

# Efeito da aplicação direta de lamas tratadas na habitabilidade do solo: ensaios de evitamento com *Eisenia fetida*

## Effect of direct application of treated sludge on soil habitability: avoidance assays with *Eisenia fetida*

Daniel Migueis<sup>1</sup>, Paula Rodrigues<sup>1</sup>, Marta Roboredo<sup>1,2</sup> & João Ricardo Sousa<sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup> Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal

<sup>2</sup> Centro de Química (CQ), UTAD, Vila Real, Portugal

<sup>3</sup> Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), UTAD, Vila Real, Portugal

(\*E-mail: jricardo@utad.pt)

<https://doi.org/10.19084/rca.28557>

### RESUMO

A crescente urbanização e industrialização promoveram um considerável aumento da produção de lamas de depuração que, no âmbito de uma economia circular, importa reciclar e valorizar sendo a aplicação ao solo uma alternativa viável, de baixo custo, devido ao respetivo valor fertilizante. A aplicação direta destes resíduos poderá potenciar riscos para a qualidade do solo uma vez que, em termos legais, para além dos elementos potencialmente tóxicos e microrganismos patogénicos, não considera os efeitos de outros potenciais contaminantes existentes. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da aplicação direta de lamas de depuração, em diferentes doses (0, 2, 5, 10, 15, 30 e 60 t/ha), na habitabilidade do solo, através da avaliação do comportamento da *Eisenia fetida*, com base em testes definidos pelas ISO. Os resultados obtidos evidenciam ausência de efeitos no comportamento da *E. fetida* em todas as doses estudadas ( $p > 0,05$ ), com uma percentagem de fuga negativa a variar entre os 40 e 60%, comparativamente ao controlo. Estes resultados estarão relacionados com os baixos teores de metais pesados e com a melhoria das condições físico-químicas do solo, resultando numa maior atratividade por parte do modelo biológico usado. Outros estudos, com outros solos, bioindicadores e métodos com maior tempo de exposição, serão necessários para validar a tendência observada.

**Palavras-chave:** lamas, *Eisenia fetida*, evitamento, poluição, solo.

### ABSTRACT

The increasing urbanization and industrialization have promoted a considerable expansion in the production of sewage sludge, which it is important to recycle and valorise in the circular economy context, with soil application being a viable, low-cost alternative, due to its high fertilizing value. Tough the legal policies considered limit fixed quantities of heavy metals and pathogenic microorganisms, the direct application of these residues may potentiate risks to soil quality, since it does not consider the effects of different contaminants presence. The objective of this work is to evaluate the effect of direct application of sewage sludge, at different application rates (0, 2, 5, 10, 15, 30 and 60 t/ha) on soil habitability, based on rapid tests defined by ISO guidelines, through the evaluation of the behaviour of *Eisenia fetida*. The results reveal no effects on the behaviour of *E. fetida* in all treatments studied with sewage sludge ( $p > 0.05$ ), with a percentage of negative avoidance varying between 40 and 60%, compared to the control group. These results are related to the low levels of heavy metals and to the improvement of the physical-chemical conditions of the soil, resulting in an increase attractiveness of the biological model used. Other studies, with other soils, bioindicators type and methodologies, with longer exposure time, will be necessary to validate the observed aptness.

**Keywords:** sewage sludge, *Eisenia fetida*, avoidance, pollution, soil.

## INTRODUÇÃO

As lamas de depuração, devido às suas características físico-químicas, com elevados teores de matéria orgânica, macro- e micronutrientes (Boundjabi & Chenchouni, 2021), apresentam um elevado valor fertilizante, representando uma alternativa de baixo custo na melhoria dos aspetos da fertilidade do solo, contribuindo para uma economia circular e maior sustentabilidade dos recursos naturais.

Apesar da valorização agrícola ser uma perspetiva desejável, mesmo quando as respetivas características o permitam, a aplicação destes materiais ao solo não está isenta de riscos devido à presença de contaminantes variados (Lamastra *et al.*, 2018). Como forma de prevenir potenciais efeitos negativos sobre a qualidade do solo, um conjunto alargado de legislação, relativo a leis, normas e códigos de boas práticas, define valores limite de aplicação, de acordo com critérios químicos relacionados com os teores de metais pesados (DR, 2009) e/ou de nitratos e fósforo nestes materiais, negligenciando potenciais efeitos ecotoxicológicos de outro tipo de contaminantes existentes.

A utilização de testes que incluam o comportamento de um determinado modelo biológico, como a espécie *Eisenia fetida*, constituem metodologias sensíveis, simples e de fácil execução que, quando usadas como complemento de outro tipo de análises, ajudam a uma melhor compreensão do risco que a aplicação deste tipo de resíduos apresenta ao nível da qualidade e saúde do solo, facto que constitui o objetivo do presente trabalho.

## MATERIAL E MÉTODOS

Na realização do trabalho foram aplicadas as normas para o estudo de substâncias químicas (ISO, 2008), com alterações ao nível da matriz edáfica usada para este tipo de ensaio. Ao contrário do solo artificial proposto, baseado numa mistura de turfa, caulino e areia, foi usado um solo natural, sujeito a pousio, testado como alternativa em trabalhos similares (Sousa & Roboredo, 2021). Para efeitos de preparação da matriz para o ensaio de evitamento, o solo foi seco em condições naturais e crivado a 4 mm. Uma toma composta foi, posteriormente, colhida de forma aleatória e crivada a 2 mm para

caraterização físico-química inicial, sendo alguns parâmetros apresentados no Quadro 1.

**Quadro 1** - Características físico-químicas do solo e das lamas de depuração em estudo

Parâmetro	Solo	Lama
pH H <sub>2</sub> O	5,0	7,9 *
CE (dS/m)	-	1,15 *
H <sub>2</sub> O (g/kg)	-	800,1 *
Mat. Org. (g/kg)	10,0	745,0 **
N total (g/kg)	-	55,7 **
P total (g/kg)	17,5	21,4 **
CTC <sub>efetiva</sub> (cmol <sub>c</sub> /kg)	1,82	-
Cu (mg/kg)	0,21	181,1 **
Zn (mg/kg)	0,30	651,6 **
Fe (mg/kg)	108,5	38112 **
Mn (mg/kg)	18,0	225 **
Ni (mg/kg)	-	20,7 **
Cd (mg/kg)	-	0,71 **
Pb (mg/kg)	-	104,5 **
Cr (mg/kg)	-	54,3 **
Hg (µg/kg)	-	2,48 **
Areia (g/kg)	860,0	-
Limo (g/kg)	63,0	-
Argila (g/kg)	77,0	-
Classe de textura	areno-franco	-

\* valores referentes ao material original

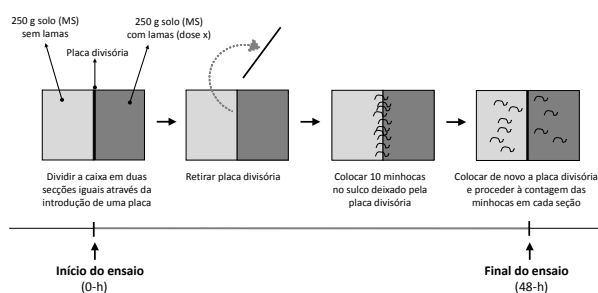
\*\* valores referentes à matéria seca do material

O valor inicial de pH (KCl 1M) do solo foi corrigido para valores de  $6,0 \pm 0,5$ , por adição de CaCO<sub>3</sub> (pa). A capacidade máxima de retenção de água (CMRA) foi determinada e o teor de humidade ajustado para valores de 40% da CMRA, antes da sua utilização. Os teores de humidade e pH em KCl 1M do solo foram determinados no início e final do ensaio.

As lamas de depuração, recolhidas na estação de tratamento da empresa Águas do Norte (AdN), localizada em Vila Real, foram sujeitas a um tratamento secundário, seguido de uma estabilização por digestão anaeróbia e desidratação. Uma toma composta foi amostrada após a fase de desidratação para efeitos de estudo e caraterização físico-química, sendo os resultados apresentados no Quadro 1.

Para o desenvolvimento do estudo de comportamento-fuga foram seguidas e aplicadas as normas ISO 17512-1, para minhocas da espécie *E. fetida* (ISO, 2008). Um total de 300 indivíduos adultos, com clitelo desenvolvido e massa entre os 300 a 600 mg, foram selecionados e colocados em condições controladas de temperatura ( $20 \pm 2$  °C), fotoperíodo (16-h de luz e 8-h de escuro), intensidade de luz, arejamento e humidade, durante 24 a 48 horas, antes do início do ensaio, para efeitos de aclimação.

Para o ensaio de comportamento-fuga com *E. fetida* (Figura 1), foram estudados sete tratamentos de lamas de depuração, equivalentes às doses de 0, 2, 5, 10, 15, 30 e 60 toneladas de material fresco por hectare (t/ha), tendo-se como referência a quantidade máxima de N (170 kg/ha), correspondente à dose de 15 t/ha.



**Figura 1** - Ensaio de evitamento com *E. fetida* para os diferentes tratamentos estudados, com e sem lamas de depuração tratadas.

Para cada tratamento foram consideradas três repetições, num total de 21 recipientes-teste de PVC (24\*30\*5 cm), perfurados para facilitar trocas gasosas e tapados para retenção da humidade, impedindo a fuga das minhocas. Cada recipiente-teste foi dividido em duas secções iguais, através da introdução de uma placa divisória de PVC e cada secção preenchida com iguais quantidades de solo teste (250 g) (peso seco, ps), com lama de depuração equivalente à dose estudada, e o controlo, sem lama de depuração. Após preenchimento, a placa divisória foi removida e 10 minhocas, previamente selecionadas, peso médio de 450 mg, e lavadas, foram colocadas na linha divisória entre secções e deixadas em contato durante um período de 48-h, em condições laboratoriais idênticas à fase de aclimação. No final do período de exposição, a placa

divisória foi colocada na zona central do recipiente-teste e realizada a contagem dos indivíduos em cada secção comparada, solo-teste e solo-controlo. Minhocas localizadas na interface das secções foram consideradas como 0,5 indivíduos. Após contagem do número de organismos em cada secção, com e sem lama de depuração, foi determinada a percentagem de fuga (%Fg) de acordo com a equação 1:

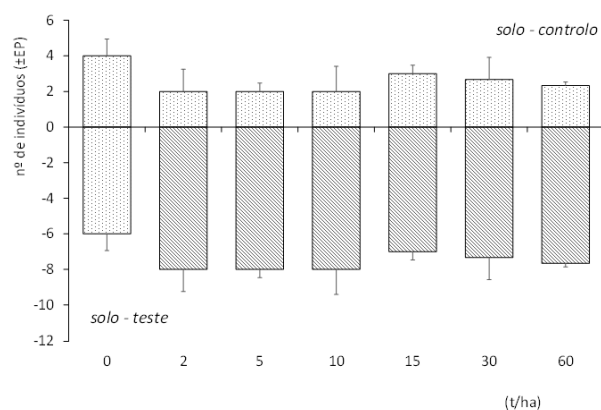
$$Fg (\%) = [(n_c - n_t) / N] * 100 \quad (\text{Eq.1})$$

em que  $n_c$ ,  $n_t$  e  $N$  são referentes ao número de minhocas no solo-controlo, solo-teste e número total de minhocas por recipiente-teste, respetivamente. Valores positivos (+) indiciam evitamento enquanto valores negativos (-) uma não reposta ou atração à presença de lamas (ISO, 2008). Os dados obtidos foram sujeitos a uma análise de normalidade e homogeneidade, pelos testes de Shapiro-Wilk e Barlett, respetivamente. Posteriormente, os dados foram sujeitos a uma ANOVA a um fator, seguida do teste de Tukey para um grau de probabilidade de  $p \leq 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 48 h de exposição, não foi observada mortalidade das minhocas (<10%) nos diferentes tratamentos estudados cumprindo-se, assim, um dos critérios de validação da metodologia experimental (ISO, 2008). Acrescenta-se que, no teste dual do grupo controlo, as minhocas não revelaram preferência significativa ( $p > 0,05$ ) entre as secções comparadas, apresentando uma distribuição média de 50%, respeitando o intervalo de valores normativos (40 a 60%), para este tipo tratamento (Figura 2).

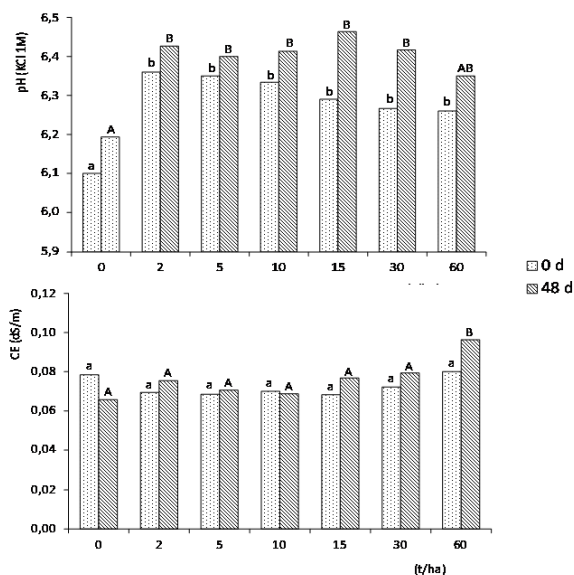
Estes resultados refletem as condições de habitabilidade favoráveis do solo usado neste estudo corroborando, uma vez mais, as observações descritas por Sousa & Roboredo (2021). Em relação ao efeito da aplicação de lamas, os resultados do teste de comportamento evidenciam uma não resposta em todos os tratamentos com lamas (solo-teste), com estes a registar um maior número de indivíduos em relação ao controlo (solo-teste) (figura 2). Estes resultados traduziram-se numa percentagem de fuga negativa para todos os tratamentos com



**Figura 2** - Ensaio de fuga: distribuição dos indivíduos (média±EP), pelas secções com solo teste e controlo, em cada recipiente-teste, para as doses de lamas estudadas.

lamas, com os valores a variar entre os -60 a -40%, sem diferenças significativas entre si ( $p>0,05$ ) (dados não revelados). Moreira *et al.* (2008), em estudos similares, avaliando a função habitat do solo, em resultado da aplicação de vários resíduos orgânicos, incluindo lamas digeridas, também observaram uma ausência de resposta no solo-teste, com as minhocas a revelarem maior preferência pelos solos fertilizados. Esta maior atratividade das minhocas está relacionada com as condições decorrentes da aplicação de matéria orgânica ao solo, mais favoráveis para o respetivo desenvolvimento. O aumento da concentração de nutrientes, como P e Ca (Edwards & Bohlen, 1996), ou do pH, que no presente trabalho revelou aumentos significativos ( $p<0,05$ ) em relação ao solo-controlo, para a maioria dos tratamentos estudados. Pelo contrário, a condutividade elétrica (CE) não sofreu variação significativa (Figura 3).

O caráter alcalinizante da lama poderá ainda apresentar um efeito mitigante na toxicidade potencial dos metais pesados veiculados, devido à potencial redução da respetiva solubilidade (Sukreeyapongse *et al.*, 2002), mesmo apesar dos teores de metais pesados (Quadro 1), inferiores aos valores impostos legalmente (Decreto-Lei nº 276/2009), não ultrapassando as quantidades anuais. Estas condições terão também contribuído para a ausência de efeitos de toxicidade na *E. fetida*, mesmo nas doses mais elevadas (Figura 2).



**Figura 3** - Valores de pH (KCl 1M) e CE (dS/m) para os tratamentos estudados. (barras, relativas ao tempo 0d e 48d, seguidas da mesma letra minúscula e maiúscula, respetivamente, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Dunnett, para 5% de probabilidade).

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que, para o tipo de lamas e solo estudados, a respetiva aplicação, nas doses testadas, não provocou efeitos negativos na *E. fetida*. Importa reforçar que estes estudos terão de ser mais alargados, incluindo outras matrizes edáficas, bioindicadores e ensaios de reprodução, com maior tempo de exposição, de modo a melhor avaliar o efeito da aplicação de resíduos orgânicos na qualidade e saúde do solo.

**Financiamento:** Este trabalho foi financiado no âmbito do projeto SoilRec4+Health - Soil recover for a healthy food and quality of life (NORTE-01-0145-FEDER000083).

**Agradecimento:** João Ricardo Sousa, agradece a colaboração do CITAB/UTAD, no âmbito do projeto SoilRec4+Health - Soil recover for a healthy food and quality of life.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boundjabi, S. & Chencouni, H. (2021) - On the sustainability of land applications of sewage sludge: how to apply the sewage in order to improve soil fertility and increase crop yield? *Chemosphere*, vol. 282, art. 131122. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131122>
- DR (2009) - *Decreto-Lei nº 276/2009, sobre a aplicação de lamas de depuração no solo*. Ministério do Ambiente do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Diário da República, 1ª série – 192-2 de outubro de 2009.
- Edwards, C.A. & Bohlen, P.J. (1996) - *Biology and Ecology of Earthworms*. 3th ed. London, Chapman & Hall. 426 p.
- ISO (2008) - *Soil quality 2008. Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour- Part 1: Test with earthworms (Eisenia fetida and Eisenia andrei)*. ISO 17512-1. International Organization for Standardization, Genève.
- Lamastra, L.; Nicoleta, A.S. & Trevisan, M. (2018) - Sewage sludge for sustainable agriculture: contaminants contents and potential use as fertilizer. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, vol. 5, art. 10. <https://doi.org/10.1186/s40538-018-0122-3>
- Moreira, R.; Sousa, S.P. & Canhoto, C. (2008) - Biological testing of digested sewage sludge and derived composts. *Bioresource Technology*, vol. 99, n. 17, p. 8382-8389. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.02.046>
- Sousa, J.R. & Roboredo, M. (2021) - Avaliação da qualidade do solo de uma exploração mineira, com base num teste de evitamento com *Eisenia fetida*. In: *Encontro Nacional da Sociedade Portuguesa de Ciência do Solo*, Portalegre, Portugal.
- Sukreeyapongse, O.; Holm, P.E.; Stroble, B.W.; Supamard, P.; Magid, J. & Hansen, H.C.B.H. (2002) - pH-dependent release of cadmium, copper, and lead from natural and sludge amended soil. *Journal of Environmental Quality*, vol. 31, n. 6, p. 1901-1909. <https://doi.org/10.2134/jeq2002.1901>