**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

TÂMARA GUINDO MESSIAS

**Avaliação ecotoxicológica de lodo gerado por estação de
tratamento de água**

Piracicaba

2013

TÂMARA GUINDO MESSIAS

**Avaliação ecotoxicológica de lodo gerado por estação de
tratamento de água**

**Tese apresentada ao Centro de Energia
Nuclear na Agricultura da Universidade de
São Paulo para a obtenção do título de
Doutor em Ciências**

**Área de Concentração: Química na
Agricultura e no Ambiente**

**Orientadora: Profa. Dra. Regina Teresa
Rosim Monteiro**

Piracicaba

2013

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Messias, Tâmara Guindo

Avaliação ecotoxicológica de lodo gerado por estação de tratamento de água / Tâmara Guindo Messias; orientadora Regina Teresa Tosim Monteiro. - - Piracicaba, 2013.

163 p.: il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Disposição no solo de lodo 2. Engenharia ambiental 3. Metais 4. Poluição da água por resíduos industriais 5. Poluição ambiental 6. Qualidade da água 7. Resíduos industriais 8. Resíduos químicos 9. Saneamento ambiental 10. Tratamento de resíduos I. Título

CDU 628.54 : 574.64

Dedico

Aos meus pais por fornecerem todos os alicerces da minha vida,
ensinando os preciosos valores da honestidade, perseverança,
humildade e respeito. Enfim, pela vida, amor e exemplos.

Ao Fernando,
meu querido noivo e fiel companheiro,
pelo carinho, compreensão, apoio e
por toda ajuda conferida,
na elaboração desse trabalho.

A minha irmã Solimar e ao meu cunhado Leonardo,
mesmo distante sempre me apoiaram e incentivaram
nos caminhos da vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder a vida e por mais uma conquista;

À minha família pelo apoio incondicional em todos os momentos, principalmente pelo auxílio direto e indireto em minha formação, não só profissional como pessoal;

À minha orientadora Profa. Dra. Regina Teresa Rosim Monteiro, pela oportunidade, respeito, orientação, dedicação e amizade durante todo o curso;

À Profa. Dra. Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso pelo auxílio na concessão da bolsa CAPES para realização do doutorado sanduíche em Coimbra/Portugal. Agradeço também a oportunidade de realização dos testes de ecotoxicologia terrestre, nos Laboratórios de Solos da ESALQ/USP;

Aos Professores Dr. Rui Ribeiro e Dr. José Paulo Sousa e a Dra. Matilde Maria Moreira Dos Santos da Universidade de Coimbra, Portugal, pela recepção, amizade, orientação e auxílio no doutorado sanduíche;

Ao Prof. Dr. Virgílio Franco do Nascimento Junior e ao Dr. Eduardo de Almeida do Laboratório de Física Nuclear (CENA/USP), pelo auxílio, orientação e concessão do laboratório para a realização das análises químicas por raios X;

Ao Prof. Dr. Cássio Hamilton Abreu Júnior e a técnica Henriqueta pela concessão do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas (CENA/USP) e auxílio na realização das análises dos elementos químicos por ICP MS;

Ao Prof. Dr. Amauri Antonio Menegário e a técnica Amanda do Laboratório de Análises Químicas, do Centro de Estudos Ambientais da UNESP, Rio Claro, pela concessão do laboratório, auxílio e orientação na quantificação dos elementos químicos por ICP OES;

À Bibliotecária Marília R. G. Henyei, pela atenção e correções feitas na Tese;

As Professoras: Dra. Cassiana Maria Reganhan Coneglian; Dra. Maria Aparecida Marin Morales e Dra. Maria do Carmo Calijuri, pelas excelentes sugestões e contribuições quando do Exame de Qualificação;

Ao Professor Dr. Leonardo R. Bonjardim pelo auxílio na estruturação do trabalho, quando do Exame de qualificação;

Ao doutorando Paulo Roger do laboratório de Solos (ESALQ/USP) por auxiliar na realização dos testes de ecotoxicologia terrestre;

Aos técnicos Rosângela e Eduardo pela disponibilidade e auxílio no laboratório e a todos os funcionários do CENA que contribuíram para minha formação e desenvolvimento desse projeto;

Ao Centro de Energia Nuclear na agricultura e a Comissão de Pós-Graduação - CENA/USP pela oportunidade de realização do curso de doutorado;

Ao CNPQ pela concessão da bolsa de doutorado;

Aos amigos de Laboratório de Ecologia Aplicada (CENA/USP): Gabriela, Amanda, Sérgio, Aline, Luiz Fernando, Geórgia, Carlos, Gleison, Natalya, Gilda, Joyce, pela ajuda nesse trabalho e por todos os momentos divertidos no laboratório. Em especial ao Sérgio e a Gabriela, por toda ajuda na realização dos experimentos.

Aos amigos do Laboratório de Ecotoxicologia Aquática e do Laboratório de Solos de Coimbra: Rita, Olímpia, Cátia, Tiago, João Vaz, Sara por toda ajuda nesse trabalho e por todos os momentos divertidos no laboratório.

Por fim, agradeço a todos que ajudaram diretamente ou indiretamente na realização deste trabalho e, caso tenha esquecido alguém, por favor, me desculpe.

**Embora ninguém possa voltar atrás e
fazer um novo começo,
qualquer um pode começar agora e
fazer um novo fim,
porque o ambiente limpo não é
o que mais se limpa,
e sim o que menos se suja.**

(Adaptado de Chico Xavier)

RESUMO

MESSIAS, T. G. **Avaliação ecotoxicológica de lodo gerado por estação de tratamento de água**. 2013. 163 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

As estações de tratamento de água (ETA) operam mundialmente com o intuito de tratar e disponibilizar água potável a população, a partir das águas brutas dos mananciais. Durante as fases do tratamento da água é gerada uma grande quantidade de lodo, em torno de 1 a 3% do total de água tratada pela ETA, o que pode representar uma tonelada diária de lodo gerado. Esse resíduo vem sendo descartado nos mesmos mananciais da captação das águas, porém com as novas legislações ambientais, visando à proteção e a preservação dos recursos hídricos, pesquisas estão sendo desenvolvidas com o intuito de encontrar uma alternativa para o descarte desse resíduo. O presente estudo tem como objetivo principal avaliar e relacionar a ecotoxicidade do lodo da ETA, com as características físicas e químicas dos mesmos. As quantificações dos elementos químicos presentes: nas amostras de água e nos filtros, quando foram realizadas as filtrações das águas foram realizadas pelas técnicas de fluorescência de raios X dispersiva em energia por reflexão total (TXRF), para as amostras líquidas e por fluorescência de raios X dispersiva em energia (EDXRF) para as amostras sólidas. As determinações dos elementos químicos presentes nas amostras de lodo foram realizadas por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP MS) e por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Os testes ecotoxicológicos foram realizados com as espécies *Hydra attenuata*, *Daphnia similis*, *Danio rerio*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Chironomus xanthus*, *Folsomia candida* e *Zea mays*. Além das exposições para avaliação da mortalidade e da inibição do crescimento, também foram realizados testes crônicos de reprodução com as *D. similis* e *F. candida*. Os testes de toxicidade mostraram que as amostras de elutriato e principalmente as amostras do lodo filtrado foram altamente tóxicas aos organismos aquáticos e terrestres. As amostras do floculador apresentaram menor qualidade ambiental, com menores concentrações de OD, maior condutividade elétrica e concentrações de elementos químicos mais elevados. As análises de redundância (RDA), realizadas com as plântulas de *Z. mays* irrigadas com o elutriato, indicaram alta correlação negativa com os elementos químicos quantificados nas raízes. Entretanto a incorporação do lodo ao substrato foi benéfica, incentivando o crescimento e desenvolvimento das plântulas. Concluiu-se que a incorporação ao solo, pode ser uma alternativa de destino do lodo da ETA.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. Lodo de ETA. Metais. Resíduo. *Zea mays*. rio Corumbataí.

ABSTRACT

MESSIAS, T. G. **Ecotoxicological assessment of sludge generated by water treatment station**. 2013. 163 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

The water treatment plants (WTP) operate worldwide in order to treat and deliver drinking water to the population, from the untreated waters of the springs. During the water treatment stage is generated a large amount of sludge, about 1 to 3% of total treated water, which thus can arrive at a daily ton of sludge generated by the ETA. This waste is being disposed of in the same watershed catchment of water, but with the new laws aimed at environmental protection and preservation of water resources, research is being developed in order to find an alternative for the disposal of this waste. This study aims to evaluate and relate the ecotoxicity of sludge from ETA, with the physical and chemical characteristics of the same. The quantification of chemical elements: the water samples and filters when filtrations were performed water were conducted by the techniques of fluorescence energy dispersive X-ray total reflection (TXRF) for the liquid samples and ray fluorescence energy dispersive X (EDXRF) for solid samples. The determinations of chemical elements in samples of sludge were performed by mass spectrometry with inductively coupled plasma (ICP MS) and optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP OES). The ecotoxicological tests were performed with the species *Hydra attenuata*, *Daphnia similis*, *Danio rerio*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Chironomus xanthus*, *Folsomia candida* and *Zea mays*. In addition exposures to assess mortality and growth inhibition tests were also performed with chronic reproduction *D. similis* and *F. candida*. Toxicity tests showed that samples of elutriate and mainly filtered sludge samples were highly toxic to aquatic and terrestrial organisms. Samples of flocculator had lower environmental quality, with lower concentrations of DO, conductivity and concentrations of chemical elements higher. The redundancy analysis (RDA), performed with seedlings of *Z. mays* irrigated with elutriate indicated strong negative correlation with the chemical elements quantified in roots. However the incorporation of the sludge to the substrate was beneficial, encouraging growth and seedling development. It was concluded that incorporation into the soil, can be an alternative for the WTP sludge destination.

Keywords: Ecotoxicology. WTS. Heavy metals. Waste. *Zea mays*. Corumbataí River.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos lodos dos decantadores de ETAs da região metropolitana de São Paulo	30
Tabela 2 - Características do lodo do decantador da ETA – Capim Fino, 2004	48
Tabela 3 - Meio de cultivo de <i>H. attenuata</i>	54
Tabela 4 - Meio de cultivo de <i>D. similis</i>	55
Tabela 5 – Meio de cultivo de <i>P. subcapitata</i>	56
Tabela 6 – Meio de cultivo para <i>C. xanthus</i>	57
Tabela 7 – Substrato utilizado no cultivo de <i>F. candida</i>	58
Tabela 8 - Programa utilizado na digestão das amostras do lodo da ETA e do substrato de referencia.....	70
Tabela 9 - Programa utilizado para a digestão das raízes e caule de <i>Z. mays</i>	71
Tabela 10 – Características físicas e químicas dos lodos gerados pela ETA, coleta de 17/09/09.....	74
Tabela 11 – Características do lodo gerado no floculador (Am1L) e decantador (Am2L).....	75
Tabela 12 – Umidade em porcentagem (%) do lodo da ETA	76
Tabela 13 – Concentração média dos elementos químicos, em mg kg ⁻¹ , presentes nas amostras de lodo.	77
Tabela 14 - Média em mg L ⁻¹ , dos elementos químicos solúveis nas amostras de água.....	80
Tabela 15 - Média em µg L ⁻¹ , dos elementos químicos retidos na membrana filtrante, após filtragem de 200 mL da amostra.	81
Tabela 16 - Determinações de pH, condutividade elétrica (Cond) e oxigênio dissolvido (OD), nas amostras de água e elutriato (lodo).....	82
Tabela 17 - Determinações de pH, condutividade elétrica (Cond), oxigênio dissolvido (OD) e turbidez, na coleta de setembro/2011	83
Tabela 18 – Sensibilidade dos organismos testes as amostras de NaCl, em g L ⁻¹	85
Tabela 19 - Valores de CE ₅₀ e CL ₅₀ para <i>H. attenuata</i> , expostas as amostras de água e elutriato.....	86
Tabela 20 - Valores de CE ₅₀ e CL ₅₀ para <i>H. attenuata</i> , expostas as amostras filtradas do lodo	87
Tabela 21 – Valores de CI ₅₀ para <i>P. subcapitata</i> , expostas as amostras de água e elutriato	89
Tabela 22 – Valores de CI ₅₀ para <i>P. subcapitata</i> , expostas as amostras filtradas do lodo. ..	89
Tabela 23 - Valores de CL ₅₀ para <i>D. similis</i> , expostas as amostras de água e elutriato.	91
Tabela 24 – Teste crônico de 21 dias e porcentagem (%) de mortalidade para <i>D. similis</i>	93
Tabela 25 – Valores de CL ₅₀ para <i>D. similis</i> , expostas as amostras filtradas.	93

Tabela 26 - Determinações de condutividade elétrica (Cond) e oxigênio dissolvido (OD), no início das exposições do <i>C. xanthus</i> .	94
Tabela 27 - Classificação toxicológica, número de indivíduos mortos e diferença estatística em relação ao controle para <i>C. xanthus</i> .	95
Tabela 28 – Valores de porcentagem de mortalidade, ganho de biomassa e crescimento para <i>D. rerio</i> , expostos as amostras de elutriato.	98
Tabela 29 – Porcentagem de mortalidade e número médio de juvenis de <i>F. candida</i> .	103
Tabela 30 – Valores de CE ₂₀ e CE ₅₀ referente à reprodução de <i>F. candida</i> , expostas as amostras de lodo bruto, filtrado, elutriato e água de lavagem do filtro.	104
Tabela 31 – Resultados médios do crescimento radicular e aéreo do <i>Z. mays</i> , exposto as amostras de elutriato.	107
Tabela 32 - Resultados médios do crescimento radicular e aéreo do <i>Z. mays</i> , exposto as amostras de lodo bruto incorporado ao substrato de referencia.	108
Tabela 33 – Resultados médios da biomassa seca e fresca de <i>Z. mays</i> , expostos as amostras de elutriato.	110
Tabela 34 - Resultados médios da biomassa seca e fresca de <i>Z. mays</i> , expostos as amostras de lodo.	112
Tabela 35 – Elementos químicos, em mg kg ⁻¹ , presentes no digerido das raízes de <i>Z. mays</i> , expostas as amostras de elutriato.	114
Tabela 36 - Concentração dos elementos químicos, em mg kg ⁻¹ , presentes no digerido das raízes de <i>Z. mays</i> , expostas as amostras de lodo.	115
Tabela 37 - Elementos químicos, em mg kg ⁻¹ , presentes no digerido da parte aérea de <i>Z. mays</i> , expostas as amostras de elutriato.	116
Tabela 38 - Elementos químicos, em mg kg ⁻¹ , presentes no digerido da parte aérea de <i>Z. mays</i> , expostas as amostras de lodo.	117

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Etapas do tratamento da água.	26
Figura 2 – Localização da Estação de tratamento de água (ETA) – Capim Fino, Piracicaba, São Paulo, Brasil.	50
Figura 3 - Coleta da água de lavagem do filtro (a) e coleta do lodo do decantador (b) utilizando o coletor de sedimento e lodos.	51
Figura 4 – Organograma das amostras coletadas e dos testes realizados.	53
Figura 5 - Estágios progressivos de intoxicação e degeneração da <i>H. attenuata</i> . Adaptado de Blaise e Kusui (1997).	59
Figura 6 – Teste de mortalidade e crescimento com <i>D. rerio</i>	63
Figura 7 – Detalhes da montagem e desmontagem do experimento, com dois frascos conectados por uma corda, por onde o líquido da irrigação foi absorvido pelas plântulas. ..	67
Figura 8 – Diferença entre a biomassa inicial e final de <i>D. rerio</i> , expostos as amostras de elutriato e, alimentados diariamente por 28 dias.	99
Figura 9 – Diferença entre o tamanho inicial e final de <i>D. rerio</i> , expostos as amostras de elutriato e, alimentados diariamente por 28 dias.	100
Figura 10 – Diferença da biomassa fresca e seca das plântulas de <i>Z. mays</i> , irrigada com elutriato, em relação ao controle.	111
Figura 11 - Diferença da biomassa fresca e seca das plântulas de <i>Z. mays</i> , cultivadas em solos que receberam a incorporação do lodo, em relação ao controle.	112
Figura 12 – Análise de redundância (RDA) dos elementos químicos quantificados na parte aérea de <i>Z. mays</i> , expostas as amostras de lodo.	120
Figura 13 – Análise de redundância (RDA) dos elementos químicos quantificados nas raízes de <i>Z. mays</i> , expostas as amostras de lodo.	121
Figura 14 – Análise de redundância (RDA) dos elementos químicos quantificados na parte aérea de <i>Z. mays</i> , irrigados com as amostras de elutriato.	123
Figura 15 – Análise de redundância (RDA) dos elementos químicos quantificados nas raízes de <i>Z. mays</i> , irrigadas com as amostras de elutriato.	124

LISTA DE ABREVIATURAS E FIGURAS

ABNT – Associação brasileira de normas técnicas

ABV – Alto da Boa Vista

AWWA – American Water Worlds Association

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

CE₅₀ – Concentração efetiva a 50% dos organismos testados

CE₂₀ – Concentração efetiva a 20% dos organismos testados

CL₅₀ – Concentração letal a 50% dos organismos testados

CI₅₀ – Concentração de inibição a 50% dos organismos testados

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

ESALQ – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz

ETA – Estação de tratamento de água

ETE – Estação de Tratamento de esgoto

ETL – Estação de Tratamento de lodo

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICP OES – Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado

ICP MS – Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

IQA – Índice de qualidade de água

ISO – International Organization for Standardization

LD – Limite de detecção dos métodos

MMA – Ministério de meio ambiente

NTU – Unidade Nefelométrica de Turbidez

OECD – Organization for Economic Co-operation and Development

PAC – Hidroxi-cloreto de polialumínio

RDA – Análise de redundância

SABESP – Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo

SEMAE – Serviço municipal de água e esgoto

TXRF – Total reflection X-ray Fluorescence

XRF – Fluorescência de raios - X

WHC – Capacidade de retenção de água

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
2. OBJETIVOS	24
2.1 Objetivos gerais.....	24
2.2 Objetivos específicos.....	24
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	25
3.1 Estações de tratamento de água.....	25
3.1.1 Lodos de ETA.....	28
3.1.2 Destino dos lodos de ETAs	32
3.2 Elementos químicos	36
3.2.1 Técnicas de quantificação dos elementos químicos	38
3.3 Ecotoxicologia	40
3.3.1 Organismos testes.....	42
3.4 Sistema Corumbataí.....	46
4. MATERIAIS E MÉTODOS	50
4.1 Amostra.....	50
4.2 Preparo e Manutenção dos Organismos Testes.....	54
4.2.1 <i>Hydra attenuata</i>	54
4.2.2 <i>Daphnia similis</i>	54
4.2.3 <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	55
4.2.4 <i>Chironomus xanthus</i>	56
4.2.5 <i>Danio rerio</i>	57
4.2.6 <i>Folsomia candida</i>	57
4.3 Testes de toxicidade com organismos aquáticos.....	58
4.3.1 Teste de toxicidade com <i>Hydra attenuata</i>	59
4.3.2 Teste de toxicidade com <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	60
4.3.3 Teste de toxicidade com <i>Daphnia similis</i>	61
4.3.4 Teste de toxicidade com <i>Chironomus xanthus</i>	62
4.3.5 Teste de toxicidade com <i>Danio rerio</i>	62
4.4 Testes de toxicidade terrestre e crescimento vegetal	63
4.4.1 Teste de toxicidade com <i>Folsomia candida</i>	65
4.4.2 Crescimento vegetal com <i>Zea mays</i>	66
4.5 Análises Físicas e químicas da água.....	68

4.6	Análises físicas e químicas do lodo	68
4.6.1	Determinação do Carbono e Nitrogênio.....	69
4.6.2	Determinação dos elementos químicos “pseudo-totais” do lodo	69
4.6.3	Determinações dos elementos “pseudo-totais” em <i>Z. mays</i>	70
4.7	Análises estatísticas	71
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
5.1	Caracterização física e química do lodo	73
5.2	Análises químicas das amostras de água.....	80
5.3	Análises físicas e químicas das amostras	82
5.3	Teste de toxicidade aquática	85
5.4	Teste de toxicidade terrestre	101
5.5	Teste com <i>Z. mays</i>	105
6.	CONCLUSÕES.....	125
	REFERÊNCIAS	128
	ANEXOS.....	148

1. INTRODUÇÃO

A alteração da natureza pela geração e o descarte de resíduo, seja ele orgânico ou industrial vêm ocorrendo desde o início das civilizações, quando o homem primitivo fixou residência e desenvolveu diversas formas de indústrias primitivas para o desenvolvimento da agricultura, cerâmica e para a manufatura de ferramentas.

Entretanto foi após a revolução industrial que os efeitos da produção de resíduos atingiram níveis preocupantes. A crescente degradação ambiental ocasionada pelas atividades industriais, agrícolas e domésticas, aliadas a fragilidade das políticas públicas, a precariedade dos serviços de saneamento e ao crescimento populacional desordenado, deram origem à poluição ambiental, também denominada de crise ambiental.

A crise ambiental é oriunda do desequilíbrio ocasionado pela relação do homem com os recursos naturais e com a geração dos resíduos. O consumo acelerado e desordenado dos recursos naturais, acarreta na geração de resíduos, os quais afetam diretamente a saúde ambiental e diminuem a qualidade de vida no planeta (ESPÍNDOLA; BRIGANTE; DORNFELD, 2003; BRAGA et al., 2005; RAIMUNDO, 2011).

Na crise ambiental a população altera direta ou indiretamente os recursos naturais devidos: aos constantes descartes de resíduos domésticos e industriais, ao consumo acelerado dos bens naturais, as alterações e modificações da natureza, as alterações na cadeia alimentar, a extinção de animais, entre outros fatores. Todos esses fatores levam a que denominamos de poluição, ou seja, alterações das características naturais, causadas naturalmente ou pela ação do homem, que produzem impactos estéticos, fisiológicos ou ecológicos no meio ambiente (BRAGA et al., 2005).

A degradação ambiental afeta praticamente todos os recursos naturais, levando pesquisadores e gestores do mundo todo a buscarem soluções para controlar e preservar esses recursos, sem desconsiderar o essencial para a sobrevivência das espécies, como tem sido observado nas pesquisas com a poluição dos ecossistemas aquáticos continentais (ESPÍNDOLA; BRIGANTE; DORNFELD, 2003).

Os recursos hídricos estão ameaçados não somente pelo mau uso de suas águas, mas também pelas constantes poluições que alteram seus estoques superficiais e subterrâneos, quantitativa e qualitativamente. As alterações quantitativas ocorrem devido à escassez, estiagens e cheias. Já a qualidade das águas é alterada pelo descarte de resíduos domésticos e industriais, lixiviação e o escoamento superficial dos agroquímicos e dos dejetos dos animais, presença de organismos patogênicos e substâncias radioativas, mineração, excesso de nutrientes, sólidos em suspensão, metais pesados, fármacos, alteração da cobertura vegetal, entre outras ocorrências (RIBEIRO et al., 2007; MONTEIRO et al., 2008a).

Dentre os vários usos a que a água se destina, a utilização para o abastecimento humano é considerada a utilização mais nobre e prioritária. Por isso, a utilização de mananciais com bons índices de qualidade de água (IQA) favorecem o tratamento da mesma, uma vez que, quanto menos poluído for o recurso hídrico, menor será o gasto e a utilização dos produtos químicos, essenciais para a potabilidade da água. Consequentemente à água distribuída a população apresenta melhor qualidade, diminuindo os potenciais de riscos que os produtos químicos podem causar a saúde humana (CETESB, 2005).

As estações de tratamento de água (ETAs) tem a finalidade de fornecer água potável, a partir das águas brutas dos mananciais que contem sólidos suspensos, efluentes domésticos e industriais, elementos químicos, bactérias, algas, vírus, entre outros organismos ou outras substâncias tóxicas. No processo de remoção das impurezas é gerado um resíduo industrial denominado, lodo de ETA, o qual reflete a saúde do manancial utilizado e as moléculas adicionadas ao longo do tratamento, como os polímeros, resinas, cloro, cal, carvão e flúor (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

O lodo de ETA ou também chamado de lodo de água é classificado como um resíduo sólido, por isso deve ser tratado e disposto segundo a ABNT NBR 10.004 (2004). A quantidade de lodo gerado é diretamente proporcional: a quantidade de água tratada, a qualidade do manancial e a tecnologia usada no tratamento da água, a qual também influencia nas características do lodo (SARON; LEITE, 2001).

Uma das maiores dificuldade para os serviços de tratamento da água é o custo e o destino do lodo, o qual dependendo de suas características pode ser encaminhado para aterros sanitários, aplicado no solo, incinerado, utilizado na fabricação de cimentos e tijolos e reciclado na matriz de concreto, mas nesses casos

estão envolvidos custos com manuseios, transporte e restrições ambientais. Por isso no Brasil, tradicionalmente, os serviços de tratamento de água descartam seus resíduos no sistema hídrico mais próximo, podendo ser no mesmo manancial utilizado no tratamento, mas a jusante da ETA (OLIVEIRA; HOLANDA, 2008).

O descarte do lodo de ETA, em corpos de água pode ser feito quando houver permissão dos órgãos ambientais, os quais têm estipulado prazos para que esse resíduo seja tratado antes do descarte ou que se encontre uma alternativa para seu destino. Uma vez que, o descarte dos lodos, nos corpos de água pode ser prejudicial à bioata aquática, causar degradação da água e do sedimento e concentrar a carga poluidora, (elementos químicos, coagulantes e outros produtos utilizados no tratamento) que um recurso hídrico já recebe (RICHTER, 2001; HOPPEN et al., 2006).

A quantidade de lodo gerado pelas ETAs é de aproximadamente 0,3 a 1% do volume de água tratada, podendo alcançar até 4%, dependendo das características do manancial utilizado. Por isso quanto mais à população mundial, agricultura, pecuárias e as indústrias como um todo crescem maior quantidade de água é tratada e, conseqüentemente maior quantidade de lodo é gerado (HOPPEN et al., 2006).

A partir de então, esse projeto foi desenvolvido com o intuito de analisar as características físicas, químicas e ecotoxicológicas do lodo gerado pela estação de tratamento de água (ETA) Capim Fino, do serviço municipal de água e esgoto (SEMAE), Piracicaba, São Paulo, Brasil, e, com o intuito de encontrar uma maneira segura e viável de descarte e/ou reutilização desse resíduo.

Assim como as outras pesquisas com lodos de ETAs, esse estudo é relevante para a compreensão das diferentes características do lodo gerado pela ETA, buscando e sugerindo alternativas de descarte, para que a saúde ambiental se mantenha preservada.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

O presente estudo tem como objetivo principal avaliar e relacionar a ecotoxicidade, com as características físicas e químicas das amostras de lodo coletados na estação de tratamento de água (ETA) – Capim Fino, SEMAE, Piracicaba, São Paulo, Brasil.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterização física e química dos lodos gerados durante o tratamento da água, para fins de avaliar a fertilidade dos mesmos;
- Quantificar os elementos químicos presentes nos lodos, assim como identificar a relação de carbono e nitrogênio e a granulometria dessas amostras;
- Determinar as variações do pH, condutividade elétrica da água, oxigênio dissolvido e turbidez, nas amostras de água e elutriato;
- Quantificar os elementos químicos dissolvidos na água e os elementos químicos retidos nas membranas filtrantes, pelas técnicas de TXRF e EDXRF;
- Avaliar a ecotoxicidade do lodo para os organismos aquáticos: *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia similis*, *Hydra attenuata*, *Chironomus xanthus* e *Danio rerio* e para o organismo terrestre *Folsomia candida*;
- Avaliar o potencial germinativo, o crescimento e a biomassa de *Zea mays* cultivadas com as amostras de lodo ou irrigadas com o elutriato, assim como quantificar a concentração de elementos químicos presentes nas raízes e parte aérea das plântulas;
- Analisar estatisticamente os resultados obtidos e correlacionar os dados ecotoxicológicos, das germinações e do crescimento vegetal, com as quantificações dos elementos químicos;
- Discutir as possibilidades de utilização do lodo de ETA, com o intuito de sugerir um ambiente seguro (diferente do aterro sanitário) e viável para a aplicação do mesmo.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Estações de tratamento de água

As estações de tratamento de água (ETAs), também denominadas de indústrias da água, operam mundialmente com o intuito de tratar e disponibilizar água potável à população a partir das águas brutas, superficiais ou subterrâneas. O tratamento da água pode ser realizado por ETAs convencionais, não convencionais ou tratamento por simples desinfecção (geralmente para águas subterrâneas). As ETAs convencionais de ciclo completo são responsáveis por 93% da água tratada no Brasil, representando de $30,5 \times 10^6$ m³/dia de água, essa quantidade pode ser alterada em função da eficiência das ETAs e das estações do ano (IBGE, 2002).

As águas brutas, quando oriundas de recursos hídricos superficiais, normalmente contêm sólidos em suspensão, bactérias, metais pesados, agrotóxicos, resíduos domésticos e industriais, fármacos, entre outras substâncias tóxicas, por isso precisam de tratamento responsável e rigoroso antes da sua distribuição. Durante seu tratamento, as águas recebem: coagulantes, cal, cloro, flúor, resinas, carvão, entre outros produtos químicos, para que assim que passem pelos processos de oxidação, coagulação, floculação, decantação, filtração, desinfecção, fluoretação e correção de pH, sejam transformadas em água potável e distribuída a população de forma segura. Para que a água seja distribuída a população, a mesma deve atender os padrões de potabilidade descritos na Portaria 2.419 de 2011.

As etapas do tratamento de água estão descritos na Figura 1. Cada uma dessas etapas tem uma função específica e importante para o tratamento da água e estão especificados segundo Di Bernardo e Dantas (2005) e SABESP (2012):

Figura 1 - Etapas do tratamento da água

- ✓ Oxidação - injeção do cloro para que os elementos químicos sejam retirados ao longo do tratamento;
- ✓ Coagulação - inserção de coagulantes como: cloreto férrico, sulfato férrico, hidróxido de alumínio, e/ou hidróxi-cloreto de polialumínio (PAC), os quais têm a finalidade de se agregarem aos sólidos suspensos, auxiliando na evolução do tratamento da água;
- ✓ Floculação - movimentação mecânica das águas para facilitar a agregação dos sólidos suspensos aos coagulantes, formando flocos maiores para que os mesmos sejam retidos na decantação e/ou filtração;
- ✓ Decantação – processo que separa a água dos flocos formados nos floculadores, os flocos vão ficando retidos no fundo dos tanques e a água será encaminhada para a filtração;
- ✓ Filtração – processo de remoção das impurezas e clarificação final, os filtros são compostos por camadas de areia, carvão e pedregulho (cascalho) e tem a finalidade de remover as partículas menores, mais leves, que resistiram ao tratamento da água;

- ✓ Desinfecção – adição de cloro para a completa eliminação dos microrganismos patogênicos, garantindo que esta permaneça assim nas redes de distribuição e nos reservatórios;
- ✓ Correção de pH – adição do Cal, para alcalinizar a água que será distribuída a população, evitando assim a corrosão das tubulações da rede de distribuição, das canalizações e das redes das casas, protegendo de possíveis incrustações;
- ✓ Fluoretação – adição do flúor, denominado ácido fluossilícico que reduz a incidência de cárie dentária na população, essa é a ultima fase do tratamento, antes da distribuição a população.

A coagulação e a floculação são etapas essenciais para o início da remoção das partículas. Na coagulação, os produtos químicos adicionados tem a finalidade de desestabilizar as forças que mantêm as partículas separadas, possibilitando contato entre elas, para que as mesmas interajam e formem partículas de tamanho submicroscópico, que aumentarão a velocidade de sedimentação das partículas. Já a floculação, tem a finalidade de transformar as partículas coaguladas de tamanho submicroscópico em partículas mais visíveis, facilitando a sedimentação por gravidade no processo de limpeza da água. Nessa etapa os agregados maiores são formados a partir de um processo mecânico, que mistura os coagulantes aos sólidos suspensos, agregando-os, pelo mecanismo de formação de pontes químicas pelas forças de Van der Waals. (ACHON; CORDEIRO, 2003; PAIXÃO, 2005).

As etapas de coagulação e floculação são influenciadas em função das alterações do pH, o qual também sofre alteração em função do manancial utilizado e do tipo de coagulante empregado no tratamento. Os coagulantes mais utilizados são os sais metálicos (de alumínio ou de ferro) que precipitam e coagulam com maior rapidez e mantêm o pH entre 5,8 e 7,8 (BABBIT; DOLAND; CLEASBY, 1973).

Durante as etapas de transformação da água bruta em água potável é gerada uma grande quantidade de resíduo, o qual recebe a caracterização de resíduo industrial, para tanto deve ser tratado e disposto de acordo com as legislações ambientais. Os resíduos são provenientes das limpezas ou descargas dos decantadores, flotadores e filtros. Em termos volumétricos, a maior quantidade de resíduo é proveniente dos filtros, no entanto, se considerarmos a quantidade

mássica, as etapas de separação sólidos/líquidos são as principais etapas geradoras dos resíduos (DI BERNANRDO; SABOGAL-PAZ, 2008; SILVA et al., 2012).

Entre as etapas de floculação e decantação, como a sedimentação das partículas, se dá principalmente nos decantadores é nesse estágio que se encontra a maior concentração dos resíduos das ETAs, os quais ficam retidos por tempo superior a 24 horas, podendo chegar a quatro meses ou mais, dependendo da quantidade de água tratada, da turbidez e das características das águas dos mananciais recebidas (SILVA et al., 2012).

Os resíduos gerados pelas ETAs refletem a saúde do manancial utilizado, uma vez que contêm os compostos tóxicos presentes nas amostras brutas e as moléculas de sulfato férrico e/ou hidróxido de alumínio, adicionadas como coagulantes. As características e a quantidade de lodo gerado podem variar com a quantidade de sólidos suspensos, compostos orgânicos e inorgânicos, quantidade de compostos adicionados (resinas, cal, cloro, carvão e polímero) e com a tecnologia utilizada (CORDEIRO, 1999; SARON; LEITE, 2001).

3.1.1 Lodos de ETA

O resíduo gerado pelas ETAs é denominado, lodo de ETA ou lodo de água, que em repouso apresenta-se como um gel, mas quando agitado sua estrutura é relativamente líquida, com teor de umidade que varia de 85 a 95%. Mesmo com o alto teor de umidade observado, o lodo é classificado pela ABNT NBR 10.004 (2004), como um resíduo sólido, sendo necessário tratar e dispor o mesmo de acordo com as recomendações de descarte dos resíduos sólidos. O lodo também é caracterizado como um resíduo industrial pela Lei 12.300 do Estado de São Paulo.

De acordo com a ABNT NBR 10.004 (2004), os resíduos sólidos podem ser classificados em: classe I – perigosos ou classe II – não perigosos, os resíduos não perigosos ainda são subdivididos em II A – não inertes e II B - inertes.

Os resíduos são classificados como perigosos quando podem apresentar inflamabilidade; corrosividade; reatividade, toxicidade e/ou patogenicidade. Os resíduos de classe II B – inertes são os resíduos que quando amostrados e analisados segundo ABNT NBR 10.007 (2004) e ABNT NBR 10.006 (2004), não

tiveram nenhum de seus constituintes solubilizados a concentrações superiores aos padrões de potabilidade da água. Já os resíduos de classe II A – não inertes são os resíduos que não se enquadram nas classificações de classe I e nem nas classificações de classe II B inertes, uma vez que podem ter propriedades de biodegradabilidade, combustibilidade ou solubilidade em água.

Os lodos das ETAs tem recebido a classificação de: resíduos classe II A – não inertes, que necessita de uma disposição final adequada. No Brasil, mesmo com essa classificação, os lodos das ETAs, ainda vêm sendo lançados nos corpos hídricos (OLIVEIRA; HOLANDA, 2008; SILVA et al., 2012). O lançamento dos lodos nos corpos hídricos é regulado pela Resolução CONAMA 357 (2005), desde que os descartes obedeçam às condições, padrões e exigências estabelecidas por essa resolução, uma vez que a Lei nº 9433 (1997) estabelece que o lançamento indiscriminado, dos resíduos industriais nos corpos de água se sujeita ao crime de outorga, podendo receber ou não autorização. A falta de respeito e cumprimento das leis ambientais pode resultar em punição civil, administrativa e criminal, de acordo com a Lei nº 9605 (1998), lei dos crimes ambientais. Por isso antes de realizar os descartes dos resíduos, os mesmos devem ser analisados física, química e biologicamente e, descartados de acordo com suas características.

A quantificação de algumas moléculas orgânicas e inorgânicas é uma exigência da Resolução CONAMA 357 (2005), para o descarte dos resíduos e, da Portaria 2.914 (2011), para as águas de consumo humano. Por outro lado, muitas moléculas tóxicas presentes no ambiente aquático, não são analisadas, como é o caso dos contaminantes emergentes (drogas ilícitas, fármacos, produtos de higiene pessoal, protetores solares, estrogênios, líquidos iônicos, adoçantes, nanomateriais, entre outros), os quais não estão previstos nas normas ambientais e na maioria das vezes não são detectados, mas podem causar efeitos negativos na saúde ambiental e humana (RICHARDSON, 2009; RICHARDSON; TERNES, 2011).

Os resíduos gerados pelas ETAs apresentam grande potencial de poluição e contaminação, já que sua composição química é uma mistura complexa e bem diversificada, que contem polímeros e produtos químicos utilizados no tratamento da água, e também contem os resíduos sólidos orgânicos e inorgânicos e os microrganismos presentes nas águas brutas, como as algas, bactérias, vírus, elementos químicos, sólidos suspensos, coloides, areia, argila, silte, contaminantes emergentes, entre outras substâncias (MEGDA; SOARES; ACHON, 2005).

Na Tabela 1, segundo Tsutyia e Hirata (2001) e Di Bernardo e Dantas (2005), estão apresentadas as principais características dos lodos dos decantadores (local de maior geração mássica desse resíduo) de seis ETAs da região metropolitana de São Paulo. Em todas as ETAs, os valores de alumínio e ferro são elevados, mas mesmo assim é possível identificar as estações que utilizam os sais de alumínio (Guaraú, Rio Grande e Alto Cotia) das ETAs que utilizam os sais de ferro no tratamento da água (Alto da Boa vista - ABV e Rio Claro).

Tabela 1 - Características dos lodos dos decantadores de ETAs da região metropolitana de São Paulo

Parâmetros	Guaraú	ABV	Rio Claro	Rio Grande	Alto Cotia
Alumínio (mg kg^{-1})	65.386	7.505	6.690	83.821	95.541
Cobre (mg kg^{-1})	23	1.109	14.883	25	<5
Ferro (mg kg^{-1})	32.712	281.508	449.774	32.751	30.080
Fluoretos (mg kg^{-1})	152	86	150	42	38
Manganês (mg kg^{-1})	3.146	1.684	6.756	136	453
Sódio (mg kg^{-1})	6.609	1.027	41.482	563	433
Zinco (mg kg^{-1})	59	57	75	47	66
Organoclorados ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	ND	0,02	0,02	NA	ND
Carbamatos ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	ND	8,4	ND	NA	ND
Sólidos totais ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	24.957	17.412	14.486	11.043	10.692

Fonte: Di Bernardo e Dantas (2005) / ND= não detectado; NA= não analisado

ABV – Alto da Boa vista

As variações das concentrações dos elementos químicos, sólidos totais e agrotóxicos são originárias da qualidade da água bruta, do tipo de coagulante utilizado, do grau de pureza dos mesmos e, também da quantidade de água tratada pela ETA e do tempo de retenção do lodo no decantador.

Destas estações, a ETA do Guaraú, que utiliza a água do sistema Cantareira é a maior delas, tratando 32,7 mil litros de água por segundo, seguida pela ETA do Alto da Boa Vista (ABV), a qual capta a água da represa de Guarapiranga e trata 13,8 mil litros de água por segundo. Já as ETAs Rio Grande, Rio Claro e Alto Cotia, tratam: 4,7; 3,9; 1,1 mil litros de água por segundo, respectivamente (SABESP, 2012).

A qualidade e quantidade dos lodos das ETAs, também podem ser alteradas em função da utilização das descargas diárias para a remoção do excesso do lodo retido no fundo dos decantadores. Segundo Di Bernardo e Sabogal-Paz (2008), a quantidade de lodo gerado, a qual não é controlada pelas ETAs, depende de alguns fatores como: qualidade da água bruta e tecnologia do tratamento; características de coagulação (tipo e dosagem do coagulante); uso de oxidante e adsorvente (carvão ativado); método e técnicas de limpeza dos decantadores e filtros; habilidade dos operadores; automação de processos e operações na ETA e reuso da água recuperada no sistema de tratamento.

O tipo de coagulante utilizado e seu grau de pureza são variáveis importantes de serem analisadas, já que os coagulantes auxiliam na geração de resíduos pelas ETAs. Por isso, para estimar a quantidade de lodo produzido por uma determinada ETA é necessário considerar a quantidade de sólidos suspensos na água e a quantidade de sólidos produzidos pelos coagulantes (AWWA, 1999).

Os cálculos utilizados para se estimar a quantidade de resíduo produzido pelos mais variados coagulantes encontram-se descritos em AWWA (1999); Di Bernardo e Sabogal-Paz (2008); Ferreira Filho e Waelkens (2009). Nos cálculos, os valores de “sólidos suspensos totais” têm sido substituídos pela “turbidez”, uma vez que esse parâmetro é comumente determinado no tratamento da água. As fórmulas utilizadas para calcular o sulfato de alumínio e o cloreto férrico, se encontram descritas nas Fórmulas (1) e (2), respectivamente. Essas fórmulas podem ser utilizadas para todos os polímeros, desde que altere a variante do coagulante.

$$P_{ss} = Q (4,89D_{Al} + SST + D_P + D_{CAP} + 0,1D_{Cal}) \times 10^{-3} \quad (1)$$

$$P_{ss} = Q (2,9D_{Fe} + SST + D_P + D_{CAP} + 0,1D_{Cal}) \times 10^{-3} \quad (2)$$

Onde:

P_{ss} = Produção de SST (kg dia^{-1})

Q = vazão da água bruta a ser tratada ($\text{m}^3 \text{dia}^{-1}$)

D_{Al} = dosagem de alumínio (mg Al L^{-1})

D_{Fe} = dosagem do cloreto férrico anidro (mg Fe L^{-1})

SST = concentração de sólidos suspensos totais na água a ser tratada (mg L^{-1})

D_P = dosagem de polímero seco (mg L^{-1})

D_{CAP} = dosagem de carvão ativado pulverizado (mg L^{-1})

D_{Cal} = dosagem de cal hidratada (mg L^{-1})

Segundo a AWWA (1999) a quantidade de sólidos produzidos pelos coagulantes varia de 0,7 a 2,2 mg para cada 1 mg de coagulante, o hidróxi-cloreto de polialumínio (PAC) é um dos coagulantes que gera menor quantidade de resíduo, ou seja, para cada 1 mg de PAC é gerado 0,8 mg de sólidos, por isso o seu uso em ETAs tem aumentado.

A porcentagem de lodo gerado pelas ETAs pode variar de 0,1 a 4,0% (1.000 a 40.000 mg L⁻¹), destes de 75 a 90% são sólidos suspensos e de 20 a 30% são compostos voláteis que podem ser oxidados (RICHTER, 2001). A proporção de sólidos suspensos pode aumentar nos períodos de maior vazão, quando os materiais particulados são lixiviados e posteriormente carregados pelos rios.

Já alguns autores como Tsutiya e Hirata (2001) e Hoppen et al. (2005) estimam que a porcentagem de lodo gerado pelas ETAs pode variar de 0,3 a 1% (3.000 a 10.000 mg L⁻¹). Em virtude disso, Hoppen (2004) e Hoppen et al. (2005), considerando a porcentagem de 0,3 a 1,0% de resíduo gerado, estimaram que uma ETA que trata 2,4 mil litros de água por segundo, produz em torno de 1,8 toneladas de lodo por dia. Enquanto que para ETAs como a Guaraú que trata 32,7 mil litros de água por segundo, a quantidade de lodo gerado por dia, pode passar de 20 toneladas.

3.1.2 Destino dos lodos de ETAs

As buscas por alternativas técnicas, econômica e ambientalmente viáveis e vantajosas para o descarte do lodo, atualmente é um dos grandes desafios das ETAs, as quais juntamente com os pesquisadores vêm buscando, desde os anos 80, alternativas que minimizem a geração do lodo (DI BERNARDO; SABOGAL-PAZ, 2008; FERREIRA FILHO; WAELEKENS, 2009) e possibilitem o descarte e/ou a reutilização desse material (CORDEIRO, 1981; CORDEIRO, 1993; TSUTIYA; HIRATA, 2001; SCALIZE, 2003; HOPPEN, 2004; PAIXÃO, 2005; JANUÁRIO; FERREIRA FILHO, 2007; ROSARIO, 2007; OLIVEIRA; HOLANDA, 2008). A utilização benéfica, como matéria prima, do lodo da ETA, pode ser considerada uma oportunidade para as reduções da quantidade de produtos formulados e recursos

naturais utilizados, dos gastos com transporte e deposição em aterros sanitários e, dos impactos ambientais associados a este resíduo (HOPPEN, 2004).

Na busca por métodos alternativos de descarte e/ou utilização dos lodos das ETAs, alguns parâmetros devem ser considerados como: quantidade e características físicas, químicas, biológicas e ecotoxicológicas do lodo da ETA, as vantagens e desvantagens dos métodos escolhidos e os impactos ambientais envolvidos.

Os destinos atuais do lodo e, os propostos são:

- Lançamento em cursos de água;
- Lançamento no mar;
- Lagoas;
- Descarte em solo;
- Disposição em aterro sanitário;
- Incineração;
- Fabricação de cimento e tijolos;
- Incorporação em matriz de concreto;
- Lançamento na rede de esgotos sanitários (ETE);
- Condicionante de solo para a germinação de sementes;
- Recuperação de áreas erodidas;
- Codisposição com biossólidos (compostagem)

Os lançamentos dos lodos em ambientes aquáticos (cursos de água, lagoas e no mar) por muito tempo foi e, continua sendo uma das práticas mais adotadas de descarte do lodo no Brasil. O lançamento do lodo, no ambiente aquático só pode ser realizado, se os mesmos, obedecerem às condições, padrões e exigências estabelecidos pela Resolução CONAMA 357 (2005). O descarte nos rios é vantajoso para as ETAs porque é o método de disposição mais econômico, rápido e dinâmico, por outro lado é um dos métodos que mais efeitos adversos pode causar.

A degradação das águas e dos sedimentos, assim como as alterações na biota aquática são os principais fatores resultantes da presença dos coagulantes e dos outros produtos químicos utilizados no tratamento, os quais auxiliam no aumento dos resíduos sólidos e da turbidez, diminuindo consequentemente os processos fotossintéticos, também levando ao entupimento das brânquias, alteração da condutividade elétrica e, mortalidade de organismos mais sensíveis. Além do que, esses resíduos são considerados pela ABNT NBR 10.004 (2004) como um resíduo sólido, o qual deve ser disposto de acordo com as legislações e, não nos

corpos hídricos (PADILHA, 2007; MESSIAS, 2008; MONTEIRO et al., 2008b; BURTON; JOHNSTON, 2010).

A utilização do lodo na fabricação de blocos cerâmicos (tijolos), cimento e na incorporação em matriz de concreto têm tido sucesso nos Estados Unidos e na Europa, já que o lodo pode fornecer argila, xisto, bauxita e minérios de ferro, essenciais a fabricação desses produtos. As desvantagens dessas utilizações são: o gasto com o transporte do lodo, a necessidade de pelo menos 30% de sólidos, podendo ser necessário 50% de sólidos, a presença de matéria orgânica, areia, cal, antracito, metais pesados e carvão ativado, os quais diminuem a eficiência e a qualidade dos produtos, podendo até inviabilizar sua utilização (TEIXEIRA et al., 2006; SABOGAL-PAZ, 2007; PAIXÃO et al., 2008).

As disposições em aterros sanitários, nos solos e/ou a incineração, segundo Reali (1999) e Richter (2001), devem ser utilizadas apenas em última opção, uma vez que o lodo pode causar direta ou indiretamente a poluição atmosférica, terrestre e aquática, assim como sobrecarregar o ambiente receptor. Há restrições de disposições dos lodos em aterros sanitários ou em solos, por isso, os mesmos necessitam de pré-tratamentos, que devem ser considerados, já que elevam o custo com os transportes e com as disposições. Também devem ser considerados os possíveis riscos ambientais relacionados ao transporte do resíduo, assim como a falta de estrutura dos aterros e dos solos que receberão o lodo.

Os lançamentos dos lodos nas redes coletoras de esgotos, assim como sua utilização em processos de compostagem (codisposição como biossólidos) pode auxiliar positivamente no controle do gás sulfídrico, ajuste do pH e da umidade, fornecimento de traços minerais e no aumento do volume final do produto. Na ETE, o lodo da ETA ainda pode aumentar a eficiência dos decantadores primários e a diminuição das concentrações do fósforo e dos patógenos. Entretanto, a falta de estudos na incorporação do lodo na compostagem e, a alta concentração dos coagulantes e dos outros metais podem inibir os processos biológicos das ETES (AWWA, 1992; HOPPEN, 2004; NUNES, 2010; SENA, 2011).

O lodo ainda pode ser aplicado como condicionante de solo para: germinação de sementes, grama comercial para campos de atividades esportivas, parques, cemitérios, jardinagem de rodovias e na recuperação de áreas erodidas. Para tanto estudos devem ser realizados, considerando o acúmulo de metais no solo e a absorção de nutrientes pelas plantas. As vantagens dessas aplicações são: o

aumento da aeração, estruturação, do pH, adição de traços minerais e melhoria na capacidade de retenção de líquidos nos solos. Em solos deficientes em ferro, o lodo também promove o aumento da concentração desse elemento, como tem sido observado nos Estados Unidos, no cultivo da laranja e do limão, os quais consideram eficiente a aplicação de lodos (ASCE e AWWA, 1996; SABOGAL-PAZ, 2007; DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

No Brasil, atualmente não existe leis que regulem a aplicação do lodo da ETA, na recuperação de áreas degradadas ou em solos agrícolas, o CONAMA 375 (2006) faz referência apenas ao uso agrícola do lodo gerado pela ETE. A aplicação do lodo da ETA na agricultura pode ser desinteressante devido às baixas concentrações de matéria orgânica e nutrientes, ao alto custo com transporte do material, a necessidade de um efetivo acompanhamento do resíduo, evitando assim impactos ambientais, e a indisponibilidade do fósforo que pode ser observada, devido à presença dos sais de alumínio (ASCE; AWWA, 1996; SABOGAL-PAZ, 2007; DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

Segundo Teixeira (2005) e Silva; Melo e Teixeira (2005), o lodo de ETA pode ser disposto em áreas degradadas, já que tem a capacidade de elevar os teores dos macronutrientes e estabilizar o pH do solo, porém em altas concentrações pode ocasionar a salinidade do solo. Por isso, para fins de recuperação das áreas degradadas e a incorporação no solo, para o fornecimento dos macronutrientes, sua aplicação deve estar associada a um resíduo orgânico, como serragens, palha de cana-de-açúcar, produtos de compostagens, esterco bovinos, entre outros compostos.

Já segundo Sabagg e Morita (2004), a aplicação do lodo da ETA, como fertilizante está condicionada a concentração de alumínio, a qual deve ser menor que 25%. A aplicação do lodo além de fornecer os macronutrientes, essenciais às plantas, reduzindo o custo com fertilizantes, também aumenta a capacidade de retenção da água e a aeração do solo, diminuindo a compactação dos mesmos e melhorando o desenvolvimento radicular. A taxa de aplicação do lodo deve ser controlada, já que tanto o ferro quanto o alumínio se combinam com o fósforo, reduzindo a absorção pelas plantas. Por isso, antes de adotar qualquer uma dessas alternativas é necessário conhecer as características físicas, químicas, biológicas e ecotoxicológicas desses resíduos, para que os mesmos não causem impactos ambientais.

3.2 Elementos químicos

Os termos metais pesados, metais tóxicos e elementos traços são algumas denominações dadas a um grupo de elementos químicos. Esses termos vêm sendo utilizados desde a década de 80, mas desde então, não há uma definição consensual regulada por entidades científicas, por isso, o termo escolhido está mais relacionado às áreas de pesquisa, as ocorrências ambientais e ao enfoque dos pesquisadores (KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007). A denominação de metais pesado está baseada no peso específico do elemento químico o qual deve ser superior 5 g cm^{-3} ou número atômico maior que 20 (MALAVOLTA et al., 2006).

Os elementos químicos constituem-se parte integrante do ambiente e da matéria viva, ocorrendo naturalmente em pequenas concentrações, embora possam ocorrer em concentrações mais elevadas devido as introduções dos mesmos, no ambiente, por processos naturais ou antropogênicos. A introdução natural desses compostos ocorre por processos físicos e químicos, como as lixiviações dos solos e das rochas e as atividades vulcânicas (MENDES, 2004).

Já a introdução dos elementos químicos pela ação humana, pode ocorrer por lixiviações e escoamentos superficiais dos agroquímicos e de outros produtos utilizados na agricultura, assim como pelos descartes dos resíduos industriais (mineração, fundição, cerâmica, galvanoplásticas, automobilísticas, fertilizantes, papel, têxtil, ETAs e usinas) e domésticos, como: óleos, fármacos e produtos de higiene pessoal (PIERZYNSKI; SIMS; VANCE, 2000; GUILHERME et al., 2005; KHAN et al., 2008). As ETAs, ao mesmo tempo que utilizam, também descartam grande quantidade de elementos metálicos como cádmio, chumbo, cobre, níquel, zinco, manganês, alumínio e ferro (WILSON; PYATT, 2007; KHAN et al., 2008).

Entre os elementos químicos encontrados no ambiente, os elementos químicos: Fe, Zn, Mn, Cu, Co, Mo e B são essenciais aos seres vivos, por participarem dos processos fisiológicos da cadeia respiratória. O Fe, Zn, Cu, Mn e Ni são essenciais por agirem como cofatores enzimáticos de plantas, mamíferos e microrganismos. Por outro lado, alguns elementos como o Hg, Pb, Cr e o Cd, não possuem função biológica conhecida e comumente apresentam efeitos deletérios a fauna e a flora (MENZIES; DONN; KOPITKE, 2007; RODRIGUES et al., 2010).

O aumento das concentrações dos elementos químicos tem despertado o interesse e a preocupação da comunidade científica, em relação ao destino, aos efeitos e aos comportamentos desses compostos, os quais podem ser caracterizados como poluentes conservativos, não biodegradáveis e bioacumuláveis nos seres vivos e no ambiente, já que por atravessarem o ciclo hidrológico global são encontrados em todas as partes do mundo (MORAES, 2009).

É importante lembrar que tanto os metais considerados macro e micronutrientes (metais essenciais), quando encontrado em concentrações elevadas, podem ser tóxicos a diversos organismos vivos incluindo a espécie humana, por isso pode-se dizer que “a dose faz o veneno” (MALAVOLTA et al., 2006; ZHAO; MCGRATH; MERRINGTON, 2007).

O efeito tóxico dos elementos químicos sobre a biota depende: da forma físico-química do elemento (especiação), das características físico-químicas do ambiente (água, sedimento, resíduo), da biodisponibilidade, da mobilidade, da bioacumulação, entre outros fatores. A especiação é uma característica importante para a biodisponibilidade e a toxicidade, uma vez que, diferentes espécies químicas de um mesmo elemento apresentam diferentes efeitos biológicos (BURTON; JOHNSTON, 2010).

Atualmente, sabe-se que diversas descargas industriais contêm uma complexa mistura de substâncias que podem não apresentar efeitos agudos, mas que são capazes de reduzir, em longo prazo, a sobrevivência de um organismo, por promover danos ao material genético de suas células somáticas e germinativas, relacionadas às desordens genéticas hereditárias e ao câncer. Para tanto a necessidade de se conhecer as concentrações dos elementos químicos presentes nos recursos naturais e nos alimentos, sejam eles de origem animal ou vegetal, se faz necessário nos dias atuais, principalmente devido as constantes alterações e degradações ambientais observadas (MORAES; JORDÃO, 2002).

Para quantificar os elementos químicos são utilizadas técnicas de digestão das amostras e leituras dos mesmos, em equipamentos especializados. Para a avaliação da biodisponibilidade dos compostos e seus efeitos deletérios na fauna e flora são utilizados os testes ecotoxicológicos com invertebrados aquáticos, terrestres e espécies vegetais (MESSIAS, 2008; MORAES, 2009; ALMEIDA, 2011).

3.2.1 Técnicas de quantificação dos elementos químicos

A caracterização química das amostras ambientais pode ser realizada por diversas técnicas, as quais vão desde os métodos clássicos (gravimetria, volumetria, entre outros) até os métodos instrumentais. Entretanto para a quantificação dos elementos químicos presentes em baixas concentrações faz-se necessária a utilização de técnicas suficientemente sensíveis e versáteis, que forneçam uma gama de informações coerentes e precisas, em curto espaço de tempo. A fim de satisfazer essas necessidades, várias técnicas instrumentais foram desenvolvidas, as quais vão desde as técnicas de espectrometrias até as ativações por nêutrons (NORDBERG et al., 2007; SROGI, 2008).

Algumas das técnicas instrumentais que tem sido utilizada em análises de amostras ambientais são: espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP MS) e a espectrometria de fluorescência de raios X (MENEGÁRIO et al., 2007; ALMEIDA et al., 2011; MACIEL et al., 2012).

A técnica de ICP OES tem sido utilizada no Brasil desde os anos setenta, quando foram instalados os primeiros equipamentos. Desde então os seus componentes ópticos e sistemas de detecção vem sendo aprimorados a fim de obter resultados mais exatos, um exemplo disso é o emprego da quantificação axial do plasma a qual proporciona melhores limites de detecção em relação à vista radial, a qual focaliza apenas uma parte da radiação. Por outro lado, os novos equipamentos possuem configurações com ambas as vistas (radial e axial) de detecção, o que melhora a versatilidade da técnica e fornece mais informações dos elementos químicos presentes e da homogeneidade destes nas amostras (MENEGÁRIO et al., 2007).

A versatilidade da técnica de ICP OES se deve ao grande número de elementos que podem ser determinados de forma rápida e precisa, principalmente quando se dispõe de espectrômetros que fazem medições simultâneas, com vistas de observação radial e axial. O custo acessível dessa técnica, a facilidade de operação dos ICP OES e à variedade das amostras analisadas, as quais podem ser: geológicas, ambientais, siderúrgicas, medicina, biologia, agricultura, alimentos, entre outros, também são algumas vantagens dessa técnica (NORDBERG et al., 2007; MENEGÁRIO et al., 2007; SROGI, 2008; SULEIMAN et al., 2008).

A espectrofotometria de massas teve sua origem, em 1912, com os experimentos desenvolvidos por J.J. Thomsom, e a partir de então tem sido cada vez mais estudada e adaptada às necessidades das análises atuais. A ICP MS é um tipo de espectrometria de massas que é capaz de detectar metais e alguns não-metais em concentrações muito baixas, isso é possível devido a ionização das amostras pelo plasma indutivamente acoplado e, em seguida o espectrômetro separa e quantifica os íons. Essa técnica tem sido aceita mundialmente e sua popularização se deve as suas diversas vantagens que são: alta sensibilidade, com limites que podem variar de 1 a 100 ng L⁻¹, capacidade multielementar de análise quantitativa e semiquantitativa, possibilidade de calibração diretamente com padrões aquosos e habilidade para medir razões elementares isotópicas e inclusive determinar o urânio (GARDOLINSKI et al., 2002; BOCCA et al., 2007).

Assim como o ICP OES, o ICP MS pode e tem sido utilizado para a detecção dos elementos químicos em uma variedade de amostras, nas diferentes áreas de pesquisa. Atualmente essa técnica tem sido muito utilizada na medicina forense e, especificamente na toxicologia para a detecção de casos de envenenamentos e exposições aos elementos químicos. No entanto o ICP MS é mais susceptível a traçar e quantificar contaminantes de vidrarias e de reagentes, por isso, essa técnica exige um ambiente mais isolado e uma equipe bem preparada para a manipulação do equipamento, o custo das análises também são mais elevados (BOCCA et al., 2007; NORDBERG et al., 2007; BATISTA et al., 2008; POZEBON et al., 2008; SROGI, 2008).

A espectrometria de raios X (XRF) é uma técnica bem estabelecida para análise elementar de diferentes matrizes sólidas e, assim como a ICP OES e ICP MS, a fluorescência de raios X também é uma técnica multielementar, com custo e tempo de análise aceitável, alta versatilidade e de fácil automação. Entretanto a análise direta de amostras líquidas na determinação elementar por XRF tem mostrado limitações, já que essas amostras não podem ser analisadas sob vácuo e por isso a determinação se limita aos elementos de baixo número atômico (MARGUI et al., 2010).

A sensibilidade dessa técnica pode ser aumentada se utilizada à técnica de fluorescência de raios X dispersiva em energia por reflexão total (TXRF), mas mesmo assim a sensibilidade da TXRF não é suficiente para a determinação de alguns elementos traço, em amostras de águas naturais. Por isso tem sido

desenvolvidas técnicas de pré-concentração dos elementos químicos por difusão em filmes, para que as detecções sejam possíveis (ALMEIDA, 2011). Mesmo assim essa técnica tem sido muito utilizada nas análises de amostras ambientais, uma vez que os contaminantes presentes em altas concentrações são facilmente detectados (NORDBERG et al., 2007; SROGI, 2008; ALMEIDA et al., 2011; TAVARES et al., 2011).

3.3 Ecotoxicologia

O termo ecotoxicologia foi utilizado pela primeira vez pelo cientista Francês René Truhaut, em 1969, em uma reunião em Estocolmo e, posteriormente foi utilizado para definir a ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas (agroquímicos, corantes, resíduos industriais e domésticos) sobre os organismos vivos, populações, comunidades e, o meio ambiente na sua totalidade (PLAA, 1982; ADAMS, 1995).

O objetivo dessa ciência é compreender como os ecossistemas metabolizam, transformam, degradam, eliminam, acumulam e sofrem a ação da toxicidade das diversas substâncias químicas neles introduzidas. Está fundamentada no princípio de que a resposta dos organismos vivos depende da concentração do composto químico a que foram submetidos, do sinergismo e antagonismo das moléculas, do tempo de exposição, da idade e das condições de saúde dos organismos (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

No Brasil, o seu desenvolvimento começou após a participação da CETESB, em um programa internacional de padronização dos testes agudos desenvolvidos com peixes, pela ISO em 1975. A padronização e o conhecimento da capacidade de utilização dos organismos testes, principalmente os aquáticos, nos estudos dos efluentes líquidos complexos ou das interações entre os compostos tóxicos presentes nos efluentes, acelerou o desenvolvimento dessa ciência (OGA; SIQUEIRA, 2003).

Desde então, os testes ecotoxicológicos vêm sendo desenvolvidos com amostras ambientais de solos, sedimentos, rios, represas e lençóis freáticos, os quais podem receber substâncias tóxicas por escoamento superficial e lixiviamento dos dejetos dos animais, de agrotóxicos e fertilizantes utilizados nas plantações (MOREIRA-SANTOS; SOARES; RIBEIRO, 2004; TORIBIO; ROMANYÀ, 2006;

ARMAS et al., 2007; SILVA; SANTOS, 2007; ROSA et al., 2007). Esses testes têm tido sucesso nas caracterizações dos agentes tóxicos, já que detectam a contaminação das águas dos rios (KOUKAL et al., 2004; CHRISTENSEN; NAKAJIMA; BAUM, 2006; MONTEIRO et al., 2008b; DORNFELD et al., 2009; CHRISTENSEN, 2010; NOVELLI et al., 2012) lagos, reservatórios, sedimentos, solos agriculturáveis (BETTINETTI; CROCE; GALASSI, 2005; ALMEIDA; ROCHA, 2006; HSU et al., 2007; ABRANTES et al., 2009; HOSS et al., 2011; MOSCHINO; DELANEY; DA ROS, 2012), e efluentes industriais líquidos ou sólidos (DELLAMATRICE et al., 2005; RA et al., 2007; ROSA, et al., 2007; BLAISE et al., 2008; ABRANTES et al., 2009; QUINN, GAGNE, BLAISE, 2009; FERRAZ; GRANDO; OLIVEIRA, 2011).

Uma das vantagens da utilização dos testes ecotoxicológicos, em relação às quantificações dos elementos químicos é a possibilidade de utilizá-los em estudos de impactos atmosféricos, terrestres e aquáticos, com o intuito de observar o impacto que as substâncias químicas puras ou as misturas complexas exercem sobre os organismos vivos, abrangendo todo ou apenas algumas etapas do ciclo de vida (JARDIM, 2004). Os testes ecotoxicológicos, também são um dos meios mais eficientes para se conhecer os impactos que os resíduos domésticos e industriais podem causar nos ecossistemas aquáticos e terrestres, na fauna e na flora. Considerando não apenas as concentrações dos compostos tóxicos, mas também, o sinergismo, antagonismo e a biodisponibilidade desses compostos, refletindo assim a qualidade ambiental e as condições de sustentabilidade do ecossistema (NATAL-DA-LUZ et al., 2009a).

Além de que as realizações desses testes podem ser feitas em curto espaço de tempo, os custos são acessíveis e requerem uma estrutura relativamente simples para o desenvolvimento dos mesmos. Os resultados dos testes desenvolvidos com indicadores biológicos de qualidade da água e do solo que são padronizados mundialmente (MOREIRA-SANTOS; SOARES; RIBEIRO, 2004), possibilitam a comparação mundial da sensibilidade dos organismos e a toxicidade das amostras nos diferentes níveis tróficos, ao longo da cadeia alimentar (DIAZ-BAEZ et al., 2002; DAVOREN; FOGARTY, 2004; OBERHOLTER; BOTHA; CLOETE, 2008).

Para se compreender e analisar os efeitos das substâncias tóxicas é observado primeiramente, à toxicidade aguda, ou seja, os efeitos em geral severos e rápidos sofridos pelos organismos expostos às substâncias tóxicas, em um curto

período de tempo que varia de um a quatro dias. Já os testes crônicos fazem parte da segunda etapa de análise e fornecem informações mais detalhadas sobre os efeitos subletais e a letalidade relativa de um composto tóxico (CHIOCHETTA, C.; CHIOCHETTA, M., 2006; PRETTI et al., 2009; ROSA et al., 2010).

Devido à ocorrência da diluição e da adsorção dos poluentes, os organismos podem estar expostos a concentrações chamadas de subletais, que não leva a morte dos organismos, mas pode causar distúrbios fisiológicos, comportamentais e afetar a comunidade biológica, quando em contato constante com esses agentes. As reduções na sobrevivência, no crescimento e no sucesso reprodutivo têm importância ecológica, uma vez que estes podem reduzir a diversidade e, até levar a extinção de alguma espécie. Como esses efeitos não são detectados em testes de toxicidade aguda se faz necessário o uso do teste de toxicidade crônica, o qual embora mais complexo, também é mais sensível, permitindo a avaliação dos efeitos adversos mais sutis aos organismos expostos (ESPÍNDOLA; BRIGANTE; DORNFELD, 2003; BLAISE; FÉRARD, 2005; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Os critérios de avaliação do teste de toxicidade aguda e crônica são a mortalidade, imobilidade, alterações morfológicas e fisiológicas, crescimento e capacidade reprodutiva dos organismos-teste, em relação a uma curva de dose/resposta que conduz ao cálculo do CL_{50} (concentração letal), CE_{50} (concentração efetiva) e CI_{50} (concentração da inibição do crescimento). Esses valores representam a concentração da substância tóxica necessária para afetar 50% dos organismos testados. Essa concentração é estimada pela exposição dos organismos a uma série de concentrações das soluções. Para os testes serem considerados aceitáveis e válidos, a sobrevivência no controle deve ser de no mínimo 90% (ABNT, 2004).

3.3.1 Organismos testes

A escolha dos indicadores de qualidade ambiental que serão utilizados nos testes ecotoxicológicos deve ser feita de maneira coerente com o ambiente em estudo, respeitando sua representatividade e considerando que os organismos apresentem boa relação de custo-benefício, sensibilidade constante a diversos agentes químicos, possibilidade de manutenção em laboratório, fácil manejo,

pequeno porte, ciclo de vida curto, importância para a estrutura e funcionamento do sistema e estabilidade genética (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006; MONTEIRO et al., 2008b).

Os organismos utilizados para avaliação da toxicidade podem ser de diferentes níveis tróficos e/ou funcionais, de preferência os organismos devem pertencer aos níveis tróficos padronizados mundialmente. O uso de mais de uma espécie está fundamentada na informação de que nenhuma espécie é sensível a todas as substâncias tóxicas e sua sensibilidade varia de acordo com o agente tóxico e com as condições ambientais (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006; MONTEIRO et al., 2008b; ROSA et al., 2010).

Alguns organismos que se encaixam nos requisitos citados por Zagatto e Bertolletti (2006) e Monteiro et al. (2008b) são: *Pseudokirchneriella subcapitata* (produtor), *Daphnia similis* (consumidor primário), *Hydra attenuata* e *Chironomus xanthus* (consumidores secundários), *Danio rerio* (consumidor secundário e terciário), *Folsomia candida* (consumidor primário) e a espécie de monocotiledônea, *Zea mays* (produtora). Todas essas espécies são utilizadas para avaliar as amostras ambientais, resíduos indústrias, produtos químicos, fertilizantes, fármacos, entre outras substâncias (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006; PADILHA, 2007; JARDIM; ARMAS; MONTEIRO, 2008), por isso estão apresentadas nos parágrafos seguintes.

A *P. subcapitata* é uma microalga de distribuição cosmopolita em corpos d'água, pertencente à família Selenastraceae. No gênero *Pseudokirchneriella* são encontradas células lunadas unicelulares e fotoautotróficos, que se reproduzem por autósporos. Devido a sua distribuição cosmopolita essa espécie tem sido amplamente utilizada em estudos de ecotoxicidade de poluentes ambientais, além de serem recomendadas no registro de agentes químicos e pesticidas por órgãos ambientais nacionais e internacionais (OLIVEIRA, 2007). A *P. subcapitata* é padronizada mundialmente pela Organisation for Economic Co-operation and Development – OECD 201 (1984) e, utilizada para avaliar o crescimento e imobilidade (MOREIRA-SANTOS; SOARES; RIBEIRO, 2004; PRETTI et al., 2009; ROSA et al., 2010; VANNINI et al., 2011).

A *D. similis*, também conhecida como pulga d'água, é um microcrustáceo de água doce pertencente à família Daphniidae que mede em torno de 0,5 a 5,0 mm de comprimento, possui olho composto (sensível às mudanças da luminosidade) e o corpo protegido por uma carapaça bivalve transparente, exceto a cabeça e as

antenas. São organismos filtradores que consomem principalmente algas, bactérias e detritos orgânicos, apresentam ciclo de vida de aproximadamente 40 dias a 20°C e, se reproduzem por partenogênese (OLIVEIRA, 2007).

As populações são predominantemente de fêmeas, a maior parte do ano, em laboratório, onde as condições são controladas, a presença dos machos pode estar associada às baixas temperaturas, excesso de organismos e baixa disponibilidade de alimento (CETESB, 2005). As daphnias são organismos padronizados mundialmente pela Organisation for Economic Co-operation and Development – OECD 211 (1998), que estão sendo utilizadas em testes de alterações morfológicas, reprodução e mortalidade (WEYERS et al., 2000; BEATRICI et al., 2006; SOTERO-SANTOS; ROCHA; POVINELLI, 2007; MESSIAS, 2008; FERREIRA et al., 2011; NOVELLI et al., 2012).

H. attenuata são celenterados de água doce pertencente à família Hydridae, encontrados em todos os corpos de águas continentais, exceto na Antártida e em profundidades com ausência de oxigênio. Esses organismos possuem reprodução assexuada por brotamento, vida sésil e simetria radial do corpo principal, que é formado por um cilindro alongado de 2 a 25 mm de comprimento. Na superfície do seu corpo são encontrados de cinco a seis tentáculos, distribuídos em círculo ao redor da boca, os quais tem a finalidade de capturar os alimentos (BOSCH, 2007; MASSARO, 2011).

As hydras não se encontram padronizadas, pelas agências ambientais, entretanto são atrativas nos estudos ecotoxicológicos, por apresentarem mudanças morfológicas em condições de progressiva intoxicação, sua estrutura corporal e a presença dos tentáculos intensificam seu potencial de detectar a toxicidade, assim como fornece ao avaliador respostas rápidas e coerentes e, sua distribuição cosmopolita justifica sua utilização nos diferentes países (TROTTIER et al., 1997). Por isso, esses organismos têm sido utilizados em testes de alterações morfológicas, mortalidade, reprodução, regeneração e bioacumulação (ARKHIPCHUK; BLAISE; MALINOVSKAYA, 2006; QUINN; GAGNE; BLAISE, 2009; VERNOUILLET et al., 2010; FERREIRA et al., 2011; PREXL et al., 2011).

Os *C. xanthus* são insetos aquáticos pertencentes à família Chironomidae que possuem fácil adaptabilidade a todos os tipos de ambientes. No seu estágio larval, período em que os testes são realizados, os Chironomus vivem em casulos a poucos centímetros do sedimento constituindo a porção mais significativa da

biomassa bentônica. Possuem coloração avermelhada devido à presença de hemoglobina, que os ajuda a tolerar períodos de baixas concentrações de oxigênio e auxilia na seleção dos organismos e no preparo dos testes. Os *Chironomus* são padronizados mundialmente pela Organisation for Economic Co-operation and Development – OECD 219 (2004) e são principalmente utilizados em testes de potencial de eclosão, mortalidade e alteração de pigmentação (MONTEIRO et al., 2008b; PERY et al., 2008; DORNFELD et al., 2009; PRINTES; FERNANDES; ESPINDOLA, 2011; YAMADA et al., 2012).

Os *D. rerio* são organismos de água doce pertencente à família Cyprinidae, popularmente denominado paulistinha, mas também conhecidos como peixe-zebra ou zebrafish devido à presença de cinco listas horizontais de coloração azul em toda a extensão do seu corpo. São peixes onívoros, que se alimentam de zooplâncton, insetos, larvas de insetos e fitoplânctons, podendo chegar a 6,4 cm de comprimento na natureza. Em cativeiro são alimentados com ração industrial e, normalmente não ultrapassam os 4 cm de comprimento (SPENCE et al., 2008; SARTORI, 2011). *Danio rerio* é padronizado mundialmente pela Associação brasileira de normas técnicas – ABNT NBR 15.088 (2006) e utilizado para testes de mortalidade, reprodução, crescimento e ganho de biomassa (LAWRENCE et al., 2012; NOVELLI et al., 2012; ZHANG et al., 2013), embora ainda possa ser utilizados em estudos medicinais, em oncologia (HILL et al., 2005; XIANG et al., 2009).

Os collembolas *F. candida* pertencentes à família Isotomidae, são pequenos artrópodes de coloração branca, desprovidos de asas, que podem medir até três mm de comprimento, na fase adulta. Os colêmbolos são organismos ovíparos, com ciclo de vida de aproximadamente dois meses, possuem distribuição cosmopolita em solos, cavernas e estufas e, se desenvolvem bem em ambientes rico em matéria orgânica, uma vez que se alimentam principalmente de fungos, leveduras e resíduos vegetais, contribuindo assim para a ciclagem de nutrientes (DORNFELD, 2006).

F. candida é uma das espécies mais utilizadas em testes ecotoxicológicos terrestres, por serem representativo e amplamente distribuído pelo mundo, facilmente cultivados, possuírem ciclo de vida curto e serem padronizados mundialmente pela International Organization for Standardization – ISO 11267 (1999). Esses organismos têm sido muito utilizados em ensaios ecotoxicológicos de mortalidade e reprodução (CROUAU; CAZES, 2003; DOMENE et al., 2007; BUR et

al., 2010; AMORIM et al., 2012) e, recentemente em teste de evitamento (NATAL-DALUZ et al., 2009b; NELSON et al., 2011; DOMENE et al., 2012).

A contaminação e a produtividade dos solos, também são parâmetros frequentemente analisados, para tanto são utilizadas espécies de monocotiledôneas e dicotiledôneas, padronizadas mundialmente pela ISO 11269-1 (1993) e ISO 11269-2 (1994), nos testes de índice germinativo, crescimento, desenvolvimento e biomassa radicular e aérea.

Entre as espécies padronizadas mundialmente pela ISO 11269-2 (1994), tem-se *Zea mays* (milho), uma espécie de monocotiledônea, pertencente à família Poaceae, que apresenta caule delgado, raízes fasciculadas, germinação e crescimento relativamente rápido e cultivo ao longo do ano. O milho é o segundo grão mais cultivado no Brasil com 31% do mercado interno de produção de grãos, perdendo apenas para a produção de soja, que é de 45% dos grãos cultivado (IBGE, 2010). Embora a produção do milho seja menor que a da soja, essa cultura é mais representativa na alimentação brasileira, uma vez que a produção de soja é destinada a exportação e a do milho é direcionada ao mercado interno, para a fabricação de ração animal, produção de óleo comestível, alimentação humana, em farinhas, cereais e salgadinhos e, em xaropes de dextrose (PEDRINHO, 2009).

Essa espécie tem sido muito utilizada para avaliar o índice germinativo, o melhoramento genético, absorção de nutrientes, adubação e crescimento vegetativo e as bactérias que auxiliam o desenvolvimento dessa espécie (PADILHA, 2007; MARTINES, 2009; PEDRINHO, 2009; ZAVASCHI, 2010; MATA et al., 2011).

3.4 Sistema Corumbataí

O sistema Corumbataí, que engloba a captação das águas do rio Corumbataí e a ETA Capim fino, começou ser construída em 1980, como uma alternativa de abastecimento da cidade de Piracicaba, uma vez que a qualidade das águas do rio Piracicaba, até então utilizado, diminuiu muito, elevando os gastos e até inviabilizando o tratamento dessa água (JARDIM, 2004).

Inaugurada em 1982, a ETA Capim fino, trata aproximadamente 1.500 litros de água por segundo, o que representa 90% do total de água destinada ao abastecimento público da cidade de Piracicaba. O tratamento é do tipo convencional

completo, envolvendo as etapas de oxidação, coagulação, floculação, decantação, filtração, fluoretação, desinfecção e correção do pH final. No tratamento da água, a ETA utiliza os coagulantes: cloreto férrico ou hidróxi-cloreto de polialumínio (PAC), cloro, cal, carvão e flúor, os quais removem as impurezas (geração do lodo) e fazem a desinfecção da água (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

A quantidade de lodo gerado por essa ETA não é controlada, assim como ocorre em praticamente todas as ETAs, mas considerando os cálculos realizados por Hoppen (2004) e Hoppen et al. (2005), onde uma ETA que trata 2.400 litros de água por segundo, produz em torno de 1,8 toneladas de lodo por dia. A ETA - Capim Fino que trata em torno de 1.500 litros de água por segundo, pode produzir em torno de 1,2 toneladas de lodo por dia, se a quantidade de sólidos suspensos presente nas águas estiver entre 0,3 a 1,0% do volume de água tratada.

Essa ETA está em processo de implantação da estação de tratamento do lodo (ETL), por isso o seu lodo, ainda é descartado diretamente no rio Corumbataí, mas com as leis de descarte de resíduos industriais e de proteção ambiental, todas as ETAs estão sendo orientadas a encontrar um destino seguro e ecologicamente correto para tal fim. Já que atualmente o destino do lodo é um dos principais desafios enfrentados pelas ETAs, uma vez que quanto mais água é tratada, maior é a quantidade de resíduo gerado (CORDEIRO, 1999; SABOGAL PAZ, 2007).

Para esse estudo, a ETA Capim fino disponibilizou um relatório de 2004, no qual se encontram descritos os resultados de todos os parâmetros exigidos pela ABNT NBR 10.004 (2004), para o monitoramento do lodo da ETA. Na Tabela 2 encontram-se descritos alguns dos resultados observados no relatório de 2004, com seus respectivos limites de quantificação e os valores máximos permitidos pela ABNT NBR 10.004 (2004).

Nesse relatório, a concentração dos cloretos, fenóis, fluoretos manganês e surfactantes foram superiores aos limites máximos permitidos e, desde então o lodo da ETA Capim Fino, vem sendo classificado como um lodo de Classe II – A – não inerte.

As determinações das características do lodo, geralmente são realizadas com o lodo do decantador, uma vez que essa é a etapa de maior geração desse resíduo, se considerarmos seu volume sólido. No decantador a quantidade de lodo (massa sólida) gerado é três vezes maior do que no floculador (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

Tabela 2 - Características do lodo do decantador da ETA (CAPIM FINO, 2004)

Parâmetro	LQ	Resultado	VMP
pH	-	7,6	2,0 – 12,5
Cianeto (mg kg ⁻¹)	10	<10	250
Sulfeto (mg kg ⁻¹)	10	<10	500
Alumínio (mg L ⁻¹)	0,05	0,14	0,2
Cobre (mg L ⁻¹)	0,05	<0,05	2,0
Ferro (mg L ⁻¹)	0,05	0,09	0,3
Fluoreto (mg L⁻¹)	0,1	6,79	1,5
Manganês (mg L⁻¹)	0,05	0,56	0,1
Sódio (mg L ⁻¹)	0,1	5,4	200
Merúrio (mg L ⁻¹)	0,001	<0,001	0,001
Cloreto (mg L⁻¹)	1,0	304	250
Fenóis totais (mg L⁻¹)	0,001	0,27	0,01
Surfactantes (mg L⁻¹)	0,1	8,0	0,5

LQ = Limite de Quantificação / VPM = Valores máximos permitidos pela norma ABNT 10.004

A qualidade do lodo gerado além de estar relacionado à presença dos produtos químicos utilizados no tratamento, também está diretamente relacionado à qualidade das águas dos mananciais utilizados. A qualidade das águas do rio Corumbataí e a degradação desse recurso hídrico vêm sendo estudada há muitos anos, mas a partir de 2002 diversos trabalhos foram desenvolvidos no laboratório de Ecologia Aplicada com o intuito de avaliar física, química, biológica e ecotoxicologicamente a qualidade das águas desse manancial.

Para determinar a qualidade das águas do rio Corumbataí, Zambetta (2006); Falqueto (2008) e Messias (2008), determinaram a temperatura, pH, oxigênio dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio (5 dias, 20°C), coliformes fecais, nitrogênio total, fósforo total, resíduo total e turbidez, nas águas desse rio. Com esses resultados, essas autoras calcularam o índice de qualidade da água (IQA) do rio Corumbataí, a partir dos cálculos de IQA, proposto pela CETESB (2005). Os resultados das mesmas foram caracterizados em: ótima quando o resultado estiver entre 100 e 80, em boa (de 79 a 52), aceitável (de 51 a 37), ruim de (de 36 a 20) e imprópria (de 19 a 0).

Zambetta (2006) obteve que a qualidade das águas do rio Corumbataí, variou de boa para aceitável, nos anos de 2004 e 2005, a caracterização da água com qualidade aceitável foi obtida nos pontos denominados Assistência e Santa Terezinha, ou seja, um ponto antes da captação de água da ETA Capim Fino e um ponto após essa ETA. Já Falqueto (2008) analisando esses mesmos pontos de coleta, no período de 2005 e 2006 verificou que a qualidade das águas no rio Corumbataí variou de qualidade boa até a qualidade ruim, a qual foi pior no período de setembro de 2006, última coleta da pesquisa.

Completando essas análises, Messias (2008) também realizou os cálculos do IQA, para amostras dos afluentes do rio Corumbataí, o rio São Joaquim, ribeirão Claro, e também no rio Corumbataí. Nesse estudo, as análises da água foram realizadas a montante e a jusante da cidade de Rio Claro, mas antes da captação da ETA Capim fino. Essas águas foram caracterizadas como boa em apenas um ponto de coleta e no período de julho de 2006, no restante a qualidade variou de aceitável, ruim e imprópria. Os piores resultados foram obtidos nos afluentes do rio Corumbataí, enquanto que o rio Corumbataí obteve predomínio da qualidade aceitável da água.

Em trabalhos correlatos realizados no laboratório de Ecologia Aplicada, Jardim (2004); Messias (2008) e Santos (2008) realizaram análises ecotoxicológicas nas águas e nos sedimentos do rio Corumbataí. Nesses trabalhos foram verificados que as amostras de água e de sedimento foram tóxicas aos organismos: *H. attenuata*, *P. subcapitata* e *C. xanthus*. A maior toxicidade ocorreu principalmente nas amostras de água classificadas como aceitável, ruim e principalmente nas impróprias.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos desse trabalho foram realizados no Laboratório de Ecologia Aplicada do CENA/USP, com exceção das caracterizações físicas e químicas e os testes com *F. candida*.

4.1 Amostra

As amostras de água e de lodo utilizadas nesse estudo foram coletadas na ETA – Capim Fino de Piracicaba, localizada no bairro Guamium, saída 27 da rodovia Fausto Santo Mauro - SP127, que liga Piracicaba a Rio Claro, São Paulo, Brasil (Figura 2).

Figura 2 - Localização da Estação de tratamento de água (ETA) – Capim Fino, Piracicaba, São Paulo, Brasil
Fonte: Google Earth (2012)

As coletas foram realizadas em 24/06/2009, 17/09/2009 e 22/09/2011, de acordo com as lavagens realizadas pelas ETAs. As amostras de água bruta e filtradas foram coletadas em frascos de poliestireno diretamente nas torneiras de monitoramento da ETA, enquanto que as amostras da água de lavagem do filtro foram coletadas na lavagem reversa do mesmo, com o auxílio de um balde de aço inox de 20 litros de capacidade (Figura 3a), agitadas e armazenadas em frascos de poliestireno.

As coletas dos lodos foram realizadas com um coletor de sedimento e sólidos de aço-inox (Figura 3b), no fundo do floculador e decantador, quando estes foram esvaziados para lavagem, acondicionados em sacos plásticos de polietileno previamente identificados. Nas coletas de 24/06/2009 e 17/09/2009, também foram coletadas amostras do lodo gerado na superfície do decantador, mas na coleta de 22/09/2011, esse lodo não estava sendo gerado, impossibilitando a coleta do mesmo.

Figura 3 - Coleta da água de lavagem do filtro (a) e coleta do lodo do decantador (b) utilizando o coletor de sedimento e lodos

As amostras foram denominadas:

- Am1L – Lodo do Flocculador
- Am2L – Lodo do Decantador
- Am3L – Lodo da superfície do Decantador
- Am1A – Água filtrada com pré-cloração
- Am2A – Água bruta do rio Corumbataí
- Am3A – Água da lavagem do filtro

As amostras destinadas aos testes ecotoxicológicos foram refrigeradas a 4°C até o momento da execução dos testes de toxicidade, não ultrapassando três dias de armazenagem para a água (USEPA, 2000) e seis semanas de armazenagem para o lodo (BURTON JUNIOR, 1991).

Para as determinações dos elementos químicos, o lodo foi seco a 40°C em câmara de circulação forçada de ar, por um período de 3 a 5 dias, ou até que estes estivessem secas. Enquanto que as amostras de água foram filtradas e acidificadas, no mesmo dia da coleta.

Uma parte do lodo coletado em 22/09/2011 foi filtrado em tecido de algodão previamente lavado com ácido nítrico 10%, água de torneira e destilada. As amostras líquidas que passaram pelo tecido de algodão foram armazenadas em frascos de poliestireno e mantidas a 4°C até a realização dos testes ecotoxicológicos com os organismos: *H. attenuata*, *D. similis*, *P. subcapitata* e *F. candida*, os quais não ultrapassaram três dias de armazenagem (USEPA, 2000). Essas amostras foram denominadas:

- Am1LF - Lodo do Flocculador filtrado
- Am2LF - Lodo do Decantador filtrado

No organograma apresentado na Figura 4, encontram-se descritas as análises e os tratamentos que foram realizados nas amostras coletas, em 24/06/2009, 17/09/2009 e 22/09/2011.

Figura 4 - Organograma das amostras coletadas e dos testes realizados

4.2 Preparo e Manutenção dos Organismos Testes

4.2.1 *Hydra attenuata*

As culturas de *H. attenuata* foram mantidas segundo as recomendações de Trottier et al. (1997). Os organismos foram cultivados em cristalizadores de vidro de um litro de capacidade, contendo aproximadamente 700 mL do meio de cultivo preparado em água destilada, conforme Tabela 3.

Tabela 3 - Meio de cultivo de *H. attenuata*

Reagentes	g L ⁻¹
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,147
N-tris (hidroximetil) metil 1-2 aminoetanosulfônico (Tampão TES)	0,11

As culturas foram mantidos em incubadora a temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas e alimentadas três vezes por semana com *Artemia salina* (camarões brine), eclodidas em solução de 14 g L⁻¹ de NaCl, sob aeração e iluminação continua por 24 horas. Após um período de 1 a 2 horas do fornecimento do alimento o meio de cultivo foi trocado para a retirada do excesso do alimento e dos exoesqueletos regurgitados.

4.2.2 *Daphnia similis*

As culturas de *D. similis* foram mantidas segundo as normas da ABNT NBR 12.713 (2004). Os organismos foram cultivados em cristalizadores de vidro de 1 litro de capacidade, contendo 20 fêmeas, em aproximadamente 700 mL do meio de cultivo preparado segundo a Fórmula (3) e as soluções descritas na Tabela 4.

$$\text{Volume a preparar} \times (\text{DJ} - \text{DAD}) \times 0,5 = \text{solução em mL}$$

(3)

Onde: DAD = dureza da água destilada = 0

Constante = 0,5

DJ = Dureza desejada = 44

Volume de meio a preparar (em litros) = 20

Tabela 4 - Meio de cultivo de *D. similis*

Sol-estoque	Reagentes	g L ⁻¹
Solução 1	CaSO ₄ .2H ₂ O	1,5
Solução 2	KCl	0,2
	NaHCO ₃	4,8
	MgSO ₄ .7H ₂ O	6,1

Quando preparado dessa maneira, o meio de cultivo apresentou dureza entre 40 - 48 mg L⁻¹ de CaCO₃ e pH entre 7,0 e 7,6, o qual quando necessário foi ajustado com HCl ou NaOH, após aeração de 48 horas. O meio de cultivo das fêmeas foi trocado três vezes por semana, juntamente com a retirada dos filhotes e restos da alimentação. As fêmeas foram alimentadas três vezes por semana, com uma suspensão de alga *P. subcapitata* de 5 x 10⁶ células por organismo e mais uma solução de fermento biológico (5 g L⁻¹) e ração para trutas (5 g L⁻¹), dissolvidos em água destilada, aerados por sete dias e filtrados em peneira de 45 µm. A metodologia para cultivo da *P. subcapitata* encontra-se descrito no item 4.2.3.

4.2.3 *Pseudokirchneriella subcapitata*

As culturas de *P. subcapitata* foram mantidas segundo as recomendações de Blaise, Forget e Trottier (2000). O meio de cultivo foi preparado com macro e micro nutrientes, na forma de cinco soluções-estoque (Tabela 5), essenciais ao crescimento e desenvolvimento dessa microalga. O pH do meio foi aferido para 7,00 ± 0,01, distribuídos em frascos erlenmeyers de 250 mL, com 50 mL de meio e autoclavado por 30 minutos a 121°C. As culturas foram repicadas semanalmente em câmara de fluxo laminar, para que mantivessem o crescimento exponencial, ideal aos testes, estas foram incubadas em iluminação contínua de 4.000 ± 10% lux e temperatura de 24 ± 1°C e agitadas manualmente três vezes ao dia.

Tabela 5 - Meio de cultivo de *P. subcapitata*

Sol-estoque	Compostos	mg L ⁻¹	Sol-estoque mL L ⁻¹ / meio
1	MgCl ₂ .6H ₂ O	12160	18
	CaCl ₂ .2H ₂ O	4400	
	H ₃ BO ₃	185,6	
	MnCl ₂ .4H ₂ O	416	
	ZnCl ₂	3,28	
	FeCl ₃ .6H ₂ O	159,8	
	CoCl ₂ .6H ₂ O	1,43	
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	7,26	
	CuCl ₂ .2H ₂ O	0,012	
Sol-estoque	Reagentes	g L ⁻¹	Sol-estoque mL L ⁻¹ / meio
2	NaNO ₃	25,5	18
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	14,7	18
4	K ₂ HPO ₄	1,04	18
5	NaHCO ₃	15	18

4.2.4 *Chironomus xanthus*

As culturas de *C. xanthus* foram mantidas segundo as recomendações de Fonseca e Rocha (2004), e USEPA (2000) para *Chironomus tentans*. Os organismos foram cultivados em bandejas plásticas cobertas por uma gaiola de tecido fino, contendo dois cm de sedimento de referência (esterilizado em mufla a 550°C por 2 horas), quatro litros de meio de cultivo, aeração contínua e temperatura de 24 ± 1°C, sob fotoperíodo de 12 horas. O meio de cultivo foi preparado a partir das soluções 1 e 2 descritas na Tabela 6. Para cada 20 litros de meio foi adicionado 70 mL da solução 1, 35 mL da solução 2 e 1895 mL de água destilada. O meio de cultivo preparado nessas condições apresentou dureza total de 12-16 mg CaCO₃ L⁻¹ e pH na faixa de 7,2 e 7,6, o qual quando necessário foi ajustado com HCl ou NaOH.

As larvas foram alimentadas três vezes por semana com uma suspensão de ração de peixes em flocos Alcon Basic (10 g L⁻¹).

Tabela 6 - Meio de cultivo para *C. xanthus*

Sol-estoque	Reagentes	g L ⁻¹	Sol-estoque mL L ⁻¹ / meio
Solução 1	CaSO ₄ .2H ₂ O	1,5	3,5
Solução 2	KCl	0,2	
	NaHCO ₃	4,8	1,75
	MgSO ₄ .7H ₂ O	6,1	

4.2.5 *Danio rerio*

Os organismos de *D. rerio* utilizados nos experimentos foram comprados em loja comercial e mantidos segundo as recomendações da ABNT NBR 15088 (2004). Os organismos foram mantidos em aquário de 25 litros de capacidade, contendo como substrato uma areia fina e plantas do gênero *Elodea* sp., assim como uma bomba de circulação e oxigenação constante da água. O meio de cultivo foi preparado segundo a Fórmula (3) e as soluções contidas na Tabela 4, descritas no item 4.2.2, para *D. similis*. Antes da realização dos testes, para aclimação, os peixes foram mantidos nos aquários, em temperatura constante de $24 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas e alimentados diariamente com ração comercial da marca TetraMin® (Tropical flakes).

4.2.6 *Folsomia candida*

As culturas de colêmbolas (*F. candida*) foram mantidas no laboratório de Solos da ESALQ/USP, segundo as recomendações da ISO 11267 (1999). Os organismos foram cultivados em recipientes plásticos contendo como substrato, uma mistura homogênea de carvão ativado, gesso e água deionizada (proporção de 1:11:7 p/p, respectivamente), conforme Tabela 7. Os frascos permaneceram fechados com tampas perfuradas por agulha, permitindo as trocas gasosas e evitando a saída dos organismos. As culturas foram mantidas em sala climatizada a $23 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas. Semanalmente a umidade foi corrigida e os organismos foram alimentados com fermento biológico seco granulado, composto por leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. Para a realização dos testes, a reprodução e a idade dos organismos foram sincronizadas.

Tabela 7 - Substrato utilizado no cultivo de *F. candida*

Reagente	g L ⁻¹
Carvão ativado	100
Gesso	1100
Água deionizada	700

4.3 Testes de toxicidade com organismos aquáticos

Para a realização dos testes de toxicidade, alguns cuidados com a utilização de organismos da mesma idade e proveniente da mesma cultura foram obedecidos para que os resultados fossem confiáveis e, os organismos respondessem apenas as amostras avaliadas (SANTOS, 2008). Nos experimentos foram incluídos os controles: negativo, com o próprio meio de cultivo de cada espécie e o positivo preparado com dosagens de NaCl, como substância de referência, conforme Santos, Vicensotti e Monteiro (2007), para os organismos *H. attenuata*, *D. similis*, *P. subcapitata* e *C. xanthus*. O controle positivo teve a finalidade de confirmar a autenticidade do método, dos materiais e dos reagentes empregados e foi realizado juntamente com os testes de toxicidade.

Nos testes de toxicidade com os organismos aquáticos, exceto para o *C. xanthus*, as amostras úmidas do lodo foram pesadas e distribuídas em recipientes mantendo a proporção de 4:1 (água destilada: lodo). A solução foi agitada manualmente por um minuto e sedimentada por 24 horas, o sobrenadante da solução (denominado elutriato) foi retirado e armazenado em frascos de polietileno. O elutriato foi utilizado como 100% e diluído com meio de cultura específico de cada espécie para 75%, 50%, 25%, 12,5% e 6,25 para exposição dos organismos teste, assim como o realizado com as amostras de água.

Nos testes de toxicidade com as amostras líquidas filtradas foram incluídas as diluições de 3,13% e 1,56%, para os organismos que apresentaram efeitos nas concentrações de 12,5% e 6,25%, conforme descrito para cada organismo.

4.3.1 Teste de toxicidade com *Hydra attenuata*

A metodologia utilizada nesse teste foi a proposta por Trottier et al. (1997). As amostras foram preparadas com $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, tampão TES, pH ajustado para $7,00 \pm 0,1$ e, diluídas com meio de *H. attenuata* em 75, 50, 25, 12,5 e 6,25%, para as amostras de água e elutriato e, para 75, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13 e 1,56% para as amostras filtradas. Em placas de poliestireno contendo quatro mL da amostra foram inseridos três organismos saudáveis e sem brotos, por repetição, com três repetições por amostra e por diluição, totalizando nove organismos expostos por amostra/diluição, por um período de 96 horas, com observações a cada 24 horas.

Os efeitos observados foram: mortalidade e o surgimento de danos morfológicos (efeitos subletais), os quais em estágios progressivos (Figura 5) foram: formação dos bulbos na extremidade dos tentáculos dos organismos (Estágio de “Bulbos”), encurtamento dos tentáculos (Estágio “Curto”), degeneração dos tentáculos (Estágio “Tulipa”) e finalmente a morte do organismo (“Desintegrado”). Estimativas de CE_{50} e CL_{50} foram realizadas pelo método de Trimmed Spearman-kärber (HAMILTON et al., 1997), quando possível. As estimativas de CL_{50} foram calculadas baseadas no número de indivíduos mortos e no estágio “tulipa”, enquanto que as de CE_{50} foram calculadas baseadas no aparecimento de quaisquer danos morfológicos.

Figura 5 - Estágios progressivos de intoxicação e degeneração da *H. attenuata*
Adaptado de Blaise e Kusui (1997)

Posteriormente, a porcentagem de efeitos observados no teste foi calculada e, as amostras foram classificadas em: indícios de toxicidade (81-100%), moderadamente tóxica (80-61%), tóxica (60-41%), altamente tóxica (40-21%) e extremamente tóxica (20-0%), segundo Arkhipchuk, Blaise e Malinovskaya (2006).

4.3.2 Teste de toxicidade com *Pseudokirchneriella subcapitata*

Para a realização dos testes com *P. subcapitata* foi utilizada a metodologia descrita por Blaise, Forget e Trottier (2000) e as recomendações de Staveley e Smrcek (2005). Para os testes com as amostras de água, elutriato e a filtrada, populações de 10^4 células mL^{-1} de *P. subcapitata* foram expostas as amostras puras e diluídas, em frascos de vidro transparentes, contendo as diluições de 75, 50, 25, 12,5 e 6,25% para as amostras de água e elutriato, e de 75, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 e 1,56% para o filtrado. Os frascos vedados com filme plástico transparente, permaneceram incubados sob luz contínua ($4.000 \pm 10\%$ lux), a $24 \pm 1^\circ\text{C}$, por 72 h, sendo realizada agitação manual três vezes ao dia. O experimento foi preparado em triplicata, exceto no controle, onde foram preparadas seis repetições. Após esse período foi contado o número de algas presente nas amostras.

Algumas condições de exposição foram respeitadas para que os resultados fossem considerados válidos, como: coeficiente de variação inferior a 40% e o aumento da densidade celular por um fator de no mínimo 16 vezes no controle, no período de 72 horas. Segundo Blaise e Férard (2005), a inibição do crescimento é um efeito fitotóxico que envolve de 8-9 gerações de células, por isso é considerado como uma avaliação crônica.

As células foram contadas na câmara de Neubauer, em microscópio óptico, na sequencia foi calculada a porcentagem de inibição do crescimento, em relação a média dos controles, utilizando a fórmula (4):

$$\% \text{ Inibição} = 100 - [(amostra / x \text{ controle}) * 100]$$

(4)

Os valores da porcentagem de inibição foram utilizados para os cálculos de CI_{50} (72 horas), pelo método Trimmed-Spearman Karber (HAMILTON et al., 1977), quando possível.

4.3.3 Teste de toxicidade com *Daphnia similis*

Os testes de toxicidade aguda com *D. similis* seguiram as metodologias descritas por Dutka (1997) e ABNT NBR 12.713 (2004). Grupos de cinco neonatos com até 24 horas de idade foram colocados em frascos de poliestireno, contendo 30 mL da amostra pura (100%) e diluídas a 75, 50, 25 e 12,5%, por um período de 48 horas. Para todos os pontos de coleta e para todas as diluições, foram feitas quatro réplicas, inclusive nos controles, totalizando vinte neonatos expostos por amostra, os quais não foram alimentados durante o teste. Nesse teste foi avaliada a mortalidade e a estimativa de CL_{50} determinada pelo método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977), quando possível.

Os testes crônicos foram realizados segundo as normas da OECD (1998) e as recomendações de Jonczyk e Gilron (2005), com os elutriatos das amostras Am1L e Am2L. Neonatos com até 24 horas de idade foram colocados individualmente em frascos de poliestireno contendo 50 mL da amostra pura e, diluídas em 75, 50 e 25%. Para cada amostra, inclusive para o controle negativo foram preparadas 10 réplicas, totalizando dez neonatos expostos por amostra e por diluição. Os frascos foram mantidos a 22°C, com fotoperíodo de 12 horas, as trocas das amostras e o fornecimento de alimento (*P. subcapitata*, a 5^6 células por mL^{-1}) foram realizados três vezes por semana. Os testes foram iniciados no primeiro dia de vida dos neonatos e finalizados no 21º dia. Diariamente foram registrados dados sobre: mortalidade e número de neonatos. No final do teste foi determinada a fecundidade das fêmeas, a partir da média de neonatos gerados por fêmea, considerando o número de posturas ao longo do teste. A média foi obtida a partir da fórmula (5):

$$\text{Média} = \frac{\text{nº total de neonatos por fêmea}}{\text{nº de adultas} \times \text{nº de posturas total}}$$

(5)

4.3.4 Teste de toxicidade com *Chironomus xanthus*

A metodologia utilizada para os testes com *C. xanthus* foi baseada nas normas da OECD 219 (2004) e Fonseca e Rocha (2004). Em frascos de poliestireno contendo 40 g do lodo e 160 mL de meio de cultivo foram expostas seis larvas de 10 dias de idade (2º ou 3º instar) por frasco. Para todos os pontos de coleta e para todas as diluições foram feitas três réplicas, inclusive nos controles, totalizando dezoito neonatos expostos por amostra, os quais foram alimentados apenas no primeiro dia com 1 mL de solução preparada com ração em flocos de peixes (10 g L⁻¹) e, mantidos em temperatura de 25 ± 1°C por 96 horas. As diluições e os controles foram preparados com o mesmo sedimento de referência utilizado nos cultivos. Com os resultados obtidos, as amostras foram caracterizadas em: tóxicas (mortalidade > 50%), indício de toxicidade (11 a 50% de mortalidade) e não tóxicas (mortalidade < 10%), conforme descrito por Barbosa (2000) e realizado por Messias (2008), quando possível, os resultados também foram analisados pelo Teste de Fischer $p < 0,05$.

4.3.5 Teste de toxicidade com *Danio rerio*

Os testes de mortalidade, crescimento e ganho de massa corpórea realizados com *D. rerio* foram desenvolvidos de acordo com as recomendações da ABNT NBR 15.088 (2004) e OECD 215 (2000). Individualmente os peixes foram pesados em balança analítica, seu comprimento foi determinado em papel milimetrado e os organismos inseridos em béqueres de 250 mL, contendo 225 mL da amostra pura (100%) e diluída a 75, 50 e 25%.

A oxigenação do teste foi contínua e os organismos foram alimentados diariamente com uma porção de 4% do peso médio de todos os peixes, com a ração TetraMin® (Tropical flakes). O volume do teste foi completado sempre que necessário e, no 15º dia o meio foi completamente trocado, evitando assim que algas se desenvolvessem ou interferissem no experimento. Para cada concentração foram realizadas oito réplicas, com fotoperíodo de 12 horas (claro: escuro) e temperatura de 22 ± 2°C, totalizando nove tratamentos distribuídos em 72 béqueres. O teste teve duração de 28 dias ininterruptos sendo coletados dados de biomassa e tamanho dos peixes, no 1º e 28º dias, conforme descrito na Figura 6.

Figura 6 - Teste de mortalidade e crescimento com *D. rerio*

4.4 Testes de toxicidade terrestre e crescimento vegetal

Nos testes de toxicidade com organismos terrestres, cuidados com a utilização de organismos da mesma idade e proveniente da mesma cultura também foram tomados, para que os testes fossem confiáveis e respondessem apenas as amostras avaliadas, assim como realizado nos testes de toxicidade aquática.

Nos testes de toxicidade com *F. candida* foi utilizado o solo de referencia, denominado solo OECD 10%, recomendado pela ISO 11267 (1999) como controle e no preparo das concentrações. O solo de referência OECD 10% foi preparado dois dias antes de iniciarem os teste, com uma mistura de 10% de turfa, 20% de caulino, 70% de areia e CaCO_3 , misturados manualmente até que o aspecto do solo estivesse homogêneo. O pH do solo foi verificado, constatando que esse se encontrava entre 5,5 a 6,5.

No teste de crescimento vegetal com *Zea mays* foi utilizado como substrato de referência, um produto formulado pela Baseplant, para plantio e desenvolvimento de mudas em casas de vegetação, composto por turfa, corretivos, vermiculita, carvão vegetal e casca de pinus. A escolha por um produto com essas

características se baseou em autores, como Teixeira (2005); Silva, Melo e Teixeira (2005); Padilha (2007) e Martines (2009), os quais sugerem que a aplicação do lodo da ETA e resíduos, primeiramente deve estar associada a um resíduo orgânico, a serragens, palha de cana-de-açúcar, produtos de compostagens, esterco bovinos, entre outros compostos, que aumentem a aeração e estruturação do solo e forneçam informações sobre o comportamento do lodo, quando aplicado a um substrato.

A aplicação do lodo da ETA em solos agriculturáveis não é legalizada e nem recomendada pelas agências ambientais, diferentemente do observado com os lodos de esgoto, os quais podem ser aplicados a solos agriculturáveis de acordo com a resolução CONAMA 375 (2006), desde que obedeçam as recomendações definidas nessa norma. A incorporação do lodo de esgoto e dos produtos derivados é realizada com base na concentração do nitrogênio disponível nos resíduos, como descrito na resolução CONAMA 375 (2006) e realizado por Martines (2009).

Mas nesse estudo, devido às baixas concentrações de nitrogênio disponível no lodo da ETA, as dosagens de aplicação desse resíduo no substrato foram realizadas com base na capacidade de retenção de água do substrato, evitando assim a formação de lamas (ISO, 1999), que poderiam inviabilizar a germinação e o crescimento do milho.

No preparo dos testes de toxicidade com o organismo de solo *F. cândida* e no teste de crescimento vegetal com *Z. mays*, os solos de referência foram umedecidos com as amostras puras ou diluídas em água destilada, considerando a capacidade de retenção de água (WHC) desses solos de referência (ISO, 1999), conforme a formula (6):

$$\text{WHC (em \% de massa seca)} = (S-T-D/D)*100$$

(6)

Onde: S = Peso do solo escorrido + peso do frasco + peso do papel de filtro;

T = Tara (peso do frasco + peso do papel de filtro);

D = massa seca do substrato.

Para *F. candida* foram preparados experimentos com as amostras de elutriato, do lodo bruto e do lodo filtrado, já para *Z. mays*, os experimentos foram realizados com as amostras de elutriato e do lodo bruto. As proporções de incorporações das amostras foram denominadas: 100, 50, 25, 12,5 e 6,25%, para *F. candida*, e 100, 75, 50 e 25% para a *Z. mays*.

Em ambos os experimentos e espécies, a quantidade de amostra incorporada foi baseada em 50% da WHC e a umidade, dos respectivos solos de referencia para os testes, juntamente com umidade das amostras brutas do lodo e a quantidade de sólidos presentes nessas amostras (NATAL-DA-LUZ et al., 2009a; VAZ, 2010).

4.4.1 Teste de toxicidade com *Folsomia candida*

Os testes de mortalidade e reprodução com *F. cãndida* foram baseados na ISO 11267 (1999) e em Natal-da-Luz et al. (2009b) e, realizados nos laboratórios de solos da ESALQ/USP. Em frascos de vidro transparente foram preparadas cinco réplicas por amostra e por concentração, contendo em cada réplica, 30 g da mistura do solo OECD 10% com a amostra, 10 juvenis (10-12 dias de idade) e 2 mg de grânulos de levedura seca. Os frascos permaneceram fechados durante o teste, para impedir a fuga dos organismos e a perda da umidade. No 14º dia, o teste foi aberto por alguns segundo, enquanto a umidade do teste foi aferida e os organismos foram novamente alimentados com 2 mg de grânulos de levedura seca. O teste foi finalizado no 28º dia, quando as amostras com os organismos foram transferidas para frascos de plásticos contendo água destilada e corante preto, essa solução foi cuidadosamente misturada, possibilitando a subida dos organismos à superfície da água para serem fotografados. Com o auxílio da ferramenta computacional “Imagem Tool”, as imagens foram individualmente contadas. A mortalidade (CL₅₀) e o índice reprodutivo foi analisado pelo programa Statistica, versão 7, quando possível e comparado ao controle.

4.4.2 Crescimento vegetal com *Zea mays*

O teste de germinação e crescimento vegetal com *Z. mays* foi baseado nas normas da ISO 11269-1 (1993) e nos trabalhos de Natal-da-Luz et al. (2009a) e Vaz (2010), tanto para as amostras de lodo bruto, quanto para as de elutriato (1:4). Em frascos de polietileno contendo 400 g da mistura (substrato de referência – amostra), dez sementes uniformes de *Z. mays* foram plantadas. Os experimentos foram mantidos em casa de vegetação com fotoperíodo de 12 horas (claro: escuro), temperatura de $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade constante, uma vez que foi acoplada uma corda de tecido ligando, o frasco contendo o substrato com as plântulas, ao frasco contendo água destilada ou o elutriato utilizado na irrigação, conforme Figura 7. Dessa forma a irrigação foi constante ao longo do experimento e o volume foi completado sempre que necessário, controlando assim um dos principais fatores limitantes para a germinação e o crescimento das plantas, a quantidade de água fornecida.

No experimento com as amostras de elutriato, os frascos contendo o solo de referência e as 10 plântulas de *Z. mays* foram irrigados somente com as amostras de elutriato, nas diluições de 100, 75, 50 e 25%, o volume do elutriato utilizado na irrigação constante foi sendo completado sempre que necessário.

No experimento com o lodo bruto, o lodo foi misturado ao solo de referência, de acordo com a umidade e com 50% da WHC do substrato, e de acordo com a umidade do lodo, nas proporções denominadas 100, 75, 50 e 25%. A irrigação constante se deu com água destilada e o volume foi sendo completado sempre que necessário.

Figura 7 - Detalhes do experimento, com dois frascos conectados por uma corda, por onde o líquido da irrigação foi absorvido pelas plântulas

Para todas as amostras e todas as concentrações foram preparadas cinco réplicas. A duração do teste foi de 14 dias, contados após a germinação de 50% das sementes dos controles. Após o início da contagem do teste, em cada frasco foram mantidas somente cinco plântulas (as primeiras germinadas e as que apresentaram aspecto mais uniformes), o restante foi retirado logo após a germinação.

O experimento foi observado diariamente, para avaliar a velocidade de emergência das plântulas, e para a determinação do índice germinativo, ao longo do teste. O crescimento vegetal (aéreo e radicular) e a biomassa (base seca e fresca) foram identificados no 14º dia do teste, quando individualmente as plântulas foram medidas e pesadas, a biomassa seca foi determinada após a secagem das plântulas em estufa de circulação a 65°C por 48 horas. Os resultados foram analisados pelo programa Statistica, versão 7, quando possível e comparados ao controle.

4.5 Análises físicas e químicas da água

Para a análise dos elementos químicos foi coletado um frasco a mais de cada amostra de água. Em laboratório, as amostras de água foram filtradas em membrana filtrante estéril da Millipore 0,45 μm , acidificadas com ácido nítrico purificado, de maneira a obter um pH inferior a 2,00 e armazenadas em câmara fria até a determinação dos elementos químicos. As membranas utilizadas na filtração foram colocadas em placas de petri esterilizadas e armazenadas juntamente com as amostras de água. As determinações dos elementos químicos presentes nas membranas filtrantes e na solução da amostra foram realizadas pelas técnicas de fluorescência de raios X dispersiva em energia por reflexão total (TXRF), para as amostras de água e, pela técnica de fluorescência de raios X dispersiva em energia (EDXRF), para os filtros. Essas análises foram realizadas no laboratório de Instrumentação Nuclear do CENA/USP, Piracicaba, São Paulo, de acordo com o descrito por Espinoza-Quinones et al. (2005); Almeida (2011); Almeida et al. (2011); Tavares et al. (2011).

Determinações de pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido (OD) foram realizadas nas amostras de água no momento da coleta, nas amostras de elutriato preparados na proporção de 1:4 (lodo: água destilada) e nas amostras filtradas. Determinações da turbidez foram realizadas nas amostras de água, elutriato e lodo filtrado na coleta de 22/09/2011.

4.6 Análises físicas e químicas do lodo

As determinações de carbono, nitrogênio e dos elementos químicos foram realizadas com amostras secas a 40°C, moídas e descompactadas em peneira de 2,0 mm de abertura.

Para a coleta de 17/09/09 foram realizadas as determinações: do pH (CaCl_2), matéria orgânica (MO) pelo método colorimétrico, acidez potencial (H^+/Al) pelo método pH SMP; fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) pelo método da resina trocadora de íons e, os cálculos da soma das bases (SB), da capacidade de troca de cátions (T), da saturação por base (V%) e análises granulométricas. Essas análises foram realizadas pelo laboratório de Solos da ESALQ/USP.

Para a coleta de 22/09/11 foram realizadas, pelo mesmo laboratório, as determinações do pH (CaCl_2), resíduos minerais e matéria orgânica (MO) pelo método de perda de peso por ignição, matéria orgânica compostável (MOC) pelo método titulométrico do dicromato, nitrogênio total (NT), pelo método de digestão sulfúrica de Kjeldahl, enxofre (S) pelo método gravimétrico simplificado de cloreto de bário e, fósforo (P) pelo método do vanádio molibdato de amônio. O potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), foram determinados por espectrometria de absorção atômica em chama.

Para as determinações dos elementos químicos, as amostras foram passadas em peneira de 0,5 mm de abertura e armazenadas em sacos plásticos até a digestão por sistema de micro-ondas e análises por ICP MS e por ICP OES, para os elementos químicos “pseudo-totais”.

4.6.1 Determinação do Carbono e Nitrogênio

As determinações de carbono e nitrogênio foram realizadas pelo laboratório de Ecologia Isotópica do CENA/USP. As amostras de lodo foram descompactadas e moídas em peneira de 250 μm , pesadas e queimadas em meio oxidante e os gases produzidos contendo C e N foram purificados e separados por cromatografia gasosa em analisador elementar. Os compostos separados foram carreados em um espectrômetro de massas, realizando a medida da concentração elementar do carbono (%C) e nitrogênio (%N), comparativamente às concentrações dos padrões. O teor de C e N foi descrito em porcentagem de massa da amostra analisada (MARTINELLI et al., 1998; OMETTO et al., 2002). O erro analítico foi baseado em amostras de padrão de solo LECO, sendo para o carbono 5% e para o nitrogênio 7%. Os limites de detecção foram de: 0,1% para o carbono e 0,01% para o nitrogênio.

4.6.2 Determinação dos elementos químicos “pseudo-totais” do lodo

O método utilizado para a digestão de amostras de lodo e do substrato de referência foi uma adaptação do método 3051 da USEPA (1998), assim como foi feito e descrito por Messias (2008). Em frascos de micro-ondas foi pesado 0,5 g da

amostra de lodo, 5 mL de HNO_3 (Merck Purificado 1x a 10%) e 3 mL de HCl (Carlos Erba Purificado 1x a 10%). O sistema de micro-ondas foi programado conforme descrito na Tabela 8. A abertura dos frascos, transferências das amostras para tubos Falcon e aferição do volume com água Milli-Q foram realizadas em capela. Os elementos químicos foram quantificados por ICP MS, na coleta de 17/09/09, e por ICP OES, na coleta de 22/09/11.

Tabela 8 - Programa utilizado na digestão das amostras do lodo da ETA e do substrato de referência

Programa	Tempo (min)	Potência W
1	1	1000
2	5	1000
3	9	1000
4	20	0

4.6.3 Determinações dos elementos “pseudo-totais” em *Z. mays*

O método utilizado para a digestão das raízes e do caule de *Z. mays* foi uma adaptação do método indicado pelo fabricante do equipamento de digestão para amostra de folhas de tabaco (PROVETTO ANALITICA, s.d.). Em frascos de micro-ondas foram pesadas 200 mg da amostra e adicionado 4 mL de HNO_3 (Merck Purificado 1x a 10%) e 0,3 mL de H_2O_2 30% (marca Nuclear, P.A.). O sistema de micro-ondas foi programado conforme mostrado na Tabela 9. A abertura dos frascos, transferências das amostras para tubos Falcon e aferição do volume para 10 mL, com água Milli-Q foram realizadas em capela. Os elementos químicos foram quantificados por ICP OES, no laboratório de Análises Químicas, do Centro de Estudos Ambientais (CEA), da UNESP, Rio Claro, São Paulo, Brasil.

Tabela 9 - Programa utilizado para a digestão das raízes e caule de *Z. mays*

Programa	Tempo (min)	Energia W
1	8	400
2	3	850
3	5	350
4	5	0

4.7 Análises estatísticas

Os resultados obtidos nos testes de toxicidade com *H. attenuata*, *D. similis*; *P. subcapitata*; *C. xanthus* e *D. rerio* foram analisados pelo método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977), quando possível. Para o organismo *H. attenuata* foram calculados os valores de CE₅₀ e CL₅₀, o CE₅₀ foi baseado no aparecimento de quaisquer danos morfológicos, efeitos subletais, constituindo um “end point” mais sensível. Para *D. similis*, *C. xanthus* e *D. rerio* foi calculado o CL₅₀ (quando possível) e, para *P. subcapitata* foi calculado o CI₅₀, porcentagem de inibição do crescimento do organismo-teste em relação ao controle.

Os resultados de *C. xanthus* também foram analisados pelo Teste de Fischer e classificados de acordo com Barbosa (2000).

Os resultados obtidos no teste de mortalidade e reprodução de *F. candida* foram analisados com o auxílio da ferramenta Statistica, versão 7, no qual foram determinados os valores de CL₅₀, CE₅₀ e CE₂₀, quando possível.

Os resultados de crescimento e ganho de biomassa de *D. rerio* foram submetidos a comparações de médias pelo teste de Tukey (5%), o qual realizou a comparação entre as médias dos resultados iniciais e dos finais, identificando assim quanto os peixes cresceram ao longo dos 28 dias. Enquanto que, os resultados de germinação, crescimento e biomassa de *Z. mays* foram submetidos às comparações de médias dos mesmos, em relação ao controle, pelo Teste de Dunnett ($p < 0,01$ e $p < 0,05$), determinando assim quando o desenvolvimento das plântulas foram afetos positiva ou negativamente pelas amostras de lodo e elutriato.

Posteriormente, nos resultados de crescimento, biomassa e nas quantificações dos elementos químicos de *Z. mays* foram aplicadas as análises de redundância (RDA), para determinar o comportamento e a conexão estabelecida entre os pontos amostrados, as concentrações dos elementos químicos e os desenvolvimentos das plântulas.

A análise de redundância (RDA) consiste em uma técnica de ordenação direta baseada em cálculos de distância Euclidiana e assume relações lineares entre as variáveis explanatórias e dependentes, sendo indicada para a ordenação de medições de potenciais tóxicos das amostras, em função das variáveis ambientais (físicas, químicas e biológicas) e a resposta os organismos vivos (FONSECA, 2006).

Segundo Hair et al. (1995), a análise de redundância pode ser vista como uma extensão lógica de regressão múltipla, a qual envolve uma única variável dependente e diversas variáveis independentes métricas. Na (RDA) os objetivo é correlacionar simultaneamente diversas variáveis dependentes (variáveis de critério – toxicologia) com diversas variáveis independentes. Assim a RDA identifica uma estrutura ótima para cada grupo de variáveis que maximize o relacionamento entre grupos de variáveis dependentes e independentes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização física e química do lodo

Na coleta de 17/09/09, os lodos foram analisados para fins de fertilidade, não como um resíduo industrial, mas como um sedimento de rio concentrado, os quais, geralmente, apresentam características semelhantes aos solos próximos aos recursos hídricos.

Os lodos das amostras Am1L e Am2L foram caracterizados como predominantemente argilosos (partículas $<63\ \mu\text{m}$), enquanto que a amostra Am3L foi caracterizada como predominantemente arenosa (Tabela 10). Normalmente as partículas $<63\ \mu\text{m}$ recebem especial atenção nas pesquisas sobre a contaminação e retenção dos elementos químicos, já que quanto menor for a partícula, normalmente, maior a retenção e adsorção que estas podem apresentar. Na amostra Am2L foi observada elevada porcentagem de areia, mas estas não foram suficientemente altas para classificar o lodo apenas como arenoso, como é normalmente classificado o sedimento do rio Corumbataí de onde originam as águas tratadas pela ETA avaliada no presente estudo. Por isso, as partículas menores (coloides) encontradas, provavelmente foram oriundas dos sólidos em suspensão.

Os resultados da %C e %N apresentaram baixa variação, os quais foram de 4,80 a 5,21% para o C e de 0,47 a 0,50% para o N, com relação de 1/10, de C/N, respectivamente. Ainda na Tabela 10 encontram-se descritos os resultados de pH, matéria orgânica (MO), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), acidez potencial (H+Al), cálculo da soma de bases (S), da capacidade de troca de cátions (T) e da saturação por base (V).

Com o objetivo de encontrar uma maneira ambientalmente segura e viável para descartar o lodo, os mesmos na coleta de 22/09/11 foram analisados como resíduos industriais para fins de fertilidade e aplicação no solo, e não apenas como um sedimento de rio, o qual apresenta características mais próximas aos solos. Por isso foram inseridas análises detalhadas da matéria orgânica compostável e da avaliação da quantidade de resíduos minerais solúveis e insolúveis. Os resultados

dessas análises, também realizadas no departamento de Solos da ESALQ/USP, encontram-se descritas na Tabela 11 e os laudos com detalhes das análises realizadas em temperaturas que variaram de 65° a 110°, encontram-se descritos nos Anexos A e B.

Tabela 10 - Características físicas e químicas dos lodos gerados pela ETA (17/09/09)

	Coleta de 17/09/09		
	Am1L	Am2L	Am3L
pH CaCl ₂	6,90	6,70	6,30
MO (g dm ⁻³)	54	54	54
P (mg dm ⁻³)	165	173	389
K (mmolc dm ⁻³)	3,3	2,9	3,4
Ca (mmolc dm ⁻³)	135	109	124
Mg (mmolc dm ⁻³)	50	23	30
H+Al (mmolc dm ⁻³)	15	18	25
SB (mmolc dm ⁻³)	188,3	134,9	157,4
T (mmolc dm ⁻³)	203,3	152,9	182,4
V (%)	93	88	86
C total (%)	4,80	4,99	5,21
N total (%)	0,47	0,50	0,48
Argila (%)	63	49	32
Silte (%)	4	3	3
Areia (%)	33	48	65

⁽¹⁾ Valores apresentados com base na matéria seca;

⁽²⁾ Amostras: Am1L (lodo do floculador), Am2L (lodo do decantador) e Am3L (lodo do decantador superfície).

As determinações da quantidade de: MO total, MO compostável e MO resistente a compostagem, assim como a quantidade de resíduos minerais totais, resíduos minerais solúveis e insolúveis e a relação de C/N forneceram informações importantes sobre a viabilidade da utilização dos resíduos industriais.

Os lodos de ETA apresentaram baixas concentrações de C e N, tanto nas amostras Am1L quanto nas amostras Am2L, das coletas de 17/09/09 e de 22/09/11. A baixa concentração de C e N pode inviabilizar a utilização direta desse resíduo, nos solos agriculturáveis, já que os mesmos não podem fornecer os nutrientes essenciais ao crescimento e desenvolvimento das plântulas.

Tabela 11 - Características do lodo gerado pela ETA (22/09/11)

Coleta de 22/09/11		
Determinações	Am1L	Am2L
pH CaCl ₂	6,8	6,8
Densidade (g cm ⁻³)	0,74	0,87
MO total – combustão (%)	14,26	19,67
MO compostável (%)	12,20	17,40
MO resistente a compostagem (%)	2,06	2,27
Carbono total (%)	7,92	10,93
Carbono orgânico (%)	6,78	9,67
Resíduo mineral total (%)	82,80	71,55
Resíduo mineral insolúvel (%)	59,22	44,16
Resíduo mineral solúvel (%)	23,58	27,39
Nitrogênio total (%)	0,78	0,72
Fósforo (P) total (%)	0,81	1,13
Potássio (K) total (%)	0,32	0,25
Cálcio (Ca) total (%)	0,66	0,63
Magnésio (Mg) total (%)	0,31	0,27
Enxofre (S) total (%)	0,10	0,26
Relação C/N total (%)	10/1	15/1
Relação C/N orgânico (%)	9/1	13/1

⁽¹⁾ Valores apresentados com base na matéria seca;

⁽²⁾ Amostras: Am1L (lodo do floculador) e Am2L (lodo do decantador).

Resíduos industriais como os lodos de esgoto e lodos de curtume têm sido utilizados na incorporação de solos agriculturáveis. Em estudos realizados por Martines (2009) foram encontradas concentrações de 177 g kg⁻¹ de C orgânico e 22,8 g kg⁻¹ de N total, com relação de C/N de 6,4, enquanto que em estudos da incorporação do lodo de esgoto no plantio de eucalipto, realizados por Brossi (2008), os lodos de esgoto continham 340 g kg⁻¹ de C orgânico e 33 g kg⁻¹ de N total (BROSSI, 2008). O potencial nutritivo dos lodos de curtume e dos lodos de esgoto foi superior ao do lodo da ETA, o qual contém em torno de 0,0068 g kg⁻¹ de C orgânico e 0,00078 g kg⁻¹ de N total, por isso a incorporação direta do lodo da ETA, dependendo da área, pode ser pouco viável nutritivamente, uma vez que o carbono serve de fonte de energia para os microrganismos, resultando na liberação de CO₂,

vapor de água e calor, mas para uma ação eficaz dos microrganismos, a relação ideal de C/N deve ficar em torno de 30/1 (FIORI; SCHOENHALS; FOLLADOR, 2008). Por outro lado à utilização do lodo da ETA pode ser interessante na reestruturação de áreas degradadas e se aliado a uma compostagem a sua aplicação pode ser melhor aproveitada pela fauna e flora.

Os lodos foram classificados como resíduos sólidos pela ABNT NBR 10.004 (2004), mesmo com umidade em torno de 90%. Na Tabela 12 encontra-se descrita a umidade dos lodos, a amostra Am1L apresentou a menor umidade, em torno de 80%, enquanto que a umidade da amostra Am3A foi de 99,9%, uma vez que para a realização da lavagem reversa dos filtros foi adicionado ar comprimido e água.

Tabela 12 - Umidade em porcentagem (%) do lodo da ETA

	24/06/09	17/09/09	22/09/11
Am1L	80,4	80,8	84,1
Am2L	91,2	90,2	88,9
Am3L	96,5	90,4	-
Am3A	99,9	99,9	99,9

Amostras: Am1L (lodo do floculador), Am2L (lodo do decantador), Am3L (lodo do decantador superfície) e Am3A (água da lavagem do filtro);

- Amostra não coletada.

A umidade do lodo pode ser um fator limitante, para as aplicações dos lodos nos solos, já que o excesso de água pode acarretar na formação de lama e compactação dos solos, efeitos negativos para o crescimento e desenvolvimento da fauna e flora. Por isso o conhecimento da umidade do lodo fez-se determinante no preparo do teste de mortalidade e reprodução de *F. candida* e no preparo do teste de germinação, crescimento e biomassa preparado com *Z. mays*.

Brossi (2008) obteve 79% de umidade do lodo de esgoto, enquanto que Martines (2009) obteve 85%, mostrando que se respeitado a umidade e a WHC dos solos e a umidade dos lodos, os mesmos podem ser inseridos benéficamente aos solos.

As amostras de lodo digeridas em sistema fechado foram quantificadas, quanto às concentrações dos elementos químicos, por ICP MS, na coleta de 17/09/09, e por ICP OES, na coleta de 22/09/11, essas análises possibilitaram a

detecção de mais de 20 elementos químicos presentes nas amostras de lodo, os quais se encontram descritos na Tabela 13.

Tabela 13 - Concentração média dos elementos químicos, em mg kg^{-1} , presentes nas amostras de lodo

	Coleta 17/09/09			Coleta 22/09/11	
	Am1L	Am2L	Am3L	Am1L	Am2L
Al	-	-	-	76061	160986
As	7,45	8,57	9,61	<LD	<LD
B	-	-	-	183	178
Ba	405	303	264	832	575
Be	1,35	1,19	1,35	1,65	1,88
Ca	6152	4068	2860	12341	10481
Cd	0,23	0,16	0,14	<LD	<LD
Co	19,5	12,1	12,9	59,2	29,5
Cr	28,4	25,8	28,8	162	153
Cu	37,0	34,4	38,2	57,6	51,9
Fe	42020	42690	44940	106760	105060
Hg	0,15	0,14	0,18	<LD	<LD
K	3486	2589	2813	4589	3552
Li	-	-	-	30,3	24,4
Mg	4793	3944	3410	5650	5297
Mn	4750	1760	1683	21218	5913
Mo	1,10	0,88	0,93	466	735
Na	196	200	212	596	673
Ni	18,7	15,5	16,0	42,9	34,2
Pb	25,1	23,2	25,6	161	182
Se	0,39	0,36	0,40	3,04	<LD
Sr	-	-	-	114	125
Ti	0,41	0,31	0,37	-	-
V	93,2	87,5	99,1	205	205
Zn	144	129	125	215	168
U	2,22	2,16	2,50	-	-

Amostras: Am1L (lodo do floculador), Am2L (lodo do decantador) e Am3L (lodo do decantador superfície);

<LD – Concentração menor que o limite de detecção do método;

- Elementos não analisados.

Na coleta de 17/09/09, a elevada concentração do Al e dos outros elementos químicos, dificultaram a quantificação dos mesmos por ICP MS, uma vez que, para a quantificação desses elementos foi necessário preparar curvas mais específicas e realizar maior manipulação (diluição) das amostras. Por esse método, também não foi possível quantificar o Al, provavelmente devido a sua elevada concentração. Por isso na coleta de 22/09/11, as análises foram realizadas por ICP OES, na qual foi possível quantificar o Al, um elemento essencial nesse estudo, uma vez que o mesmo foi utilizado no processo de tratamento da água.

Por outro lado a utilização do ICP OES impediu a quantificação de alguns microelementos como: As, Cd, Hg e Se, a quantificação do Se só foi possível porque a sua concentração na amostra Am1L (22/09/11) esteve mais elevada, do que o observado na coleta de 17/09/09.

As concentrações dos elementos químicos, nas amostras dos lodos coletados em 22/09/11 foram maiores do que as concentrações destes na coleta de 17/09/09 (Tabela 13). Esse aumento pode estar relacionado à degradação ambiental e aos transportes de sedimentos ocasionados pelas chuvas, já que Zambetta (2006); Falqueto (2008); Santos (2008) e Messias (2008), também identificaram um aumento progressivo das concentrações dos elementos químicos presentes nas amostras de água e sedimento do rio Corumbataí, sugerindo a ocorrência de um aumento gradual da degradação dos recursos hídricos, especialmente desse manancial utilizado no abastecimento da cidade de Piracicaba.

Comparando os resultados das amostras Am1L e Am2L, da coleta de 22/09/11, os elementos: B, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Ni, Se e Zn estiveram mais concentrados na amostra Am1L, enquanto que os elementos Al, Be, Mo, Na, Pb e Sr estiveram mais concentrados na amostra Am2L. Mas se esses resultados forem comparados aos obtidos por Falqueto (2008) e Messias (2008) pode concluir que os elementos: Al, As, Ba, Be, Cr, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Se, U, V e Zn, nos lodos também foram maiores do que as concentrações dos elementos químicos presentes nos sedimentos do rio Corumbataí, os quais foram analisados nos períodos de 2006 a 2008.

Aliado a isso se tem a textura do lodo, no qual predominaram partículas leves que estavam dissolvidas nas águas brutas do rio Corumbataí, quando estas foram encaminhadas para a ETA. Os elementos químicos tendem a se adsorverem nas menores partículas, ou seja, nas frações granulométricas $<63\ \mu\text{m}$, enquanto que nos sedimentos do rio Corumbataí foi observada o predomínio de sedimento arenoso, ou seja, moléculas $> 63\ \mu\text{m}$ (FALQUETO, 2008; MESSIAS, 2008).

As concentrações elevadas de Al e Fe, observada no sedimento da bacia do rio Corumbataí, em partes, pode ter sua origem no tipo de solo, predominante nessa bacia. A bacia do rio Corumbataí tem 43% se sua área ocupada por Podzólico e 22% por latossolos vermelho-amarelo, os latossolos se caracterizam por apresentar quantidade de óxido de alumínio e ferro, minerais de argila, quartzo, entre outros minerais, enquanto que o Podzólico se apresenta como um material argiloso (EMBRAPA, 2006).

Entretanto as elevadas concentrações de Al e Fe também podem ser oriundas dos descartes industriais e da crescente degradação ambiental, já que Zambetta (2006); Falqueto (2008) e Messias (2008), nos períodos de 2004 a 2008, identificaram que as concentrações dos elementos químicos foram aumentando nesse período, principalmente de elementos como o Fe e o Al. Os valores de Al foram de 3784, em 2004, para 3980 mg kg^{-1} , em 2005 e, os valores de Fe foram de 7028 mg kg^{-1} , em 2004 e de 9128 mg kg^{-1} , em 2005 (ZAMBETTA, 2006). No trabalho de Falqueto (2008) foram obtidos até 12838 mg kg^{-1} de Al e de 12848 mg kg^{-1} de Fe, em 2006, enquanto que no trabalho de Messias (2008) foram obtidos valores de até 50076 mg kg^{-1} para o Al e de 29912 mg kg^{-1} para o Fe, entre 2006 e 2007.

Em quantificações realizadas nos sólidos suspensos do rio Corumbataí Inafuku (2011) obteve valores de Fe, que variaram de 2,18 até 30,41 g L^{-1} , em novembro de 2009. Por outro lado, Zambetta (2006) obteve concentrações mais elevadas, as quais variaram de 99328 e 64171 mg kg^{-1} , para o Al e de 72593 e 73449 mg kg^{-1} , para o Fe, nos períodos de novembro/2004 e fevereiro/2005, respectivamente. Esses valores representaram 6914 e 4390 kg dia^{-1} de Al e 5053 e 5025 kg dia^{-1} de Fe, respectivamente.

5.2 Análises químicas das amostras de água

Nas amostras de água foram realizadas determinações dos elementos químicos retidos na membrana filtrante e os elementos químicos que ficaram dissolvidos na amostra de água, mesmo após a filtração. Pela técnica SRTXRF (elementos retidos nos filtros) foram analisados o K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Br, Rb, Sr, e Pb, ou seja, foram analisados os elementos químicos de número atômico entre 18 e 38 e também o de número atômico 82. Essa técnica analisa principalmente esses elementos químicos, mas outros elementos também podem ser detectados.

Dos elementos químicos: K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn e Pb, os solúveis nas amostras das águas foram detectados, pela técnica de TXRF, uma variante da técnica SRTXRF. Destes elementos, apenas os cinco descritos na Tabela 14, estiveram acima do limite de detecção do método, nas coletas de 24/06/09 e 17/09/09, os quais estiveram mais concentrados na coleta de 17/09/09, condizendo com a maior toxicidade encontrada para os invertebrados aquáticos.

Tabela 14 - Média em mg L⁻¹, dos elementos químicos solúveis nas amostras de água

	Técnica de TXRF					
	24/06/09			17/09/09		
	Am1A	Am2A	Am3A	Am1A	Am2A	Am3A
K	1,61	1,9	2,21	4,2	5,0	4,0
Ca	14,4	12	20	27	29	34
Mn	<LD	<LD	0,027	<LD	0,028	0,023
Fe	0,02	0,156	0,08	0,04	0,7	<LD
Cu	<LD	<LD	0,003	0,007	0,011	0,008

Amostras: Am1A (água filtrada), Am2A (água bruta) e Am3A (água da lavagem do filtro);

<LD – valor menor que o limite de detecção do método.

Nas análises químicas do filtro foi observada a predominância dos elementos químicos K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se e Br, como pode ser observado na Tabela 15, esses elementos também foram analisados na amostra certificada NIST – 2783 e se encontram em concordância com as concentrações certificadas, exceto para os elementos químicos Cr e Co.

Na amostra Am1A observa-se a eficiência do tratamento de água, já que não foram encontrados os elementos que estavam presentes na amostra de água bruta do rio (Am2A). Entretanto, na amostra Am3A foram determinadas concentrações mais elevadas desses elementos químicos quando comparado à amostra de água bruta.

Tabela 15 - Média em $\mu\text{g L}^{-1}$, dos elementos químicos retidos na membrana filtrante, após filtração de 200 mL da amostra

Elementos	24/06/09			17/09/09		
	Am1A	Am2A	Am3A	Am1A	Am2A	Am3A
K	<LD	45,9	67	<LD	273	342
Ca	14,2	22	71	<LD	<LD	110
Ti	<LD	62,9	132	<LD	55,5	216,4
V	<LD	<LD	13,4	<LD	<LD	<LD
Cr	<LD	3,4	9,3	<LD	<LD	<LD
Mn	<LD	14,0	175	<LD	52,5	201,7
Fe	2,8	1446	3757	21,1	1252	2992
Co	<LD	15,5	29,1	<LD	11,7	20,8
Ni	<LD	2,88	8,0	<LD	<LD	<LD
Cu	<LD	2,3	5,93	<LD	1,97	1,79
Zn	<LD	2,8	8,53	<LD	4,93	7,28
As	<LD	<LD	<LD	2,39	2,76	2,71
Se	<LD	<LD	<LD	3,71	3,15	<LD
Br	<LD	1,7	14,9	<LD	3,03	<LD
Rr	<LD	<LD	3,2	<LD	<LD	<LD
Sr	<LD	<LD	1,8	<LD	<LD	<LD

Amostras: Am1A (água filtrada), Am2A (água bruta) e Am3A (água da lavagem do filtro);

<LD – valor menor que o limite de detecção do método.

Os elementos químicos tendem a se ligar às menores partículas, mas essas partículas menores e mais leves, somente foram retidas no processo de filtração da ETA, por isso foi observado nessa amostra os maiores valores dos elementos químicos (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

5.3 Análises físicas e químicas das amostras

Determinações de pH, condutividade elétrica, em $\mu\text{S cm}^{-1}$, e oxigênio dissolvido (OD em mg L^{-1}) foram realizadas nas amostras de água: filtrada (Am1A), bruta (Am2A) e da lavagem do filtro (Am3A) e, nas amostras dos elutriatos dos lodos: floculador (Am1L), decantador fundo (Am2L) e da superfície do decantador (Am3L), nas coletas de 24/06/09 e 17/09/09 (Tabela 16).

Tabela 16 - Determinações de pH, condutividade elétrica (Cond) e oxigênio dissolvido (OD), nas amostras de água e elutriato

Amostra	24/06/09			17/09/09		
	pH	Cond ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	OD (mg L^{-1})	pH	Cond ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	OD (mg L^{-1})
Am1A	6,80	165	9,65	7,23	260	6,10
Am2A	6,91	149	9,60	7,30	192	6,32
Am3A	6,85	172	10,3	7,35	282	6,21
Am1L*	7,49	577	4,56	7,35	660	0,77
Am2L*	7,42	535	9,74	7,06	369	3,81
Am3L*	7,52	438	9,19	7,18	196	6,53

Amostras: Am1L (lodo do floculador), Am2L (lodo do decantador), Am3L (lodo do Decantador superfície), Am1A (água filtrada), Am2A (água bruta) e Am3A (água da lavagem do filtro);

*Determinações realizadas no elutriato.

Na coleta 22/09/11, além das determinações de pH, condutividade e OD, também foi determinada a turbidez das amostras das águas: filtrada (Am1A), bruta (Am2A) e da lavagem do filtro (Am3A) e dos elutriatos do lodo do floculador (Am1L) e decantador (Am2L). Nessa coleta a amostra Am3L (lodo da superfície do decantador) não foi coletada, devido a uma melhor eficiência no tratamento da água e dos equipamentos utilizados pela ETA Capim Fino, esse lodo não estava sendo gerado.

Na coleta de 22/09/11 foram inseridas duas amostras, oriundas da filtragem do lodo com tecido de algodão, nessas amostras denominadas Am1LF (filtrada do lodo do floculador) e Am2LF (filtrado do lodo do decantador), também foram realizadas as determinações de pH, condutividade, OD e turbidez (Tabela 17).

Os valores de pH, não apresentaram variações representativas, ao longo desse estudo, se mantendo próximo a 7,0, pH neutro. A estabilização do pH está diretamente relacionada a utilização da cal hidratada no tratamento da água, a qual tem a finalidade de estabilizar e neutralizar o pH da mesma, uma vez que os produtos químicos utilizados, como o sulfato de alumínio apresentam pH em torno de 2,0 podendo, conseqüentemente, acidificar a água (CETESB, 2009).

Tabela 17 - Determinações de pH, condutividade elétrica (Cond), oxigênio dissolvido (OD) e turbidez, nas amostras de água, elutriato e filtrado

Coleta de 22/09/11				
Amostra	pH	Cond. ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	OD (mg L^{-1})	Turbidez NTU
Am1A	6,98	241	7,77	0,68
Am2A	6,94	160	7,41	11,2
Am3A	6,82	244	7,61	225
Am1L*	7,07	496	2,27	114
Am2L*	6,92	292	5,50	50
Am1LF**	7,20	1890	1,42	353
Am2LF**	6,94	1286	1,85	196

Amostras: Am1A (água filtrada), Am2A (água bruta), Am3A (água da lavagem do filtro), Am1L (lodo do floculador), Am2L (lodo do decantador), Am1LF (filtrado do floculador) e Am2LF (filtrado do decantador);

*Determinações realizadas no elutriato;

**Determinações realizadas nas amostras filtradas.

Por outro lado, tanto o OD quanto a condutividade apresentaram variação dos resultados, os quais foram de 0,77 a 10,3 mg L^{-1} e de 160 a 1890 $\mu\text{S cm}^{-1}$, para OD e condutividade, respectivamente.

Das amostras analisadas, a amostra Am1L foi a que apresentou as menores concentrações de OD, tanto para as amostras de elutriato (Tabela 16), quanto para as amostras de lodo filtrado (Tabela 17). A baixa concentração de OD indica aspectos de deterioração, podendo ter efeitos negativos, se inseridas em um ambiente aquático (PINTO; OLIVEIRA; PEREIRA, 2010). O OD é um fator limitante

para a manutenção da vida aquática, os processos de autodepuração dos sistemas aquáticos e a queda da concentração de OD são as principais causas da mortandade da maioria das espécies peixes, que não sobrevivem em água com OD inferior a 4 mg L^{-1} , classe IV, segundo a resolução CONAMA 357 (2005).

Assim como o observado com o OD, a Am1L apresentou a condutividade elétrica mais elevada, mas nesse caso, a concentração mais elevada foi observada na Am1LF (lodo filtrado do floculador). A condutividade elétrica está relacionada à presença de íons dissolvidos na água, podendo contribuir para o reconhecimento de impactos ambientais oriundos de lançamentos de resíduos industriais e domésticos. Em geral, níveis superiores a $100 \mu\text{S cm}^{-1}$, indicam ambientes impactados (CETESB, 2009). Como as ETAs utilizam íons como os sulfatos e cloretos, as mesmas auxiliam na elevação da condutividade, uma vez que a condutividade aumenta à medida que mais íons são adicionados, mas, ao mesmo tempo, valores elevados de condutividade indicam características corrosivas das amostras (CETESB, 2009).

Das amostras analisadas na coleta de 22/09/11, a amostra Am1LF foi a que apresentou maior turbidez, seguida pela amostra Am3A (lavagem do filtro). A turbidez encontrada na Am3A pode ser relacionada às pequenas partículas sólidas em suspensão, que por serem leves, não se decantaram e por isso foram retidas apenas nos filtros. A turbidez, assim como os outros parâmetros discutidos, pode estar relacionada a deterioração das águas, uma vez que a elevação desse parâmetro, pode ser oriunda da erosão dos rios, descarte de resíduos domésticos e efluentes industriais, os quais alteram a fotossíntese do ambiente aquático e desestabilizam a cadeia alimentar (CETESB, 2009).

Estudos realizados na bacia do rio Corumbataí, indicam valores de OD superior a 5 mg L^{-1} (FREDERICE et al., 2010), confirmando o atual enquadramento desse manancial, como classe II, segundo a resolução CONAMA 357 (2005). Entretanto, Toledo e Nicollela (2002); Armas et al. (2007); Messias (2008); Santos (2008) e Sardinha et al. (2008), encontraram concentrações de OD inferior a 4 mg L^{-1} e de condutividade superiores a $100 \mu\text{S cm}^{-1}$, em águas superficiais e elutriados de sedimentos de rios. Estas ocorrências foram relacionadas à decomposição de matéria orgânica, descarte de esgoto domésticos e resíduos industriais, com baixas concentrações de OD, elevadas concentrações de sólidos dissolvidos e alto potencial poluidor, nos ambientes aquáticos.

Comparando as determinações realizadas no elutriato (1:4), com as do filtrado, pode-se afirmar que a diluição realizada no preparo do elutriato, eleva o padrão de qualidade das amostras, uma vez que aumentou as concentrações de OD e, diminuiu a condutividade elétrica e a turbidez das mesmas. Por isso, testes físicos, químicos e ecotoxicológicos com as amostras de elutriato podem apresentar resultados menos realísticos do que os testes realizados com as amostras filtradas, já que a diluição do elutriato pode ocultar a toxicidade e a degradação das amostras ambientais.

5.3 Teste de toxicidade aquática

Os resultados dos controles positivos e negativos dos testes de toxicidade com os organismos *H. attenuata*, *P. subcapitata*, *D. similis* e *C. xanthus* foram considerados satisfatórios uma vez que os mesmos estiveram dentro da faixa de sensibilidade observada por Santos, Vicensotti e Monteiro (2007) e Santos (2008), para esses organismos, os quais também foram realizados no laboratório de Ecologia Aplicada do CENA/USP (Tabela 18).

Tabela 18 - Sensibilidade dos organismos testes as amostras de NaCl, em g L⁻¹

Organismos	Coletas		
	24/06/09	17/09/09	22/09/11
<i>H. attenuata</i> – CE ₅₀	1,52	1,54	2,10
<i>H. attenuata</i> – CL ₅₀	2,11	2,44	2,98
<i>P. subcapitata</i> – CI ₅₀	0,80	0,83	1,21
<i>D. similis</i> – CL ₅₀	2,02	1,95	2,24
<i>C. xanthus</i> – CL ₅₀	5,69	5,61	6,98

Os resultados descritos na Tabela 18, indicaram que na coleta de 22/09/11, os organismos estiveram um pouco menos sensíveis aos compostos tóxicos, nesse caso o NaCl. A diminuição da sensibilidade dos organismos testes pode estar relacionada ao aumento no número de testes realizados e às manipulações excessivas das culturas, assim como as alterações do meio de cultivo e a troca dos

lotes dos reagentes utilizados, sazonalidade, entre outros parâmetros. Alterações semelhantes foram observadas por Santos (2008), para essas espécies.

Nos testes de toxicidade com *H. attenuata* foi possível visualizar os efeitos subletais como a formação de bulbos e encurtamento dos tentáculos e os efeitos letais tais como a perda dos tentáculos e a desintegração dos organismos. A coleta de 17/09/09 foi a que apresentou maior toxicidade letal e subletal para *H. attenuata*, conforme pode ser observado na Tabela 19. Nesse período todas as amostras apresentaram algum grau de toxicidade, por isso todas as amostras apresentam resultados para o CE₅₀, e duas amostras de elutriato também apresentam resultados de CL₅₀.

Das amostras de elutriato analisadas, a Am1L foi a amostra mais tóxica, apresentando valores de CE₅₀ e CL₅₀ inferiores a 16% e 31%, nas coletas de 17/09/09 e 22/09/11, respectivamente. Já a amostra Am2L, nas mesmas coletas, apresentou valores de CE₅₀ e CL₅₀ inferiores a 31% e 87%, respectivamente. Os resultados de toxicidade, para *H. attenuata*, corroboraram com as determinações de OD apresentados nas Tabelas 16 e 17, uma vez que a concentração de OD, na amostra Am1L foi inferior a 2,3 mg L⁻¹ e na amostra Am2L foi inferior a 5,5 mg L⁻¹.

Tabela 19 - Valores de CE₅₀ e CL₅₀ para *H. attenuata*, expostas as amostras de água e elutriato

		24/06/09		17/09/09		22/09/11	
	Amostra	CE ₅₀	CL ₅₀	CE ₅₀	CL ₅₀	CE ₅₀	CL ₅₀
Água	Am1A	NC	NC	80,0	NC	NC	NC
	Am2A	93,1	NC	74,3	NC	NC	NC
	Am3A	93,1	NC	63,2	NC	NC	NC
Lodo	Am1L	22,9	54,2	15,4	17,7	15,2	30,3
	Am2L	53,4	NC	19,1	64,7	30,1	86,6
	Am3L	93,1	NC	62,5	NC	-	-

NC – Não calculados pelo número insuficiente de efeitos aos organismos;

- Amostra não coletada;

Amostras: Am1A (água filtrada), Am2A (água bruta), Am3A (água da lavagem do filtro), Am1L (lodo do floculador), Am2L (lodo do decantador) e Am3L (lodo do Decantador superfície).

Já nas amostras Am1A, Am2A, Am3A e Am3L foi observada apenas a toxicidade subletal, e nessas mesmas amostras as concentrações de OD foram superiores a 6 mg L⁻¹.

Na Tabela 20 encontram-se descritos os resultados de toxicidade das amostras filtradas, comparando esses resultados aos valores de CE_{50} e CL_{50} dos elutriatos, pode-se afirmar que as amostras filtradas foram mais tóxicas a *H. attenuata* do que as amostras de elutriato. Os testes com as amostras filtradas podem expressar de maneira mais eficiente a toxicidade da fase líquida do lodo, uma vez que na filtração, a fase sólida e líquida do lodo foi separada, sem realizar qualquer diluição das mesmas.

Tabela 20 - Valores de CE_{50} e CL_{50} para *H. attenuata*, expostas as amostras filtradas do lodo

Filtrada	Amostra	22/09/11	
		CE_{50}	CL_{50}
	Am1LF	2,9	7,6
	Am2LF	7,0	22,3

Amostras: Am1LF (filtrado do floculador) e Am2LF (filtrado do decantador).

Na interpretação dos resultados dos testes de toxicidade, deve-se lembrar que quanto menor forem os valores obtidos, maior será a toxicidade da amostra, uma vez que os resultados encontrados se referem à concentração da amostra necessária para afetar 50% dos organismos utilizados nos testes (MESSIAS, 2008). Com a possibilidade de se calcular os dois parâmetros CE_{50} e CL_{50} , os resultados tendem a ficar fortalecidos e complementares, já que também foi possível visualizar se ocorreu o predomínio da toxicidade aguda ou da crônica.

Na amostra Am1L (Tabela 19), das coletas de 17/09/09 e de 22/09/11, e na amostra Am1LF (Tabela 20) da coleta de 22/09/11, pode-se afirmar que houve predomínio da toxicidade aguda, por isso os valores de CE_{50} e CL_{50} ficaram próximos e altamente tóxicos. Já nas amostras Am1L (24/06/09), Am2L (17/09/09) e Am2LF (22/09/11) foi observada a ocorrência tanto da toxicidade aguda quanto da crônica, por isso os valores de CE_{50} e CL_{50} foram mais distantes.

Nas avaliações da toxicidade dos sedimentos do rio Corumbataí Messias (2008) e Santos (2008) obtiveram elevada toxicidade efetiva das amostras dos

elutrios para a *H. attenuata*, mas mesmo assim a toxicidade dessas amostras foram inferiores a toxicidade observada na amostra dos lodos filtrados (Am1LF e Am2LF). Messias (2008) obteve valores de CE_{50} , que variaram de 27,8% a não tóxicas (NT), enquanto Santos (2008) obteve valores de CE_{50} , que variaram de 14,3% a não tóxicos (NT).

As toxicidades observadas nessas amostras filtradas se correlacionaram com resultados de análises de resíduos de indústrias sucroalcooleiras obtidas por Ferreira et al. (2011), o qual analisou a toxicidade da vinhaça bruta e tratada e, obteve valores de CE_{50} de 2 e 12% e valores de CL_{50} de 2,3 e 17,7% respectivamente.

Nos testes de toxicidade com *P. subcapitata* foi avaliado o valor de CI_{50} , correspondendo à concentração, que foi capaz de inibir 50% do crescimento das algas. Diferentemente do observado para *H. attenuata*, a amostra mais tóxica para *P. subcapitata* foi a Am3A (água da lavagem do filtro), onde foi determinado CI_{50} inferior a 15% (Tabela 21), a toxicidade observada pode estar relacionada à turbidez de 225 NTU, encontrada nessa amostra, uma vez que partículas suspensas na água interferem no processo de fotossíntese, essencial ao crescimento dessa espécie (DEBENEST et al., 2012).

Outros fatores como a adsorção dos compostos dissolvidos na água às pequenas partículas suspensas, assim como a inserção do cloro no pré-tratamento da água, também pode ter auxiliado no aumento da toxicidade dessa amostra. A adição do cloro no pré-tratamento da água ao mesmo tempo em que, age benéficamente, eliminando os microrganismos indesejáveis (fungos, bactérias, vírus, entre outros) também afetam indiretamente os organismos não alvos, sensíveis ao cloro e aos seus metabólitos (SILVA, 2011). Esse fator foi observado na amostra Am1A (água filtrada), a qual foi mais tóxica, para *P. subcapiata*, do que a Am2A (água bruta do rio Corumbataí).

Silva (2011) irrigou as sementes de *Allium cepa*, com amostras de água bruta, filtrada e tratada, coletadas em ETAs da cidade de Piracicaba. Nesse trabalho foi constatado que as águas tratadas auxiliaram na formação dos micronúcleos e na ocorrência das quebras cromossômicas, as quais foram mais frequentes nas águas tratadas das ETAs que utilizam o gás cloro, do que nas tratadas das ETAs que utilizam o hipoclorito, mostrando que embora seu efeito seja benéfico no tratamento da água, o mesmo pode afetar negativamente os organismos não alvos.

Como pode ser observado na Tabela 21, a coleta de 17/09/09 foi a mais tóxica para *P. subcapitata* e para a *H. attenuata*, a toxicidade observada nessa coleta, pode estar relacionada ao carreamento das substâncias poluentes, já que essa coleta foi realizada após as primeiras chuvas de setembro/2009, o que correspondeu a 119 mm, nos cinco dias que antecederam a coleta (ESALQ, 2012).

A Tabela 22 mostra as determinações de Cl_{50} obtidos nos testes com as amostras filtradas e, assim como visualizados com a *H. attenuata*, as amostras filtradas foram mais tóxicas, com toxicidade para *P. subcapitata*, superando a toxicidade da amostra Am3A.

Tabela 21 - Valores de Cl_{50} para *P. subcapitata*, expostas as amostras de água e elutriato

	Amostras	24/06/09	17/09/09	22/09/11
Água	Am1A	36,5	36,7	71
	Am2A	NC	NC	NC
	Am3A	< 6,25	7,66	14,5
Lodo	Am1L	84,6	11,9	88,6
	Am2L	28,4	11,1	46,0
	Am3L	27,3	29,7	-

NC – Não calculados pelo número insuficiente de efeitos aos organismos;

- Amostra não coletada;

Amostras: Am1A (água filtrada), Am2A (água bruta), Am3A (água da lavagem do filtro), Am1L (lodo do floculador), Am2L (lodo do decantador) e Am3L (lodo do Decantador superfície).

Tabela 22 - Valores de Cl_{50} para *P. subcapitata*, expostas as amostras filtradas do lodo

Filtrada	Amostra	22/09/11
	Am1LF	2,69
	Am2LF	4,46

Amostras: Am1LF (filtrado do floculador) e Am2LF (filtrado do decantador).

Assim como o verificado nesse trabalho, os organismos de *P. subcapitata*, quando expostos as amostras ambientais tendem a apresentar alta variação dos resultados, os quais dependem das amostras coletadas e dos períodos de coleta. Santos (2008) obteve resultados de Cl_{50} que variaram de 8,6 a 98%, assim como

Messias (2008) obteve resultados que variaram de 6,6 até 88,1%, para amostras de elutriato, preparados na concentração de 1:4 (sedimento de rio Corumbataí e água destilada).

Por outro lado, quando esses organismos foram expostos a amostras de resíduos industriais e produtos formulados a toxicidade foi maior e a variação dos resultados foi menor. Ferreira et al. (2011), avaliaram a exposição de *P. subcapitata* a amostras de vinhaça bruta e tratada, e como resultado obteve CL_{50} de 1,58 e 14,91%, para amostra bruta e tratada, respectivamente.

Chelinho et al. (2010) avaliaram a taxa de crescimento diário de *P. subcapitata*, expostas a solos contaminadas com atrazina, em diferentes amostras de elutriato e lixiviados do solo. A taxa de crescimento diário variou de 0,10 a 1,4 para as amostras de elutriato e de 0,13 a 1,6, para amostras de lixiviados.

Para a *P. subcapitata*, a amostra Am2L foi mais tóxica, seguida pela amostra Am3L, a qual apresentou ao longo desse estudo, CL_{50} inferior a 30%. Comparando os resultados de *H. attenuata* e *P. subcapitata*, pode se inferir que essas espécies responderam a diferentes substâncias tóxicas presentes nas águas, já que para *H. attenuata* a amostra mais tóxica do elutriato foi a Am1L, enquanto que para *P. subcapitata* foi a Am2L.

Segundo Monteiro et al. (2008b) as algas respondem diretamente a presença de herbicidas e elementos químicos presentes nas amostras de água, sedimento e resíduos industriais, elevando assim a sensibilidade desse organismo.

Nos testes de mortalidade com *D. similis* foi observada letalidade dos organismos nas amostras de água filtrada (Am1A) e da lavagem do filtro (Am3A) correspondente à coleta 24/06/2009 (Tabela 23). Nessas amostras foram detectados CL_{50} de 23,3% (Am1A) e de 21,0% (Am3A).

Assim como o observado com a *P. subcapitata*, as amostras Am1A e Am3A da coleta de 24/06/09 apresentaram alta toxicidade para a *D. similis*, enquanto que a água bruta do rio Corumbataí (Am2A) teve baixa toxicidade inviabilizando a determinação do CL_{50} , por isso, a toxicidade observada nessas duas amostras pode estar relacionada à presença do cloro, ou de algum outro produto químico adicionado no tratamento da água. O cloro, diferentemente dos coagulantes utilizados, tende a ficar dissolvido na água, o que pode ter afetado esse organismo (AWWA, 1999; CONNELL, 2002; SANCHES, 2003).

Para *D. similis*, as amostras dos elutriatos e da água bruta do rio, não foram tóxicas a esse organismo, mesmo algumas dessas amostras apresentando elevada condutividade elétrica e baixa concentração de OD, condições de difícil sobrevivência dos organismos. Resultados semelhantes foram obtidos por Messias (2008); Monteiro et al. (2008) e Santos (2008), quando essas autoras analisaram amostras de sedimento. Nesses trabalhos, as autoras justificaram esses resultados, afirmando que nas águas dos rios a concentração de nutrientes pode ser maior do que as concentrações dos agentes tóxicos, resultando no antagonismo dessas moléculas e, consequentemente na diminuição da toxicidade.

Quando as *D. similis* entram em contato com essas amostras, provavelmente, tendem a ingerir os nutrientes disponíveis, fortalecendo seu organismo. Os cladóceros também se alimentam de detritos orgânicos e bactérias, por isso, os efluentes domésticos, os adubos e outras substâncias orgânicas podem funcionar com alimento para esses organismos, encobrando assim os efeitos tóxicos das amostras contaminadas (OJALA et al., 1995; SANTOS, 2008).

Tabela 23 - Valores de CL₅₀ para *D. similis*, expostas as amostras de água e elutriato

	Amostras	24/06/09	17/09/09	22/09/11
Água	Am1A	23,3	NC	NC
	Am2A	NC	NC	NC
	Am3A	21,0	NC	21,7
Lodo	Am1L	NC	NC	NC
	Am2L	NC	NC	NC
	Am3L	NC	NC	-

NC – Não calculados pelo número insuficiente de efeitos aos organismos;

- Amostra não coletada;

Amostras: Am1A (água filtrada), Am2A (água bruta), Am3A (água da lavagem do filtro), Am1L (lodo do floculador), Am2L (lodo do decantador) e Am3L (lodo do Decantador superfície).

Brentano (2006) estudou o efluente de uma estação de tratamento de esgoto, realizando testes crônicos para avaliar a fecundidade, índice reprodutivo, número de posturas por fêmea e número de neonatos. Ao longo dos 21 dias de teste não foi observada a mortalidade dos indivíduos, mostrando que os indivíduos, não foram sensíveis nos testes agudos, à presença da alta carga orgânica encontrada nos efluentes das ETES.

Já Barata et al. (2008) afirmaram que os cladóceros, em especial a *D. magna* tem sua sensibilidade relacionada aos agrotóxicos puros ou misturados, assim como aos dicromatos e aos produtos químicos puros, e podem não apresentar toxicidade aos resíduos ricos em nutrientes.

Na coleta de 22/09/11 foi adicionado o teste crônico com a *D. similis* para as amostras Am1L e Am2L que não apresentaram toxicidade aguda, os resultados encontram-se descritos na Tabela 24.

Comparando os resultados da Tabela 23 com os resultados da Tabela 24 foi observado que a amostra Am2L não causou a mortalidade dos indivíduos no teste agudo, mas quando estes organismos foram expostos à mesma amostra por um período superior a 72 horas, os indivíduos de *D. similis* começaram a morrer. A mortalidade após as 72 horas de teste foi de 90% na diluição a 25%, de 80% nas diluições de 50 e 75% e de 50% na amostra Am2L a 100%. Entretanto até o final do teste a porcentagem de mortalidade da amostra Am2L foi aumentando até atingir os 90% de mortalidade para as diluições 25, 50 e 75% e 70% na amostra 100%, como pode ser observado na Tabela 24. Esses resultados deram suporte ao discutido anteriormente, quando mostrou que a diluição da carga orgânica das amostras, pode mostrar os efeitos tóxicos encobertos pela disponibilidade de nutrientes (BRENTANO, 2006).

Os resultados obtidos nesse trabalho corroboram com os de Barbosa (2000) e Brentano (2006), uma vez que esses autores também não observaram a toxicidade aguda do lodo para *D. similis*, no período de 48 horas. Entretanto avaliando os efeitos crônicos dessas amostras a *D. similis*, esses autores constataram a mortalidade de até 60% dos organismos expostos, no período de 21 dias do teste. Os indícios de toxicidade observada por Barbosa (2000) foi maior nas menores concentrações do que nas maiores, assim como o observado nesse estudo e em estudos de toxicidade realizado por Meletti (1997), quando o mesmo estudou a bacia do rio Piracicaba.

Os cálculos da porcentagem de mortalidade e o número de descendentes gerados na amostra Am1L e Am2L, encontram-se descritos na Tabela 24, para a amostra Am2L, os cálculos foram realizados com o número de sobreviventes, o qual ficou entre 10 e 30%, na Am2L a primeira postura atrasou quatro dias, se comparado ao controle e a amostra Am1L.

Com a amostra Am1L e com o controle, o teste transcorreu normalmente obtendo 100% de sobrevivência após os 21 dias do teste. O número médio de neonatos e a fecundidade das fêmeas foram maiores na amostra Am1L do que no controle, o índice reprodutivo foi diminuindo lentamente em direção as menores diluições. Os resultados das amostras de Am1L 100, 75 e 50% foram estatisticamente diferentes do controle em nível de $p < 0,05$ pelo teste de Dunnett.

Nas amostras filtradas do lodo foi detectada a toxicidade aguda da *D. similis*, como pode ser observado na Tabela 25. Comparando as amostras filtradas com o elutriato, pode-se observar que a toxicidade ficou encoberta pela diluição do lodo no preparo do elutriato, diferentemente do observado nas amostras filtradas. O valor de CL_{50} , na Am2LF foi praticamente 100% da amostra, indicando que somente a amostra pura pode causar a mortalidade de 50% dos organismos avaliados, enquanto na amostra Am1LF o CL_{50} ficou em 54,2% da amostra do lodo filtrado.

Tabela 24 - Teste crônico de 21 dias e porcentagem (%) de mortalidade para *D. similis*

Amostra	% Mortalidade	Nº Posturas	1ª Postura	Fecundidade por fêmea	Nº médio de juvenis
Controle	0	7	7º dia	15	106
Am1L100	0	7	7º dia	21	144*
Am1L75	0	7	7º dia	20	138*
Am1L50	0	7	7º dia	19	136*
Am1L25	0	7	7º dia	17	117
Am2L100	70	6	11º dia	9	53
Am2L75	90	5	11º dia	12	60
Am2L50	90	5	11º dia	12	60
Am2L25	90	6	11º dia	12	70

Amostras: Am1L (lodo do floculador) e Am2L (lodo do decantador);

* Diferença estatística em relação ao controle em nível de 0,01, pelo teste de Dunnett

Tabela 25 - Valores de CL_{50} para *D. similis*, expostas as amostras filtradas

Filtrada	Amostra	22/09/11
	Am1LF	54,2
	Am2LF	99,9

Amostras: Am1LF (filtrado do floculador) e Am2LF (filtrado do decantador)

Determinações de pH, condutividade e OD foram realizadas no início dos testes com *C. xanthus*, esses resultados obtidos no início desses testes diferiram dos resultados obtidos nas determinações realizadas nos elutriatos, já que os testes foram preparados com o meio de cultivo de *C. xanthus* e os elutriatos foram preparados com água destilada. Os resultados de pH variaram de 6,5 a 7,8, enquanto que os resultados de OD e condutividade elétrica apresentaram variações maiores, por isso encontram-se descritos na Tabela 26.

Os testes de toxicidade com as larvas do *C. xanthus* foram realizados com as amostras de lodo puro (100%), conforme as recomendações de Fonseca e Rocha (2004). Como os testes das coletas de 24/06/09 e 17/09/09 foram realizados, somente, com a amostra a 100%, os mesmos inviabilizaram a determinação da curva de dose-resposta, por isso os resultados contidos na Tabela 27, se referem à porcentagem de mortalidade dos organismos, a classificação toxicológica das amostras, segundo Barbosa (2000) e as diferenças estatísticas significativas, em relação ao controle, realizadas pelo Teste de Fischer ($p < 0,05$). Segundo Barbosa (2000), as amostras foram classificadas em: tóxica (mortalidade > 50%); indício de toxicidade (11 a 50% de mortalidade); não Tóxicas (mortalidade < 10%).

Tabela 26 - Determinações de condutividade elétrica (Cond) e oxigênio dissolvido (OD), no início das exposições do *C. xanthus*

	24/06/09		17/09/09		22/09/11	
Amostra	Cond ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	OD (mg L^{-1})	Cond ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	OD (mg L^{-1})	Cond ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	OD (mg L^{-1})
Controle	82	7,65	90,3	7,30	99	8,20
Am1L	609	3,90	695	0,72	480	2,10
Am2L	399	5,30	404	4,54	350	3,92
Am3L	205	5,90	281	7,29	-	-

Amostras: Am1L (lodo do floculador), Am2L (lodo do decantador) e Am3L (lodo do decantador superfície);

- Amostra não coletada.

Das amostras analisadas a Am1L foi a mais tóxica para *C. xanthus*, com mortalidade superior a 70% dos organismos avaliados (Tabela 27), em todas as coletas, nessa mesma amostra foram determinadas as concentrações mais baixas de OD, os quais não ultrapassaram $3,9 \text{ mg L}^{-1}$.

Devido a frequente toxicidade observada nas amostras Am1L e Am2L, na coleta de 22/09/11, essas amostras foram diluídas a 75, 50 e 25%, com sedimento de referência utilizado no cultivo. Na amostra Am1L foi determinado o CL_{50} de 75% para *C. xanthus*, ou seja, 75% da amostra causou a mortalidade de 50% dos organismos testados, em um período de 96 horas, mas para a amostra Am2L, não foi possível calcular o CL_{50} , uma vez que a mortalidade foi inferior a 50% dos organismos testados.

Na coleta de 22/09/11 a concentração de OD, na Am1L variou de $2,1 \text{ mg L}^{-1}$, na amostra pura (100%), para $5,8 \text{ mg L}^{-1}$ na diluição de 25%, enquanto que na amostra Am2L, o OD variou de $3,9 \text{ mg L}^{-1}$ na amostra pura (100%), para $5,8 \text{ mg L}^{-1}$ na diluição a 25%. Para essas mesmas amostras, a condutividade na Am1L variou de $480 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$, na amostra pura (100%), para $281 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$, na diluição de 25%, enquanto que na amostra Am2L, a variação foi de $350 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$, na amostra pura (100%), para $280 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$, na diluição de 25%.

Tabela 27 - Classificação toxicológica, número de indivíduos mortos e diferença estatística em relação ao controle para *C. xanthus*

Amostras	24/06/09	17/09/09	22/09/11
Controle	Não tóxico (0)	Não tóxico (0)	Não tóxico (0)
Am1L	Tóxico (16)*	Tóxico (18)	Tóxico (13)*
Am2L	Tóxico (13)*	Tóxico (16)*	Indício toxicidade (6)*
Am3L	Não tóxico (0)	Não tóxico (0)	-

Amostras: Am1L (lodo do floculador), Am2L (lodo do decantador) e Am3L (lodo do decantador superfície);

– Amostra não coletada;

* Diferença significativa em relação ao controle, teste de Fischer ($p < 0,05$);

Classificação: Não tóxico (mortalidade < 10%); Indício de toxicidade (11 a 50% de mortalidade); Tóxico (mortalidade > 50%).

Essas duas análises diferiram notadamente entre si, nas classificações de Barbosa (2000), a mortalidade de dois organismos já caracterizou a amostra como “indício de toxicidade”, por outro lado, no Teste de Fischer, somente mortalidades superiores a cinco organismos foram caracterizadas como diferentes do controle, o que representou em torno de 27% de mortalidade.

O aumento da diluição auxiliou no aumento do OD e, nas diminuições da condutividade elétrica e da toxicidade, melhorando consequentemente a qualidade da amostra avaliada. A toxicidade da amostra Am1L pode estar relacionada à baixa concentração de OD, observado no início do teste, assim como ao aumento da condutividade, condições adversas a esses organismos, os quais, como descrito no item 4.5.4 foram cultivados em águas de baixa dureza e condutividade e, em meio de cultivo saturado de oxigênio.

O *C. xanthus* foi o organismo que apresentou maior taxa de mortalidade dos testes ecotoxicológicos realizados nessa pesquisa, essa toxicidade pode ser associada à íntima relação estabelecida pelas larvas dos Chironomus, as quais por serem bentônicas, vivem em contato direto e contínuo com os sedimentos, utilizando-os, inclusive, como fonte de alimento (PRINTES; FERNANDES; ESPÍNDOLA, 2011).

Messias (2008) e Santos (2008) utilizaram o *C. xanthus*, para avaliar a contaminação dos sedimentos da bacia do rio Corumbataí, nesses trabalhos, em algumas amostras coletadas, a mortalidade de *C. xanthus* foi superior a 70% dos organismos avaliados. Essas amostras também apresentaram diferença estatística significativa do controle em $p < 0,05$, pelo teste de Fischer.

Sotero-Santos, Rocha e Povinelli (2007) coletaram amostras de lodo de uma ETA que utilizou o cloreto férrico como coagulante, nesse trabalho, os indivíduos de *C. xanthus* foram expostos a essas amostras, as quais não causaram mortalidade significativa a esses organismos. Essas amostras também apresentaram condutividade elétrica inferior a $112 \mu\text{S cm}^{-1}$ e OD superior a $6,7 \text{ mg L}^{-1}$, indicando melhor qualidade do lodo e do elutriato.

Printes, Fernandes e Espíndola (2011) avaliaram a toxicidade das amostras de sedimentos do rio Monjolinho, contaminadas com pesticidas, para *C. xanthus*. Na amostra denominada de B a mortalidade foi em torno de 15% dos organismos expostos, o que foi significativamente diferente do controle. Entretanto quando esse teste foi preparado com a mesma amostra, mas com aeração constante, a mortalidade diminuiu e não foram detectadas alterações significativas na sobrevivência dessa espécie em relação ao controle, por isso, esses autores relacionaram a toxicidade encontrada a baixa concentração de OD da amostra, a qual foi de $0,47 \text{ mg L}^{-1}$.

Nos testes com *D. rerio*, preparados de acordo com as recomendações ABNT (2004) foi possível calcular a porcentagem de mortalidade, o ganho de biomassa e o crescimento dos organismos, os resultados encontram-se descritos na Tabela 28. Em todas as amostras analisadas foi observada a mortalidade de pelo menos 25% dos organismos expostos, exceto para o controle, onde a sobrevivência foi de 100% dos organismos. As primeiras mortalidades foram observadas após 48 horas de teste e, estas foram aumentando até atingir no final dos 28 dias de teste, a mortalidade de 50% dos indivíduos na amostra Am1L100 e 63% dos organismos na amostra Am2L100.

A mortalidade de pelo menos 50% dos organismos, nas amostras a 100% e a realização desse experimento com as diluições de 75, 50 e 25%, possibilitaram a determinação do CL₅₀ dessas amostras, os quais foram de 100% na amostra Am1L e 86,6% na amostra Am2L.

A mortalidade é uma resposta rápida e efetiva da toxicidade que essas amostras podem causar aos peixes, quando depositadas nos recursos hídricos, principalmente quando os efeitos são observados na fase adulta (fase mais resistente). Em testes realizados por Rocha et al. (2011), esses autores expuseram organismos de *D. rerio* em estágio embrionário, às amostras de sedimento coletadas no rio Tietê, após um período de 48 horas de exposição foi observada a mortalidade de praticamente 100% dos indivíduos, em alguns pontos de coleta.

Martins, Teles e Vasconcelos (2007) realizaram um levantamento dos valores de CL₅₀, para diversas moléculas puras e formuladas, e obtiveram que a *D. magna* foi mais sensível que o *D. rerio*, para a maioria das substâncias apontadas. Por isso concluíram que, quando forem observados efeitos tóxicos agudos, como a mortalidade, em espécies maiores, como o *D. rerio*, as espécies de base da cadeia, provavelmente já foram afetadas.

Bertoletti (2009) analisou a sensibilidade de *D. rerio* para os elementos químicos e obteve que os valores de CL₅₀ em mg L⁻¹ foram: 0,054 para Cd; 0,030 para Cu; 9,7 para Cr; 5,9 para o Ni; 3,6 para o Zn e 17,9 para o fenol. Para os elementos Hg e Ag, os resultados de CL₅₀ foram expressos em µg L⁻¹, os quais foram: 40,0 e 21,0, respectivamente.

Na Tabela 28, também se encontram expressos os resultados de ganho de biomassa e crescimento, os quais representam a média obtida a partir dos organismos que sobreviveram aos 28 dias de teste, os resultados completos do peso inicial e final e do tamanho inicial e final, encontram-se descritos no Anexos C.

Dos resultados de biomassa, a amostra Am1L25 foi a que ganhou mais biomassa, com um aumento de 76,5% do seu peso original, o que correspondeu a aproximadamente 0,11 g. Considerando os resultados do tamanho, as amostras Am1L25 e Am2L25 foram as que, na média, mais cresceram, 14,2 e 12%, ou seja, 0,36 e 0,32 cm, respectivamente, passando inclusive o crescimento do controle, o qual foi de 11,2%, o que representou 0,29 cm. Essas amostras apresentaram bons resultados para *D. rerio*, os quais mostraram que após o período inicial de adaptação, onde ocorreram 25% de mortalidade, estes organismos se adaptaram e cresceram.

Tabela 28 – Porcentagem de mortalidade, ganho de biomassa e crescimento para *D. rerio*, expostos as amostras de elutriato por 28 dias

Amostra	% Mortalidade	Ganho de Biomassa* (%)	Crescimento* (%)
Controle	0	89,1	11,2
Am1L100	50	64,3	10,4
Am1L75	38	47,0	8,2
Am1L50	38	41,4	8,0
Am1L25	25	76,5	14,2
Am2L100	63	44,1	8,0
Am2L75	38	44,6	6,7
Am2L50	25	52,9	7,8
Am2L25	25	60,2	12,0

Amostras: Am1L (lodo do floculador) e Am2L (lodo do decantador);

*Os valores de ganho de biomassa e crescimento, em porcentagem (%), representam a média das oito réplicas preparadas nesse experimento.

Os resultados das médias da biomassa inicial e final e do tamanho inicial e final de *D. rerio*, expostos as amostras Am1L e Am2L brutas e diluídas para 75, 50 e 25%, encontram-se descritos nas Figuras 8 e 9, respectivamente.

Analisando esses resultados foi observada diferença estatística, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), entre o peso inicial e final dos peixes, para as amostras puras e diluídas, confirmando o discutido anteriormente, os peixes que não morreram no início do teste, se adaptaram e se alimentaram, ganhando biomassa no período de 28 dias.

Os resultados dos pesos iniciais e finais dos peixes expostos à amostra Am2L100 foram os únicos que não apresentaram diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Esse fator provavelmente ocorreu devido à alta porcentagem de mortalidade do teste, o que diminuiu a quantidade de resultados inseridos no programa estatístico (Figura 8).

Figura 8 - Diferença entre a biomassa inicial e final de *D. rerio*, expostos as amostras de elutriato e, alimentados diariamente por 28 dias

Já nos resultados do tamanho inicial e final, dos peixes foram observadas diferenças estatísticas, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), no controle e nas amostras Am1L25 e 50% e na amostra Am2L75% (Figura 9). Nessas mesmas amostras foi encontrada mortalidade inferior a 40% dos organismos testados.

Segundo Silva (2009), a quantidade de alimento fornecido durante os experimentos e o potencial nutritivo destes, pode ser uma das principais causadoras de mortalidade nos testes crônicos, se o seu potencial nutritivo for baixo. Nesse estudo a mortalidade obtida, não foi relacionada ao baixo potencial nutritivo da ração, uma vez que nas amostras do controle a mortalidade foi de 0%, e ao longo dos 28 dias os organismos do controle, apresentaram crescimento e ganho de biomassa significativo.

Siccardi et al. (2009) analisaram sete rações, dentre elas, cinco comerciais e duas formuladas, e obteve que uma das rações formuladas favoreceu em 0,5 cm o crescimento dos peixes e, na sequência a segunda melhor ração utilizada foi a TetraMin Tropical Flakes®, ou seja, a mesma ração utilizada nessa pesquisa, confirmando o potencial nutritivo dessa ração.

Figura 9 - Diferença entre o tamanho inicial e final de *D. rerio*, expostos as amostras de elutriato e, alimentados diariamente por 28 dias

Sartori (2011) tratou a vinhaça, com espécies de fungos comestíveis, os quais foram secos, liofilizados e fornecidos como alternativa alimentar para *D. rerio*, juntamente com a ração comercial TetraMin Tropical Flakes®, nessa pesquisa o crescimento dos organismos não foi significativa, embora os organismos alimentados apenas com essa ração tenham crescido mais do que os peixes alimentados com fungos.

Esses organismos também têm sido utilizados nos ensaios crônicos, realizados com a finalidade de analisar o crescimento e o desenvolvimento dessa espécie, se a mesma for exposta as amostras ambientais contaminadas com corantes, agroquímicos, elementos químicos, hormônios e resíduos industriais (MARTINS; TELES; VASCONCELOS, 2007; MOREIRA-SANTOS et al., 2008; SILVA, 2009; ROCHA et al., 2011; LAWRENCE et al., 2012; ZHANG et al., 2013).

5.4 Teste de toxicidade terrestre

Os testes de toxicidade com *F. candida* foram realizados com as amostras Am3A, Am1L, Am2L, Am1LF, Am2LF, Am1L lod e Am2L lod da coleta de 22/09/11. Nesses experimentos foi possível calcular, a porcentagem de mortalidade, a média reprodutiva dos organismos, por amostra e por diluição e os valores de CE₅₀ e CE₂₀, para a maioria das amostras avaliadas, os resultados encontram-se descritos nas Tabelas 29 e 30.

As amostras que causaram maior toxicidade aguda foram: Am3A100, Am1LF100 e Am1LF50, nessas a porcentagem de mortalidade dos organismos expostos foi superior a 15%, o que também foi significativamente diferente do controle pelo Teste de Dunnett em $p < 0,05$, para Am1L50 e, em $p < 0,01$, para Am3A100, Am1LF100. Mesmo com mortalidade superior aos 15% e com as diferenças estatísticas observadas, não foram essas amostras, as que mais causaram a toxicidade crônica, ou seja, a inibição da geração de novos descendentes.

Considerando os resultados dos testes crônicos, expressos na Tabela 29, as amostras que mais inibiram a geração de novos descendentes foram: Am2L, Am1L lod e Am2L lod. A amostra de elutriato Am2L inibiu em torno de 20% na geração dos novos descendentes, os quais foram significativamente diferentes do controle pelo

Teste de Dunnett, com $p < 0,01$ para as amostras Am2L100, 50 e 25% e com $p < 0,05$, para as diluições de Am2L12,5 e 6,25%. Fator semelhante foi observado nas amostras da incorporação do lodo ao solo OECD 10%, mas nessas amostras a Am1L lod inibiu mais que a Am2L lod, na geração de novos descendentes.

Para esse organismo, os experimentos da incorporação do lodo ao solo OECD 10% foram predominantemente mais tóxicos dos que os experimentos realizados com as amostras de elutriato e as filtradas. Esse fator pode estar relacionado à alta concentração de areia desse solo de referência, na qual a adsorção do lodo pode ter ocorrido mais lentamente e, por isso os compostos tóxicos podem ter ficado biodisponíveis por mais tempo. Já as amostras de elutriato e filtrado, quando incorporada ao solo OECD 10% seco, foram rapidamente absorvidas, hidratando as amostras.

As análises estatísticas e as determinações de CE_{50} e CE_{20} foram realizadas com os resultados completos obtidos nesses experimentos, os quais se encontram descritos no Anexo D. Os experimentos montados com as amostras de lodo incorporado ao solo (lod) foram as que apresentaram maior diferença estatística significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,01$) e, conseqüentemente foram as que apresentaram os menores valores de CE_{50} e CE_{20} .

Tabela 29 - Porcentagem de mortalidade e número médio de juvenis de *F. candida*

Coleta 22/09/11		
Amostra	Mortalidade em %	Nº médio de juvenis
Controle	0	436
Am1L100	8	465
Am1L50	2	417
Am1L25	4	410
Am1L12,5	8	421
Am1L6,25	0	464
Am2L100	10	337**
Am2L50	0	338**
Am2L25	6	342**
Am2L12,5	0	367*
Am2L6,25	2	354*
Am3A100	18**	447**
Am3A50	0	505
Am3A25	0	493
Am3A12,5	2	500
Am3A6,25	2	536
Controle	0	631
Am1LF100	20**	481*
Am1LF50	16*	489*
Am1LF25	6	482*
Am1LF12,5	4	543
Am1LF6,25	4	598
Am2LF100	2	519*
Am2LF50	2	502**
Am2LF25	4	510**
Am2LF12,5	2	527*
Am2LF6,25	2	533*
Am1L lod 100	8	307**
Am1L lod 50	6	352**
Am1L lod 25	0	373**
Am1L lod 12,5	0	374**
Am1L lod 6,25	0	466**
Am2L lod 100	2	384**
Am2L lod 50	4	400**
Am2L lod 25	4	422**
Am2L lod 12,5	4	426**
Am2L lod 6,25	2	429**

Amostras: Am1L (lodo do floculador), Am2L (lodo do decantador), Am3A (água da lavagem do filtro), Am1LF (lodo filtrado do floculados), Am2LF (lodo filtrado do decantador), Am1L lod (lodo bruto do floculador) e Am2L lod (lodo bruto do decanador);

**Diferença estatística significativa, em relação ao controle pelo teste de Dunnett ($p < 0,01$);

* Diferença estatística significativa, em relação ao controle pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Tabela 30 - Valores de CE₂₀ e CE₅₀ referente à reprodução de *F. candida*, expostas as amostras de lodo bruto, filtrado, elutriato e água de lavagem do filtro

		22/09/11	
Amostras		CE ₂₀	CE ₅₀
Elutriato	Am1L	NC*	NC*
	Am2L	0,87 (0,00 – 1,96)	2,69 (0,00 – 6,07)
Lavagem Filtro	Am3A	1,36 (0,20 – 2,51)	4,23 (0,65 – 7,81)
Filtrado	Am1LF	2,96 (0,00 – 6,62)	9,19 (0,00 – 20,6)
	Am2LF	0,85 (0,00 – 2,03)	2,63 (0,00 – 6,32)
Lodo	Am1L lod	2,32 (0,00 – 41,0)	4,75 (3,11 – 6,40)
	Am2L lod	0,64 (0,27 – 1,00)	1,98 (0,84 – 3,11)

Amostras: Am1L (lodo do floculador), Am2L (lodo do decantador), Am3A (água da lavagem do filtro), Am1LF (lodo filtrado do floculados), Am2LF (lodo filtrado do decantador), Am1L lod (lodo bruto do floculador) e Am2L lod (lodo bruto do decanador);

* NC – Não calculado pelo número insuficiente de efeitos nos organismos.

Analisando os valores de CE₂₀ e CE₅₀, pode-se afirmar que a amostra do lodo incorporado ao solo OECD 10% foi a mais tóxica, seguida pelas amostras filtradas e depois pelo elutriato. Embora possa ser observada essa sequencia regressiva de intoxicação, os resultados obtidos estiveram bem próximos, mostrando que indiferentemente da manipulação (elutriato e filtrado) a toxicidade permaneceu.

Em trabalhos desenvolvidos com solos contaminados com As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn e 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAH) foram obtidos valores de CE₅₀ que variaram de >100 até 2,2 g 100 g⁻¹, assim como valores de CE₂₀ de >100 a 2,1 g 100 g⁻¹ e de CE₁₀ de 22,8 a 1,9 g 100 g⁻¹ (LORS et al., 2010). Nesse trabalho, comparando os resultados dos testes de reprodução, com os resultados do teste de fuga com *F. candida* foi observado valores mais baixos de CE₅₀, CE₂₀ e CE₁₀, nos testes de fuga os quais variaram de >100 a 0,8 g 100 g⁻¹, para o CE₅₀, de 2,9 a 0,3 g 100 g⁻¹, para CE₂₀ e de 0,9 a 0,042 g 100 g⁻¹, para o CE₁₀. Concluindo que os organismos quando expostos a amostras tóxicas, tem como primeira reação à fuga, mas quando esta não foi possível, os efeitos observados foram na diminuição do número de neonatas e até a ocorrência de mortalidade dos indivíduos expostos, como observado nesse estudo.

Já Natal-da-Luz et al. (2009), estudando a incorporação de lodos de esgotos, contendo diferentes concentrações de Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Zn e Pb, em um solo de referência, concluíram que essas amostras não causaram toxicidade aguda e crônica a esses organismos. Segunda Natal-da-luz et al. (2009), mesmo com a elevada concentração dos metais pesados, em especial o Cu e Zn, a alta concentração de nutrientes presentes nos lodos de esgoto, forneceu alimento suficiente para o crescimento e a reprodução dessa espécie, por isso não foram observados efeitos para *F. candida*.

Amorim et al. (2012) ressaltaram a importância de estudar as amostras ambientais, para que os efeitos sinérgicos e antagônicos dos poluentes ambientais possa ser identificado, completando a discussão realizada por Natal-da-Luz et al. (2009).

Santos; Soares e Loureiro (2010); Perez et al. (2011) e Amorin et al. (2012) realizaram estudos da mistura de elementos químicos e agrotóxicos, nesses trabalhos foram observados efeitos sinérgicos desses compostos não apenas para *F. candida*, mas também para *P. subcapitata*, e outras espécies aquáticas e terrestres.

5.5 Teste com *Z. mays*

Os resultados da porcentagem de emergência e as médias das avaliações do crescimento e desenvolvimento das plântulas de *Z. mays*, expressas em: crescimento máximo radicular (CRmax), crescimento mediano da raiz (CRM), crescimento do caule (CC) e crescimento máximo aéreo (CAmax), com as amostras de elutriato e com a incorporação do lodo no substrato de referência, encontram-se descritos nas Tabelas 31 e 32, respectivamente. Os resultados completos encontram-se descritos nos Anexos E e F.

A porcentagem germinativa de *Z. mays*, nos controles foi de 100% das sementes cultivadas. A emergência de pelo menos 50% destas sementes ocorreu no 5º dia após o plantio, confirmando assim, a capacidade germinativa das sementes utilizadas e a eficiência na utilização desse tipo de substrato em experimentos laboratoriais. Resultados semelhantes foram obtidos por Mata et al. (2011), quando estes autores cultivaram *Z. mays*, em campo com adubação.

Nas amostras da incorporação do lodo ao substrato, Am1L lod e Am2L lod e na amostra de irrigação com o elutriato, Am2L, a porcentagem germinativa foi superior a 90% das sementes utilizadas, por isso os resultados não foram estatisticamente diferentes do controle, pelo Teste de Dunnett ($p < 0,05$). Por outro lado, a amostra de elutriato, Am1L, inibiu 30% da germinação das sementes, na amostra Am1L100 e em 14% na amostra Am1L75, as quais foram significativamente diferentes do controle pelo Teste de Dunnett ($p < 0,05$), sendo que a significância da Am1L100 foi ao nível de $p < 0,01$ (Tabela 31).

Mata et al. (2011) observaram que a germinação do milho foi de 100%, quando as sementes foram cultivadas em solos que receberam adubação com esterco bovino, mas quando as sementes foram expostas a agroquímicos e aos resíduos que contêm altas concentrações de elementos químicos, os efeitos foram diferentes já que a porcentagem de germinação foi menor.

Analisando a porcentagem germinativa de *Z. mays*, quando essas sementes foram expostas aos produtos formulados, Finoto et al. (2011) observaram a inibição de 38,3% do índice germinativo das sementes, quando estas foram expostas ao imazapic, na dose de 140 g ha^{-1} . Machado et al. (2012) encontraram resultados semelhantes, quando expuseram as sementes de *Z. mays* ao imazamoxi e glifosato, e observaram que esses produtos causaram a inibição de 33,3 e 13,3%, da germinação das sementes expostas, respectivamente.

Já Vaz (2010) analisou uma lama oriunda de uma estação de tratamento de águas residuais de uma indústria de revestimento de Águeda, Portugal, a qual continha principalmente Cr, Cu, Ni e Zn em sua composição. Essa lama quando incorporada ao solo inibiu em até 100% a germinação das plântulas de *Brassica rapa* e *Avena sativa*, nas aplicações de 1250 g kg^{-1} de solo, indicando que os metais pesados, em especial o Cu, Cr, Ni e Zn, podem interferir negativamente e significativamente na germinação de sementes de monocotilédneas e dicotilédneas, dependendo de suas concentrações.

Nos resultados do crescimento e desenvolvimento das plântulas, descritos na Tabela 31, a Am1L100 foi a única amostra que apresentou diferença estatística significativa, em relação ao controle, pelo Teste de Dunnett ($p < 0,01$), em todas as variáveis analisadas, mostrando que essa amostra além de inibir em 30%, a germinação das sementes, também inibiu o CRmax, o CRM, o CC e o CAmáx, interferindo negativamente em todo o desenvolvimento das plântulas.

Destas, as variáveis CRmax e CRM foram as mais afetadas negativamente pelo elutriato Am1L, por isso tanto a amostra denominada 100% quanto as denominadas 75, 50 e 25% foram estatisticamente diferentes do controle pelo Teste de Dunnett ($p < 0,01$), exceto a amostra Am1L25, onde a diferença estatística ficou a nível de $p < 0,05$ (Tabela 31).

Tabela 31 - Porcentagem de germinação e médias do crescimento radicular e aéreo do *Z. mays*, exposto as amostras de elutriato

Amostra	Porcentagem		Média (cm)		
	Germinação	CRmax	CRM	CC	CMax
Controle	100	35,3	14,1	11,4	43,6
Am1L100	70**	19,6**	7,8**	7,6**	26,7**
Am1L75	86*	29,0**	9,5**	10,2	39,9
Am1L50	96	31,2**	11,2**	11,3	41,9
Am1L25	98	31,3*	12,1*	10,9	41,1
Am2L100	98	28,3**	10,0**	10,6	39,5**
Am2L75	96	26,9**	10,8**	10,8	40,3
Am2L50	100	29,1**	11,1**	10,8	41,0
Am2L25	100	31,5*	11,8**	11,1	42,6*

CRmax – média do crescimento máximo radicular; CRM – média do crescimento mediano das raízes; CC – média do crescimento do caule; CMax – média do crescimento máximo aéreo;

Amostra: Am1L (elutriato do lodo do floculador) e Am2L (elutriato do lodo do decantador);

**Diferença estatística significativa, em relação ao controle pelo teste de Dunnett ($p < 0,01$);

* Diferença estatística significativa, em relação ao controle pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

A interferência negativa observada na Am1L foi diminuindo à medida que a diluição da amostra utilizada na irrigação foi aumentando e a concentração dos elementos químicos tóxicos diminuiu. A presença dos macro e micronutrientes, quando em excesso podem ter efeito contrário, ao esperado. As respostas diretas das raízes confirmou o esperado, o qual pressupôs que, os efeitos dos compostos tóxicos afetam, na maioria dos casos, primeiramente a germinação e o desenvolvimento das raízes. Já que as raízes competem à função de absorção da água e dos nutrientes presentes nas mesmas e, conseqüentemente dos poluentes ou dos elementos químicos e agrotóxicos em excesso presentes nessas amostras,

os quais dependendo de suas concentrações podem interferir positiva ou negativamente no desenvolvimento das plântulas (MATA et al., 2011).

Diferentemente do elutriato, a incorporação do lodo da ETA ao substrato foi predominantemente benéfica ao crescimento das plântulas de *Z. mays*. Os resultados do crescimento das raízes (CRmax e CRM), nas amostras Am1L lod e Am2L lod, foram melhores do que os resultados obtidos com as plântulas do controle (Tabela 32).

Tabela 32 - Porcentagem de germinação e médias do crescimento radicular e aéreo do *Z. mays*, exposto as amostras de lodo bruto incorporado ao substrato de referencia

Amostra	Porcentagem		Média (cm)		
	Germinação	CRmax	CRM	CC	CMax
Controle	100	40,1	24,2	10,0	36,2
Am1L lod 100	96	41,4	27,2	10,6*	39,0**
Am1L lod 75	96	42,4*	22,8	10,3	36,9
Am1L lod 50	98	45,1**	27,6	10,4	38,2
Am1L lod 25	98	41,4	23,4	10,1	37,1
Am2L lod 100	94	40,1	24,2	10,0	36,2
Am2L lod 75	96	40,9	24,2	10,5	37,1
Am2L lod 50	96	46,0**	25,1	10,4	37,1
Am2L lod 25	100	38,8	21,8	10,0	36,1

CRmax – média do crescimento máximo radicular; CRM – média do crescimento mediano das raízes; CC – média do crescimento do caule; CMax – média do crescimento aéreo máximo;

Amostra: Am1L lod (lodo do floculador) e Am2L lod (lodo do decantador);

**Diferença estatística significativa, em relação ao controle pelo teste de Dunnett ($p < 0,01$);

* Diferença estatística significativa, em relação ao controle pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Nas variáveis de CRM, CC e CMax, não foram observadas variações estatisticamente significativas pelo Teste de Dunnett ($p < 0,05$), exceto para a amostra Am1L lod 100, a qual estimulou, em torno de 7%, o aumento do CC e do CMax de *Z. mays*, os quais tiveram os melhores crescimento dessa aplicação.

Nas duas amostras Am1L lod e Am2L lod, a diluição de 50% do lodo foi a qual forneceu melhores condições para o CRmax e o CRM de *Z. mays*. Com isso pode-se inferir que entre as diluições utilizadas na incorporação do lodo ao substrato de referência, a diluição a 50% pode ser a dose recomendada de aplicação, por incentivar o crescimento e o desenvolvimento das raízes. Esses resultados também

confirmam as afirmações sugeridas no início da toxicologia por Paracelsus (OGA, 2003), que a dosagens faz o veneno, dependendo de suas concentrações os resultados obtidos podem ser benéficos ou maléficos, ao ambiente e aos seres vivos.

Comparando os experimentos de *Z. mays* irrigados com o elutriato, com o de incorporação do lodo ao substrato, pode-se afirmar que enquanto o elutriato da Am1L foi tóxico a germinação e o desenvolvimento das plântulas, a incorporação do lodo foi benéfica, para a mesma amostra Am1L, inferindo que a toxicidade pode estar relacionada aos tratamentos e a maneira de disposição do resíduo, nesse caso do lodo de ETA.

A toxicidade observada na amostra Am1L do elutriato pode estar relacionada à solubilização dos compostos tóxicos ligados fracamente ao lodo, os quais foram dispostos na agitação manual utilizada para o preparo do elutriato. Diferentemente da amostra Am2L (decantador), na qual os coagulantes já se ligaram mais fortemente aos sólidos suspensos e por isso tende a solubilizar ou biodisponibilizar menor quantidade de compostos tóxicos. Essa resposta mostra a eficiência dos polímeros utilizados, os quais tem justamente essa função, se ligarem fortemente as partículas suspensas na água para que as mesmas decantem e não fiquem biodisponíveis no tratamento da água, garantindo assim a saúde da população (DI BERNANRO; DANTAS, 2005; DI BERNARDO; SABOGAL-PAZ, 2008).

Entretanto, a utilização do elutriato Am2L, nas exposições de longo prazo para os testes crônicos, apresentou efeitos negativos sobre a sobrevivência e a reprodução de espécies como *D. similis* e *D. rerio*, diferentemente da Am1L, mostrando que dependendo da espécie utilizada e da disposição das amostras no ambiente, os efeitos observados podem ser potencializados.

Na sequência foi analisada a biomassa das plântulas de *Z. mays*, os resultados da biomassa fresca e seca das raízes e da parte aérea das plântulas irrigadas com as amostras de elutriato, encontram-se descritos na Tabela 33, enquanto que a porcentagem de variação desses resultados em relação as plântulas do controle, encontram-se descritos na Figura 10 e, os resultados completos podem ser observados no Anexo G. Na Figura 10, valores positivos representam ganho de biomassa, enquanto que valores negativos indicam a influência negativa, das amostras sobre a biomassa de *Z. mays*.

Tabela 33 - Resultados médios da biomassa seca e fresca de *Z. mays*, expostos as amostras de elutriato

Amostra	Peso da raiz (g)		Peso caule+folha (g)	
	Fresco	Seco	Fresco	Seco
Controle	16,9	1,05	19,9	1,37
Am1L100	4,45**	1,16	7,55**	0,67**
Am1L75	10,0**	0,96	13,4**	1,12
Am1L50	10,2**	0,98	16,8	1,10*
Am1L25	16,4	1,18	16,0	1,14
Am2L100	15,8	1,26	15,2	1,21
Am2L75	16,8	1,09	17,8	1,34
Am2L50	18,6	1,22	18,1	1,33
Am2L25	21,1**	1,48**	19,8	1,46

Amostra: Am1L (elutriato do lodo do floculador) e Am2L (elutriato do lodo do decantador);

**Diferença estatística significativa, em relação ao controle pelo teste de Dunnett ($p < 0,01$);

* Diferença estatística significativa, em relação ao controle pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Assim como o observado no CRmax, CRM, CC e CAmáx, a amostra Am1L também afetou negativamente a biomassa fresca das raízes de *Z. mays*. As plântulas da amostra Am1L100 foram as mais afetadas, nessa amostra a biomassa fresca da raiz foi até 74% menor do que a biomassa das plântulas do controle (Figura 10). Por outro lado na amostra Am1L25, a biomassa fresca dessa amostra foi semelhante ao do controle, confirmando que com o aumento da diluição, as plântulas tiveram seu desenvolvimento normalizado.

Já amostra Am2L não influenciou negativamente o peso fresco e seco das plântulas de *Z. mays*. Na amostra Am2L25, inclusive, a irrigação com o elutriato foi positiva para o ganho da biomassa fresca e seca das raízes. Esses resultados foram significativamente diferentes do controle pelo Teste de Dunnett ($p < 0,01$), correlacionando com os resultados de CRmax e CRM de *Z. mays*, descritos na Tabela 31.

Na Figura 10 pode ser observada a alta porcentagem de variação dos resultados da biomassa fresca e seca das raízes e da parte aérea. As interferências positivas e negativas das amostras de elutriato causaram a variação dos resultados de 42 a -74%, as maiores variações dos resultados foram observadas nas amostras

Am1L e, em suas respectivas diluições, já na amostra Am2L, as variações foram menores.

Das variáveis analisadas, a variável peso seco das raízes foi a menos afetada negativamente, suas porcentagens de influência negativa não ultrapassaram -8,2%, enquanto que a influência positiva chegou a 42%, na amostra Am2L25.

Figura 10 - Diferença da biomassa fresca e seca das plântulas de *Z. mays*, irrigada com elutriato, em relação ao controle

A biomassa fresca e seca da parte aérea e da raiz, das plântulas de *Z. mays*, cultivadas em substrato de referência, com incorporação do lodo, também foram analisadas e os resultados encontram-se descritos na Tabela 34 e no Anexo H. Como pode ser observado nas Tabelas 32 e 34, as amostras da incorporação do lodo, além de não alterarem o CRmax, CRM, CC e CMax, também não alteraram significativamente a biomassa de *Z. mays*.

As amostras Am1L lod e Am2L lod, auxiliaram no aumento da biomassa fresca e seca da parte aérea de *Z. mays*, mas o ganho de biomassa foi inferior a 15% (Figura 11), por isso os resultados não foram estatisticamente diferentes do controle pelo Teste de Dunnett ($p < 0,05$). Todas as variáveis de biomassa apresentaram baixa variação percentual (12 a -14%) em relação ao controle, indicando que esse experimento apresentou resultados mais homogêneos e semelhantes ao controle.

Tabela 34 - Resultados médios da biomassa seca e fresca de *Z. mays*, expostos as amostras de lodo

Amostra	Peso da raiz (g)		Peso parte aérea (g)	
	Fresco	Seco	Fresco	Seco
Controle	11,7	1,21	16,3	1,80
Am1L lod 100	10,9	1,10	17,9	2,02
Am1L lod 75	10,1	1,10	16,1	1,84
Am1L lod 50	10,9	1,11	18,0	1,91
Am1L lod 25	11,7	1,16	17,5	1,88
Am2L lod 100	10,8	1,09	17,1	1,83
Am2L lod 75	11,2	1,12	16,1	1,79
Am2L lod 50	11,8	1,21	17,9	1,95
Am2L lod 25	10,7	1,18	14,8	1,72

Amostra: Am1L lod (lodo do floculador) e Am2L lod (lodo do decantador).

Figura 11 - Diferença da biomassa fresca e seca das plântulas de *Z. mays*, cultivadas em solos que receberam a incorporação do lodo, em relação ao controle

Han et al. (2011) analisaram a biotoxicidade de amostras de águas residuais, para *Z. mays*, esses autores observaram que as águas residuais, não somente afetaram o crescimento, desenvolvimento e ganho de biomassa de *Z. mays*, como também, causaram a formação de micronúcleos nas raízes, os quais foram maiores, nas maiores concentrações.

Por outro lado, Singh et al. (2011) analisaram as águas residuais de uma indústria de glutamato, utilizando-o como uma fonte de fertilizante de baixo custo

para a produção de *Z. mays*. Nesse trabalho foi observado que as águas residuais da indústria de glutamato, por serem ricas em nitrogênio incentivaram o crescimento e o ganho de biomassa das plântulas, sem causar qualquer efeito adverso.

As quantificações dos elementos químicos, presentes nas raízes e na parte aérea das plântulas de *Z. mays* foram realizada separadamente, com o intuito de observar em qual das partes das plântulas, as concentrações dos elementos químicos esteve mais elevada. Os resultados dessas análises encontram-se descritas nas Tabelas 35, 36, 37 e 38.

Nas Tabelas 35 e 36 encontram-se descritos os resultados das concentrações de elementos químicos presentes nas raízes de *Z. mays*, irrigados com as amostras de elutriato e os da incorporação do lodo ao substrato. Nesses resultados foi observado que na Am1L (elutriato) foram encontradas, predominantemente, as maiores concentrações de Al, B, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb e Zn, enquanto que os resultados dos elementos Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Sn Sr e V foram semelhantes nas duas amostras (Am1L e Am2L).

Já os resultados das amostras Am1L lod e Am2L lod, da incorporação do lodo ao substrato (Tabela 36), assim como o observado, anteriormente, nos resultados de biomassa e crescimento das plântulas (CRmax, CRM; CC e CMax), estes foram homogêneos e mais semelhantes às concentrações dos elementos químicos presentes nas plântulas do controle, justificando o efeito benéfico, observado, nessa incorporação.

Nas Tabelas 37 e 38 encontram-se descritos os resultados das quantificações dos elementos químicos presentes na parte aérea de *Z. mays*, expostas as amostras de elutriato e lodo. Nesses resultados foram observados que as concentrações dos elementos B, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Sr, V e Zn foram maiores nas amostras irrigadas com o elutriato (Am1L e Am2L), enquanto que os elementos Al, Mn, Mo, Ni e Pb foram maiores nas plântulas cultivadas no substrato que recebeu a incorporação do lodo (Am1L lod e Am2L lod). Por outro lado, os elementos: Be, Bi, Cd, Co, Cr, Li e Sn foram semelhantes nos dois tratamentos.

Comparando os resultados das quantificações dos elementos químicos nas raízes e na parte aérea de *Z. mays*, as concentrações dos elementos químicos nas raízes foram até 65 vezes maior, do que na parte aérea, para o Al. Por outro lado as concentrações de K foi maior nos caules e folhas (parte aérea) de *Z. mays*.

Tabela 35 - Elementos químicos, em mg kg⁻¹, presentes no digerido das raízes de *Z. mays*, expostas as amostras de elutriato

Raiz	Am1L					Am2L			
	Controle	100	75	50	25	100	75	50	25
Al	3183	5970	3944	6020	4755	4158	3852	5095	3577
B	32,2	59,3	41,2	66,2	52,1	40,3	50,5	60,9	37,3
Ba	14,0	27,1	17,2	23,2	17,3	19,0	19,0	23,4	15,6
Be	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Bi	0,40	<LD	0,62	<LD	0,55	0,47	<LD	0,15	0,14
Ca	0,00	2203	597	1969	2176	1654	2393	2552	1804
Cd	<LD	0,02	0,04	0,00	<LD	<LD	<LD	0,01	<LD
Co	0,83	1,11	1,35	1,29	0,89	0,78	1,01	1,31	0,71
Cr	19,8	45,8	28,5	39,3	32,3	29,5	31,8	35,6	26,2
Cu	6,56	9,29	6,13	8,08	6,37	6,23	6,77	8,82	5,19
Fe	1165	2326	1486	2007	1621	1477	1581	2013	1291
K	0,00	2288	1427	1966	1617	1476	1592	1782	1310
Li	0,71	1,24	0,86	1,23	0,97	0,84	0,91	1,11	0,73
Mg	1990	5015	2136	4330	3403	3472	3292	4098	2703
Mn	154	194	98	215	117	127	166	208	132
Mo	30,4	31,6	21,9	31,4	22,7	19,5	22,8	23,6	18,8
Na	1415	3939	1792	4219	3502	2944	3371	3368	2608
Ni	2,63	5,14	5,11	4,40	3,74	3,69	3,96	4,90	3,17
Pb	6,73	9,09	12,17	9,99	8,39	6,63	8,12	7,43	5,36
Sn	0,08	<LD	0,44	<LD	<LD	<LD	0,54	<LD	<LD
Sr	12,2	25,0	16,6	23,6	19,1	20,6	19,4	21,3	16,3
V	9,07	20,7	13,6	18,3	15,0	12,8	14,2	15,5	11,6
Zn	31,9	34,1	38,4	32,7	25,0	24,1	28,0	27,1	22,4

Amostras de elutriato: Am1L (lodo do floculador) e Am2L (lodo do decantador);

<LD – Valores inferiores ao limite de detecção do método.

Tabela 36 - Elementos químicos, em mg kg⁻¹, presentes no digerido das raízes de *Z. mays*, expostas as amostras de lodo

Raiz	Am1L lod					Am2L lod			
	Controle	100	75	50	25	100	75	50	25
Al	3183	3349	3309	3346	2935	3445	3874	3740	3038
B	32,2	37,1	37,1	39,9	36,1	37,8	45,6	40,7	35,4
Ba	14,0	13,6	16,6	13,6	12,0	12,5	13,4	13,9	14,1
Be	<LD	<LD	0,17	0,19	<LD	<LD	<LD	<LD	0,21
Bi	0,40	0,61	1,30	0,16	0,50	0,46	<LD	0,79	2,13
Ca	0,00	2258	839	790	1073	958	516	1081	1029
Cd	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,03	0,02	0,02
Co	0,83	0,96	1,02	0,96	0,61	0,64	0,72	0,82	0,80
Cr	19,8	24,1	21,3	20,1	19,2	22,1	31,3	25,3	17,8
Cu	6,56	5,45	5,35	18,43	4,87	4,50	5,72	6,31	5,63
Fe	1165	1259	1216	1195	1041	1180	1689	1368	1059
K	<LD	1207	1067	1003	958	1107	1563	1267	889
Li	0,71	0,71	0,71	0,70	0,61	0,66	0,74	0,80	0,63
Mg	1990	1588	1779	2179	1674	1767	1738	1373	1802
Mn	154	334	322	356	212	205	222	152	172
Mo	30,4	28,4	23,7	24,0	28,0	25,7	30,8	33,9	26,7
Na	1415	1736	1338	1625	1655	1620	1580	1273	1656
Ni	2,63	1,81	2,43	2,40	1,79	1,93	2,50	2,62	2,15
Pb	6,73	4,94	2,82	4,00	5,70	7,45	7,83	7,63	6,56
Sn	0,08	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Sr	12,2	11,9	9,7	11,0	12,4	12,5	12,4	13,8	10,4
V	9,07	9,9	9,5	9,3	9,0	10,3	11,3	12,6	8,5
Zn	31,9	23,2	20,3	27,2	27,6	24,6	23,4	29,2	25,3

Amostras de lodo: Am1L lod (lodo do floculador) e Am2L lod (lodo do decantador);

<LD – Valores inferiores ao limite de detecção do método.

Tabela 37 - Elementos químicos, em mg kg⁻¹, presentes no digerido da parte aérea de *Z. mays*, expostas as amostras de elutriato

CAULE	Am1L					Am2L			
	Controle	100	75	50	25	100	75	50	25
Al	68,3	75,1	82,2	51,8	48,6	61,7	51,4	55,1	54,5
B	13,1	25,1	25,5	26,2	18,9	29,5	25,1	30,6	22,6
Ba	9,20	12,8	14,9	11,9	8,4	12,0	11,9	12,4	12,8
Be	0,21	0,25	0,12	<LD	0,23	0,12	0,22	<LD	0,21
Bi	<LD	0,33	0,64	0,50	0,60	1,19	0,78	2,78	1,45
Ca	1791	1117	1699	1642	1645	2206	2180	1868	1932
Cd	<LD	<LD	0,01	0,00	<LD	0,01	0,00	<LD	0,01
Co	0,01	0,06	0,06	<LD	0,05	0,08	0,07	<LD	0,04
Cr	1,11	0,88	1,40	2,26	0,53	1,27	0,95	2,03	1,64
Cu	4,50	5,25	5,09	4,27	3,68	4,87	4,54	4,54	4,55
Fe	86,0	103	112	73,4	59,1	98,9	87,9	102	114
K	19610	22230	29790	25930	27985	33650	31985	24155	25855
Li	0,05	0,05	0,06	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05
Mg	2172	4034	3973	3345	3501	3875	3921	4068	3653
Mn	96,8	155	165	120	142	155	179	163	162
Mo	1,43	0,78	1,90	5,00	<LD	0,33	0,22	4,44	1,52
Na	114	339	111	245	228	200	239	215	152
Ni	0,58	0,79	0,49	0,52	0,38	0,68	0,66	0,53	0,92
Pb	2,42	2,5	2,0	2,3	1,6	3,7	2,0	3,9	0,95
Sn	0,35	0,62	0,25	0,81	1,19	0,95	0,95	0,56	0,14
Sr	18,7	17,2	20,2	21,6	15,2	22,7	20,1	27,9	22,6
V	<LD	0,64	0,03	0,70	0,03	0,67	<LD	0,72	<LD
Zn	20,9	29,9	30,2	32,3	22,5	30,6	29,0	26,6	26,9

Amostras de elutriato: Am1L (lodo do floculador) e Am2L (lodo do decantador);

<LD – Valores inferiores ao limite de detecção do método.

Tabela 38 - Elementos químicos, em mg kg⁻¹, presentes no digerido da parte aérea de *Z. mays*, expostas as amostras de lodo

CAULE	Am1L lod					Am2L lod			
	Controle	100	75	50	25	100	75	50	25
Al	68,3	90,1	96,4	74,4	56,6	78,0	74,5	57,0	62,5
B	13,1	9,6	11,0	10,9	8,4	11,4	10,4	12,6	10,5
Ba	9,20	11,2	12,6	11,3	10,0	12,7	11,4	10,3	11,7
Be	0,21	0,17	0,21	0,16	0,23	0,28	0,28	0,22	0,24
Bi	<LD	0,51	<LD	0,71	0,01	0,09	<LD	1,34	<LD
Ca	1791	1763	850	1246	1132	1236	4064	1615	2456
Cd	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Co	0,01	<LD	0,01	0,04	<LD	0,05	0,01	<LD	0,02
Cr	1,11	0,56	0,91	0,31	<LD	1,57	0,65	0,20	0,68
Cu	4,50	2,95	3,15	3,05	2,64	2,91	2,81	2,82	2,93
Fe	86,0	62,1	72,0	57,9	48,1	62,4	54,7	47,5	49,9
K	19610	22620	18110	22510	20850	22020	19980	19690	21355
Li	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04
Mg	2172	2222	2663	2160	2308	2067	2147	2214	2204
Mn	96,8	130	339	221	180	307	114	118	104
Mo	1,43	3,05	4,79	2,82	3,19	4,25	2,33	2,72	3,74
Na	114	199	190	52	151	73	205	217	93
Ni	0,58	0,77	0,64	0,58	0,78	0,73	0,74	0,39	0,73
Pb	2,42	4,8	9,6	6,2	5,1	3,4	5,6	3,9	3,3
Sn	0,35	0,36	1,10	0,31	0,19	0,45	0,44	0,44	0,25
Sr	18,7	14,7	15,0	14,6	12,7	14,9	15,2	14,0	15,2
V	<LD	0,17	0,70	0,23	0,30	0,10	0,38	<LD	<LD
Zn	20,9	18,0	17,9	20,0	16,1	20,0	19,7	18,0	18,0

Amostras de lodo: Am1L lod (lodo do floculador) e Am2L lod (lodo do decantador);

<LD – Valores inferiores ao limite de detecção do método.

Os resultados das determinações dos elementos químicos, por ICP OES, nas raízes e na parte aérea de *Z. mays*, juntamente com o crescimento e a biomassa das plântulas foram analisadas estatisticamente pela análise de redundância (RDA), realizada com o auxílio do programa estatístico Canoco, versão 4.5. Os resultados encontram-se descritos nas Figuras 12, 13, 14 e 15.

Para a leitura e a interpretação dos resultados, deve-se considerar que o comprimento e a posição das variáveis apontadas pelas setas indicam o grau de importância e influência, positiva ou negativa, que as variáveis físicas ou químicas, nesse caso os elementos químicos, tiveram sobre o crescimento e desenvolvimento do *Z. mays*. As setas das variáveis químicas, em sobreposição indicaram alta correlação positiva das variáveis, enquanto que setas apontando para lados opostos, em quadrantes opostos, indicam correlação negativa, ou seja, quando a concentração de um elemento químico aumentou a do outro diminuiu (HAIR et al., 1995; FONSECA, 2006; MESSIAS, 2008).

Enquanto as setas mais próximas e com menor ângulo indicaram correlação positiva, as setas mais distantes e com maior ângulo entre elas indicaram alta correlação negativa. Seguindo a mesma interpretação dos resultados, os elementos químicos que ficaram mais opostos as variáveis de crescimento e desenvolvimento de *Z. mays* foram os quais influenciaram negativamente o desenvolvimento dessas plântulas.

As amostras foram representadas por números nas figuras, com o intuito de deixar as imagens mais claras e visíveis. Os números (amostras) foram plotadas nos quadrantes, os quais contem às setas que mais as representaram, indicando quais foram os elementos químicos que predominaram na sua composição. Quanto mais próxima à amostra dos elementos químicos, maior a concentração deste na amostra.

As análises de redundância (RDA) dos resultados da quantificação dos elementos químicos presentes na parte aérea e nas raízes de *Z. mays*, expostas as amostras do lodo incorporado ao substrato, encontram-se descritas nas Figura 12 e 13, respectivamente.

Na Figura 12, os resultados de CAmáx e CC apresentaram correlação positiva, entre si e, principalmente com os elementos químicos: Ca, Ba, V, Pb, Sr, Li, Cu, Al e Fe, indicando que a quantidade desses elementos químicos presente nas folhas e no caule foram benéficas para o crescimento das mesmas. Entretanto essas

variáveis apresentaram correlação negativa com a presença do Mn, Bi e Mo, ou seja, a presença desses elementos, individualmente ou em mistura, causaram efeitos negativos sobre o crescimento da parte aérea das plântulas.

A mesma correlação não foi observada nos resultados de biomassa, uma vez que, a correlação entre PFA e PSA foi menor, mas mesmo assim os resultados de biomassa se correlacionaram mais entre si, do que com o crescimento aéreo do *Z. mays*. O PFA apresentou correlação negativa com as variáveis CAm_{ax} e CC e, conseqüentemente com os elementos químicos que se correlacionaram positivamente com essas variáveis. Entretanto como o comprimento das setas foi relativamente pequeno, provavelmente o efeito negativo não foi tão efetivo sobre as plântulas.

Diferentemente dos anteriores, o PSA foi influenciado positivamente por Mg, Na, Cr e B, e negativamente por Be, Ni e Zn. O Zn, mesmo presente em outro quadrante, a distância entre os ângulos, de Zn e PSA (caso a seta de PSA continuasse para o quadrante oposto) foi menor, do que a distância entre os ângulos dos outros elementos químicos, por isso a influência do Zn, provavelmente foi mais efetiva.

As amostras que apresentaram maior correlação positiva com o PSA e com os elementos químicos Mg, Na, B, Sn, Cr e Fe foram as amostras: 1 (1L lod 100) e a 2 (1L lod 75). A amostra 7 (2L lod 50), presente no 4º quadrante também apresentou correlação positiva com estas variáveis, mas com menor efetividade, uma vez que está mais distante das setas.

As amostras 4 (1L lod 25) e 5 (2L lod 100) apresentam correlação positiva com os elementos químicos presentes no 3º quadrante e com a variável PFA, enquanto que as amostras 8 (2L lod 25) e mais discretamente a amostra 3 (1L lod 50) apresentaram correlação com os elementos químicos presentes no 2º quadrante. Por último a amostra 6 (2L lod 75), embora, provavelmente, em sua composição predomine os elementos químicos presentes no 1º quadrante, a correlação positiva com os mesmos foi menor do que nas outras amostras.

Figura 12 - Análise de redundância (RDA) dos elementos químicos quantificados na parte aérea de *Z. mays*, expostas as amostras de lodo

Legenda da Figura 12:

- Número 1 – Am1L lod 100
- Número 2 – Am1L lod 75
- Número 3 – Am1L lod 50
- Número 4 – Am1L lod 25
- Número 5 – Am2L lod 100
- Número 6 – Am2L lod 75
- Número 7 – Am2L lod 50
- Número 8 – Am2L lod 25

Variáveis do crescimento e biomassa das plântulas de *Z. mays*:

- Cmax – Crescimento máximo aéreo
- CC – Crescimento do caule
- PFA – Peso fresco aéreo
- PSA – Peso seco aéreo

Na Figura 15 encontram-se expressos os resultados de RDA, das raízes de *Z. mays*, cultivadas em substrato que recebeu a incorporação do lodo. Assim como o observado no crescimento aéreo (Cmax e CC), as variáveis de crescimento das raízes (CRmax e CRM) apresentaram alta correlação positiva entre si, diferentemente das variáveis de biomassa (PFR e PSR), as quais não se correlacionaram entre si.

As CRmax e CRM, apresentaram alta correlação positiva com os elementos Li, Cu, Mn, Ca, Al e Fe e, correlação negativa com o Bi e Cd e, principalmente com a variável PSR (peso seco das raízes). Diferentemente das anteriores, a variável PFR, não se correlacionou positiva ou negativamente com as outras variáveis, sua correlação positiva foi com os elementos químicos presentes no 3º quadrante e alta correlação negativa com o Be, Ba e Co, principalmente.

Figura 13 - Análise de redundância (RDA) dos elementos químicos quantificados nas raízes de *Z. mays*, expostas as amostras de lodo

Legenda da Figura 13:

- Número 1 – Am1L lod 100
- Número 2 – Am1L lod 75
- Número 3 – Am1L lod 50
- Número 4 – Am1L lod 25
- Número 5 – Am2L lod 100
- Número 6 – Am2L lod 75
- Número 7 – Am2L lod 50
- Número 8 – Am2L lod 25

Variáveis do crescimento e biomassa das plântulas de *Z. mays*:

- CRmax – Crescimento máximo aéreo
- CC – Crescimento do caule
- PFA – Peso fresco aéreo
- PSA – Peso seco aéreo

Os resultados dos experimentos da incorporação do lodo ao substrato foram diferentes dos resultados dos experimentos de irrigação com o elutriato. Nos resultados de irrigação das sementes de *Z. mays* com o elutriato, as variáveis do crescimento e biomassa das plântulas apresentaram alta correlação positiva entre si, ou seja, sempre que uma dessas variáveis aumentou, as outras aumentaram consecutivamente.

Na Figura 14 pode ser observado que a correlação entre as variáveis de crescimento das plântulas foi maior entre si, do que com os elementos químicos, como foi observado na incorporação do lodo ao substrato. Os elementos químicos que apresentaram correlação positiva foram os presentes no 3º quadrante, enquanto que os elementos que influenciaram negativamente o desenvolvimento das plântulas foram, principalmente, os descritos no 1º quadrante e o Zn e Pb. A concentração de Na, V e Sn foi maior na amostra 1 (1L 100), ou seja, na mesma amostra que inibiu 30% da germinação das sementes de *Z. mays* (Tabela 31), provavelmente a presença individual desses elementos ou o sinergismos destes foram os principais causadores da inibição da emergência das plântulas.

Figura 14 - Análise de redundância (RDA) dos elementos químicos quantificados na parte aérea de *Z. mays*, irrigados com as amostras de elutriato

Legenda da Figura 14:

- Número 1 – Am1L lod 100
- Número 2 – Am1L lod 75
- Número 3 – Am1L lod 50
- Número 4 – Am1L lod 25
- Número 5 – Am2L lod 100
- Número 6 – Am2L lod 75
- Número 7 – Am2L lod 50
- Número 8 – Am2L lod 25

Variáveis do crescimento e biomassa das plântulas de *Z. mays*:

- CAmax – Crescimento máximo aéreo
- CRM – Crescimento do caule
- PFA – Peso fresco aéreo
- PSA – Peso seco aéreo

As variáveis do crescimento e biomassa da raiz (CRmax, CRM, PFR e PSR) também apresentaram correlação positiva entre si, assim como elas se correlacionaram positivamente ao Be. Por outro lado essas variáveis apresentaram correlação negativa a 15 dos 23 elementos químicos quantificados, os quais se encontram apresentados no 1º quadrante da Figura 15. As amostras que apresentaram as maiores concentrações desses elementos foram a amostra 1 (1L 100) e a 3 (1L 50).

Os experimentos com elutriato apresentaram maior correlação positiva das variáveis das plântulas, assim como apresentaram as maiores correlações negativas com os elementos químicos quantificados, completando os resultados já observados anteriormente na porcentagem germinativa das sementes e, nas avaliações individuais de crescimento e da biomassa. As raízes foram mais sensíveis aos elementos químicos do que a parte aérea, o que se deve a maior concentração desses elementos por parte das raízes.

Figura 15 - Análise de redundância (RDA) dos elementos químicos quantificados nas raízes de *Z. mays*, irrigadas com as amostras de elutriato

Legenda da Figura 15:

Número 1 – Am1L 100

Número 2 – Am1L 75

Número 3 – Am1L 50

Número 4 – Am1L 25

Número 5 – Am2L 100

Número 6 – Am2L 75

Número 7 – Am2L 50

Número 8 – Am2L 25

Variáveis do crescimento e biomassa das plântulas de *Z. mays*:

CRmax – Crescimento máximo da raiz

CRM – Crescimento mediano da raiz

PFA – Peso fresco da raiz

PSA – Peso seco da raiz

6. CONCLUSÕES

A análise granulométrica do lodo do floculador mostrou predomínio de partículas finas (coloides), em sua estrutura, diferentemente dos lodos do decantador (fundo e superfície), no qual houve predomínio de partículas maiores. Mesmo com essa diferenciação a quantidade de matéria orgânica foi similar nos três tipos de lodo;

A umidade dos lodos da ETA, de 80 a 99,9%, pode ser um fator limitante para sua aplicação no solo, já que a aplicação do mesmo pode acarretar na formação de lama, compactação dos solos e efeitos negativos para o desenvolvimento de organismos aeróbios;

A aplicação direta do lodo, aos solos agriculturáveis, também pode ser dificultada, pela baixa concentração de carbono e nitrogênio observada nos lodos, a relação C/N dos mesmos manteve-se entre 9/1, para o floculador e, 13/1, para o decantador;

Na quantificação dos elementos químicos foi observado que, a concentração dos elementos químicos: B, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Ni, Se e Zn foi maior na amostra do lodo do floculador, enquanto que a concentração dos elementos: Al, Be, Mo, Na, Pb e Sr foi maior na amostra de lodo do decantador, na coleta de 22/09/11;

Quando comparada as amostras do lodo do decantador, as amostras do lodo do floculador mostraram menor qualidade ambiental, já que, nas amostras de elutriato, estes apresentaram maior condutividade elétrica, cerca de $600 \mu\text{S cm}^{-1}$, e menor concentração de oxigênio dissolvido (OD), $0,77 \text{ mg L}^{-1}$. Na amostra filtrada, a condutividade elétrica foi de $1890 \mu\text{S cm}^{-1}$ e o OD foi de $1,42 \text{ mg L}^{-1}$.

Todas as espécies utilizadas nos testes de toxicidade foram sensíveis às amostras analisadas, as determinações dos parâmetros físicos e químicos da água, do elutriato, do lodo bruto e filtrado complementaram os resultados obtidos pelos testes de toxicidade;

Os testes de sensibilidade realizados com NaCl, como substância de referência, nos meses de realização dos experimentos, indicaram a sensibilidade e a saúde das espécies utilizadas nos testes de toxicidade;

As amostras dos lodos filtrados foram mais tóxicas do que as amostras dos elutriatos, para os organismos aquáticos *H. attenuata*, *D. similis* e *P. subcapitata* e para o organismo terrestre *F. cândida*, sendo observada toxicidade em todas as amostras e diluições realizadas;

Para as larvas de *C. xanthus*, o lodo do floculador foi tóxico, mas por outro lado os lodos dos decantadores (superfície e fundo), não afetaram a sobrevivência e emergência dessa espécie;

Os organismos *D. similis* e *D. rerio* mostraram pouca sensibilidade aos contaminantes presentes nas amostras de elutriato, nos testes agudos, entretanto nos testes crônicos, para ambas as espécies foram observadas mortalidades. Para *D. similis* as amostras alteraram o número de juvenis, enquanto que para *D. rerio*, estas causaram alta mortalidade, mesmo nas amostras mais diluídas (25%), após as 72 horas iniciais de teste, além de que as mesmas influenciaram no crescimento e ganho de biomassa dos peixes;

O descarte dos lodos, nos recursos hídricos, deve ser evitado, uma vez que, nas amostras dos lodos filtrados a toxicidade foi maior, principalmente para os organismos aquáticos, podendo, essas amostras, afetarem toda a cadeia trófica;

A amostra do lodo incorporado ao solo de referência foi mais tóxica para *F. cândida*, do que as amostras do lodo filtrado e do elutriato, Por outro lado para *Z. mays* a amostra do lodo incorporado ao substrato foi menos tóxica do que a irrigação constante do lodo com as amostra de elutriato;

Para *Z. mays*, o elutriato do floculador apresentou toxicidade significativa a nível de 0,01% na germinação, crescimento e biomassa das raízes e da parte aérea, enquanto que o elutriato do decantador não afetou significativamente o desenvolvimento dessas plântulas;

As análises de RDA foram eficientes na identificação dos elementos químicos, que mais influenciaram no crescimento e desenvolvimento de *Z. mays*, indicando também as correlações positivas e negativas dos elementos químicos e das variáveis analisadas.

As concentrações dos elementos químicos foram maiores nas raízes do que na parte aérea, das plântulas. As raízes das sementes irrigadas com as amostras de elutriato foram afetadas negativamente por 15 elementos químicos, os quais foram: Co, Pb, Zn, Ni, Mo, V, K, Cr, B, Sr, Fe, Cu, Ba, Al e Li. Já as raízes do lodo incorporado ao substrato de referência foram afetadas negativamente pelos elementos: Cd e Bi (nas variáveis CRmax e CRM);

Por outro lado o crescimento aéreo das plântulas, na incorporação do lodo ao substrato de referência foi afetado negativamente pelo: Mn, Bi e Mo, enquanto que as plântulas irrigadas com o elutriato foram afetadas negativamente por: Na, V, Sn, Zn e Pb;

Devido a menor toxicidade do lodo incorporado ao substrato de referência, para *Z. mays*, essa pode ser uma boa alternativa de utilização desse material, desde que as concentrações aplicadas nos solos agrícolas, sejam controladas.

REFERÊNCIAS

AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION. **Water quality & treatment** – a handbook of community water supplies. 5. ed. Denver, CO: AWWA, 1999. 1194 p.

AMERICAN SOCIETY OF CIVIL ENGINEERS. **Technology transfer handbook**: management of water treatment plant residual. Reston, VA: ASCE, AWWA, 1996. 294 p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Method 5210. 5-day BOD Test. 18. ed. Washington, DC: APHA, AWWA, WEF, 1992. 22 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 10.007**: Amostragem de resíduos sólidos. Rio de Janeiro, 2004. 21 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 10.006**: Procedimento para obtenção de extrato. Rio de Janeiro, 2004. 3 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 10.004**: Resíduos sólidos – Classificação. Rio de Janeiro, 2004. 71 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 12.713**: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia spp.* (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2004. 16 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 15.088**: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com peixes. Versão corrigida. Rio de Janeiro, 2006. 22 p.

ACHON, L. C.; CORDEIRO, J. S. Gerenciamento de Lodo de ETAs – Remoção de água livre através de leitos de secagem e lagoas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 22., 2003, Joinville. **Anais...** Joinville: ABES, 2003. 1 CD-ROM.

ADAMS, W. J. Aquatic toxicology testing methods. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON JUNIOR., G. A.; CAIRNS, J. R. **Handbook of ecotoxicology**. Boca Raton: Lewis Publisher, 1995. p. 25-46.

AMORIM, M. J. B.; PEREIRA, C.; MENEZES-OLIVEIRA, V. B.; CAMPOS, B.; SOARES, A. M. V. M.; LOUREIRO, S. Assessing single and joint effects of chemicals on the survival and reproduction of *Folsomia candida* (Collembola) in soil. **Environmental Pollution**, London, v. 160, p. 145-152, 2012.

ABRANTES, N.; PEREIRA, R.; FIGUEIREDO, D.; MARQUES, C.; PEREIRA, M.; GONCALVES, F. A whole sample toxicity assessment to evaluate the sub-lethal toxicity of water and sediment elutriates from a lake exposed to diffuse pollution. **Environmental Toxicology**, New York, v. 24, p. 259-270, 2009.

ALMEIDA, E.; TAVARES, G.; BENDASSOLLI, J.; NASCIMENTO, V. Determination of Cr, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As and Pb in liquid chemical waste by energy dispersive X-ray fluorescence. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 287, p. 351-355, 2011.

ALMEIDA, E. **Determinação de metais na bacia do rio Piracicaba usando as técnicas de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) e fluorescência de raios X dispersiva em energia (EDXRF) e por reflexão total (TXRF)**. 2011. 103 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

ALMEIDA, C. A.; ROCHA, O. Estudo Comparativo da Qualidade dos Sedimentos dos Reservatórios do Rio Tietê (SP). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, Rio Grande, v. 1, n. 2, p. 141-145, 2006

ARKHIPCHUK, V. V.; BLAISE, C.; MALINOVSKAYA, M. V. Use of hydra for chronic toxicity assessment of waters intended for human consumption. **Environmental Pollution**, London, v. 142, p. 200-211, 2006.

ARMAS, E. D.; MONTEIRO, R. T. R.; ANTUNES, P. M.; SANTOS, M. A. P. F.; CAMARGO, P. B.; ABARKELI, R. B. Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do rio Corumbataí e principais afluentes. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, p. 1119-1127, 2007.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: RiMa, 2003. 340 p.

BABBIT, H. E.; DOLAND, J. J.; CLEASBY, J. L. **Abastecimento de água**. Tradução de Zadir Castelo Branco. São Paulo: Edgard Blucher, 1973.

BARATA, C.; ALANON, P.; GUTIERREZ-ALONSO, S.; RIVA, M.; FERNANDEZ, C.; TARAZONA, J. A *Daphnia magna* feeding bioassay as a cost effective and ecological relevant sublethal toxicity test for Environmental Risk Assessment of toxic effluents. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 405, p. 78-86, 2008.

BARBOSA, R. **Avaliação do impacto de efluentes (lodos) de estações de tratamento de água à biota aquática através de testes de toxicidade**. 2000. 199f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

BARROSO, M. M.; CORDEIRO, J. S. Metais e sólidos: aspectos legais dos resíduos de estação de tratamento de água. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21., 2001, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: ABES, 2001. 1 CD-ROM.

BATISTA, B.; RODRIGUES, J.; NUNES, J.; TORMEN, L.; CURTIUS, A.; BARBOSA, F. T Simultaneous determination of Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in nail samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature: Comparison with ETAAS. **Talanta**, Amsterdam, v. 76, p. 575-579, 2008.

BEATRICI, A. C.; ARENZON, A.; COIMBRA, N. J.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T. Fertilidade e sensibilidade de *Daphnia similis* e *Daphnia magna* submetidas a diferentes cultivos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, Camboriú, v. 1, n. 2, p. 123-126, 2006.

BERTOLETTI, E. Sensibilidade de algumas espécies de peixes de água doce utilizada no Brasil. **Journal of The Brazilian Society of Ecotoxicology**, Camboriú, v. 4, p. 9-13, 2009.

BETTINETTI, R.; CROCE, V.; GALASSI, S. Ecological risk assessment for the recent case of DDT pollution in Lake Maggiore (Northern Italy). **Water Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 162, p. 385-399, 2005.

BLAISE, C.; GAGNE, F.; FERARD, J.; EULLAFFROY, P. Ecotoxicity of selected nano-materials to aquatic organisms. **Environmental Toxicology**, New York, v. 23, p. 591-598, 2008.

BLAISE, C.; FÉRARD, J. F. (Ed). **Small-scale freshwater toxicity investigations**. v. 1. Toxicity test methods. Dordrecht: Springer Science, 2005. 551 p.

BLAISE, C.; FORGET, G.; TROTTIER, S. Toxicity screening of aqueous samples using a cost-effective 72-h exposure *Selenastrum capricornutum* assay. **Journal of Environmental Toxicology**, New York, v. 15, p. 352-359, 2000. Special Issue: Watertox Bioassays.

BLAISE, C.; KUSUI, T. Acute toxicity assessment of industrial effluents with a microplate-based *Hydra attenuata* assay. **Environmental toxicology and water Quality**, New York, v. 12, p. 53-60, 1997.

BOCCA, B.; CONTI, M.; PINO, A.; MATTEI, D.; FORTE, G.; ALIMONTI, A. Simple, fast, and low-contamination microwave-assisted digestion procedures for the determination of chemical elements in biological and environmental matrices by sector field ICP-MS. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, London, v. 87, p. 1111-1123, 2007.

BOSCH, T. Why polyps regenerate and we don't: Towards a cellular and molecular framework for *Hydra* regeneration. **Developmental Biology**, New York, v. 303, p. 421-433, 2007.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J. G. L.; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. **Introdução à engenharia ambiental**. 2. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005. 313 p.

BRASIL. Casa Civil. Lei nº 9.433 de 8 de janeiro de 1997. Política Nacional de Recursos Hídricos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 8 jan. 1997.

BRASIL. Casa Civil. Lei nº 9.605 de 12 de fevereiro de 1998. Lei de Crimes Ambientais. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 fev. 1998.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 mar. 2005.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Nº 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, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 29 ago. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 dez. 2011.

BRENTANO, D. M. **Desenvolvimento e aplicação do teste de toxicidade crônica com *Daphnia magna***: avaliação de efluentes tratados de um aterro sanitário. 2006. 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

BROSSI, M. J. L. Ecotoxicologia **de um sistema florestal de eucalipto tratado com lodo de esgoto**. 2008. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

BUR, T.; PROBST, A.; BIANCO, A.; GANDOIS, L.; CROUAU, Y. Determining cadmium critical concentrations in natural soils by assessing *Collembola* mortality, reproduction and growth. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 73, p. 415-422, 2010.

BURTON, G.; JOHNSTON, E. ASSESSING CONTAMINATED SEDIMENTS IN THE CONTEXT OF MULTIPLE STRESSORS. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 29, p. 2625-2643, 2010.

BURTON JUNIOR, G. A. J. Assessing the toxicity of freshwater sediments. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 10, p. 1585-1601, 1991.

CHELINHO, S.; MOREIRA-SANTOS, M.; LIMA, D.; SILVA, C.; VIANA, P.; ANDRÉ, S.; LOPES, I.; RIBEIRO, R.; FIALHO, A. M.; VIEGAS, C. A.; SOUSA, J. P. Cleanup of atrazine-contaminated soils: ecotoxicological study on the efficacy of a bioremediation tool with *Pseudomonas* sp. ADP. **Journal of Soils and Sediments**, Heidelberg, v. 10, p. 568-578, 2010.

CHIOCHETTA, C. G.; CHIOCHETTA, M. Aplicação do Teste de Assimilação e Dissimilação (A-D) para Observação de Efeitos Tóxicos em Águas Superficiais. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, Camboriú, v. 1, n. 2, p. 97-101, 2006.

CHRISTENSEN, A.; NAKAJIMA, F.; BAUN, A. Toxicity of water and sediment in a small urban river (Store Vejle, Denmark). **Environmental Pollution**, London, v. 144, p. 621-625, 2006.

CHRISTENSEN, J.; TOMASI, G.; SCOFIELD, A.; MENICONI, M. A novel approach for characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollution patterns in sediments from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Environmental Pollution**, London, v. 158, p. 3290-3297, 2010.

COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO - SABESP. **Tratamento de água.** Disponível em: <<http://site.sabesp.com.br/site/interna/Default.aspx?secaold=47>>. Acesso em: 19 out. 2012.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEMANETO AMBIENTAL – CETESB. **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo de 2004.** São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente, 2005. 307 p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEMANETO AMBIENTAL – CETESB. **Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas de amostragem.** São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente, 2009. 43 p.

CONNELL, G. F. **The chlorination/dechlorination handbook.** Alexandria: Water Environmental Federation, 2002. 192 p.

CORDEIRO, J. S. **Disposição, tratabilidade e reuso de lodos de estações de tratamento de água.** 1981. 155 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1981.

CORDEIRO, J. S. **O problema dos lodos gerados nos decantadores em estações de tratamento de águas.** 1993. 342 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1993.

CORDEIRO, J. S. Importância do tratamento e disposição final adequada dos lodos de ETAs. In: REALI, M. A. P. **Noções gerais de tratamento e disposição final do lodo de ETA.** Rio de Janeiro: ABES/PROSAB, 1999. p. 1-19

CROUAU, Y.; CAZES, L. What causes variability in the *Folsomia candida* reproduction test? **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 22, p. 175-180, 2003.

DAVOREN, M.; FOGARTY, A. M. A test battery for the ecotoxicological evaluation of the agri-chemical Environ. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 59, p. 116-122, 2004.

DEBENEST, T.; TURCOTTE, P.; GAGNÉ, F.; GAGNON, C.; BLAISE, C. Ecotoxicological impacts of effluents generated by oil sands bitumen extraction and oil sands lixiviation on *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 112-113, p. 83-91, 2012.

DELLAMATRICE, P.; MONTEIRO, R.; KAMIDA, H.; NOGUEIRA, N.; ROSSI, M.; BLAISE, C. Decolourization of municipal effluent and sludge by *Pleurotus sajor-caju* and *Pleurotus ostreatus*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v. 21, p. 1363-1369, 2005.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2005. v. 2, 980 p.

DI BERNARDO, L.; SABOGAL-PAZ, L. P. **Seleção de tecnologia de tratamento de água**. 1. ed. São Carlos: Editora LDiBe, 2008. v. 2, 1560 p.

DIAZ-BAEZ, M. C.; SÁNCHEZ, W. A.; DUTKA, B. J.; RONCO, A.; CASTILLO, G.; PICA-GRANADOS, Y.; CASTILLO, L. E.; RIDAL, J.; ARKHIPCHUK, V.; SRIVASTAVA, R. C. Overview of results from the WaterTox intercalibration and environmental testing phase II program: Part 2. Ecotoxicological evaluation of drinking water supplies. **Environmental Toxicology**, New York, v. 17, p. 241-249, 2002.

DOMENE, X.; NATAL-DA-LUZ, T.; ALCANIZ, J.; ANDRES, P.; SOUSA J. Feeding inhibition in the soil collembolan *Folsomia candida* as an endpoint for the estimation of organic waste ecotoxicity. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 26, p. 1538-1544, 2007.

DOMENE, X.; CHELINHO, S.; CAMPANA, P.; ALCANIZ, J.; ROMBKE, J.; SOUSA, J. Applying a GLM-based approach to model the influence of soil properties on the toxicity of phenmedipham to *Folsomia candida*. **Journal of Soils and Sediments**, Heidelberg, v. 12, p. 888-899, 2012.

DORNFELD, C.; MOREIRA-SANTOS, M.; ESPINDOLA, E.; RIBEIRO, R. Do Larvae and Ovipositing *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) Females Avoid Copper-Contaminated Environments? **Human and Ecological Risk Assessment**, London, v. 15, p. 63-75, 2009.

DORNFELD, C. B. **Utilização do Chironomus sp. (Díptera, Chironomidae) para avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais**. 2006. 211 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

DUTKA, B. J. **Methods for microbiological and toxicological analysis of water, wastewaters and sediments**. Ottawa: National Water Research Institute (NWRI), Environmental Canada, 1997. 317 p.

EMPRABA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos., 2006. 305 p.

ESALQ. Departamento de Ciências Exatas. **Base de dados da estação meteorológica automatizada:** Dados diários. Piracicaba, 2008. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/departamentos/lce/automatica/pagina5.html>>. Acesso em: 18 nov. 2012.

ESPÍNDOLA, E. L. D.; BRIGANTE, J.; DORNFELD, C. B. Estudos ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. In: ESPÍNDOLA, E. L. D.; BRIGANTE, J. (Org.). **Limnologia fluvial**. São Carlos: RiMa, 2003. p. 57-84.

ESPINOZA-QUINONES, F.; PALACIO, S.; GALANTE, R.; ROSSI, F.; ZENATTI, D.; PEREIRA, I.; WELTER, R.; ROSSI, N.; OBREGON, C.; ABREU, J.; RIZZUTTO, M.; ADDED, N.; TABACNIKS, M. Trace element concentration in Sao Francisco river water using STXRF and PIXE techniques. **Brazilian Journal of Physics**, São Paulo, v. 35, p. 757-760, 2005.

FALQUETO, M. A. **Avaliação do Índice de qualidade da água (IQA) e dos elementos químicos nas águas e nos sedimentos do rio Corumbataí-SP**. 2008. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FERRAZ, E.; GRANDO, M.; OLIVEIRA, D. The azo dye Disperse Orange 1 induces DNA damage and cytotoxic effects but does not cause ecotoxic effects in *Daphnia similis* and *Vibrio fischeri*. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 192, p. 628-633, 2011.

FERREIRA, L. F. R.; AGUIAR, M. M.; MESSIAS, T. G.; POMPEU, G. B.; LOPEZ, A. M. Q.; SILVA, D. P.; MONTEIRO, R. T. Evaluation of sugar-cane vinasse treated with *Pleurotus sajor-caju* utilizing aquatic organisms as toxicological indicators. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 74, p. 132–137, 2011.

FERREIRA FILHO, S. S.; WAELKENS, B. E. Minimização da produção de lodo no tratamento de águas de abastecimento mediante uso do cloreto de polialumínio e sua disposição em estações de tratamento de esgotos. **Engenharia Sanitária Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 3, p. 317-326, jul/set, 2009

FINOTO, E. L.; SOARES, M. B. B.; MICHELOTTO, M. D.; MARTINS, A. L. M. Efeito residual do herbicida imazapic sobre a germinação e o desenvolvimento inicial da cultura do milho. **Pesquisa & Tecnologia**, Campinas, v. 8, n. 2, jul/dez 2011.

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

FONSECA, G. P. S. **Análise da poluição difusa na bacia do rio Teles Pires com técnicas de geoprocessamento**. 2006. 171 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Humanas e Animais, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2006.

FONSECA, A. L.; ROCHA, O. Laboratory cultures of the native species *Chironomus xanthus* (Diptera-Chironomidae). **Acta Limnologica Brasiliensia**, São Carlos, v. 16, p. 153-161, 2004.

FREDERICE, A.; AMARAL, D. C.; MOREIRA, D. C.; SHITARA, J.; FUESS, L. T.; COSTA, N. R.; CURAN, R. M.; REIS, F. A. G. V.; GIORDANO, L. C. Diagnóstico ambiental do rio Corumbataí em trecho urbano do município de Rio Claro, SP. **Geociências**, Rio Claro, v. 29, n. 4, p. 643-657, 2010.

GARDOLINSKI, P. C. F. C.; PACKER, A. P.; ALMEIDA, C. R.; GINE-ROSIAS, M. F. Determination of Cd, Pb, Zn and Cu in sediment compartments by sequential extraction and isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry (ID-ICP-MS). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 13, n. 3, p. 373-381, 2002.

GUILHERME, L. R. G.; MARQUES, J. J.; PIERANGELI, M. A. P.; ZULIANI, D. Q.; CAMPOS, M. L.; MARCHI, G. Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos. **Tópicos de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 4, p. 345-390, 2005.

HAIR, J. F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W.C. **Multivariate data analysis**. 4. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1995.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 11, p. 714-719, 1977. Correction, v. 12, p. 417, 1978.

HAN, M.; LI, G.; SANG, N.; DONG, Y. Investigating the bio-toxicity of coking wastewater using *Zea mays* L. assay. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 74, p. 1050-1056, 2011.

HILL, A.; TERAOKA, H.; HEIDEMAN, W.; PETERSON, R. Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity. **Toxicological Sciences**, Orlando, v. 86, p. 6-19, 2005.

HOPPEN, C. **Reciclagem de lodo de ETA centrifugado na construção civil, método alternativo para preservação ambiental**. 2004. 135 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

HOPPEN, C.; PORTELLA, K. F.; JOUKOSKI, A.; FRANCK, R.; SALES, A.; ANDREOLI, C. V.; PAULON, V. A. Codisposição de lodo centrifugado de Estação de Tratamento de Água (ETA) em matriz de concreto: método alternativo de destinação final. **Cerâmica**, São Paulo, v. 51, p. 85-95, 2005.

HOPPEN, C.; PORTELLA, K.; JOUKOSKI, A.; TRINDADE, E.; ANDREOLI, C. The use of centrifuged sludge from a water treatment plant (WTP) in Portland cement concrete matrices for reducing the environmental impact. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, p. 79-84, 2006.

HOSS, S.; CLAUS, E.; VON DER OHE, P.; BRINKE, M.; GUDE, H.; HEININGER, P.; TRAUNSPURGER, W. Nematode species at risk - A metric to assess pollution in soft sediments of freshwaters. **Environment International**, New York, v. 37, p. 940-949, 2011.

HSU, P.; MATTHAI, A.; HEISE, S.; AHLF, W. Seasonal variation of sediment toxicity in the Rivers Dommel and Elbe. **Environmental Pollution**, London, v. 148, p. 817-823, 2007.

INAFUKU, M. M. **Avaliação da qualidade da água do rio Corumbataí com Ceriodaphnia silvestrii e determinação de Metais Pesados em sedimento em suspensão**. 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2000**: Brasil 2002 / IBGE, Diretoria de Geociências. Rio de Janeiro, 2002. 397 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **IBGE estima safra**. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidência/noticias/noticia_visualiza.php?id.Noticia=1605&id_pagina=1&titulo=Em-abril,-IBGE-preve-safra-recorde-para-2010>. Acesso em: 10 abr. 2010.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - **ISO 11269-1**. Soil Quality - Determination of the Effects of Pollutants on Soil Flora - Part 1: Method for the Measurement of Inhibition of Root Growth. Geneva, 1993.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - **ISO 11269-2**. Soil Quality - Determination of the Effects of Pollutants on Soil Flora - Part 2: Effects of Chemicals on the Emergence and Growth of Higher Plants. Geneva, 1994.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – **ISO 11267**. Soil Quality - Inhibition of Reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by Soil Pollutants. Geneva, 1999.

JANUÁRIO, G. F.; FERREIRA FILHO, S. S. Planejamento e aspectos ambientais envolvidos na disposição final de lodos das estações de tratamento de água da região metropolitana de São Paulo. **Engenharia Sanitária Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 12, p. 117-126, 2007.

JARDIM, G.; ARMAS E.; MONTEIRO, R. Ecotoxicological assessment of water and sediment of the Corumbatai River, SP, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 68, p. 51-59, 2008.

JARDIM, G. M. **Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do Rio Corumbataí**. 2004. 126 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

JONCZYK, E.; GILRON, G. Acute and chronic toxicity testing with *Daphnia* sp. In: BLAISE, C.; FÉRARD, J. F. (Ed.). **Small-scale freshwater toxicity investigations**. v. 1. Toxicity test methods. Dordrecht: Springer Science, 2005.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A. B. **Trace elements from soil to human**. Berlin: Springer, 2007. 576 p.

KHAN, S.; CAO, Q.; ZHENG, Y.; HUANG, Y.; ZHU, Y. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. **Environmental Pollution**, London, v. 152, p. 686-692, 2008.

KOUKAL, B.; DOMINIK, J.; VIGNATI, D.; ARPAGAU, P.; SANTIAGO, S.; OUDDANE, B.; BENAABIDATE, L. Assessment of water quality and toxicity of polluted Rivers Fez and Sebou in the region of Fez (Morocco). **Environmental Pollution**, London, v. 131, p. 163-172, 2004.

LAWRENCE, C.; BEST, J.; JAMES, A.; MALONEY, K. The effects of feeding frequency on growth and reproduction in zebra fish (*Danio rerio*). **Aquaculture**, Boston, v. 368-369, p. 103-108, 2012.

LORS, C.; PONGE, J.; ALDAYA, M. M.; DAMIDOT, D. Comparison of solid-phase bioassays and ecoscores to evaluate the toxicity of contaminated soils. **Environmental Pollution**, London, v. 158, p. 2640-2647, 2010.

MACHADO, M. S.; NOGUEIRA, C. H. P.; PEREIRA, A. A.; MAIA, L.; CINTRA, E. B.; OLIVEIRA, J. V. S.; NOCITI, L. A. S.; CRUZ, C. Efeitos de herbicidas sobre a germinação e crescimento de milho (*Zea mays*) utilizado como planta teste. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS NA ERA DA BIOTECNOLOGIA, 28., 2012, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: ABES, 2012. 1 CR-ROM.

MACIEL, P. B.; BARROS, L. L. S.; DUARTE, E. C. M.; HARDER, M. N. C.; BORTOLETO, G. G.; Abreu, C. H.; VILLANUEVA, F. C. A. Determination of nutrients and potentially toxic elements in *Jatropha curcas* seeds, oil and biodiesel using inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 295, 2012. DOI 10.1007/s10967-012-2365-y.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F.; LAVRES JÚNIOR, J.; MALAVOLTA, M. Micronutrientes e metais pesados - essencialidade e toxidez. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. cap. 4, p. 117-154.

MARGUÍ, E.; VAN GRIEKEN, R.; FONTÁS, C.; HIDALGO, M.; QUERALT, I. Preconcentration methods for the analysis of liquids samples by X-ray fluorescence techniques. **Applied Spectroscopy Reviews**, New York, v. 45, p. 179-205, 2010.

MARTINELLI, L. A.; ALMEIDA, S.; BROWN, I. F.; MOREIRA, M. Z.; VICTORIA, R. L.; STERNBERG, L. S. L.; FERREIRA, C. A. C.; THOMAS, W. W. Stable carbon isotope ratio of tree leaves, boles and fine litter in a tropical forest in Rondônia, Brazil. **Oecologia**, Berlin, v. 114, p. 170-179, 1998.

MARTINES, A. M. **Avaliação ambiental e agrônômica do uso de lodo de curtume no solo**. 2009. 84 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MARTINS, J.; TELES, L.; VASCONCELOS, V. Assays with *Daphnia magna* and *Danio rerio* as alert systems in aquatic toxicology. **Environment International**, New York, v. 33, p. 414-425, 2007.

MASSARO, C. M. **Estudos Ecológicos e Ecotoxicológicos de Espécies Nativas de Hydra (Cnidaria: Hydrozoa)**. 2011. 502 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

MATA, J. F.; PEREIRA, J. C. S.; CHAGAS, J. F. R.; VIEIRA, L. M. Germinação e emergência de milho híbrido sob doses de esterco bovino. **Amazônia: Ciência & Desenvolvimento**, Belém, v. 6, n. 12, jan./jun. 2011.

MEGDA, C. R.; SOARES, L. V.; ACHON, C. L. Propostas de aproveitamento de lodos gerados em ETAs. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 23., 2005, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: ABES, 2005. 1 CD-ROM.

MELETTI, P. C. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba, SP, através de parâmetros ecotoxicológicos**. 1997. 149 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

MENDES, J. C. T. **Caracterização fitogeográfica como subsidio para a recuperação e a conservação da vegetação na Bacia do Rio Corumbataí**. 2004. 121 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

MENEGÁRIO, A. A.; TONELLO, P. S.; BISCARO, P. A.; BROSSI-GARCIA, A. L. Determination of Cd (II) and Cd metallothioneins in biological extracts using baker s yeast and inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Mikrochimica Acta**, Wien, v. 159, p. 247-254, 2007.

MENZIES, N.; DONN, M.; KOPITKE, P. Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soils. **Environmental Pollution**, London, v. 145, p. 121-130, 2007.

MESSIAS, T. G. **Influência da toxicidade da água e do sedimento dos rios São Joaquim e Ribeirão Claro na bacia do Corumbataí**. 2008. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MONTEIRO, R. T. R.; ARMAS, E. D.; QUEIROZ, D. C. N. Lixiviação e contaminação das águas do rio Corumbataí por herbicidas. In: KARAM, D.; MASCARENHAS, M. H. T.; SILVA, J. B. **A ciência das plantas daninhas na sustentabilidade dos sistemas agrícolas**. Viçosa: SBCPD, 2008a. 381 p.

MONTEIRO, R. T. R.; SANTOS, M. A. P. F.; MESSIAS, T. G.; JARDIM, G. M.; VICENSOTTI, J. Projeto Políticas Públicas. In: TAU-K-TORNISIELO, S. M.; ESQUIERRO, J. C. **Bacia do rio Corumbataí: Aspectos socioeconômicos e ambientais**. Rio Claro: UNESP, 2008b. 178 p.

MORAES, M. F. **Micronutrientes e metais pesados tóxicos: do fertilizante ao produto agrícola**. 2009. 108 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MORAES, D. S. L.; JORDAO, B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 370-374, 2002.

MOREIRA-SANTOS, M.; DONATO, C.; LOPES, I.; RIBEIRO, R. Avoidance tests with small fish: Determination of the median avoidance concentration and of the lowest-observed-effect gradient. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 27, p. 1576-1582, 2008.

MOREIRA-SANTOS, M.; SOARES, A.; RIBEIRO, R. An *in situ* bioassay for freshwater environments with the microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 59, p. 164-173, 2004.

MOSCHINO, V.; DELANEY, E.; DA ROS, L. Assessing the significance of *Ruditapes philippinarum* as a sentinel for sediment pollution: Bioaccumulation and biomarker responses. **Environmental Pollution**, London, v. 171, p. 52-60, 2012.

NATAL-DA-LUZ, T.; TIDONA, S.; JESUS, B.; MORAIS, P.; SOUSA, J. The use of sewage sludge as soil amendment. The need for an ecotoxicological evaluation. **Journal of Soils and Sediments**, Heidelberg, v. 9, p. 246-260, 2009a.

NATAL-DA-LUZ, T.; TIDONA, S.; VAN GESTEL, C.; MORAIS, P.; SOUSA, J. The use of *Collembola* avoidance tests to characterize sewage sludges as soil amendments. **Chemosphere**, Oxford, v. 77, p. 1526-1533, 2009b.

NELSON, K.; BOITEAU, G.; LYNCH, D.; PETERS, R.; FILLMORE, S. Influence of agricultural soils on the growth and reproduction of the bio-indicator *Folsomia candida*. **Pedobiologia**, Jena, v. 54, p. 79-86, 2011.

NORDBERG, G. F.; ONAWA, K.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T. Cadmium. In: NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. **Handbook of toxicology of metals**. 2. ed. Amsterdam: Elsevier Publishers, 2007. p. 407-417.

NOVELLI, A.; VIEIRA, B.; CORDEIRO, D.; CAPPELINI, L.; VIEIRA, E.; ESPINDOLA, E. Lethal effects of abamectin on the aquatic organisms *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* and *Danio rerio*. **Chemosphere**, Oxford, v. 86, p. 36-40, 2012.

NUNES, L. M. **Avaliação de aplicação do descarte de lodo de E.T.A. em E.T.E. através de monitoramento de eficiência de remoção de DQO**. Estudo de caso: SEMAE, Sombrio – SC. 2010. 83 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Ambiental) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2010.

OBERHOLSTER, P. J.; BOTHA, A. M.; CLOETE, T. E. Biological and chemical evaluation of sewage water pollution in the Rietvlei nature reserve wetland area, South Africa. **Environmental Pollution**, London, v. 156, p. 184-192, 2008.

ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT - OECD. **Guidelines for the testing of chemicals**. Test 211: *Daphnia magna* reproduction test. Paris, Sep. 1998. 21p.

ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT - OECD. **Guidelines for the testing of chemicals**. Test 215: Effects on biotic systems test: fish, juvenile growth test. Paris, Jan. 2000. 16 p.

ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT - OECD. **Guidelines for the testing of chemicals**. Test 219: Sediment-water chironomid toxicity test using spiked water. Paris, Apr. 2004. 21 p.

OGA, S.; SIQUEIRA, M. E. P. B. **Fundamentos de toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 420 p.

OJALA, A.; KANKAALA, P.; KAIRESAALO, T.; SALONEN, K. Growth of *Daphnia longispina* L. in a polyhumic lake under various availabilities of algal, bacterial and detrital food. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 10, p. 891-900, 1995.

OLIVEIRA, E. M. S.; HOLANDA, J. N. F. Influência da adição de resíduo (lodo) de estação de tratamento de águas nas propriedades e microestrutura de cerâmica vermelha. **Cerâmica**, São Paulo, v. 54, p. 167-173, 2008.

OLIVEIRA, A. C. **Toxicidade de elementos-traços para consumidores primários na presença de exopolissacarídeos produzidos por organismos fitoplanctônicos (Chlorophyceae e Cyanophyceae)**. 2007. 183 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

OMETTO, J. P. H. B.; FLANAGAN, L. B.; MARTINELLI, L. A.; MOREIRA, M. Z.; HIGUCHI, N.; EHLERINGER, J. R. Carbon isotope discrimination in forest and pasture ecosystems of the Amazon Basin, Brazil. **Global Biogeochemical Cycles**, Washington, DC, v. 16, n. 4, p. 156.1-56.10, 2002.

PADILHA, J. C. **Aplicação de lodos de tratamento de água e esgoto em latossolos cultivados com milho e soja**. 2007. 345 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

PAIXÃO, L. C. C. **Aproveitamento de Lodo de Estação de Tratamento de Água em Cerâmica Vermelha**. 2005. 125 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2005.

PAIXÃO, L. C. C.; YOSHIMURA, H. N.; ESPINOSA, D. C. R.; TENORIO, J. A. S. Efeito da incorporação de lodo de ETA contendo alto teor de ferro em cerâmica argilosa. **Cerâmica**, São Paulo, v. 51, p. 63-76, 2008.

PEDRINHO, E. A. N. **Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento em milho (*Zea mays* L.)**. 2009. 74 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Faculdade de ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2009.

PEREZ, J.; DOMINGUES, I.; SOARES, A.; LOUREIRO, S. Growth rate of *Pseudokirchneriella subcapitata* exposed to herbicides found in surface waters in the Alqueva reservoir (Portugal): a bottom-up approach using binary mixtures. **Ecotoxicology**, Berlin, v. 20, p. 1167-1175, 2011.

PERY, A.; GEFFARD, A.; CONRAD, A.; MONS, R.; GARRIC, J. Assessing the risk of metal mixtures in contaminated sediments on *Chironomus riparius* based on cytosolic accumulation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 71, p. 869-873, 2008.

PIERZYNSKI, G. M.; SIMS, J. T.; VANCE, G. F. Soil phosphorus and environmental quality. In: PIERZYNSKY, G. M.; SIMS, J. T.; VANCE, G. F. **Soil and environmental quality**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2000. p. 155-208.

PINTO, A. L.; OLIVEIRA, G. H.; PEREIRA, G. A. Avaliação da eficiência da utilização do oxigênio dissolvido como principal indicador de qualidade das águas superficiais da bacia do córrego Bom Jardim, Brasilândia/MS. **Revista de Geografia, Meio Ambiente e Ensino - GEOMAE**, Campo Mourão, v. 1, n. 1, p. 69-82, 2010.

PLAA, G. L. Present status: toxic substances in the environment. **Canadian Journal of physiology and Pharmacology**, v. 60, p. 1010-1016, 1982.

POZEBON, D.; DRESSLER, V.; BECKER, J.; MATUSCH, A.; ZORIY, M. Biomonitoring of essential and toxic elements in small biological tissues by ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, London, v. 23, p. 1281-1284, 2008.

PRETTI, C.; CHIAPPE, C.; BALDETTI, I.; BRUNINI, S.; MONNI, G.; INTORRE, L. Acute toxicity of ionic liquids for three freshwater organisms: *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 72, p. 1170–1176, 2009.

PREXL, A.; MUNDER, S.; LOY, B.; KREMMER, E.; TISCHER, S.; BOTTGER, A. The putative Notch ligand HyJagged is a transmembrane protein present in all cell types of adult Hydra and upregulated at the boundary between bud and parent. **BMC Cell Biology**, London, v. 12, p. 38-53, 2011.

PRINTES, L.; FERNANDES, M.; ESPINDOLA, E. Laboratory measurements of biomarkers and individual performances in *Chironomus xanthus* to evaluate pesticide contamination of sediments in a river of southeastern Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 74, p. 424-430, 2011.

PROVETTO ANALITICA LTDA. **Manual de operação e manual de métodos orientativos para utilização com o digestor de amostras**. Versão 1.1. São Paulo, s.d.

QUINN, B.; GAGNE, F.; BLAISE, C. Evaluation of the acute, chronic and teratogenic effects of a mixture of eleven pharmaceuticals on the cnidarian, *Hydra attenuata*. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 407, p. 1072-1079, 2009.

RA, J. S.; KIM, H. K.; CHANG, N. I.; KIM, S. D. Whole effluent toxicity (WET) tests on wastewater treatment plant with *Daphnia magna* and *Selenastrum capricornutum*. **Environmental monitoring assessment**, Heidelberg, v. 129, n. 1-3, p. 107-113, 2007.

RAIMUNDO, C. C. M. **Contaminantes emergentes em água tratada e seus mananciais: Sazonalidade, remoção e atividade estrogênica**. 2011. 172 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

REALI, M. A. P. Espessamento de lodos de ETAs. In: PROSAB. **Noções gerais de tratamento e disposição final de lodos de Estações de Tratamento de Água**. Rio de Janeiro, 1999. p. 21-39.

RIBEIRO M. L.; LOURENCETI, C.; PEREIRA, S. Y.; MARCHI, M. R. R. Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: uma avaliação preliminar. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 688-694, 2007.

RICHARDSON, S. Water analysis: emerging contaminants and current issues. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 81, p. 8654-8654, 2009.

RICHARDSON, S.; TERNES, T. Water analysis: emerging contaminants and current issues. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 83, p. 4614-4648, 2011.

RICHTER, C. A. **Tratamento de lodo de estação de tratamento de água**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. 102 p.

ROCHA, P. S.; BERNECKER, C.; STRECKER, R.; MARIANI, C. F.; POMPÊO, M. L. M.; STORCH, V.; HOLLERT, H.; BRAUNBECK, T. Sediment-contact fish embryo toxicity assay with *Danio rerio* to assess particle-bound pollutants in the Tiete River Basin (São Paulo, Brazil). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 74, p. 1951-1959, 2011.

RODRIGUES, S.; HENRIQUES, B.; COIMBRA, J.; SILVA, E.; PEREIRA, M.; DUARTE, A. Water-soluble fraction of mercury, arsenic and other potentially toxic elements in highly contaminated sediments and soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 78, p. 1301-1312, 2010.

ROSA, R.; MOREIRA-SANTOS, M.; LOPES, I.; SILVA, L.; REBOLA, J.; MENDONÇA, E.; PICADO, A.; RIBEIRO, R. Comparison of a test battery for assessing the toxicity of a bleached-kraft pulp mill effluent before and after secondary treatment implementation. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v. 161, p. 439-451, 2010.

ROSA, E. V. C.; GIURADELLI, T. M.; CORRÊA, A. X. R.; RÖRIG, R.; SCHWINGEL, P. R.; RESGALLA, C.; RADETSKI, C. M. Ecotoxicological evaluation of the short term effects on fresh and stabilized textile before application in forest soil restoration. **Environmental Pollution**, London, v. 146, p. 463-469, 2007.

ROSARIO, C. G. A. **Avaliação da disposição de lodo gerado numa estação de tratamento de água em reator anaeróbio de fluxo ascendente e manto de lodo (UASB)**. 2007. 236 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SABAGG, M. G.; MORITA, D. M. **Incorporação de lodo de estações de tratamento de água em blocos cerâmicos**. São Paulo: Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária da EPUSP, 2004.

SABOGAL-PAZ, L. P. **Modelo conceitual de seleção de tecnologias de tratamento de água para abastecimento de comunidades de pequeno porte**. 2007. 364 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

SANCHES, S. Agentes desinfetantes alternativos para o tratamento da água. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 17, p. 8-12, 2003.

SANTOS, M.; SOARES, A.; LOUREIRO, S. Joint effects of three plant protection products to the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus* and the collembolan *Folsomia candida*. **Chemosphere**, Oxford, v. 80, p. 1021-1030, 2010.

SANTOS, M. A. P. F. **Avaliação da qualidade da água e sedimento da sub-bacia do rio Corumbataí (SP) por meio de testes ecotoxicológicos**. 2008. 186 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

SANTOS, M. A. P. F.; VICENSOTTI, J.; MONTEIRO, R. T. R. Sensitivity of four test organisms (*Chironomus xanthus*, *Daphnia magna*, *Hydra attenuata* and *Pseudokirchneriella subcapitata*) to NaCl: an alternative reference toxicant. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, Rio Grande, v. 2, p. 229-236, 2007.

SÃO PAULO. Assembléia Legislativa do Estado de São Paulo. Lei nº 12.300 de 16 de março de 2006. Institui a Política Estadual de Resíduos Sólidos e define princípios e diretrizes. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 16 mar. 2006.

SARDINHA, D. S.; CONCEIÇÃO, F. T.; SOUZA, A. D. G.; SILVEIRA, A.; JULIO, M.; GONÇALVES, J. C. S. I. Avaliação da qualidade da água e autodepuração do ribeirão do Meio, Leme (SP). **Engenharia Sanitária Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 3, p. 329-338, jul/set 2008.

SARON, A.; LEITE, V. M. B. Quantificação de lodo em estação de tratamento de Água. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21., 2001, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: ABES, 2001. 1 CR-ROM.

SARTORI, S. **Atividade enzimática e valores nutricionais de *Pleurotus* spp. cultivados em vinhaça**. 2011. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

SCALIZE, P. S. **Disposição de resíduos gerados em estações de tratamento de água em estação de tratamento de esgoto**. 2003. 146 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

SENA, H. C. **Recebimento de lodo de ETA em ETE por lodo ativado operando com mídia plástica no tanque de aeração (MBBR)**. 2011. 373 f. Tese (Doutorado em Engenharia) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SICCARDI, A.; GARRIS, H.; JONES, W.; MOSELEY, D.; D'ABRAMO, L.; WATTS, S. Growth and survival of zebrafish (*Danio rerio*) fed different commercial and laboratory diets. **Zebrafish**, Larchmont, NY, v. 6, p. 275-280, 2009.

SILVA, G.G.; NAVAL, L. P.; DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. Tratamento de água de reservatórios por dupla filtração, oxidação e adsorção em carvão ativado granular. **Engenharia Sanitária Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 17, p. 71-80, 2012.

SILVA, G. H. **Genotoxicidade e mutagenicidade, para *Allium cepa*, de águas de rios e nascentes e após tratamento para abastecimento público**. 2011. 43 f. Trabalho (Conclusão de Curso em Ciências Biológicas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

SILVA, J. P. G. C. **O efeito da dieta na sobrevivência e no desenvolvimento esquelético e digestivo de larvas e juvenis de peixe-zebra *Danio rerio* (Hamilton, 1822)**. 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Marinha) - Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente, Universidade do Algarve, Faro, 2009.

SILVA, J. M.; SANTOS, J. R. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 4, p. 565-573, 2007.

SILVA, E. T.; MELO, W. J.; TEIXEIRA, S. T. Chemical attributes of a degraded soil after application of water treatment sludges. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 6, p. 559-563, nov./dec. 2005.

SINGH, S.; REKHA, P. D.; ARUN, A. B.; HUANG, Y. M.; SHEN, F. T.; YOUNG, C. Wastewater from monosodium glutamate industry as a low cost fertilizer source for corn (*Zea mays* L.). **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 35, p. 4001-4007, 2011.

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

SPENCE, R.; GERLACH, G.; LAWRENCE, C.; SMITH, C. The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. **Biological Reviews**, Cambridge, v. 83, n. 1, p. 13-34, 2008.

SROGI, K. Developments in the determination of trace elements by atomic spectroscopic techniques. **Analytical Letters**, New York, v. 41, p. 677-724, 2008.

STAVELEY, J. P.; SMRCHEK, J. C. Algal toxicity test. In: BLAISE, C.; FÉRARD, J. F. (Ed.). **Small-scale freshwater toxicity investigations**. v. 1. Toxicity test methods. Dordrecht: Springer Science, 2005. chap. 4.

SULEIMAN, J.; HU, B.; HUANG, C.; ZHANG, N. Determination of Cd, Co, Ni and Pb in biological samples by microcolumn packed with black stone (Pierre noire) online coupled with ICP-OES. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 157, p. 410-417, 2008.

TAVARES, G.; ALMEIDA, E.; OLIVEIRA, J.; BENDASSOLLI, J.; NASCIMENTO, V. Elemental content in deionized water by total-reflection X-ray fluorescence spectrometry. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 287, p. 377-381, 2011.

TEIXEIRA, S. R.; SOUZA, S. A.; SOUZA, N. R.; ALÉSSIO, P.; SANTOS, G. T. A. Efeito da adição de lodo de estação de tratamento de água (ETA) nas propriedades de material cerâmico estrutural. **Cerâmica**, São Paulo, v. 51, p. 215-220, 2006.

TEIXEIRA, S. T.; MELO, W. J.; SILVA, E. T. Aplicação de lodo da estação de tratamento de água em solo degradado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 40, n. 1, p. 91-94, jan. 2005.

TOLEDO, L. G.; NICOLELLA, G. Índice de qualidade de água em microbacia sob uso agrícola e urbano. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n. 1, p. 181-186, 2002.

TORIBIO, M.; ROMANYÀ, J. Leaching of heavy metals (Cu, Ni and Zn) and organic matter after sewage sludge application to Mediterranean Forest soils. **Science of the Total Environment**, Amsteden, v. 363 p. 11-21, 2006.

TROTTIER, S.; BLAISE, C.; KUSUI, T.; JOHNSON, E. M. Acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based *Hydra attenuata* assay. **Environmental Toxicology and Water Quality**, New York, v. 12, p. 265-271, 1997.

TSUTIYA, M. T.; HIRATA, A. Y. Aproveitamento e disposição final de lodos de estação de tratamento de água do estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21., 2001, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: ABES, 2001. 1 CD-ROM.

USEPA. **Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates**. 2. ed. Washington, DC, 2000. (EPA-600/R-99/064).

USEPA. **Method 3051A**: Toxicological Review of Hexavalent Chromium: method microwave assisted digestion of sediments and sludges, soils and oils. Washington, DC, 1998. 25 p.

VANNINI, C.; DOMINGO, G.; MARSONI, M.; MATTIA, F.; LABRA, M.; CASTIGLIONI, S.; BRACALE, M. Effects of a complex mixture of therapeutic drugs on unicellular algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 101, p. 459-465, 2011.

VAZ, J. L. N. **Bioavailability and toxicity of metals to plants**: Influence of ageing and the type contamination matrix. 2010. 34 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade de Coimbra, Coimbra, 2010.

VERNOUILLET, G.; EULLAFFROY, P.; LAJEUNESSE, A.; BLAISE, C.; GAGNE, F.; JUNEAU, P. Toxic effects and bioaccumulation of carbamazepine evaluated by biomarkers measured in organisms of different trophic levels. **Chemosphere**, Oxford, v. 80, p. 1062-1068, 2010.

WEYERS, A.; SOKULL-KLUTTGEN, B.; BARAIBAR-FENTANES, J.; VOLLMER, G. Acute toxicity data: A comprehensive comparison of results of fish, *Daphnia*, and algae tests with new substances notified in the European Union. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 19, p. 1931-1933, 2000.

WILSON, B.; PYATT, F. B. Heavy metal dispersion, persistence, and bioaccumulation around an ancient copper mine situated in Anglesey. UK. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 66, p. 224-231, 2007.

XIANG, J.; YANG, H.; CHE, C.; ZOU, H.; YANG, H.; WEI, Y.; QUAN, J.; ZHANG, H.; YANG, Z.; LIN, S. Identifying Tumor cell growth inhibitors by combinatorial chemistry and zebrafish assays. **Plos One**, San Francisco, v. 4, e4361, 2009. doi:10.1371/journal.pone.0004361.

YAMADA, T. M.; SUEITT, A. P. E.; BERALDO, D. A. S.; BOTTA, C. M. R.; FADINI, P. S.; NASCIMENTO, M. R. L.; FARIA, B. M.; MOZETO, A. A. Calcium nitrate addition to control the internal load of phosphorus from sediments of a tropical eutrophic reservoir: Microcosm experiments. **Water Research**, Oxford, v. 46, n. 19, p. 6463-6475, 2012.

ZAGATO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática** – Princípios e aplicações. São Carlos: RiMa, 2006. 464 p.

ZAMBETTA, P. M. A. **Espécies químicas inorgânicas (Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb e Se) no sedimento e nos sólidos em suspensão do rio Corumbataí, SP**. 2006. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

ZAVASCHI, E. **Volatilização de amônia e produtividade do milho em função da aplicação de uréia revestida com polímeros**. 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

ZHAO, F.; MCGRATH, S.; MERRINGTON, G. Estimates of ambient background concentrations of trace metals in soils for risk assessment. **Environmental Pollution**, London, v. 148, p. 221-229, 2007.

ZHANG, X.; GAO, L.; YANG, K.; TIAN, H.; WANG, W.; RU, S. Monocrotophos pesticide modulates the expression of sexual differentiation genes and causes phenotypic feminization in zebra fish (*Danio rerio*). **Comparative Biochemistry and Physiology. Part C**, New York, v. 157, p. 33-40, 2013.

ANEXOS

Anexo A - Laudo da caracterização do lodo do floculador (Am1L), coleta de 22/09/11

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DO SOLO

Análise F02

No.Cliente: 2038

Proprietario: TAMARA GUINDO MESSIAS

Endereço.....: FLOCULADO

Município.....:

Identificação da amostra: AM 1 L

No. de laboratório: R- 1279

Data de emissão: 27/11/2012

RESULTADOS DE ANALISES DE MATERIAL ORGANICO

DETERMINAÇÕES	UMIDADE NATURAL	BASE SECA	
		60-65°C	110°C
pH em CaCl ₂ 0,01M.....	6,8		
Densidade(g/cm ³).....	0,74		
Umidade perdida a 60-65°C(%).....	1,75		
Umidade perdida entre 65 e 110°C(%)...	1,19		
Umidade total(%).....	2,94		
Inertes.....	0,00	0,00	0,00
Matéria orgânica total (combustão)(%).....	14,26	14,51	14,69
Matéria orgânica compostável(%).....	12,20	12,42	12,57
Matéria org. resistente à compost.(%)..	2,06	2,10	2,12
Carbono total (orgânico e mineral)(%)..	7,92	8,06	8,16
Carbono orgânico(%).....	6,78	6,90	6,99
Resíduo mineral total(%).....	82,80	84,27	85,31
Resíduo mineral insolúvel(%).....	59,22	60,27	61,01
Resíduo mineral solúvel(%).....	23,58	24,00	24,29
Nitrogênio total(%).....	0,78	0,79	0,80
Fósforo (P ₂ O ₅) total(%).....	0,81	0,82	0,83
Potássio (K ₂ O) total(%).....	0,32	0,33	0,33
Cálcio (Ca) total(%).....	0,66	0,67	0,68
Magnésio (Mg) total(%).....	0,31	0,32	0,32
Enxofre (S) total(%).....	0,10	0,10	0,10
Relação C/N (C total e N total).....	10/1	10/1	10/1
Relação C/N (C orgânico e N total)....	9/1	9/1	9/1
Cobre (Cu) total(mg/kg).....	27	27	28
Manganês (Mn) total(mg/kg).....	8497	8648	8754
Zinco (Zn) total(mg/kg).....	133	135	137
Ferro (Fe) total(mg/kg).....	60265	61338	62090
Boro (B) total(mg/kg).....	5	5	5
Sódio (Na) total(mg/kg).....	368	375	379

(**) Elemento não analisado. (Amostra fornecida pelo interessado).

R\$ 110,00

Prof.Dr. Godofredo Cesar Vitti
-Coordenador-

Avenida Pádua Dias, 11 - CP. 09 - Piracicaba, SP - Cep 13418.900 - Fone (19) 3417-2117 / 3429-4171 - Fax (19) 3417-2110
E-mail: lsn@esalq.usp.br - Home-page: http://www.solos.esalq.usp.br

Anexo B - Laudo da caracterização do lodo do decantador (Am2L), coleta de 22/09/11

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DO SOLO

Análise F02

No. Cliente: 2038

Proprietário: TAMARA GUINDO MESSIAS

Endereço: DECANTADO

Município: ,

Identificação da amostra: AM 2 L

No. de laboratório: R- 1280

Data de emissão: 28/11/2012

RESULTADOS DE ANÁLISES DE MATERIAL ORGÂNICO

DETERMINAÇÕES	UMIDADE NATURAL	BASE SECA	
		60-65°C	110°C
pH em CaCl ₂ 0,01M.....	6,8		
Densidade(g/cm ³).....	0,87		
Umidade perdida a 60-65°C(%).....	5,01		
Umidade perdida entre 65 e 110°C(%)....	3,77		
Umidade total(%).....	8,78		
Inertes.....	0,00	0,00	0,00
Matéria orgânica total (combustão)(%).....	19,67	20,71	21,56
Matéria orgânica compostável(%).....	17,40	18,32	19,07
Matéria org. resistente à compost.(%)..	2,27	2,39	2,49
Carbono total (orgânico e mineral)(%)..	10,93	11,51	11,98
Carbono orgânico(%).....	9,67	10,18	10,60
Resíduo mineral total(%).....	71,55	75,32	78,44
Resíduo mineral insolúvel(%).....	44,16	46,49	48,41
Resíduo mineral solúvel(%).....	27,39	28,83	30,03
Nitrogênio total(%).....	0,72	0,76	0,79
Fósforo (P ₂ O ₅) total(%).....	1,13	1,19	1,24
Potássio (K ₂ O) total(%).....	0,25	0,26	0,27
Cálcio (Ca) total(%).....	0,63	0,66	0,69
Magnésio (Mg) total(%).....	0,27	0,28	0,30
Enxofre (S) total(%).....	0,26	0,27	0,29
Relação C/N (C total e N total).....	15/1	15/1	15/1
Relação C/N (C orgânico e N total)....	13/1	13/1	13/1
Cobre (Cu) total(mg/kg).....	26	27	29
Manganês (Mn) total(mg/kg).....	3081	3243	3378
Zinco (Zn) total(mg/kg).....	102	107	112
Ferro (Fe) total(mg/kg).....	53603	56430	58762
Boro (B) total(mg/kg).....	4	4	4
Sódio (Na) total(mg/kg).....	355	374	389

(**) Elemento não analisado. (Amostra fornecida pelo interessado).

R\$ 110,00

Prof. Dr. Godofredo Cesar Vitti
-Coordenador-

Avenida Pádua Dias, 11 - CP. 09 - Piracicaba, SP - Cep 13418-900 - Fone (19) 3417-2117 / 3429-4171 - Fax (19) 3417-2110
E-mail: lsq@esalq.usp.br - Home-page: <http://www.solos.esalq.usp.br>

Anexos C – Biomassa e tamanho, inicial e final, das repetições de *D. rerio* expostos às amostras de elutriato

Amostra	Repetições	Peso (g)			Tamanho (cm)		
		Inicial	Final	Ganho	Inicial	Final	Crescimento
Controle	1	0,09	0,17	0,08	2,5	2,8	0,3
Controle	2	0,08	0,16	0,08	2,5	2,8	0,3
Controle	3	0,10	0,19	0,09	2,3	2,8	0,5
Controle	4	0,13	0,27	0,14	2,8	3,0	0,2
Controle	5	0,12	0,26	0,14	2,4	2,7	0,3
Controle	6	0,10	0,19	0,09	2,5	2,7	0,2
Controle	7	0,18	0,29	0,11	3,1	3,3	0,2
Controle	8	0,12	0,21	0,09	2,5	2,8	0,3
Am1L 100	1	0,08	M	-	2,3	M	-
Am1L 100	2	0,09	M	-	2,4	M	-
Am1L 100	3	0,12	0,16	0,04	2,3	2,7	0,4
Am1L 100	4	0,12	0,20	0,08	2,5	2,9	0,4
Am1L 100	5	0,09	0,16	0,07	2,5	2,5	0,0
Am1L 100	6	0,09	0,17	0,08	2,3	2,5	0,2
Am1L 100	7	0,13	M	-	2,8	M	-
Am1L 100	8	0,23	M	-	3,0	M	-
Am1L 75	1	0,21	M	-	3,0	M	-
Am1L 75	2	0,21	0,33	0,12	3,0	3,1	0,1
Am1L 75	3	0,18	0,29	0,11	2,8	3,2	0,4
Am1L 75	4	0,28	0,36	0,08	3,2	3,4	0,2
Am1L 75	5	0,20	0,31	0,11	3,0	3,0	0,0
Am1L 75	6	0,29	M	-	3,4	M	-
Am1L 75	7	0,20	M	-	3,1	M	-
Am1L 75	8	0,13	0,18	0,05	2,6	3,1	0,5
Am1L 50	1	0,24	0,31	0,07	3,1	3,4	0,3
Am1L 50	2	0,30	M	-	3,3	M	-
Am1L 50	3	0,27	0,34	0,07	3,2	3,4	0,2
Am1L 50	4	0,18	0,28	0,10	3,0	3,2	0,2
Am1L 50	5	0,31	M	-	3,5	M	-
Am1L 50	6	0,18	0,26	0,08	2,8	3,0	0,2
Am1L 50	7	0,16	M	-	2,7	M	-
Am1L 50	8	0,17	0,28	0,11	2,9	3,2	0,3
Am1L 25	1	0,15	M	-	2,6	M	-
Am1L 25	2	0,10	0,20	0,10	2,5	2,8	0,3
Am1L 25	3	0,21	M	-	3,0	M	-
Am1L 25	4	0,10	0,22	0,12	2,5	2,7	0,2
Am1L 25	5	0,08	0,21	0,13	2,3	2,7	0,4
Am1L 25	6	0,15	0,24	0,09	2,7	3,0	0,3
Am1L 25	7	0,30	0,39	0,09	2,8	3,5	0,7
Am1L 25	8	0,12	0,24	0,12	2,7	3,0	0,3

continua

							conclusão
Am2L 100	1	0,14	0,22	0,08	2,8	2,9	0,10
Am2L 100	2	0,16	M	-	2,9	M	-
Am2L 100	3	0,11	M	-	2,5	M	-
Am2L 100	4	0,19	M	-	3,0	M	-
Am2L 100	5	0,10	M	-	2,6	M	-
Am2L 100	6	0,22	M	-	3,1	M	-
Am2L 100	7	0,20	0,31	0,11	3,0	3,3	0,3
Am2L 100	8	0,25	0,32	0,07	3,0	3,3	0,3
Am2L 75	1	0,22	0,28	0,06	3,0	3,0	0,0
Am2L 75	2	0,14	M	-	2,7	M	-
Am2L 75	3	0,16	0,22	0,06	2,9	2,9	0,0
Am2L 75	4	0,12	M	-	2,7	M	-
Am2L 75	5	0,17	0,26	0,09	2,8	3,0	0,2
Am2L 75	6	0,16	0,24	0,08	2,5	2,9	0,4
Am2L 75	7	0,12	0,20	0,08	2,7	3,0	0,3
Am2L 75	8	0,12	M	-	2,7	M	-
Am2L 50	1	0,21	0,32	0,11	3,2	3,5	0,3
Am2L 50	2	0,23	0,35	0,12	3,3	3,5	0,2
Am2L 50	3	0,27	0,41	0,14	3,3	3,5	0,2
Am2L 50	4	0,15	M	-	2,5	M	-
Am2L 50	5	0,15	0,23	0,08	2,6	2,9	0,3
Am2L 50	6	0,19	M	-	2,8	M	-
Am2L 50	7	0,18	0,27	0,09	2,9	3,0	0,1
Am2L 50	8	0,15	0,24	0,09	2,6	2,9	0,3
Am2L 25	1	0,11	M	-	2,6	M	-
Am2L 25	2	0,09	0,16	0,07	2,2	2,6	0,4
Am2L 25	3	0,07	0,17	0,10	2,2	2,6	0,4
Am2L 25	4	0,16	0,22	0,06	2,9	3,2	0,3
Am2L 25	5	0,18	0,30	0,12	3,0	3,2	0,2
Am2L 25	6	0,21	M	-	3,0	M	-
Am2L 25	7	0,20	0,28	0,08	3,0	3,3	0,3
Am2L25	8	0,13	0,20	0,07	2,5	2,8	0,3

M – Morte do organismo

Anexos D – Número de juvenis de *F. candida* expostos às amostras do lodo filtrado, do lodo bruto e a amostra da lavagem do filtro.

Amostras	Repetições				
	1	2	3	4	5
Controle	689	565	634	608	659
Am1LF 100	547	466	466	466	458
Am1LF 50	481	499	516	428	520
Am1LF 25	432	529	572	481	394
Am1LF 12,5	549	549	424	549	646
Am1LF 6,25	605	728	768	481	406
Am2LF 100	588	487	540	469	514
Am2LF50	491	469	513	629	410
Am2LF 25	470	502	567	507	505
Am2LF 12,5	496	599	538	537	465
Am2LF 6,25	523	479	623	475	566
Am3A 100	376	447	518	448	449
Am3A 50	565	402	521	535	501
Am3A 25	485	426	472	586	498
Am3A 12,5	577	501	442	494	486
Am3A 6,25	561	535	526	513	543
Am1L lod 100	308	269	288	330	342
Am1L lod 50	350	347	329	352	382
Am1L lod 25	405	421	347	316	376
Am1L lod 12,5	367	416	372	362	353
Am1L lod 6,25	383	493	502	503	447
Am2L lod 100	380	374	389	395	382
Am2L lod 50	345	457	411	399	387
Am2L lod 25	400	401	461	431	416
Am2L lod 12,5	430	436	441	374	448
Am2L lod 6,25	429	426	431	437	424
Controle	467	415	431	466	401
Am1L100	372	494	485	499	476
Am1L50	405	419	445	417	399
Am1L25	392	432	432	394	398
Am1L12,5	387	507	321	443	448
Am1L6,25	484	455	469,5	426	487
Am2L100	339	358	390	240	360
Am2L50	361	369	302	319	340
Am2L25	356	354	326	402	273
Am2L12,5	416	385	317	351	368
Am2L6,25	375	342	369	341	345

Anexos E – Resultados individuais das cinco plântulas de *Z. mays*, mantidas em cada repetição, durante os 14 dias de teste, com as amostras de elutriato.

Amostra	Repetição	Comprimento máximo da raiz (CM)				
		1	2	3	4	5
Controle	1	37	34	33	38	35,5
Controle	2	34	38,5	37	35,5	37
Controle	3	36	31	39	44	33
Controle	4	31	36	28,5	35	28
Controle	5	40	34	37,5	36	33,5
Am1L100	1	24	13,5	23	9	10,5
Am1L100	2	10	22,5	28,5	23,5	23,5
Am1L100	3	21	32,5	16,5	12	-
Am1L100	4	8	9,5	25,5	29	-
Am1L100	5	15	26	21,5	20	27
Am1L75	1	28	21,5	28,5	31	23
Am1L75	2	30	31	29,5	29	23,5
Am1L75	3	30	25	33,5	33	29
Am1L75	4	32,5	28,5	27,5	30,5	29
Am1L75	5	33,5	27,5	31	31,5	27,5
Am1L50	1	24	30	27	33	31,5
Am1L50	2	26,5	29	36,5	18,5	35
Am1L50	3	34,5	35,5	34	33,5	34
Am1L50	4	27	31,5	33,5	33	31
Am1L50	5	35,5	34,5	26,5	34	31
Am1L25	1	38,5	35,5	30,5	28,5	31,5
Am1L25	2	33	29	29	30	27,5
Am1L25	3	28,5	26	22,5	31	37
Am1L25	4	35	30	35	32	33
Am1L25	5	31	37,5	31	28	31,5
Am2L100	1	38	41	28	30	29,5
Am2L100	2	25	29	30	30,5	23,5
Am2L100	3	26	25	22,5	24,5	32,5
Am2L100	4	21	20,5	30	29	27
Am2L100	5	27	29,5	29,5	27,5	30,5
Am2L75	1	22	24	22,5	25	24,5
Am2L75	2	39	31	32	42,5	34
Am2L75	3	22,5	24	18	22	19
Am2L75	4	24,5	28	29	27,5	27
Am2L75	5	31	28	24	30	21,5
Am2L50	1	31	31,5	36	28	29
Am2L50	2	27	31	27	32	30
Am2L50	3	30,5	29	27	32	24,5
Am2L50	4	29,5	26	21,5	27	31
Am2L50	5	30	27,5	28,5	25,5	36,5
Am2L25	1	31	36	35	28,5	27
Am2L25	2	34	37	33	28	25,5
Am2L25	3	23,5	28	34	32,5	31
Am2L25	4	26,5	28	27	27,5	28
Am2L25	5	35,5	31	40	36	44

continua

continuação						
Comprimento médio da raiz (CRM)						
	Repetição	1	2	3	4	5
Controle	1	15	13,5	13	13,5	13
Controle	2	13,5	13	11	11,5	12
Controle	3	14	14	15,5	19	14,5
Controle	4	17	14,5	14	17,5	14
Controle	5	15	16	13	12,5	14
Am1L100	1	13	5,5	10	4,5	6
Am1L100	2	3,5	8,5	9	8,5	10,5
Am1L100	3	8	12	9	5,5	-
Am1L100	4	2	3,5	10,5	11	-
Am1L100	5	7	9,5	7,5	8	6,5
Am1L75	1	10	10,5	6	7	10
Am1L75	2	11,5	11	11,5	9	11
Am1L75	3	9,5	11,5	9,5	13,5	11,5
Am1L75	4	10,5	7,5	9	7,5	6,5
Am1L75	5	10,5	7	9	12	5,5
Am1L50	1	9	12,5	10	6	9
Am1L50	2	10,5	8	11	7,5	9
Am1L50	3	13,5	24	20	15	11
Am1L50	4	14	11,5	15,5	6,5	9
Am1L50	5	13	9	8,5	7	9
Am1L25	1	20	14	10	11	13
Am1L25	2	14	9,5	12	13	6
Am1L25	3	12	9	9,5	8	16
Am1L25	4	20	10	14	7	16
Am1L25	5	12	12	13,5	8	12
Am2L100	1	12	11,5	9,5	9	9,5
Am2L100	2	9	12	12	12	9
Am2L100	3	12	8	8,5	8,5	11,5
Am2L100	4	9	10	14	13	10,5
Am2L100	5	8,5	7	8	8	8,5
Am2L75	1	10	9	10,5	10	9,5
Am2L75	2	11	9	9	13	9,5
Am2L75	3	10	8,5	8	12	9
Am2L75	4	11	13,5	12	12	11
Am2L75	5	15	13	12	11,5	12
Am2L50	1	10,5	10	12	9	10,5
Am2L50	2	13	10	10	12	9
Am2L50	3	12	11	10	17	11
Am2L50	4	12	8	9	13	9
Am2L50	5	14	12	12	11	11,5
Am2L25	1	13	17	15	11	11
Am2L25	2	13,5	16	17	11	12
Am2L25	3	9,5	10	12	12	11
Am2L25	4	13	10	10	11	9
Am2L25	5	9	8	11	11	11

continua

continuação

Comprimento aéreo da plântula (CAP)						
	Repetição	1	2	3	4	5
Controle	1	43	53	45	38,5	45
Controle	2	41	38	40	42,5	45
Controle	3	38	41,5	51	49,5	48
Controle	4	42,5	44,5	35	47,5	43
Controle	5	46	43,5	42,5	44,5	41
Am1L100	1	34,5	23,5	31	6,5	11
Am1L100	2	18	36	33,5	36	33
Am1L100	3	33,5	38,5	17,5	9,5	-
Am1L100	4	4,5	8	38	40,5	-
Am1L100	5	29	35,5	35	35,5	25,5
Am1L75	1	41,5	34,5	40,5	43	32,5
Am1L75	2	42,5	39,5	43	42	40
Am1L75	3	43,5	37,5	41	35	43
Am1L75	4	38,5	41,5	39	40	35,5
Am1L75	5	43,5	39	43,5	41	37
Am1L50	1	40,5	39	41,5	36	46
Am1L50	2	44	47	39	33,5	53
Am1L50	3	41,5	40	38	40	44
Am1L50	4	42,5	43	45	36	42
Am1L50	5	46	44,5	42	46	37
Am1L25	1	43	40	41	37	41
Am1L25	2	41,5	37	41,5	45	38
Am1L25	3	45	31,5	41	46,5	42,5
Am1L25	4	44	44	36,5	39,5	38,5
Am1L25	5	44	45,5	44	39	41
Am2L100	1	47	43	34	39,5	39
Am2L100	2	41	43	41	44	40
Am2L100	3	39	38,5	36	36	37,5
Am2L100	4	42	40	36	32	35
Am2L100	5	42	45	30	43,5	43
Am2L75	1	35	39	40	41,5	39,5
Am2L75	2	43,5	40	42	46,5	40
Am2L75	3	41	40	35	36	36
Am2L75	4	39	36,5	45,5	39	40,5
Am2L75	5	42,5	44	45	45	36,5
Am2L50	1	40	42	40	43	47
Am2L50	2	49	38,5	39	42	43,5
Am2L50	3	47	40,5	41,5	36,5	39,5
Am2L50	4	38	36	38,5	41,5	38
Am2L50	5	44,5	38	39,5	36,5	45
Am2L25	1	43	44,5	45	44	45,5
Am2L25	2	44,5	41	34	43,5	38
Am2L25	3	37,5	41	43	43,5	39
Am2L25	4	45	42	44	45	43
Am2L25	5	50	35,5	50	40	43

continua

						conclusão
		Comprimento do caule (CC)				
	Repetição	1	2	3	4	5
Controle	1	10	14,5	12	9	10
Controle	2	12	8,5	10	11	13
Controle	3	10	13	14,5	14	14
Controle	4	10,5	11	9,5	13,5	9,5
Controle	5	13	10	12	10	10,5
Am1L100	1	9,5	8,5	6,5	3	3
Am1L100	2	5,5	9	10	10	9,5
Am1L100	3	10,5	10	6	3,5	-
Am1L100	4	1,5	3	10,5	11,5	-
Am1L100	5	7,5	9,5	9,5	9	7,5
Am1L75	1	11	9	11	8	8,5
Am1L75	2	10	9,5	10	10,5	12
Am1L75	3	11	10	11	9,5	11,5
Am1L75	4	9	12	9,5	10,5	9,5
Am1L75	5	11	10,5	10,5	11	9,5
Am1L50	1	10,5	9,5	10,5	10	12
Am1L50	2	11,5	14	10,5	10	15,5
Am1L50	3	11	10,5	9,5	9,5	12
Am1L50	4	10,5	11	12,5	10,5	12
Am1L50	5	12	13	11	13	10,5
Am1L25	1	11	12,5	10	9,5	10
Am1L25	2	12	9	10	12	10
Am1L25	3	14	9,5	10	14	12
Am1L25	4	11,5	11,5	10,5	10	10
Am1L25	5	12,5	11,5	11	9	10,5
Am2L100	1	12	10	10,5	10	12
Am2L100	2	11	11	10,5	11,5	10
Am2L100	3	10	10,5	9	9	10
Am2L100	4	11	10,5	10	10	11
Am2L100	5	12	11	9	13	10,5
Am2L75	1	9	10,5	9,5	12	9,5
Am2L75	2	11	10	10	12	10
Am2L75	3	11	10	9	10	10
Am2L75	4	11	10	13	11	15
Am2L75	5	11	11	12	12	10,5
Am2L50	1	12,5	10,5	10	13	13
Am2L50	2	12,5	11	9	12,5	11
Am2L50	3	14	11	10,5	10,5	10
Am2L50	4	10	10	9,5	11	10,5
Am2L50	5	11	8	10,5	9	10
Am2L25	1	12	11	12,5	9,5	11
Am2L25	2	12	11	9	11	11
Am2L25	3	9	10,5	11	12,5	10
Am2L25	4	12	11	11	11,5	11
Am2L25	5	13	12	11	11	10,5

Anexos F – Dados das cinco plântulas de *Z. mays*, mantidas em cada repetição, durante os 14 dias de teste, com as amostras do lodo incorporado ao substrato

Amostra	Repetições	Comprimento máximo da raiz (CM)				
		1	2	3	4	5
Controle	1	39	36	41	41	37,5
Controle	2	36	35,5	36,5	37	37
Controle	3	48	49	45	41,5	42,5
Controle	4	37,5	42	35,5	41	37,5
Controle	5	34,5	52	38,5	40	42,5
Am1L lod 100	1	43	34	37,5	37,5	47,5
Am1L lod 100	2	42,5	45	48,5	39	46,5
Am1L lod 100	3	44	47,5	47	30,5	35,5
Am1L lod 100	4	38,5	37	37,5	42	39
Am1L lod 100	5	42	47	42	38,5	45,5
Am1L lod 75	1	33,5	42,5	36,5	35,5	51,5
Am1L lod 75	2	41	37,5	36	40	38
Am1L lod 75	3	47	42	42,5	36	47
Am1L lod 75	4	53,5	56	55,5	50,5	42,5
Am1L lod 75	5	38	37	38	42	39,5
Am1L lod 50	1	42,5	52	48	45	47,5
Am1L lod 50	2	40	43,5	42,5	47	44,5
Am1L lod 50	3	38	43	45	30	46,5
Am1L lod 50	4	51	50,5	46,5	44,5	39,5
Am1L lod 50	5	48	53	44	44	51,5
Am1L lod 25	1	43	35,5	37	38	40,5
Am1L lod 25	2	41	49,5	48,5	43,5	41
Am1L lod 25	3	46,5	36	34	33	40
Am1L lod 25	4	47,5	42	44,5	44	38,5
Am1L lod 25	5	25,5	50	46,5	41,5	47
Am2L lod 100	1	36,5	38	40,5	34	42
Am2L lod 100	2	40	39	41,5	47	41
Am2L lod 100	3	40,5	40,5	47,5	44	44,5
Am2L lod 100	4	30,5	38,5	44,5	36,5	36,5
Am2L lod 100	5	44	48	41	43,5	44
Am2L lod 75	1	38	37	38,5	33	33
Am2L lod 75	2	42,5	45,5	44	47	45
Am2L lod 75	3	44	50,5	36,5	47	42
Am2L lod 75	4	36	38,5	36	34,5	34
Am2L lod 75	5	38	34,5	37,5	40	39
Am2L lod 50	1	45,5	47	49	60	52,5
Am2L lod 50	2	40,5	40	45,5	44	45
Am2L lod 50	3	46	40	41	47	49,5
Am2L lod 50	4	50	44	41	46	43,5
Am2L lod 50	5	44	48	49	47	45
Am2L lod 25	1	36,5	33	37,5	38	43
Am2L lod 25	2	35,5	35,5	34,5	36	31
Am2L lod 25	3	49	42,5	45,5	52	46
Am2L lod 25	4	40	36,5	31,5	42	35,5
Am2L lod 25	5	32	38	36	47,5	35,5

continua

Comprimento médio da raiz (CRM)						continuação
	Repetições	1	2	3	4	5
Controle	1	17	20,5	23	18	22,5
Controle	2	25	20,5	22	27,5	16
Controle	3	29,5	26	34	27	24
Controle	4	20	24	23	26	24
Controle	5	25	32	29	26	23,5
Am1L lod 100	1	28,5	23	24,5	27,5	24,5
Am1L lod 100	2	29,5	34	26,5	22	25
Am1L lod 100	3	33	32	33	13,5	17
Am1L lod 100	4	28,5	28	24,5	27	27,5
Am1L lod 100	5	26,5	33	29	24,5	37
Am1L lod 75	1	23	18	20	22,5	27
Am1L lod 75	2	20	23,5	23,5	23	17
Am1L lod 75	3	15,5	20,5	20	17,5	17
Am1L lod 75	4	29	30	34	36	25,5
Am1L lod 75	5	23	22	26,5	15,5	20,5
Am1L lod 50	1	20,5	27,5	31	32,5	32
Am1L lod 50	2	29	26	22	29	24
Am1L lod 50	3	23,5	25,5	29	17,5	27
Am1L lod 50	4	34,5	30,5	27	31,5	21
Am1L lod 50	5	36,5	26,5	31	23	32
Am1L lod 25	1	30,5	21	26,5	23	19,5
Am1L lod 25	2	20,5	22,5	24,5	24,5	27
Am1L lod 25	3	14	21	14,5	17,5	20
Am1L lod 25	4	32	27,5	30,5	30	25
Am1L lod 25	5	15	34,5	26	13	24
Am2L lod 100	1	20	28	29,5	28,5	29,5
Am2L lod 100	2	21	23	25	28,5	22,5
Am2L lod 100	3	20	25,5	23	30,5	24,5
Am2L lod 100	4	17	16	25	20	17,5
Am2L lod 100	5	24,5	31	26	21,5	28
Am2L lod 75	1	18	21	18,5	18	20,5
Am2L lod 75	2	30	25	23,5	25	32,5
Am2L lod 75	3	25	29,5	25,5	36	25,5
Am2L lod 75	4	14,5	20	16,5	15	15
Am2L lod 75	5	19,5	17	26,5	28,5	26
Am2L lod 50	1	24	33	32	29	34
Am2L lod 50	2	27	23	27,5	30,5	33,5
Am2L lod 50	3	18	15,5	13,5	20	15,5
Am2L lod 50	4	26	25	28,5	35	26,5
Am2L lod 50	5	24	24	20,5	21,5	20,5
Am2L lod 25	1	17,5	16	17	13,5	16,5
Am2L lod 25	2	21	15,5	23	18	17
Am2L lod 25	3	26,5	30	36	29,5	29
Am2L lod 25	4	20,5	25,5	18,5	18	20
Am2L lod 25	5	20	24	25	23	25

continuação

Comprimento aéreo da plântula (CAP)						
	Repetições	1	2	3	4	5
Controle	1	9,5	10	9,5	9	9,5
Controle	2	10,5	10,5	10,5	10	8,5
Controle	3	10	10,5	11	10	10,5
Controle	4	10	10,5	10	9	10
Controle	5	9	11	10	11	11
Am1L lod 100	1	11	8,5	10	10	10,5
Am1L lod 100	2	11,5	11	11	11,5	11,5
Am1L lod 100	3	12	11	11,5	8,5	11
Am1L lod 100	4	10	10	10	10,5	10
Am1L lod 100	5	11	11	11,5	10,5	11
Am1L lod 75	1	9,5	10	10	11	10,5
Am1L lod 75	2	11	10,5	10,5	10,5	10
Am1L lod 75	3	10	12,5	10	10	10,5
Am1L lod 75	4	10,5	11,5	11	10	12
Am1L lod 75	5	9	10	9,5	9	9,5
Am1L lod 50	1	10	10,5	10	10,5	10,5
Am1L lod 50	2	10	11	10,5	9,5	10
Am1L lod 50	3	10	9,5	9	9	10,5
Am1L lod 50	4	11,5	11	12	10,5	11
Am1L lod 50	5	11,5	11,5	11	10,5	10
Am1L lod 25	1	11	9,5	10	10	10
Am1L lod 25	2	10	10	9,5	9,5	10
Am1L lod 25	3	9	10,5	10,5	10,5	11,5
Am1L lod 25	4	10,5	10	9	10	10,5
Am1L lod 25	5	7	11	10,5	10,5	11
Am2L lod 100	1	10,5	10,5	10,5	10,5	10
Am2L lod 100	2	9	10,5	10	10,5	11
Am2L lod 100	3	10	11	10,5	10,5	10,5
Am2L lod 100	4	9,5	10,5	10,5	11,5	11
Am2L lod 100	5	12	11	10	9,5	10,5
Am2L lod 75	1	10	11	10	10,5	9,5
Am2L lod 75	2	9,5	7,5	10	10	10
Am2L lod 75	3	9,5	11	10,5	11	10
Am2L lod 75	4	9,5	10	10,5	8,5	9,5
Am2L lod 75	5	11	10	12,5	10,5	10
Am2L lod 50	1	10	10,5	10,5	11	11
Am2L lod 50	2	10,5	10	10,5	10,5	11
Am2L lod 50	3	9,5	10,2	10,5	8,5	10,5
Am2L lod 50	4	10	10,5	10	10,5	12,5
Am2L lod 50	5	9,5	10	10,5	10,5	10
Am2L lod 25	1	10,5	11,5	9,5	7,5	11
Am2L lod 25	2	11,5	9,5	10	9,5	10
Am2L lod 25	3	11	10	10,5	9,5	10
Am2L lod 25	4	9,5	9,5	10	9,5	10
Am2L lod 25	5	9,5	10	9,5	11	9

continua

						conclusão
Comprimento do caule (CC)						
	Repetições	1	2	3	4	5
Controle	1	35,5	34,5	35,5	32,5	35,5
Controle	2	37	38	38,5	37	29,5
Controle	3	35,5	38	39,5	38,5	38
Controle	4	35	38	39,5	33,5	37
Controle	5	30,5	40	35,5	39,5	34,5
Am1L lod 100	1	39	41	35	38	37,5
Am1L lod 100	2	41	41,5	45	42	42
Am1L lod 100	3	43	41	41,5	28,5	40
Am1L lod 100	4	37,5	35	36,5	37	32
Am1L lod 100	5	40	39,5	41,5	39,5	40
Am1L lod 75	1	36	33	36	39,5	36
Am1L lod 75	2	38	39	38,5	37	35,5
Am1L lod 75	3	35	38	36,5	35,5	37
Am1L lod 75	4	39,5	40	42	38,5	40
Am1L lod 75	5	29,5	35,5	36	34,5	36,5
Am1L lod 50	1	31	41	37	38,5	39
Am1L lod 50	2	36,5	40	40	35	39
Am1L lod 50	3	37	34,5	39,5	31,5	37
Am1L lod 50	4	41	41,5	38,5	36,5	44,5
Am1L lod 50	5	39,5	41,5	40	37,5	37,5
Am1L lod 25	1	40,5	35	36,5	37	38,5
Am1L lod 25	2	37	36,5	33,5	35	37,5
Am1L lod 25	3	32	36,5	38,5	38,5	40
Am1L lod 25	4	37,5	38,5	38	38,5	37,5
Am1L lod 25	5	25,5	40,5	38	38,5	42
Am2L lod 100	1	39,5	40	39,5	39,5	35,5
Am2L lod 100	2	29,5	37,5	34,5	38	39
Am2L lod 100	3	37,5	40,5	38	38,5	40
Am2L lod 100	4	32	33,5	34,5	35	38
Am2L lod 100	5	42	40	37	32,5	36
Am2L lod 75	1	35,5	37,5	37	38	33
Am2L lod 75	2	36	32,5	35,5	37,5	36,5
Am2L lod 75	3	34,5	41	37,5	40	38
Am2L lod 75	4	32,5	37,5	38,5	29,5	35
Am2L lod 75	5	36,5	34	40	38	35,5
Am2L lod 50	1	35,5	37	39	39	41
Am2L lod 50	2	39,5	38,5	38	38,5	39,5
Am2L lod 50	3	34,5	37,5	30,5	38	30
Am2L lod 50	4	38,5	37	38,5	38,5	38
Am2L lod 50	5	33,5	37	38	38,5	34,5
Am2L lod 25	1	37	38,5	33	32	37,5
Am2L lod 25	2	40,5	37,5	38	35	37
Am2L lod 25	3	40,5	36	38,5	34,5	35,5
Am2L lod 25	4	32,5	33,5	34,5	35,5	37
Am2L lod 25	5	31,5	35,5	36,5	38,5	36

Anexo G – Biomassa fresca e seca, por repetição, das raízes e da parte aérea de *Z. mays*, expostos as amostras de elutriato

Amostra	Repetição	Raiz (g)		Aérea (g)	
		Fresca	Seca	Fresca	Seca
Controle	1	13,50	1,35	15,70	1,69
Controle	2	11,16	1,36	16,00	1,19
Controle	3	11,51	1,06	16,42	1,44
Controle	4	11,12	1,17	17,14	1,18
Controle	5	11,20	1,11	16,37	1,37
Am1L100	1	11,26	1,02	17,25	0,51
Am1L100	2	13,98	1,29	21,38	0,92
Am1L100	3	11,31	1,19	18,64	0,44
Am1L100	4	9,21	1,01	15,82	0,63
Am1L100	5	8,88	0,97	16,48	0,86
Am1L75	1	9,42	1,13	15,77	0,96
Am1L75	2	10,48	0,98	15,77	1,36
Am1L75	3	10,26	1,02	14,77	1,04
Am1L75	4	8,98	1,13	18,38	1,07
Am1L75	5	11,17	1,25	15,58	1,16
Am1L50	1	9,77	1,22	18,14	1,12
Am1L50	2	11,90	1,04	17,69	1,23
Am1L50	3	11,31	1,11	15,59	1,12
Am1L50	4	12,13	1,11	20,28	1,04
Am1L50	5	9,27	1,06	18,44	1,00
Am1L25	1	13,09	1,17	17,93	1,12
Am1L25	2	11,58	1,23	17,13	1,11
Am1L25	3	11,75	1,29	17,88	1,23
Am1L25	4	12,05	1,14	17,63	1,06
Am1L25	5	9,87	0,97	16,77	1,20
Am2L100	1	12,49	1,18	19,84	1,26
Am2L100	2	9,38	1,04	15,70	1,24
Am2L100	3	11,33	1,11	18,69	1,19
Am2L100	4	9,29	0,91	14,01	1,00
Am2L100	5	11,47	1,20	17,04	1,38
Am2L75	1	10,16	0,96	15,08	1,19
Am2L75	2	10,23	0,97	14,21	1,56
Am2L75	3	12,08	1,18	18,06	1,06
Am2L75	4	10,82	1,31	15,85	1,38
Am2L75	5	12,90	1,16	17,17	1,49
Am2L50	1	12,62	1,15	18,43	1,38
Am2L50	2	10,63	1,12	18,94	1,31
Am2L50	3	9,62	1,29	16,37	1,46
Am2L50	4	12,80	1,26	17,51	1,22
Am2L50	5	13,38	1,24	18,41	1,28
Am2L25	1	10,06	1,41	13,81	1,48
Am2L25	2	13,48	1,33	17,17	1,42
Am2L25	3	11,24	1,20	16,70	1,36
Am2L25	4	9,36	1,01	12,83	1,58
Am2L25	5	9,27	0,97	13,47	1,48

Anexo H – Biomassa fresca e seca, por repetição, das raízes e da parte aérea de *Z. mays*, expostos as amostras do lodo incorporado ao substrato

Amostra	Repetição	Raiz (g)		Aérea (g)	
		Fresca	Seca	Fresca	Seca
Controle	1	13,50	1,35	15,70	1,77
Controle	2	11,16	1,36	16,00	2,00
Controle	3	11,51	1,06	16,42	1,72
Controle	4	11,12	1,17	17,14	1,75
Controle	5	11,20	1,11	16,37	1,78
Am1L lod 100	1	11,26	1,02	17,25	2,05
Am1L lod 100	2	13,98	1,29	21,38	2,31
Am1L lod 100	3	11,31	1,19	18,64	2,21
Am1L lod 100	4	9,21	1,01	15,82	1,78
Am1L lod 100	5	8,88	0,97	16,48	1,75
Am1L lod 75	1	9,42	1,13	15,77	1,78
Am1L lod 75	2	10,48	0,98	15,77	1,69
Am1L lod 75	3	10,26	1,02	14,77	1,61
Am1L lod 75	4	8,98	1,13	18,38	2,24
Am1L lod 75	5	11,17	1,25	15,58	1,90
Am1L lod 50	1	9,77	1,22	18,14	2,04
Am1L lod 50	2	11,90	1,04	17,69	1,85
Am1L lod 50	3	11,31	1,11	15,59	1,60
Am1L lod 50	4	12,13	1,11	20,28	2,16
Am1L lod 50	5	9,27	1,06	18,44	1,88
Am1L lod 25	1	13,09	1,17	17,93	1,88
Am1L lod 25	2	11,58	1,23	17,13	1,87
Am1L lod 25	3	11,75	1,29	17,88	2,03
Am1L lod 25	4	12,05	1,14	17,63	1,85
Am1L lod 25	5	9,87	0,97	16,77	1,79
Am2L lod 100	1	12,49	1,18	19,84	1,97
Am2L lod 100	2	9,38	1,04	15,70	1,72
Am2L lod 100	3	11,33	1,11	18,69	2,03
Am2L lod 100	4	9,29	0,91	14,01	1,56
Am2L lod 100	5	11,47	1,20	17,04	1,89
Am2L lod 75	1	10,16	0,96	15,08	1,61
Am2L lod 75	2	10,23	0,97	14,21	1,51
Am2L lod 75	3	12,08	1,18	18,06	2,03
Am2L lod 75	4	10,82	1,31	15,85	1,96
Am2L lod 75	5	12,90	1,16	17,17	1,86
Am2L lod 50	1	12,62	1,15	18,43	2,00
Am2L lod 50	2	10,63	1,12	18,94	2,03
Am2L lod 50	3	9,62	1,29	16,37	1,84
Am2L lod 50	4	12,80	1,26	17,51	1,90
Am2L lod 50	5	13,38	1,24	18,41	1,99
Am2L lod 25	1	10,06	1,41	13,81	1,85
Am2L lod 25	2	13,48	1,33	17,17	1,80
Am2L lod 25	3	11,24	1,20	16,70	1,88
Am2L lod 25	4	9,36	1,01	12,83	1,56
Am2L lod 25	5	9,27	0,97	13,47	1,52