

# **Utilização de resíduos orgânicos como corretivos do solo: Avaliação da atividade enzimática**

**Joana Cristina Sengo Matos de Melo Coelho**

Dissertação para obtenção do grau de mestre em  
**Engenharia do Ambiente**

Orientador: Doutora Ana Cristina Ferreira da Cunha Queda

**Júri:**

Presidente: Doutor António José Guerreiro de Brito, Professor Associado com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutora Ana Cristina Ferreira da Cunha Queda, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa;

Doutora Paula Maria da Luz Figueiredo de Alvarenga, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.



## *Agradecimentos*

A todos aqueles que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Em particular:

À minha orientadora, Professora Doutora Ana Cristina Ferreira da Cunha Queda, do Departamento de Ciências e Engenharia de Biosistemas, do Instituto Superior de Agronomia, por tudo o que me ensinou ao longo dos anos, pela ajuda, amizade, empenho e dedicação ao longo do meu percurso académico.

À FCT pela possibilidade de realização deste trabalho no âmbito de uma bolsa de investigação do projeto RESORGRISK – Avaliação do risco ambiental da utilização de resíduos orgânicos como corretivos do solo PTDC/AACAMB/119273/2010.

À Engenheira Marie-Christine Morais, pela ajuda em todo o trabalho prático realizado no laboratório, pelos conhecimentos e amizade partilhados ao longo destes anos.

Aos professores e funcionários da Secção Química e Ambiente do Departamento de Ciências e Engenharia de Biosistemas, por toda a amizade e carinho que sempre demonstraram ao longo do meu percurso académico. Em especial à D. Paula Silva, técnica do laboratório 15, pela sua disponibilidade em todos os momentos.

Às minhas amigas, Filipa Pinto, Inês Leitão e Joana Sales, pela companhia apoio e incentivo para que este trabalho fosse realizado.

Às pessoas mais importantes da minha vida, a minha família, os meus filhos o meu marido, os meus pais e a minha avó por estarem sempre ao meu lado e serem o meu pilar.

## **Resumo**

Pretendeu-se com este trabalho avaliar a influência da aplicação de resíduos orgânicos na atividade das fosfatases ácidas, celulasas,  $\beta$ -glucosidase, ureases e proteases visto serem indicadores de stresse, produtividade e qualidade do solo.

Foram aplicados a um solo classificado na família Bp (Barros pretos não calcários de dioritos ou gabros) ou Vertissolo segundo a classificação da FAO três resíduos orgânicos: lamas residuais urbanas (SS), composto de resíduos sólidos urbanos de recolha indiferenciada (MMSWC) e composto de resíduos agrícolas (AWC) em três doses, correspondentes ao equivalente a 6, 12 e 24 t/ha de matéria seca.

Dos resultados obtidos podemos dizer que de uma maneira geral a atividade das enzimas aumentou em todas as situações estudadas, sendo notória uma tendência de aumento ao longo do tempo.

**Palavras-chave:** Atividade enzimática, Resíduos orgânicos, Composto, Lamas de ETAR

## ***Abstract***

Three different organic residues were applied to soil: municipal sewage sludge (SS), agricultural wastes compost (AWC) and mixed municipal solid waste compost (MMSWC), in three different amounts corresponding to the equivalent of 6, 12 and 24 t/ha of dry matter. To assess their influence on the quality and degree of soil degradation the activity of the enzymes acid phosphatase, cellulases,  $\beta$ -glucosidase, urease and protease were determined, since they are stress, productivity and soil quality indicators.

From the obtained results we can say that generally the activity of all enzymes increased in all the studied cases, with evidence of an increasing trend over time.

**Keywords:** Enzymatic activity, Organic residues, Compost, Sewage sludge

# Índice

1. Introdução .....	1
2. Revisão Bibliográfica .....	3
2.1 Necessidade em matéria orgânica dos solos em Portugal Continental .....	3
2.2 A Problemática Resíduos na União Europeia .....	5
2.3 Resíduos Sólidos Urbanos.....	7
2.3.1 Produção de RSU em Portugal.....	7
2.3.2. Valorização Agronómica de RSU .....	9
2.4 Lamas de ETAR.....	11
2.4.1 Valorização agronómica de Lamas.....	11
2.5 Resíduos Agrícolas.....	13
2.5.1 Destino dos resíduos agrícolas com aproveitamento agronómico .....	13
2.6 A importância do tratamento dos resíduos antes da sua aplicação ao solo.....	14
2.7 Legislação em vigor .....	16
2.9 Atividade Enzimática do Solo.....	17
3. Materiais e Métodos .....	19
3.1 Caracterização dos Resíduos Orgânicos Utilizados.....	19
3.2 Esquema de Amostragem dos Solos .....	22
3.2 Atividades Enzimáticas .....	24
3.3 Análise química .....	25
3.4 Tratamento Estatístico .....	26
4. Resultados e Discussão .....	27
5. Conclusões .....	40
6. Referências Bibliográficas .....	41

## ***Índice de Figuras***

Figura 1- Integração das políticas relativas à utilização de materiais.....	5
Figura 2 - Produção e capitação de resíduos urbanos em Portugal continental .....	8
Figura 3 - Resíduos urbanos encaminhados para as diversas operações de gestão, em 2016 e em Portugal continental (em percentagem). .....	9
Figura 4 - Tanque de decantação e leito de secagem de lamas.....	19
Figura 5 - Centro de recolha de resíduos sólidos urbanos e estação de compostagem .....	20
Figura 6 - Resíduos agrícolas e destróador de resíduos verdes .....	20
Figura 7 - Instalação do ensaio no Centro de Agricultura Experimental, Instituto Politécnico de Beja.....	22
Figura 8 - Vista geral do campo de ensaios no Centro de Agricultura Experimental, Instituto Politécnico de Beja.....	23

## ***Índice de Tabelas***

Tabela 1 - Caracterização química e biológica dos resíduos orgânicos e Limites legais para lamas e composto. ....	21
Tabela 2 - Efeito médio da interação Tempo x Dose na atividade das fosfatases ácidas ao longo do ensaio para os diferentes corretivos orgânicos. Os valores apresentados são respeitantes à média de 3 repetições. ....	27
Tabela 3 - Efeito médio da interação Tempo x Dose na atividade das celulases totais o longo do ensaio para os diferentes resíduos orgânicos. Os valores apresentados são respeitantes à média de 3 repetições. ....	29
Tabela 4- Efeito médio da interação Tempo x Dose na atividade da $\beta$ -glucosidase o longo do ensaio para os diferentes resíduos orgânicos. Os valores apresentados são relativos à média de 3 repetições. ....	31
Tabela 5- Efeito médio da interação Tempo x Dose na atividade das ureases o longo do ensaio para os diferentes resíduos orgânicos. Os valores apresentados são relativos à média de 3 repetições. ....	33
Tabela 6 - Evolução da atividade das proteases o longo do ensaio para os diferentes resíduos orgânicos. Os valores apresentados são relativos à média de 3 repetições. ....	35
Tabela 7 - Efeito dos resíduos aplicados no solo, nas características químicas estudadas. Os valores apresentados são respeitantes à média de 3 repetições. ....	36
Tabela 8 - Matriz de correlação entre as atividades enzimáticas nos solos onde foi adicionado o correctivo SS e os parâmetros químicos avaliados, no tempo T2. ....	37
Tabela 9 - Matriz de correlação entre as atividades enzimáticas nos solos onde foi adicionado o resíduo MMSWC e os parâmetros químicos avaliados, no tempo T2. ....	38
Tabela 10 - Matriz de correlação entre as atividades enzimáticas nos solos onde foi adicionado o correctivo AWC e os parâmetros químicos avaliados, no tempo T2. ....	39

## ***Lista de Abreviaturas***

<b>APA</b>	Agência Portuguesa do Ambiente
<b>AWC</b>	Composto de resíduos agrícolas
<b>DA</b>	Digestão Anaeróbia
<b>ETAR</b>	Estação de tratamento de águas residuais
<b>GEE</b>	Gases com Efeito de Estufa
<b>MMSWC</b>	Composto de resíduos sólidos urbanos de recolha indiferenciada
<b>MO</b>	Matéria Orgânica
<b>m.s.</b>	Matéria seca
<b>RSU</b>	Resíduos Sólidos Urbanos
<b>RU</b>	Resíduos Urbano
<b>RUB</b>	Resíduos Urbano Biodegradável
<b>SS</b>	Lamas Residuais Urbanas
<b>UE</b>	União Europeia

## 1. Introdução

A aplicação ao solo de materiais ricos em matéria orgânica produzidos a partir de resíduos orgânicos da atividade humana é uma boa estratégia para cumprir as metas propostas pela diretiva europeia 1999/31/EC, relativa à deposição de resíduos em aterros, que prevê a sua redução de modo a diminuir a libertação de gases com efeito de estufa e conseqüentemente os seus efeitos no aquecimento global.

A aplicação de materiais orgânicos nos solos agrícolas pode constituir uma alternativa benéfica, que irá não só contribuir para a melhoria da qualidade dos solos, mas também reduzir a necessidade do uso de fertilizantes inorgânicos (Alvarenga, et al., 2015). A matéria orgânica veiculada neste tipo de produtos vai promover a formação de agregados estáveis, melhorar as condições de arejamento, a capacidade de retenção de água, a capacidade de troca catiónica e melhorar as reservas de carbono orgânico do solo (Mattana, et al., 2014). No entanto, uma grande variedade de substâncias indesejadas como elementos tóxicos e contaminantes orgânicos, podem ter efeitos adversos no ambiente (Alvarenga, et al., 2013).

“A degradação ou melhoria dos solos tem um impacto importante noutros domínios, (...) como a proteção das águas de superfície e subterrâneas, a saúde humana, as alterações climáticas, a proteção da natureza e da biodiversidade e a segurança dos alimentos” (UE, 2006).

Assim, torna-se imperativo avaliar o risco do uso de materiais orgânicos, tais como lamas de estação de tratamento de águas residuais (ETAR), compostos de resíduos de sólidos urbanos (RSU) ou agrícolas como corretivos do solo.

Tendo em conta o papel fundamental das enzimas na decomposição da matéria orgânica e no ciclo dos nutrientes (Ciarkowska, et al., 2014), o estudo da atividade enzimática, tem sido usado como um indicador de *stress* e da produtividade para a avaliação da qualidade e grau de degradação do solo.

No entanto, uma vez que a aplicação de resíduos, como por exemplo lamas de ETAR, em solos agrícolas, pode resultar num aumento da concentração de poluentes no solo, é importante otimizar as dosagens de modo a evitar riscos para a saúde humana e para o ambiente (Roig, et al., 2012).

Este trabalho foi realizado no âmbito do projeto RESORGRISK – Avaliação do risco ambiental da utilização de resíduos orgânicos como corretivos do solo PTDC/AACAMB/119273/2010 financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT)

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da aplicação de diferentes doses de diferentes resíduos orgânicos na qualidade do solo, usando como indicador a atividade de enzimas do solo que desempenham um papel importante nos ciclos do fósforo, azoto e carbono.

## **2. Revisão Bibliográfica**

### **2.1 Necessidade em matéria orgânica dos solos em Portugal Continental**

Uma das características dos solos em Portugal continental é o seu baixo teor de matéria orgânica, segundo a Carta de Solos de Portugal 66% dos solos são classificados como sendo de baixa qualidade. Giordano *et al.* (1991) chamam a atenção para o facto de Portugal ser o país do Sul da Europa com maior risco de erosão e degradação do solo. Portugal, dado a sua localização na bacia do Mediterrâneo, possui condições climáticas (pouca humidade e temperaturas elevadas) que promovem uma rápida mineralização da matéria orgânica do solo o que conduz a baixos níveis de fertilidade e de disponibilidade de nutrientes (Alves, et al., 2007).

A matéria orgânica do solo desempenha um papel muito importante no desenvolvimento e funcionamento do ecossistema terrestre. Representa 1 a 6% da massa total da camada arável de um solo mineral, o seu teor vai influenciar as propriedades físicas e químicas, sendo determinante para a qualidade e resiliência do solo (Varenes, 2003). Segundo Santos (2012) é o principal suporte energético e nutritivo dos microrganismos do solo, fonte de diversos nutrientes indispensáveis à planta, mantém a temperatura o solo e condiciona de modo decisivo, os movimentos da água e dos nutrientes.

De acordo com o Ministério da Agricultura Desenvolvimento Rural e Pescas (MADRP, s.d.), podem-se definir como principais funções da matéria orgânica no solo:

- Favorecer a estrutura do solo, uma vez que leva à formação de agregados mais estáveis que facilitam a circulação da água e do ar no solo, assim como a penetração das raízes, e redução dos riscos de erosão;
- Aumentar a capacidade de retenção da água no solo, tornando-o menos sensível à secura;
- Constituir uma fonte de azoto, de enxofre e de outros nutrientes para as plantas e melhorar a capacidade de retenção destes elementos no solo;
- Aumentar a capacidade de fixação de certos elementos tóxicos para as plantas que, assim, os absorvem em menores quantidades;

- Suporte à atividade biológica do solo que é assegurada pela fauna e um grande número de microrganismos que fazem do solo um meio vivo;
- Contribuir para a fixação de dióxido de carbono, reduzindo a sua concentração na atmosfera.

Os solos agrícolas são muitas vezes sujeitos a processos de degradação acompanhados por um declínio do teor de matéria orgânica, o que contribui para uma perda de fertilidade do solo (Hernández, et al., 2007).

Na perspectiva de contrariar a tendência para o esgotamento dos solos em matéria orgânica, o caminho a seguir deverá promover a valorização dos resíduos orgânicos cujas características permitam a utilização como corretivo (Baltazar, 2015). Segundo Garcia-Gil *et al.*, (2000) citando Bastian e Ryan (1986) uma forma de reverter esta degradação na qualidade do solo é a adição de matéria orgânica, como por exemplo, resíduos orgânicos provenientes de explorações agrícolas, como estrumes, chorumes ou resíduos da atividade agrícola, compostos de resíduos sólidos urbanos ou lamas provenientes do tratamento de efluentes de diferentes origens.

## 2.2 A Problemática Resíduos na União Europeia

Desde os anos 90 que a União Europeia (UE) tem vindo a introduzir metas e políticas de desperdício direcionadas quer para cadeias de resíduos e opções de tratamento quer em termos de instrumentos mais abrangentes como a Diretiva Quadro de Resíduos (AEA, 2015).

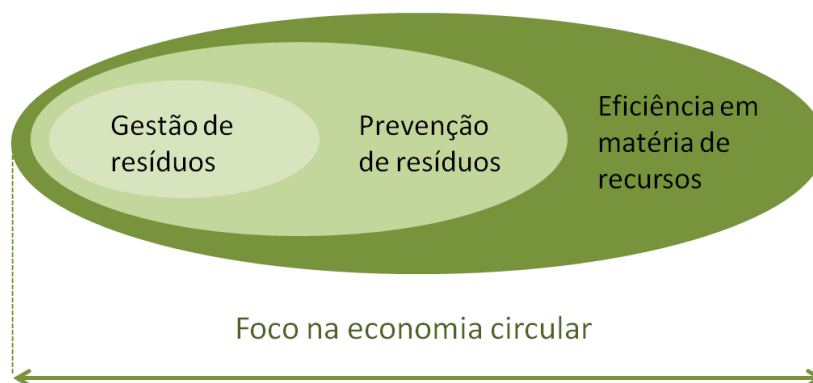


Figura 1- Integração das políticas relativas à utilização de materiais

Adaptado de AEA, 2015

De modo a alcançar uma economia circular de desperdício zero (Figura 1) a Diretiva Quadro de Resíduos orienta a política da UE para uma hierarquização de resíduos em que é dada prioridade à prevenção, reutilização, reciclagem, recuperação e por último a eliminação em aterro como último recurso.

A gestão de resíduos é uma parte fundamental da política ambiental da UE, enquadrada pela estratégia definida pelos Programas de Ação em matéria de Ambiente, que têm um carácter plurianual. Em 2013 foi aprovado o 7.º Programa de Ação em Matéria de Ambiente da União Europeia “Viver bem, dentro das limitações do nosso planeta”, que guia a política de ambiente na Europa, nas suas diferentes áreas, no período entre 2014 e 2020. Na área resíduos tem como principais objetivos, transformar os resíduos num recurso, diminuir a produção *per capita* de resíduos e em termos absolutos, limitar a valorização energética a materiais não recicláveis, diminuir gradualmente a deposição em aterro de materiais recicláveis ou valorizáveis, garantir uma reciclagem de alta qualidade e o desenvolvimento de um mercado para as matérias-primas secundárias.

Segundo dados do Eurostat (2017) a geração de resíduos da UE-28 (excluindo resíduos minerais) diminuiu 5,3% no período 2004-2014, e o valor per capita 8%.

*“Apesar de recentes progressos na prevenção e gestão de resíduos, a geração de resíduos na UE continua a ser substancial, e o desempenho em relação às metas políticas é variável. A UE parece estar a progredir para o seu objetivo de 2020, de atingir uma redução dos resíduos produzidos per capita” (AEA, 2015).*

Mas a gestão de resíduos precisará de mudar radicalmente para se poder gradualmente extinguir a deposição em aterro de desperdícios recicláveis ou recuperáveis. Da mesma forma, os Estados Membros da UE precisarão de fazer um esforço para atingirem a meta de 50% de reciclagem de algumas cadeias de resíduos urbanos até 2020 (AEA, 2015).

## **2.3 Resíduos Sólidos Urbanos**

O Decreto-Lei 178/2006 define resíduo urbano como “o resíduo proveniente de habitações bem como outro resíduo que, pela sua natureza ou composição, seja semelhante ao resíduo proveniente de habitações”.

A produção de resíduos é uma consequência do uso de recursos nas atividades socioeconómicas que caracterizam o nosso dia-a-dia. Estes têm origem nas várias etapas do metabolismo socioeconómico, desde o momento em que os recursos são extraídos da natureza até ao momento em que os materiais e produtos em que se transformam deixam de ter utilidade para o seu consumidor (PERSU 2020, 2014). Os impactes ambientais relacionados com os resíduos vão para além da sua produção, a qual é um indicador importante de como a sociedade usa os seus recursos, mas dependem da forma como são processados e eventualmente reintegrados no sistema produtivo (PERSU 2020, 2014).

### **2.3.1 Produção de RSU em Portugal**

A produção de resíduos urbanos (RU) em Portugal continental no ano de 2016 foi segundo dados da APA (2017) de aproximadamente 4,64 milhões de toneladas (Figura 2), correspondentes a uma capitação anual de 472 kg/hab.ano, isto é, uma produção diária de 1,29 kg de RU por habitante, o que indica um aumento de 3% em relação a 2015.

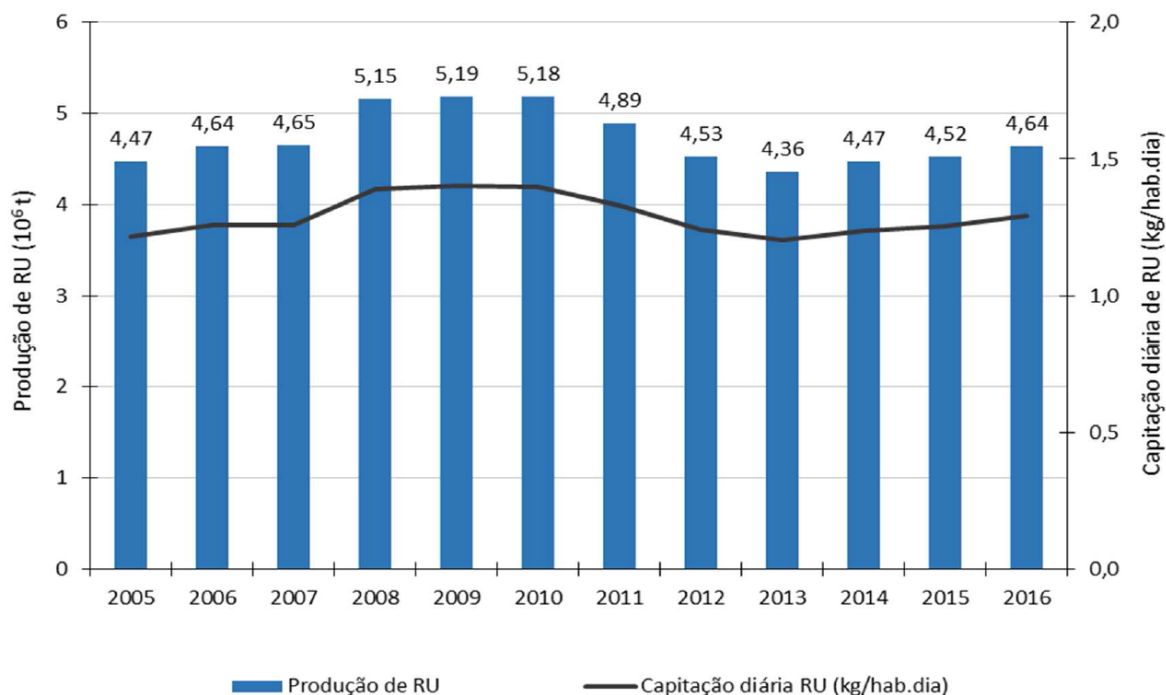


Figura 2 - Produção e captação de resíduos urbanos em Portugal continental

Fonte: APA, 2017

Do total de RU recolhidos, 86 % foram provenientes de recolha indiferenciada e 14% de recolha seletiva, em termos absolutos os valores mais elevados verificaram-se nos maiores centros populacionais, regiões de Lisboa e Vale do Tejo e na região Norte. (APA, 2017).

Em termos de composição física os resíduos urbanos são constituídos por diversos tipos de materiais e produtos em fim de vida. Os materiais biodegradáveis representam cerca de 55%, em peso dos resíduos urbanos e são constituídos pelos bioresíduos, por resíduos verdes (recolhidos em separado), papel/cartão e embalagens de cartão para alimentos líquidos (PERSU 2020, 2014).

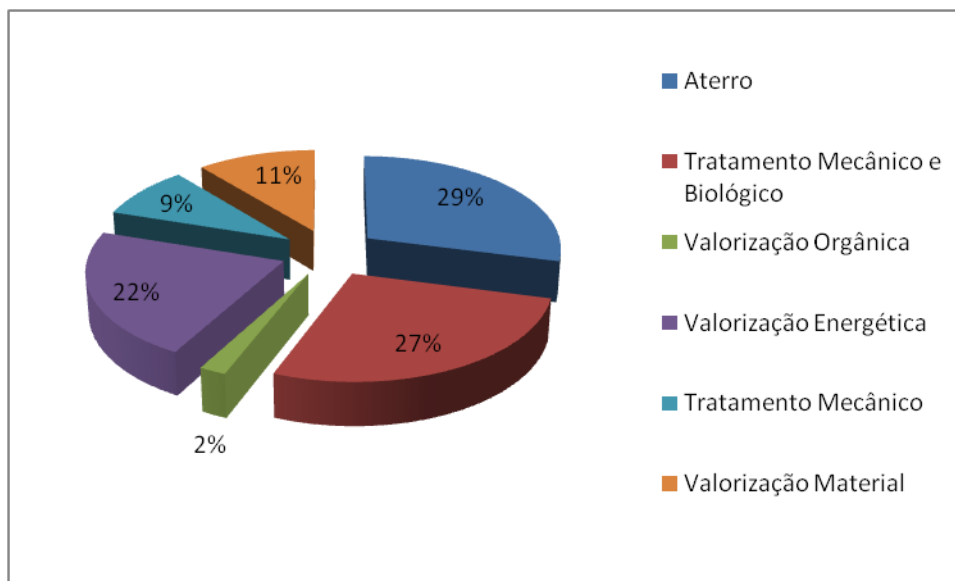


Figura 3 - Resíduos urbanos encaminhados para as diversas operações de gestão, em 2016 e em Portugal continental (em percentagem).

(Adaptado de APA (2017))

Como apresentado a figura 3, em 2016 os RU produzidos em Portugal continental foram sujeitos às seguintes operações de gestão: 29% deposição em aterro, 22% valorização energética, 27% tratamento mecânico e biológico, 11% valorização material, 9% de tratamento mecânico e 2% de valorização orgânica. O que segundo os dados da APA (2017) comprova a tendência de diminuição do envio direto para aterro, que se vem a registar desde 2013.

### 2.3.2. Valorização Agronómica de RSU

A fração orgânica dos RSU, pode ser valorizada, sendo a compostagem uma das alternativas possíveis e mais ecológica para o problema de gestão de RSU. Porque a agricultura, a floresta, a horticultura, o combate à erosão e a recuperação de solos degradados são alguns dos usos possíveis para o composto orgânico. No entanto, dado o carácter poluente destes resíduos, normalmente associada à presença de elementos metálicos potencialmente tóxicos, é necessário conhecer pormenorizadamente as suas características para que a utilização dos RSU compostados na agricultura não esteja associada a transferência de poluição (Baltazar, 2005).

Se bem aplicado, o composto pode assim ter uma dupla função com benefícios ambientais e económicos, a sua produção, fruto da valorização orgânica, promove o desvio da fração biodegradável dos RU de aterro e o seu escoamento, através de uma correta aplicação no solo, poderá promover a correção e aumento da produtividade dos solos nacionais (PERSU 2020, 2014).

Em 2012, foi comercializado mais de 83% do composto produzido. No entanto, é de realçar que do composto produzido nesse ano, apenas 23% resultou de matéria orgânica recolhida seletivamente, não tendo existido, por parte da generalidade dos sistemas, uma aposta neste tipo de recolha (PERSU 2020, 2014).

## **2.4 Lamas de ETAR**

As lamas de ETAR, ou lamas de depuração, são resíduos de natureza orgânica que resultam do tratamento de águas residuais, domésticas ou da atividade agropecuária, em estações de tratamento próprias, designadas por estação de tratamento de águas residuais (ETAR).

A composição e a qualidade das lamas de depuração não varia apenas com a composição das águas de onde provêm, mas também com a tecnologia de tratamento a que foram sujeitas. Na sua constituição encontram-se substâncias orgânicas e minerais de natureza diversa e que poderão estar presentes, em maior ou menor quantidade, diferentes organismos, alguns dos quais patogénicos.

A composição química das lamas de depuração pode variar de ETAR para ETAR e, dentro de cada ETAR, ter variações sazonais como reflexo da variação na composição dos efluentes que recebe ao longo do ano.

Em regra, as lamas desidratadas são compostas maioritariamente por água (cerca de 70 a 80 %). Em peso seco, a matéria orgânica é o principal constituinte das lamas (cerca de 50 a 70 %), variando em função do grau de estabilização.

Com o aumento demográfico, os avanços a nível tecnológico e a crescente preocupação relativamente à qualidade dos cursos de água e da sua biodiversidade é de prever o aumento do número de ETAR em funcionamento e o conseqüente crescimento de produção de lamas.

### **2.4.1 Valorização agronómica de Lamas**

A valorização agronómica de lamas começou por ser regulada na UE através da Diretiva 86/278/CEE, cujo principal o objetivo era regulamentar a utilização das lamas de depuração na agricultura, de modo a evitar os efeitos nocivos, dos metais pesados presentes nas lamas, nos solos, na vegetação, nos animais e no homem.

As lamas podem ser diretamente aplicadas no solo, no entanto essa aplicação tem que ter em conta o previsto no Decreto-Lei nº 276/2009 que estabelece o regime de utilização de lamas de depuração em solos agrícolas. A reutilização das lamas de depuração para fins agrícolas enfrenta alguns problemas técnicos, não apenas devido à sua carga poluente, mas também devido ao fato de que as lamas são produzidas durante todo o ano, enquanto que a

sua aplicação ao solo pode ser realizada uma ou duas vezes por ano (Alvarenga, et al., 2015). Para uma maior eficiência em termos económicos a aplicação das lamas deve ser efetuada em solos agrícolas próximos da unidade onde são produzidas de modo a reduzir os custos do seu transporte.

## **2.5 Resíduos Agrícolas**

O Decreto-Lei nº 178/2006, relativo ao regime geral de gestão de resíduos, define resíduos agrícolas como os resíduos provenientes de exploração agrícola e ou pecuária ou similar. Deste modo, os resíduos agrícolas abrangem uma grande variedade de materiais que vão desde restos de produção, resíduos vegetais agrícolas e florestais, passando por resíduos de produtos animais, dejetos de animais, cadáveres e restos orgânicos, até plásticos, resíduos de embalagem e resíduos de mecânica agrícola.

### **2.5.1 Destino dos resíduos agrícolas com aproveitamento agronómico**

Dos resíduos agrícolas referidos anteriormente alguns deles podem ser reutilizados nas explorações como corretivos orgânicos do solo, como é o caso do estrume e do chorume. De acordo com os dados do último recenseamento agrícola nacional (2009) em Portugal, o destino mais comum do estrume e chorume é a sua utilização na exploração como corretivos ou fertilizantes orgânicos. Das explorações nacionais que referem qual o destino destes efluentes, cerca de 95% utilizam-nos no solo. Só nos Açores, o seu destino é repartido entre o uso no solo (54%) e outras utilizações (43%) (INE, 2011).

No que se refere aos subprodutos e detritos vegetais resultantes das catividades agrícolas, como os restos de culturas e material resultante da poda, um dos destinos mais correntes destes resíduos é a incorporação no solo, uma vez que podem contribuir para a manutenção ou melhoria do teor de matéria orgânica. Segundo o INE (2011), cerca de 73% das explorações incorpora os restos de culturas hortícolas e 74% procede ao mesmo com os restolhos. Metade das explorações queima os materiais resultantes da poda, sem aproveitamento de energia, e apenas 33% os utilizam para aproveitamento energético. As palhas têm como principal destino as camas ou a alimentação animal para 62% das explorações, a venda destes subprodutos e detritos não tem expressão como destino final, quer para aproveitamento energético quer para outros fins.

## **2.6 A importância do tratamento dos resíduos antes da sua aplicação ao solo**

O uso inadequado de resíduos orgânicos pode resultar em poluição do solo e consequentemente das águas superficiais e subterrâneas, assim como do ar. Na realidade, a agricultura é responsável em larga escala pelas emissões de amoníaco para a atmosfera, com efeitos acidificantes, assim como de gases com efeito de estufa.

A compostagem representa uma opção importante para a gestão de resíduos orgânicos, com benefícios ambientais e económicos, uma vez que permite a biooxidação da matéria orgânica num material mais estável e menos degradável, livre de compostos fitotóxicos, patógenos, parasitas e sementes de ervas daninhas e parcialmente humificado (Alvarenga, et al., 2015).

Cunha Queda (1999) define a compostagem como sendo um processo aeróbio controlado de biooxidação de substratos heterogéneos biodegradáveis, resultante da ação dos microrganismos (bactérias, actinomicetas e fungos) naturalmente associados aos substratos, durante o qual ocorre uma fase termófila, a libertação temporária de substâncias com efeito fitotóxico e a biomassa sofre profundas transformações (mineralização e humificação parciais), sendo o produto final, designado composto, estável, higienizado e homogéneo.

Em Portugal o composto ganha importância acrescida tendo em conta a necessidade de matéria orgânica do solo, uma vez que como já foi referido 66% dos solos nacionais apresentam uma classificação de baixa qualidade, apresentando os valores mais desfavoráveis em termos de fertilidade entre os países do Sul da Europa. Se bem aplicado, o composto pode assim ter uma dupla função com benefícios ambientais e económicos, a sua produção, fruto da valorização orgânica, promove o desvio de RUB de aterro e o seu escoamento, através de uma correta aplicação no solo, poderá promover a correção e aumento da produtividade dos solos nacionais (PERSU 2020, 2014).

As lamas produzidas nas ETAR são hoje em dia, na sua maioria, tratadas através do processo de digestão anaeróbia (DA). A DA da matéria orgânica biodegradável ocorre em quatro etapas, denominadas por hidrólise, acidogénese, acetogénese e metanogénese. No interior de um digestor anaeróbio, desenvolve-se uma associação bacteriana constituído por bactérias acidogénicas, acetogénicas e metanogénicas que degradam a matéria orgânica dando origem a dois produtos, lamas digeridas e biogás (Pinto, 2015). Sendo que estes dois

podem ser aproveitados de modo sustentável, as lamas através da sua valorização agronómica e o biogás como fonte de energia para a própria ETAR.

A DA das lamas tem como principais vantagens para além da redução da massa total, reduzindo-se o custo do seu transporte, a eliminação de odores desagradáveis das lamas, uma elevada taxa de destruição de microrganismos patogénicos dependendo do regime de temperatura (Pinto, 2015).

A co-compostagem de lamas digeridas irá melhorar a sua qualidade e superar alguns dos seus inconvenientes como a falta de estabilidade, o excesso de água, contaminação com microrganismos patogénicos, e em alguns casos diminuir a disponibilidade de metais nos solos tratados (Alvarenga, et al., 2015).

Na realidade, a compostagem e a digestão anaeróbia representam processos de gestão de resíduos bem estabelecidos na Europa, mas os Estados-Membros seguem diferentes abordagens na classificação de composto, isto é, se ele é considerado um resíduo ou não (Alvarenga, et al., 2015).

A aplicação do composto na agricultura permite reduzir a utilização de fertilizantes sintéticos azotados, que é uma importante fonte de gases com efeito de estufa (GEE) devido às emissões de  $N_2O$  por volatilização. Deste modo, a aplicação de uma tonelada de composto permite reduzir a emissão de 140 kg de  $CO_2$  eq (PERSU 2020, 2014).

## **2.7 Legislação em vigor**

A aplicação de lamas de ETAR no solo é regulada pelo Decreto-Lei nº 279/2009 de 2 de outubro, que transpõe para a lei nacional a Diretiva 86/278/CEE. Este diploma estabelece todos os conceitos, regras, diretrizes e restrições da valorização agrícola das lamas, de forma a permitir a sua eficaz utilização como fertilizante agrícola e corretivo do solo, protegendo simultaneamente o Homem, o Ambiente e os animais dos possíveis efeitos nocivos, associados, normalmente, a uma má prática desta atividade. Nele vêm descritos os limites relativos aos teores de metais pesados, substâncias orgânicas e parâmetros microbiológicos, bem como tudo o que se refere ao licenciamento, armazenamento e transporte das lamas.

No caso dos compostos produzidos a partir de resíduos orgânicos o seu uso e comercialização são regulados pelo Decreto-Lei 103/2015 de 15 de junho. Este diploma estabelece as regras a que deve obedecer a colocação no mercado de matérias fertilizantes, assegurando, simultaneamente, a execução na ordem jurídica interna das obrigações decorrentes do Regulamento (CE) n.º 2003/2003, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 13 de outubro de 2003, relativo aos adubos. Nele vêm indicados todos os limites relativos a valores máximos admissíveis de microrganismos patogénicos, de sementes e de propágulos de infestantes, teores totais de materiais inertes, de metais pesados, compostos orgânicos, dioxinas e furanos, bem como quais as análises a realizar e a sua periodicidade.

## **2.9 Atividade Enzimática do Solo**

Os microrganismos são responsáveis por mais de 80% da atividade metabólica do solo (Varenes, 2003). Sendo uma das suas funções essenciais o processamento e recuperação de nutrientes provenientes de detritos e da matéria orgânica acumulada do solo, o que requer a atividade de enzimas extracelulares para processarem compostos orgânicos complexos em subunidades assimiláveis (Caldwell, 2005).

As enzimas do solo são originárias de fungos e bactérias do solo, de raízes das plantas, de células microbianas, de resíduos de plantas e animais, etc. (Yang, *et al.*, 2008). As bactérias e fungos libertam enzimas extracelulares para transformar a matéria orgânica em formas assimiláveis, enzimas que desempenham um papel fundamental na degradação da matéria orgânica do solo (Veres *et al.*, 2015). Tal como referem Sinsabaugh *et al.*, (2002) a decomposição de resíduos orgânicos requer a intervenção de enzimas extracelulares que quebram as ligações estruturais da matéria orgânica transformando o azoto e fósforo orgânicos em formas inorgânicas.

Deste modo, a determinação da atividade de enzimas extracelulares exprime diretamente a atividade microbiana e a sua contribuição para o ciclo dos nutrientes (Caldwell, 2005; Veres *et al.*, 2015). Alterações na atividade das enzimas extracelulares que degradam os principais componentes da matéria orgânica têm sido relacionadas com alterações nas taxas de decomposição e armazenamento de carbono no solo. Por sua vez a atividade de enzimas extracelulares é influenciada pelas propriedades físicas, químicas, microbiológicas e bioquímicas do solo (Veres *et al.*, 2015). Assim, a atividade de enzimas do solo tem sido sugerida como potencial indicador da qualidade e da fertilidade do solo, devido à sua estreita relação com a biologia do solo, por serem de fácil medição e de rápida resposta às alterações ocorridas no solo (Dick & Bandick, 1999).

As fosfatases ácidas (EC 3.1.3.2), são enzimas chave no ciclo do fósforo e catalisam as reações de hidrólise dos componentes orgânicos fosfatados, sendo referidas como indicadores da atividade microbiana (Cunha-Queda, 1999), pois contribuem para a nutrição das plantas e microrganismos através da hidrólise de fósforo orgânico em fósforo inorgânico, que é a única forma disponível para plantas e células microbianas (Liliana & Rao, 2004). Godinho (2009), refere que a presença de fosfatases no solo está correlacionada com situações de stresse fosfatado e com o crescimento das plantas. Por exemplo, quando se verifica deficiência de P no solo, ocorre a secreção de fosfatases pelas raízes das plantas,

com a consequente solubilização e remobilização de fósforo, para a melhor absorção pelas mesmas (Godinho, 2009). De acordo com Alef & Nannipieri (1995) a atividade da fosfatase é influenciada não só pelo pH e temperatura, mas também pelo teor em matéria orgânica e tipo de solo, daí que se verifiquem variações na sua atividade dependendo das estações do ano.

As proteases (EC 3.4.21.19) e as ureases (EC 3.5.1.5) são enzimas que atuam no ciclo do azoto. As proteases podem ser detetadas em microrganismos, plantas e animais, catalisando a hidrólise de proteínas em polipéptidos, oligopéptidos e aminoácidos (Alef & Nannipieri, 1995). A sua atividade no solo decresce em profundidade e aumenta após o tratamento pela adição de compostos orgânicos (Dick, 1988 citado por Godinho, 2009). As ureases têm um papel importante na libertação de N inorgânico no ciclo do azoto (Bandick & Dick, 1999). Estas catalisa a hidrólise da ureia, transformando-a em  $\text{NH}_3$  e  $\text{CO}_2$  (Yang *et al.*, 2008). A sua atividade diminui com a adição de fertilizantes azotados uma vez que a adição do produto final da reação enzimática ( $\text{NH}_4^+$ ) parece inibir a sua síntese (Dick & Bandick, 1999).

As Celulases (EC 3.2.3.4) são enzimas extracelulares, envolvidas no ciclo do C, com um importante papel na degradação da matéria orgânica (MO), sendo apontadas como bom indicador da qualidade e quantidade de MO existente no solo (Alvarenga *et al.*, 2008). As Celulases são sistemas de enzimas envolvidas na hidrólise da celulose, um importante componente das plantas (Dick & Bandick, 1999) degradam a celulose libertando açúcares redutores como produto.

Tal como a Celulase, a  $\beta$ -glucosidase (EC 3.2.1.21) é uma enzima extracelular, que desempenha um papel importante na degradação da MO. As glucosidases desempenham um papel chave na fase final da degradação da celulose catalisando a hidrólise de grandes moléculas de hidratos de carbono produzindo açúcares mais simples como a glucose, uma fonte de energia dos microrganismos do solo (Alvarenga, *et al.*, 2008).

### **3. Materiais e Métodos**

#### **3.1 Caracterização dos Resíduos Orgânicos Utilizados**

Foram testados três resíduos orgânicos diferentes; lamas residuais urbanas (SS), composto de resíduos agrícolas (AWC) e composto de resíduos sólidos urbanos de recolha indiferenciada (MMSWC), cujas características químicas e microbiológicas estão descritas em Alvarenga *et al.*, (2015). Os resíduos orgânicos foram escolhidas tendo em conta o seu potencial benefício em termos agrícolas, uma vez que possuíam mais de 30% de matéria orgânica e também tendo em conta fatores logísticos como transporte e aplicação.

##### **Lamas Residuais Urbanas (SS)**

As lamas residuais foram obtidas numa estação de tratamento de águas residuais (ETAR) de uma cidade com 6000 habitantes de características rurais na região do Alentejo.

A ETAR tem um sistema de lamas ativadas, com uma elevada taxa de arejamento, seguindo-se um processo de nitrificação-desnitrificação. As lamas são desidratadas mecanicamente por centrifugação permitindo valores de matéria seca na ordem dos 15% e eram na altura enviadas para aterro.



**Figura 4 - Tanque de decantação e leito de secagem de lamas.**

##### **Composto de Resíduos Sólidos Urbanos de Recolha Indiferenciada (MMSWC)**

O composto de resíduos sólidos urbanos é proveniente de uma estação de compostagem na região de Setúbal que serve uma população de cerca de 113000 habitantes. A estação de compostagem recebe Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) de recolha indiferenciada que são

sujeitos a uma separação mecânica seguida de um tratamento biológico. O composto produzido é comercializado a granel principalmente para aplicação em solos de vinha.



**Figura 5 - Centro de recolha de resíduos sólidos urbanos e estação de compostagem**

### ***Composto de Resíduos Agrícolas (AWC)***

O composto de resíduos agrícolas foi produzido numa herdade na região do Alentejo a partir dos resíduos da limpeza dos olivais, da colheita e processamento das azeitonas para produção de azeite e do estrume de ovelha produzido na herdade, nas proporções: 61% de estrume de ovelha, 21% de resíduos de lagar de azeite, 10% de folhas de oliveira e 8% de farinha de carne. O composto produzido é normalmente aplicado nos solos da herdade.



**Figura 6 - Resíduos agrícolas e destroçador de resíduos verdes**

Na Tabela 1 são apresentadas algumas das características químicas e biológicas dos resíduos utilizados e os respetivos limites legais.

Tabela 1 - Caracterização química e biológica dos resíduos orgânicos e Limites legais para lamas e composto.

Parâmetro	SS	MMSWC	AWC	Limites Legais	
				Lamas <sup>a</sup>	Composto <sup>b*1</sup>
Humidade (%)	84,6	33,8	22,5		
pH (H <sub>2</sub> O)	7,4	7,8	8,3		5,5 - 9
CE (mS cm <sup>-1</sup> )	1,23	7,19	6,12		
OM (% p/p)	74,3	39,5	41,3		>30
N <sub>kjeldahl</sub>	6,2	2,1	1,8		
C/N	5,9	9,3	11,8		
P total (%P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	6,9	3,6	3,5		
Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	<0,3	3,0	1,1	20	5,0
Cr (mg kg <sup>-1</sup> )	<5,6	14,5	99,1	1000	400
Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	155,8	179,5	54,9	1000	600
Hg (mg kg <sup>-1</sup> )	<1,3	0,63	<0,28	16	5,0
Ni (mg kg <sup>-1</sup> )	22,5	29,2	360,5	300	300
Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	<5,6	202,3	17,4	750	500
Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	581,1	473,5	412,8	2500	1500
Teste de Autoaquecimento (°C)	31,9	22,8	21,8		
Classe de estabilidade	IV	V	V		
Índice de germinação (%)	57,4	29,7	103,9		
Escherichia coli (CFU g <sup>-1</sup> )	4,3 x 10 <sup>4</sup>	<1 x 10	<1 x 10	<1000	<1000
Salmonella spp. (presente/ausente em 50g)	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente* <sup>2</sup>

<sup>a</sup>Decreto-Lei nº 279/2009; <sup>b</sup> Decreto-Lei 103/2015; \*1 valor máximo para composto Classe III; \*2 em 25 g

(Adaptado de Alvarenga, et al., 2015)

Da análise dos dados presentes na tabela podemos verificar que a lama SS não se encontra higienizada estando a concentração de microrganismos acima do permitido. O composto AWC tem um teor de Níquel (Ni) superior ao permitido para o uso em solos agrícolas.

### 3.2 Esquema de Amostragem dos Solos

Os resíduos orgânicos foram aplicados a um solo classificado na família Bp (Barros pretos não calcários de dioritos ou gabros) ou Vertissolo segundo a classificação da FAO. O ensaio decorreu no Centro de Agricultura Experimental, Instituto Politécnico de Beja (figuras 7 e 8). O solo apresenta um teor de matéria orgânica inferior a 1%. Foram definidos talhões com 3x2 m<sup>2</sup> e os resíduos foram aplicados em três doses diferentes, com o equivalente a 6, 12 e 24 toneladas de matéria seca ha<sup>-1</sup> para a lama SS. A dose de cada um dos compostos, AWC e MMSWC, foram calculadas de modo a que veiculasse a mesma quantidade de matéria orgânica por unidade de área. Uma semana após incorporação dos resíduos, procedeu-se à sementeira de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.). Foram realizadas quatro repetições para cada modalidade e 1 controlo (sem corretivo e com plantas). Durante o ensaio, foram feitas quatro amostragens de solo que corresponderam a quatro tempos diferentes (T0, T1, T2 e T3), sendo:

T0 - à sementeira,

T1 - 12 dias após a sementeira,

T2 - na colheita, 4 meses após a sementeira,

T3 - 4 meses após a colheita.



Figura 7 - Instalação do ensaio no Centro de Agricultura Experimental, Instituto Politécnico de Beja.

As amostras de solo nos diferentes tempos de amostragem foram recolhidas a 20 cm de profundidade. Logo após a colheita as amostras foram mantidas refrigeradas à temperatura de 4 °C.



**Figura 8 - Vista geral do campo de ensaios no Centro de Agricultura Experimental, Instituto Politécnico de Beja.**

## **3.2 Atividades Enzimáticas**

Para a determinação da atividade enzimática as amostras foram crivadas a 2 mm e mantidas refrigeradas à temperatura de 4°C.

As determinações das atividades enzimáticas foram feitas em triplicado para cada uma das 4 repetições, exceto nas ureases em que foram feitas em quadruplicado. Os resultados são expressos em  $\mu\text{mol}$  de produto formado  $\text{g}^{-1}$  de matéria seca  $\text{tempo}^{-1}$ .

### **3.2.1 Fosfatases Ácidas**

O método utilizado baseia-se na determinação por espectrofotometria molecular da quantidade de *p*-nitrofenol que é libertado após a incubação de 1 g de solo durante 1 hora, a 37 °C com o substrato *p*-nitrofenilfosfato (PNP ác.) (Tabatabai e Bremner, 1969; Eivazi e Tabatabai, 1977). A atividade enzimática é expressa em  $\mu\text{mol}$  *p*-nitrofenol  $\text{g}^{-1}$  m.s.  $\text{h}^{-1}$ .

### **3.2.2 Proteases**

A atividade das proteases foi determinada através do método de determinação espectrofotométrica dos aminoácidos libertados após a incubação da amostra em presença de caseinato de sódio, durante 2 horas a 50 °C (Ladd e Butler, 1972 *in* Alef & Nannipieri, (1995). A atividade enzimática é expressa em  $\mu\text{mol}$  tirosina  $\text{g}^{-1}$  m.s.  $2\text{h}^{-1}$ .

### **3.2.3 Ureases**

A atividade das ureases foi determinada pelo método de Kandeler e Gerber (1988) descrito em Alef & Nannipieri, (1995). O método baseia-se na determinação por espectrofotometria molecular do azoto amoniacal libertado, após a incubação do solo com substrato de ureia durante 2 horas a 37 °C. A atividade enzimática é expressa em  $\mu\text{mol}$   $\text{NH}_4^+$   $\text{g}^{-1}$  m.s.  $\text{h}^{-1}$ .

### **3.2.4 Celulases Totais**

A determinação das celulases totais foi realizada pelo método de Hope e Burns (1997) descrito em Alef & Nannipieri, (1995) e baseia-se na determinação espectrofotométrica dos açúcares redutores produzidos após incubação de 1 g de solo durante 16 horas a 40 °C na presença de celulose microcristalina. A atividade enzimática é expressa em  $\mu\text{mol glucose g}^{-1} \text{ m.s. } 16\text{h}^{-1}$ .

### **3.2.5 $\beta$ -glucosidases**

O método utilizado baseia-se na determinação, por espectrofotometria molecular, da quantidade de *p*-nitrofenol que é libertado após a incubação de 1 g de solo durante 1 hora, a 37 °C com o substrato *p*-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, descrito em Alef & Nannipieri, (1995). A atividade enzimática é expressa em  $\mu\text{mol } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ m.s. h}^{-1}$ .

## **3.3 Análise química**

Os teores apresentados de Azoto Kjeldahl, Fósforo assimilável e Matéria Orgânica foram determinados no Instituto Politécnico de Beja no âmbito do projeto ResOrgRisk e encontram-se descritos em Alvarenga et al., 2017.

### **3.4 Tratamento Estatístico**

A análise estatística dos dados foi feita com o *software* Statistix 10 (*Analytical Software*) para Windows. Os dados foram sujeitos a uma análise de variância a dois fatores com interação e aplicado o teste de Tukey para avaliar as diferenças significativas entre as médias ( $p < 0,05$ ). As correlações foram executadas no programa Excel do Windows, versão Microsoft Office Excel 2007.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1 Atividade Enzimática

De acordo com os objetivos do trabalho apresentam-se inicialmente os resultados relativos às atividades enzimáticas estudadas para cada corretivo orgânico utilizado.

#### 4.1.1 Fosfatases Ácidas

De um modo geral, verificou-se uma tendência para o aumento da actividade enzimática ao longo do tempo com a aplicação de MMSWC e AWC, independentemente da dose aplicada (Tabela 2). Nos solos onde se aplicou a lama SS, com excepção da dose 6, a actividade enzimática final (T3) não apresenta diferenças significativas em relação ao T0 (inicial). Salienta-se ainda que, nos solos onde foi aplicado o resíduo SS nas doses 12 e 24, ocorreu uma diminuição significativa da actividade enzimática entre os tempos T0 e T1, o que poderá estar relacionado com o facto da matéria orgânica da lama residual urbana não estar estabilizada, influenciando as populações de microrganismos existentes no solo. Foi no solo em que este resíduo foi aplicado na dose 24 que a actividade das fosfatases ácidas foi máxima (3,49  $\mu\text{mol p-nitrofenol g}^{-1} \text{ m.s. h}^{-1}$ ).

Tabela 2 - - Efeito médio da interação Tempo x Dose na atividade das fosfatases ácidas ao longo do ensaio para os diferentes corretivos orgânicos. Os valores apresentados são respeitantes à média de 4 repetições.

		Fosfatases ácidas ( $\mu\text{mol p-nitrofenol g}^{-1} \text{ m.s. h}^{-1}$ ) tempo			
Dose		T0	T1	T2	T3
SS	controlo	0,31 <sup>gh</sup>	0,53 <sup>fgh</sup>	0,68 <sup>efgh</sup>	0,92 <sup>defg</sup>
	6	0,70 <sup>efgh</sup>	0,36 <sup>gh</sup>	1,06 <sup>cdef</sup>	1,44 <sup>bcd</sup>
	12	1,37 <sup>bcd</sup>	0,37 <sup>gh</sup>	1,28 <sup>bcde</sup>	1,80 <sup>b</sup>
	24	1,40 <sup>bcd</sup>	0,28 <sup>h</sup>	<b>3,49<sup>a</sup></b>	1,65 <sup>bc</sup>
MMSWC	controlo	0,31 <sup>fghi</sup>	0,53 <sup>d</sup>	0,68 <sup>c</sup>	0,92 <sup>b</sup>
	6	0,24 <sup>ghi</sup>	0,46 <sup>de</sup>	0,41 <sup>def</sup>	0,55 <sup>cd</sup>
	12	0,22 <sup>hi</sup>	0,36 <sup>efg</sup>	0,98 <sup>ab</sup>	1,12 <sup>a</sup>
	24	0,35 <sup>efgh</sup>	0,20 <sup>i</sup>	0,93 <sup>b</sup>	1,11 <sup>a</sup>
AWC	controlo	0,31 <sup>f</sup>	0,53 <sup>e</sup>	0,68 <sup>d</sup>	0,92 <sup>bc</sup>
	6	0,28 <sup>f</sup>	0,63 <sup>de</sup>	0,70 <sup>d</sup>	0,84 <sup>c</sup>
	12	0,24 <sup>f</sup>	0,54 <sup>e</sup>	0,63 <sup>de</sup>	1,04 <sup>ab</sup>
	24	0,19 <sup>f</sup>	0,51 <sup>e</sup>	0,60 <sup>de</sup>	1,05 <sup>a</sup>

Valores médios por resíduo, seguidos da mesma letra, não diferem entre si de forma significativa ( $p < 0,05$ ).

Nos solos onde foram aplicados os compostos MMSWC e AWC, para todas as doses estudadas, há diferenças significativas entre a actividade enzimática inicial (T0) e final (T3). No caso dos solos onde foi aplicado a lama SS na dose 24 verificou-se que a actividade das fosfatases ácidas diferiu significativamente de todas as outras no tempo de amostragem T2. A actividade das fosfatases ácidas para as doses de aplicação 12 e 24 no T3 aumentou significativamente em relação ao controlo no mesmo tempo.

No caso do composto MMSWC verificou-se que a actividade enzimática diminuiu significativamente no tempo T1 para as doses 12 e 24 relativamente ao controlo. No tempo T2 só se verificou um aumento significativo da actividade das fosfatases ácidas nos solos onde foram aplicadas as doses 12 e 24. Esta tendência foi igualmente observada no tempo T3. No caso dos solos onde foi aplicado o composto AWC, não se observaram diferenças significativas entre as doses aplicadas.

#### 4.1.2 Celulases Totais

As celulases totais foram detetadas no tempo T0 para todas as modalidades estudadas, e no tempo T3 apenas para os solos onde foram aplicados a lama SS e o composto MMSWC (Tabela 3).

Tabela 3 - Efeito médio da interação Tempo x Dose na atividade das celulases totais ao longo do ensaio para os diferentes resíduos orgânicos. Os valores apresentados são respeitantes à média de 4 repetições.

		Celulases totais ( $\mu\text{mol glucose g}^{-1} \text{ m.s. } 16\text{h}^{-1}$ ) tempo			
Dose		T0	T1	T2	T3
SS	controlo	0,20 <sup>e</sup>	n.d.	n.d.	n.d.
	6	0,61 <sup>c</sup>	n.d.	n.d.	0,44 <sup>d</sup>
	12	0,42 <sup>d</sup>	n.d.	n.d.	1,11 <sup>a</sup>
	24	0,44 <sup>d</sup>	n.d.	n.d.	0,94 <sup>b</sup>
MMSWC	controlo	0,20 <sup>f</sup>	n.d.	n.d.	n.d.
	6	0,33 <sup>e</sup>	n.d.	n.d.	n.d.
	12	1,15 <sup>c</sup>	n.d.	n.d.	0,58 <sup>d</sup>
	24	<b>2,23<sup>a</sup></b>	n.d.	n.d.	1,43 <sup>b</sup>
AWC	controlo	0,20 <sup>c</sup>	n.d.	n.d.	n.d.
	6	0,42 <sup>a</sup>	n.d.	n.d.	n.d.
	12	0,41 <sup>a</sup>	n.d.	n.d.	n.d.
	24	0,33 <sup>b</sup>	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. – não detetado

Valores médios por resíduos, seguidos da mesma letra, não diferem entre si de forma significativa ( $p < 0,05$ ).

Para a modalidade onde se aplicou o resíduo SS registaram-se diferenças significativas entre as doses aplicadas e o controlo, sendo os valores registados superiores aos deste; não tendo porém havido no T0 diferenças entre as doses 12 e 24, que apresentaram uma atividade mais baixa do que a dose 6.

Ainda para o resíduo SS, não se detetou atividade das celulases totais nos tempos de amostragem intermédios. Contudo, no final do ensaio (T3) a atividade volta a ser detetada, e apenas nos solos onde foi aplicado o resíduo, mas desta vez com diferenças significativas entre doses aplicadas. Verificou-se um aumento da atividade destas enzimas em relação ao tempo inicial (T0) nas doses 12 e 24 e uma diminuição na dose 6.

Nos solos onde foi aplicado o composto MMSWC em T0 a atividade das celulases não só difere significativamente entre dose aplicadas como também aumenta com o aumento da dose de composto aplicado. Verificou-se que para foi a dose 24 que se observou o valor mais elevado da atividade desta enzima ( $2,23 \mu\text{mol glucose g}^{-1} \text{ m.s. } 16\text{h}^{-1}$ ). A enzima volta a estar ativa em T3 mas apenas para as doses 12 e 24.

Relativamente aos solos onde foi aplicado o composto AWC a atividade das celulases totais apenas foi detetada no inicio do ensaio (T0), i.e., à sementeira, tendo se verificado diferenças entre as doses aplicadas e o controlo.

A evolução da atividade das celulases totais parece indicar que atuam logo no início da incorporação da matéria orgânica no solo.

### 4.1.3 $\beta$ -Glucosidase

Em geral a atividade da  $\beta$ -glucosidase apresenta diferenças significativas ao longo do tempo independentemente do resíduo aplicado, verificando-se uma diminuição significativa da sua atividade entre T0 e T1 (Tabela 4). Em todas as modalidades esta diminuição foi seguida de um aumento da atividade em T2 com exceção da amostra MMSWC dose 6 em que o aumento apenas se deu em T3.

Nos solos onde foram aplicados os resíduos SS e MMSWC a atividade é mais elevada no início (T0) do que em T3 mantendo-se os valores ainda assim superiores aos do controlo. Nas amostras de solo onde se adicionou o composto AWC e no controlo a atividade da glucosidase foi maior e T3 do que no início (T0).

**Tabela 4- Efeito médio da interação Tempo x Dose na atividade da  $\beta$ -glucosidase o longo do ensaio para os diferentes resíduos orgânicos. Os valores apresentados são relativos à média de 4 repetições.**

		<b><math>\beta</math>-glucosidase</b> ( $\mu\text{mol p-nitrofenol g}^{-1} \text{ m.s. h}^{-1}$ ) tempo			
Dose		T0	T1	T2	T3
SS	controlo	0,94 <sup>fg</sup>	0,57 <sup>g</sup>	1,14 <sup>f</sup>	1,27 <sup>ef</sup>
	6	5,14 <sup>c</sup>	0,59 <sup>g</sup>	1,65 <sup>e</sup>	2,68 <sup>d</sup>
	12	<b>7,36<sup>a</sup></b>	0,58 <sup>g</sup>	1,63 <sup>e</sup>	2,57 <sup>d</sup>
	24	6,28 <sup>b</sup>	0,72 <sup>g</sup>	2,61 <sup>d</sup>	2,68 <sup>d</sup>
MMSWC	controlo	0,94 <sup>fg</sup>	0,57 <sup>hi</sup>	1,14 <sup>ef</sup>	1,27 <sup>e</sup>
	6	4,77 <sup>a</sup>	0,94 <sup>fg</sup>	0,43 <sup>i</sup>	1,51 <sup>d</sup>
	12	4,50 <sup>b</sup>	0,76 <sup>gh</sup>	1,22 <sup>e</sup>	2,01 <sup>c</sup>
	24	4,33 <sup>b</sup>	0,64 <sup>hi</sup>	1,25 <sup>e</sup>	2,18 <sup>c</sup>
AWC	controlo	0,94 <sup>e</sup>	0,57 <sup>g</sup>	1,14 <sup>cd</sup>	1,27 <sup>bc</sup>
	6	1,04 <sup>de</sup>	0,59 <sup>g</sup>	1,31 <sup>b</sup>	1,54 <sup>a</sup>
	12	0,94 <sup>e</sup>	0,60 <sup>g</sup>	1,05 <sup>de</sup>	1,36 <sup>b</sup>
	24	0,61 <sup>g</sup>	0,49 <sup>g</sup>	0,78 <sup>f</sup>	1,51 <sup>a</sup>

Valores médios por tratamento, seguidos da mesma letra, não diferem entre si de forma significativa ( $p < 0,05$ ).

Nos solos onde foi aplicado o corretivo SS houve diferenças significativas na atividade da glucosidase em T0 em função da dose aplicada sendo o valor mais elevado registado na dose 12 (7,36  $\mu\text{mol p-nitrofenol g}^{-1} \text{ m.s. h}^{-1}$ ), seguindo-se uma descida considerável em T1 sem diferenças significativas entre doses, ou seja, apesar de haver diferenças entre as doses em T0, em T1 estas dissipam-se sendo a atividade da  $\beta$ -glucosidase semelhante em todas as doses. Em T2 registou-se uma subida cujos valores apenas diferem no controlo e na dose 24,

continuando a verificar se um aumento no final do ensaio (T3) onde tal como em T1 não se verificam diferenças entre doses, com exceção do controlo em que os valores se mantêm semelhantes aos de T2.

Os solos onde foi aplicado o resíduo MMSWC, tiveram um comportamento semelhante aos solos onde foi aplicado o SS, registando-se uma descida acentuada em T1 onde também não se verificaram grandes diferenças entre doses aplicadas, seguindo-se um aumento da atividade a partir de T2, com exceção da dose 6, em que este só se verificou em T3 tendo coincidido com o valor mais baixo registado para a atividade da glucosidase ( $0,43 \mu\text{mol p-nitrofenol g}^{-1} \text{ m.s. h}^{-1}$ ). No entanto, não houve diferenças significativas na atividade da  $\beta$ -glucosidase entre as doses 12 e 24, mas sim entre estas e a dose 6 do início (T0) e no final do ensaio (T3).

No que se refere aos solos onde se aplicou o resíduo AWC, a diminuição da atividade enzimática em T1 não foi tão expressiva e em T0 nas diferentes doses a atividade não diferiu muito significativamente do controlo, com exceção da dose 24 em que os valores registados foram inferiores ao controlo. Nos dois tempos que se seguiram, a atividade voltou a demonstrar uma tendência de aumento, tendo os valores em T3 sido semelhantes entre o controlo e a dose 12 e entre a dose 6 e a dose 24 para as quais se registaram os valores mais elevados para esta modalidade.

#### 4.1.4 Ureases

No ensaio realizado podemos verificar que, a atividade da ureases foi superior no final do ensaio (T3) do que no início (T0) para todos os resíduos e doses estudadas (Tabela 5).

Tabela 5- Efeito médio da interação Tempo x Dose na atividade das ureases o longo do ensaio para os diferentes resíduos orgânicos. Os valores apresentados são relativos à média de 4 repetições.

		Ureases ( $\mu\text{mol N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ m.s. } 2\text{h}^{-1}$ ) tempo			
Dose		T0	T1	T2	T3
SS	controlo	1,55 <sup>d</sup>	1,44 <sup>def</sup>	2,82 <sup>b</sup>	3,96 <sup>a</sup>
	6	1,97 <sup>c</sup>	1,48 <sup>de</sup>	0,97 <sup>gh</sup>	3,10 <sup>b</sup>
	12	1,27 <sup>def</sup>	2,12 <sup>c</sup>	0,91 <sup>h</sup>	3,76 <sup>a</sup>
	24	1,19 <sup>fgh</sup>	1,54 <sup>d</sup>	1,23 <sup>efg</sup>	3,04 <sup>b</sup>
MMSWC	controlo	1,55 <sup>e</sup>	1,44 <sup>e</sup>	2,82 <sup>c</sup>	3,96 <sup>a</sup>
	6	1,46 <sup>e</sup>	0,93 <sup>f</sup>	1,45 <sup>e</sup>	3,66 <sup>b</sup>
	12	0,95 <sup>f</sup>	0,97 <sup>f</sup>	0,82 <sup>f</sup>	2,82 <sup>c</sup>
	24	0,75 <sup>fg</sup>	0,84 <sup>f</sup>	0,53 <sup>g</sup>	2,38 <sup>d</sup>
AWC	controlo	1,55 <sup>ef</sup>	1,44 <sup>fg</sup>	2,82 <sup>c</sup>	3,96 <sup>a</sup>
	6	1,95 <sup>d</sup>	1,60 <sup>ef</sup>	2,78 <sup>c</sup>	<b>4,02<sup>a</sup></b>
	12	1,67 <sup>e</sup>	1,25 <sup>gh</sup>	1,16 <sup>h</sup>	3,58 <sup>b</sup>
	24	1,52 <sup>ef</sup>	1,29 <sup>gh</sup>	1,40 <sup>fg</sup>	3,81 <sup>b</sup>

Valores médios por tratamento, seguidos da mesma letra, não diferem entre si de forma significativa ( $p < 0,05$ ).

A atividade das ureases nos solos onde foi aplicado o resíduo SS não apresentou diferenças muito significativas entre modalidades com exceção da dose 6. Em T1 verificou-se uma ligeira diminuição da atividade, no controlo e na dose 6, e uma subida nas doses 12 e 24. Em T2 todas as modalidades registaram uma diminuição da atividade da enzima exceto o controlo onde se verifica um aumento. No final do ensaio (T3) a atividade das ureases aumentou em todas as modalidades, sendo mais elevada no controlo do que nos solos onde foram adicionados os resíduos.

Para a modalidade em que se utilizou o resíduo MMSWC a atividade das ureases foi ao longo do ensaio maior no controlo do que nos solos com resíduo. Entre os tempos T0 e T1 não houve diferenças significativas nas doses 12 e 24, nos solos com a dose 6 houve uma ligeira diminuição em T1 que em T2 voltou aos valores iniciais enquanto que nos com a dose 12 não

houve alterações significativas e nos solos com a dose 24 diminuíram ligeiramente. Em T3 verificou-se um aumento significativo para todas as doses estudadas.

Nos solos onde foi adicionado o AWC e com exceção dos onde foi adicionado na dose 6, não houve diferenças significativas entre as doses. Em T1 deu-se uma pequena descida da atividade enzimática seguindo-se um aumento em T2 e T3 para a dose 6 e o controlo que não apresentaram diferenças entre eles e para as doses 12 e 24 os valores mantêm-se sem grandes diferenças significativas em T2, aumentando então no final do ensaio.

A atividade das ureases foi máxima ( $4,02 \mu\text{mol N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ m.s. } 2\text{h}^{-1}$ ) no solo onde foi aplicado a dose 6 do composto AWC e foi verificada no T3 embora não diferindo significativamente do controlo

#### 4.1.5 Proteases

Durante o decorrer do ensaio a atividade das proteases não foi detetada, ou os valores registados encontravam-se abaixo do limite de quantificação ou abaixo do limite de deteção da técnica utilizada (Tabela 6) pelo que os dados não foram tidos em consideração para o tratamento estatístico.

Tabela 6 - Evolução da atividade das proteases o longo do ensaio para os diferentes resíduos orgânicos. Os valores apresentados são relativos à média de 4 repetições.

		<b>Proteases</b> ( $\mu\text{mol}$ tirosina $\text{g}^{-1}$ m.s.. $2\text{h}^{-1}$ ) tempo			
	Dose	T0	T1	T2	T3
SS	controlo	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	12	<0,003*	<0,003*	n.d.	<0,01**
	24	<0,01**	<0,003*	<0,003*	<0,01**
MMSWC	controlo	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
AWC	controlo	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	12	<0,003*	n.d.	n.d.	n.d.
	24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. – não detetado; \* limite de deteção; \*\* Limite de quantificação

## 4.2 Características Químicas

Em seguida apresentam-se os resultados das características químicas dos solos para as diferentes modalidades. Os dados apresentados correspondem ao tempo T2 que coincide com o final do ciclo da cultura instalada, ou seja, com a colheita do azevém anual.

Tabela 7 - Efeito dos resíduos aplicados no solo, nas características químicas estudadas. Os valores apresentados são respeitantes à média de 4 repetições.

	Dose	P <sub>assimilável</sub> (mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> kg <sup>-1</sup> m.s.)	N <sub>Kjeldahl</sub> (mg N kg <sup>-1</sup> m.s.)	MO (%p/p)
SS	controlo	151,8 <sup>ab</sup>	560 <sup>a</sup>	0,94 <sup>ab</sup>
	6	219,9 <sup>abc</sup>	560 <sup>a</sup>	0,98 <sup>ab</sup>
	12	256,7 <sup>abc</sup>	800 <sup>a</sup>	0,99 <sup>ab</sup>
	24	514,2 <sup>abc</sup>	880 <sup>ab</sup>	<b>1,18</b> <sup>abc</sup>
MMSWC	controlo	151,8 <sup>ab</sup>	560 <sup>a</sup>	0,94 <sup>ab</sup>
	6	202,5 <sup>abc</sup>	790 <sup>a</sup>	0,87 <sup>a</sup>
	12	400,3 <sup>abc</sup>	780 <sup>a</sup>	0,90 <sup>a</sup>
	24	348,3 <sup>abc</sup>	<b>970</b> <sup>ab</sup>	1,10 <sup>abc</sup>
AWC	controlo	151,8 <sup>ab</sup>	560 <sup>a</sup>	0,94 <sup>ab</sup>
	6	159,0 <sup>abc</sup>	540 <sup>a</sup>	0,87 <sup>a</sup>
	12	239,3 <sup>abc</sup>	640 <sup>a</sup>	1,03 <sup>abc</sup>
	24	<b>553,5</b> <sup>abc</sup>	930 <sup>ab</sup>	1,05 <sup>abc</sup>

Valores médios por coluna, seguidos da mesma letra, não diferem entre si de forma significativa.

Pela análise dos dados da Tabela 7 podemos dizer que de um modo geral nos solos em estudo, a aplicação dos resíduos teve um efeito semelhante nos teores de P<sub>assimilável</sub>, N<sub>Kjeldahl</sub> e MO, isto é, independentemente do resíduo aplicado verificou-se um aumento com o aumento da dose aplicada.

### 4.3 Correlação entre os parâmetros avaliados

De modo a relacionar todos os parâmetros e melhor interpretar os resultados obtidos foram estabelecidas matrizes de correlação entre as atividades enzimáticas e os parâmetros químicos avaliados, para cada um dos resíduos aplicados no tempo T2. Não foram feitas correlações com as celulases uma vez que estas não estavam ativas em T2.

A Tabela 8 apresenta os coeficientes de correlação de Pearson entre as características químicas e as atividades enzimáticas nos solos onde foi aplicada a lama SS. A partir desta tabela podemos verificar que todos os parâmetros tem uma elevada correlação entre si, com exceção das ureases que apenas têm correlação significativa ainda que negativa com as  $\beta$ -glucosidase.

**Tabela 8 - Matriz de correlação entre as atividades enzimáticas nos solos onde foi adicionado o corretivo SS e os parâmetros químicos avaliados, no tempo T2.**

	Fosf. ác.	$\beta$ -gluco.	Urease	P <sub>assim.</sub>	MO	N <sub>kjeldahl</sub>
Fosf. ác.	1					
$\beta$ -gluco.	0,980	1				
Urease	N.S.	-0,543	1			
P <sub>assim.</sub>	0,987	0,966	N.S.	1		
M.O.	0,982	0,960	N.S.	0,996	1	
N <sub>K</sub>	0,796	0,722	N.S.	0,804	0,765	1

NS - não é significativo

Os coeficientes de correlação com módulo >0,497 são significativos a  $\alpha=0,1$ ; com módulo >0,576 são significativos a  $\alpha=0,05$ ; com módulo >0,708 são significativos a  $\alpha=0,01$ ; com módulo >0,823 são significativos a  $\alpha=0,001$ ; com módulo >0,891 são significativos a  $\alpha=0,0001$ .

As fosfatases ácidas, enzimas que hidrolisam o P orgânico em P inorgânico, forma na qual o P pode ser absorvido pelas plantas teve uma correlação positiva bastante elevada ( $\alpha=0,0001$ ) com o teor de P assimilável no solo o que está de acordo com os dados apresentados por Yang, et al. (2008). Tendo sido nos solos em que a lama SS foi aplicada no tempo T2 que se registou a sua atividade máxima ( $3,49 \mu\text{mol p-nitrofenol g}^{-1} \text{ m.s. h}^{-1}$ ).

A atividade da  $\beta$ -glucosidase também revelou uma correlação positiva bastante elevada ( $\alpha=0,0001$ ) com o teor de MO do solo, como era de se esperar dado o seu importante papel na degradação da MO Alvarenga et al (2008) referem que a atividade das  $\beta$ -glucosidases é usada

para avaliar a qualidade do solo uma vez que esta é prejudicada por práticas agronômicas que promovam a perda rápida de MO e beneficiada pela introdução correctivos orgânicos.

Nos solos onde foi aplicado o composto MMSWC (Tabela 9) as ureases não se verificou uma correlação significativa com o teor de MO do solo. No entanto, apresentam uma correlação negativa bastante elevada ( $\alpha=0,0001$ ) com o teor de  $N_{\text{Kjeldahl}}$  o que está de acordo com os dados obtidos por Bandick e Dick (1999) que sugerem que a adição de fertilizantes azotados inibe a atividade das ureases uma vez que a adição do produto final da reação enzimática ( $\text{NH}_4^+$ ) suprime a sua síntese. O teor de  $P_{\text{assimilável}}$  teve igualmente uma correlação negativa com a atividade das ureases.

**Tabela 9 - Matriz de correlação entre as atividades enzimáticas nos solos onde foi adicionado o resíduo MMSWC e os parâmetros químicos avaliados, no tempo T2.**

	Fosf. ác.	$\beta$ -gluco.	Urease	$P_{\text{assim.}}$	MO	$N_{\text{Kjeldahl}}$
Fosf. ác.	1					
$\beta$ -gluco.	0,906	1				
Urease	-0,510	N.S.	1			
$P_{\text{assim.}}$	0,806	0,505	-0,875	1		
M.O.	0,553	0,581	N.S.	N.S.	1	
$N_{\text{K}}$	N.S.	N.S.	-0,930	0,681	0,581	1

NS - não é significativo

Os coeficientes de correlação com módulo  $>0,497$  são significativos a  $\alpha=0,1$ ; com módulo  $>0,576$  são significativos a  $\alpha=0,05$ ; com módulo  $>0,708$  são significativos a  $\alpha=0,01$ ; com módulo  $>0,823$  são significativos a  $\alpha=0,001$ ; com módulo  $>0,891$  são significativos a  $\alpha=0,0001$ .

As fosfatases ácidas e a  $\beta$ -glucosidase apresentam uma correlação positiva com o teor de  $P_{\text{assimilável}}$  sendo esta no caso das fosfatases ácidas elevada ( $\alpha=0,01$ ), tal com era de esperar uma vez que são enzimas chave na hidrólise do  $P_{\text{orgânico}}$  em  $P_{\text{inorgânico}}$ . Também se verificou uma correlação positiva com o teor de matéria orgânica no solo e uma correlação negativa com a atividade das ureases.

Com a aplicação do composto AWC as atividades das enzimas estudadas apresentaram um comportamento semelhante (Tabela 10), tendo todas elas uma correlação negativa com as características químicas do solo. Se esta correlação negativa era esperada no que se refere à atividade das ureases em relação ao teor de  $N_{\text{Kjeldahl}}$ , já não o era em relação às fosfatases ácidas e o teor de  $P_{\text{assimilável}}$  e de MO e em relação às  $\beta$ -glucosidase e o teor de MO. No entanto, para as actividades das fosfatases e da  $\beta$ -glucosidase com a aplicação do composto AWC registou-se uma diminuição da atividade com o aumento da dose aplicada para valores

muitas vezes inferiores aos do controlo. O que poderá estar relacionado com o facto deste composto apresentar uma estabilidade da matéria orgânica mais elevado do que a dos outros dois resíduos ou a eventualmente estar presente alguma substância que iniba a actividade, como por exemplo metais pesados como o níquel para o qual se verificou estar em concentração mais elevada ( $360,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ) da observada para os outros dois resíduos e acima do limites previstos pelo decreto-lei nº 103/2015.

**Tabela 10 - Matriz de correlação entre as atividades enzimáticas nos solos onde foi adicionado o corretivo AWC e os parâmetros químicos avaliados, no tempo T2.**

	Fosf. ác.	$\beta$ -gluco.	Urease	P <sub>assim.</sub>	MO	N <sub>Kjeldahl</sub>
Fosf. ác.	1					
$\beta$ -gluco.	0,824	1				
Urease	0,756	0,728	1			
P <sub>assim.</sub>	-0,752	-0,901	-0,655	1		
M.O.	-0,800	-0,891	-0,909	0,748	1	
N <sub>k</sub>	-0,766	-0,924	-0,674	0,998	0,783	1

NS - não é significativo

Os coeficientes de correlação com módulo  $>0,497$  são significativos a  $\alpha=0,1$ ; com módulo  $>0,576$  são significativos a  $\alpha=0,05$ ; com módulo  $>0,708$  são significativos a  $\alpha=0,01$ ; com módulo  $>0,823$  são significativos a  $\alpha=0,001$ ; com módulo  $>0,891$  são significativos a  $\alpha=0,0001$ .

## **5. Conclusões**

A aplicação de materiais orgânicos ao solo pode ser uma boa estratégia para a redução de deposição de resíduos orgânicos em aterro, desde que as propriedades físico-químicas, químicas e bioquímicas do solo não sejam negativamente afetadas e que não apareçam condições nocivas no solo. Neste estudo, foi possível verificar que dum modo geral a atividade enzimática no solo aumentou com a aplicação dos materiais orgânicos estudados.

Contudo, e apesar do aumento da atividade das enzimas, resultante da aplicação de resíduos orgânicos ao solo, poder ser um bom indicador do efeito benéfico da aplicação destes resíduos ao solo, na sua aplicação deverá ser dada atenção à presença de outras substâncias orgânicas e inorgânicas que poderão ter um efeito nocivo quer para as plantas quer para o ambiente.

Os resultados indicam que após a colheita das plantas a atividade enzimática manteve-se e na maior parte dos casos foi superior à verificada para o controlo pelo que será importante realizar semelhante estudo durante mais um ciclo de cultura.

## 6. Referências Bibliográficas

AEA, 2015. *O Ambiente na Europa: Estado e perspectivas 2015 – Relatório síntese*, Copenhaga: Agencia Europeia do Ambiente.

Alef, K. & Nannipieri, P., 1995. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. London: Academic Press.

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

Alvarenga, P. et al., 2013. *Environmental risk assessment of the use of different organic wastes as soil amendments*. Viena, European Geosciences Union.

Alvarenga, P. et al., 2008. Assessment of chemical, biochemical and ecotoxicological aspects in a mine soil amended with sludge of either urban or industrial origin. *Chemosphere*, Volume 72, p. 1774–1781.

Alvarenga, P. et al., 2017. Recycling organic wastes to agricultural land as a way to improve its quality: A field study to evaluate benefits and risks. *Waste Management*, Volume 61, pp. 582-592.

Alvarenga, P. et al. 2016. Quality Assessment of a Battery of Organic Wastes and Composts Using Maturity, Stability and Enzymatic Parameters. *Waste and Biomass Valorization*, Volume 73, pp. 455–465.

Alves, F. et al., 2007. *Nitrogen and Carbon Mineralization from Organic Farming Fertilizers Applied to a Sandy Soil*. Ghent, International Scientific Centre of Fertilizers (CIEC).

APA, 2017. *Relatório do Estado do Ambiente 2016*. [Acedido em 1 out. 2017] Disponível em: <http://rea.apambiente.pt>

Baltazar, M., 2005. *Efeito da aplicação de resíduos sólidos urbanos compostados e lamas celulósicas em plantação de Eucalyptus globulus Labil.*, Lisboa: ISA, UTL.

Bandick, A. K. & Dick, R. P., 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 31, pp. 1471-1479.

Cabral, F., Vasconcelos, E., Goss, M. J. & Cordovil, C., 1998. The value, use, and environmental impacts of pulp-mill sludge additions to forest and agricultural lands in Europe. *Environmental Reviews*, Volume 6, pp. 55-64.

Caldwell, B. A., 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia*, Volume 49, pp. 635-644.

Ciarkowska, K., Solek-Podwika, K. & Wieczorek, J., 2014. Enzyme activity as an indicator of soil-rehabilitation processes at a zinc and lead ore mining and processing area. *Journal of Environmental Management*, Volume 132, pp. 250-256.

Commission, E., 2014. *General Union Environmental Action Programme to 2020*. [Consultado em 2 mar. 2016]. Disponível em: <http://bookshop.europa.eu/en/general-union-environment-action-programme-to-2020-pbKH0113833/>

Eurostat, 2017. *Eurostat - waste statistics*. [Consultado em 15 set. 2017]. Disponível em: [http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Waste\\_statistics](http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Waste_statistics)

Cunha-Queda, C., 1999. *Dinâmica do azoto durante a compostagem de materiais biológicos putrescíveis*. Tese de Doutoramento em Engenharia Agro-Industrial, Lisboa: Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.

Decisão nº 1386/2013/UE do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de novembro de 2013 relativa a um programa geral de ação da União para 2020 em matéria de ambiente «Viver bem, dentro dos limites do nosso planeta» [Consultado em 24 jan. 2016] Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32013D1386>

Decreto Lei nº 103/2015 de 15 de Junho do Ministério da Economia, Matérias Fertilizantes. [online]. Diário da República: I série, Nº 114 [Consultado em 4 jan. 2016]. Disponível em <http://data.dre.pt/eli/dec-lei/103/2015/06/15/p/dre/pt>.

Decreto Lei nº 178/2006 de 5 de Setembro do Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, Regime Geral da Gestão de Resíduos. [online]. Diário da República: I série, Nº 171 [Consultado em 24 jan. 2016]. Disponível em <http://data.dre.pt/eli/dec-lei/178/2006/09/05/p/dre/pt/html>.

Decreto Lei nº 276/2009 de 2 de Outubro do Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, Utilização de Lamas de Depuração em Solos Agrícolas. [online]. Diário da República: I série, Nº 192 [Consultado em 5 jan. 2016]. Disponível em <http://data.dre.pt/eli/dec-lei/276/2009/10/02/p/dre/pt/html>.

Diretiva 86/278/CEE do Conselho de 12 de junho de 1986 relativa à proteção do ambiente, e em especial dos solos, na utilização agrícola de lamas de depuração. [Consultado em 24 jan. 2016] Disponível em <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A31986L0278>

Diretiva 1999/31/CE do Conselho, de 26 de Abril de 1999, relativa à deposição de resíduos em aterro. [Consultado em 5 jan. 2016] Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1999:182:0001:0019:PT:PDF>.

Garcia-Gil, J. C., Plaza, C., Soler-Rovira, P. & Polo, A., 2000. Long term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 32, pp. 1907-1913.

Giordano, A. et al., 1991. The methodological approach to soil erosion and important land resources evaluation of the European community. *Soil Technology*, Volume 4, pp. 65-77.

Godinho, B., 2009. *Avaliação da qualidade ambiental da envolvente das Minas da Panasqueira. Vertente solo-água-Arbutus unedo. Um caso de estudo com orientação ambiental e social*. Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente - Tecnologias Ambientais, Lisboa: Instituto Superior de Agronomia.

Hernández, D., Fernández, J. M., Plaza, C. & Polo, A., 2007. waste soluble organic matter and biological activity of a degraded soil amended with pig slurry. *Science of the Total Environment*, Volume 378, pp. 101-103.

Houba, V. J. G., Van der Lee, J. J., Novozamsky, I. & Walinga, I., 1989. *Soil and plant analysis, a series of syllaby, part 5, soil analysis procedures*. Wageningen: Wageningen Agricultural University.

INE, 2011. *Recenseamento Agrícola 2009 - Análise dos principais resultados*, Lisboa-Portugal: Instituto Nacional de Estatística, I.P..

Liliana, G. & Rao, M., 2004. Potencial of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. *Enzyme and Microbial Technology*, Volume 35, pp. 339-354.

MADRP, s.d. *Manual Básico de Práticas Agrícolas: Conservação do Solo e da Água*, s.l.: s.n.

Mattana, S. et al., 2014. Sewage sludge processing determines its impacts on soil microbial community structure and function. *Applied Soil Ecology*, Volume 75, pp. 150-161.

Oliveira, J. S., Mendes, B. & Lapa, N., 2009. *Resíduos Gestão, Tratamento e a sua Problemática em Portugal*. 1<sup>o</sup> ed. Lisboa: Lidel.

PERSU 2020, 2014 Plano Estratégico para os Resíduos Sólidos Urbanos 2020. Ministério do Ambiente, Ordenamento do Território e Energia, Lisboa. 115 pp

Pinto, N. F. P., 2015. *Contributo para a minimização do consumo energético numa ETAR: estudo do efeito de diferentes proporções de lamas primárias e ativadas no processo de digestão anaeróbia -O estudo de caso da ETAR do Seixal- Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente*, Lisboa: s.n.

PNGR, 2014. *Programa Nacional de Gestão de Resíduos 2014-2020*, s.l.: s.n.

Rao, M. et al., 2014. Enzymes as useful tools for environmental purposes. *Chemosphere*, pp. 145-162.

Ribeiro, H., Cabral, F. & Vasconcelos, E., 2013. *Textos de apoio às aulas práticas de Nutrição Vegetal, Fertilidade do Solo e Fertilização*. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia.

Roig, N. et al., 2012. Long-term amendment of Spanish soils with sewage sludge: Effects in soil function. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Volume 158, pp. 41-48.

Roig, N. et al., 2012. Long-term amendment of Spanish soils with sewage sludge: Effects on soil functioning. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Volume 158, pp. 41-48.

Santos, J. Q., 2012. *Fertilização*. 4<sup>o</sup> ed. Mem Martins: Publicações Europa-América.

Sequeira, L. L., 2013. *Compostagem de Resíduos Sólidos Urbanos e Avaliação da Qualidade dos Produtos Obtidos – CASO DE ESTUDO AMARSUL S.A.*, Lisboa: Instituto Superior de Agronomia - Universidade Técnica de Lisboa.

Sinsabaugh, R., Carreiro, M. & Repert, D., 2002. Allocation of extracellular enzymatic activity in. *Biogeochemistry*, Volume 60, pp. 1-24.

Soares, A. et al., 2010. *Manual Prático para a Gestão de Resíduos*. 1<sup>a</sup> ed. Lisboa: Verlag Dashofer.

União Europeia (2006) Proposta de Diretiva do Parlamento Europeu e do Conselho que estabelece um quadro para a proteção do solo e altera a Diretiva 2004/35/CE [Consultado 20 jan. 2016]. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:52006PC0232&from=PT>

Varenes, A., 2003. *Produtividade dos Solos e Ambiente*. Lisboa: Esolar Editora.

Veres, Z. et al., 2015. Soil extracellular enzyme activities are sensitive indicators of detrital inputs and carbon availability. *Applied Soil Ecology*, Volume 92, pp. 18-23.

Yang, L. et al., 2008. Fertilization regulates soil enzymatic activity and fertility dynamics in a cucumber field. *Scientia Horticulturae*, Volume 116, p. 21–26.