants. **Environmental Engineering Science**, Larchmont, V. 21, p. 691-704, 2004.

KOHLMEIER, M. Nutrient Metabolism, **A volume in Food Science and Technology**, 2003, 840p.

KUMAR, B.S.; PRIYADARSINI, K.I. Selenium nutrition: How important is it?. **Biomedicine & Preventive Nutrition**. v.4, p. 333-341, 2014.

LANGE, I G.; DAXENBERGER, A.; SCHIFFER, B.; WITTERS, H.; IBARRETA, D.; MEYER, H.H.D. Sex hormones originating from different livestock production systems: fate and potential disrupting activity in the environment. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.473, p. 27–37, 2002.

LEE, S.; JUNG, D.; KHO, Y.; JI, K.; KIM, P.; AHN, B.; CHOI, K. Ecotoxicological assessment of cimetidine and determination of its potential for endocrine disruption using three test organisms: *Daphnia magna*, *Moina macrocopa*, and *Danio rerio*. **Chemosphere**, Oxford, v. 135, p. 208–216, 2015.

LETZEL, M.; METZNER, G.; LETZEL, T. Exposure assessment of the pharmaceutical diclofenac based on long-term measurements of the aquatic input. **Environment International**, New York, v. 35, p. 363–368, 2009.

- LI, W.; SHIB, Y.; GAO, L.; LIU, J.; CAI, Y. Occurrence, fate and risk assessment of parabens and their chlorinated derivatives in an advanced wastewater treatment plant. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 300, p. 29–38, 2015.
- LIU, L.; LI, Y.; LI, S.; HU, N.; HE, Y.; PONG, R.; LIN, D.; LU, L.; LAW, M. Comparison of Next-Generation Sequencing Systems. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, New York, v. 2012, p. 1–11, 2012.
- LOPES, A.S. Micronutrientes – Filosofia de aplicação e fontes. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ V, V.H. **Recomendação para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais – 5ª aproximação**. CFSEMG: Viçosa, 1999, cap. 11, p. 79 - 86.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 27**, de 05 de junho de 2006. Dispõe sobre fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes, para serem produzidos, importados ou comercializados, deverão atender aos limites estabelecidos nos Anexos I, II, III, IV e V desta Instrução Normativa no que se refere às concentrações máximas admitidas para agentes fitotóxicos, patogênicos ao homem, animais e plantas, metais pesados tóxicos, pragas e ervas daninhas. Brasília, 2006. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=16951>. Acesso em: 09 dez. 2015.
- MARTINEZ, J.L. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. **Environmental Pollution**, Barking, v. 157, p. 2893–2902, 2009.
- MASTRANGELO, G.; FADDA, E.; MARZIA, V. Polycyclic aromatic hydrocarbons and cancer in man. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v.104, p.1166-1170, 1996.
- MCCLELLAN, K.; HALDEN, R.U. Pharmaceuticals and personal care products in archived U.S. biosolids from the 2001 EPA national sewage sludge survey. **Water Research**, New York, v. 44, p. 658 – 668, 2010.
- MEHMOOD, S.J.T.; CHAUDHRY, M.M.; TUFAIL, M.; IRFAN, N. Heavy metal pollution from phosphate rock used for the production of fertilizer in Pakistan. **Microchemical Journal**, New York, v. 91, p. 94–99, 2009.
- MULLER, M.; COMBALBERT, S.; DELGENÈS, N.; BERGHEAUD, V.; ROCHER, V.; BENOÎT, P.; DELGENÈS, J. P.; PATUREAU, D.; RAQUET, G. H. Occurrence of estrogens in sewage sludge and their fate during plant-scale anaerobic digestion. **Chemosphere**, Oxford, v.81, p.65–71, 2010.
- MULLER, M.; RABENOELINA, F.; BALAGUER, P.; PATUREAU, D.; LEMENACH, K.; BUDZINSKI, H.; BARCELO, D.; ALDA, M. L.; KUSTER, M.; DELGENE, J.P.; RAQUET, G.H. Chemical and biological analysis of endocrine-disrupting hormones and estrogenic activity in an advanced sewage treatment plant. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v.27, p.1649–1658, 2008.
- MUNIR, M.; WONG, K.; XAGORARAKI, I. Release of antibiotic resistant bacteria and genes in the effluent and biosolids of five wastewater utilities in Michigan. **Water Research**, New York, V. 45, 681-693, 2011.

NGHIÊM, L.D.; SCHÄFER, A.I. Adsorption and Transport of Trace Contaminant Estrone in NF/RO Membranes. **Environmental Engineering Science**, Larchmont, v. 19, p. 441-451, 2002.

NIETO, A.; BORRULL, F.; POCURUL E.; MARCÉ R. M. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 29, p. 1484–1489, 2010.

NOGUEIRA, T.A.R.; MELO, W.J.; FONSECA, I.M.; MARQUES, M.O.; HE, Z. Barium uptake by maize plants as affected by sewage sludge in a long-term field study. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v.181, p. 1148–1157, 2010.

OROS-SICHLER, M.; COSTA, R. HEUER, H. SMALLA, K. Molecular fingerprinting techniques to analyze soil microbial communities. In: ELSAS, J. D. JANSSON, J. K.; TREVORS, J. T. **Modern Soil Microbiology**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2006, cap. 14, p. 355-386.

PARAÍBA, L.C.; QUEIROZ, S.C.N.; MAIA, A.H.N.; FERRACINI, V.L. Bioconcentration factor estimates of polycyclic aromatic hydrocarbons in grains of corn plants cultivated in soils treated with sewage sludge. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.408, p.3270–3276, 2010.

PENG, X.; HUANG, Q.; ZHANG, K.; YU, Y.; WANG, Z.; WANG, C. Distribution, behavior and fate of azole antifungals during mechanical, biological, and chemical treatments in sewage treatment plants in China. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 426, p.311–317, 2012.

PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. **Water Research**, New York, v. 72, p. 3-27, 2015.

PRINCI, M.P.; LUPINI, A.; ARANITI, F.; LONGO, C.; MAUCERI, A.; SUNSERI, F.; ABENAVOLI, M.R. Boron Toxicity and Tolerance in Plants: Recent Advances and Future Perspectives. In: AHMAD, P. **Plant Metal Interaction. Emerging Remediation Techniques**, Amsterdam: Elsevier, 2016, .ap. 5, p.115 – 147.

RACZ, L.A.; GOEL, R.K. Fate and removal of estrogens in municipal wastewater. **Journal of Environmental Monitoring**, Cambridge, v. 12, p. 58–70, 2010.

RAWLINGS, D.E. The molecular genetics of *Thiobacillus ferrooxidans* and other mesophilic, acidophilic, chemolithotrophic, iron- or sulfur-oxidizing bacteria. **Hydrometallurgy**. Amsterdam, v. 59, p. 187–201, 2001.

ROIG, N.; SIERRA, J.; NADAL, M.; MARTÍ, E.; NAVALÓN-MADRIGAL, P.; SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J. L. Relationship between pollutant content and ecotoxicity of sewage sludges from Spanish wastewater treatment plants. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.425, 99–109, 2012.

RYBICKI, B.A.; NESLUND-DUDAS, C.; NOCK, N L.; SCHULTZ, L.R.; EKLUND, L.; ROSBOLT, J.; BOCK, C.H.; MONAGHAN, K G. Prostate cancer risk from occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons interacting with the GSTP1 Ile105Val polymorphism. **Cancer Detection and Prevention**, New York, v.30, 412-422, 2006.

- SABOURIN, L.; DUENK, P.; BONTE-GELOK, SHELLY, PAYNE, M.; LAPEN, D.R.; TOPP, E. Uptake of pharmaceuticals, hormones and parabens into vegetables grown in soil fertilized with municipal biosolids. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 431, p. 233–236, 2012.
- SCHERER, H.W. Sulphur in crop production. **European Journal of Agronomy**, Montpellier, v. 14, p. 81–111, 2001.
- SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD. **Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of polycyclic aromatic hydrocarbons in food**. SCF/CS/CNTM/PAH/29 Final. Brussels: European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General; 2002.
- SHAFRIR, M.; AVISAR, D. Development Method for Extracting and Analyzing Antibiotic and Hormone Residues from Treated Wastewater Sludge and Composted Biosolids. **Water, Air, & Soil Pollution**, Dordrecht, v. 223, p. 2571–2587, 2012.
- SHIVLATA, L.; SATYANARAYANA T. Thermophilic and alkaliphilic Actinobacteria: biology and potential applications. **Frontiers in Microbiology**. Lausanne, v. 6, p. 1-29, 2015.
- SILVA, C.P.; OTERO, M.; ESTEVES, V. Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: A review. **Environmental Pollution**, Barking, v. 165, p. 38-58, 2012.
- SOMERFIELD, P.J.; CLARKE, K.R.; WARWICK, R.M. Ecological indicators: Simpson Index. **Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences: Encyclopedia of Ecology**, 2008. p.3252–3255.
- SONNENSCHNEIN, C.; SOTO, A.M. An Updated Review of Environmental Estrogen and Androgen Mimics and Antagonists. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v 65, n 1/6, 143-150, 1998.
- SPELLBERG, B.; GUIDOS, R.; GILBERT, DAVID.; BRADLEY, J. BOUCHER, H. W.; SCHELD, W. M.; BARTLETT, J. G.; EDWARDS, J. The Epidemic of Antibiotic-Resistant Infections: A Call to Action for the Medical Community from the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 46, p. 155–64, 2008.
- SPELLERBERG, I.F. Shannon–Wiener Index. **Encyclopedia of Ecology**, 2008. p.3249–3252.
- STANDING, D.; KILLHAM, K. The soil environment. In.: ELSAS, J.D.; JANSSON, J.K.; TREVORS, J.T. (Ed.). **Modern Soil Microbiology**. 2nd ed. Boca Raton-FL: CRC Press, 2006. cap. 1, p. 1-23.
- SUBEDI, B.; KANNAN, K. Occurrence and fate of select psychoactive pharmaceuticals and antihypertensives in two wastewater treatment plants in New York State, USA. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 514, p. 273–280, 2015.
- SUCIU, N.A.; LAMASTRA, L.; TREVISAN, M. PAHs content of sewage sludge in Europe and its use as soil fertilizer. **Waste Management**, Oxford, v. 41, p. 119–127, 2015.
- TERNES, T.A.; ANDERSEN, H.; GILBERG, D.; BONERZ, M. Determination of estrogens in sludge and sediments by liquid extraction and GC/MS/MS. **Analytical Chemistry**, Washington, V. 74, p. 3498–3504, 2002.

TIAN, W.; BAI, J.; LIU, K.; SUN, H.; ZHAO, Y. Occurrence and removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in the wastewater treatment process. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v.82, p.1–7, 2012.

TYSON, G.W.; BANFIELD, J.F. Cultivating the uncultivated: a community genomics perspective. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v.13, p. 411- 415, 2005.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Biosolids: Targeted National Sewage Sludge Survey**. Washington, DC, 2009, 10p.

WALTERS, E.; MCCLELLAN, K.; HALDEN, R.U. Occurrence and loss over three years of 72 pharmaceuticals and personal care products from biosolids/soil mixtures in outdoor mesocosms. **Water Research**, New York, v. 44, p. 6011- 6020, 2010.

WEN, B.; ZHANG, H.; LI, L.; HU, X.; LIU, Y.; SHAN, X.; ZHANG, S. Bioavailability of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in biosolids-amended soils to earthworms (*Eisenia fetida*). **Chemosphere**, Oxford, v. 118, p. 361–366, 2015.

WEN, G.; WINTER, J.P.R.; VORONEY, P.; BATES, T.E. Potassium availability with application of sewage sludge, and sludge and manure composts in field experiments. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 47, p. 233-241, 1997.

WHITTLESTON, R.A.; STEWART, D.I.; MORTIMER, R.J.G.; BURKE I. T. Enhancing microbial iron reduction in hyperalkaline, chromium contaminated sediments by pH amendment. **Applied Geochemistry**, Oxford, v. 28, p. 135–144, 2013.

WILLIAMS, D.A.; LEMKE, T.L. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**. 5th ed. Philadelphia:Lippincot Williams & Wilkins. 2002. 1114p.

WONG, J.W.C.; FANG, M. Effects of lime addition on sewage sludge composting process. **Water Research**, New York, v. 34, p. 3691-3698, 2000.

WUANA, R.A.; OKIEIMEN, F.E. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. **International Scholarly Research Network Ecology**, v. 2011, p. 1–20, 2011.

XUE, J.; KIMBERLEY, M.O.; ROSS, C.; GIELEN, G.; TREMBLAY, L.A.; CHAMPEAU, O.; HORSWELL, J.; WANG, H. Ecological impacts of long-term application of biosolids to a radiate pine plantation. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 530–531, p. 233–240, 2015.

YAN, L.; LI, X.; CHEN, J.; WANG, X.; DU, J.; MA, L. Source and deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons to Shanghai, China. **Journal of Environmental Sciences**, Los Angeles, v.24 p.116-123, 2012.

YING, G.G.; YU, X.Y.; KOOKANA, R.S. Biological degradation of triclocarban and triclosan in a soil under aerobic and anaerobic conditions and comparison with environmental fate modelling. **Environmental Pollution**, Barking, v. 150, p. 300 – 305, 2007.

YU, X.; XUE, J.; YAO, H.; WU, Q.; VENKATESAN, A. K.; HALDEN, R.U.; KANNANA, K. Occurrence and estrogenic potency of eight bisphenol analogs in sewage sludge from the U.S. EPA targeted national sewage sludge survey. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 299, 733–739, 2015.

ZHAI, J.; TIAN, W.; LIU, K. Quantitative assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge from wastewater treatment plants in Qingdao, China. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v.180, p.303–311, 2011.

ZHANG, F.; LI, Y.; YANG, M.; LI, W. Content of heavy metals in animal feeds and manures from farms of different scales in northeast china. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Switzerland, v. 9, p. 2658– 2668, 2012.

ZHANG, Z.; VELLY, M.L.; RHIND, S.M.; KYLE, C.E.; HOUGH, R.L.; DUFF, E.I. MCKENZIE, C. A study on temporal trends and estimates of fate of Bisphenol A in agricultural soils after sewage sludge amendment. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 515–516, p. 1–11, 2015.

ZHAO, P.; FU, J.; YAO, B.; SONG, Y.; MI, L.; LI, Z.; SHANG, L.; HAO, W.; ZHOU, Z. In vitro malignant transformation of human bronchial epithelial cells induced by benzo(a)pyrene. **Toxicology in Vitro**, Oxford, v.26, p.362–368, 2012.

ZHOU, Y.; ZHA, J.; WANG, Z. Occurrence and fate of steroid estrogens in the largest wastewater treatment plant in Beijing, China. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v. 184, p. 6799-6813, 2012.