



FCTUC FACULDADE DE CIÊNCIAS
E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

DEPARTAMENTO DE
ENGENHARIA MECÂNICA

Avaliação de fitotoxicidade através de *Lepidium sativum* no âmbito de processos de compostagem

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia do Ambiente na Especialidade de Tecnologia e Gestão do Ambiente

Autor

Sara Rodrigues Santos Belo

Orientadores

José Carlos Miranda Góis

Margarida Maria João de Quina

Júri

Presidente	Professor Doutor António Rui de Almeida Figueiredo Professor Associado da Universidade de Coimbra
Orientadores	Professora Doutora Margarida Maria de Quina Professora Auxiliar da Universidade de Coimbra Professor Doutor José Carlos Miranda Góis Professor Auxiliar da Universidade de Coimbra
Vogal	Professora Doutora Rosa Maria de Oliveira Quinta Ferreira Professora Associada da Universidade de Coimbra

Coimbra, Setembro 2011

Agradecimentos

A realização desta dissertação marca o fim de uma importante etapa da minha vida. Gostaria de agradecer a todos aqueles que contribuíram de forma decisiva para a sua concretização.

Ao professor Doutor José Carlos Miranda Góis e professora Doutora Margarida Maria de Quina (Orientador e Co-orientadora), pela acessibilidade, cordialidade e simpatia demonstrada.

À professora Doutora Margarida Maria de Quina um agradecimento especial pela orientação, disponibilidade, palavras de incentivo, comentários e sugestões, que me facultou durante todas as fases desta dissertação.

À Engenheira Micaela Soares pela disponibilidade, paciência, colaboração e ajuda na execução de todo o trabalho laboratorial.

Por último, manifesto um profundo reconhecimento à minha família e amigos pelo apoio incondicional ao longo destes anos.

Resumo

O principal objectivo deste estudo foi avaliar a fitotoxicidade de vários materiais potencialmente recicláveis através de compostagem, durante processos de compostagem e em compostos em fase de maturação. Para isso, o efeito dos extractos aquosos dos materiais/compostos na germinação de sementes e crescimento das raízes primárias de agrião de jardim (*Lepidium sativum*) foi medido e o índice de germinação (GI, um produto relativo das sementes germinadas e comprimento das raízes) foi calculado. Este índice para além de demonstrar como o composto/material afecta a produção vegetal pode ser usado como indicador de maturação do composto.

Os resultados mostram que alguns materiais, como aparas de relva e lamas de ETAR podem ser considerados livres de fitotoxinas (GI>80%), mas outros materiais, como chorume de galinha, cinzas volantes, palha de trigo e serradura, podem ser muito fitotóxicos. Alguns destes materiais foram valorizados através de compostagem em dois conjuntos de experiências laboratoriais. As misturas iniciais incluíram casca de batata industrial e aparas de relva, e adicionalmente serradura ou casca de arroz como agente *bulking*. Os resultados obtidos mostraram que as misturas iniciais determinaram o perfil de fitotoxicidade bem como o período de maturação. A avaliação da fitotoxicidade nos quatro processos com serradura revelou que após 81 dias, o nível máximo de GI atingido foi de 60%. Nos processos com casca de arroz, os perfis ao longo do tempo foram maiores, e em dois casos, os compostos podem ser considerados moderadamente fitotóxicos após o 39º dia, com valores de GI de 67 e 72%. Em todos os processos os GI mais favoráveis foram obtidos em compostos, cujas misturas iniciais tinham maiores proporções de agentes *bulking*. A análise dos compostos em fase de maturação mostrou que os compostos com serradura, como agente *bulking*, requereram mais tempo de maturação que os compostos com palha de trigo. No entanto após o 111º dia, todos os compostos apresentaram níveis similares de fitotoxicidade e podem ser considerados maturados.

Palavras-chave: Fitotoxicidade, *Lepidium sativum*, Índice de germinação, Compostagem.

Abstract

The main goal of this study was to evaluate the phytotoxicity of several materials potentially recycled by composting, throughout composting processes and compost in maturation phase. For that, the effect water extracts obtained from material/compost on seed germination and primary root growth of garden cress (*Lepidium sativum*) were measured and the germination index (GI, a product of relative seed germination and root elongation) was calculated. This index in addition to showing how the compost/material affects crop production can be used as an indicator of maturation of the compost.

The results showed that some raw materials, like grass clipping and sewage sludge can be considered free of phytotoxins (GI>80%), but other such as chicken manure, fly ash, wheat straw and sawdust, can be very phytotoxic. Some of these materials were valorized through composting in two sets of laboratory experiments. The blends tested included industrial potato peels, grass clipping and additionally sawdust or rice husk as bulking agents. The results obtained showed that initial compositions determined the profiles of phytotoxicity and the period of maturation as well. The phytotoxicity assessment in four experiments with sawdust revealed that after 81 days, the GI attained the maximum level of 60%. In the experiments with rice husk, GI profiles along time were higher, and in two cases, composts can be considered moderately phytotoxic after 39th day, with GI of 67% and 72%. In all processes, the more favorable GI values were obtained in composts with higher proportions of bulking agent in their initial mixtures. The analysis of composts in maturation stage showed that the use of sawdust as bulking agent, required more time of maturation than composts with wheat straw. However, after 111 days, all composts showed similar levels of phytotoxicity and can be considered mature.

Keywords Phytotoxicity, *Lepidium sativum*, Germination index, Composting.

Índice

Índice de Figuras	vi
Índice de Tabelas	viii
Acrónimos	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Enquadramento e motivação.....	1
1.2. Objectivos	2
1.3. Organização do trabalho	2
2. Enquadramento teórico.....	3
2.1. Gestão de resíduos sólidos	3
2.2. Processo de compostagem	4
2.3. Aplicação do composto em solos agrícolas	10
2.4. Avaliação de fitotoxicidade	13
3. Estado da arte.....	17
4. Metodologias e procedimentos experimentais	21
4.1. Plano de amostragem	21
4.2. Procedimentos experimentais	21
4.2.1. Determinação do teor de humidade	21
4.2.2. Preparação do extracto aquoso	22
4.2.3. Testes de germinação.....	22
4.2.4. Determinação do pH e da condutividade eléctrica	24
4.2.5. Análise elemental de C, H, N e S	24
4.2.6. Espaço livres de ar.....	25
4.3. Análise estatística dos resultados.....	25
4.3.1. Análise de <i>outliers</i>	25
4.3.2. Análise de variância (ANOVA)	26
4.3.3. Análise dos índices de germinação.....	28
5. análise e discussão dos resultados	30

5.1. Avaliação de fitotoxicidade de materiais com potencial para valorização através de compostagem	30
5.2. Avaliação de fitotoxicidade durante a monitorização de processos de compostagem.....	37
5.2.1. Processos de compostagem com serradura.....	38
5.2.2. Processos de compostagem com casca de arroz.....	48
5.3. Avaliação de fitotoxicidade de compostos em fase de maturação.....	55
6. Conclusões e trabalho futuro	60
Referências bibliográficas	63
Anexo A - Métodos de avaliação de fitotoxicidade com plantas	67
Anexo B - Análise estatística da reprodutibilidade dos testes de germinação	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 – Decomposição química ao longo do processo de compostagem termofílica (Fonte: adaptado de Trautmann e Krasny, 1997)	6
Figura 2.2 – Modelo estrutural de ácidos húmicos (Kickuth, 1972)	7
Figura 4.1 – Figura ilustrativa da raíz de <i>Lepidium sativum</i> (Fonte: Trautmann e Krasny, 1997).....	23
Figura 4.2 – Réplica de um (a) branco de controlo, e de um (b) extracto; num teste de germinação com <i>Lepidium sativum</i> , após 48 h de incubação.....	23
Figura 4.3 – Descrição da informação que pode ser obtida nos diagramas de caixa-e-bigodes.....	26
Figura 5.1 – Número médio de sementes germinadas, N_{SG} , nos extractos de materiais com potencial para valorização através de compostagem.....	32
Figura 5.2 – Comprimentos das raízes, L_R , nas réplicas dos extractos dos materiais com potencial para valorização através de compostagem.....	33
Figura 5.3 – Índice de germinação, GI dos materiais com potencial para valorização através de compostagem.....	36
Figura 5.4 – Perfil de temperatura (°C), percentagem volumétrica de oxigénio nos reactores (% O_2) e o seu caudal de entrada, dos compostos (a) $R_{SE,1}$, (b) $R_{SE,2}$, (c) $R_{SE,3}$ e (d) $R_{SE,4}$.	39
Figura 5.5 – Evolução do (a) pH e da (b) condutividade eléctrica (CE) nos extractos aquosos dos compostos com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$) ao longo dos processos de compostagem.....	41
Figura 5.6 – Evolução da (a) razão C/N; (b) do teor de humidade, nos compostos com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$).	42
Figura 5.7 – Número médio de sementes germinadas, N_{SG} , nos extractos dos compostos com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$), ao longo do tempo.....	44
Figura 5.8 – Comprimento das raízes, L_R , nas réplicas dos extractos dos compostos com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$) ao longo do tempo.....	45
Figura 5.9 – Evolução do $GI_{médio}$ durante os processos de compostagem dos compostos com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$)	46

Figura 5.10 – Perfil de temperatura da mistura e ambiente (°C), percentagem volumétrica de oxigénio nos reactores (% O ₂) e o seu caudal de entrada de ar, dos reactores (a) R _{CA,1} , (b) R _{CA,2} , (c) R _{CA,3} e (d) R _{CA,4}	49
Figura 5.11 – Evolução do (a) teor de humidade e do (b) <i>free air space</i> , nos compostos com casca de arroz (R _{CA,1} a R _{CA,4}).	49
Figura 5.12 – Número médio de sementes germinadas, N _{SG} , nos extractos dos compostos com casca de arroz (R _{CA,1} a R _{SE,4}), ao longo do tempo.	50
Figura 5.13 – Comprimento das raízes, L _R , nas réplicas dos extractos dos compostos com casca de arroz (R _{CA,1} a R _{CA,4}) ao longo do tempo.	51
Figura 5.14 – Índice de germinação (GI _{médio}), ao longo dos processos de compostagem com casca de arroz (R _{CA,1} - a R _{CA,4}).	52
Figura 5.15 – Número médio de sementes germinadas, N _{SG} , nos extractos dos compostos em fase de maturação (C1 a C3).....	56
Figura 5.16 – Comprimento das raízes, L _R , nas réplicas dos extractos dos compostos em estágio de maturação (C1 a C3).....	57
Figura 5.17 – Índice de germinação (GI _{médio}), em percentagem, dos três compostos (C1 a C3), em estágio de maturação.....	58

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 – Qualificações dos níveis de fitotoxicidade.	16
Tabela 3.1 – Resumo de estudos sobre a avaliação de fitotoxicidade através de <i>Lepidium sativum</i>	18
Tabela 4.1 – Metodologia utilizada no teste de germinação de sementes.	22
Tabela 4.2 – Classificação qualitativa de fitotoxicidade utilizada neste trabalho.	24
Tabela 4.3 – Resultados experimentais com factor único.	27
Tabela 4.4 – Resumo da ANOVA com factor único.	28
Tabela 5.1 – Parâmetros físico-químicos de materiais com potencial para valorização através de compostagem.	31
Tabela 5.2 – Resumo da ANOVA relativa ao N_{SG} , dos materiais com potencial para valorização através de compostagem.	33
Tabela 5.3 – Resumo da ANOVA, relativo ao L_R entre réplicas de cada material com potencial para valorização através de compostagem.	34
Tabela 5.4 – Resumo da ANOVA, relativa ao L_R nos extractos dos materiais com potencial para valorização através de compostagem.	34
Tabela 5.5 – Parâmetros RSG, RRG e GI, calculados pelo método I e GI médios calculados pelo método II, para os materiais com potencial de valorização através de compostagem. Resumo da ANOVA aos GI médios.	35
Tabela 5.6 – Composição e parâmetros físico-químicos das misturas de compostagem e condições operatórias do SHR, dos processos com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$).	38
Tabela 5.7 – Resumo de ANOVA, relativo ao L_R entre réplicas de cada extracto dos compostos com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$).	45
Tabela 5.8 – Índice de germinação, GI médio, ao longo dos quatro processos de compostagem com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$).	46
Tabela 5.9 – Composição das misturas de compostagem, parâmetros físico-químicos e condições operatórias do SHR, dos processos com casca de arroz ($R_{CA,1}$ a $R_{CA,4}$).	48
Tabela 5.10 – Resumo ANOVA, relativo ao L_R das réplicas dos extractos dos compostos com casca de arroz ($R_{CA,1}$ a $R_{SE,4}$).	51

Tabela 5.11 – Índice de germinação ($GI_{\text{médio}}$), percentagem relativa de germinação de sementes (RSG) e percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG) dos processos de compostagem ($R_{CA,1}$ a $R_{CA,4}$).	52
Tabela 5.12 – Resumo ANOVA aos $GI_{\text{médio}}$ obtidos ao longo do tempo nos processos de compostagem com casca de arroz ($R_{CA,1}$ a $R_{CA,4}$).....	53
Tabela 5.13 – Composição da mistura para compostagem, alguns parâmetros físico-químicos e condições operatórias do SHR, dos compostos em fase de maturação (C_1 a C_3).	55
Tabela 5.14 – Caracterização físico-química dos compostos C_1 a C_3 , em termos de pH e CE.	56
Tabela 5.15 – Resumo ANOVA, do, entre extractos dos compostos (C_1 a C_3).....	56
Tabela 5.16 – Resumo ANOVA, relativo ao L_R entre as réplicas dos extractos dos compostos em fase de maturação (C_1 a C_3).....	57
Tabela 5.17 – Resumo ANOVA, relativo ao L_R nos extractos dos compostos em fase de maturação (C_1 a C_3).....	58
Tabela 5.18 – Índice de germinação ($GI_{\text{médio}}$) dos três compostos em estágio de maturação (C_1 a C_3).	58

ACRÓNIMOS

- AF – Ácidos fúlvicos
AH – Ácidos húmicos
ANOVA – Análise de variância
AR – Aparas de relva
CA – Casca de arroz
CE – Condutividade eléctrica
CG – Chorume de galinha
COT – Carbono Orgânico Total
CTC – Capacidade de Troca Catiónica
CV – Cinzas volantes
 C_{total} – Carbono total
ETAR – Estação de Tratamento de Águas Residuais
FAS – *Free air space* (espaços livres com ar)
GI – *Germination Index* (índice de germinação)
 $GI_{médio}$ – *Germination Index* (índice de germinação médio)
LA – Lamas de ETAR
 L_R – Comprimento das raízes
 \bar{L}_R – Comprimento médio das raízes
MO – Matéria orgânica
mo – Microorganismos
 N_{SG} – Número de sementes germinadas
 \bar{N}_{SG} – Média aritmética do número de sementes germinadas
 N_{total} – Azoto total
PT – Palha de trigo
 P_{total} – Fósforo total
RRG – *Relative Root Growth* (comprimento relativo das raízes)
RSG – *Relative Seed Germination* (germinação relativa de sementes)
RSU – Resíduos Sólidos Urbanos
SE – Serradura
SHR – *Self-heating Reactor* (reactor de auto-aquecimento)
SOUR – *Specific Oxigem Uptake Rate* (taxa específica de consumo de oxigénio)
T – Temperatura
UE – União Europeia
-

1. INTRODUÇÃO

1.1. Enquadramento e motivação

O crescente aumento da produção de resíduos, decorrente do desenvolvimento dos países industrializados e os problemas de gestão que estes colocam, nomeadamente ao nível da contaminação de solos, ar e água, têm conduzido à tomada de diversas acções por parte da União Europeia. Portugal encontra-se numa situação idêntica à UE, e como tal, aplicações de diversas tecnologias de tratamento de resíduos têm vindo a ser implementadas.

Os resíduos orgânicos biodegradáveis constituem uma fracção significativa dos resíduos sólidos produzidos, e desta forma, torna-se importante encontrar soluções económicas e ambientalmente viáveis para os mesmos. Neste âmbito, o processo de compostagem tem suscitado grande interesse nas últimas décadas, uma vez que permite humificar a fracção orgânica biodegradável e produzir como produto final, um composto estabilizado, higienizado e rico em nutrientes, que pode ser utilizado como fertilizante ou correctivo de solo. De facto, a aplicação de composto no solo pode aumentar o teor de matéria orgânica e de nutrientes, melhorando a estrutura do solo (Gajalakshmi e Abbasi, 2007), e conseqüentemente beneficiando o desenvolvimento das plantas. Na prática, os benefícios do composto nos solos devem ser aproveitados, não só devido à problemática dos resíduos, mas também porque as condições climáticas e orográficas de Portugal associadas a práticas de cultivo desajustadas conduziram ao empobrecimento dos solos agrícolas nacionais em matéria orgânica (*MO*), nomeadamente no centro e sul do país. A utilização intensiva e muitas vezes descontrolada de fertilizantes químicos, tem vindo a criar problemas de poluição, nomeadamente nas águas subterrâneas. Deste modo, torna-se imprescindível contrariar esta tendência, por exemplo, pelo aproveitamento de resíduos orgânicos (Gonçalves, 2005). Porém, também o composto, se não apresentar a qualidade adequada, ao invés de beneficiar o desenvolvimento das plantas, pode prejudicá-las, causando-lhes problemas ao nível da fitotoxicidade.

Tendo em conta estas considerações, a principal motivação para a realização deste trabalho resulta da vontade de contribuir de uma forma positiva e acrescida para o conhecimento na área da fitotoxicidade, no âmbito de processo de compostagem.

1.2. Objectivos

O principal objectivo deste estudo é a avaliação da fitotoxicidade provocada por extractos aquosos obtidos de diferentes materiais potencialmente valorizáveis por compostagem e de diferentes misturas durante a evolução do processo, ao nível da germinação e do crescimento das raízes de *Lepidium sativum* (agrião de jardim). Para classificar qualitativamente o nível de fitotoxicidade, foi calculado o índice de germinação (GI), que, para além de demonstrar como o composto ou material afecta a produção vegetal, segundo alguns autores pode ainda ser usado como indicador de maturação do composto (Gao, *et al.*, 2010; Gómez-Brandón, *et al.*, 2008; Helfrich, *et al.*, 1998; Walter *et al.*, 2006).

1.3. Organização do trabalho

O presente trabalho divide-se em 5 Capítulos. No primeiro Capítulo, no qual se inclui esta secção, é indicada uma introdução ao problema e são definidos os objectivos do estudo. No segundo Capítulo é feito um enquadramento do tema, onde é abordada de forma breve a gestão de resíduos em Portugal e o processo de compostagem, destacando-se os métodos e critérios de qualidade do composto e a discussão dos pressupostos envolvidos. Ainda neste capítulo são apresentadas as implicações da aplicação do composto em solos agrícolas e são resumidas as causas e os métodos encontrados na literatura para avaliar e classificar a fitotoxicidade. No Capítulo 3 é incluído o estado da arte que sistematiza alguns estudos com objectivos análogos ao presente trabalho. As metodologias utilizadas na elaboração do presente trabalho são descritas no Capítulo 4. No Capítulo 5 é apresentada a discussão dos resultados experimentais e finalmente, no Capítulo 6 são destacadas as conclusões finais do estudo desenvolvido nesta dissertação, tendo sido ainda incluídas sugestões para investigações futuras.

2. ENQUADRAMENTO TEÓRICO

A revolução industrial e subsequente desenvolvimento tecnológico contribuíram fortemente para a elevada degradação do meio ambiente, que se verifica ainda nos dias de hoje. Contudo, ao longo de várias décadas tem-se verificado por parte dos países industrializados, um esforço para garantir um desenvolvimento sustentável no sentido de conciliar o crescimento económico com a protecção do ambiente. Neste sentido, torna-se essencial gerir os recursos numa perspectiva de minimizar as emissões negativas para o ambiente, através do melhoramento da eficiência, protegendo simultaneamente o ambiente e a saúde humana.

2.1. Gestão de resíduos sólidos

Actualmente, a geração de grandes quantidades de resíduos sólidos representa muitas vezes um grave problema ambiental, que requer uma gestão adequada, de modo a minimizar os impactes ambientais negativos ao nível da qualidade do ar, dos recursos hídricos e do solo. Para alcançar este objectivo, as entidades competentes devem promover alternativas ao nível da gestão integrada de resíduos sólidos.

A recente directiva quadro de gestão de resíduos, Decreto-Lei n.º 73/2011, de 17 de Junho, que procede à terceira alteração ao Decreto-Lei n.º 178/2006, de 5 de Setembro e que transpõe a Directiva n.º 2008/98/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 19 de Novembro, procede à alteração de diversos regimes jurídicos na área dos resíduos. De acordo com esta directiva, o princípio fundamental da política ambiental rege-se na hierarquia de preferências dos destinos possíveis para cada tipo de resíduos, a qual elege como alternativa ideal a estratégia da prevenção e redução da produção de resíduos, seguindo-se a reutilização, a reciclagem, a valorização, e finalmente eliminação através da deposição em aterro. Esta última opção deve ser reservada aos casos em que não é viável adoptar as restantes formas de valorização. Contudo, o aterro é ainda o destino mais frequente para os resíduos sólidos urbanos, mesmo representando alguns impactes

negativos para o ambiente e sociedade, nomeadamente, a ocupação de grandes áreas, a imagem negativa ao nível paisagístico, a libertação de odores desagradáveis e a produção de lixiviados que podem atingir os solos e o meio aquático circundante. No sentido de reduzir a quantidade de resíduos com este destino foi elaborada a estratégia para a redução dos resíduos urbanos biodegradáveis destinados a aterros, referida no artigo 8.º do Decreto-Lei n.º 183/2009, de 10 de Agosto, que incentiva a recolha selectiva de biorresíduos¹, tendo em vista a sua compostagem e digestão anaeróbia; o tratamento dos biorresíduos em moldes que satisfaçam um elevado nível de protecção do ambiente; e utilização de materiais ambientalmente seguros produzidos a partir de biorresíduos, designadamente composto.

Desta forma, nas últimas décadas, o processo de compostagem tem suscitado grande interesse, tanto para os municípios como para diversas indústrias, uma vez que permite reciclar a fracção orgânica biodegradável dos resíduos obtendo-se um composto que pode ser utilizado como fertilizante ou correctivo de solo.

Esta tecnologia de tratamento de resíduos é duplamente favorável, no sentido de que à vertente produtiva da agricultura é associada uma vertente ecológica, preservando a qualidade do ambiente e a conservação dos recursos, tornando a agricultura sustentável (Gonçalves, 2005).

2.2. Processo de compostagem

O processo de compostagem é um método bem estabelecido e considerado atractivo para estabilizar a fracção orgânica dos resíduos urbanos desde os finais da década de 1960 (Gajalakshmi e Abbasi, 2007). Após esta data, este processo perdeu importância como método de correctivo do solo, uma vez que a qualidade dos resíduos se tornou inadequada para o processo de compostagem, deixando de haver mercado para o produto final. A partir de 1990 até à actualidade, a compostagem voltou a ganhar um novo interesse devido ao seu baixo impacto ambiental e aos novos desenvolvimentos da tecnologia.

¹ Biorresíduos é definido como resíduos biodegradáveis de espaços verdes, nomeadamente jardins, parques, campos desportivos, bem como resíduos biodegradáveis alimentares e de cozinha das habitações, das unidades de fornecimento de refeições e de retalho e os resíduos similares das unidades de transformação de alimentos (Decreto-Lei 73/2011).

O processo de compostagem pode ser definido como a decomposição biológica de matéria orgânica (*MO*) em condições aeróbias, que envolve a sua mineralização e humificação, permitindo produzir um produto final estável (composto), livre de organismos patogénicos e sementes de plantas daninhas (Haug, 1993; Bernal, *et al.*, 2009), bem como a redução do volume de resíduos. Como resultado da actividade dos microorganismos (*mo*) forma-se um composto húmico estável, bem como vapor de água, dióxido de carbono, amoníaco, entre outros gases. O processo de compostagem é globalmente uma reacção exotérmica, que pode ser traduzida pela Equação (2.1).



A libertação de calor em sistemas descontínuos dá origem a um perfil de temperatura que permite distinguir as diversas fases que ocorrem durante o processo (Trautmann e Krasny, 2009), a partir do qual se podem distinguir duas fases principais, a fase de bioxidação e a fase de acabamento (*curing*) (Bernal *et al.*, 2009). A primeira fase (fase bioxidação) pode ser dividida em três etapas, denominadas por fase mesofílica, termofílica e de arrefecimento. O processo inicia-se com uma a fase mesofílica durante a qual ocorre a colonização dos resíduos por microorganismos (*mo*) mesófilos, tais como bactérias e fungos mesófilos, que crescem entre os 10 e os 40 °C e quebram as moléculas facilmente biodegradáveis, como açúcares, aminoácidos, proteínas, etc. A acção oxidante destes *mo* eleva rapidamente a temperatura dos resíduos e dura entre 1 a 3 dias (Gajalakshmi e Abbasi, 2007; Bernal *et al.*, 2009). Quando a temperatura ultrapassa os 40 °C, inicia-se a segunda fase, a fase termofílica, na qual os *mo* mesófilos são substituídos pelos termófilos, nomeadamente os actinomicetes, bactérias e fungos termófilos, que degradam gorduras, celulose, hemicelulose e alguma lenhina e são simultaneamente destruídos os organismos patogénicos e as sementes (Trautmann e Krasny, 2009). Esta é a fase mais activa da compostagem, pois ocorre o pico de degradação da matéria orgânica fresca e conseqüentemente o pico de consumo de oxigénio (Gajalakshmi e Abbasi, 2007; Bernal *et al.*, 2009). Após esta fase, verifica-se o decréscimo da temperatura, fase de arrefecimento, pois a actividade microbiana diminui, devido à exaustão dos substratos orgânicos degradáveis. Nesta fase, os *mo* mesófilos recolonizam os resíduos e degradam os restantes açúcares, celulose e hemicelulose. Durante estas 3 etapas, é consumido oxigénio

e os componentes orgânicos são degradados essencialmente em CO_2 e NH_3 . Quando a temperatura atinge a temperatura ambiente, inicia-se a fase de maturação do composto, na qual os *mo* mesófilos degradam muito lentamente os compostos orgânicos complexos, tais como a lenhina, ocorrendo a humificação da matéria orgânica e formando-se um composto maturado com características húmicas (Gajalakshmi e Abbasi, 2007; Bernal *et al.*, 2009). Nesta fase o material torna-se escuro, amorfo com aspecto de húmus e com odor a terra húmida (Trautmann e Krasny, 1997). A Figura 2.1. ilustra o nível de decomposição química ao longo da compostagem termofílica.

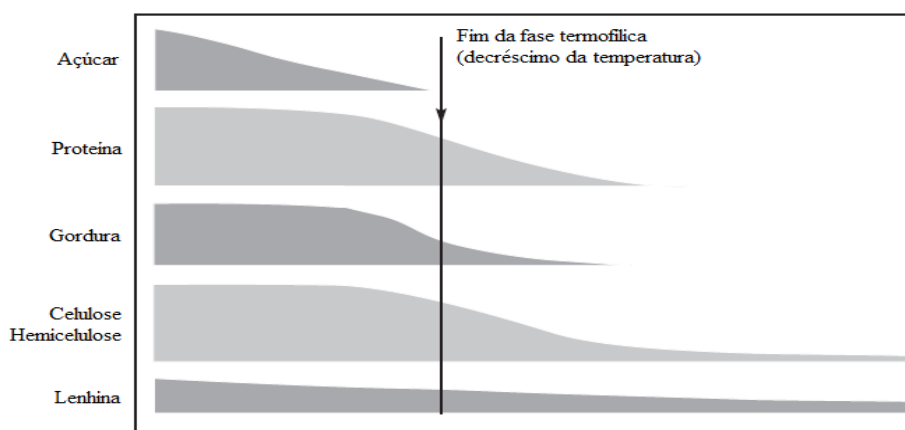


Figura 2.1 – Decomposição química ao longo do processo de compostagem termofílica (Fonte: adaptado de Trautmann e Krasny, 1997)

Durante o processo de compostagem os principais processos que ocorrem são a mineralização e a humificação da matéria orgânica (Gajalakshmi e Abbasi, 2007). A taxa de degradação da *MO* diminui gradualmente à medida que avança o processo, devido à redução de fontes de carbono e reacções de síntese de novos complexos polimerizados e compostos orgânicos (humificação), que prevalecem à mineralização durante a fase de maturação. A fracção humificada do composto é a mais importante, dado que é responsável pela introdução de *MO* no solo, uma vez que esta é a fracção mais resistente à degradação microbiana (Bernal *et al.*, 2009). Durante a humificação da matéria orgânica, a fracção lentamente biodegradável dos resíduos orgânicos (hemicelulose, celulose e quitina), bem como a fracção mais resistente (lenhina e linhocelulose) são parcialmente decompostas pelos *mo*. Segundo diversos autores, a lenhina parcialmente decomposta constitui a estrutura base das substâncias húmicas (Gonçalves, 2005 cit. Kononova, 1996,

Stevenson, 1982, Mustin, 1987). A humificação da *MO* durante o processo de compostagem é revelada pela formação de ácidos húmicos com elevado peso molecular, características aromáticas, presença de oxigénio, azoto e outros grupos funcionais (Bernal *et al.*, 2009).

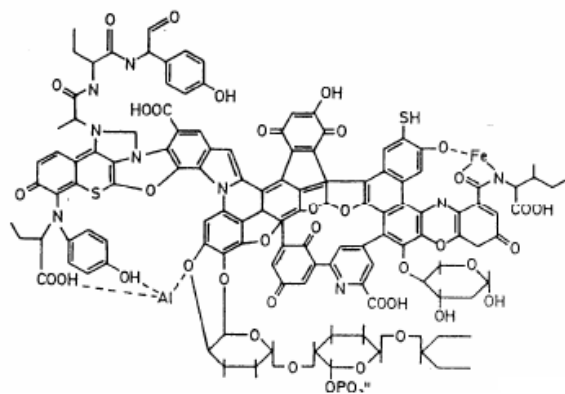


Figura 2.2 – Modelo estrutural de ácidos húmicos (Pharmawerk Weinbohla GmbH, 2006 cit. Kickuth, 1972)

O processo de compostagem é ecologicamente complexo, pois é influenciado por uma ampla gama de variáveis ambientais (Tiquia *et al.*, 1996). A eficiência do processo de compostagem é reflectida pela transformação do substrato ao longo do processo e está condicionada pela natureza da *MO* e da sua degradabilidade, emissão de gases, duração do processo e oxigénio requerido (Bernal *et al.*, 2009). Assim, o controlo de alguns parâmetros, nomeadamente os que dependem da constituição da mistura inicial para compostagem, tais como a densidade *bulk*, o espaço livre com ar (*free air space*- FAS), granulometria, teor de nutrientes, pH, razão C/N, bem como parâmetros que dependem da gestão do processo, como a temperatura, teor de humidade e oxigénio, demonstram ser factores fundamentais para otimizar o processo de compostagem e a qualidade final do composto, uma vez que determinam as condições óptimas para o desenvolvimento microbiano e degradação da *MO* (Bernal *et al.*, 2009 e Gao *et al.*, 2010a). O controlo destes factores é simultaneamente benéfico ao ambiente proporcionando uma tecnologia mais limpa, em grande parte, pela minimização das perdas de azoto, que podem ocorrer durante o processo, por volatilização do amoníaco, lixiviação ou desnitrificação (que resulta do desenvolvimento de micro zonas anaeróbias) (Bernal *et al.*, 2009).

Assim, para obtenção de um composto de elevada qualidade é necessário compreender as transformações ocorridas no material (Gómez-Brandón *et al.*, 2008), de

modo a garantir algumas propriedades no composto final. A qualidade do composto condiciona o tipo de utilização, pelo que deve ter-se em conta qual o fim a que se destina o composto e o custo de produção (Moral *et al.*, 2009). O nível de qualidade atingido é especialmente importante quando o composto é comercializado ou utilizado em culturas de elevado valor, tais como plantas de vaso, culturas alimentares ou plantas sensíveis (Rynk *et al.*, 1992). Neste âmbito, a estabilidade e maturação do composto são essenciais para que a sua aplicação agrícola seja bem sucedida (Gómez-Brandón *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2000; Gao *et al.*, 2010a).

As propriedades que conferem qualidade ao composto podem ser diversas. Contudo, quando um composto atinge um grau elevado de estabilidade e maturação, que implicam um teor da *MO* estável e a ausência de componentes fitotóxicos e patogénicos às plantas e/ou animais é considerado um composto de qualidade (Bernal *et al.*, 2009). Os termos “estabilidade do composto” e “maturação do composto” são frequentemente usados na literatura científica e por vezes como sinónimos. Porém, apesar de correlacionados são conceptualmente diferentes e cada um deles refere-se a propriedades específicas nos compostos (Bernal *et al.*, 2009; Delgado *et al.*, 2010). Uma medida bem aceite de “estabilidade do composto” é a taxa ou grau de decomposição da matéria orgânica, expresso em função da actividade microbiana (Wu *et al.*, 2000; Batista e Batista, 2007; Gómez-Brandón, *et al.*, 2007; Gao *et al.*, 2010a; Bernal, *et al.*, 2009). A definição de “maturação do composto” é mais elusiva, mas geralmente representa uma condição organo-química que indica o grau de decomposição dos compostos orgânicos fitotóxicos produzidos durante a fase activa da compostagem e a ausência de patogénicos e sementes de ervas daninhas viáveis (Gao *et al.*, 2010a; Wu *et al.*, 2000; Bernal, *et al.*, 2009), ou seja, reflecte o “valor” agrícola do composto em relação ao seu efeito sobre o solo e as plantas, em resposta à sua aplicação (Sánchez-Monedero *et al.*, 2002).

Wu *et al.* (2000) compararam métodos de estabilidade e maturação em resíduos de comida e demonstraram que geralmente a estabilidade e maturação podem ser correlacionados. No entanto, devido à heterogeneidade das matérias-primas e do processo de compostagem, alguns compostos estáveis podem precisar de mais tempo para quebrar as substâncias fitotóxicas e o composto maturado pode ter uma taxa de respiração relativamente alta. A maturação é influenciada pela estabilidade relativa do composto, mas também reflecte o impacto do composto e de outras propriedades químicas nas plantas

(Bernal *et al.*, 2009). Contudo, a ambiguidade e incerteza relativamente aos conceitos de composto estável e grau de maturação devem-se a um número de factores que têm de ser considerados, designadamente a variedade dos sistemas de compostagem utilizando populações distintas de microrganismos; a composição heterogénea e a natureza não previsível dos substratos orgânicos; a variação de aplicações, potenciais utilizações e a composição dos produtos; e a introdução de tecnologia complexa nos sistemas de compostagem.

Actualmente, têm sido descritos na literatura científica numerosos critérios e métodos para avaliar a maturação e estabilidade do composto (Jiménez e Garcia, 1989; Cabañas-Vargas *et al.*, 2005). No entanto, ainda não foi estabelecido nenhum método eficaz e fiável, universalmente aceite para medir o grau relativo de maturação do composto (Wu *et al.*, 2000). O facto de um composto ser de natureza muito heterogénea torna difícil estabelecer um único método que possa ser universalmente usado para esta finalidade (Jiménez e Garcia, 1989). Assim, a utilização de dois ou mais parâmetros e índices que abordem diferentes propriedades dos materiais pode dar uma imagem mais completa do grau de transformação do composto (Bernal *et al.*, 2009).

Os critérios de maturação, utilizados para descrever a qualidade do composto podem ser baseados em diferentes propriedades: físicas, químicas e biológicas, incluindo a actividade microbiana (Bernal *et al.*, 2009).

Os parâmetros físicos, nomeadamente a cor, o odor, a elevação de temperatura, a textura e a estrutura podem ser usados como auxílio. No entanto, estes critérios não são muito adequados para avaliar a maturação do composto, pois apenas dão uma ideia geral do estágio de compostagem, e muito pouca informação sobre o grau de decomposição (Bernal *et al.*, 2009; Rynk *et al.*, 1992). Ainda assim, um composto maturado deve apresentar uma cor castanha escura, não apresentar odor, ou odor semelhante a terra e a sua temperatura deve ser próxima da temperatura ambiente (Rynk, *et al.* 1992).

Os parâmetros químicos incluem a mineralização do azoto, o teor em carbono orgânico, a quantidade e qualidade da *MO*, a humificação, a capacidade de troca catiónica, o consumo de oxigénio, poluentes, etc (Gajalakshmi e Abbasi, 2007; Bernal *et al.*, 2009). Para analisar estas propriedades, os métodos químicos, abrangem entre outros, a determinação da razão C/N na fase sólida e em extractos aquosos, a análise dos compostos azotados, o grau de humificação da *MO*, o pH, a condutividade eléctrica (CE), a

capacidade de troca catiónica (CTC), os constituintes químicos orgânicos, a concentração do ião amónio, de nitratos e nitritos (Bernal *et al.*, 2009; Batista e Batista, 2007; Gajalakshmi e Abbasi, 2007; Fang e Wong, 1999).

Os métodos biológicos incluem parâmetros de fitotoxicidade, determinados por testes de germinação (incluindo a avaliação das raízes), crescimento (incluindo a avaliação da massa seca da parte aérea e por vezes das raízes) ou combinação de ambos; testes de ecotoxicidade; e parâmetros da actividade microbiana, determinada por testes tais como a actividade enzimática, ATP e biomassa microbiana (Bernal *et al.*, 2009; Batista e Batista, 2007; Gómez-Brandón *et al.*, 2008).

Fang e Wong (1999) referem (cit. Chanyasak e Kubota, 1981 e Zucconi *et al.*, 1981) que apesar de existirem muitos métodos para avaliar a maturação do composto, a razão C/N e o índice de germinação (GI) são os que mais reflectem a maturação do composto, em diferentes matérias-primas.

Alguns países da UE como a Alemanha, Áustria, Bélgica, Dinamarca, Espanha, Finlândia, França, Holanda, Itália e Suécia, têm padrões de qualidade para compostos. Contudo, não se verifica uniformidade quer a nível dos parâmetros indicados, quer a nível dos limites propostos. Em Portugal e até à data não existe qualquer tipo de regulamentação específica para compostos, tendo sido apenas elaborados alguns documentos referentes ao assunto. O mais recente é uma “proposta de norma técnica sobre qualidade e utilizações do composto”, elaborado por Gonçalves em 2005 (Cunha-Queda, 2007). Actualmente, há uma necessidade urgente de regulamentação nacional neste âmbito, e/ou harmonização de tais critérios a nível internacional.

2.3. Aplicação do composto em solos agrícolas

A agricultura intensiva leva ao esgotamento progressivo de *MO*, frequentemente associado a uma redução da actividade biológica no solo, que conduz à deterioração das propriedades físicas, resultando numa redução geral da fertilidade no solo (Gajalakshmi e Abbasi, 2007). Actualmente, não se colocam dúvidas quanto aos benefícios da presença da *MO* nas características e estrutura do solo e no desenvolvimento das plantas (Flores-Delgadillo *et al.*, 2011), devendo-se estes benefícios fundamentalmente à fracção

estabilizada da *MO* do solo (substâncias húmicas) proveniente da degradação dos resíduos orgânicos (Gonçalves, 2005). Deste modo, através da aplicação de diversos tipos de *MO* no solo, nomeadamente o produto final do processo de compostagem, pode reverter-se este processo negativo de empobrecimento da fertilidade dos solos.

A aplicação de composto estabilizado e maturado nos solos pode modificar as suas propriedades a médio-longo prazo (5-10 anos), sendo a sua extensão dependente do clima, do tipo de solo e da sua gestão (Gajalakshmi e Abbasi, 2007). Através da sua aplicação, a fertilidade do solo pode ser afectada pela modificação das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Relativamente às propriedades físicas, podem ocorrer alterações ao nível da densidade, estrutura, resistência à compressão e retenção de água do solo. Quanto às propriedades químicas, podem ocorrer modificações ao nível da capacidade de armazenamento dos nutrientes orgânicos das plantas, na capacidade de troca catiónica com o solo e na sua capacidade tampão (Gajalakshmi e Abbasi, 2007).

Dos inúmeros efeitos benéficos frequentemente referidos na literatura, que a *MO* estabilizada pode ter sobre o sistema solo-planta, o mais destacado é o aumento da porosidade. Esta propriedade é de facto um dos factores físicos mais determinantes para a qualidade do solo, uma vez que aumenta a sua capacidade de retenção de água, melhorando também a sua permeabilidade e o arejamento necessário às raízes das plantas, sendo minorada a tendência à compactação ao longo do desenvolvimento vegetal. A melhoria da estrutura dos solos é também muito referenciada, devido à formação de agregados estáveis. Outros benefícios evidentes são a protecção dos solos, contra a erosão do vento e da água, bem como a melhoria da sua capacidade tampão, protegendo o solo de variações bruscas de pH. Ao longo da mineralização da *MO*, os nutrientes são incorporados no solo e devido ao aumento da capacidade de troca catiónica do solo, os nutrientes são armazenados e disponibilizados gradualmente ao longo do ciclo vegetativo das culturas, reduzindo deste modo, as perdas por lixiviação. A *MO* promove a capacidade de adsorção de cationes, protegendo as plantas da toxicidade causada pelos metais pesados e excesso de sais e adsorve ou promove a degradação de produtos tóxicos e pesticidas, minimizando a migração dos contaminantes no meio circundante. A riqueza energética e em nutrientes minerais do composto, permitem o sustento de uma numerosa e diversificada população microbiana, que contribui para a melhoria directa ou indirecta da capacidade de absorção de nutrientes por parte das plantas, nomeadamente o azoto, promovendo o

nível de mineralização do solo, bem como a capacidade de absorção dos componentes naturais do solo. Do ponto de vista da fisiologia da planta, a fracção húmica e fúlvica influencia a permeabilidade das membranas celulares, o transporte activo dos iões, a nutrição mineral bem como a síntese proteica; protege-as de algumas doenças provocadas por microorganismos patogénicos e aumenta a sua resistência à secura, devido à produção de enzimas pela planta que regulam a sua pressão osmótica. (Gajalakshmi e Abbasi, 2007; Gonçalves, 2005; Moral *et al.*, 2009; Flores-Delgadillo *et al.*, 2011; Bernal *et al.*, 2009; Piccolo, 2002)

Todavia, a aplicação agrícola de produtos de compostagem imaturos, pode pelo contrário, causar severos danos na germinação e no desenvolvimento vegetal e ainda representar alguns riscos ao nível ambiental. Quando é aplicado um composto instável e imaturo no solo agrícola é induzida uma elevada actividade microbiana e o composto continua a decompor-se rapidamente, reduzindo drasticamente as concentrações de oxigénio no solo, e bloqueando o azoto disponível, dando origem a graves deficiências de azoto nas plantas. Neste contexto, são produzidos produtos e gases odoríferos, tais como amoníaco e outras substâncias, como compostos fenólicos e ácidos gordos de baixo peso molecular (Bernal *et al.*, 2009) e é favorecida a presença de organismos patogénicos (Fang e Wong, 1999), tóxicos para as plantas (fitotoxicidade). A maior parte dos compostos orgânicos presentes nos compostos imaturos são solúveis em água, desta forma, podem constituir um problema ambiental para o solo ou as águas superficiais (Batista e Batista, 2007). Vários estudos têm reportado que os compostos podem também apresentar características que podem ser consideradas como factores limitantes no uso agrícola, tais como a presença de componentes perigosos (eg. metais pesados), propriedades físicas pobres ou um excesso de sais (Moral *et al.*, 2009). Neste sentido, mediante os riscos de contaminação associados aos compostos imaturos, a adopção de uma medida exacta da maturidade do composto é portanto fundamental, uma vez que um composto maturado não prejudica a produção vegetal, não produz odores desagradáveis, nem representa um risco para o ambiente.

2.4. Avaliação de fitotoxicidade

A avaliação de fitotoxicidade de um composto é muito importante, dado que permite determinar se existem no material substâncias que possam inibir a germinação de sementes, o crescimento das raízes ou o desenvolvimento das plantas (Trautmann e Krasny, 2009). Frequentemente na literatura, a avaliação da fitotoxicidade é utilizada como indicador da maturação do composto (Wu *et al.*, 2000; Gómez-Brandon *et al.*, 2008; Cabañas-vargas *et al.*, 2005; Gao *et al.*, 2010b). Contudo, a fitotoxicidade do composto não depende apenas da eficiência do processo de compostagem, mas também da matéria-prima processada, das plantas em análise, bem como das propriedades do solo (Oleszczuk *et al.*, 2011). A maioria das substâncias que causam fitotoxicidade é produzida durante o estágio activo do processo de compostagem, nomeadamente o amoníaco, que afecta o metabolismo e crescimento das plantas (Hoekstra *et al.*, 2001), algumas substâncias fenólicas, ácidos gordos de baixo peso molecular e outros ácidos orgânicos (Gajalakshmi e Abbasi, 2007; Wong *et al.*, 2001; Bernal *et al.*, 2009). No entanto, a fitotoxicidade também pode ser originada por outros factores, nomeadamente a existência de metais pesados ou pesticidas já existentes nas matérias-primas, ou excesso de salinidade. Este facto constitui uma limitação na aplicação da avaliação de fitotoxicidade como indicador de maturação do composto (Wu *et al.*, 2000).

Actualmente, não existe um método universal estabelecido para avaliar a fitotoxicidade de um composto, em parte devido à diversidade de factores que a podem determinar (Aslam e VanderGheynst, 2009). Entre os diversos métodos propostos na literatura, os ensaios com plantas têm sido muito utilizados neste âmbito, os quais empregam uma variedade de espécies, substratos e procedimentos. Estes métodos são muito vantajosos porque permitem avaliar simultaneamente os efeitos provocados por diversos factores fitotóxicos. Contudo, estes testes têm como principal limitação o facto de não permitirem identificar quais os contaminantes específicos que causam a toxicidade observada (Aslam e VanderGheynst, 2009; Tiquia, 2010). No apêndice A encontra-se um resumo elaborado por Aslam e VanGheyns (2009), com métodos de ensaios utilizando plantas para avaliar a fitotoxicidade, reportados na literatura. Destes, destacam-se os testes de germinação e os bioensaios de crescimento vegetal (Gao *et al.*, 2010a; Gómez-Brandón *et al.*, 2008). Nos testes de germinação de sementes em extracto aquoso do composto

(diluído ou não) quantifica-se o número de sementes germinadas e o comprimento das raízes. Os bioensaios consistem na análise do crescimento vegetal em vaso, geralmente em substratos com quantidades crescentes do composto e onde se mede a massa da biomassa seca das plantas (Santos, 2007; Batista e Batista, 2007). Zucconi e de Bertoldi (1987) destacaram as diferenças entre estes testes e concluíram que os que envolvem germinação fornecem resultados mais rápidos, sobre a fitotoxicidade. Por outro lado, os testes de crescimento são afectados por mudanças contínuas na estabilidade e maturação do composto testado, podendo haver efeitos prejudiciais sobre o crescimento das plantas nos estágios iniciais e efeitos benéficos mais tarde, originando conclusões diferentes dependendo do momento da avaliação (Gajalakshmi e Abbasi, 2007).

De qualquer modo, os testes de germinação têm sido os mais usados para avaliar a fitotoxicidade (Wu *et al.*, 2001). Segundo diversos autores, as vantagens destes testes resultam de se tratar de métodos simples, rápidos, fiável e reprodutíveis para avaliar os efeitos causados pelas substâncias tóxicas presentes em vários compostos (Tiquia *et al.*, 1996). Porém, outros defendem que estes métodos exigem um trabalho moroso e têm uma capacidade limitada para determinar a maturidade dos compostos (Gómez-Brandón *et al.*, 2008). Contudo, Zucconi *et al.* (1981) sugerem que o índice de germinação (GI), baseado na germinação de sementes e no crescimento inicial das raízes, num extracto aquoso do composto, em função de um branco de controlo, tem provado ser um dos parâmetros mais sensíveis (Tam e Tiquia, 1994; Helfrich *et al.*, 1998) para traduzir a fitotoxicidade do extracto do composto em diferentes estágios de compostagem, permitindo avaliar o grau de maturação do composto (Cabañas-Vargas *et al.*, 2005; Gao *et al.*, 2010b; Sánchez-Monedero, 2002). Fang e Wong (1999) e He *et al.* (2009) referenciam, citando Zucconi *et al.* (1981) que este índice tem provado ser capaz de indicar tanto a baixa toxicidade, que afecta o crescimento das raízes, como a elevada toxicidade que afecta a germinação de sementes. No entanto, o grau de incerteza deste método leva a recomendar que seja utilizado em associação com outros testes (Batista e Batista, 2007). Assim, estes testes têm sido usados de modo integrado para detecção de toxicidade, geralmente em simultâneo com outros parâmetros químicos.

Neste âmbito, têm sido recomendadas diversas espécies de plantas, sendo as mais usadas, o agrião de jardim, repolho, alface, cenoura, tomate, pepino e aveia. A sensibilidade das sementes à toxicidade depende da quantidade de reservas alimentares que

possuem, por essa razão, as sementes de tubérculos, cereais e legumes, teriam baixa sensibilidade à toxicidade (Oleszczuk *et al.*, 2011cit. Cheug *et al.*, 1989). Muitos estudos científicos têm avaliado a fitotoxicidade através de diversas espécies de plantas (Tiquia *et al.*, 1996; Aslam e VanderGheynst, 2009; Oleszczuk *et al.*, 2011, Walter *et al.*, 2006; Fuentes *et al.*, 2006) e a *Lepidium sativum* (de nome comum agrião de jardim) tem sido referenciada como aquela que evidencia maior sensibilidade a toxinas, nomeadamente aos iões amónio e ácidos gordos de baixo peso molecular. Além da sua elevada sensibilidade, as sementes de *Lepidium sativum* têm a vantagem de dar uma resposta rápida (24 h) (Oleszczuk, 2008; Hoekstra *et al.*, 2002; Cabañas-Vargas *et al.*, 2005). Alguns estudos mostraram que o agrião de jardim é mais sensível à toxicidade do que outras espécies de plantas para compostos obtidos a partir de lamas de ETAR, chorume de galinha, resíduos de alimentos, resíduos da produção de azeite, RSU e solos contaminados com metais (Tiquia *et al.*, 2010).

Para qualificar os níveis de fitotoxicidade tem-se revelado útil a definição de índices de germinação (GI). A Tabela 2.1 apresenta uma revisão bibliográfica das qualificações possíveis dos níveis de fitotoxicidade.

A informação resumida nesta tabela mostra que não há unanimidade para qualificar a fitotoxicidade. Contudo, é possível ainda assim concluir-se que o valor de GI de 60% parece ser o valor mais referido para se considerar que a inibição de germinação é moderada, e portanto é segura a aplicação do composto (Gómez-Brandón *et al.*, 2008 cit. Zucconi *et al.*, 1981). Valores de GI superiores a 80% parecem indicar que o composto está livre de fitotoxinas e que o composto se encontra maturado (Tiquia *et al.*, 2010 cit. Zucconi *et al.*, 1981; Tiquia *et al.*, 1998).

Tabela 2.1 – Qualificações dos níveis de fitotoxicidade.

Referência	GI (%)	Classificação
Trautmann e Krasny, 2009	80-100	Não inibe o crescimento da planta
	60-80	Inibição moderada
	40-60	Inibição forte
	<40	Inibição severa
Batista e Batista, 2007 (cit. Woods End, 2000)	>85	V- não tóxico
	70-80	IV- moderadamente tóxico
	50-70	III- tóxico
	30-50	II- muito tóxico
	<30	I- extremamente tóxico
Batista e Batista, 2007 (cit. Brinton et al., 2001)	>90	Bastante maturado
	80-90	Maturado
	<80	Imaturo
Bernal <i>et al.</i> , 2009 (cit. Zucconi <i>et al.</i> , 1981)	>50	Maturado
Wong <i>et al.</i> , 2001 (cit. Zucconi <i>et al.</i> , 1981)	>50	Composto livre de fitotoxinas
Ortega <i>et al.</i> , 1996 (cit. Zucconi <i>et al.</i> , 1985)	<60	Produto orgânico considerado fitotóxico
Cabañas-Vargas <i>et al.</i> , 2005 (cit. Zucconi e de Bertoldi, 1987)	>60	Maturado
Gómez-Brandón <i>et al.</i> , 2008 (cit. Zucconi e de Bertoldi, 1987)	>60	Limite que reduz a fitotoxicidade para níveis aceitáveis para aplicação segura no solo
Helfrich <i>et al.</i> , 1998	≥ 70	Baixo nível de fitotoxinas
Fang e Wong, 1999 (cit. Rifaldi <i>et al.</i> , 1986)	>80	Não fitotóxico
He <i>et al.</i> , 2009 (cit. Zucconi <i>et al.</i> , 1981)	>80	Composto livre de fitotoxinas
Tiquia <i>et al.</i> , 2010 (cit. Zucconi <i>et al.</i> , 1981; Tiquia e Tam, 1998)	>80	Composto livre de fitotoxinas
Gao <i>et al.</i> , 2010 (cit. Zucconi <i>et al.</i> , 1981; Tiquia e Tam, 1998)	>80	Composto livre de fitotoxinas; maturado
Delgado <i>et al.</i> , 2010	>100	Estimula as propriedades do solo

3. ESTADO DA ARTE

A avaliação de fitotoxicidade através de *Lepidium sativum* tem sido muito referenciada na literatura, e a Tabela 3.1 resume alguns estudos relevantes, com objectivos semelhantes ao presente trabalho. A análise desta tabela mostra que a maioria das matérias-primas processadas e avaliadas em termos de fitotoxicidade são resíduos produzidos em elevadas quantidades e que regra geral representam alguns riscos quando aplicados no solo sem tratamento prévio, tais como chorumes de porco, vaca e aves, bem como lamas provenientes de ETAR. Pode também verificar-se que os métodos de avaliação de fitotoxicidade não têm tido grande evolução, dado que a maioria dos autores aplica exactamente o método de germinação de sementes proposto por Zucconi *et al.* em 1981, ou são introduzidas pequenas adaptações. No geral, todos os estudos indicam que após a obtenção de um extracto líquido através do contacto entre uma determinada quantidade de composto e água destilada, as sementes são incubadas no escuro, entre 20 e 27 °C, e durante 24 h a 72 h. Todos os estudos incluem réplicas para cada ensaio e a utilização de ensaios brancos de controlo com água destilada.

Relativamente à equação utilizada para o cálculo do GI, os diversos autores podem apresentar diferentes fórmulas. No entanto, matematicamente o valor de GI é calculado sempre de igual forma. A relação entre os valores de GI e a classificação de fitotoxicidade ou indicador de maturação do composto, como já referido, podem também variar ligeiramente entre autores.

Nos estudos referenciados neste resumo, adicionalmente ao GI são também avaliados outros parâmetros durante o processo de compostagem e/ou no composto final. Neste âmbito, destacam-se a monitorização da temperatura, do pH e da condutividade eléctrica, bem como a concentração do N, C, P e a razão C/N; a concentração de alguns metais pesados, sobretudo de Cu e Zn; e a concentração de $\text{NH}_4^+ \cdot \text{N}$.

De um modo geral, para analisar os resultados experimentais obtidos, os diversos estudos recorrem a uma análise de variância (ANOVA), para comparar estatisticamente as médias entre tratamentos.

Tabela 3.1 – Resumo de estudos sobre a avaliação de fitotoxicidade através de *Lepidium sativum*.

	Helfrich <i>et al.</i> , 1998	Fang e Wong, 1999	Wong <i>et al.</i> , 2001	Hoekstra <i>et al.</i> , 2002
Material processado	--	lamas de ETAR	resíduos de soja	chorume de 4 tipos de explorações de gado
Preparação do extracto aquoso	razão sólido:liquido (água destilada) (1:8 w/w) agitar 20 h, T=25 °C centrifugar 30 min extracto armazenado até análise a -18 °C diluir o extracto em água destilada (1:1)	razão sólido:liquido (água destilada) 1:2 (w:v) agitar mec. a mistura, t=1 h centrifugar 10000 rpm, t=20 min filtrar, Whatman#1	razão sólido:liquido (água destilada) 1:2 (w:v) agitar mec. a mistura, t=1 h centrifugar 10000 rpm, t=20 min filtrar, Whatman#1	adição de água destilada à amostra até humidade 70 % concentração de 30 % da mistura agitar 15 h, T=T _{ambiente} (Paré <i>et al.</i> , 1997) centrifugar 20 min centrifugar o sobrenadante 15 min guardado a -4 °C até análise
Condições do Teste de Germinação				
Tipo de Teste	estático	estático	estático	estático
Pré-tratamento	não			não
Incubação				
Temperatura	25 °C	20-25 °C	20-25 °C	24 °C
Humidade				90%
Luz	não	não	não	não (sem fotoperíodo)
Recipiente de ensaio	placas de petri com 5 cm	placas de petri esterilizadas Whatman #1	placas de petri esterilizadas Whatman #1	placas de petri com d=9cm Schleicher e Schuell n° 595,85mm (5 filtros)
Papel de filtro				
Volume do Teste	1,5 mL	6 mL	6 mL	5 mL
N° sementes	10/réplica	10/réplica	10/réplica	10/réplica
N° réplicas	4x (3 placas de petri)	2	2	2
Controlo	água destilada	água destilada	água destilada	água destilada
Duração do teste	72 h	24 h	24 h	72 h (registo N _{SG} após 24, 48 e 72 h; L _R após 72 h)
Fórmula de cálculo GI	$GI(\%) = [(N_{SG}(\%)*L_R)(extracto) / (N_{SG}(\%)*L_R)(controlo)] * 100$ (Zucconi <i>et al.</i> , 1981)	$GI(\%) = [(N_{SG}(\%)*L_R)(extracto) / (N_{SG}(\%)*L_R)(controlo)] * 100$ (Zucconi <i>et al.</i> , 1981)	$GI(\%) = [(N_{SG}(\%)*L_R)(extracto) / (N_{SG}(\%)*L_R)(controlo)] * 100$ (Zucconi <i>et al.</i> , 1981)	$RSG(\%) = N_{SG}(extracto) / N_{SG}(controlo) * 100$; $RRG(\%) = L_R(extracto) / L_R(controlo) * 100$; $GI(\%) = RSG * RRG / 100$
Outros parâmetros analisados	bioensaio de crescimento de plantas, técnicas de biosensor (intensidade de fluorescência e consumo de O ₂)	T, pH, CE, COT, C/N, cinzas, C _{total} , N _{total} , P _{total} , Cu, Mn, Ni, Zn	pH, CE, C _{orgânico} , NH ₄ -N soluvel, razão C/N	
Análise estatística		ANOVA	SAS statistical package; teste de diferenças significativas com p=0,05	ANOVA (RSG- p<0,05; RRG- p<0,001; GI- 0,001<p<0,05), SPSS.

Os significados das siglas encontram-se indicados nos Acrónimos.

Tabela 3.1 – (continuação)

	Cabañas-Vargas <i>et al.</i> , 2005	Walter <i>et al.</i> , 2006	Gómez-Brandón <i>et al.</i> , 2008	
Material processado	resíduos verdes	lamas de ETAR	estrupe de gado	
Preparação do extracto aquoso	(adaptção do método de Zucconi et al, 1981) 10 g de amostra filtrada+100 mL de água destilada	10 g lamas secas+100 mL água destilada Agitar 15 h, T=T _{ambiente} , escuro	(método Zucconi e de Bertoldi, 1987) Razão sólido:liquido(água destilada) 1:5 (w/v) agitar, t=1 h centrifugar, 10000 rpm, t=15 min filtrar o sobrenadante, d=0,45µm diluir os extractos 30 %	
Condições do Teste de Germinação	Tipo de Teste	estático	estático	
	Pré-tratamento	não	não	
	Incubação	na bancada do laboratório		
	Temperatura		25±2 °C	
	Humidade		40-50 %	
	Luz		não	
	Recipiente de ensaio	placas de petri com d=10cm	placas de petri com d=10cm e h=1 cm	placas de petri
	Papel de filtro	Whatman #1	Whatman #1	Whatman #1
	Volume do Teste	2 mL	5 mL	1 mL
	Nº sementes	10/réplica	10/réplica	10/réplica
	Nº réplicas	3	5	
	Controlo	água destilada	água destilada	água destilada
	Duração do teste	24 h, 48 h	48 h	24 h
Fórmula de cálculo GI	$GI(\%) = \frac{[(N_{SG}(\%)*L_R)(extracto)]}{(N_{SG}(\%)*L_R)(controlo)} * 100$ (Zucconi <i>et al.</i> , 1981)	$RSG(\%) = N_{SG}(extracto)/N_{SG}(controlo) \times 100$; $RRG(\%) = L_R(extracto)/L_R(controlo) \times 100$; $GI(\%) = RSG \times RRG / 100$ (Hoekstra <i>et al.</i> , 2002)		
Outros parâmetros analisados	SOUR, respirometria, teste auto-aquecimento, solvita®, pH, CE, sólidos voláteis	pH, CE, N, P, K, Zn, Cu, Cr, Ni, Pb, Cd, Fe, Mn	pH, CE, C _{total} , N _{total} , P, C _{min} (carbono de biomassa microbiana), respirometria	
Análise estatística		Statgraphics 5.1 software; ANOVA, factor único ($p < 0,05$)	SPSS 11.0; ANOVA, teste Tukey; análise de regressão	

Os significados das siglas encontram-se indicados nos Acrónimos.

Tabela 3.1 – (continuação)

	Gao <i>et al.</i> , 2010	Delgado <i>et al.</i> , 2010	Tiquia, 2010	
Material processado	chorume da galinha e serradura	chorume de aves (processado e não processado) misturado com turfa	chorume de porco	
Preparação do extracto aquoso	sólido:dobro de água destilada=1:10 (w:v base seca) agitar mecanicamente a mistura 1 h	(adaptação do método de Zucconi <i>et al.</i> , 1981) 10 g estrume+100 mL água destilada agitar 15 h, escuro centrifugar 20 min, balões de 10 g filtrar o sobrenadante, Whatman #1	adicionar águas destilada à amostra no rácio 1:10 (w/v) agitar (agitador horizontal), t=1 h filtrar (Whatman #42)	
Condições do Teste de Germinação	Tipo de Teste	estático	estático	
	Pré-tratamento		não	
	Incubação			
	Temperatura	25 °C	25 °C	22 °C
	Humidade		40-50 %	
	Luz	não	não	não
	Recipiente de ensaio	placas de petri	placas de petri com d=9 cm (seladas com parafilme)	
	Papel de filtro	Whatman #2	Whatman #3	
	Volume do Teste	5 mL	5 mL	
	Nº sementes	10/réplica	10/réplica	5/réplica
Nº réplicas	3	10	3	
Controlo	água destilada	água destilada	água destilada	
Duração do teste	48 h	48 h	5 dias	
Fórmula de cálculo GI	$GI(\%) = (SG(\%)*LR_{extracto}) / (SG(\%)*LR_{controlo}) * 100$ (Zucconi <i>et al.</i> , 1981)	$RSG(\%) = N_{SG}(extracto) / N_{SG}(controlo) * 100$; $RRG(\%) = \bar{L}_R(extracto) / \bar{L}_R(controlo) * 100$; $GI(\%) = RSG * RRG / 100$ (Tiquia & Tam, 1998)	$RSG(\%) = N_{SG}(extracto) / N_{SG}(controlo) * 100$; $RRG(\%) = \bar{L}_R(extracto) / \bar{L}_R(controlo) * 100$; $GI(\%) = RSG * RRG / 100$	
Outros parâmetros analisados	T, MO, pH, NH ₄ ⁺ -N, NO ₃ ⁻ -N, CE, CTC, N _{total} , COT	pH, CE, N _{total} , N _{inorgânico} , P, K, Ca, metais pesados	concentração de HNO ₃ ⁻ , concentração de Cu e Zn extraíveis da água, C, N, CE, fracção de AH e AF	
Análise estatística	ANOVA: StateSoft Inc. 5.1 software, Tulca, OK, USA	Statgraphpics 5.1 software; ANOVA, F(p<0,05)	análise estatística descrita por Zar, 2009	

Os significados das siglas encontram-se indicados nos Acrónimos.

4. METODOLOGIAS E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Neste trabalho foram utilizados diversos procedimentos experimentais que são descritos nas secções seguintes. Também a metodologia usada para analisar estatisticamente os resultados experimentais é brevemente explicada.

4.1. Plano de amostragem

As amostras utilizadas neste estudo, tinham uma massa de 500 g, tendo sido sempre homogeneizadas antes de se proceder à sua utilização.

Na monitorização dos processos de compostagem, as amostras foram recolhidas após o revolvimento e pesagem dos reactores. Cada amostra foi obtida por um conjunto de 10 sub-amostras recolhidas de vários pontos aleatórios do reactor. Posteriormente procedeu-se à divisão do material em quatro partes iguais, sendo uma destas partes subdividida novamente em quatro de modo a obter uma massa adequada para os diversos testes.

4.2. Procedimentos experimentais

4.2.1. Determinação do teor de humidade

A humidade da amostra fresca foi determinada por gravimetria utilizando 3 réplicas por cada determinação.

Em cada caso, registou-se a massa de um copo e pesou-se cerca de 20 g de amostra. Colocou-se o copo com a amostra pesada na estufa, a 105 °C, durante 24 h. Após a secagem, a amostra foi arrefecida no excicador até à temperatura ambiente e foi novamente pesada.

A humidade foi calculada pela equação:

$$H(\%) = \frac{\text{massa de amostra húmida} - \text{massa amostra seca}}{\text{massa amostra húmida}} \times 100 \quad (4.1)$$

4.2.2. Preparação do extracto aquoso

O extracto aquoso utilizado nos testes de germinação foi obtido através de uma extracção de 10 g de sólido (massa seca) com 100 mL de água destilada (L/S=10). Esta suspensão foi agitada mecanicamente a 16 rpm, durante 1 h, à temperatura ambiente. Posteriormente centrifugou-se a suspensão, durante 20 min, para facilitar a separação sólido líquido. O sobrenadante obtido foi filtrado, utilizando um sistema de vácuo de modo a obter cerca de 50 mL para os ensaios de germinação e análises químicas subsequentes.

4.2.3. Testes de germinação

Os testes de germinação utilizados tinham como objectivo a avaliação da fitotoxicidade através da utilização de sementes de *Lepidium sativum* que eram colocadas num extracto aquoso. As condições experimentais encontram-se resumidas na Tabela 4.1.

A execução experimental consistiu em colocar um papel de filtro de análise qualitativa, numa placa de petri com 9 cm de diâmetro, humedecendo-o com 5 mL de extracto. Nos ensaios de controlo (branco) foram utilizados 5 mL de água destilada por placa. Em cada placa de petri colocaram-se 10 sementes de *Lepidium sativum* uniformemente distribuídas. Os ensaios decorreram durante 48 h, em placa fechada e foram efectuadas 3 ou 5 réplicas para cada teste. A incubação das amostras foi efectuada numa estufa a 25-26 °C num ambiente escuro. Após 48 h na estufa, registou-se o número de sementes germinadas, N_{SG} , em cada placa de petri e efectuou-se a medição com um paquímetro do comprimento das raízes das sementes germinadas, L_R , considerando a ilustração da Figura 4.1.

Tabela 4.1 – Metodologia utilizada no teste de germinação de sementes.

Condições do Teste de Germinação de Sementes	
<i>Tipo de Teste</i>	Estático
<i>Pré-tratamento</i>	Não
<i>Incubação</i>	
<i>Temperatura</i>	25-26 °C
<i>Luz</i>	Não
<i>Recipiente de ensaio</i>	Placas de petri com d=9cm
<i>Papel de filtro</i>	Análise qualitativa
<i>Volume do teste</i>	5 mL
<i>Espécie planta</i>	<i>Lepidium sativum</i> (agrião de jardim)
<i>Nº sementes</i>	10
<i>Réplicas</i>	3-5
<i>Controlo</i>	Água destilada
<i>Duração do teste</i>	48 h (registo do nº de sementes germinadas e medição do comprimento das raízes)

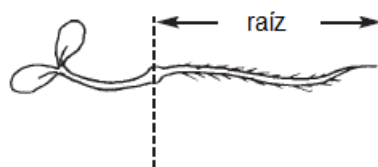


Figura 4.1 – Figura ilustrativa da raiz de *Lepidium sativum* (Fonte: Trautmann e Krasny, 1997).

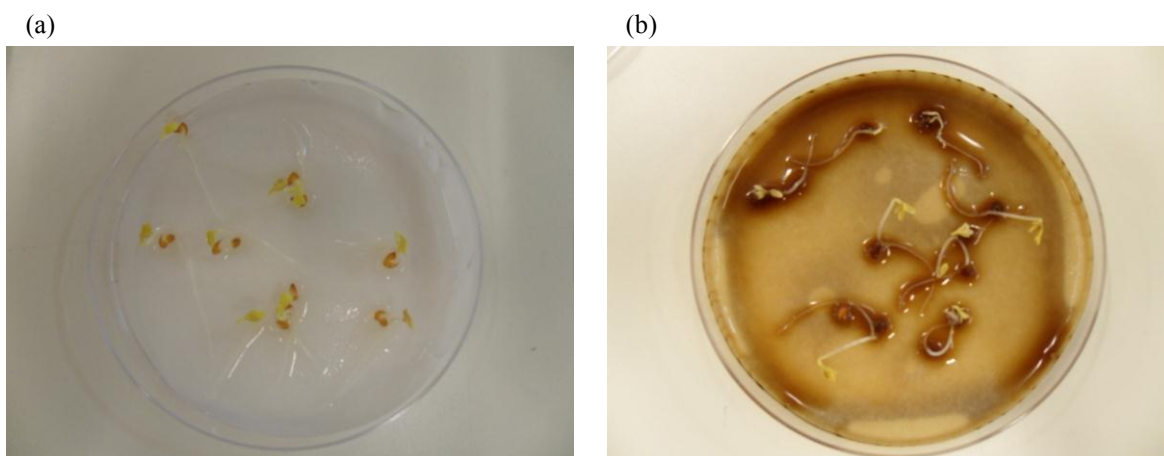


Figura 4.2 – Réplica de um (a) branco de controlo, e de um (b) extracto; num teste de germinação com *Lepidium sativum*, após 48 h de incubação.

O número de sementes germinadas, N_{SG} , e o comprimento das raízes, L_R , quantificados no teste de germinação permitem calcular um índice bastante útil, o índice de germinação (GI – *Germination Index*). Para se calcular o valor do GI pode quantificar-se a percentagem relativa de germinação de sementes (RSG – *Relative Seed Germination*) e a percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG – *Relative Root Growth*).

O cálculo da percentagem relativa de germinação, RSG, foi efectuado pela equação:

$$RSG (\%) = \frac{\bar{N}_{SG,T}}{\bar{N}_{SG,B}} \times 100 \quad (4.2)$$

onde $\bar{N}_{SG,T}$ é a média aritmética do número de sementes germinadas em cada extracto (tratamento) e $\bar{N}_{SG,B}$ é a média aritmética do número de sementes germinadas no branco (água destilada).

A percentagem relativa do comprimento das raízes, RRG, é definida pela equação:

$$RRG (\%) = \frac{\bar{L}_{R,T}}{\bar{L}_{R,B}} \times 100 \quad (4.3)$$

onde $\bar{L}_{R,T}$ é o comprimento médio das raízes no extracto aquoso e $\bar{L}_{R,B}$ é o comprimento médio das raízes do branco de controlo.

Finalmente, o índice de germinação (GI), proposto por Zucconi *et al.* (1981), conjuga os parâmetros RSG e RRG de acordo com a equação:

$$GI = \frac{RSG(\%)*RRG(\%)}{100} \quad (4.4)$$

Na Tabela 4.2 é indicada a escala de classificação qualitativa de fitotoxicidade e maturação do composto, considerada neste trabalho.

Tabela 4.2 – Classificação qualitativa de fitotoxicidade utilizada neste trabalho.

GI (%)	Classificação do material em análise
>100	O material potencia a germinação e o crescimento da raiz das plantas.
80-100	Não fitotóxico; composto maturado
60-80	Moderadamente fitotóxico
30-60	Fitotóxico
<30	Muito fitotóxico

4.2.4. Determinação do pH e da condutividade eléctrica

A medição do pH e da condutividade eléctrica (CE) foi determinada nos extractos aquosos produzidos, de acordo com a secção 4.2.2. A medição destes parâmetros foi efectuada através do *Multi-parameter analyser Consort (C863)*, após a sua calibração, de acordo com as instruções do fabricante.

4.2.5. Análise elemental de C, H, N e S

A análise elemental de C e N presente nos compostos foi efectuada no âmbito de outros projectos. Esta análise foi realizada no equipamento *EA 1108 CHNS-O – Fisons*, que permite quantificar simultaneamente a quantidade total dos elementos C, H, N e S nas amostras sólidas.

4.2.6. Espaço livres de ar

Os espaços livres com ar entre as partículas na massa de compostagem foram quantificados através do parâmetro *free air space* (FAS). Neste trabalho, os cálculos deste parâmetro consideram a densidade bulk (*bulk density*- BD) e a densidade das partículas (*particle density*- PD), de acordo com a equação sugerida por Ruggieri *et al.* (2009) citando Epstein (1997):

$$FAS = 100 \times \left(1 - \frac{BD}{PD}\right) \quad (4.5)$$

4.3. Análise estatística dos resultados

Os resultados relativos ao número de sementes germinadas (N_{SG}) contabilizadas e ao comprimento das raízes (L_R) medidas, resultantes dos testes de germinação em extracto aquosos, bem como todos resultados dos índices de germinação (GI) calculados foram analisados estatisticamente através de análises de variância (ANOVA). Esta ferramenta estatística foi bastante útil, para determinar se n amostras (ou tratamentos) podem ser considerados estatisticamente semelhantes. Para auxiliar esta análise dos resultados, as observações efectuadas foram representadas em diagramas de caixa-e-bigodes (*box plots*), as quais são muito úteis em comparações gráficas entre conjuntos de dados, pois permitem uma análise visual bastante intuitiva. A ANOVA foi realizada no software EXCEL[®], do Office-Windows e os diagramas de caixa-e-bigodes foram obtidos através do software Sigmaplot[®].

4.3.1. Análise de *outliers*

Os diagramas de caixa-e-bigodes são representações gráficas que devem ser interpretados como se esquematiza na Figura 4.2. Assim, estes diagramas mostram a tendência central dos dados (neste estudo através da mediana), a variabilidade das observações em torno da mediana através da indicação do factor mínimo e máximo, e dos valores do 1º, 2º e 3º quartis. Um aspecto fundamental destes diagramas é que permitem identificar os valores que podem ser estatisticamente considerados *outliers* e extremos (Montgomery e Runger, 2005). Os *outliers* são valores atípicos e que se afastam

significativamente das restantes observações. Uma forma de identificar estes valores é através de gráficos de caixa-e-bigodes. Assim, deve calcular-se o 1º quartil (1º Q) e o 3º quartil (3º Q). O tamanho da caixa, L , é igual à diferença $Q_3 - Q_1$. Os valores inferiores a $Q_1 - 1,5L$ e superiores a $Q_3 + 1,5L$ são então considerados *outliers*. Em situações ainda mais limite, ou seja, valores inferiores a $Q_1 - 3L$ e superiores a $Q_3 + 1,5L$ a designação passa a ser “valores extremos”.

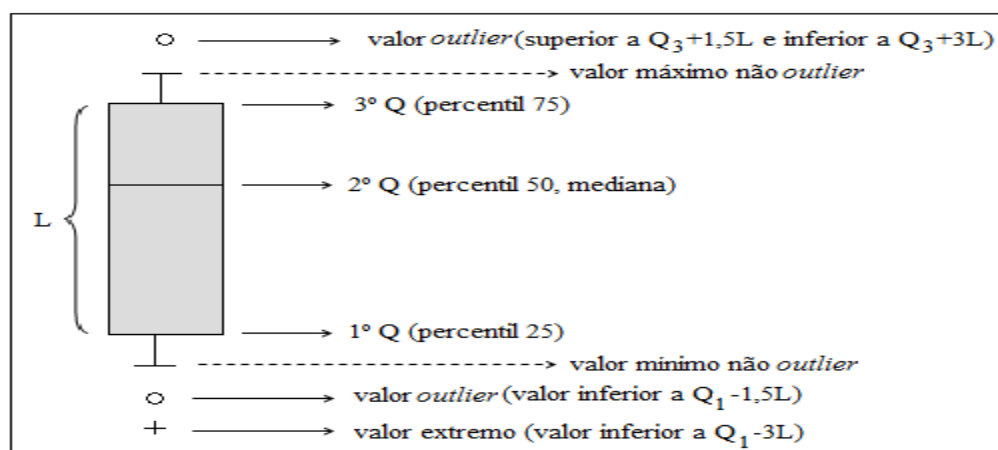


Figura 4.3 – Descrição da informação que pode ser obtida nos diagramas de caixa-e-bigodes.

Ao longo do trabalho, aquando a análise de resultados através destes diagramas, os valores experimentais identificados como *outliers* ou extremos foram analisados no sentido de se decidir se seriam ou não desprezados nos cálculos realizados, pois como é sabido, estes podem afectar significativamente os parâmetros estatísticos calculados, e conseqüentemente as conclusões finais.

4.3.2. Análise de variância (ANOVA)

As análises ANOVA realizadas neste estudo permitiram avaliar os resultados de diferentes amostras ou tratamentos com um só factor, comparando os seus valores médios (Tabela 4.3). Para tal, esta análise utiliza um teste de hipóteses que admite como hipótese nula (H_0) e hipótese alternativa (H_1):

$$H_0 : \bar{y}_1 - \mu_1 = \bar{y}_2 - \mu_2 = \dots = \bar{y}_M - \mu_M = 0 \quad (4.6)$$

$$H_1 : \bar{y}_M - \mu_M \neq 0 \text{ pelo menos para um } M \quad (4.7)$$

onde, M é o número de níveis com factor único (n° de amostras ou tratamentos), \bar{y} é a média das observações e μ é a média real com uma confiança de $(100-\alpha)\%$.

Tabela 4.3 – Resultados experimentais com factor único.

Tratamento	Observações				Média
	1	2	...	n	
1	y_{11}	y_{12}	...	y_{1n}	\bar{y}_1
2	y_{21}	y_{22}	...	y_{2n}	\bar{y}_2
...					
M	y_{M1}	y_{M2}	...	y_{Mn}	\bar{y}_M

A realização desta análise permite obter um valor de p para um nível de significância pretendido, α . Neste trabalho considerou-se um nível de confiança de 95% ($\alpha=0,05$). Assumindo que as observações seguem uma distribuição normal, quando o valor de p obtido é superior a α , aceita-se a hipótese nula (H_0) e conclui-se (neste caso com 95% de confiança) que os tratamentos são idênticos. Pelo contrário, se o valor de p obtido for inferior a α , significa que os tratamentos são estatisticamente diferentes. Segundo Montgomery e Runger (2005) para obter o valor p , podem calcular-se os seguintes parâmetros:

$$SS_{Total} = \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - \left[\sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^n y_{ij} \right]^2 / N \quad (4.8)$$

$$SS_{Tratamento} = \sum_{i=1}^M \left[\sum_{j=1}^n y_{ij} \right]^2 / n - \left[\sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^n y_{ij} \right]^2 / N \quad (4.9)$$

$$SS_{Erro} = SS_{Total} - SS_{Tratamento} \quad (4.10)$$

onde y_{ij} é o valor experimental no tratamento i e na observação j , n o número de observações por tratamento, M o número de amostras ou tratamentos e N o número total de amostras ($N = M \times n$).

A análise ANOVA pode ser analisada como se indica na Tabela 4.4, na qual são indicados os resultados dos parâmetros soma dos quadrados (SS), descritos em cima; os graus de liberdade (df); o quadrado da média (MS); o F_0 ; o valor p ; o $F_{crítico}$. Para o

cálculo de MS divide-se a respectiva SS pelo respectivo df e o valor de $F_{\text{crítico}}$ é tabelado (distribuição F-Fisher) em função do nível de confiança e dos graus de liberdade.

Tabela 4.4 – Resumo da ANOVA com factor único.

Fonte de variação	Soma dos quadrados (SS)	Graus de liberdade (df)	Quadrado da média (MS)	F_0	p	$F_{\text{crítico}}$
Entre tratamentos	$SS_{\text{Tratamento}}$	M-1	$MS_{\text{Tratamentos}}$	$MS_{\text{Tratamentos}}/MS_{\text{Erro}}$	valor p	valor $F_{\text{crítico}}$
Entre observações	SS_{Erro}	N-M	MS_{Erro}			
Total	SS_{Total}	N-1				

4.3.3. Análise dos índices de germinação

Face aos procedimentos experimentais usados para determinar os parâmetros RRG, RSG e GI (referidas na secção 4.2.3.) foram utilizados dois métodos para o cálculo destes parâmetros, os quais se encontram esquematizadas na Figura 4.3 e descritas a seguir.

Deve notar-se que cada ensaio envolvia sempre um branco de controlo, com cinco réplicas (B_a) e cada extracto de um material (tratamento) era igualmente constituído por cinco réplicas (T_a). Em cada réplica foram colocadas 10 sementes de *Lepidium sativum*.

Método I

Neste método calculam-se as médias aritméticas globais de todas as réplicas realizadas para cada tratamento, isto é, o número médio de sementes germinadas (\bar{N}_{SG}), das 50 sementes colocadas nas 5 réplicas, e o comprimento médio das raízes (\bar{L}_R) de todas as sementes germinadas nas 5 réplicas. Estas médias foram calculadas para cada branco de controlo ($N_{SG,B}$ e $\bar{L}_{R,B}$) e para cada extracto ($N_{SG,T}$ e $\bar{L}_{R,T}$). Assim, para cada extracto obteve-se um valor para RSG, RRG e GI.

Método II

Neste método de cálculo são considerados o número de sementes germinadas em cada placa, $N_{SG,Bi}$ e $N_{SG,Ti}$, e a média dos comprimentos das raízes em cada placa i . Com estes valores foram calculados 25 valores de GI (todas as combinações possíveis). Assim, é possível calcular um valor médio de GI ($GI_{\text{médio}}$) bem como o erro médio padrão associado.

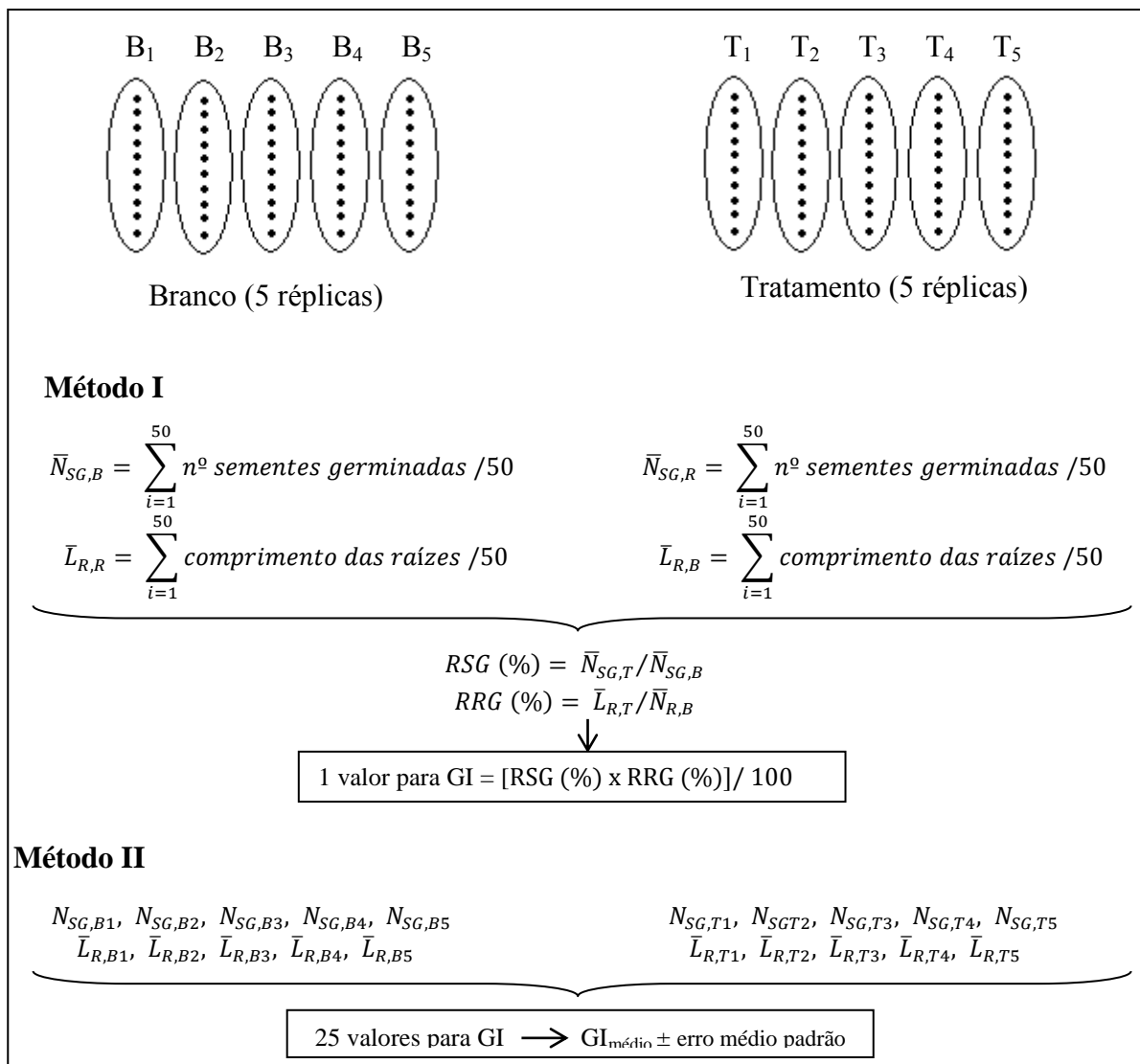


Figura 4.4 – Esquema ilustrativo dos métodos I e II, face à metodologia utilizada para o cálculo de GI.

5. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Este trabalho tem como principal objectivo avaliar a fitotoxicidade de extractos aquosos através de *Lepidium sativum*, no âmbito de processos de compostagem. De acordo com a literatura, os testes de germinação em extracto aquoso, através de *Lepidium sativum*, são bioensaios simples que têm sido amplamente usados para inferir o nível de maturação e a fitotoxicidade de compostos e outros materiais biodegradáveis (Walter *et al.*, 2009). Neste sentido, estes testes foram seleccionados para avaliar a fitotoxicidade, através do cálculo do índice de germinação (GI). Diversas espécies têm sido propostas para este teste, porém a espécie *Lepidium sativum* foi a seleccionada devido às suas vantagens em termos de sensibilidade e tempo de germinação.

No âmbito de processos de compostagem, a fitotoxicidade foi avaliada:

- em nove possíveis matérias-primas, que podem constituir a mistura inicial destes processos (secção 5.1);
- ao longo da monitorização de quatro processos com serradura (secção 5.2.1);
- ao longo da monitorização de quatro processos com casca de arroz (secção 5.2.2);
- em compostos em estágio de maturação (secção 5.3).

5.1. Avaliação de fitotoxicidade de materiais com potencial para valorização através de compostagem

Na prática, existe uma elevada diversidade de materiais e/ou resíduos passíveis de serem valorizados/tratados em processos de compostagem. Por uma questão de simplicidade, os materiais avaliados neste trabalho podem ser agrupados em três vertentes: resíduos orgânicos biodegradáveis, resíduos inorgânicos e agentes *bulking*. Os resíduos orgânicos biodegradáveis avaliados neste estudo são frequentemente valorizados pelo processo de compostagem, nomeadamente chorume de galinha (CG) proveniente de uma exploração agrícola; casca de batata (CB) de origem agro-industrial; aparas de relva (AR) de um *Garden Centre* e lamas (LA) de processos biológicos de uma estação de tratamento

de águas residuais (ETAR) domésticas. Outra vertente avaliada neste estudo foi a fitotoxicidade de materiais inorgânicos, passíveis de serem valorizados por compostagem em baixas percentagens. Neste âmbito foram analisados a casca de ovo (CO) de origem agro-industrial e cinzas volantes (CV) de equipamentos de controlo da poluição atmosférica de incineração de resíduos sólidos urbanos (RSU). Finalmente, resíduos orgânicos usualmente indispensáveis como agentes *bulking* também foram testados. Este tipo de materiais é usado com o objectivo de ajustar o teor de humidade da mistura, a razão C/N e os espaços livres entre partículas, no processo de compostagem (Chang e Hsu, 2008). Os materiais considerados foram a palha de trigo (PT), a serradura (SE) e a casca de arroz (CA).

A Tabela 5.1 resume um conjunto de propriedades físico-químicas que foram determinadas experimentalmente ou em alguns casos, retiradas da literatura. As amostras foram caracterizadas ao nível da humidade (H%), pH, condutividade eléctrica (CE) e razão C/N.

Tabela 5.1 – Parâmetros físico-químicos de materiais com potencial para valorização através de compostagem.

Material		Parâmetros				
		H (%)	pH	CE (mS/cm)	Razão C/N	Granulometria (mm)
Resíduos orgânicos	Chorume de galinha (CG)	20,14	8,89	10,5	7,48 ^a	<20
	Casca de batata (CB)	78,68	5,39	0,844	25,5	<70
	Aparas de relva (AR)	70,09	8,19	0,455	11,3	<50
	Lamas de ETAR (LA)	9,270	7,20	1,97	5,60 ^b	<50
Resíduos inorgânicos	Casca de ovo (CO)	18,77	9,66	0,452	-	<20
	Cinzas volantes (CV)	0,000	11,8	32,1	5*	<1
Agentes <i>bulking</i>	Palha de trigo (PT)	13,56	6,82	1,08	51,6	<10
	Serradura (SE)	12,25	5,50	0,225	68,0	<1
	Casca de arroz (CA)	10,61	6,75	0,872	57,5	<10

*% de carbono (o N é menor que o limite de detecção). a – Gao *et al.*, 2010. b - Fang e Wong, 1999.

A razão C/N dos materiais analisados mostra que os resíduos orgânicos têm razões C/N relativamente baixas para serem eficazmente valorizáveis por compostagem. Deste modo, é habitual que estes sejam misturados com os agentes *bulking*, que como se pode verificar na Tabela 5.1, são materiais ricos em carbono.

A avaliação de fitotoxicidade destes materiais foi realizada de acordo com as metodologias experimentais descritas no Capítulo 4. Todos os valores quantificados ao nível do número de sementes germinadas, N_{SG} , e do comprimento das raízes, L_R , foram analisados estatisticamente, através de análises de variância de factor único. Deste modo, foi possível comparar se existem diferenças estatisticamente significativas entre as réplicas de cada tratamento e entre tratamentos. Para auxiliar esta análise, os resultados obtidos foram também representados recorrendo a diagramas de caixa-e-bigodes.

A Figura 5.1 mostra o número médio de sementes germinadas, \bar{N}_{SG} , nas 5 réplicas dos extractos de cada um dos materiais em análise (CG, CB, AR, LA, CO, CV, PT, SE e CA). À excepção da palha de trigo (PT) não são evidenciadas grandes variações no N_{SG} entre réplicas, uma vez que as caixas não têm comprimentos muito elevados, havendo quatro materiais (AR, LA, CO, e CA) em que todas as sementes germinaram. Deve destacar-se que existem três materiais (CG, CV e SE) que deram origem a um número de germinação diminuto (<2).

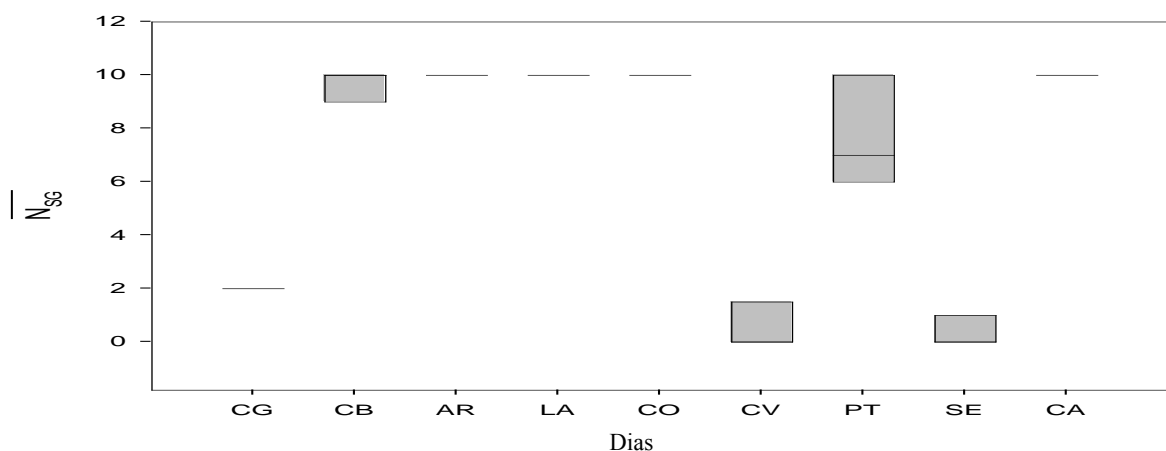


Figura 5.1 – Número médio de sementes germinadas, \bar{N}_{SG} , nos extractos de materiais com potencial para valorização através de compostagem.

Neste contexto foi também efectuada uma ANOVA, para determinar a significância estatística dos resultados entre os diferentes materiais (tratamentos) ao nível do \bar{N}_{SG} , considerando como hipótese nula, H_0 , que existe igualdade no \bar{N}_{SG} , entre os materiais. Os materiais CG, CV e SE não foram incluídos nesta análise, uma vez que o \bar{N}_{SG} , obtido foi muito baixo e notoriamente diferente dos outros materiais. Assim, foram comparados os restantes tratamentos (CB, AR, LA, CO, PT e CA) e de acordo com os resultados da Tabela 5.2, concluiu-se que estes devem ser considerados diferentes entre si.

Contudo, excluindo da análise os valores experimentais de PT, que apresenta valores mais díspares, o \bar{N}_{SG} , dos restantes materiais pode ser considerado estatisticamente igual. Desta forma, pode inferir-se que os extractos que apresentaram melhor desempenho em termos de germinação de sementes, são AR, LA, CO, CA e CB, seguindo-se PT, que além de manifestar maior variabilidade entre réplicas, apresenta um desempenho mais reduzido (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 – Resumo da ANOVA relativa ao \bar{N}_{SG} , dos materiais com potencial para valorização através de compostagem.

Tratamento	<i>p</i>	Conclusões
CB, AR, LA, CO, PT, CA	0,00416	Tratamentos diferentes
CB, AR, LA, CO, CA	0,062	Tratamentos iguais

Ao nível do comprimento das raízes (L_R), a Figura 5.2 mostra, para cinco materiais a variabilidade entre as cinco réplicas. Os materiais CG, CV, PT e SE não se encontram representados no diagrama, dado que o número de sementes germinadas foi relativamente baixo. O diagrama mostra que existem alguns valores *outliers* nos \bar{L}_R das réplicas. Apesar de um *outlier* poder alterar bastante os resultados finais, optou-se por não excluir qualquer valor, pelo facto de os *outliers* indicados para cada réplica se encontrarem muito próximos dos valores máximos e mínimos. Desta forma, todos os valores medidos foram integrados nos cálculos efectuados.

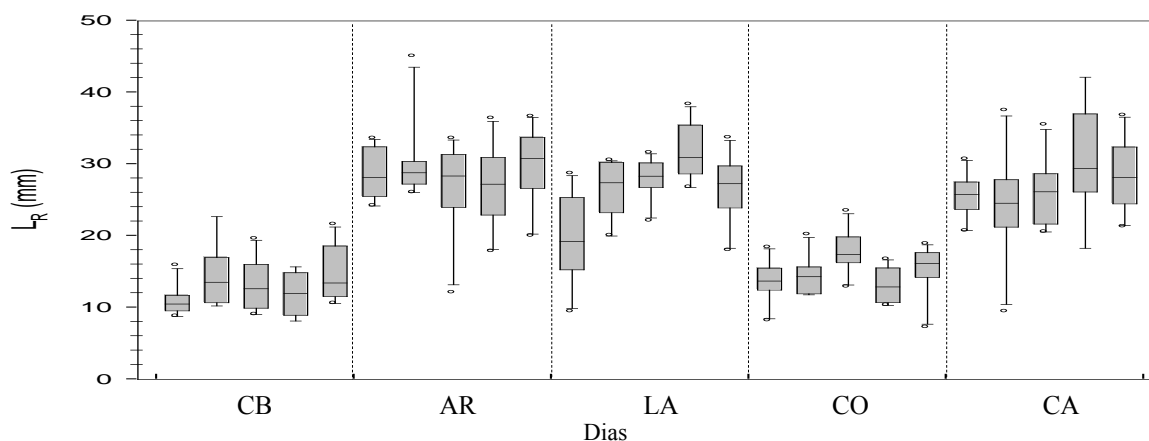


Figura 5.2 – Comprimentos das raízes, L_R , nas réplicas dos extractos dos materiais com potencial para valorização através de compostagem.

Também neste caso se procedeu à análise de variância, para comparar os \bar{L}_R entre réplicas de cada tratamento e entre tratamentos. Para comparar o \bar{L}_R entre as réplicas

de cada extracto, resumiu-se o \bar{L}_R de cada tratamento e o valor do nível de significância (p) na Tabela 5.3, podendo concluir-se que à excepção das amostras de LA e da CO, os \bar{L}_R entre todas as réplicas dos restantes tratamentos são estatisticamente iguais ($p > 0,05$).

Tabela 5.3 – Resumo da ANOVA, relativo ao \bar{L}_R entre réplicas de cada material com potencial para valorização através de compostagem.

Tratamento	\bar{L}_R (mm)	p	Conclusão
CB	13,1	0,0999	Réplicas iguais
AR	28,6	0,467	Réplicas iguais
LA	26,5	$1,04 \times 10^{-05}$	Réplicas diferentes
CO	14,9	0,00546	Réplicas diferentes
CA	27,1	0,120	Réplicas iguais
CG	1,00		
CV	6,13	-	-
PT	1,00		
SE	1,00		

Comparados os \bar{L}_R entre os materiais (tratamentos) pode depreender-se que a inibição do crescimento das raízes difere significativamente entre alguns materiais. Os resultados da Tabela 5.4, relativos à comparação estatística dos \bar{L}_R dos cinco materiais (CB, AR, LA, CO e CA) demonstraram que são estatisticamente diferentes. Contudo, procedendo como anteriormente e excluindo da análise os materiais com \bar{L}_R mais dispares, verifica-se que apenas as AR e as LA apresentam \bar{L}_R estatisticamente iguais ($p > 0,05$).

Tabela 5.4 – Resumo da ANOVA, relativa ao \bar{L}_R nos extractos dos materiais com potencial para valorização através de compostagem.

Tratamento	p	Conclusões
CB, AR, LA, CO, CA	≈ 0	Tratamentos diferentes
AR, LA	0,357	Tratamentos iguais

Com base no Método I, descrito na secção 4.3.3, foram calculados os valores indicados na Tabela 5.5, ou seja, em que o RRG, RSG e GI foram calculados pelas Equações (4.2) a (4.4) respectivamente.

Tabela 5.5 – Parâmetros RSG, RRG e GI, calculados pelo método I e GI médios calculados pelo método II, para os materiais com potencial de valorização através de compostagem. Resumo da ANOVA aos GI médios.

Materiais	Método I			Qualificação do material	Método II			
	RSG (%)	RRG (%)	GI (%)		GI médio (%) ± erro padrão	ANOVA		
					Tratamentos	<i>p</i>	Conclusões	
CM	12,0	3,48	<30*	Muito fitotóxico	<30*	CB, AR, LA, CO, CA	≈0	Tratamentos diferentes
CB	96,0	45,8	43,9	Fitotóxico	45,0±2,85	AR, LA	0,357	Tratamentos iguais
AR	100	99,5	99,5	Não fitotóxico	103±4,63			
LA	100	96,0	96,0	Não fitotóxico	98,6±7,76			
CO	100	52,0	52,0	Fitotóxico	53,6±3,30			
CV	6,00	27,1	<30*	Muito fitotóxico	<30*			
PT	78,0	5,55	<30*	Muito fitotóxico	<30*			
SE	4,00	4,41	<30*	Muito fitotóxico	<30*			
CA	98,0	76,4	74,9	Moderadamente fitotóxico	74,4±3,92			

*GI determinado com o método I ou método II, mas com resultados com baixo nível de reprodutibilidade.

Os resultados resumidos na Tabela 5.5 mostram que existem materiais com valores de GI próximos de 100%, designadamente as AR e as LA, o que os permite quantificar como materiais não fitotóxicos (ver Tabela 4.2). A CA é moderadamente fitotóxica, a CB e CO são fitotóxicas e, finalmente, o CG, as CV, a PT e a SE são muito fitotóxicos. Contudo, para os extractos de CG, CV, PT e SE, dado o baixo N_{SG} e o reduzido L_R , o cálculo do GI destas amostras têm um significado limitado, tendo-se optado por referir que é <30. De certa forma, pode considerar-se que o GI destas amostras é inferior ao “limite de quantificação”.

O facto de o Método I, apenas conduzir a um valor de GI para cada tratamento, limita a informação estatística dos resultados finais, nomeadamente, não sendo possível calcular a incerteza e a reprodutibilidade inerente aos resultados. Neste sentido foram também analisados pelo Método II (ver secção 4.3.3), o qual permite determinar por exemplo o erro médio padrão. Nesta última abordagem, foi considerado o número de sementes germinadas em cada réplica realizada ($N_{SG,Ti}$; $N_{SG,Bi}$ com $i = 1 - 5$), bem como a média aritmética dos respectivos comprimentos das raízes da réplica ($\bar{L}_{R,Ti}$; $\bar{L}_{R,Bi}$ com $i = 1 - 5$), tanto dos extractos (tratamentos) como dos brancos de controlo. Com estes valores médios, foram calculados 25 valores de GI para cada tratamento, através da combinação dos N_{SG} e \bar{L}_R obtidos das 5 réplicas do extracto e das 5 réplicas do branco de controlo. Deste modo, foram obtidos os resultados da Figura 5.3 que mostra os $GI_{médios}$ calculados para cada resíduo e os respectivos erros médios padrão associados.

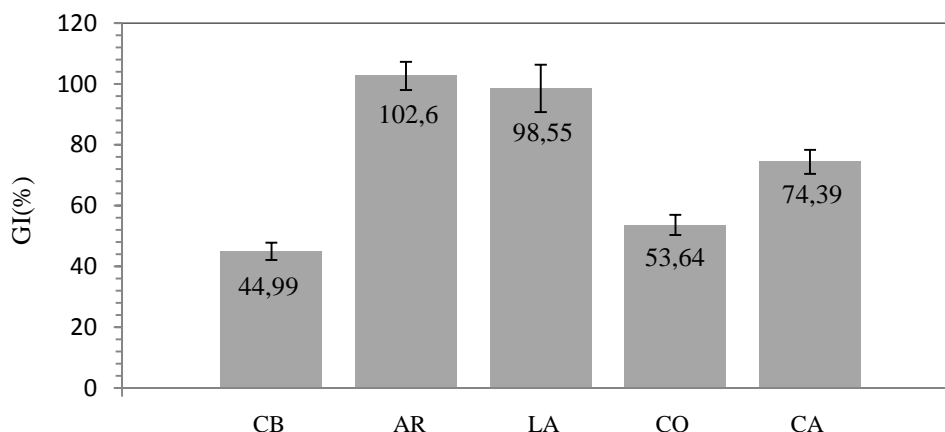


Figura 5.3 – Índice de germinação, GI dos materiais com potencial para valorização através de compostagem.

Os valores de $GI_{\text{médio}}$ calculados permitem concluir que os resíduos AR e LA apresentaram $GI_{\text{médio}}$ estatisticamente semelhantes (Tabela 5.5), apesar dos valores médios serem 102,6% e 98,55% respectivamente. Deve notar-se que estes $GI_{\text{médio}}$ diferem ligeiramente dos calculados pelo Método I (ver Tabela 5.5). De qualquer modo, estes valores indicam igualmente que estes materiais não apresentam substâncias fitotóxicas que inibam a germinação de *Lepidium sativum*. Os extractos de CA conduziram a um $GI_{\text{médio}}$ de 74,39%, e um erro médio padrão de 2,85 %, o que indica que o extracto é moderadamente fitotóxico. Pelo contrário os resíduos de CB e CO apresentam $GI_{\text{médio}}$ relativamente baixos, 44,99% e 53,64% respectivamente, evidenciando ser fitotóxicos. O elevado pH medido nos extractos de CO (pH=9,66) e o baixo valor observado para CB (pH=5,39) podem ter contribuído para estes valores. Segundo Zucconi e de Bertoldi (1987), extractos caracterizados com GI inferior a 60% não podem ser aplicados com segurança nos solos agrícolas (Gómez-Brandón *et al.*, 2008).

Tal como já foi mencionado, não foi calculado o GI para os restantes materiais avaliados, CG, CV, PT e SE, atendendo aos baixos número de sementes germinadas. No entanto, pode concluir-se que estes materiais dão origem a extractos muito fitotóxicos para as plantas.

A avaliação da fitotoxicidade pelo método de germinação de sementes tem a vantagem de dar uma resposta a um número elevado de possíveis causas; tendo, no entanto como desvantagem o facto de não permitir identificar as causas específicas. De facto, a fitotoxicidade pode resultar de inúmeros factores, nomeadamente a presença de substâncias tóxicas às plantas, tais como, metais pesados ou iões amónio, ácidos gordos de baixo peso

molecular ou a acumulação excessiva de sais. Tiquia e Tam (1998) encontraram uma relação curvilínea entre o GI e as propriedades químicas do extracto aquoso, sendo que averiguaram que o aumento dos valores de GI nos testes com plantas correspondia com as diminuições das concentrações de $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ e Cu e Zn extraíveis da água. Gao *et al.* (2010) reportou resultados similares entre os valores de GI e as concentrações de $\text{NH}_4^+ \text{-N}$.

Delgado *et al.* (2010) estudaram a fitotoxicidade de chorume de aves processado e não processado por compostagem, tendo concluído que a compostagem reduz a fitotoxicidade do chorume, e que o chorume não processado possuía sempre elevados níveis de fitotoxicidade, a qual sugerem estar relacionada com concentrações elevadas de iões amónio e sais solúveis. Tiquia (2010) refere, citando Iannotti *et al.* (1994), que em bioensaios com *Lepidium sativum*, se os valores de CE forem superiores a 10 mS/cm nos extractos aquosos, a salinidade pode ser a responsável pela fitotoxicidade observada. Desta forma, os níveis de fitotoxicidade encontrados no CG analisado neste trabalho podem estar similarmente relacionados com esses factores, uma vez que a CE medida foi de 10,5 mS/cm. Por outro lado, é provável que o chorume analisado possa conter concentrações fitotóxicas de iões amónio, uma vez que também contém urina de aves.

A amostra de cinzas volantes (CV) analisada neste trabalho mostrou evidências de elevada fitotoxicidade, uma vez que a germinação foi aproximadamente nula. Estes resultados podem ter resultado dos elevados valores de pH (11,8) do extracto, das elevadas concentrações de metais pesados e do valor extremamente elevado de CE (32,1 mS/cm).

Os agentes *bulking*, PT e SE, apresentaram também uma elevada inibição tanto na germinação, como no crescimento das raízes. Estes resultados foram de algum modo surpreendentes, não tendo sido possível encontrar na literatura uma causa possível que permita explicar os resultados encontrados.

5.2. Avaliação de fitotoxicidade durante a monitorização de processos de compostagem

Neste trabalho, a fitotoxicidade foi também monitorizada ao longo de oito processos de compostagem, que decorreram em reactores de auto-aquecimento (SHR-*self-heating reactor*) à escala laboratorial, com 120 L de capacidade. Nestes oito processos, a mistura inicial foi constituída por resíduos de casca de batata e aparas de relva, em diferentes proporções. Contudo, nos primeiros quatro processos foi adicionado

serradura, como agente *bulking* e nos restantes processos foi adicionada casca de arroz respectivamente.

Em cada caso, os materiais foram ajustados em termos de granulometria e homogeneizados. Enquanto os compostos permaneceram nos reactores, a frequência de homogeneização por revolvimento foi diária; após esse período, os compostos foram colocados em pilhas e revolvidos de 3 em 3 dias.

5.2.1. Processos de compostagem com serradura

Os quatro substratos monitorizados neste estudo são referidos por $R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$, e inicialmente constituídos por casca de batata (CB), aparas de relva (AR) e serradura (SE) em diferentes proporções. A Tabela 5.6 indica a composição e alguns parâmetros físico-químicos (razão C/N, teor de humidade e *free air space*) das misturas iniciais, bem como algumas condições operatórias destes reactores (temperatura do gás de entrada e concentração de O_2 à saída).

Durante os processos de compostagem, os compostos $R_{SE,1}$ e $R_{SE,2}$, permaneceram 18 dias nos reactores e os compostos $R_{SE,3}$ e $R_{SE,4}$, 21 dias. Após esses períodos, os compostos foram retirados dos respectivos reactores e colocados em pilhas para maturação do composto. As amostras analisadas foram recolhidas após o revolvimento dos compostos, nos dias 0, 4, 11, 18, 25, 46 e 81 do processo de compostagem.

Tabela 5.6 – Composição e parâmetros físico-químicos das misturas de compostagem e condições operatórias do SHR, dos processos com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$).

Reactor (R_{SE})	Misturas iniciais de compostagem			Parâmetros			Condições operatórias SHR	
	CB (% w/w)	AR (% w/w)	SE (% w/w)	C/N	H (%)	FAS (%)	Temperatura do gás de entrada (°C)	Concentração de O_2 à saída do reactor
1	53,0	39,8	7,20	19,9	72,4	65,0	≈22	
2	66,0	28,0	6,00	17,6	74,6	55,8	≈22	
3	38,7	53,0	8,30	18,6	70,0	73,0	≈22	>5%
4	34,3	51,6	14,1	19,6	73,5	74,4	≈22	

Durante a monitorização dos processos de compostagem, enquanto as misturas permaneceram nos reactores, foram medidas a temperatura da mistura ($T_{mistura}$), a

concentração de oxigénio (C_{O_2}) e o caudal de ar (Q_{ar}). A Figura 5.4 mostra a evolução destas variáveis nas misturas $R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$, ao longo do tempo de permanência nos SHR.

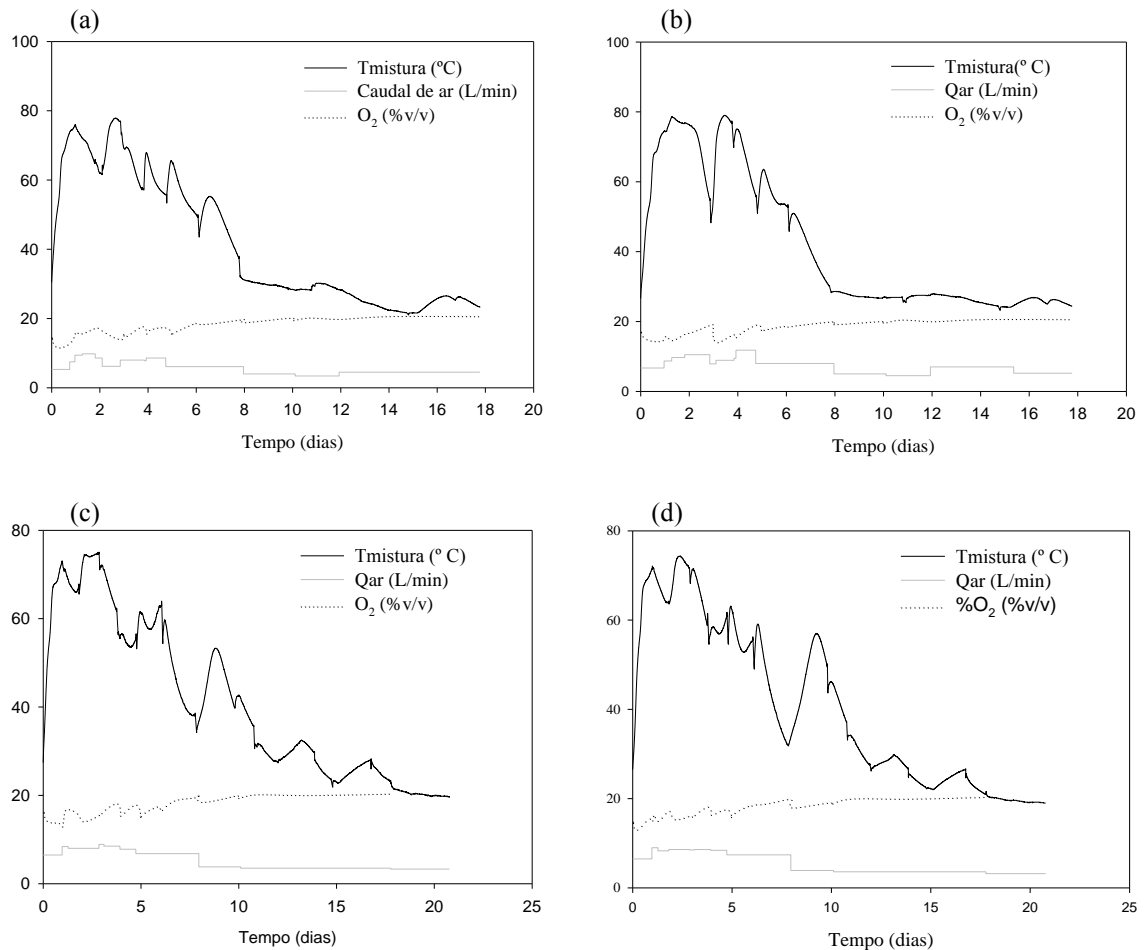


Figura 5.4 – Perfil de temperatura (°C), percentagem volumétrica de oxigénio nos reactores (% O_2) e o seu caudal de entrada, dos compostos (a) $R_{SE,1}$, (b) $R_{SE,2}$, (c) $R_{SE,3}$ e (d) $R_{SE,4}$.

A temperatura e a concentração de oxigénio têm sido considerados como variáveis chave no processo de compostagem, uma vez que tornam evidente a resposta à actividade microbiana, que liberta calor e consome oxigénio (Gajalakshmi e Abbasi, 2007). Assim, para controlo do processo, é efectuado o arejamento das misturas, de modo a fornecer oxigénio e remover o calor excessivo. O ar introduzido nos reactores foi regulado em função da concentração de O_2 no gás à saída, de forma a garantir um valor mínimo de 5%. Segundo Tiquia *et al.* (1996) o nível de arejamento pode ser um factor determinante na destruição/eliminação de compostos tóxicos, em particular do amoníaco.

De qualquer modo, o sistema de compostagem deve atingir temperaturas elevadas, que permitam a destruição de sementes de ervas daninhas e organismos

patogénicos, pois estes são alguns dos aspectos que reflectem o risco na utilização de compostos de baixa qualidade, sendo que a eficácia da sua redução depende do sistema de compostagem usado (Moral *et al.*, 2009). Diversos autores referem que temperaturas superiores a 55-65°C durante algum tempo destroem estas sementes e organismos, tornando o composto final higienizado. Porém, a partir dos 60-70 °C a actividade microbiana torna-se menos activa, podendo levar à morte dos microorganismos, necessários à degradação da matéria orgânica (Bernal *et al.*, 2009). Desta forma, o arejamento deve ser controlado tendo em conta estes factores, para garantir a optimização do processo.

Para facilitar o arejamento e garantir a homogeneidade, os reactores foram revolvidos diariamente, de modo a evitar a formação de zonas anaeróbias, responsáveis pela produção de substâncias fitotóxicas. Wong *et al.* (2001) estudou a compostagem de resíduos de soja com serradura e concluiu que o aumento da frequência de revolvimento do composto tornou mais eficiente a obtenção do composto maturado, limitando e eliminando a formação de componentes fitotóxicos durante a decomposição microbiana na fase termofílica. Adicionalmente, é também conveniente que a mistura inicial apresente uma porosidade apropriada, para manter condições físicas no composto, ao longo de todo o processo, que facilitem as trocas gasosas entre as suas partículas. Para tal, as partículas dos resíduos constituintes da mistura inicial devem apresentar uma distribuição e tamanhos adequados, não só para permitir a eficiência das trocas gasosas entre as partículas, mas também para que a área de superfície destas permita a sua decomposição pelos microorganismos (Bernal *et al.*, 2009). Neste contexto, usualmente são usados alguns materiais, denominados por agentes *bulking*, misturados com os materiais residuais, para ajustar os espaços livres entre as partículas, como também o teor de azoto, a razão C/N ou o teor de humidade. Nestes quatro processos, foi usado serradura com esta finalidade.

Veeken *et al.* (2004) referem que a temperatura por si só pode não ser o melhor indicador de actividade aeróbia, pois resulta do balanço entre a produção e remoção de calor; a inexistência de actividade aeróbia deve ser confirmada através da medição do teor de O₂ dentro do leito de compostagem (Gajalakshmi e Abbasi, 2007).

O desenvolvimento do perfil de temperatura nos reactores, Figura 5.4, permite identificar as diferentes fases do processo e verificar que de um modo geral as variações na temperatura se relacionam inversamente com a percentagem de oxigénio presente nos

reactores. De facto, este é o comportamento esperado, dado que durante a decomposição da matéria orgânica (*MO*), os microorganismos aeróbios consomem o oxigénio e nutrientes e geram biomassa, dióxido de carbono, água e calor. Os reactores atingiram temperaturas termofílicas, superiores a 40 °C, no primeiro dia do processo, e valores máximos superiores a 70 °C nos primeiros 3-4 dias de compostagem. Esta rápida elevação de temperatura resultou da decomposição das moléculas facilmente biodegradáveis. A fase termofílica teve uma duração de cerca de 7 dias, nos quatro reactores. De seguida, teve início a fase de cura ou maturação mesofílica do composto, durante a qual, a percentagem de oxigénio bem como o seu caudal permanecem relativamente constantes, evidenciando a redução da actividade microbiana.

Ao longo do processo, os extractos aquosos dos compostos, utilizados nos testes de germinação de sementes foram caracterizados em termos de pH e condutividade eléctrica (CE), cuja evolução temporal é mostrada na Figura 5.5.

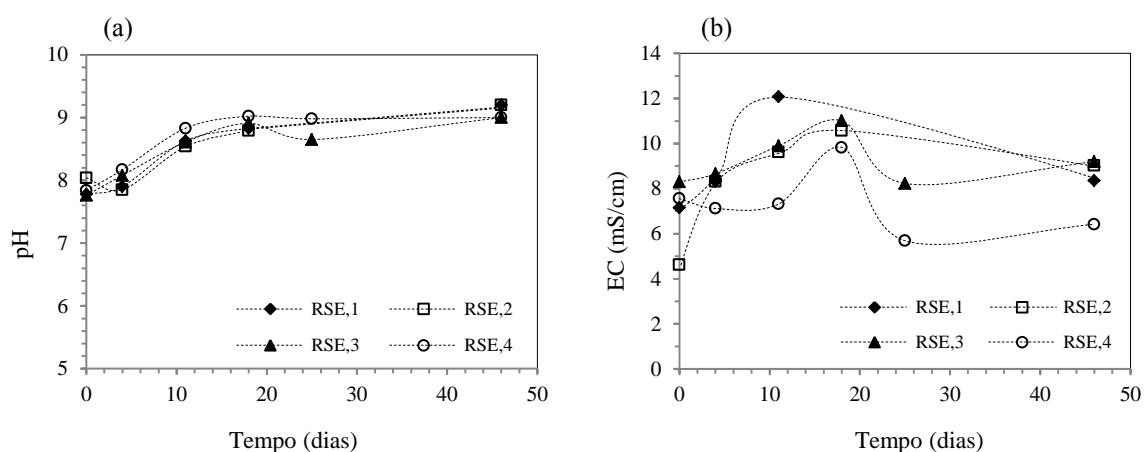


Figura 5.5 – Evolução do (a) pH e da (b) condutividade eléctrica (CE) nos extractos aquosos dos compostos com serradureira ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$) ao longo dos processos de compostagem.

O pH da mistura inicial depende da sua composição, sendo neste caso próximo de 8. O seu perfil é uma função do balanço entre a produção e a decomposição de ácidos. Quando a taxa de produção de ácidos é superior à sua decomposição, ocorre continuamente a acumulação e o pH diminui (Chang e Hsu, 2008). Na Figura 5.5 (a) observa-se desde o início do processo o aumento progressivo do pH, que tende a estabilizar em valores alcalinos próximos de 9, entre os 10-20 dias. Após 46 dias do início do processo, os extractos dos compostos do $R_{SE,1}$ e $R_{SE,2}$ apresentaram valores de pH de 9,2 e os extractos dos compostos dos reactores $R_{SE,3}$ e $R_{SE,4}$, valores de 9,0 respectivamente. Este aumento

poderá ser explicado pela formação de amoníaco derivado da degradação dos ácidos orgânicos e mineralização dos componentes azotados orgânicos, pela actividade microbiana, durante a fase activa da compostagem (Wong *et al.*, 2001; Gómez-Brandón *et al.*, 2008). Estes valores elevados de pH podem ter implicações na fitotoxicidade do composto, principalmente no desenvolvimento de plantas sensíveis ao pH.

A condutividade eléctrica (CE) reflecte o grau de salinidade, que pode indiciar possíveis efeitos fitotóxicos na germinação e crescimento das plantas (Gao *et al.*, 2010a; Gómez-Brandón *et al.*, 2008), tendo um efeito determinante principalmente no estágio de germinação (Hoekstra *et al.*, 2002). Pela Figura 5.5 (b) observa-se que no início do processo a CE dos extractos é relativamente elevada (4,6-8,3 mS/cm). Ao longo dos processos, as tendências são de aumento, tendo-se atingido valores máximos entre 9,8-11,1 mS/cm, no 18º dia. Este aumento da CE poderá estar relacionado com a perda de massa das misturas de compostagem, ocorrendo conseqüentemente uma concentração de sais. A diminuição de CE observada depois do 20º dia pode ser uma consequência da volatilização do amoníaco (Gao *et al.*, 2010a cit. Wong *et al.*, 1995).

A Figura 5.6 ilustra as alterações ocorridas ao nível de dois parâmetros frequentemente monitorizados (a) razão C/N e (b) teor de humidade.

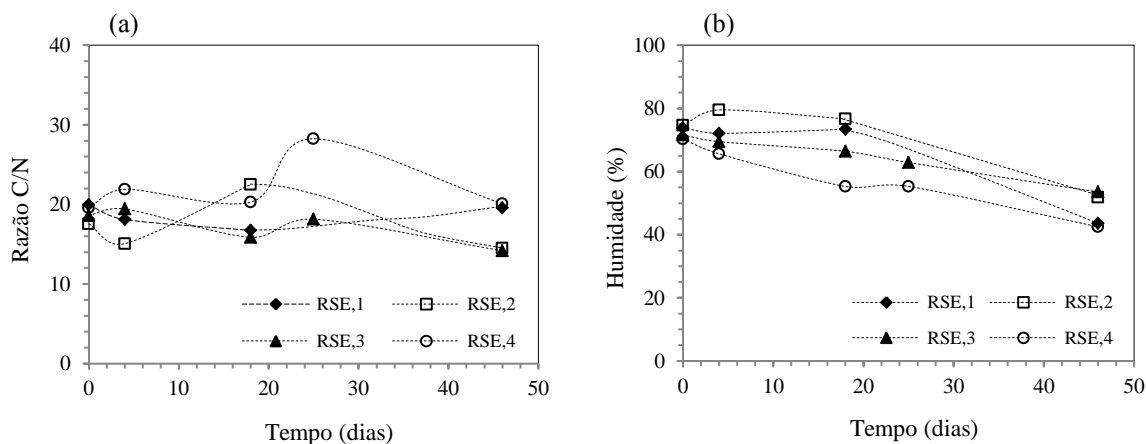


Figura 5.6 – Evolução da (a) razão C/N; (b) do teor de humidade, nos compostos com serradura (R_{SE,1} a R_{SE,4}).

A razão C/N é um parâmetro de controlo habitual nos processos de compostagem, dado que segundo alguns autores pode representar um bom índice do nível da maturação do composto, uma vez que afecta significativamente o crescimento biológico (Galalakshmi and Abbasi, 2007; Fang e Wong, 1999). No processo de compostagem, os

microorganismos envolvidos dependem dos teores de C e N, que usam o carbono como fonte de energia e o azoto é fundamental para síntese de proteínas. Porém, a presença de excesso de carbono retarda as actividades microbiológicas e desta forma aumenta o tempo da fase de maturação do processo. Em contrapartida, o excesso de azoto promove uma rápida decomposição, originando grandes perdas, pela volatilização do amoníaco (Bernal *et al.*, 2009; Gao *et al.*, 2010a). Um processo de compostagem normalmente deve permitir a conservação do azoto e a transformação do carbono orgânico em dióxido de carbono e substâncias húmicas (Batista e Batista, 2007). Deste modo, à medida que o processo progride a razão C/N tende a diminuir. Segundo diversos autores, a razão C/N inicial deve estar compreendida entre 25-35 e nos compostos maturados deve ser 10-20 (Galalakshmi and Abbasi, 2007; Bernal *et al.*, 2009). Pela Figura 5.6 (a), pode observar-se, que as razões C/N iniciais apresentaram valores entre os 18 e 20 e após 46 dias valores entre 15 e 20. Deste modo, pode concluir-se que este parâmetro não teve uma variação significativa, pelo que nestes casos não será um bom indicador de maturação dos compostos.

A humidade é também um dos parâmetros chave da compostagem, uma vez que a água é indispensável para o desenvolvimento dos microrganismos e permite o transporte de nutrientes das partículas para o seu interior. Contudo, o teor de humidade não deve exceder os 65%, pois a água poderá preencher os espaços vazios, dificultando a passagem de oxigénio e conduzindo ao aparecimento de zonas anaeróbias e consequentemente à produção de odores e de lixiviados. Pelo contrário, caso seja inferior a 35-40%, origina a redução da taxa de decomposição e se for inferior a 30% ocorre a inibição da actividade microbiana (Galalakshmi and Abbasi, 2007; Trautmann e Krasny, 1997). A Figura 5.6 (b) mostra a evolução da humidade medida, onde se observa que os seus valores iniciais de 70-75% diminuíram para 43-54%, após 46 dias do início do processo. Assim, é de realçar que apesar dos valores iniciais terem sido superiores aos valores recomendados como óptimos (60-70%), durante o processo a evolução foi a esperada, dado que ocorreu uma diminuição progressiva. Deve notar-se que a elevada humidade inicial dos materiais é sobretudo água estrutural, ou seja, não se trata de água adsorvida às partículas. Desta forma, apesar deste parâmetro estar aparentemente fora da gama pretendida, não foi crítico, dado que os processos evoluíram normalmente.

Para monitorizar a fitotoxicidade ao longo destes processos, as amostras recolhidas ao longo do tempo foram usadas para obter extractos aquosos utilizados nos

testes de germinação com *Lepidium sativum*, seguindo a metodologia apresentada na subsecção 4.2.3. É importante realçar que foram sempre efectuadas 5 réplicas, com excepção dos testes dos extractos do 81º dia, para os quais foram efectuadas apenas 3 réplicas. Esta redução no número de réplicas resultou da análise estatística apresentada no anexo B, onde se demonstrou que, na generalidade, as cinco réplicas dos brancos eram estatisticamente iguais. Este factor, bem como o factor tempo, justificaram a opção de redução do número de réplicas.

Na Figura 5.7 está representado o número de sementes germinadas, N_{SG} , ao longo dos quatro processos de compostagem, onde cada caixa mostra a variabilidade e a tendência central do N_{SG} das réplicas de cada extracto. Na figura não se representaram todas as amostras avaliadas para cada processo (0, 4, 11, 18, 25, 46 e 81) (os compostos $R_{SE,1}$ e $R_{SE,2}$, não foram avaliados nos dias 25 e 81). As que estão em falta apresentaram uma germinação nula ou aproximadamente nula.

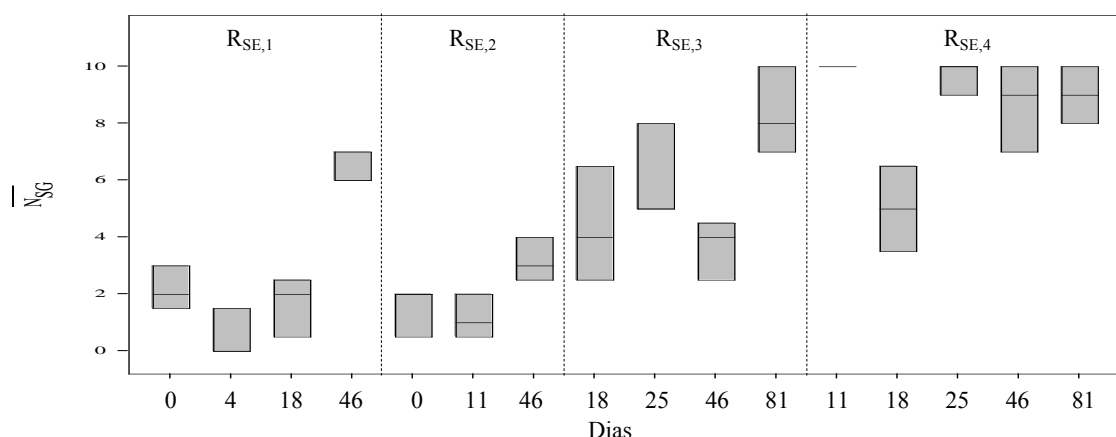


Figura 5.7 – Número médio de sementes germinadas, \bar{N}_{SG} , nos extractos dos compostos com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$), ao longo do tempo.

Pelo diagrama observa-se que existe alguma variabilidade no N_{SG} de cada extracto. Por outro lado, de um modo geral verifica-se um aumento no N_{SG} ao longo dos processos de compostagem.

Ao nível do comprimento das raízes germinadas, L_R , encontram-se representados na Figura 5.8 os resultados experimentais das cinco réplicas de alguns extractos. Tal como anteriormente, não foram representados os resultados obtidos em alguns dos extractos, pois nestes não ocorreu germinação, ou as poucas sementes que germinaram apresentaram um comprimento de raiz muito reduzido, tornando-se assim

inútil representar os seus L_R no diagrama de caixa-e-bigodes. A figura mostra que apenas em alguns casos, existem valores *outliers*, estando estes sempre bastante próximos dos valores máximos e mínimos respectivos. Assim, optou-se novamente por não excluir nenhum valor experimental.

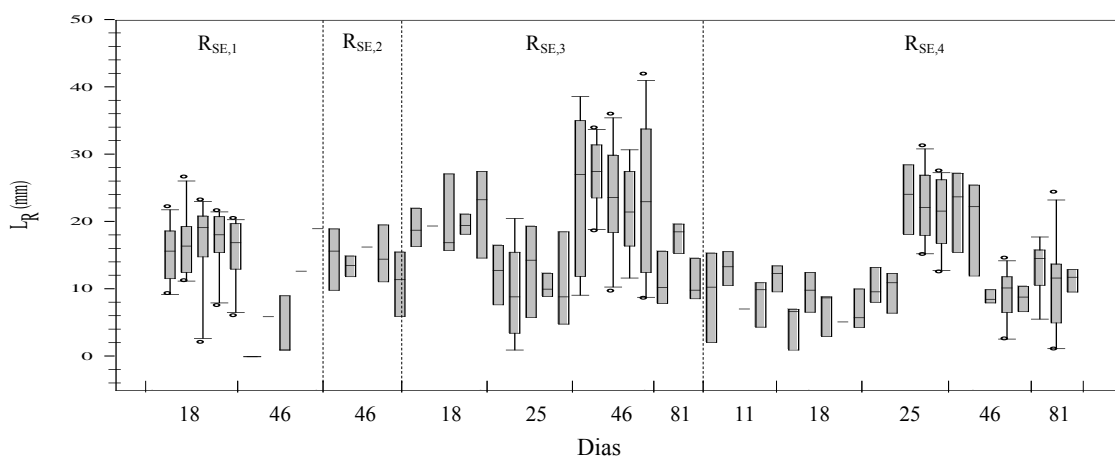


Figura 5.8 – Comprimento das raízes, L_R , nas réplicas dos extractos dos compostos com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$) ao longo do tempo.

Para comparar os \bar{L}_R entre réplicas de cada tratamento procedeu-se similarmemente à análise de variância. Apesar de todas as dificuldades experimentais ao comparar os \bar{L}_R entre as réplicas, cujos valores se encontram resumidos na Tabela 5.7, verificou-se que em todos os casos as réplicas são estatisticamente iguais, em cada extracto ($p > 0,05$). Este facto permite concluir que existe um bom nível de reprodutibilidade entre réplicas obtidas ao longo do processo de compostagem.

Tabela 5.7 – Resumo de ANOVA, relativo ao \bar{L}_R entre réplicas de cada extracto dos compostos com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$).

Tratamento	\bar{L}_R (mm)	p	Conclusões	Tratamento	\bar{L}_R (mm)	p	Conclusões
$R_{SE,1}$ (dia 18)	10,1	0,101	Réplicas iguais	$R_{SE,3}$ (dia 81)	8,80	0,841	Réplicas iguais
$R_{SE,1}$ (dia 46)	12,4	0,153	Réplicas iguais	$R_{SE,4}$ (dia 11)	16,3	0,875	Réplicas iguais
$R_{SE,2}$ (dia 46)	8,62	0,145	Réplicas iguais	$R_{SE,4}$ (dia 18)	20,4	0,915	Réplicas iguais
$R_{SE,3}$ (dia 18)	13,5	0,715	Réplicas iguais	$R_{SE,4}$ (dia 25)	26,0	0,474	Réplicas iguais
$R_{SE,3}$ (dia 25)	11,0	0,882	Réplicas iguais	$R_{SE,4}$ (dia 46)	27,7	0,788	Réplicas iguais
$R_{SE,3}$ (dia 46)	8,22	0,264	Réplicas iguais	$R_{SE,4}$ (dia 81)	12,0	0,530	Réplicas iguais

Aplicando o Método I, foram também calculados os parâmetros RSG, RRG e GI ao longo do tempo. Estes parâmetros são resumidos na Tabela 5.8, devendo referir-se que os valores de $GI_{\text{médio}}$ relativamente aos quais se indica o erro médio padrão, foram calculados pelo Método II. Os valores de $GI_{\text{médio}}$ determinados ao longo do tempo foram representados na Figura 5.9.

Tabela 5.8 – Índice de germinação, GI médio, ao longo dos quatro processos de compostagem com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$).

Dia	$R_{SE,1}$			$R_{SE,2}$			$R_{SE,3}$			$R_{SE,4}$		
	RSG	RRG	$GI_{\text{médio}}$	RSG	RRG	$GI_{\text{médio}}$	RSG	RRG	$GI_{\text{médio}}$	RSG	RRG	$GI_{\text{médio}}$
0	20,0	3,92	<30*	14,0	3,92	<30*	0	0	<30*	0	0	<30*
4	6,00	3,73	<30*	0,00	0,00	<30*	0	0	<30*	0	0	<30*
11	2,00	3,02	<30*	12,0	7,16	<30*	0	0	<30*	100	49,8	50,1±1,70
18	16	37,0	<30*	0,00	0,00	<30*	44,0	50,3	<30*	50,0	72,0	36,7±6,71
25	-	-	-	-	-	-	62,0	42,5	<30*	96,0	92,0	89,7±5,81
46	64,0	51,3	32,8±2,87	32,0	34,4	<30*	36,0	31,9	<30*	86,0	88,7	77,1±6,83
81	-	-	-	-	-	-	83,3	48,0	40,2±6,64	90,0	65,5	59,2±5,28

*GI determinado com a metodologia prevista, mas com baixo nível de reprodutibilidade.

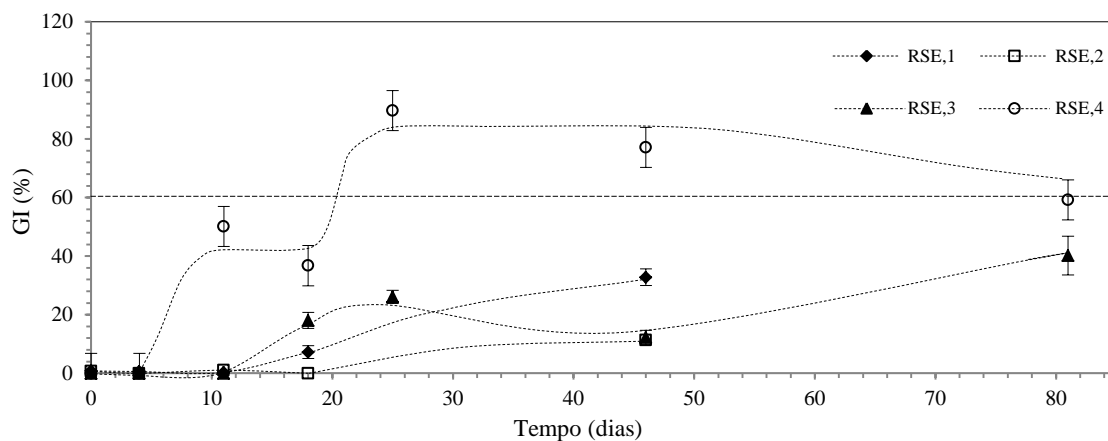


Figura 5.9 – Evolução do $GI_{\text{médio}}$ durante os processos de compostagem dos compostos com serradura ($R_{SE,1}$ a $R_{SE,4}$)

Estes resultados mostraram, que a germinação de sementes na mistura inicial dos quatro reactores foi praticamente nula. Este facto era, de certa forma esperado dado que a serradura e a casca de batata tinham revelado GI também muito baixos (ver Tabela 5.5). Os valores de $GI_{\text{médio}}$ dos compostos $R_{SE,1}$, $R_{SE,2}$ e $R_{SE,3}$ permaneceram muito baixos até ao 18º dia. A razão destes valores poderá ser atribuída à formação de substâncias

fitotóxicas durante a fase activa da compostagem, tais como iões amónio, ácidos gordos de baixo peso molecular (Fang e Wong, 1999) e ácidos fenólicos (Wu e Ma, 2001). Por outro lado, os elevados valores de CE medidos nos extractos das amostras dos dias 11 e 18 (10-12 mS/cm) também podem contribuir para estes resultados. De facto, a espécie *Lepidium sativum* utilizada, tem sido referenciada em inúmeros estudos, como sendo muito sensível à toxicidade das substâncias referidas. Os valores de $GI_{\text{médio}}$ obtidos no composto $R_{SE,4}$, evidenciaram uma evolução mais favorável deste índice, sendo que no 11º dia apresentou um $GI_{\text{médio}}$ de 50,10 %. Ao 25º dia do processo, optou-se por avaliar apenas a fitotoxicidade dos compostos $R_{SE,3}$ e $R_{SE,4}$, dado que ambos apresentavam características físicas favoráveis, ao contrário dos restantes compostos ($R_{SE,1}$ e $R_{SE,2}$), que não pareciam estar a evoluir como esperado ao longo do processo. Na verdade, para além de valores extremamente baixos de GI, alguns parâmetros pareciam desajustados nestes casos. Nomeadamente apresentavam granulometria muito grosseira, excesso de humidade e odor desagradável (possivelmente a amoníaco). Após 46 dias, os compostos $R_{SE,1}$, $R_{SE,2}$ e $R_{SE,3}$ apresentaram valores de GI muito próximos ou inferiores a 30%, indiciando que os compostos ainda se encontravam muito fitotóxicos, e o composto $R_{SE,4}$ com cerca de 60%, limite a partir do qual se considera que o composto é moderadamente fitotóxico, e pode ser aplicado nos solos agrícolas com segurança (Gómez-Brandón *et al.*, 2008 cit. Zucconi e de Bertoldi, 1987).

A análise de variância realizada aos $GI_{\text{médios}}$, dos compostos $R_{SE,3}$ e $R_{SE,4}$, obtidos no final de 81 dias, conduziu a $p=9 \times 10^{-5}$ ($<0,05$) e como tal pode afirmar-se estatisticamente que os compostos atingiram graus de maturação diferentes.

Em suma, pode concluir-se os valores de $GI_{\text{médios}}$ obtidos no composto $R_{SE,4}$ se destacaram positivamente em relação aos restantes compostos analisados. Uma vez que as condições operatórias foram idênticas nos quatro processos e estes decorreram simultaneamente, as diferenças na fitotoxicidade podem estar relacionadas com as proporções da sua mistura inicial. Assim, o facto de o composto $R_{SE,4}$, ser constituído pela maior proporção de serradura (cerca de 14%) e conseqüentemente com a maior percentagem de espaços livres entre partículas (FAS) na mistura inicial, deverá ter facilitado as trocas gasosas, favorecendo o metabolismo aeróbio, tornando-o dominante, e desta forma melhorando a eficiência da decomposição de substâncias fitotóxicas produzidas durante a compostagem.

5.2.2. Processos de compostagem com casca de arroz

Neste conjunto de experiências, os substratos iniciais foram constituídos por casca de batata, aparas de relva e casca de arroz como agente *bulking* em diferentes proporções. Na Tabela 5.9 encontram-se indicadas as composições das misturas iniciais destes quatro processos, alguns parâmetros físico-químicos, nomeadamente o teor de humidade e o *free air space* das misturas iniciais, bem como as condições operatórias dos respectivos reactores. Os compostos agora referenciados por $R_{CA,1}$ a $R_{CA,4}$, permaneceram no reactor 25 dias e as amostras para análise foram recolhidas após o revolvimento dos compostos, nos dias 0, 4, 11, 18, 25 e 39 do processo de compostagem.

Tabela 5.9 – Composição das misturas de compostagem, parâmetros físico-químicos e condições operatórias do SHR, dos processos com casca de arroz ($R_{CA,1}$ a $R_{CA,4}$).

Reactor (R_{CA})	Misturas iniciais de compostagem			Parâmetros		Condições operatórias SHR	
	CB (% w/w)	AR (% w/w)	CA (% w/w)	H (%)	FAS (%)	Temp. de entrada do gás (°C)	Concentração de O ₂ à saída do reactor
1	58,7	19,4	21,9	70,6	80,0	22-23	
2	50,6	32,4	17,0	69,6	81,0	22-23	
3	66,0	8,10	25,9	64,3	81,5	22-23	>5 %
4	74,0	8,30	17,7	73,6	75,0	22-23	

Durante o tempo em que as misturas permaneceram nos reactores, foram monitorizados os parâmetros: temperatura da mistura ($T_{mistura}$), temperatura ambiente ($T_{ambiente}$) concentração de oxigénio (%O₂) e caudal de ar (Q_{ar}). A Figura 5.10 mostra os perfis destas variáveis ao longo de 25 dias. Com base nesta figura, observa-se uma correlação inversa entre a temperatura da mistura e a concentração de oxigénio nos quatro reactores, em resposta à actividade microbiana. Os perfis de temperatura revelam que em todos os reactores foram atingidas temperaturas termofílicas antes do primeiro dia de compostagem ($T > 40$ °C). As temperaturas máximas, nas misturas $R_{CA,1}$, $R_{CA,2}$, e $R_{CA,4}$ atingiram os 62-63 °C, as quais ocorreram entre o primeiro e o terceiro dia do processo. Na mistura $R_{CA,3}$ o máximo de temperatura atingiu os 67 °C no final do primeiro dia, devendo-se este facto a um corte não propositado no caudal de ar. Após 7-8 dias, as temperaturas dos reactores diminuíram para valores inferiores a 40 °C, indicando que a fase activa da compostagem, terminou, tendo iniciado a fase mesofílica ou de maturação. A temperatura

no interior dos reactores atingiu a temperatura ambiente, ao 19º dia no caso do composto $R_{CA,1}$ e nos restantes compostos ao 24-25º dia.

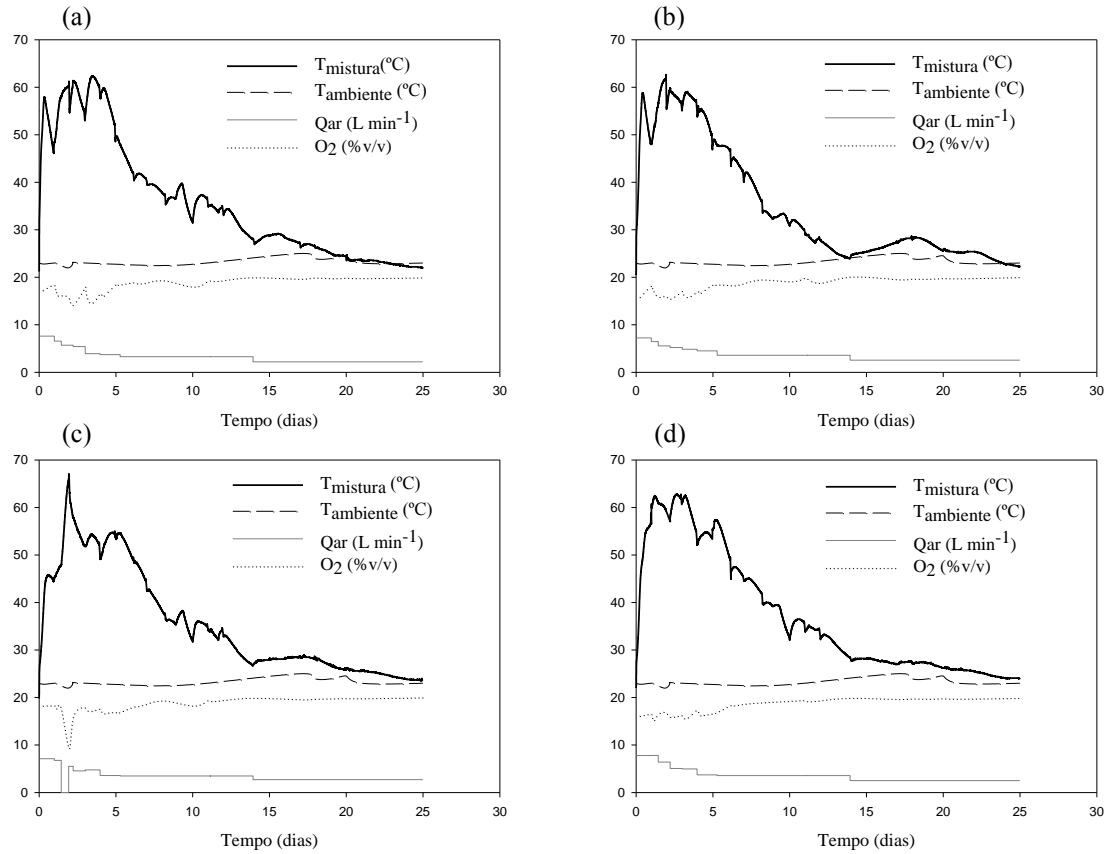


Figura 5.10 – Perfil de temperatura da mistura e ambiente (°C), percentagem volumétrica de oxigénio nos reactores (% O_2) e o seu caudal de entrada de ar, dos reactores (a) $R_{CA,1}$, (b) $R_{CA,2}$, (c) $R_{CA,3}$ e (d) $R_{CA,4}$.

Ao longo destes processos, foram também medidos o teor de humidade (H) e o *free air space* (FAS), representados na Figura 5.11.

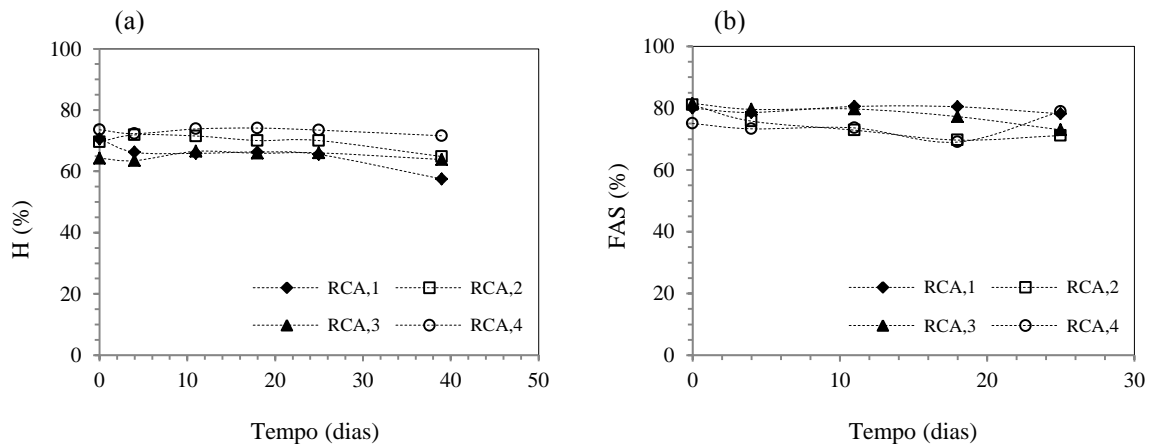


Figura 5.11 – Evolução do (a) teor de humidade e do (b) *free air space*, nos compostos com casca de arroz ($R_{CA,1}$ a $R_{CA,4}$).

De uma maneira geral, tanto o teor de humidade (Figura 5.11 (a)), como o FAS (Figura 5.11 (b)) diminuíram suavemente os seus valores. Do ponto de vista do teor de humidade, estes apresentaram valores ligeiramente elevados, comparados aos valores geralmente considerados óptimos. Em contrapartida, do ponto de vista do FAS, que traduz os espaços livres entre as partículas da massa de compostagem, o facto de os seus valores serem elevados, relativamente aos reportados na literatura (valores mínimos de 30 % e valores óptimos entre 30 a 90 %, dependendo das matérias primas (Ruggieri et al., 2009)), bem como o facto dos seus valores se terem mantido ou apenas reduzido muito ligeiramente ao longo do tempo, significa que a mistura inicial era porosa e não ocorreu muita compactação do material. Este factor é favorável ao processo e pelo que se pode admitir que o ar circulou entre as suas partículas.

A avaliação de fitotoxicidade nestes compostos envolveu apenas três réplicas, contrariamente às cinco réplicas realizadas nos ensaios anteriores. Esta redução teve por base a análise feita no anexo B.

A Figura 5.12 ilustra o \bar{N}_{SG} nos testes de germinação durante estes quatro processos de compostagem, em que cada caixa representa os resultados obtidos nas três réplicas de cada extracto. Através do diagrama pode concluir-se que não existe uma grande variação no \bar{N}_{SG} entre as réplicas de cada extracto, como também não existe entre extractos do mesmo reactor ao longo do tempo. A ANOVA mostrou, à excepção de dois extractos ($R_{CA,2}$ e $R_{CA,4}$ do dia 18), que o \bar{N}_{SG} entre réplicas é estatisticamente igual ($p>0,05$).

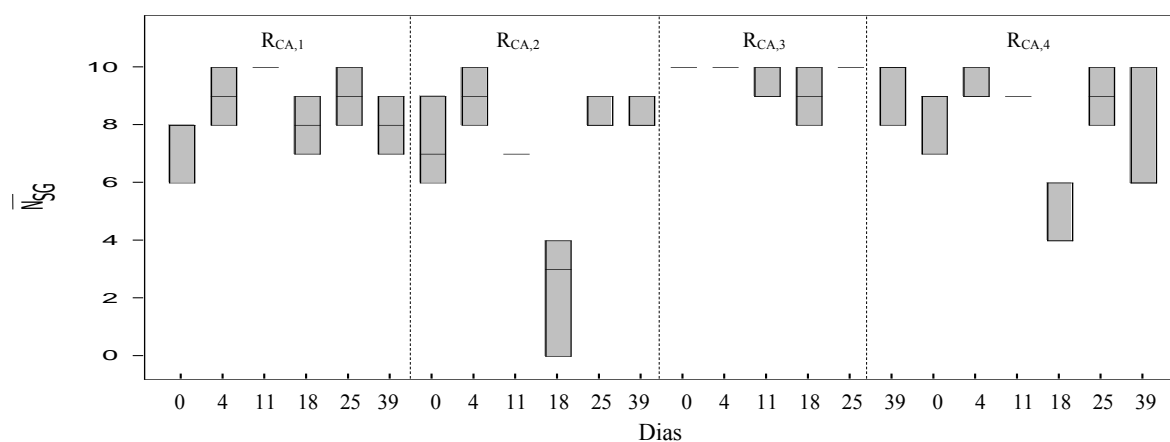


Figura 5.12 – Número médio de sementes germinadas, \bar{N}_{SG} , nos extractos dos compostos com casca de arroz ($R_{CA,1}$ a $R_{SE,4}$), ao longo do tempo.

No diagrama apresentado na Figura 5.13, encontram-se representados os L_R obtidos em todas as réplicas dos quatro processos de compostagem ao longo do tempo. Relativamente aos valores experimentais considerados *outliers* e identificados na Figura 5.13, os mesmos não foram removidos dos cálculos efectuados, pelas razões anteriormente referidas.

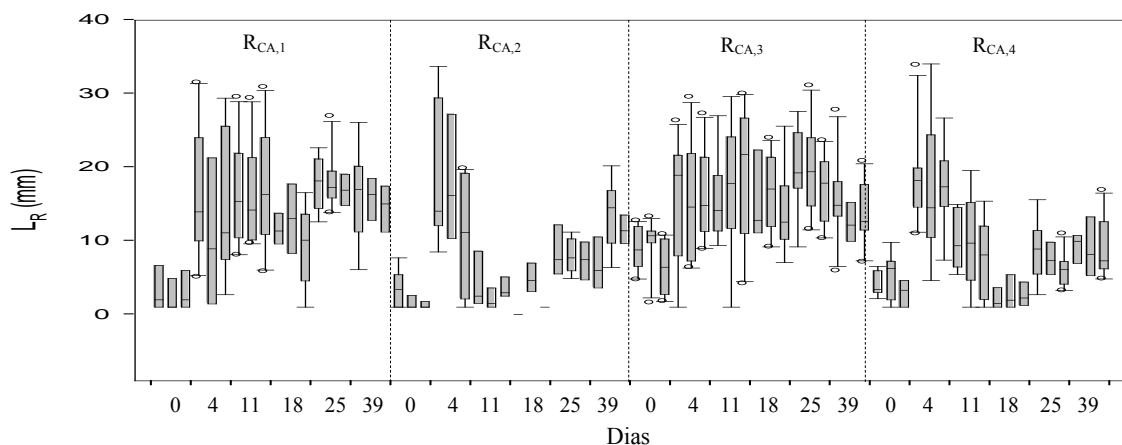


Figura 5.13 – Comprimento das raízes, L_R , nas réplicas dos extractos dos compostos com casca de arroz ($R_{CA,1}$ a $R_{CA,4}$) ao longo do tempo.

Tabela 5.10 – Resumo ANOVA, relativo ao \bar{L}_R das réplicas dos extractos dos compostos com casca de arroz ($R_{CA,1}$ a $R_{SE,4}$).

Tratamento	\bar{L}_R (mm)	p	Conclusões	Tratamento	\bar{L}_R (mm)	p	Conclusões
$R_{CA,1}$ (dias 0)	3,08	0,717	Réplicas iguais	$R_{CA,3}$ (dias 0)	8,42	0,068	Réplicas iguais
$R_{CA,1}$ (dias 4)	14,6	0,501	Réplicas iguais	$R_{CA,3}$ (dias 4)	15,7	0,931	Réplicas iguais
$R_{CA,1}$ (dias 11)	16,6	0,968	Réplicas iguais	$R_{CA,3}$ (dias 11)	17,3	0,642	Réplicas iguais
$R_{CA,1}$ (dias 18)	11,1	0,36	Réplicas iguais	$R_{CA,3}$ (dias 18)	14,9	0,834	Réplicas iguais
$R_{CA,1}$ (dias 25)	17,8	0,978	Réplicas iguais	$R_{CA,3}$ (dias 25)	18,8	0,431	Réplicas iguais
$R_{CA,1}$ (dias 39)	15,3	0,529	Réplicas iguais	$R_{CA,3}$ (dias 39)	14,1	0,373	Réplicas iguais
$R_{CA,2}$ (dias 0)	2,34	0,131	Réplicas iguais	$R_{CA,4}$ (dias 0)	4,24	0,272	Réplicas iguais
$R_{CA,2}$ (dias 4)	15,9	0,094	Réplicas iguais	$R_{CA,4}$ (dias 4)	17,8	0,932	Réplicas iguais
$R_{CA,2}$ (dias 11)	3,52	0,283	Réplicas iguais	$R_{CA,4}$ (dias 11)	9,15	0,445	Réplicas iguais
$R_{CA,2}$ (dias 18)	3,23	0,102	Réplicas iguais	$R_{CA,4}$ (dias 18)	2,66	0,782	Réplicas iguais
$R_{CA,2}$ (dias 25)	8,07	0,790	Réplicas iguais	$R_{CA,4}$ (dias 25)	7,37	0,205	Réplicas iguais
$R_{CA,2}$ (dias 39)	10,7	0,008	Réplicas diferentes	$R_{CA,4}$ (dias 39)	9,10	0,988	Réplicas iguais

Por análise do diagrama (Figura 5.13), observa-se que os valores de L_R apresentam uma maior variabilidade nas suas réplicas, em comparação com os restantes extractos avaliados ao longo deste trabalho. Todavia, os resultados da ANOVA que compara os \bar{L}_R entre as três réplicas (Tabela 5.10), mostram que à excepção das réplicas do extracto do composto

R_{CA,2}, no dia 39, todas as outras podem ser consideradas estatisticamente iguais entre si ($p>0,05$).

Os parâmetros RSG e RRG calculados pelo Método I e o GI_{médio} calculado pelo Método II, para as misturas iniciais e durante os processos de compostagem com casca de arroz (R_{CA,1} a R_{CA,4}) estão resumidos na Tabela 5.11.

Tabela 5.11 – Índice de germinação (GI_{médio}), percentagem relativa de germinação de sementes (RSG) e percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG) dos processos de compostagem (R_{CA,1} a R_{CA,4}).

Dia	R _{CA,1}			R _{CA,2}			R _{CA,3}			R _{CA,4}		
	RSG	RRG	GI _{médio}	RSG	RRG	GI _{médio}	RSG	RRG	GI _{médio}	RSG	RRG	GI _{médio}
0	73,3	16,4	50,07± 6,37	73,3	12,0	<30*	100	45,9	46,1±6,91	83,3	22,7	<30*
4	90,0	78,9	72,3± 14,5	90,0	88,3	78,4±12,4	100	85,5	85,9±5,31	93,3	97,0	91,1±7,72
11	100	90,6	91,1±5,28	70,0	17,6	<30*	93,3	94,1	88,5±10,4	90,0	49,8	45,1±5,73
18	80,0	59,5	48,7±5,15	23,3	10,4	<30*	90,0	79,2	73,9±10,1	46,7	13,7	<30*
25	90,0	94,4	87,7±8,38	83,3	42,8	36,8±2,97	100	100	103,3±8,2	90,0	39,3	37,7±3,68
39	80,0	81,3	67,1±7,70	83,3	56,0	48,7±12,6	93,3	74,3	72,2±11,4	73,3	48,2	36,5±7,98

*GI determinado com a metodologia prevista, mas obtiveram baixo nível de reprodutibilidade.

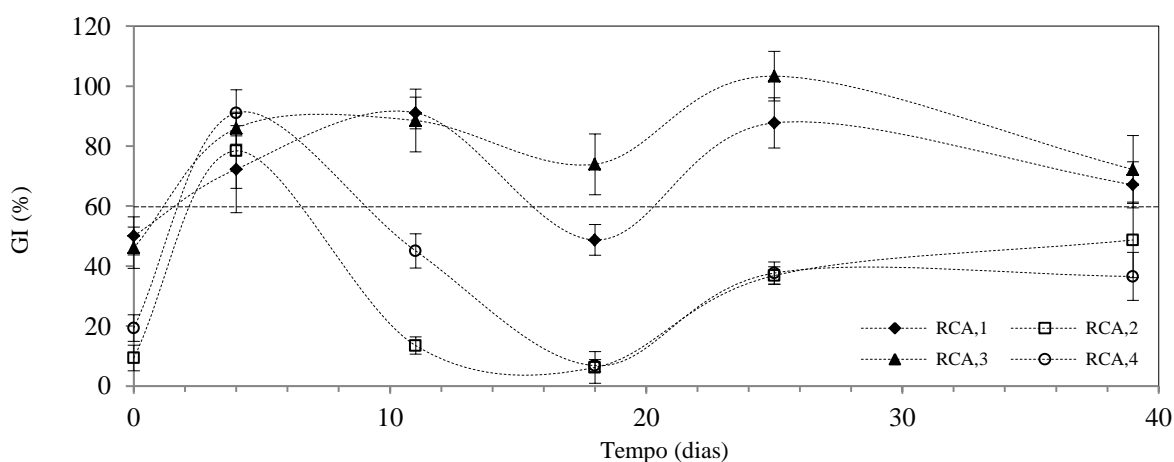


Figura 5.14 – Índice de germinação (GI_{médio}), ao longo dos processos de compostagem com casca de arroz (R_{CA,1}- a R_{CA,4}).

Da análise dos parâmetros obtidos na Tabela 5.11 e mediante a observação da evolução do GI durante os processos de compostagem, representados na Figura 5.14, é realçado que os compostos R_{CA,1} e R_{CA,3} e os compostos R_{CA,2} e R_{CA,4} seguem comportamentos idênticos ao longo dos processos. As análises de variância realizadas e resumidas na Tabela 5.12 reforçam esta ideia, dado que, comparando os GI_{médio} entre os extractos dos diferentes compostos no decorrer dos processos de compostagem, os seus

resultados demonstram que os compostos $R_{CA,1}$ e $R_{CA,3}$ devem ser considerados iguais nos dias 0, 4, 11 e 39 ($p>0,05$) e os compostos $R_{CA,2}$ e $R_{CA,4}$ nos dias 4, 18, 25 e 39 ($p>0,05$). Tendo em conta a composição das misturas, este facto está relacionado com a percentagem de CA usada em cada caso (ver Tabela 5.9).

Tabela 5.12 – Resumo ANOVA aos $GI_{\text{médio}}$ obtidos ao longo do tempo nos processos de compostagem com casca de arroz ($R_{CA,1}$ a $R_{CA,4}$).

Tratamento	p	Conclusões
$R_{CA,1}$ (dias 0, 4, 11, 18, 25 e 39)	$5,88 \times 10^{-12}$	Tratamentos diferentes
$R_{CA,1}$ (dias 0 e 18)	0,705	Tratamentos iguais
$R_{CA,1}$ (dias 4 e 39)	0,474	Tratamentos iguais
$R_{CA,2}$ (dias 0, 4, 11, 18, 25 e 39)	$4,19 \times 10^{-19}$	Tratamentos diferentes
$R_{CA,2}$ (dias 0 e 18)	0,278	Tratamentos iguais
$R_{CA,2}$ (dias 25 e 39)	0,0505	Tratamentos iguais
$R_{CA,3}$ (dias 0, 4, 11, 18, 25 e 39)	$2,99 \times 10^{-12}$	Tratamentos diferentes
$R_{CA,3}$ (dias 0 e 4)	0,621	Tratamentos iguais
$R_{CA,3}$ (dias 18 e 39)	0,795	Tratamentos iguais
$R_{CA,4}$ (dias 0, 4, 11, 18, 25 e 39)	$2,88 \times 10^{-27}$	Tratamentos diferentes
$R_{CA,4}$ (dias 11, 25 e 39)	0,063	Tratamentos iguais
Dia 0 ($R_{CA,1}$, $R_{CA,2}$, $R_{CA,3}$ e $R_{CA,4}$)	$6,67 \times 10^{-14}$	Tratamentos diferentes
Dia 0 ($R_{CA,1}$ e $R_{CA,3}$)	0,343	Tratamentos iguais
Dia 4 ($R_{CA,1}$, $R_{CA,2}$, $R_{CA,3}$ e $R_{CA,4}$)	0,036	Tratamentos iguais
Dia 4 ($R_{CA,1}$ e $R_{CA,3}$)	0,0584	Tratamentos iguais
Dia 4 ($R_{CA,2}$ e $R_{CA,4}$)	0,0633	Tratamentos iguais
Dia 11 ($R_{CA,1}$, $R_{CA,2}$, $R_{CA,3}$ e $R_{CA,4}$)	$1,45 \times 10^{-19}$	Tratamentos diferentes
Dia 11 ($R_{CA,1}$ e $R_{CA,3}$)	0,621	Tratamentos iguais
Dia 18 ($R_{CA,1}$, $R_{CA,2}$, $R_{CA,3}$ e $R_{CA,4}$)	$3,02 \times 10^{-17}$	Tratamentos diferentes
Dia 18 ($R_{CA,2}$ e $R_{CA,4}$)	0,76	Tratamentos iguais
Dia 25 ($R_{CA,1}$, $R_{CA,2}$, $R_{CA,3}$ e $R_{CA,4}$)	$3,63 \times 10^{-19}$	Tratamentos diferentes
Dia 25 ($R_{CA,2}$ e $R_{CA,4}$)	0,688	Tratamentos iguais
Dia 39 ($R_{CA,1}$, $R_{CA,2}$, $R_{CA,3}$ e $R_{CA,4}$)	$4,99 \times 10^{-6}$	Tratamentos diferentes
Dia 39 ($R_{CA,1}$ e $R_{CA,3}$)	0,403	Tratamentos iguais
Dia 39 ($R_{CA,2}$ e $R_{CA,4}$)	0,0786	Tratamentos iguais

Deve notar-se que as misturas iniciais dos compostos $R_{CA,2}$ e $R_{CA,4}$, apresentaram baixos valores de $GI_{\text{médio}}$, 9,38 e 19,35% respectivamente, enquanto que os compostos $R_{CA,1}$ e $R_{CA,3}$ iniciaram o processo com valores mais favoráveis, 50,07 e 46,09 %, respectivamente, considerados estatisticamente iguais ($p>0,05$). As misturas que apresentaram valores mais baixos coincidiram com as misturas que tinham menor proporção de casca de arroz na sua composição (cerca de 17%). Após 4 dias de processo,

em todos os extractos o seu $GI_{\text{médio}}$ aumentou, apresentando valores compreendidos entre 72-91%. Ao 18º dia, todas as misturas apresentaram um decréscimo nos $GI_{\text{médio}}$, e que poderá ser atribuída à formação de substâncias fitotóxicas durante a fase activa da compostagem que ainda não tenham sido volatilizadas ou decompostas.

Relativamente aos compostos $R_{CA,2}$ e $R_{CA,4}$, os valores de $GI_{\text{médio}}$ mostraram ser estatisticamente iguais nos restantes dias de amostragem (dia 25 e 39) e não se verificou estatisticamente uma evolução no valor de $GI_{\text{médio}}$ entre estes dias. Na última amostragem, estes compostos apresentaram $GI_{\text{médio}}$ de 48,70 e 36,54 %, respectivamente; que indicam que os mesmos compostos são ainda fitotóxicos e não estão maturados. Os outros dois compostos, $R_{CA,1}$ e $R_{CA,3}$, aumentaram para valores bastante elevados após 25 dias de processo, 88 e 103 %, respectivamente, indicando assim que os compostos estariam livres de fitotoxinas. Porém ao 39º dia observou-se um novo decréscimo, para 67,08 e 72,20 % respectivamente, considerados estatisticamente iguais ($p>0,05$). Deste modo, contrariamente aos compostos $R_{CA,2}$ e $R_{CA,4}$, os valores obtidos indicam que os compostos $R_{CA,1}$ e $R_{CA,3}$ são moderadamente fitotóxicos, contudo também ainda não se encontram maturados.

Analisando os valores de $GI_{\text{médio}}$ e os parâmetros físico-químicos monitorizados durante estes processos, pode concluir-se que apesar de as condições operatórias dos reactores terem sido muito semelhantes, foram observadas diferenças significativas, que poderão ser uma consequência das diversas composições iniciais. Nos compostos $R_{CA,1}$ e $R_{CA,3}$, nos quais foi usada a maior proporção de casca de arroz, como agente *bulking*, verificou-se que o teor de humidade foi inferior tanto na mistura inicial como durante todo o processo. Pelo contrário, estas misturas mostraram valores de FAS sempre superiores. Assim, tendo em consideração que estes compostos foram os que deram origem a menores níveis de fitotoxicidade (maiores $GI_{\text{médio}}$), este facto poderá estar relacionado com a minimização das zonas anaeróbias favoráveis ao aparecimento de substâncias fitotóxicas, bem como com a não decomposição e/ou volatilização de substâncias fitotóxicas, nomeadamente o amoníaco.

5.3. Avaliação de fitotoxicidade de compostos em fase de maturação

No âmbito deste trabalho foram também avaliados em termos de fitotoxicidade, três compostos (C_1 a C_3) em fase final de maturação, os quais foram obtidos previamente na mesma instalação laboratorial. O composto C_1 foi obtido a partir de uma mistura de casca de batata (CB), aparas de relva (AR) e serradura (SE) e os compostos C_2 e C_3 a partir de iguais proporções de casca de batata (CB), aparas de relva (AR) e palha de trigo (PT). Na prática, os compostos C_2 e C_3 foram obtidos com diferentes condições operatórias em relação à temperatura de entrada do gás de arejamento. Na Tabela 5.13 encontram-se indicadas as composições das misturas iniciais de C_1 a C_3 , os parâmetros físico-químicos razão C/N e teor de humidade das misturas iniciais, bem como algumas das condições operatórias mantidas nos reactores.

Os compostos permaneceram dentro dos reactores cerca de 20 dias e as amostras foram recolhidas após o revolvimento das pilhas de composto em fase de maturação, ao 65º e 111º dias após o início do processo de compostagem.

Tabela 5.13 – Composição da mistura para compostagem, alguns parâmetros físico-químicos e condições operatórias do SHR, dos compostos em fase de maturação (C_1 a C_3).

Mistura para compostagem					Propriedades físico-químicas		Condições operatórias SHR	
	CB	AR	SE	PT	C/N	H	Temp. do gás de entrada (°C)	Concentração de O ₂ no gás de saída (%)
Composto	(% w/w)	(% w/w)	(% w/w)	(% w/w)		(%)		
C1	44,0	42,0	15,0	-	27.3	64.6	17	
C2	52,0	30,0	-	17,0	24.9	67.2	17	>5%
C3	52,0	30,0	-	17,0	24.9	67.2	40	

Os extractos dos compostos foram caracterizados em termos de pH e condutividade eléctrica (CE), sendo os seus valores obtidos indicados na Tabela 5.14. Todos os valores de pH medidos estão na gama básica, compreendidos entre 8 e 9,6, similarmente aos restantes compostos já avaliados neste trabalho. Contudo, entre a caracterização relativa ao 65º e 111º dias observou-se uma ligeira redução nos valores de pH dos compostos C_2 e C_3 , sendo esta mais acentuada no composto C_1 . Em relação à CE, esta apenas foi medida no 111º dia, tendo-se registado valores relativamente baixos para o

C1 e valores mais elevados, aproximadamente iguais, para os compostos C2 e C3 (cerca de 8,1 mS/cm).

Tabela 5.14 – Caracterização físico-química dos compostos C₁ a C₃, em termos de pH e CE.

Dias desde o início do processo	pH			CE (mS/cm)		
	C1	C2	C3	C1	C2	C3
65	9,30	9,12	9,59	-	-	-
111	8,03	9,08	9,15	3,30	8,16	8,13

A avaliação da fitotoxicidade foi realizada pela mesma metodologia e abordagem descrita na secção 5.2.1.

O número médio de sementes germinadas, \bar{N}_{SG} , em cinco réplicas, nos testes de germinação efectuados, encontram-se representados através do diagrama de caixa-e-bigodes da Figura 5.15. Estes resultados mostraram que, das 10 sementes colocadas em cada réplica, a maioria das sementes germinou. Deste modo, os resultados da análise de variância resumidos na Tabela 5.15, indicam que após 65 dias do início do processo, o composto C1 conduz a um \bar{N}_{SG} estatisticamente diferente de C2 e C3. Contudo, ao fim de 111 dias de processo, todos os compostos conduzem a \bar{N}_{SG} iguais ($p > 0,05$).

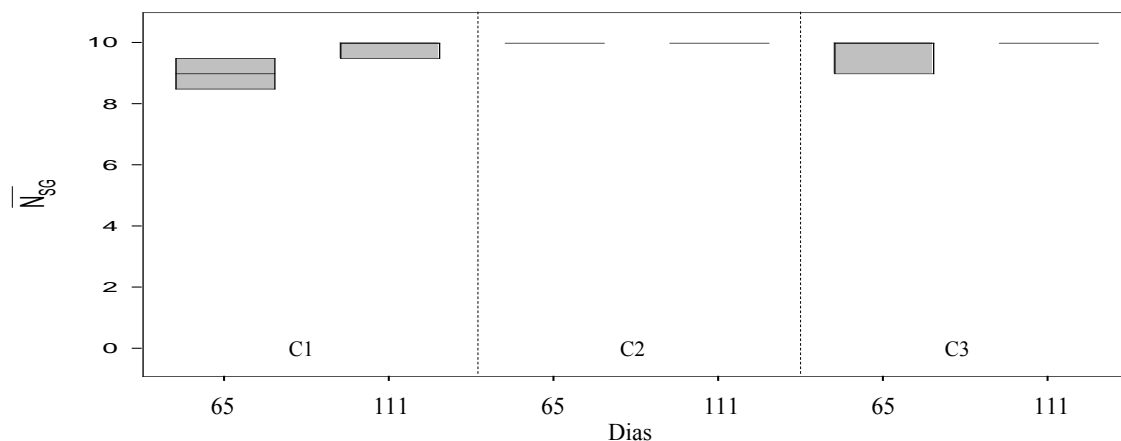


Figura 5.15 – Número médio de sementes germinadas, \bar{N}_{SG} , nos extractos dos compostos em fase de maturação (C1 a C3).

Tabela 5.15 – Resumo ANOVA, do, entre extractos dos compostos (C1 a C3).

Tratamento	<i>p</i>	Conclusões
C1 (dia 65 e 111), C2 (dia 65 e 111), C3 (dia 65 e 111)	0,00419	Tratamentos diferentes
C1 (dia 111), C2 (dia 65 e 111), C3 (dia 65 e 111)	0,213	Tratamentos iguais

Ao nível do comprimento das raízes desenvolvidas, L_R , os valores experimentais obtidos em cada réplica, estão representados na Figura 5.16. Em relação aos *outliers* assinalados na figura, uma vez que os seus valores são muito próximos dos máximos e mínimos, optou-se por não os remover da ANOVA.

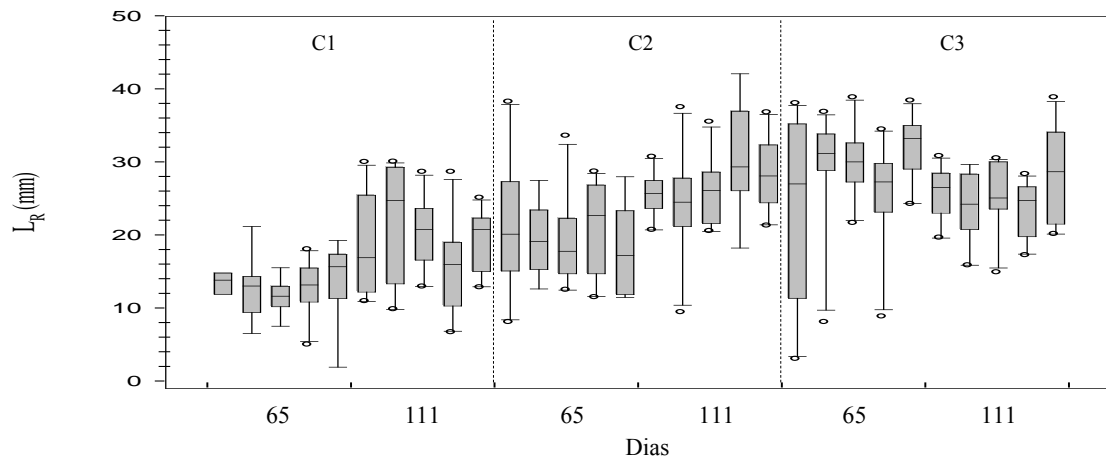


Figura 5.16 – Comprimento das raízes, L_R , nas réplicas dos extractos dos compostos em estágio de maturação (C1 a C3).

Através da análise de variância, foram comparados os \bar{L}_R entre réplicas (Tabela 5.16), entre compostos e entre os dias avaliados (Tabela 5.17). Desta análise, concluiu-se que o \bar{L}_R de das cinco réplicas realizadas a partir dos extractos destes compostos são estatisticamente iguais ($p > 0,05$)

Tabela 5.16 – Resumo ANOVA, relativo ao \bar{L}_R entre as réplicas dos extractos dos compostos em fase de maturação (C1 a C3).

Tratamento	\bar{L}_R (mm)	p	Conclusões
C1 (dia 65)	12,9	0,795	Réplicas iguais
C1 (dia 111)	27,0	0,120	Réplicas iguais
C2 (dia 65)	19,3	0,224	Réplicas iguais
C2 (dia 111)	28,2	0,166	Réplicas iguais
C3 (dia 65)	20,0	0,794	Réplicas iguais
C3 (dia 111)	25,5	0,162	Réplicas iguais

Ao comparar o \bar{L}_R do dia 65 e 111 em cada composto, os resultados mostraram que os \bar{L}_R devem ser considerados diferentes entre si ($p < 0,05$). Finalmente, o \bar{L}_R dos extractos dos três compostos obtidos no dia 65, devem ser considerados estatisticamente

diferentes. Contudo, o \bar{L}_R do C2 e C3 devem ser considerados iguais. Relativamente ao dia 111, segundo os resultados desta análise o \bar{L}_R dos três compostos é igual ($p>0,05$).

Tabela 5.17 – Resumo ANOVA, relativo ao \bar{L}_R nos extractos dos compostos em fase de maturação (C1 a C3).

Tratamento	<i>p</i>	Conclusões
C1 (dia 65 e 111)	$3,54 \times 10^{-24}$	Tratamentos diferentes
C2 (dia 65 e 111)	$1,69 \times 10^{-8}$	Tratamentos diferentes
C3 (dia 65 e 111)	$7,76 \times 10^{-6}$	Tratamentos diferentes
Dia 65 (C2 e C3)	$6,15 \times 10^{-9}$	Tratamentos diferentes
Dia 65 (C1, C2 e C3)	0,582	Tratamentos iguais
Dia 111 (C1, C2 e C3)	0,106	Tratamentos iguais

Os parâmetros RRG, RSG e GI, indicados na Tabela 5.18, foram calculados pelas mesmas metodologias referidas como método I e II (ver secção 4.3.3).

Tabela 5.18 – Índice de germinação ($GI_{\text{médio}}$) dos três compostos em estágio de maturação (C1 a C3).

Dia	C1			C2			C3		
	RSG	RRG	GI	RSG	RRG	GI	RSG	RRG	GI
66	73,3	16,4	$53,8 \pm 9,03$	73,3	12,0	$89,6 \pm 15,2$	100	45,9	$89,2 \pm 15,1$
111	80,0	81,3	$82,5 \pm 3,26$	83,3	56,0	$88,4 \pm 4,83$	93,3	74,3	$79,7 \pm 3,47$

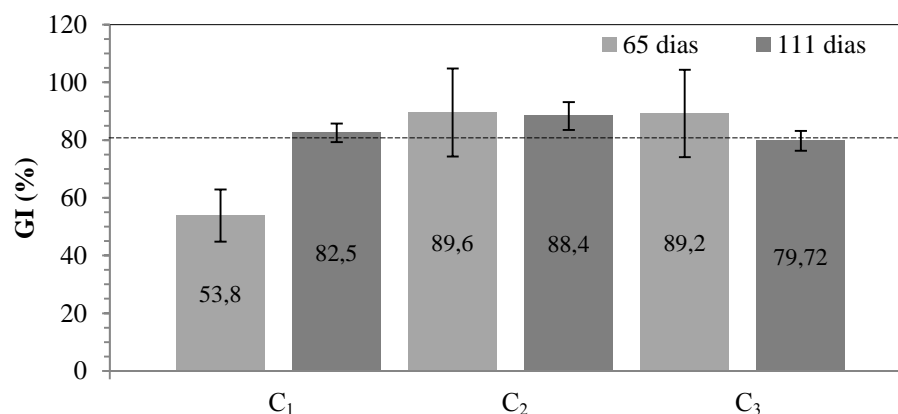


Figura 5.17 – Índice de germinação ($GI_{\text{médio}}$), em percentagem, dos três compostos (C1 a C3), em estágio de maturação.

Ao analisar os valores obtidos de $GI_{\text{médio}}$ para estes compostos, Figura 5.17, verifica-se que no composto C1, ocorreu um aumento de 53,8 % no dia 65, para 82,5 %, no

dia 111, sendo estes resultados estatisticamente diferentes ($p= 8,29 \times 10^{-9} < 0,05$). Estes valores indicam que o composto no dia 65 ainda não tinha um elevado grau de maturação, uma vez que ainda era considerado muito fitotóxico. Contudo, no 111º dia este já pode ser considerado não fitotóxico e maturado. Os compostos C2 e C3 foram caracterizados por valores de $GI_{\text{médio}}$ próximos, e de acordo com a ANOVA estes devem ser considerados iguais ($p= 0,471 > 0,05$). Estes resultados indicam que os compostos C2 e C3, no dia 65 já se poderiam considerar livres de fitotoxinas e maturados.

Neste caso, pode concluir-se que a temperatura do ar de entrada nos reactores não é um factor determinante para a fitotoxicidade dos compostos, uma vez que não se verificam diferenças significativas nos compostos C2 e C3. Em relação ao efeito dos agentes *bulking* na mistura inicial, que foi serradura (SE) no C1 e palha de trigo (PT) no C2 e C3, pode referir-se que a serradura conduz a um processo mais lento ao nível da maturação, dado que ao fim de 65 dias o composto ainda não se encontra maturado. Pelo contrário, os compostos C2 e C3 que já se poderiam considerar maturados. Todavia, ao 111º dia, os três compostos apresentam um valor de GI estatisticamente igual ($p= 0,270 > 0,05$), ou seja, níveis de fitotoxicidade semelhantes.

6. CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO

O principal objectivo deste trabalho focou-se na avaliação da fitotoxicidade de extractos aquosos na germinação e crescimento das raízes de *Lepidium sativum* (agrião de jardim), com base nos cálculos de índices de germinação (GI). Neste âmbito, foram avaliados extractos de vários materiais potencialmente valorizáveis por compostagem, extractos de diferentes misturas ao longo do processo de compostagem e extractos de compostos em estágio de maturação.

Os resultados do teste de germinação dos materiais mostraram que alguns destes não apresentavam fitotoxicidade, nomeadamente os extractos de aparas de relva e das lamas de ETAR, ou apresentavam fitotoxicidade moderada, como a casca de arroz. Contudo, nomeadamente os extractos de chorume de galinha, cinzas volantes, palha de trigo e serradura, revelaram ser muito fitotóxicos. Estes resultados são uma consequência de vários factores, tais como pH ácidos ou básicos e condutividade eléctrica elevada, existência de metais pesados, iões amónio e ácidos de baixo peso molecular. Os testes de fitotoxicidade usados, não permitem discriminar qual ou quais os efeitos mais determinantes.

Os processos de compostagem à escala laboratorial, acompanhados neste estudo foram realizados com o objectivo de processar os resíduos casca de batata e aparas de relva. Adicionalmente foram usados serradura e casca de arroz como agente *bulking*. Os resultados da avaliação de fitotoxicidade nos quatro processos em que foi usado serradura, indicaram elevados níveis de fitotoxicidade, tanto na mistura inicial (dado que não ocorreu germinação em nenhum extracto das misturas iniciais), como ao longo dos processos. Após 46 dias do início dos processos, ainda nenhum dos quatro compostos testados se encontrara maturado e destes, o composto com valores mais favoráveis apresentou um $GI_{\text{médio}}$ de 60%, considerado o valor limite, para ser classificado como moderadamente fitotóxico. Relativamente aos quatro processos para os quais foi utilizado casca de arroz, estes apresentaram sempre valores mais elevados de GI, tanto nas misturas iniciais, como durante a evolução dos processos. Após 39 dias do início dos processos, dois dos

compostos ainda eram considerados fitotóxicos e os outros dois moderadamente fitotóxicos, estes últimos com valores de $GI_{\text{médio}}$ de 67 e 72 %. Porém, ainda nenhum dos processos atingira um elevado grau de maturação.

Ao longo destes oito processos verificou-se que os compostos com melhores resultados ao nível da fitotoxicidade corresponderam às misturas com maiores proporções de agente *bulking* e com teores de humidade e FAS mais próximos dos valores considerados óptimos.

No presente trabalho foram ainda avaliados três compostos em estágio de maturação, para os quais foi feito o teste de germinação no 65º e 111º dia após o início do processo. Nestes casos os agentes bulking foram a palha de trigo e a serradura. O $GI_{\text{médio}}$ obtido no composto com serradura relativo ao 65º dia foi mais baixo do que nos compostos com palha, os quais apresentaram um $GI_{\text{médio}}$ estatisticamente igual, que indicavam que estes já se encontravam maturados. No 111º dia, todos os compostos evidenciaram um $GI_{\text{médio}}$ estatisticamente igual e já se podiam considerar todos maturados. Assim, pode concluir-se que a utilização de serradura, em relação à utilização da palha poderá requerer mais tempo de maturação do composto, mas é possível atingir os mesmos valores de fitotoxicidade. Pode ainda concluir-se que alguns materiais que apresentam elevada fitotoxicidade, quando devidamente processados e estabilizados por compostagem, podem originar compostos maturados, e com qualidade para serem aplicados nos solos.

Trabalho Futuro

Com o decorrer do presente trabalho, verificaram-se alguns aspectos que podem ser melhorados em investigações futuras, bem como outros que poderão completar o estudo elaborado.

Um aspecto importante foca-se na reprodutibilidade e representatividade das amostras, que poderia ser melhorada através da elaboração de várias réplicas para cada extracto a analisar. Ao nível do rigor e consistência dos resultados obtidos dos testes de germinação e simultaneamente ao nível do tempo dispendido, poderia ser usado um software de imagem, que permitisse medir com maior rigor o comprimento das raízes.

Para este estudo, também seria interessante determinar concentrações de algumas substâncias potencialmente fitotóxicas, nomeadamente o amoníaco, presente nos extractos e correlacioná-las com os respectivos índices de germinação.

De forma a complementar o trabalho, poderia ser monitorizada a fitotoxicidade em processos de compostagem, cujas misturas iniciais integrassem os materiais que foram avaliados individualmente, mas não constituíram as misturas iniciais dos processos monitorizados nesse estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aslam, D., VanderGheynst, J., 2009. Tools to evaluate compost phytotoxicity. *BioCyle*. 50.
- Batista, J., Batista, E., 2007. *Compostagem: Utilização de compostos em horticultura*, Universidade dos Açores.
- Bernal, M., Albuquerque, J., Moral, R., 2009. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. *Bioresource Technology*. 100, 5444-5453.
- Cabañas-Vargas, D.D., Sánchez-Monedero, M. A., Urpilainen, S. T., Kamilaki, A., Stentiford, E. I., 2005. Assessing the stability and maturity of compost at large-scale plants. *Ingeniería*. 9, 25-30.
- Chang, J., Chen, Y., 2010. Effects of bulking agents on food waste composting. *Bioresource Technology*. 101, 5917-5924.
- Chang, J., Hsu, T., 2008. Effects of compositions on food waste composting. *Bioresource Technology*. 99, 8068-8074.
- Cunha-Queda, C., 2007. Qualidade dos “compostos” existentes no mercado. A qualidade dos correctivos agrícolas orgânicos comercializados em Portugal: Interesse para o solo e para as culturas, Lipor.
- Decreto-Lei n.º 73/2011 de 17 de Junho. *Diário da República*, N.º 116/2011- 1ª série, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território.
- Delgado, M.M., Martín, J.V., Imperial, R.M.D., León-Cófreces, C., García, M.C., 2010. Phytotoxicity of uncomposted and composted poultry manure. *African Journal of Plant Science*. 4, 154-162.
- Fang, M., Wong, J.W.C., 1999. Effects of lime amendment on availability of heavy metals and maturation in sewage sludge composting. *Environmental Pollution*. 106, 83-89.
- Flores-Delgadillo, L., Fedick, S., Solleiro-Rebolledo, E., Palacios-Mayorga, S., Ortega-Larrocea, P., Sedov, S, Osuna-Ceja, E., 2011. A sustainable system of a traditional precision agriculture in a Maya homegarden: Soil quality aspects. *Soil & Tillage Research*. 113, 112-120.
- Fuentes, A., Lloréns, M., Sáez, J., Aguilar, M.I., Pérez-Marín, A.B., Ortuño, J.F. e Meseguer, V.F., 2006. Ecotoxicity, phytotoxicity and extractability of heavy metals from

- different stabilised sewage sludges. *Environmental Pollution*. 143, 355-360.
- Gonçalves, M.S., 2005. *Gestão de resíduos orgânicos*, Lisboa: Sociedade Portuguesa de Inovação (em www2.spi.pt/agroambiente/).
- Gajalakshmi, S., Abbasi, A., 2008. Solid Waste Management by Composting: State of the Art. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 38, 311-400.
- Gao, M., Liang F., Yu, A., Li, B., Yang, L., 2010. Evaluation of stability and maturity during forced-aeration composting of chicken manure and sawdust at different C/N ratios. *Chemosphere*. 78, 614-619.
- Gao, M., Li, B., Yu, A., Liang, F., Yang, L., Sun, Y., 2010. The effect of aeration rate on forced-aeration composting of chicken manure and sawdust. *Bioresource Technology*. 101, 1899–1903.
- Gómez-Brandón, M., Lazcano, C., Domínguez, J., 2008. The evaluation of stability and maturity during the composting of cattle manure. *Chemosphere*. 70, 436-444.
- Haug, R., 1993. *The Practical Handbook of Compost Engineering*, Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA.
- He, M., Tian, G., Liang, X., 2009. Phytotoxicity and speciation of copper, zinc and lead during the aerobic composting of sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials*. 163, 671–677.
- Helfrich, P., Chefetz, B., Hadar, Y., Chen, Y., Schnabl, H., 1998. A novel method for determining phytotoxicity in composts. *Compost Science & Utilization*. 6, 6-13.
- Hoekstra, N., Bosker, T., Lantinga, E., 2002. Effects of cattle dung from farms with different feeding strategies on germination and initial root growth of cress (*Lepidium sativum* L.). *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 93, 189-196.
- Jiménez, E.I., Garcia, V.P., 1989. Evaluation of city refuse compost maturity: a review. *Biological Wastes*. 27, 115-142.
- Montgomery, D., 2009. *Introduction to statistical quality control*, 5th edition, Wiley.
- Moral, R., Paredes, C., Bustamante, M., Marhuenda-Egea, F., Bernal M., 2009. Utilizations of manure compost by high-value crops: Safety and environmental challenges. *Bioresource Technology*. 100, 5254-5460.
- Ortega, M., Moreno, M., Ordoviis, J., Aguado, M., 1996, Behaviour of different horticultural species in phytotoxicity bioassays of bark substrates. *Scientia Horticulturae*. 66, 125-132.
- Oleszczuk, P., Hollert, H., 2011. Comparison of sewage sludge toxicity to plants and

invertebrates in three different soils, *Chemosphere*.

- Pharmawerk Weinbohla GmbH (2006). Origin and chemistry of humic acids. Acedido a 3 Setembro de 2011, em: <http://www.pharmawerk-weinboehla.de/english/humine/humin2.html>
- Piccolo, A., 2002. The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and applications in soil science. *Advances in Agronomy*. 75, 57-134.
- Rynk, R., Kamp, M., Willson, G., Singley, M., Richard, T., Kolega, J., Gouin, F., Laliberty, L., Kay, D., Murphy, D., Hoitink, H., Brinton, W., 1992. *On-Farm Composting Handbook*, Northeast Regional Agricultural Engineering Service.
- Ruggieri, L., Gea, T., Artola, A., Sánchez, A., 2009. Air filled porosity measurements by air pycnometry in the composting process: A review and a correlation analysis. *Bioresource Technology*. 100, 2655–2666.
- Sánchez-Monedero, M., Urpilainen, S., Cabañas-Vargas, D., Kamilaki, A., Stentiford, E., 2002. Assessing the stability and maturity of compost at large-scale plants, XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Cancún, México.
- Santos, J., 2007. Caracterização físico-química e biológica em diferentes laboratórios de produtos obtidos a partir da compostagem de resíduos orgânicos biodegradáveis, Dissertação de Mestrado em Ecologia Aplicada, Departamento de Zoologia e Antropologia Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto.
- Tam, N.F.Y., Tiquia S., 1994. Assessing toxicity of “spent sawdust pig-litter” using seed germination technique. *Resource Conservation Recycling*. 11, 261-274.
- Tiquia, S., 2010. Reduction of compost phytotoxicity during the process of decomposition. *Chemosphere*. 79, 506-512.
- Tiquia, S., Tam, N.F.Y., e Hodgkiss, I., 1996. Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter. *Environmental Pollution*. 93, 249-256.
- Tiquia, S., Tam, N., 1998. Elimination of phytotoxicity during co-composting of spent pig-manure sawdust litter and pig sludge. *Bioresource Technology*. 65, 43-49.
- Trautmann, N. e Krasny, M., 1997. *Composting in the Classroom*, Scientific Inquiry for High School Students. Ed. Cornell University.
- Walter, I., Martínez, F., Cala, V., 2006. Heavy metal speciation and phytotoxic effects of three representative sewage sludges for agricultural uses. *Environmental Pollution*. 139, 507-514.
- Wong, J., Mak, K., Chan, N., Lam, A., Fanf, M., Zhou, L., Wu, Q., Liao, X., 2001. Co-

composting of soybean residues and leaves in Hong Kong. *Bioresource Technology*. 76, 99-106.

Wu, L., Ma, L., Martinez, G., 2000. Comparison of Methods for Evaluating Stability and Maturity of Biosolids Compost. *Journal of Environmental Quality*. 29, 442-429.

Wu, L., Ma, L.Q., 2001. Effects of Sample Storage on Biosolids Compost Stability and Maturity Evaluation. *Journal of Environmental Quality*. 30.

ANEXO A - MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DE FITOTOXICIDADE COM PLANTAS

A tabela indica métodos de ensaios com plantas, reportados na literatura (Jiménez e Garcia, 1989).

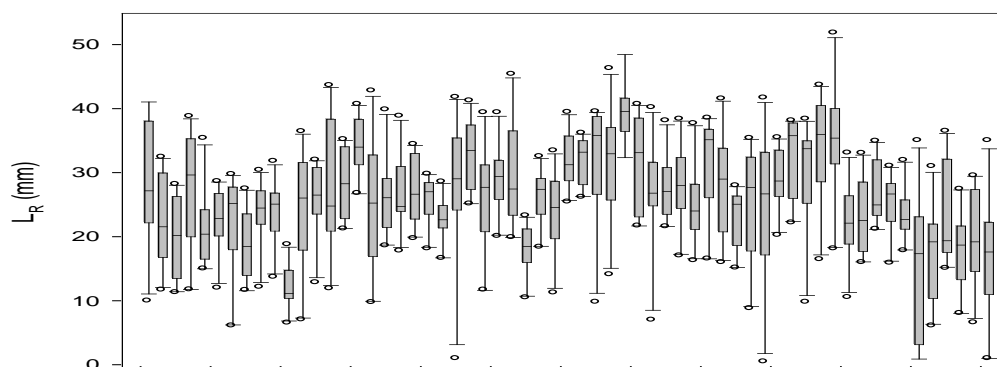
Table 1. Plant assay methods reported in the literature

<i>Plant Species Tested</i>	<i>Bioassay Medium</i>	<i>Phytotoxicity Measurement</i>	<i>Reference</i>
Lettuce, petunia	Peat with perlite (4:1 by volume) + herbicide, Control = peat with perlite	Aerial and root biomass	(Morel and Guillemain, 2004)
Green bean, radish, cucumber, sunflower, daisy, broccoli, corn, Chinese cabbage, tomato, amaranthus, cress, carrot, lettuce, petunia	Direct seeding into compost, compost mixed with potting mix (1:1 by volume) and 1:10 (w/v, weight/volume) compost extract, Control = potting mix for first two tests and distilled water for extract test	Relative seed germination, relative root growth and germination index (Zucconi <i>et al.</i> , 1981).	(Emino and Warman, 2004)
Barley, zucchini	Compost with potting media (1:1 by volume), Control = 100% potting media	Number of sprouts	(Brewer and Sullivan, 2003)
Ryegrass	Compost with peat (1:3 by volume), No control.	Dry plant biomass	(Cooperband <i>et al.</i> , 2003)
Lettuce	Compost extract diluted to 0, 25, 50, 75 and 100%, Control = deionized water	Germination, radicle length and germination index (Zucconi <i>et al.</i> , 1981)	(Gariglio <i>et al.</i> , 2002)
Calendula	Compost with perlite (3:1 by volume) + fertilizer, Control = peat with perlite (3:1 by volume) + fertilizer	Biomass of plant tops	(Gariglio <i>et al.</i> , 2002)
Tomato	1:10 w/v compost extract, Control = distilled water	Germination	(Wu <i>et al.</i> , 2000)
Cress, radish, Chinese cabbage	Compost with various soils (1:2 by volume), Control = various soils Direct seeding, Control = distilled water 1:2.5 w/v compost extract, Control = distilled water	Germination, seedling length and aerial fresh weight Germination and seedling length Germination	(Warman, 1999)
Tomato	Compost extract diluted 2:1, Control = distilled water	Germination index (Zucconi <i>et al.</i> , 1981)	(Hartz and Giannini, 1998)
Vinca plugs	Compost with perlite (1:1 by volume) + fertilizer, No Control	Dry biomass of plant tops	(Hartz and Giannini, 1998)
Cucumber	Compost with perlite (1:1 by volume) + distilled water, No Control	Wet and dry plant biomass	(Helfrich <i>et al.</i> , 1998)
Cress	Compost mixed with sand and potting media at 0, 15, 30, 50 and 100% compost, Control = standard substrate + brick dust (1:1 by weight)	Germination rate and fresh seedling weight	(Erhart and Burian, 1997)
Cress	Compost extract, Control = distilled water	Germination rate and radicle length	(Erhart and Burian, 1997)
Radish, Ryegrass and Cucumber	Compost with perlite and peat (15:30:55 by volume) + fertilizer, Control = peat potting mix	Aerial biomass	(Iannotti <i>et al.</i> , 1994)
Sunflower seedlings	Compost in soil (1:1 by volume), No control	Foliar surface area, stem length, dry leaf, root, aerial and total biomass.	(Baca <i>et al.</i> , 1990)
Komatsuna	10-20 dry grams of compost in 720 grams soil + distilled water, Control = soil + inorganic nutrient solution	Germination ratio, fresh weight of plant tops	(Chanyasak <i>et al.</i> , 1983)
Cress	60% water content compost extract, Control = distilled water	Germination index	(Zucconi <i>et al.</i> , 1981)
Cucumber	Compost with vermiculite (1:1 by volume), Controls = vermiculite and potting media 2:1 w/v compost extract, Control = deionized water	Seedling emergence and relative vigor Germination rate and root elongation	(Thompson, 2004)

ANEXO B - ANÁLISE ESTATÍSTICA DA REPRODUTIBILIDADE DOS TESTES DE GERMINAÇÃO

No teste de germinação de sementes através de *Lepidium sativum*, foram sempre efectuados brancos de controlo, com água destilada, para cada ensaio realizado.

Em todos os brancos de controlo efectuados, o N_{SG} pode considerar-se constante, dado que todas as sementes colocadas em incubação germinaram, à excepção de uma semente, numa das réplicas. No entanto, os resultados obtidos relativamente ao L_R apresentaram alguma variabilidade, tanto entre ensaios, como entre réplicas. Por essa razão, os L_R foram representados num diagrama de caixa-e-bigodes (Figura A.1), que permite comparar graficamente a variabilidade e a tendência central dos L_R entre réplicas.



A.1 – Comprimento das raízes, L_R , das réplicas dos brancos de controlo.

Neste contexto, procedeu-se à análise de variância (ANOVA), factor único, para comparar os \bar{L}_R entre todas as réplicas de brancos efectuadas ao longo do trabalho, cujos resultados demonstraram que os \bar{L}_R não são estatisticamente iguais ($p=2,72 \times 10^{-19} < 0,05$). Todavia, quando comparados os \bar{L}_R entre as réplicas de cada ensaio, dos 13 ensaios realizados, apenas três são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), sendo as réplicas dos restantes ensaios estatisticamente iguais ($p > 0,05$). Assim, pode concluir-se que é imprescindível elaborar um branco de controlo em cada ensaio, uma vez que estes diferem de ensaio para ensaio, provavelmente devido a factores externos, ambientais e laboratoriais. Contudo, o número de réplicas pode ser diminuído de cinco para três.