

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

**TRATAMENTO DE RESÍDUO DE TABACO POR COMPOSTAGEM E
VERMICOMPOSTAGEM**

Dione Dinael Roehrs
(Dissertação)

Porto Alegre - RS, Brasil.
Abril de 2012.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

**TRATAMENTO DE RESÍDUO DE TABACO POR COMPOSTAGEM E
VERMICOMPOSTAGEM**

DIONE DINAEL ROEHRS
Engenheiro Agrônomo (UFRGS)

Dissertação apresentada como um dos requisitos para a obtenção do
Grau
de Mestre em Ciência do Solo

Porto Alegre - RS, Brasil.
Abril de 2012.

*Este trabalho é dedicado à minha filha Carolina Sofia Helfer Roehrs,
minha inspiração diária e fruto do amor com
minha companheira Júlia Helfer.*

“Não é o mais forte,
nem o mais inteligente, que sobrevive,
mas o que melhor se adapta às mudanças”

Charles Darwin

AGRADECIMENTOS

À Deus.

À minha base de educação, exemplo de dedicação, trabalho e honestidade, meu pai Ilson Oscar Roehrs, minha mãe Geila Roehrs, meu irmão Dieison Roehrs e meu tio – um irmão para mim – Ivan Júnior Rademann.

À Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo (PPGCS), pela oportunidade da realização deste curso de mestrado.

Ao professor Flávio Anastácio de Oliveira Camargo, por sua atenção e paciência ao acreditar em mim e orientar-me na realização dessa pesquisa.

À Andressa de Oliveira Silveira, por sua amizade, profissionalismo, apoio pessoal e compreensão em mais de cinco anos de orientação desde a graduação mostrando a magia da experimentação agrícola.

Ao professor Enílson Sacol de Sá, por seu exemplo de didática e ensinamentos.

Ao professor Pedro Selbach por disponibilizar estrutura, máquinas e ensinamento importante para o desenvolvimento do trabalho.

Ao amigo e colega Guilherme K. Schirmer pela condução de uma parte do experimento, orientações e solidariedade.

Ao melhor amigo e conselheiro para a vida profissional Douglas Vicente Francesquett.

Aos demais amigos de graduação que acompanharam o esforço do período de pós-graduação: Thomas Aguiar Gonçalves, Matheus Laurent, André Schwanck, Martim F. Severo, Renam Zucatti, Henrique Kothe e Pedro Coelho.

Aos colegas de pós-graduação pelos auxílios diversos, Claudia Ruschel, Patrícia Quadros, Patrícia Giovanella, Tiago Broeto, Jessé Fink, Michael Mazurama, Diane Alba e Douglas Rogeri.

Ao bolsista e amigo Thiago Aghinoni pela disponibilidade e ajuda nas análises.

Ao José (“seu Zé”) da casa de vegetação e funcionários do Departamento de Solos pelas inúmeras ajudas operacionais.

Ao Prado, pela ajuda nas adequações estruturais na faculdade e disponibilidade de máquinas na compostagem.

À Andrea Rocha pelo apoio em análises e idéias importantes para o trabalho com a empresa Universal Leaf Tabacos.

Obrigado à todos

TRATAMENTO DE RESÍDUO DE TABACO POR COMPOSTAGEM E VERMICOMPOSTAGEM¹

Autor: Eng. Agr. Dione Dinael Roehrs

Orientador: Prof. Flávio Anastácio de Oliveira Camargo

RESUMO

A produção de tabaco possui grande importância sócio-econômica na região sul do Brasil e o resíduo do processamento dessa cultura possui potencial para ser utilizado como fertilizante. Entretanto, diversos estudos têm atribuído inúmeros prejuízos da nicotina (principal alcalóide do tabaco) à saúde e os resíduos gerados pela indústria fumageira possuem em sua composição essa carga de substâncias tóxicas. Deste modo, o trabalho teve como objetivo avaliar o uso da compostagem como forma de tratamento do resíduo de tabaco (RT) e o potencial desse resíduo como substrato para multiplicação de minhocas. O trabalho foi dividido em quatro estudos. No estudo um foi avaliada a qualidade do composto obtido a partir de RT e outros resíduos agroindustriais. Esse experimento foi conduzido durante 90 dias na FAGRO/UFRGS, com delineamento 3x2, e com seguintes tratamentos: Controle (Poda + Cama de aviário + Esterco bovino), Tratamento 1 (RT + Poda + Esterco bovino) e Tratamento 2 (RT + Poda + Cama de aviário + Lodo de esgoto). Realizou-se o monitoramento de temperatura, umidade, pH e Condutividade elétrica (CE) e realizaram-se análises de Capacidade de Troca de Cátions (CTC), Relação C/N, Coliformes fecais e termotolerantes, Nicotina e Nitrosaminas específicas do tabaco. O segundo estudo foi conduzido em laboratório, verificando a mineralização do RT, composto orgânico e vermicomposto no solo sob três doses distintas, com delineamento 10x4. No terceiro estudo, o RT foi usado como substrato para criação de *Eisenia andrei* durante 32 dias. No quarto Estudo realizou-se o monitoramento de atributos microbiológicos do solo após incorporação de resíduo de tabaco, composto orgânico e vermicomposto. Os resultados indicam que o composto resultante de todos os tratamentos estão de acordo com os parâmetros determinados pela legislação para uso agrícola. Os teores de nicotina e nitrosamina nos tratamentos com RT foram reduzidas a zero após 90 dias. A atividade microbiana foi estimulada pela incorporação de resíduo de tabaco, composto e vermicomposto e as maiores doses promoveram maiores taxas de mineralização do carbono. A adição dos compostos orgânicos resultou no aumento da atividade microbiana avaliada por hidrólise do FDA e MS em 120 dias.

^{1/} Dissertação de Mestrado em Ciência do Solo. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. (55p.) Abril, 2012.

TREATMENT OF TOBACCO WASTE WITH COMPOSTING AND VERMICOMPOSTING

Author: Eng. Agr. Dione Dinael Roehrs

Adviser: Prof. Flávio Anastácio de Oliveira Camargo

ABSTRACT

Tobacco production has great socio-economic importance in southern Brazil and the processing waste has the potential to be used as fertilizer. However, several studies have reported health problems attributed to nicotine (principal alkaloid in tobacco) presented at the waste generated by the tobacco industry. Thus, the study aimed to evaluate the use of composting as a treatment of tobacco residue (RT) and the potential of this waste as a substrate for multiplication of earthworms. The work was divided into three studies. In one study evaluated the quality of the compost obtained from RT and other agroindustrial waste. This experiment was conducted for 90 days in FAGRO / UFRGS, with 3x2 design, with following treatments: control (pruning + bed + poultry manure), Treatment 1 (RT + Pruning + bovine manure) and Treatment 2 (RT + Pruning + poultry manure + sewage sludge). We carried out the monitoring of temperature, humidity, pH and electrical conductivity (EC) and were performed analyzes of Cation Exchange Capacity (CEC), C / N ratio, Fecal coliforms and thermotolerant, water holding capacity (WHC), Nicotine and nitrosamines contents. The second study was conducted in laboratory to evaluate mineralization of RT, compost and vermicompost in soil under three different doses, with 10x4 design. In the third study, RT the manure was mixed in different ratios (1/10, 1/5 and 2/5) and maintained under controlled temperature and humidity for 32 days. The results indicate that the composting resulting from all treatments are in accordance with the parameters set by legislation for agricultural use. The nicotine and nitrosamine levels for treatments with RT were reduced to zero . Microbial activity was stimulated by the incorporation of tobacco residue, compost and vermicompost and higher doses caused higher rates of mineralization. The addition of organic compounds resulted in increased microbial activity evaluated by the FDA hydrolysis and MS for the period.

^{1/} M.Sc. Dissertation in Soil Science. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. (55p.) April, 2012.

SUMÁRIO

1- Introdução	01
2- Revisão Bibliográfica	02
2.1- Produção de tabaco no Brasil.....	02
2.2- Resíduo da indústria de tabaco.....	03
2.3- Nicotina e Nitrosaminas.....	04
2.4- Tratamento de Resíduos.....	06
2.4.1- Compostagem.....	06
2.4.2- Vermicompostagem.....	07
2.5- Aplicação de resíduo de tabaco no solo.....	08
2.6- Indicadores microbiológicos.....	09
2.6.1- Biomassa microbiana.....	09
2.6.2- Atividade microbiana e respiração basal.....	10
2.6.3- Atividade enzimática.....	11
3- Material e Métodos	12
3.1- Caracterização do solo.....	12
3.2- Caracterização dos resíduos orgânicos.....	12
3.3- Estudos realizados.....	14
3.3.1- Estudo I -Qualidade do composto obtido a partir de resíduo de tabaco e outros resíduos agroindustriais.....	14
3.3.2- Estudo II – Mineralização de resíduos de tabaco, composto e vermicomposto no solo.....	15
3.3.3- Estudo III – Resíduo de tabaco como substrato para criação de <i>Eisenia Andrei</i>	16

3.3.4- Estudo IV – Monitoramento de atributos microbiológicos do solo após incorporação de resíduo de tabaco, composto orgânico e vermicomposto.....	18
3.4 - Análises químicas e física.....	19
3.4 - Análises biológicas.....	20
3.4 - Rendimento de Matéria-Seca (MS).....	23
3.5- Análise Estatística.....	23
4- Resultados e discussão.....	24
4.1- Estudo I- Qualidade do composto obtido a partir de resíduo de tabaco e resíduos agroindustriais.....	24
4.2- Estudo II – Mineralização do resíduo de tabaco, composto orgânico e vermicomposto no solo.....	34
4.3- Estudo III – Resíduos de tabaco como substrato para criação de <i>E. andrei</i>	38
4;4- Estudo IV – Monitoramento de atributos microbiológicos do solo após incorporação de resíduo de tabaco, composto orgânico e vermicomposto.....	43
5- Conclusões.....	49
6- Bibliografia	50

RELAÇÃO DE TABELAS

- Tabela 1.** Requisitos estabelecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para qualidade de composto orgânico.....7
- Tabela 2.** Caracterização química dos materiais usados nos Ensaios; Cama de Aviário, Lodo de Estação de tratamento de água, resíduo de tabaco e Solo Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico (PVAd).....13
- Tabela 3.** Valores de carbono orgânico (C-Org), Nitrogênio total (Nt) e relação C/N comparados no início e aos 90 dias do processo de compostagem entre os diferentes tratamentos: Controle, Tratamento 1 e Tratamento 2.31
- Tabela 4.** Caracterização química comparados no início e aos 90 dias do processo de compostagem entre os diferentes tratamentos: Controle, Tratamento 1 e Tratamento 2.....31
- Tabela 5.** Determinação de Coliformes Totais e Termotolerantes no início e aos 90 dias do processo de compostagem entre os diferentes tratamentos: Controle, Tratamento 1 e Tratamento 2.....32
- Tabela 6.** Teores de Nicotina e nitrosaminas específicas do Tabaco no início e após 90 dias do processo de compostagem34
- Tabela 7.** Resultados do ensaio conduzidos em condições de campo. Tratamentos com diferentes proporções de Resíduo de Tabaco (RT) e Esterco Bovino(EB).....38
- Tabela 8.** Caracterização de pH do substrato no início e ao final do período de avaliações (32 dias) e somatório de mortes, fugas, adultos, jovens e ovos. Tratamentos com Esterco, resíduo de tabaco (RT) e resíduo de tabaco pré-tratado (PT) em mistura ao esterco nas proporções de 10, 20 e 40 %.....40
- Tabela 9.** Carbono da Biomassa Microbiana (CBM) por Fumigação Extração e pH.. Tratamentos Controle (Solo) com composto (CP), com Vermicomposto (VM) e Resíduo de Tabaco (RT). O número indica dose.....45

RELAÇÃO DE FIGURAS

- Figura 1.** Mecanismo de formação de Nitrosaminas Específicas do Tabaco. (a)NNA nitrosoanatabine, (b)NNK metilnitrosamina, e (c)NNN n-óxido de metilnitrosamina a partir da nicotina.(Sleiman, 2010).....5
- Figura 2.** Gráfico com referência às leituras médias de temperaturas internas das leiras e temperatura ambiente nos tratamentos Controle, Tratamento 1 e tratamento2 no momento da leitura nos 90 dias de Acompanhamento.....25
- Figura 3.** Gráfico referente as leituras de pH em cada periodo amostrado durante os 90 dias decompostagem avaliados nas pilhas de compostagem Controle , Tratamento 1 e Tratamento 2.....27
- Figura 4.** Gráfico referente as leituras de Condutividade Elétrica em cada periodo amostrado durante os 90 dias decompostagem avaliados nas pilhas de compostagem Controle , Tratamento 1 e Tratamento 2.....28
- Figura 5.** Gráfico referente aos teores de Capacidade de Troca de Cátions em cada periodo amostrado durante os 90 dias decompostagem avaliados nas pilhas de compostagem Controle , Tratamento 1 e Tratamento 2.....29
- Figura 6.** Proporção entre os volumes de sólidos e poros ocupados com ar e água nos compostos após 90 dias de compostagem.Barras representam o desvio-padrão.....33
- Figura 7.** Valores acumulativos C-CO₂ durante 90 dias de incubação em condições controladas.. Tratamentos Controle (Solo) com composto (CP), com Vermicomposto (VM) e Resíduo de Tabaco (RT). O número indica dose.....35
- Figura 8.** Fração mineralizada do carbono adicionado no solo por Composto Orgânico (CP), Vermicomposto (VM) e Resíduo de Tabaco (RT).Os números dos tratamentos indicam a dose usada. Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)..... 37
- Figura 9.** Gráfico do incremento de peso por unidade animal ao final de cada semana de avaliação. Tratamentos com Esterco, resíduo de tabaco (RT) e resíduo de tabaco pré-tratado (PT) em mistura ao esterco nas proporções de 10, 20 e 40%.....41
- Figura 10.** Gráfico com o número de indivíduos Adultos (com Clitelo), jovens (Sem Clitelo) e Ovos em cada tratamento avaliado durante quatro semanas. Tratamentos com Esterco, resíduo de tabaco (RT) e resíduo de tabaco pré-tratado (PT) em mistura ao esterco nas proporções de 10, 20 e 40 %. Figura a (semana 1) e figura d (semana 4).....42

Figura 11. Gráfico com a hidrólise do FDA em cada tratamento avaliado durante quatro meses. Tratamentos com resíduo de tabaco (RT) e Vermicomposto (VM) e Composto Orgânico (CP) adicionados em três doses distintas (recomendada 1, cinco 5 e dez 10 acima da recomendação) comparados à testemunha (Solo).46

Figura 12. Gráfico com os rendimentos em vasos sob condições de campo para Aveia durante todo ciclo da cultura. Tratamentos com resíduo de tabaco (RT) e Vermicomposto (VM) e Composto Orgânico (CP) adicionados em três doses distintas (recomendada 1, cinco 5 e dez 10 acima da recomendação) comparados a Controle (Solo)..... 47

1. INTRODUÇÃO

A importância sócioeconômica do tabaco para a região Sul do Brasil é indiscutível. Presente em 656 municípios do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, o tabaco é cultivado em 327 mil hectares, por 165 mil produtores integrados. Um universo de aproximadamente 626 mil pessoas participa desse ciclo produtivo no meio rural. Na safra 2011/2012, a produção alcançou 710 mil Mg – o que faz do Brasil o maior exportador desde 1993 e o segundo maior produtor mundial. Além disso, o complexo agroindustrial de tabaco do Sul do Brasil é responsável por uma movimentação financeira que supera os R\$ 10 bilhões/ano (AFUBRA, 2012).

A industrialização de tabaco produz, como um dos subprodutos do processamento das folhas, resíduos sólidos que podem ser reciclados no sistema na forma de adubo orgânico. Assim como no cigarro, este resíduo apresenta compostos toxicogênicos aos animais e aos humanos, como as nitrosaminas específicas do tabaco. Apesar destes problemas, este resíduo tem sido utilizado diretamente no solo como fertilizante e/ou condicionador do solo sem tratamento prévio. O tratamento de resíduos é a alternativa ideal para a disposição no solo, e dentre os tradicionalmente conhecidos pela eficiência, destacam-se a compostagem e vermicompostagem.

A possibilidade da redução do potencial de toxicidade do resíduo da indústria do tabaco ao ambiente após tratamento necessita ser comprovada, bem como precisa ser monitorado o processo e as possíveis interações com as plantas, solo e água. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi verificar as alterações na composição química e toxicológica do resíduo de tabaco (RT) após a sua compostagem e verificar o impacto deste composto no solo e nas suas propriedades.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produção de tabaco no Brasil

Apesar do movimento contra o tabagismo, estudos indicam que o consumo mundial do tabaco continua aumentando, principalmente em países em desenvolvimento (FAO, 2003).

A maioria dos historiadores considera o tabaco como sendo de origem americana, onde foi cultivado pelos indígenas, tanto da América do Sul como do Norte. Uma das hipóteses mais prováveis é a de que a planta teria surgido nos vales orientais dos Andes Bolivianos, difundindo-se pelo território brasileiro através das migrações indígenas, sobretudo Tupi-Guarani (Sinditabaco, 2012)

Na última Safra 11/12, a produção alcançou 710 mil toneladas – deste volume, 53% foram produzidos no Rio Grande do Sul, 28% em Santa Catarina e 19% no Paraná, gerando cerca de 30 mil empregos diretos nas empresas do setor instaladas na região Sul do País. O cultivo de tabaco no Brasil tem como base as pequenas propriedades, em média com 16,7 hectares, sendo que destes, apenas 15,4% são dedicados à produção (AFUBRA, 2012).

O Sistema Integrado de Produção de Tabaco tornou-se importante fator de destaque neste setor brasileiro. História que acompanha os produtores de tabaco há 95 anos, sendo 165 mil pequenos produtores integrados, dos quais 70 mil foram incorporados nos últimos 20 anos e é considerado um dos pilares do agronegócio do tabaco (Sinditabaco, 2012).

2.2 Resíduo da indústria de tabaco

Segundo Lauchner (2005), são gerados em torno de 35.000 Mg ano⁻¹ de resíduos de agroindústria fumageira no Brasil. Esse tipo de resíduo pode ser utilizado diretamente no solo como adubo orgânico ou compostado, com intenção de diminuir os compostos potencialmente tóxicos para a saúde humana. Entre as substâncias presentes nas folhas

de tabaco as nitrosaminas específicas do tabaco (tobaco specific nitrosamine-TSNA) merecem destaque devido ao seu poder carcinogênico ao ser humano (Hoffmann, 1995). Esses compostos são derivados da nitroação de alcalóides encontrados no tabaco - como nicotina, nornicotina, anatasina e anabasina. Os teores dessas substâncias dependem de uma série de fatores relacionados ao cultivo de *Nicotiana tabacum*, ao genótipo da planta utilizada, ao manejo da adubação, arranjo das plantas, à parte da planta usada, produtividade da cultura e cura das folhas.

De acordo com a portaria Número 069, de 16 de março de 1982, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), resíduos são definidos como: “Os fragmentos ou restos de folhas, em condições normais”, que são enquadrados em seis classes. Para este estudo foi utilizado resíduo tipo “SC (Aparas, constituídas de fragmentos de folhas sem talo, de tamanho não superior a 10 (dez) milímetros quadrados”. O Brasil não possui legislação que controle ou estipule parâmetros específicos para o destino deste resíduo em solos. Entretanto, Tedesco et al. (2001) verificaram que estes resíduos são fontes de biomassa e de potássio, e possuem potencial para serem reciclados no solo, permitindo a liberação de parte dos macronutrientes necessários ao desenvolvimento das plantas. Ou seja, o material possui potencial de uso como adubo orgânico.

Mumba & Phiri (2008) relatam que em Malawi o resíduo de tabaco é disposto no contorno das rodovias podendo encontrar seu caminho para os rios por meio do escoamento superficial das águas durante a temporada de chuva, ou carregado pelo vento na estação seca. Na Turquia, o uso do resíduo de tabaco é permitido em terras aráveis após a compostagem dos resíduos do tabaco (Okur et al., 2008). No RS, atualmente, a Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler (FEPAM) permite o uso de aplicação diretamente no solo desde que haja um licenciamento pela empresa geradora do resíduo junto ao órgão. Porém, esse tipo de resíduo pode apresentar risco à saúde pois apresenta na sua composição substâncias com alto potencial cancerígeno, como a nicotina e as nitrosaminas. De acordo com a NBR

10004/2004 (anexo C) resíduos com a presença dessas substâncias podem vir a apresentar toxicidade.

2.3 Nicotina e Nitrosaminas

Segundo a Organização Mundial de Saúde, 1,1 bilhão de pessoas fumam cigarros de tabaco em todo o mundo, consumindo cerca de 6 trilhões de cigarros por ano. Quando a fumaça do cigarro é inalada, 90% da nicotina é rapidamente absorvida pelo pulmões (Zhang et al., 2003). A nicotina é responsável pela natureza viciante dos cigarros e tem alta toxicidade em mamíferos com uma dose média letal entre 0,5 e 1,0 mgkg⁻¹ em seres humanos (Alloway & Ayres, 1993). A nicotina é o principal alcalóide sintetizado pela planta do tabaco podendo constituir de até 3% do tabaco em massa foliar seca (Armstrong et al., 1998) com média de 18 gramas por kg a seco peso (Wang et al., 2004).

As Nitrosaminas específicas do tabaco são consideradas os mais importantes agentes cancerígenos em produtos com tabaco (Hecht, 1996; IACR, 1985). Dois destes alcalóides compostos presentes no tabaco, NNN (n-óxido de metilnitrosamina) e NNK (metilnitrosamina), apresentam toxicidade pulmonar seletiva. A NNK é considerada a mais potente Nitrosamina causadora de câncer em todas as espécies animais testadas, resultando em adenocarcinoma de pulmão nos animais experimentados (Hecht, 1996). Outros exemplos de Nitrosaminas são a nitrosoanabasina (NAB) e a nitrosoanatabina (NNA). A NAB é considerada um fraco agente cancerígeno e NAT, aparentemente não tem atividade (Hecht, 1996). NNK e NNN foram avaliados pela Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer em 2005 e enquadradas no Grupo 1 como cancerígenas para os humanos (Stepanov et al, 2006).

As nitrosaminas específicas do tabaco não estão presentes em quantidades significativas em plantas de tabaco ou em tabaco de corte frescos (tabaco verde), mas são formadas durante o processo de cura (Brunnemann & Hoffmann, 1991). As populações bacterianas que residem nas folhas do tabaco são as principais responsáveis por formar nitritos a partir de nitrato durante a cura e, possivelmente, ocorrendo efeito direto

sobre a catálise da nitroação de aminas secundárias, que ligam-se aos alcalóides do tabaco formando as Nitrosaminas (Figura 1).

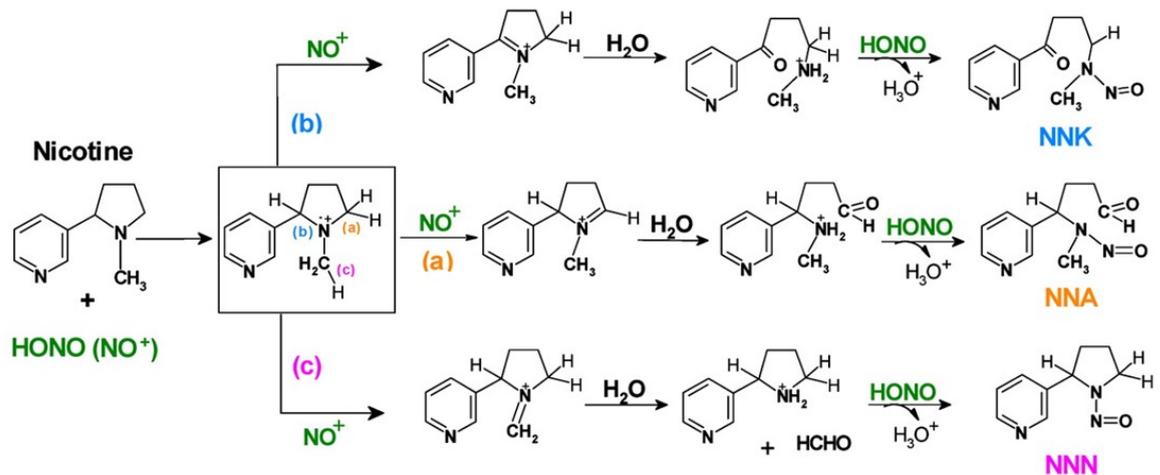


Figura 1. Mecanismo de formação de Nitrosaminas Específicas do Tabaco. (a)NNA nitrosoanatabine, (b)NNK metilnitrosamina, e (c)NNN n-oxido de metilnitrosamina a partir da nicotina.(Sleiman, 2010).

No mecanismo de formação de Nitrosaminas Específicas do Tabaco (Figura 1) a primeira etapa envolve o ataque eletrofílico do NO⁺ da nicotina, levando à formação do intermediário catiônico instável (alcalóide secundário) mostrado em destaque no retângulo. A segunda etapa é iniciada com a abstração de um átomo de hidrogênio para formar um cátion, que é então hidrolisada por moléculas de água sorvida. Finalmente, HONO nitrosa as aminas secundárias para formar NNA nitrosoanatabine, NNK metilnitrosamina, e NNN n-oxido de metilnitrosamina (Sleiman et al., 2010).

O processo de fabricação do tabaco e todas as atividades que usam o tabaco produzem resíduos sólidos ou líquidos com altas concentrações de nicotina (Novotny & Zhao, 1999) e a eliminação dos resíduos gerados nas várias etapas de processamento de pós-colheita do tabaco é um problema devido ao alto teor de carbono (C) e teor de nicotina. Assim, os resíduos em pó, não-reciclados, são classificados como "tóxicos e perigosos" por Regulamentos da União Europeia quando o teor de nicotina superior a 500 mg kg⁻¹ de peso seco (Civilini et al., 1997; Wang et al., 2004). Portanto, há um forte movimento para remover nicotina dos resíduos de tabaco devido às exigências ambientais.

No Brasil o resíduo é classificado pela ABNT como Classe A II e o uso deve ser regulamentado pelos órgãos ambientais, no Rio Grande do Sul a Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM) credencia e fiscaliza o uso.

2.4 Tratamento de resíduos

2.4.1 Compostagem

Os resíduos gerados nas atividades agroindustriais tem, em geral, grande potencial agrícola em virtude de serem ricos em matéria orgânica e nutrientes. A compostagem é um processo biológico de transformação de materiais orgânicos em substâncias húmicas, com propriedades e características completamente diferentes do material originário. Assim, o processo de compostagem pode ser definido como uma decomposição aeróbia e termofílica de resíduos orgânicos por populações microbianas quimiorganotróficas existentes nos próprios resíduos (Lambais, 1992), com fases distintas – mesófila e termófila. A utilização de composto na atividade agrônômica depende, sobretudo, da sua qualidade, especialmente do conteúdo em matéria orgânica da sua maturidade, da concentração de nutrientes e da presença ou ausência de substâncias potencialmente perigosas e indesejáveis ao ambiente rural (Zucconi & Bertoldi, 1981).

Entre os importantes fatores que afetam o sucesso do uso de composto para práticas agrícolas, destacam-se o grau de maturidade e de estabilidade. Se um composto instável ou imaturo é aplicado, pode induzir condições anaeróbias e diminuir a eficiência de degradação do material orgânico no solo (Mathur et al., 1993). Outro problema associado ao composto imaturo é a fitotoxicidade devido à presença de ácidos orgânicos durante as fases iniciais do processo de compostagem (He et al., 1995).

A compostagem tem se tornado o método preferido para os municípios e indústrias de reciclagem de subprodutos orgânicos, a fim de aplicá-los como condicionadores de solo e fertilizantes (Butler et al.,

2001). De acordo com a legislação brasileira do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), para enquadrar-se como fertilizante orgânico ou condicionador de solo o composto deve garantir alguns padrões mínimos (Tabela 1).

Tabela 1. Requisitos estabelecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para qualidade de composto orgânico

Garantia	Fertilizante Orgânico Composto Classe B *	Condicionador de Solo **
Umidade (máx.)	50,00 g.kg ⁻¹	-
N total (min.)	0,50 g.kg ⁻¹	-
Carbono orgânico (min.)	15,00 g.kg ⁻¹	-
pH (min.)	6,00	-
Relação C/N (máx.)	20,00	-
CTC (min)	-	200 mmolc/kg
CRA	-	mínima de 60%

*De acordo com a IN 25 (MAPA); **de acordo com a IN 35 (MAPA)

2.4.2 Vermicompostagem

Outra possibilidade de tratamento do resíduo de tabaco seria a vermicompostagem, que possibilita agregar valor ao composto gerado, além de apresentar outro uso para o resíduo, fazendo deste um substrato para multiplicação de matrizes. A utilização de espécies exóticas predomina na atividade da minhocultura e entre as empregadas, as mais eficientes na transformação de resíduos orgânicos são a *Eisenia andrei* Bouché (1972), conhecida como vermelha da Califórnia; *Eisenia fetida* Savigny (1826), igualmente chamada de vermelha da Califórnia, minhoca tigre e minhoca do esterco (Steffen, 2008), sendo criadas, na maioria das vezes, com resíduos orgânicos de origem animal (Brown, 2007), como o esterco bovino. Resíduos alternativos também vêm sendo utilizados como substrato para obtenção de vermicomposto, como lodo de esgoto e de estações de tratamento.

As espécies de *E. andrei* também são utilizadas como bioindicadores de ensaios ecotoxicológicos para avaliação da biodisponibilidade de substâncias tóxicas, isso se justifica pelo fato destes

organismos desempenharem papel fundamental na macro-pedofauna, e pela abundante presença de oligoquetas em solos tropicais e temperados (Nahmani et al., 2007). A avaliação da toxicidade e da biodisponibilidade é geralmente realizada através da observação de efeitos letais e sub-letais, tais como mudanças morfológicas, comportamentais, fisiológicas, citogenéticas e de fertilidade (Cesar et al., 2008).

2.5 Aplicação do resíduo de tabaco no solo

O solo pode ser considerado como um grande biorreator, proporcionando a degradação e a mineralização de nutrientes de compostos orgânicos a ele adicionados. A aplicação do composto no solo, assim como o descarte do resíduo de tabaco (RT) sem tratamento, podem gerar impactos ambientais negativos ou proporcionar a inativação, detoxificação ou mesmo a ativação ou magnificação da toxicidade de substâncias químicas orgânicas e inorgânicas pela decomposição, em compostos ou moléculas mais simples (Moreira & Siqueira, 2001; Musumeci, 1992).

Uma maneira de medir o impacto do composto no solo seria o monitoramento das alterações nos indicadores biológicos neste ambiente. A microbiota do solo possui maior sensibilidade em responder rapidamente às modificações que ocorrem no ambiente e os microrganismos são facilmente afetados por distúrbios causados pelas atividades antrópicas. Quando se deseja avaliar a qualidade biológica do solo, três aspectos relacionados à porção viva do solo devem ser considerados: a) biomassa microbiana; b) atividade microbiana, e; c) diversidade microbiana.

2.6 Indicadores microbiológicos

2.6.1 Biomassa microbiana

A biomassa microbiana (BM) é considerada a parte viva da matéria orgânica do solo, representando de 2 a 5% desta fração do solo, e inclui

bactérias, actinomicetos, fungos, protozoários, algas e microfauna (Jenkinson & Ladd, 1981). O estudo da BM é fundamental para a compreensão dos processos em que atua, assim como para o monitoramento de alterações nestes processos, principalmente aquelas causadas por ações antrópicas. Neste sentido, as propriedades microbianas podem indicar um manejo apropriado e práticas adequadas de restauração para o alcance da sustentabilidade do sistema, além das propriedades químicas e físicas do solo. Por ser um atributo sensível as condições de manejo, os atributos microbiológicos têm sido estudados como indicadores bastante perceptíveis da qualidade do solo sob diversos sistemas de manejos (Carneiro et al., 2008) e aplicados a várias culturas agrícolas e florestais.

As transformações lentas e de baixa proporção na matéria orgânica é difícil de ser percebida, porém antes de se detectar uma mudança na matéria orgânica, percebem-se claras alterações nos atributos biológicos (Sparling, 1992; Santos et al., 2005). Portanto, por meio da biomassa microbiana é possível avaliar as mudanças iniciais no conteúdo de matéria orgânica no solo, pois esta constitui o estágio inicial da decomposição da matéria orgânica (Wardle & Parkinson, 1991; Kinney et al., 2005).

Existem muitos trabalhos relacionando diferentes impactos nas relações ambientais com a biomassa microbiana, como o efeito das práticas de cultivo e manejo e as consequências positivas (Matsuoka, 2006; Benintende et. al., 2008), o uso de corretivos de acidez e fertilizantes (Masto et al., 2006), o uso de herbicidas (Perucci et al., 2000) e contaminação com metais pesados (Andrade & Silveira, 2004). Os mesmos autores verificaram que a adição de resíduos orgânicos, como em manejos de produção orgânica tendem a contribuir para a manutenção e recuperação dos conteúdos de Carbono (C) e Nitrogênio (N) da biomassa microbiana, constituindo estratégias de manejo importantes a serem consideradas para a conservação e, ou, aumento da matéria orgânica e, conseqüentemente, para a melhoria da qualidade do solo.

Apesar da BM do solo ser uma medida da população viva do solo, e conseqüentemente uma característica muito dinâmica, é pouco informativa quando apresentada isoladamente. Estima-se que apenas de 15 a 30% da população é catabolicamente ativa no solo, o restante se encontra na forma inativa ou latente. Por isso, é importante a avaliação conjunta da atividade microbiana do solo, que representa todas as reações bioquímicas catalisadas pela biomassa do solo, e estas reações são de extrema importância para a manutenção da qualidade do solo (Moreira & Siqueira, 2001)

2.6.2 Atividade microbiana e respiração basal

A atividade pode ser avaliada por meio da respiração basal, que consiste na medida da produção de CO₂ resultante da atividade metabólica no solo de microrganismos, de raízes vivas e de organismos da mesofauna como minhocas, nematóides e insetos (Parkin et al., 1996). A adição de energia e de nutrientes com a aplicação de resíduos orgânicos ao solo pode aumentar a atividade e promover o crescimento da população microbiana.

O comportamento da população microbiana depende da qualidade e quantidade de resíduos que são adicionados ao solo. De Paula et. al. (2005) verificaram que a aplicação do lodo de esgoto aumentou os fluxos atmosféricos de CO₂, N₂O e CH₄ para 220, 320 e 165%, respectivamente, para a maior taxa de aplicação de lodo de esgoto quando comparado ao tratamento controle e evidenciaram a presença de comunidades microbianas ativas em solo de "landfarming" com resíduos petroquímicos, porém, a atividade enzimática foi inferior do que é verificado em solos sem adição destes resíduos, indicando a existência de possíveis fatores inibitórios que podem comprometer a decomposição dos resíduos depositados e a funcionalidade bioquímica do solo.

2.6.3 Atividade enzimática

Ao afetar os organismos do solo, os agentes de poluição afetam a síntese de enzimas e até mesmo a atividade de enzimas já existentes, por meio de ligações químicas que alteram as configurações dos sítios ativos. Devido à esses fatores a atividade enzimática se constitui numa forma de avaliar impactos na microbiota de forma relativamente rápida e específica, antes que outras propriedades sejam afetadas.

A hidrólise do 3,6 diacetilfluoresceína (FDA) não expressa a atividade de uma enzima específica, mas a de um grupo de enzimas que são capazes de realizá-la. Neste grupo estão as lipases, esterases e proteases. O FDA pode ser hidrolisado por algas, protozoários e tecidos animais, mas não por esporos e células microbianas na fase estacionária de crescimento, de tal modo que a reação pode ser usada para colorir células microbianas ativas. O princípio do método para avaliação do potencial de hidrólise do FDA em amostras de solo é que a solução de diacetato de fluoresceína é incolor, enquanto a solução de fluoresceína apresenta-se fluorescente e pode ser estimada quantitativamente por espectrofotometria (Schnurer & Rosswall, 1982).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado em quatro etapas, chamados de Estudos. No Estudo I, o resíduo de tabaco passou pelo processo de compostagem aberta aeróbia tipo “windows”; no Estudo II, avaliou-se a mineralização do RT, composto orgânico e vermicomposto; no Estudo III, avaliou-se o uso de RT em mistura com esterco bovino como substrato para crescimento de minhocas *Eisenia andrei* e, no Estudo IV foi realizado um monitoramento em vasos, dos atributos microbianos de atividade enzimática por Hidrólise do Diacetato de Fluoresceína (FDA) e Carbono da Biomassa Microbiana (CBM) no solo classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico (PVAd).

3.1 Caracterização do solo

Para os estudos onde o solo foi usado como substrato utilizou-se solo provenientes de mata nativa com amostragens de 0 – 20 cm de profundidade realizadas na EEA/UFRGS. De acordo com a classificação brasileira (EMBRAPA, 2006) o solo é enquadrado como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico PVAd. Suas características químicas são apresentadas na Tabela 2.

3.2 Caracterização dos resíduos orgânicos

Na implantação do Estudo I, foram usados diversos resíduos agroindustriais disponíveis no Município de Porto Alegre-RS, para serem misturados ao RT (Tabela 2) de forma a potencializar o processo de compostagem. O preparo da mistura foi estabelecido em virtude da

disponibilidade regional e a adequação das proporções utilizadas ocorreu após determinação da umidade, densidade e relação C/N dos materiais.

Vários materiais utilizados sofreram um tratamento prévio, que consistiu em: trituração em partículas de nove milímetros para o resíduo vegetal provenientes de poda urbana recebidos da Secretaria Municipal de Meio de Ambiente (SMAM), de Porto Alegre. O resíduo de tabaco foi recebido em partículas de até 0,4 mm. O Lodo de ETE de esgoto estabilizado foi proveniente da estação de tratamento Navegantes de Porto Alegre-RS. A cama-de-aviário usada nas misturas foi adquirida de granja de frango de corte com 5 lotes.

Tabela 2. Caracterização química dos materiais usados nos Ensaios; Cama de Aviário, Lodo de Estação de tratamento de água, resíduo de tabaco e Solo Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico (PVAd)

Determinações	Cama de Aviário	Lodo	Resíduo de Tabaco	Solo (PVAd)
Umidade - % (m/m)	30,2	76,00	15,00	nd
pH em H ₂ O	8,33	6,40	7,20	4,90
Densidade úmida - kg/m ³	0,375	1,10	188,00	nd
Carbono orgânico - % (m/m)	31,3	42,00	30,00	nd
Nitrogênio (TKN) - % (m/m)	1,36	6,00	2,00	nd
Fósforo total - % (m/m)	1,76	0,56	0,32	3,20
Potássio total - % (m/m)	2,64	0,014	5,10	66,00
Cálcio total - % (m/m)	14,74	0,11	2,30	3,10
Magnésio total - % (m/m)	1,27	0,042	0,61	1,00
Enxofre total - % (m/m)	0,30	Nd	0,22	6,00
Cobre total - mg/kg	165	323,17	14,00	0,90
Zinco total - mg/kg	464	768,70	42,00	2,00
Ferro total - mg/kg	6204	0,20	505,00	nd
Manganês total - mg/kg	1063	2640,00	159,00	30,00
Sódio total - % (m/m)	Nd	513,20	0,21	nd
Boro total - mg/kg	Nd	39,23	21,00	0,70
MO g.kg ⁻¹	53,9	573,00	nd	190,00
AL+H (cmol _c .dm ⁻³)	Nd	Nd	nd	3,90
CTC (cmol _c .dm ⁻³)	Nd	Nd	nd	8,20

*nd = Não verificado.

3.3 Estudos realizados

3.3.1 Estudo I – Qualidade do Composto obtido a partir de resíduo de tabaco e outros resíduos agroindustriais

O experimento foi conduzido na Faculdade de Agronomia no Departamento de Ciências do Solo em Porto Alegre-RS, no período de novembro de 2010 a fevereiro de 2011. O material compostado foi distribuído em seis pilhas de compostagem aeróbia de padrão inicial de 4,6 m³: 1,45 metros de altura, 3 metros de largura da base e 3 metros de comprimento da base, divididas em três tratamentos, sendo que cada tratamento foi conduzido em duplicata. O material compostado foi misturado em diferentes proporções, de acordo com as hipóteses do trabalho, respeitando as relações C/N e granulometrias das matérias-primas disponíveis.

Controle: contendo resíduo vegetal de poda urbana (50% do volume da pilha), cama de aviário (30%) e esterco bovino (20%); Leiras A e B;

Tratamento 1, contendo resíduo de tabaco (50%), resíduo de poda (37,5%) e esterco bovino (12,5%). Leiras C e D;

Tratamento 2, contendo resíduo de tabaco (25%) e resíduo de poda (25%), cama de aviário (25%), lodo de ETE (25%). Leiras E e F;

As pilhas de compostagem foram monitoradas durante 90 dias. Realizou-se o revolvimento com a pá frontal com capacidade de 500 L de um trator da marca John Deere (75 cv) aos 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 e 75 dias de compostagem. As pilhas permaneceram cobertas com uma tela de polipropileno nos primeiros 10 dias, impedindo a infiltração da água da chuva.

Procederam-se as amostragens nas pilhas, da seguinte maneira: quatro pontos foram estabelecidos em cada oilha de compostagem, dois pontos de amostragem localizava-se na parte inferior da pilha a 40 cm do solo e distanciavam-se em um metro entre os mesmos. Os outros dois

pontos superiores distanciavam 40 cm dos pontos inferiores e também ficavam a um metro de distância entre os mesmos. As amostras foram coletadas com trado rosca a um metro de profundidade (interior da pilha). Em todos os pontos foram retirados volumes superiores do material para homogeneidade na amostra. Para temperatura, foram usados quatro pontos na pilha, nos mesmos locais foram coletadas amostras para todas as determinações de pH, CE, CTC, C, N total e umidade. Para determinação de Nicotina, TSNA, Capacidade de retenção de Água (CRA), Coliformes totais e fecais, utilizou-se uma amostra por pilha, sendo essa composta de quatro subamostras. Para o monitoramento da Umidade, Condutividade Elétrica (CE) e do pH, as amostragens ocorreram aos dias zero, 6, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75 e 90.

3.3.2 Estudo II – Mineralização de resíduo de tabaco, composto e vermicomposto no solo

O estudo foi conduzido no laboratório de análises de solo da UFRGS durante 90 dias. Neste estudo, o solo PVAd foi misturado à diferentes proporções de resíduos de acordo com a dose calculada previamente como fertilizante orgânico, o número indica a proporção do material usado de acordo com esse parâmetro, ou seja 1 (um) significa a dose exata para esse solo e 5 (cinco) significa que foram usadas 5 (cinco) vezes mais resíduo do que a dose indicada – usou-se então os tratamentos RT 1, RT 5, RT 10, VM 1, VM 5, VM 10, CP 1, CP 5 e CP 10 – além do controle (Solo) sem adição de resíduos e um controle sem solo. Cada tratamento foi conduzido com quatro repetições em unidades experimentais (frasco de vidro de 800 mL hermeticamente fechados), permanecendo incubados, todo o período, em estufa com temperatura controlada ($26^{\circ}\text{C}\pm 2$). As titulações foram realizadas nos dias: 5, 7, 21, 38, 45, 52, 62, 75 e 90. Para manter a umidade, foram adicionados ao solo 3 mL de água destilada após a titulação. Neste estudo avaliou-se a atividade da biomassa microbiana por meio da respiração basal e calculou-se a fração mineralizada do carbono.

3.3.3 Estudo III – Resíduo de tabaco como substrato para criação de *Eisenia andrei*

O estudo foi dividido em 2 (duas) etapas distintas, a fim de verificar a possibilidade do uso de Resíduo de tabaco em tratamentos de vermicompostagem e avaliar o efeito na reprodução das minhocas nesse substrato. Na primeira delas, foram adicionados diferentes proporções de resíduo de tabaco ao esterco bovino em condições de campo. Na segunda etapa, procurou-se padronizar e manter um controle sobre as variáveis ambientais. Para esses estudos, as minhocas utilizadas foram reproduzidas 6 (seis) meses antes em um minhocário, dentro da própria área experimental de campo da Universidade. Para isso, usou-se esterco bovino de gado leiteiro holandês, cedido por uma propriedade agrícola de Viamão-RS.

No primeiro momento, foram realizados acompanhamentos da utilização de diferentes proporções de resíduo de tabaco ao esterco bovino, como substrato para criação de minhocas da espécie *Eisenia andrei*. Esse acompanhamento ocorreu na Área Experimental do Departamento de Solos, Campus da Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), no período de 11 de abril a 02 de julho de 2011. As unidades experimentais utilizadas foram vasos de polietileno pretos, com capacidade de 6 L, com perfurados na porção inferior mantidos sobre uma superfície a 10 cm do solo e sob um telhado de inox.

Utilizaram-se os seguintes tratamentos como substrato para desenvolvimento das minhocas:

- 100% de Esterco bovino;
- 1/5 de Resíduo de tabaco e 4/5 de Esterco bovino;
- 2/5 de Resíduo de tabaco e 3/5 de Esterco bovino;
- 3/5 de Resíduo de tabaco e 2/5 de Esterco bovino;
- 4/5 de Resíduo de tabaco e 1/5 de Esterco bovino;

- 100% Resíduo de tabaco.

Todos os tratamentos foram conduzidos com quatro repetições e utilizou-se 15 minhocas adultas cliteladas, com peso e tamanho uniforme para cada unidade experimental. A água foi repostada, conforme a necessidade, durante os 80 dias de condução do experimento. Ao término do processo de vermicompostagem, avaliou-se o número de minhocas adultas (de acordo com a presença de clitelo), o peso de minhocas adultas, o número de minhocas jovens, o peso de minhocas jovens e o número de ovos.

A partir do resultado obtido na experimentação de campo, foi feito um estudo com objetivo principal de controlar as variáveis ambientais de maior influência no processo reprodutivo das minhocas. Para isso, conduziu-se um experimento no Instituto Federal de Camaquã-RS, no período de setembro a outubro de 2011. O acompanhamento aconteceu durante 32 dias a fim de se limitar a um período (ciclo) reprodutivo das minhocas. As unidades experimentais foram frascos de polietileno de 450 mL, perfurados na porção inferior, para drenagem do excesso de água. Os tratamentos avaliados foram:

- 100 % de Esterco bovino;
- 90 % de esterco bovino + 10 % de Resíduo de tabaco(RT);
- 80 % de esterco bovino + 20 % de Resíduo de tabaco(RT);
- 60 % de esterco bovino + 40 % de Resíduo de tabaco (RT);
- 90 % de esterco bovino + 10 % de Resíduo de tabaco pré-tratado (PT);
- 80 % de esterco bovino + 20 % de Resíduo de tabaco pré-tratado (PT);
- 60 % de esterco bovino + 40 % de Resíduo de tabaco pré-tratado (PT).

Em relação ao preparo das misturas, os materiais foram umedescidos e permaneceram de 50 a 70% da capacidade de campo com temperatura do ambiente constante à 22°C e, para isso, considerou-se a densidade específica de cada material. O resíduo de tabaco pré-

tratado (PT) consistiu em uma porção do RT que permaneceu 60 dias em tonel sob fermentação anaeróbia. Neste estudo, foram avaliados: incremento de peso total, incremento de peso por minhoca, número de minhocas cliteladas, número de minhocas jovens (sem clitelo desenvolvido), número de casulos e mortes.

3.3.4 Estudo IV – Monitoramento de atributos microbiológicos do solo após incorporação de resíduo de tabaco, composto orgânico e vermicomposto

O experimento foi conduzido a céu aberto na Área Experimental do Departamento de Solos, Campus da Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), no período de março a agosto de 2011. Para o desenvolvimento do trabalho, o solo PVAd foi misturado aos resíduos nas mesmas proporções que no estudo II. Como controle, usou-se o solo sem adição de resíduos e nos tratamentos a dose 1 é equivalente a dose recomendada pela Comissão...(2004), para a cultura da aveia preta (*Avena sativa*) em primeiro cultivo, assim como as doses 5 e 10 significam 5 (cinco) e 10 (dez) vezes mais resíduo, de acordo com o mesmo cálculo.

Foram estabelecidos os seguintes tratamentos: Solo, RT 1, RT 5, RT 10, VM 1, VM 5, VM 10, CP 1, CP 5 e CP 10 com quatro repetições cada, em unidades experimentais artificiais (vasos de polietileno com capacidade de 12 L). Esses vasos receberam uma dupla camada de tela plástica perfurada, para separar o solo do orifício inferior de 1/3 polegada. A mistura dos resíduos ao solo foi feita na própria Área Experimental uma semana antes da semeadura da aveia preta. Foram semeadas 20 sementes por vaso e, após o raleio, mantiveram-se 12 plantas por vaso. A irrigação artificial ocorreu quando necessário, a fim de não tornar a insuficiência de água um fator limitante às avaliações.

Neste estudo, avaliou-se as flutuações de Carbono da Biomassa Microbiana por Fumigação-Extração (FE) e hidrólise de FDA durante quatro meses por meio de coletas mensais. Assim como, verificações de mudança de pH do solo foram analisadas no início e ao final do

experimento. Além disso, ao final do estudo as plantas foram colhidas para avaliar o rendimento da matéria seca da planta.

3.4 Análises químicas e físicas

A temperatura foi mensurada com termômetro digital acoplado a um trado de dois metros de comprimento, de forma a realizar-se em quatro pontos da pilha, mantendo um tempo de estabilização de 5 min entre as leituras. No mesmo instante foi determinada a temperatura ambiente. Para determinação do teor de umidade do composto, as amostras permaneceram em estufa com temperatura constante de 70°C durante 30 horas (Tedesco et al., 1995). Para a determinação do pH e CE foram usadas soluções de solo e água destilada (1:5), após agitação de 30 min (Tedesco et al., 1995). A CTC foi determinada segundo protocolo estabelecido na Instrução Normativa 28 de 2007. Para isso foram utilizadas 5 g de amostra seca e peneirada (malha 0,5 mm ABNT nº35), e adicionado 0,5 M HCl, lavado com solução de Acetato de Cálcio (0,5 M.L⁻¹) e titulação com NaOH 0,1 M.L⁻¹. Os valores foram obtidos a partir da fórmula proposta abaixo:

$$CTC (\text{mmol.kg}^{-1}) = \frac{1000 M (V_a - V_b)}{G},$$

Na qual M = Concentração molar da solução de NaOH padronizada; V_a = volume de NaOH 0,1 M gasto na titulação da amostra, em mL; V_b = Volume médio de NaOH 0,1 M gasto na titulação das provas em branco, em mL, e; G = concentração molar da solução de NaOH padronizada. O Carbono Orgânico foi determinado por combustão úmida, com dicromato de potássio (0,2 M) em excesso e ácido sulfúrico concentrado, promovendo-se aquecimento externo (30 min a 140°C) com acréscimo posterior de H₃PO₄ e titulação com Sulfato ferroso amoniacal (0,5 M) em 1 a 2,5 g de amostra do composto. O teor de nitrogênio total (Nt) foi obtido a partir da digestão a vapor da amostra com o destilador modificado, descrito por Tedesco et al. (1979). A relação C/N foi calculada pelo resultado de N total e C orgânico obtidos.

A Capacidade de retenção de água foi determinada de acordo com o método da mesa de tensão, no qual constata-se a máxima quantidade de água retida por um substrato ou condicionador de solo, após saturação e cessada a drenagem, quando submetida à tensão de 10 cm de coluna de água ou 0,1 kPa (10 hPa).

A determinação do conteúdo de Nitrosaminas específicas do tabaco foi realizada pelo ajuste do conteúdo de oxido de metilnitrosamina e (NNN), (metilnitrosamina (NNK), nitrosoanabasine (NAB) e a nitrosoanatabine (NNA).especificamente, contidos nas amostras obtidas de cada local, determinados por “ultra-high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry” (UHPLC-MS/MS) pelo Global Laboratory Services, Inc.

3.4.2 Análises biológicas

Para a verificação dos coliformes totais e termotolerantes, as amostras foram centrifugadas em água a 6.000 rpm, obtendo-se o meio aquoso que foram feitos testes dos coliformes fecais e termotolerantes, conforme metodologia proposta pela USEPA (United States, 1993) sugerida pelo CONAMA (BRASIL, 2006). Por esta técnica pode-se obter informações sobre a população presuntiva de coliformes (teste presuntivo) e sobre a população real de coliformes (teste confirmativo). Ao final do experimento foram realizadas as seguintes avaliações: contagem do número final de minhocas adultas ou cliteladas, jovens ou sem clitelo desenvolvido e casulos, biomassa fresca dos indivíduos adultos, jovens e biomassa fresca média por indivíduo.

A população final de minhocas foi obtida através de contagem manual. O material de cada unidade experimental foi colocado sobre uma bancada, onde separaram-se minhocas jovens, adultas e os casulos presentes no substrato. Os indivíduos coletados em cada unidade eram lavados em copo com água destilado e permaneceram 10 min sobre papel toalha para pesagem. O número de fugas foi avaliado para o ensaio em laboratório. Para isso os indivíduos permaneciam sobre o tecido

“armadilha” implementada em cada unidade experimental realizada a contagem direta das minhocas que eram capturadas por uma tela de polietileno trançada. Foram realizadas avaliações de fugas das minhocas em sete momentos: dias 1, 2, 6, 9, 17, 25 e 32 após montagem do experimento. O número de mortes foi calculado pela diferença dos indivíduos adultos adicionados com relação aos encontrados ao final do experimento, descontando-se as fugas.

A respiração basal da biota foi estimada pelo CO₂ liberado e capturado por meio de solução de NaOH (0,5 M) em frascos de 50 mL mantidos nas unidades experimentais. Para quantificação do C-CO₂, as unidades foram abertas em períodos pré-determinados, sendo que inicialmente as titulações foram diárias, e posteriormente passaram a ser a cada três, cinco e dez dias, até haver estabilização da curva, a qual foi considerada após 90 dias de incubação. A solução de NaOH recebia 1,0 mL de BaCl₂ 1 M e foi titulada com HCl 0,5 M, utilizando fenolftaleína como indicador. A solução de HCL 0,5 M foi padronizada conforme Tedesco et al. (1995) e, para determinação da umidade gravimétrica, uma amostra com umidade igual ao solo dos frascos respirométricos foi utilizada. A produção de C-CO₂ foi quantificada por meio da fórmula proposta por Stotzky (1965), sendo a produção de C-CO₂ expressa em kg de solo seco:

$$C-CO_2 \text{ (mg kg}^{-1}\text{)} = (B-T) \times eq \times M \times 10,$$

Na qual B é o volume (em mL), da solução de HCL, gasto para titular a prova em branco (frasco sem solo); T é o volume (em mL), da solução de HCL, gasto para titular os tratamentos; eq é o equivalente-grama do C, que é 6; M é a molaridade da solução padronizada de HCl e 10 é o fator de conversão para kilograma de solo.

A Fração mineralizada do carbono (FMC) foi determinada a partir da notação de C-CO₂ obtida neste trabalho, de acordo com a fórmula:

$$FMC = \frac{C-CO_2 \text{ tratamento} - (C-CO_2 \text{ testemunha})}{C \text{ adicionado no solo}} \times 100$$

Em que:

FMC = Fração mineralizada de carbono, em %;

C-CO₂ tratamento = quantidade de carbono na forma de CO₂ (mg kg⁻¹ de solo) determinado pela respirometria no tratamento;

C-CO₂ testemunha = quantidade de carbono na forma de CO₂ (mg kg⁻¹ de solo) determinado pela respirometria no tratamento testemunha de solo;

C adicionado = quantidade de carbono adicionado ao solo pelos resíduos (mg kg⁻¹ de solo).

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi estimado pelo método da fumigação-extração (Joergensen, 1995). Para isso, as amostras foram pesadas em 6 (seis) repetições de 10 g da amostra e fumigadas 2 (duas) repetições com clorofórmio por 48 horas. O carbono foi extraído com 50 mL de K₂SO₄ 0,5 M (para cada amostra de 10g). As amostras controles foram extraídas com 50 mL de K₂SO₄ (0,5 M), enquanto as outras três amostras foram fumigadas num dessecador (forrado com papel toalha úmido) contendo aproximadamente 25 mL de clorofórmio purificado (livre de álcool) em um becker pequeno, com pérolas de vidro. O dessecador foi tampado e realizado um vácuo até o borbulhamento do clorofórmio, incubado a temperatura ambiente por 36 horas. Para a extração, a amostra de solo foi transferida para erlenmeyer de 125 mL, adicionando-se 50 mL de K₂SO₄. Após agitação por 30 minutos, as amostras foram filtradas (papel de filtro Whatman nº 42) gerando uma suspensão. Realizou-se a leitura das suspensões após adição de 1 mL da solução de trabalho de pirofosfato – responsável por oxidar o carbono presente na amostra – 1 mL de H₂SO₄ e 0,5 mL de H₂O destilada ao extrato e repouso de 18 horas.

Para estimar a atividade enzimática por hidrólise de Di-Acetato de Fluoresceína (FDA) foram pesadas 3 subamostras de 1,0 g de cada amostra de solo (livre de resíduos orgânicos) e colocadas num frasco de 50 mL, adicionaram-se 20 mL de tampão fosfato de sódio 60 mM. Após agitação, foram adicionados 100 µL de uma solução estoque de FDA em todos os frascos, com exceção dos controles (também com 3 repetições), e agitou-se por 2 h em Shaker (100 rpm, 25°C). Após esse período,

foram adicionados 20 mL de acetona para parar a reação enzimática. Nesse momento, adicionaram-se nos controles 100 μ M da solução estoque de FDA e em seguida 20 mL de acetona. A leitura foi realizada no espectrofotometro à 490 nm, após as amostras serem centrifugadas por 5 (cinco) minutos à 6000 rpm e filtradas em papel de filtro Whatman N° 4.

3.4.3 Rendimento de Matéria-Seca (MS)

Ao término do experimento, realizou-se a colheita do material vegetal para determinação do rendimento de Matéria Seca (MS). As plantas foram cortadas com tesoura de poda a três cm do solo e, em seguida, levadas à estufa a 70°C até peso constante, conforme descrito por Tedesco et al. (1995).

3.5 Análise Estatística

Os resultados da compostagem são médias de duas repetições de campo e quatro repetições de laboratório. As demais análises contaram com quatro repetições de campo e duas de laboratório. Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando significativos, as médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas com SPSS v.15.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) e os gráficos foram confeccionados com o programa SigmaPlot[®] 10.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudo I – Qualidade do composto obtido a partir de resíduo de tabaco e outros resíduos agroindustriais

O processo de compostagem é desenvolvido por colônias de microorganismos, que podem ser afetados por inúmeras variáveis influenciando sua atividade. Os fatores que mais interferem na atividade metabólica são: temperatura, aeração, umidade e a natureza das matérias-primas envolvidas (Veras & Povinelli, 2004). As temperaturas das leiras de todos os tratamentos atingiram o pico máximo antes dos 30 dias de compostagem (Figura 2). Com exceção do tratamento 2, todos os demais atingiram a temperatura média interna de 60°C em algum momento do processo de compostagem. Para o tratamento controle, isso ocorreu no sétimo dia, enquanto que no tratamento 1 ocorreu no nono dia de incubação. A temperatura da pilha de compostagem é um dos indicadores mais importantes e sempre levado em consideração nas avaliações relacionadas à compostagem.

O tratamento 2 passou menos de oito dias com temperatura na fase termófila – sendo registrada temperatura máxima atingida de 53°C. O sistema windows com revolvimentos beneficia as transformações bioquímicas da matéria orgânica proporcionando condições para ocorrência de fase mesófila e termófila. (Satisha & Devarajan, 2007).

A fase inicial do processo, classificada por alguns autores como bioestabilização, ocorreu de forma mais intensa no Tratamento 1, possivelmente, devido à granulometria e composição do resíduo de tabaco adicionado em maior teor, proporcionalmente, quando comparado com o Tratamento 2.

Após três meses de compostagem, as temperaturas internas das leiras referentes ao tratamento Controle e Tratamento 1 ficaram próximas à temperatura ambiente ao final da avaliação. Entretanto, não atingiram a mesma temperatura do ambiente em nenhum tratamento avaliado, ou seja, a temperatura externa à pilha no momento da sua leitura indicando que seriam necessários mais alguns dias para sua completa estabilização durante a fase de humidificação do composto.

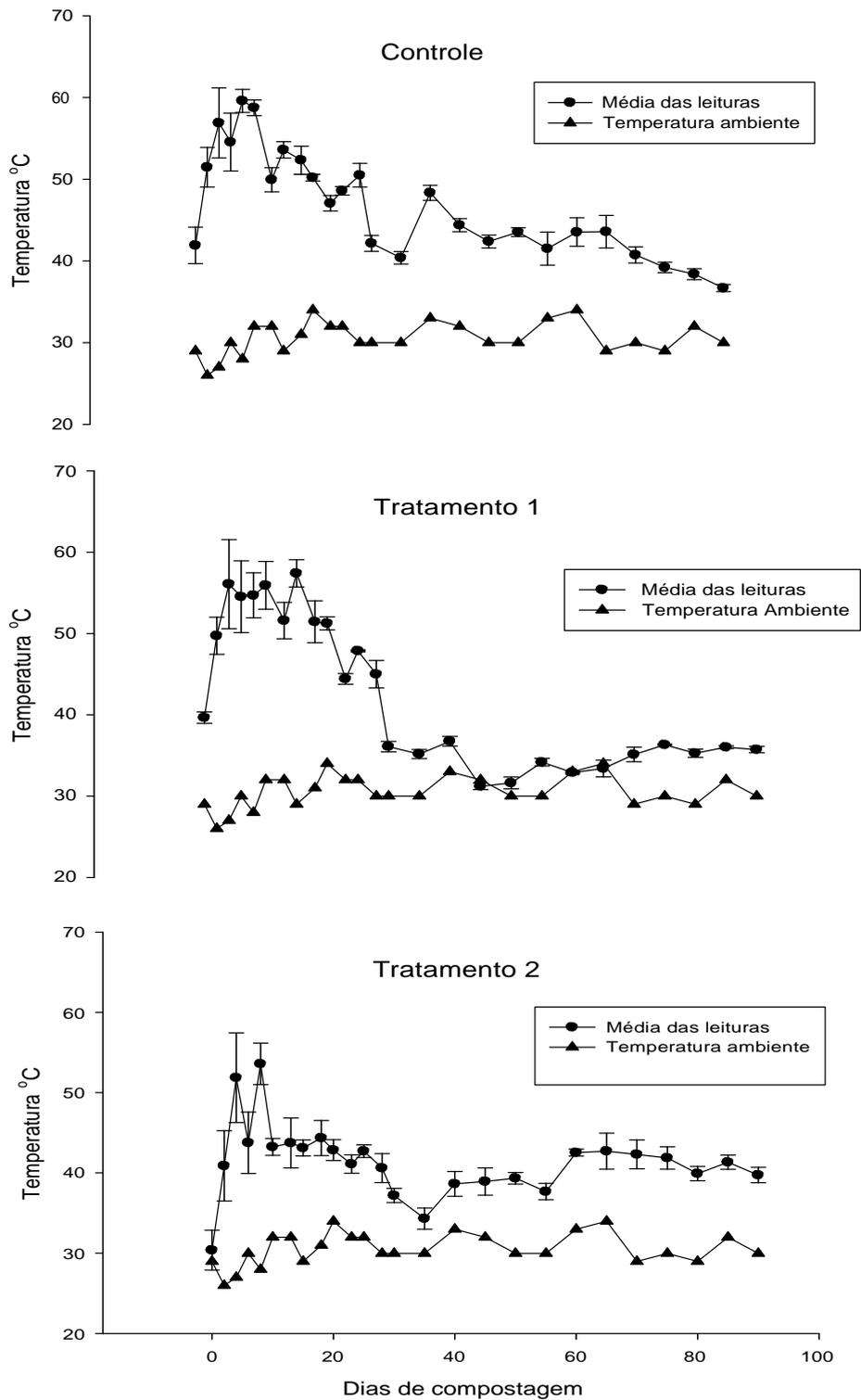


Figura 2. Gráfico com referência às leituras médias de temperaturas internas das leiras e temperatura ambiente nos tratamentos Controle, Tratamento 1 e tratamento2 no momento da leitura nos 90 dias de acompanhamento.

No tratamento 1 a granulometria dos materiais nas pilhas foram relevantes para queda da temperatura interna da pilha com consequente redução na atividade microbiana. Em estudo com leiras estáticas Nicolai &

Jani (2001) verificaram que a perda na pressão do ar aumentou quando se tornou maior a porcentagem de composto orgânico de cama de aviário misturado às raspas de madeira (granulometria entre 1,3 e 7,6 cm), e os autores encontraram perda de carga entre 4 e 14 Pa no material. A granulometria do resíduo de tabaco é muito reduzida e a natureza hidrofóbica do material fez com que ao longo do tempo de compostagem as adições de água tornaram a leira mais densa aumentando a resistência ao fluxo de ar no interior da mesma.

As determinações dos valores de pH indicaram que o tratamento 1 apresentou os maiores valores a partir do dia 10 permanecendo estável durante o restante do tempo de compostagem (Figura 3); Inicialmente, a compostagem diminui o pH que fica entre cinco e seis (meio ácido), devido as reações ácidas dos resíduos orgânicos,. No decorrer do processo em função das reações existentes (ácidos orgânicos reagindo com as bases liberadas pela matéria orgânica) o pH da massa é elevado para valores maiores tornando-se alcalino (BRASIL, 2009). Lauschner (2006) observou que o RT aplicado ao solo diminui a acidez potencial e os valores de pH em água dos solos no qual foram incorporados indicando possível potencial corretivo de acidez do resíduo. Entretanto, o valor neutralizante de resíduos de base orgânica apresenta discrepâncias quando analisados por meio de incubação em solos e titulação (Segatto, 2001).

Valores baixos de pH iniciais, em todos os tratamentos avaliados, são indicativos de período de anaerobiose inicial. Com o revolvimento das leiras e ativação dos processos metabólicos da biota os valores de pH permaneceram na faixa mais alcalina até o final do processo. Estes resultados corroboram com os estabelecidos por Kiehl (1985), pois a matéria prima crua tem reação ácida, o composto semicurado e bioestabilização tem reação neutra ou quase neutra e, o composto humificado tem pH básico. Além disso, na compostagem, o valor final do índice de pH abaixo de 6,0 não é aceitável como composto maturado.

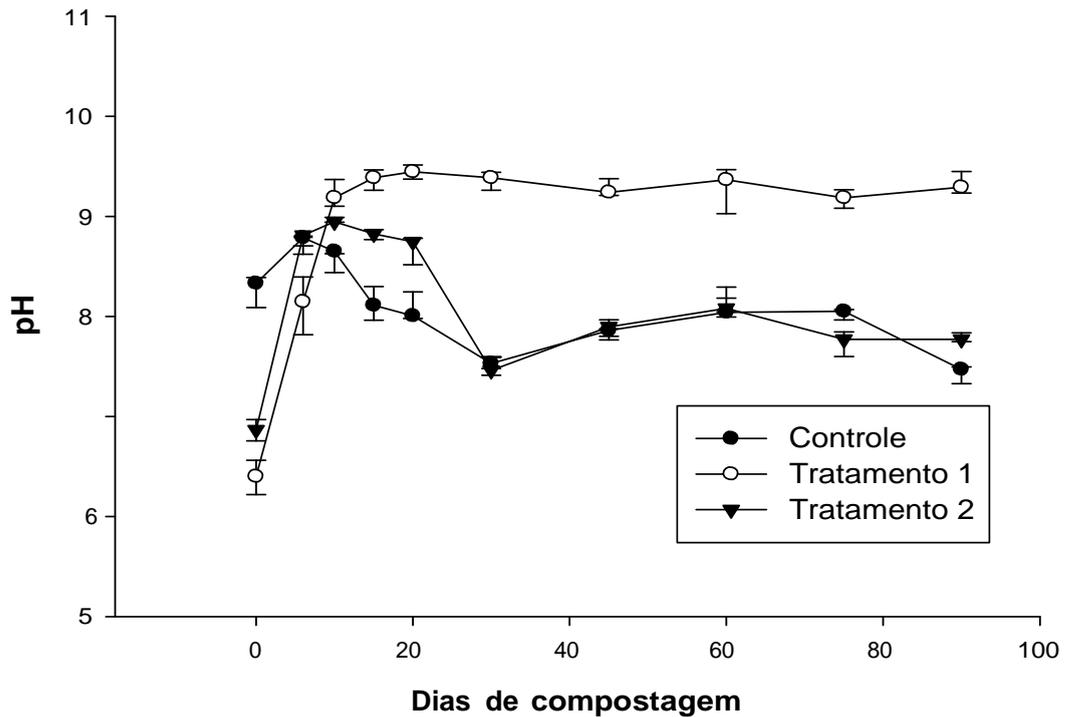


Figura 3. Gráfico referente as leituras de pH em cada periodo amostrado durante os 90 dias decompostagem avaliados nas pilhas de compostagem Controle , Tratamento 1 e Tratamento 2

Durante o período de compostagem analisado as determinações de condutividade elétrica CE indicam que houve uma redução para todos os tratamentos em alguns casos chegando até 64% (Figura 4), como para o Tratamento 2, quando comparando o início do processo (dia zero) com o dia 90. A redução das cargas elétricas está diretamente relacionada com a redução quantitativa dos elementos químicos presentes nos compostos devido ao processo de consumo pela biota e lixiviação ocorrida na compostagem (Benito, 2003).

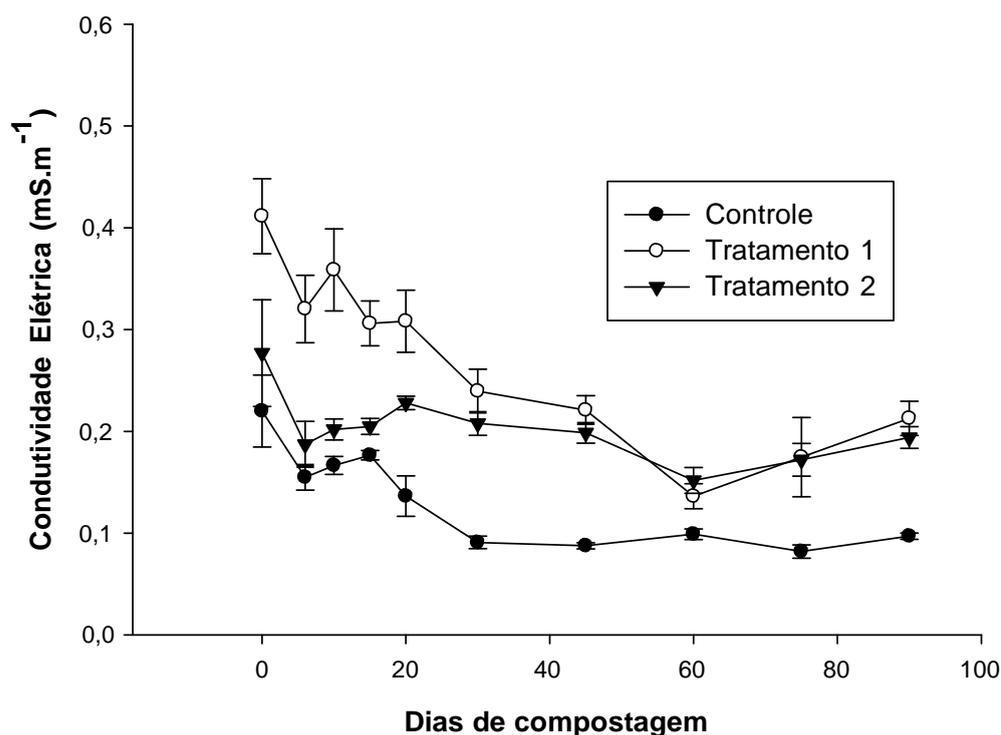


Figura 4. Gráfico referente as leituras de Condutividade Elétrica em cada período amostrado durante os 90 dias decompostagem avaliados nas pilhas de compostagem Controle , Tratamento 1 e Tratamento 2

Para todos os tratamentos avaliados a CTC aumentou durante os 90 dias de avaliação (Figura 5). À medida que o composto intensifica sua maturidade e/ou a humificação há aumento na CTC (Roing et al., 1988). O Tratamento 2 apresentou a maior taxa de aumento, com $18 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ superior ao o tempo inicial de compostagem. Entretanto, o tratamento controle foi o que apresentou o maior valor de CTC ao final do período avaliado (Figura 5). As maiores variações e amplitudes ocorreram nos primeiros 30 dias de avaliação devido à intensa atividade microbiana e maior variabilidade granulométrica dos materiais presentes na compostagem. Em compostagem com resíduos de indústria açucareira na Índia, Satisha & Devarajah (2007) verificaram que o incremento da CTC foi maior nos primeiros 90 dias, seguido de incrementos brandos até o final do período avaliado (150 dias).

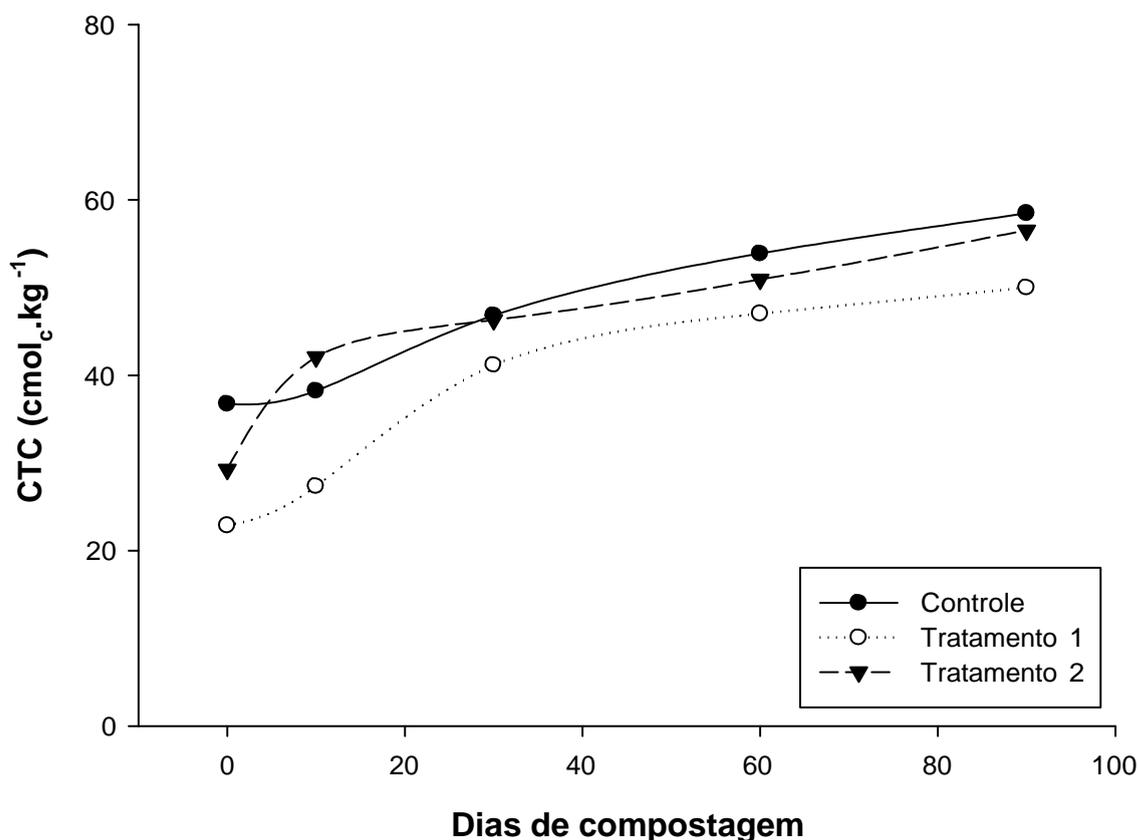


Figura 5. Gráfico referente aos teores de Capacidade de Troca de Cátions em cada período amostrado durante os 90 dias de compostagem avaliados nas pilhas de compostagem Controle, Tratamento 1 e Tratamento 2

De acordo com Harada et al. (1981), os incrementos de CTC estão relacionados com um considerável decréscimo da relação C/N e que os valores devem ser maiores que 60 cmol_c kg⁻¹ para estabelecer um mínimo necessário de maturidade do composto. No tratamento controle foram encontrados os maiores teores de CTC, com 58,42 cmol_c kg⁻¹. Entretanto, a Legislação Brasileira estabelece como mínimo de 20 cmol_c kg⁻¹. Apesar de todos os tratamentos estarem dentro dos padrões mínimos estabelecidos para uso como condicionador do solo no Brasil, presume-se que com um tempo maior de compostagem a CTC também aumentaria.

Os resultados do Carbono Orgânico (C-Org), Nitrogênio total (Nt) e Relação Carbono Nitrogênio (C/N) estão apresentados na Tabela 3. A relação C/N diminuiu desde o início até ao final dos três meses de

compostagem para os tratamentos Controle e Tratamento 1. Entre os tratamentos avaliados, o tratamento controle apresentou a maior redução da C/N.

O carbono é utilizado como fonte de energia sendo dez partes incorporadas ao protoplasma celular dos microrganismos e vinte eliminada como gás carbônico enquanto o nitrogênio é assimilado na estrutura na proporção de dez partes de carbono para uma de nitrogênio (Kiehl, 1985). O tratamento 2 não apresentou diferença estatística na redução da C/N durante os 90 dias devido, provavelmente, à natureza dos resíduos adicionados; nesse caso a estabilidade do lodo de efluentes com baixa relação C/N inicial contribuiu para a relação C/N final do tratamento ser baixa.

Kiehl (1985) classifica os materiais orgânicos de fácil decomposição com relação C/N entre 19/1 e 30/1; nessa classe encontram-se os tratamentos Controles e tratamento 1. O mesmo autor ainda segmenta os materiais nas classes bioestabilizado – de 19/1 a 15/1 – e humificado – de 14/1 a 10/1. O tratamento 2 já estava em fase inicial de compostagem e apresentou características de composto estabilizado.

A redução dos teores de C-org aos 90 dias de compostagem ocorreu para todos os tratamentos avaliados apresentando-se de forma mais significativa para o tratamento 2, com redução de 61%. Isso está associado ao fato de que esse tratamento apresentou maiores proporções de RT, que tem como característica o carbono em moléculas curtas com mono e dissacarídeos.

Os teores de N total indicam uma perda significativa para os tratamentos controle e tratamento 1 (Tabela 3). Isso ocorreu, principalmente, devido ao revolvimento das leiras o qual acelerou o processo, e aumentou a volatilização do nitrogênio na forma de amônia (NH_3) em meio alcalino e com ótima umidade (45 a 55%). Primo (2009) verificou uma pequena redução de nitrogênio na compostagem de resíduos de folhas de tabaco verde, assim como outros autores verificaram perdas de amônia atingindo valores de mais de 80% do total de N na compostagem de outros resíduos orgânicos (Kiehl, 1985).

Tabela 3. Valores de carbono orgânico (C-Org), Nitrogênio total (Nt) e relação C/N comparados no início e aos 90 dias do processo de compostagem entre os diferentes tratamentos: Controle, Tratamento 1 e Tratamento 2.

Tratamento	Nt		C –Org		Relação C/N **	
	Início	90	Início	90	Início	90
 g kg ⁻¹					
Controle	1,29 bA*	1,18 aA	28,02 aA	17,60 aB	28:1 aA	15:1 bB
Tratamento 1	1,72 aA	0,94 bB	26,93 aA	10,81 cB	20:1 bA	12:1 bB
Tratamento 2	1,77 aA	1,21 aB	21,24 bA	15,07 bB	14:1 cA	13:1 bA

* Médias seguida de letras minúsculas na coluna (dentro de cada período) e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

**Relação C/N com C-Org.

Além do N total, foram determinados os teores dos demais macronutrientes para para caracterização dos tratamentos no início e ao final de 90 dias de compostagem (Tabela 4). Todos os macronutrientes avaliados tiveram seus teores reduzidos, com exceção do magnésio (Mg) no tratamento Controle, isso deve-se ao fato de serem consumidos pela microbiota durante seu metabolismo e/ou sofrer lixiviação. O tratamento 2 apresentou maiores concentrações de potássio (K) devido à maior concentração de RT, que possui altos teores desse elemento nas folhas. Primo (2009) também verificou reduções de potássio similares em compostagem com resíduo verde de tabaco, corroborando com os resultado encontrados no presente estudo.

Tabela 4. Caracterização química comparados no início e aos 90 dias do processo de compostagem entre os diferentes tratamentos: Controle, Tratamento 1 e Tratamento 2

Dia/ Trat.	P		K		Ca		Mg		S	
	Início	90	Início	90	Início	90	Início	90	Início	90
g.kg ⁻¹									
Controle	1,0	0,5	1,4	0,7	1,6	1,0	0,6	0,8	0,2	0,1
Tratamento 1	0,3	0,1	2,4	1,1	1,6	0,8	0,5	0,3	0,2	0,1
Tratamento 2	0,5	0,5	1,9	0,8	1,3	0,6	0,4	0,3	0,2	0,1

A qualidade microbiológica do composto, após o processo de compostagem, é um dos principais fatores a serem levados em consideração para o uso agrícola. A ausência de coliformes ao final do

processo é um dos indicativos do sucesso do mesmo. No tratamento 2, ao final de 90 dias de compostagem encontrou-se considerável número de Coliformes totais e termotolerantes (Tabela 5). Neste tratamento, a presença de coliformes no lodo de efluentes e o período insuficiente de permanência na fase termófila (Figura 2) foram determinantes para os valores superiores aos demais tratamentos.

Apesar disso, segundo as normas estabelecidas pela resolução nº 375/2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente CONAMA (BRASIL, 2006) a concentração de coliformes fecais segura para uso agrícola deve ficar abaixo de 10^3 NMP g^{-1} de base seca para os resíduos de classe A. Ou seja, todos os tratamentos podem ser utilizados para fins agrícolas.

Tabela 5. Determinação de Coliformes Totais e Termotolerantes no início e aos 90 dias do processo de compostagem entre os diferentes tratamentos: Controle, Tratamento 1 e Tratamento 2

Tratamento	Coliformes Totais	C. Termotolerantes
NMP.g ⁻¹	
Controle	<2,00	<2,00
Tratamento 1	<2,00	<2,00
<u>Tratamento 2</u>	<u>2,20.10²</u>	<u>1,25.10²</u>

A medida da capacidade de retenção de água (CRA) não apresentou diferença significativa entre os tratamentos analisados, devido à semelhança granulométrica entre as partículas no dia 90. O tratamento Controle apresentou maior variabilidade de CRA (Figura 8). Um composto orgânico bem humificado pode, reter uma quantidade de água igual a 150% ao seu próprio peso. Primo (2009) encontrou valores de CRA na ordem de 250% do peso em composto com resíduo de tabaco após 120 dias de compostagem. O húmus puro, isolado da matéria orgânica, chega a reter 500% do seu próprio peso em água (Kiehl, 1985). Sob o ponto de vista físico, os tratamentos apresentaram semelhanças das proporções de sólidas e poros, variando de 40 a 42% de sólidos e 58 a 60% de poros (Figura 6). De acordo com a metodologia proposta por DeBoodt & Verdonck (1972), os poros dividem-se em espaço de aeração, água facilmente disponível e água retida. Esses indicadores são importantes para o uso do composto como substrato agrícola. Apesar de não haver

detalhado tais indicadores de acordo com a alta proporção de sólidos, a possibilidade do uso do material como substrato em recipientes rasos é remota devido a alta proporção de sólido. Comparativamente, Silva et. al. (2012) encontraram em compostos padrões como Casca de arroz carbonizada e Turfa na proporção de sólidos com no máximo 25 % do volume.

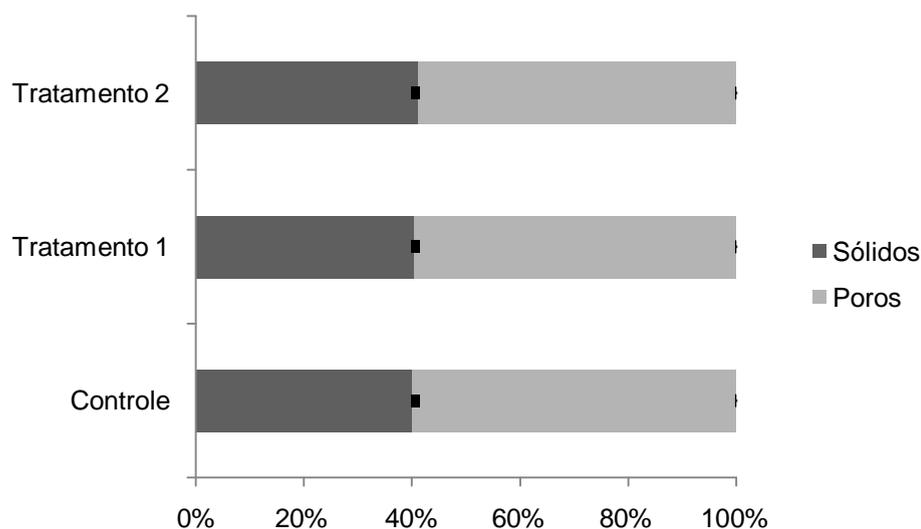


Figura 6. Proporção entre os volumes de sólidos e poros ocupados com ar e água nos compostos após 90 dias de compostagem. Barras representam o desvio-padrão.

Os teores médios de nicotina verificados no início do processo de compostagem foram de 0,045 e 0,020 nos tratamentos 1 e 2, respectivamente. No tratamento Controle não foram verificados teores de nicotina pois não foram adicionados RT. No 90º dia de compostagem não foram detectados teores mínimos em nenhum tratamento para nicotina, assim como para a soma das Nitrosaminas específicas do tabaco (Tabela 6). Isto demonstrando que o tratamento com a compostagem foi eficiente na remoção da nicotina e nitrosaminas.

Em relação ao teor de nicotina no final do processo de compostagem, Primo (2009) também verificou a inexistência de nicotina ao final de 120 dias, corroborando com os resultados encontrados neste estudo. A nicotina pode ser utilizada como fonte de carbono pelos microrganismos (Wada & Yamasaki, 1954) ou pode ter sido lixiviada devido sua solubilidade (Wang et al., 1995).

Tabela 6. Teores de Nicotina e nitrosaminas específicas do Tabaco no início e após 90 dias do processo de compostagem

Dia/ Tratamento	Nicotina		Nitrosaminas*	
	Zero	90	Zero	90
.....pp m.....				
Controle	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Trat 1	0,045	<0,001	1,000	<0,001
Trat 2	0,020	<0,001	<0,001	<0,001

*Somatório de oxido de metilnitrosamina e (NNN), (metilnitrosamina (NNK), nitrosoanabasine (NAB) e a nitrosoanatabine (NNA).

4.2 Estudo II – Mineralização do resíduo de tabaco, composto orgânico e vermicomposto no solo

Para todos os tratamentos avaliados, os diferentes compostos adicionados aumentaram a atividade microbiana, demonstrada pelo aumento da evolução de CO₂ (Figura 7), quando comparados com o tratamento Controle (solo PVAd) durante os 90 dias de incubação. O tempo de avaliação justifica-se a partir da fase em que a os tratamentos com maior aporte de resíduos avaliados entram em fase de estabilização de atividade microbiana a partir da décima primeira semana de verificações. Nas primeiras três semanas a atividade microbiana respondeu de forma exponencial (fase log).

De forma geral, quanto maiores as doses adicionadas ao solo, maiores foram a atividade microbiana no solo PVAd. Mesmo para doses dez vezes superiores à recomendação de aplicação agrícola o RT estimulou a microbiota nativa, demonstrando a fração lábil das moléculas com carbono presentes no material. A diferença entre as os tratamentos RT 1 e RT 5 chega a 130% de emissão de Carbono, e, quando comparadas os tratamentos RT 5 com RT 10 essa diferença é de 14% para a maior dose.

Lauschner (2005) também verificou incrementos de atividade microbiana à medida que as doses foram aumentadas em experimento de incubação de solo com resíduos de tabaco em folhas.

).

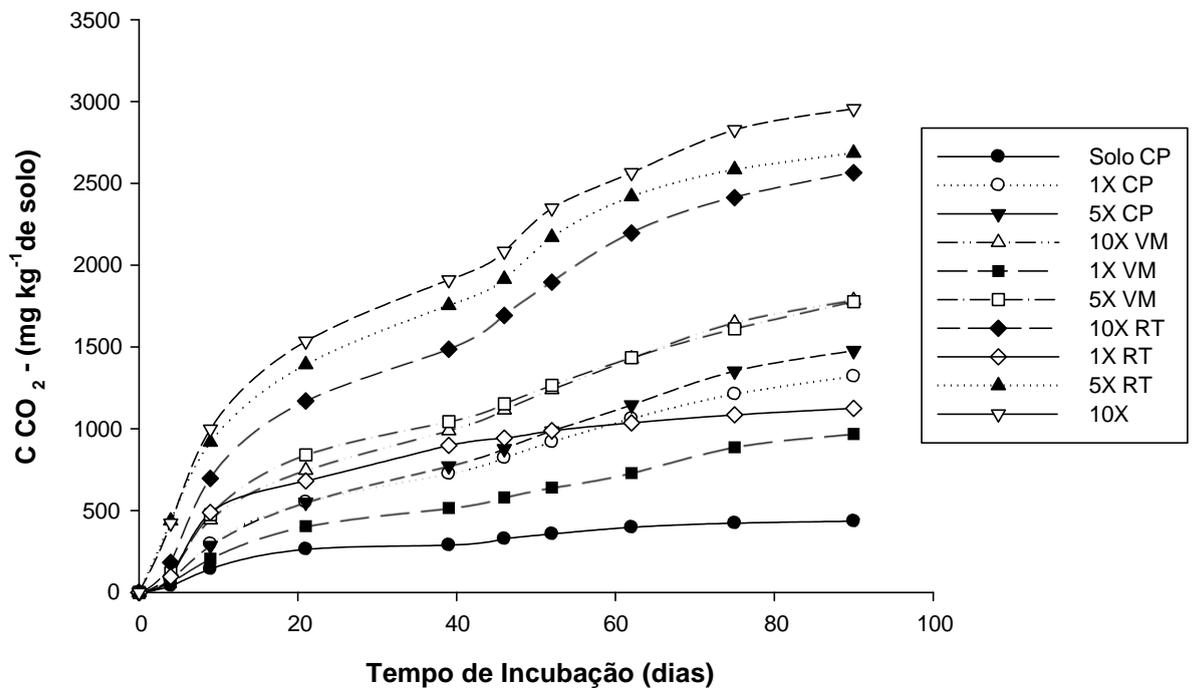


Figura 7. Valores acumulativos C-CO₂ durante 90 dias de incubação em condições controladas.. Tratamentos Controle (Solo) com composto (CP), com Vermicomposto (VM) e Resíduo de Tabaco (RT). O número indica dose.

Assim como nos tratamentos com adição de RT, os tratamentos com vermicomposto e composto também resultaram em acréscimo na atividade microbiana quando comparado ao Controle. Porém, a diferença entre as doses verificadas foi menos acentuada nos tratamentos com adição de composto quando comparados aos demais – 20% entre CP 1 com CP 10 - devido, provavelmente, à ação de decomposição sofrida durante o processo de compostagem no qual o material havia passado consumindo as frações mais lábeis de carbono. O tratamento com adição de VM foi o que apresentou maior estabilidade na comparação entre doses (1, 5 e 10), com aumento progressivo de aproximadamente 750 mg de C-CO₂ kg⁻¹ de solo entre as doses.

A fração mineralizada do carbono (FMC) de todos os resíduos foi superior à 10 % nos 90 dias avaliados para todos os materiais

adicionados ao solo em três doses distintas (Figura 8). De forma semelhante à atividade microbiana, quanto maiores as doses, maiores foram as FMC, demonstrando que o aporte desses resíduos em doses de até 10 vezes para PVAd e sob condições controladas, estimula a mineralização do carbono adicionado. O RT 10 foi o tratamento que atingiu maiores taxas de FMC devido aos mesmos fatores apresentados no item anterior. Por outro lado, Lauschner (2005) verificou que doses equivalentes a 135 ton Mg-1 de resíduo de tabaco adicionado ao solo levaram à menores FMC quando comparado à doses inferiores, possivelmente devido às condições físicas impróprias geradas (anaerobiose) para mineralização naquela situação.

Bernal et al. (1998) verificaram que materiais orgânicos mais estabilizados liberaram menor quantidade de C-CO₂, ao longo de 70 dias de incubação de composto de lixo urbano no solo, do que os mesmos materiais em estádios iniciais e intermediários de compostagem. Da mesma forma, Mantovani et al. (2006) concluíram que, além da relação C/N, a forma em que o C se encontra nos materiais orgânicos também interferem significativamente na velocidade de decomposição.

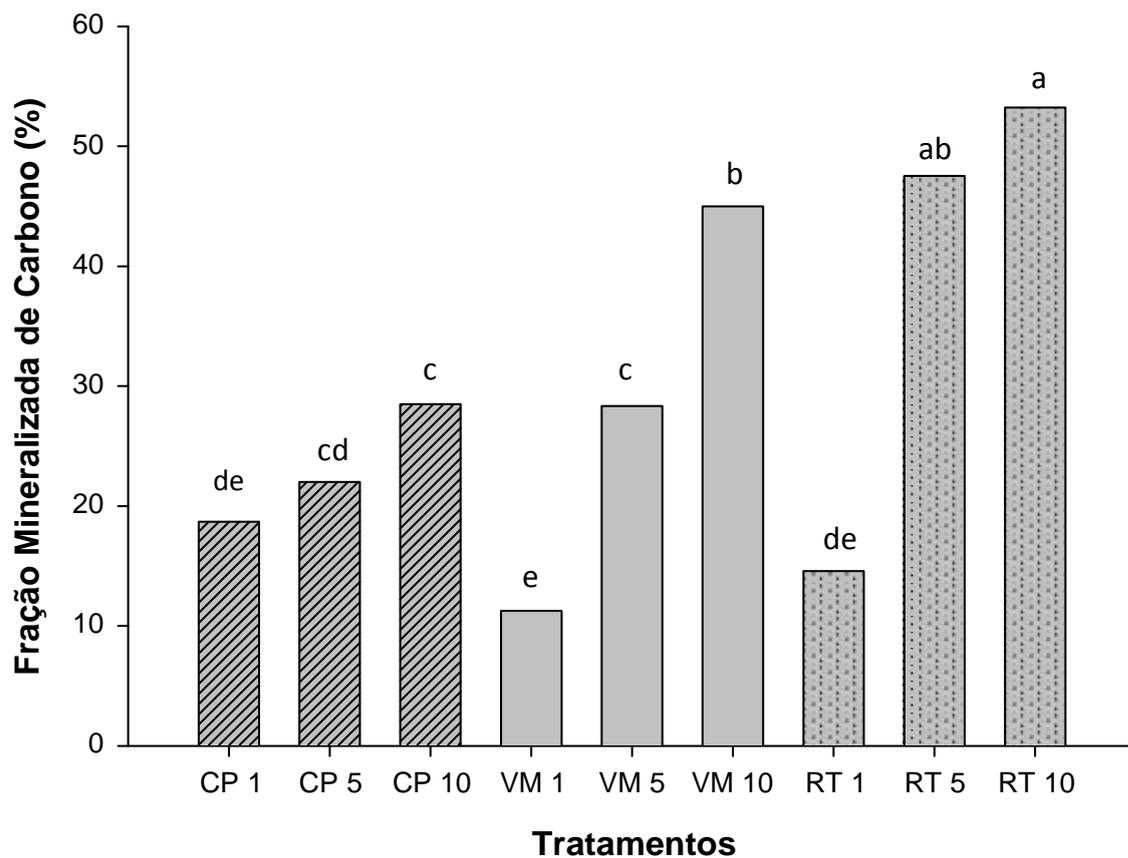


Figura 8. Fração mineralizada do carbono adicionado no solo por Composto Orgânico (CP), Vermicomposto (VM) e Resíduo de Tabaco (RT). Os números dos tratamentos indicam a dose usada. Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

4.3 Estudo III – Resíduo de tabaco como substrato para criação de *Eisenia andrei*.

A tendência de uma espécie para evitar um certo solo ou resíduo em estudo comparado aos tratamentos padrão (sem contaminantes) é usado como teste de revogação para controlar a qualidade do solo e os efeitos de determinados produtos químicos no comportamento de espécies de minhocas (ISO, 2005). Estes testes se baseiam no fato de que os produtos químicos do solo se apresentam em diferentes frações dependendo o nível e tipo de contaminação dos solos e podem ser absorvidas pelas minhocas.

As minhocas podem detectar uma vasta gama de contaminantes devido aos seus quimiorreceptores em seus sentidos sensoriais localizados na superfície do corpo (Reinecke et al., 2002). A Organização Internacional para Padronização (“ISO - International Organization for Standardization”) de 2007 recomenda a utilização de *Eisenia* spp. como minhoca padrão para tais testes.

Tabela 7. Resultados do ensaio conduzidos em condições de campo. Tratamentos com diferentes proporções de Resíduo de Tabaco (RT) e Esterco Bovino (EB).

Tratamento	Adultas*	Peso adultas	Ovos	Jovens	Peso jovens
un.....g.....	un....un.....g.....
EB	3,2	2,4	34	72	3,5
1/5 (RT/EB)	1,8	1,6	4,8	2,4	0,1
2/5 (RT/EB)	-	-	-	-	-
3/5 (RT/EB)	-	-	-	-	-
4/5 (RT/EB)	-	-	-	-	-
RT	-	-	-	-	-

*Foram classificadas como adultas oligoquetas com clitelo aparente.

Na verificação do uso de Resíduo de Tabaco em condições de campo, ocorreu um número alto de mortalidade ou fugas em todos os tratamentos (Tabela 7). No tratamento Controle, somente com uso de esterco bovino como substrato, o mesmo componente usado para a reprodução das minhocas, houve um número baixo de indivíduos sobreviventes – 4,5 vezes menos que a quantidade inicial inoculada.

As condições abióticas, principalmente baixas temperaturas podem ter contribuído para esse resultado de fugas ou mortes, já que o número de indivíduos jovens encontrados no tratamento Controle demonstra que houve um ciclo reprodutivo no substrato.

A avaliação *in situ* é importante, pois essa permite uma exposição mais realista, uma vez que também as condições físicoquímicas são as naturais. No entanto, o uso de vermicompostagem em trabalhos de campo apresenta algumas desvantagens, como o risco inerente do ensaio ser destruído por animais ou vandalizado por humanos que passem no local. Em ensaios de campo, variações substanciais de parâmetros subletais podem ocorrer uma vez que são numerosos os factores (exemplo do teor de matéria orgânica, umidade, pH) que podem mudar drasticamente a análise principal (Cuco, 2008). Contudo, estas aparentes desvantagens, ainda que dificultem a interpretação das respostas, e o estabelecimento de relações causa-efeito, não comprometem de forma nenhuma a relevância ecológica dos ensaios *in situ*.

Em condições controladas de temperatura e umidade, os incrementos de peso encontrados nos tratamentos com mistura foram na ordem de 40% de resíduo de tabaco e influenciaram negativamente no peso dos indivíduos adultos (Figura 9). No tratamento PT 40 as minhocas adultas perderam em média 62 g por semana, resultado 3,8 vezes superior à mesma proporção do resíduo sem tratamento prévio – RT 40 com 17 g g⁻¹ – demonstrando que, nesse caso, o tratamento anaeróbio prejudicou o desenvolvimento das minhocas da espécie *E. andrei*. Para os demais tratamentos houve um incremento de peso dos indivíduos, destacando-se o substrato Controle (esterco bovino) com incrementos na ordem de 40 mg⁻¹ de peso por semana.

Assim como a umidade e a temperatura, que foram mantidas controladas, notou-se que não houveram alterações no pH que influenciassessem o desenvolvimento de *E. andrei* nos substratos avaliados (Tabela 8). Os resultados de indivíduos mortos e fugas tiveram comportamento similar aos resultados dos outros indicadores avaliados, os tratamento RT 40 e PT 40 demonstram a existência de indícios relacionados à alta concentração do resíduo de tabaco com a

sobrevivência de minhocas da espécie *E. andrei*. Esse problema agrava-se quando o resíduo passa por um tratamento anaeróbio (PT 40). Os resultados do tratamento RT 10 e PT 10 foram muito similares à Controle (esterco bovino) para número de minhocas com clitelo, sem clitelo e ovos com pequena variação semanal, indicando que há possibilidade de uso desse material como substrato para criação de minhocas da espécie *E. andrei* em condições ambientais ótimas.

Tabela 8. Caracterização de pH do substrato no início e ao final do período de avaliações (32 dias) e somatório de mortes, fugas, adultos, jovens e ovos. Tratamentos com Esterco, resíduo de tabaco (RT) e resíduo de tabaco pré-tratado (PT) em mistura ao esterco nas proporções de 10, 20 e 40 %.

	Inicial	Final	Mortes	Fugas	Adultas*	Jovens	Ovos
pH.....	N° de indivíduos.....				
Esterco	8,40	8,40	0,00	0,00	20,00	32,50	70,50
RT 10	8,50	8,50	0,00	0,00	20,00	30,50	69,50
RT 20	8,80	8,40	0,25	0,00	19,75	0,75	15,50
RT 40	8,80	8,80	2,25	9,00	16,00	0,00	0,00
PT 10	9,00	8,60	0,00	0,00	20,00	23,25	59,75
PT 20	8,90	8,90	0,25	0,00	19,75	2,00	34,00
PT 40	9,30	9,10	7,50	20,00	8,25	0,00	0,00

*Foram classificadas como adultas oligoquetas com clitelo aparente.

Os resultados referentes ao número de indivíduos adultos, jovens e número de ovos indicam a capacidade dos indivíduos de se reproduzirem no substrato proposto (Figura 10). Os resultados do número de indivíduos convergem com os de incremento de peso no que diz respeito aos melhores indicadores encontrados para o tratamento Controle com esterco e, de forma gradativa, quanto maiores foram as proporções de resíduo de tabaco adicionado, piores foram os resultados de número de indivíduos e taxa de reprodução.

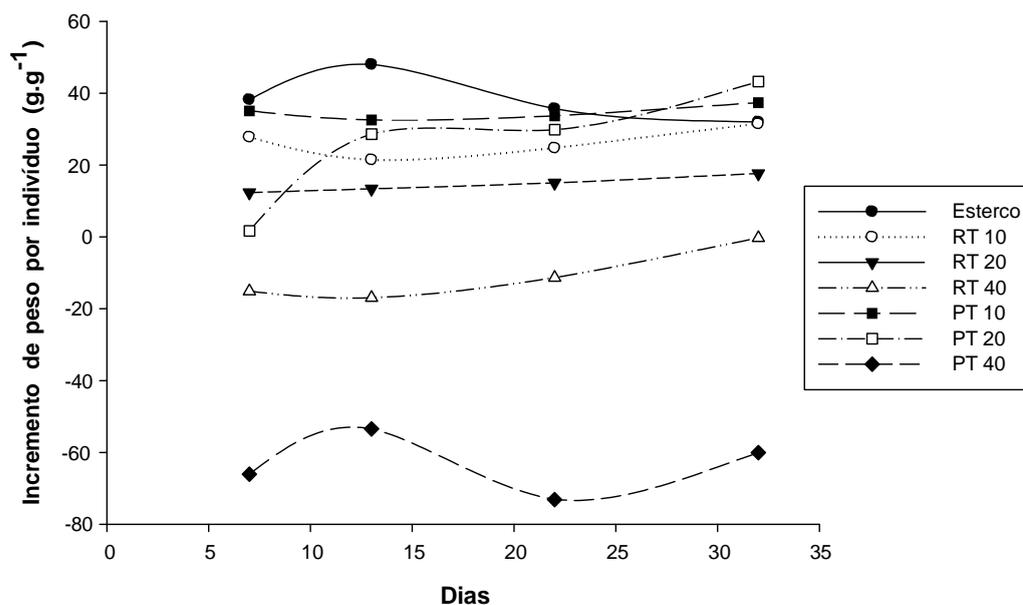


Figura 9. Gráfico do incremento de peso por unidade animal ao final de cada semana de avaliação. Tratamentos com Esterco, resíduo de tabaco (RT) e resíduo de tabaco pré-tratado (PT) em mistura ao esterco nas proporções de 10, 20 e 40%.

Apesar de ser considerada uma minhoca de clima temperado, *E. andrei* é a espécie mais usada para vermicompostagem (minhocultura) no Brasil, devido a seu comportamento peregrino, a fácil colonização de áreas compostas por quantidades elevadas de matéria orgânica e a capacidade de adaptação a grandes variações de temperatura (Dominguez, 2001). Apesar de seu ciclo de vida ser de 45 a 51 dias de vida, o tempo de maturidade é de 21 a 28 dias (Dominguez, 2001) e no estudo foi verificado tempo superior (32 dias). O número de indivíduos adultos apresentou maior diferença no tratamento PT 40 com relação aos demais durante todo o período avaliado, nesse mesmo tratamento não foram percebidos sinais de reprodução, assim como para o tratamento RT 40. O tratamento RT 10 foi o menos afetado quanto às taxas de multiplicação e sobrevivência dos oligoquetas adultos.

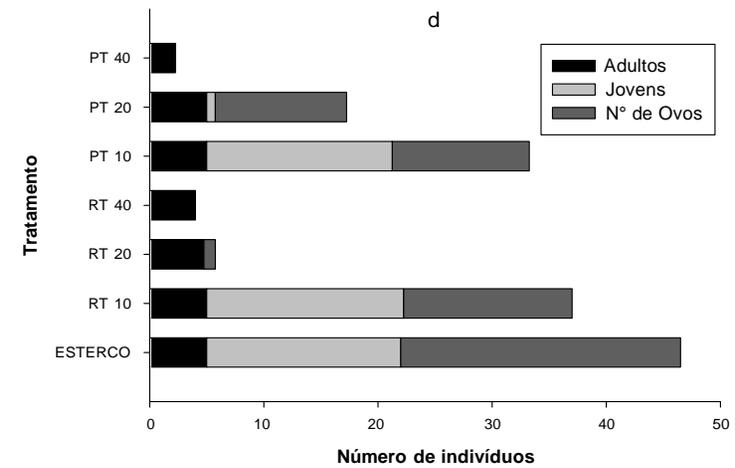
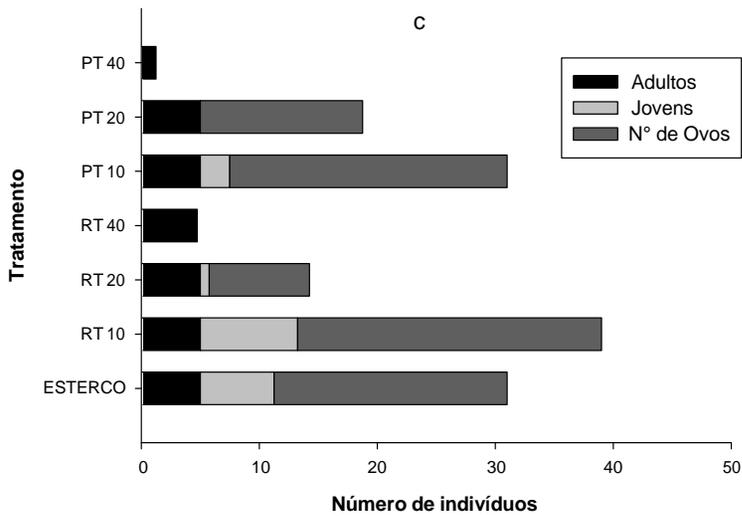
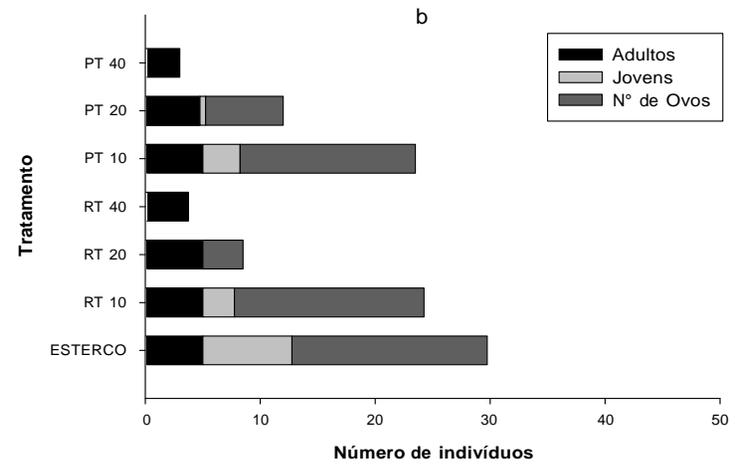
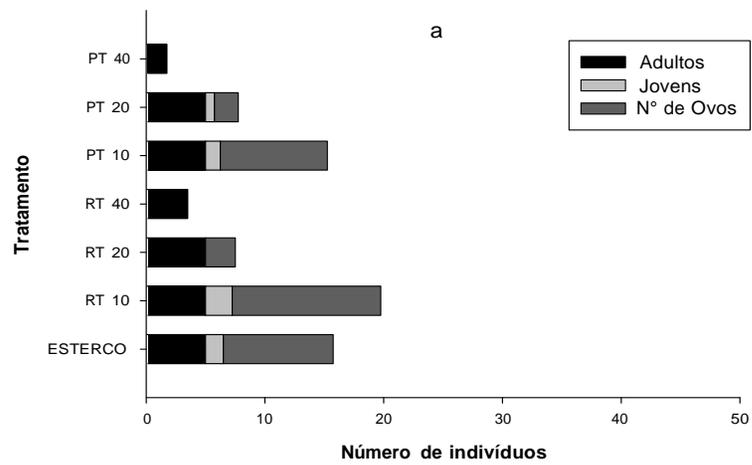


Figura 10. Gráfico com o número de indivíduos Adultos (com Clitelo), jovens (Sem Clitelo) e Ovos em cada tratamento avaliado durante quatro semanas. Tratamentos com Esterco, resíduo de tabaco (RT) e resíduo de tabaco pré-tratado (PT) em mistura ao esterco nas proporções de 10, 20 e 40 %. Figura a (semana 1) e figura d (semana 4).

4.4 Estudo IV – Monitoramento de atributos microbiológicos do solo após incorporação de resíduo de tabaco, composto orgânico e vermicomposto

A quantificação da biomassa microbiana é um dos indicadores mais utilizados nas avaliações de impactos ambientais relacionados à microbiota do solo. A quantificação da biomassa microbiana foi possível pela relação da quantidade de carbono presente no tecido dos microrganismos (Anderson & Domsch, 1978). Solos que são capazes de manter maiores teores de CBM são capazes de estocar, mas também ciclar mais nutrientes no sistema, pois a biomassa controla funções chave no solo, como a decomposição e acúmulo de matéria orgânica e transformações envolvendo nutrientes minerais no solo. Serve ainda, como reserva nutricional para ciclos de reprodução e crescimento de novos organismos (Stenberg, 1999).

O tratamento Controle teve uma maior quantidade de CBM entre os dias 30 e 90, coincidindo com o maior crescimento vegetativo das plantas (Tabela 9). Apesar da coleta inicial para primeira avaliação acontecer ainda no dia da montagem do experimento, os tratamentos Solo e RT 1 verificados, ficaram com teores de CBM abaixo dos demais. Um dos fatores que podem expressar a diferença é a variabilidade inicial da amostragem uma vez que a microbiota havia sofrido ali uma situação de estresse.

Com exceção do tratamento Solo, CP 5 e CP 10, todos os demais apresentaram maiores teores de CBM ao final do experimento (120 dias). Uma das explicações para isso, é que à medida em que há o desenvolvimento do sistema radicular cresce a quantidade de exsudados liberados pelas raízes das plantas e a *A. sativa* tem como característica, assim como diversas gramíneas, estimular a biota do solo, dessa forma aumentando a diversidade florística do ambiente (Fernandez, 2005). Por outro lado, com o final do ciclo vegetativo há uma reduzida produção de exsudados, apesar disso as raízes tornam-se então uma fonte de alimentos dos microrganismos decompositores.

Powlson et. al (1987) descreve que a Biomassa Microbiana é muito sensível às alterações de carbono orgânico no solo. Em trabalho com CBM

extraído com fumigação e extração, Marchiori Júnior (2005) verificou que após operações de manejo do solo a biomassa microbiana sofreu flutuações até voltar aos teores normais. De forma geral, as distintas doses (com cinco e dez vezes superior ao recomendado) mostraram-se indiferentes ao teor de CBM. Além da maior disponibilidade de nutrientes e material orgânico não resultarem em maiores teores de CBM, também não foi verificado impacto negativo no desenvolvimento da microbiota segundo esse parâmetro.

A hidrólise do FDA tem sido utilizada como um indicador geral de atividade hidrolítica do solo, capaz de mensurar em conjunto com a atividade de proteases, lipases e esterases (Dick, 1997). Na realidade, a hidrólise do FDA não pode ser considerada como uma medida de atividade específica de fungos ou bactérias pois as reações de hidrólise também podem ser catalizadas por outros organismos, incluindo algas e protozoários (Barak & Chet, 1986), e por isso ela torna-se uma importante ferramenta no auxílio das percepções dos impactos a curto prazo no ambiente.

Os resultados indicam que todos os tratamentos tiveram uma atividade microbiana superior ou igual ao controle (Figura 11), ou seja, a adição dos compostos orgânicos resultou no aumento da atividade durante o período avaliado. Todos os tratamentos com adição de compostos orgânicos apresentaram pico de atividade aos 30 dias de experimentação, o que não ocorreu com o tratamento Controle. Com a adição de material orgânico incremento na disponibilidade de nutrientes à microfauna edáfica causando exponencial crescimento e atividade da mesma. Dumonted et. al. (1997) sugeriram que a hidrólise do FDA pode ser considerada como uma ferramenta adequada para medir o efeito prejudicial precoce de pesticidas sobre a biomassa microbiana do solo, como que é um teste sensível e não-específica capaz de representar a atividade hidrolítica da microbiota do solo. Os resultados indicam que, diferentemente do CBM a hidrólise do FDA respondeu sensivelmente às doses dos compostos adicionados no período inicial da experimentação (até 60 dias).

Tabela 9. Carbono da Biomassa Microbiana (CBM) por Fumigação Extração e pH.. Tratamentos Controle (Solo) com composto (CP), com Vermicomposto (VM) e Resíduo de Tabaco (RT). O número indica dose.

Dia/ Tratamento	CBM										pH em H ₂ O			
	início	30		60		90		120		Período		início	Final	
	mg C kg ⁻¹ de solo seco													
SOLO	119,86	bB*	475,49	bA	427,32	aA	436,80	bA	233,81	bB	4,96	A	5,09	Ac
RT 1	153,63	bC	752,94	abAB	578,19	aB	720,94	aAB	1025,89	aA	5,14	B	5,89	Ab
RT 5	237,66	aC	836,27	abB	590,28	aB	799,60	aB	1319,52	aA	5,31	B	5,89	Aab
RT 10	207,06	abD	977,15	a AB	644,57	aB	753,74	aBC	1090,88	aA	5,40	B	6,18	Aa
VM 1	186,73	abC	726,47	abAB	617,27	aB	724,14	aAB	1025,89	aA	4,95	B	5,78	Ab
VM5	190,58	abC	735,29	abAB	621,42	aB	721,04	aAB	1003,47	aA	5,02	B	5,75	Ab
VM 10	202,83	abC	752,94	abB	648,53	aB	732,83	aB	1082,92	aA	4,98	B	5,70	Ab
CP 1	203,52	abB	471,89	bA	427,32	aA	490,28	abA	453,27	bA	4,97	B	5,77	Ab
CP 5	172,76	abB	664,71	abA	430,833	aA	524,59	abA	331,88	bAB	5,04	B	5,85	Ab
CP 10	182,50	abB	649,67	abA	500,94	aAB	540,54	abAB	360,34	bAB	5,06	B	5,91	Ab
CV (%)	27,70		18,91		29,04		14,78		21,56		1,94		2,82	

* Médias seguida de letras minúsculas na coluna (dentro de cada período) e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

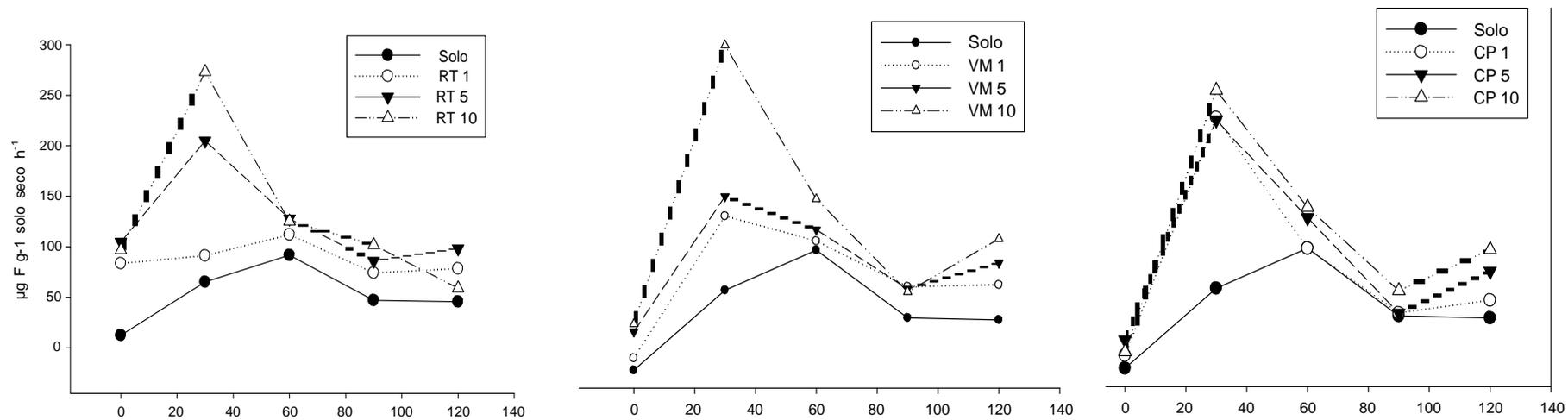


Figura 11. Gráfico com a hidrólise do FDA em cada tratamento avaliado durante quatro meses. Tratamentos com resíduo de tabaco (RT) e Vermicomposto (VM) e Composto Orgânico (CP) adicionados em três doses distintas (recomendada 1, cinco 5 e dez 10 acima da recomendação) comparados à testemunha (Solo).

Um dos fatores preponderantes ao crescimento e atividade microbiológica é o pH. Como forma de caracterização e suporte ao monitoramento dos parâmetros de CBM e hidrólise de FDA, foram realizadas caracterizações dos tratamentos ao início e ao final dos 120 dias de experimentação. De forma geral, em todos os tratamentos com adição de compostos orgânicos, independente das doses, houve diferença entre os períodos (Tabela 9). Além disso, o tratamento com RT 10 mostrou-se superior estatisticamente no resultado de pH, indicando reações alcalinas desse resíduo. Os resultados de Lauschner (2005) em estudo detalhado do valor de neutralização com diferentes doses e solos estudados corroboram com os encontrados no presente estudo.

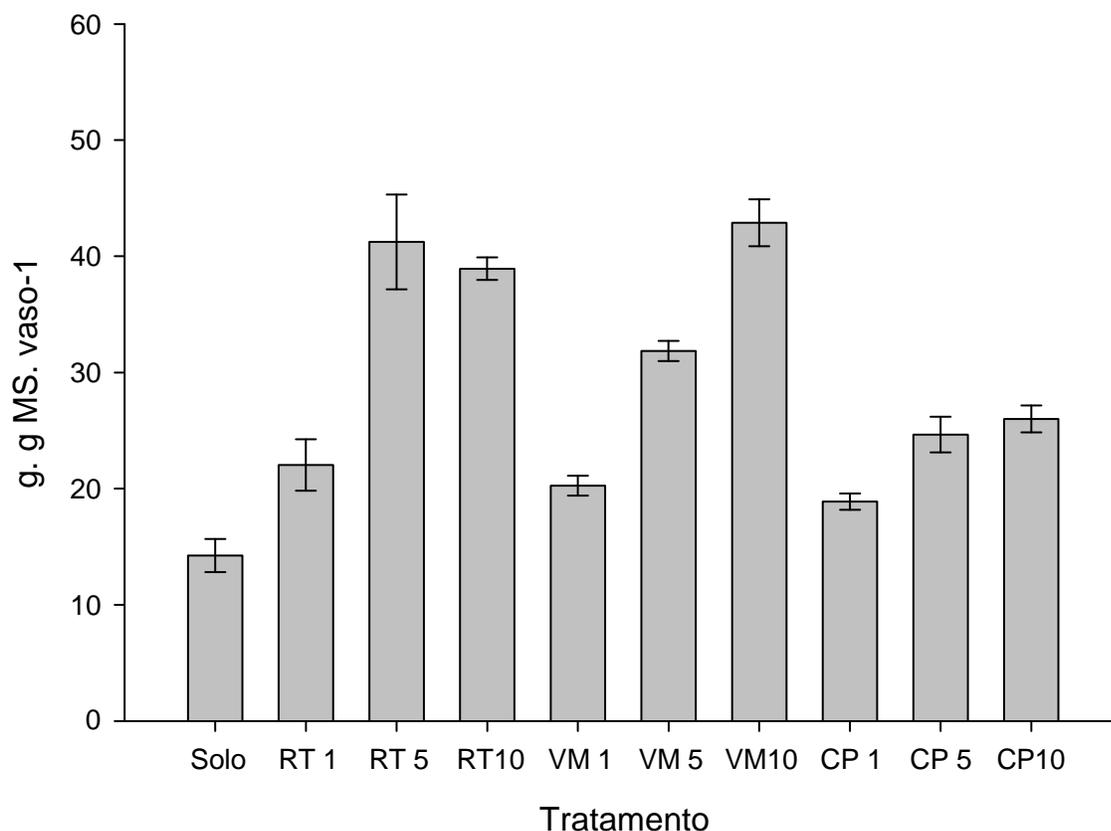


Figura 12. Gráfico com os rendimentos em vasos sob condições de campo para Aveia durante todo ciclo da cultura. Tratamentos com resíduo de tabaco (RT) e Vermicomposto (VM) e Composto Orgânico (CP) adicionados em três doses distintas (recomendada 1, cinco 5 e dez 10 acima da recomendação) comparados a Controle (Solo).

Os tratamentos com diferentes doses foram avaliados quanto à produção de matéria seca de aveia ao final do ciclo vegetativo da cultura. O resultado(Figura 12) demonstrou que a adição de resíduos orgânicos foi responsável por incremento de rendimento em todos os tratamentos avaliados. As maiores produtividades foram alcançadas nos tratamentos VM 10, RT 10 e RT 5, esse último com 2,25 vezes superior ao tratamento Controle. As distintas doses acarretaram graduais incrementos de produtividade para os tratamentos com CP e VM; entretanto, algum fator secundário, não relacionado à microbiota, provocou resultados discrepantes à *A. sativa* quando comparados os tratamentos RT 5 ao RT 10.

5. CONCLUSÕES

No presente estudo, 90 dias de compostagem do resíduo de tabaco com outros resíduos agroindustriais é suficiente para alcançar padrões mínimos de qualidade do composto, como a não verificação dos teores de Nicotina e Nitrosaminas específicas do tabaco com a compostagem, mas não é possível determinar o processo responsável por essa redução. Assim, a compostagem de resíduo de tabaco pode ser uma alternativa para o tratamento do resíduo com fim de uso agrícola.

O uso de resíduos de tabaco adicionado ao esterco bovino como substrato para criação de minhocas de espécie *E. andrei* mostrou-se como uma alternativa quando em proporções inferiores à 10%. O pre-tratamento realizado influenciou negativamente no desenvolvimento das oligoquetas.

A atividade microbiana é estimulada pela incorporação de resíduo de tabaco, composto e vermicomposto e as maiores doses destes resíduos no solo promoveram maiores taxas de mineralização do carbono.

6- BIBLIOGRAFIA

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas **NBR10004 Resíduos sólidos – Classificação**. 2.ed. Rio de Janeiro, 2004.71 p.

AFUBRA. **As características econômicas e sociais da cadeia produtiva de tabaco no Sul do Brasil**. Jul. de 2012. Disponível em: <www.afubra.com.br>. Acesso em: 21 set. 2012.

ALLOWAY, B.J.; AYRES, D.C. **Chemical Principle of Environmental Pollution**. London: Blackie Academic & Professional Pub, 1993. 115 p.

ANDERSON, J. P. E; DOMSCH K. H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.10, n. 1, p. 215-221,1978.

ANDRADE, S.A.L.; SILVEIRA, A.P.D. Biomassa e atividade microbiana do solo sob influencia de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, p .1191-1198, 2004.

ARMSTRONG, D.W.; WANG, X.; ERCAL, N. Enantiomeric composition of nicotine in smokeless tobacco, medicinal products, and commercial reagents. **Chirality**, New York, v.10. p. 587–591, 1998.

BARAK, R.; CHET, I. Determination, by fluorescein diacetate staining, of fungal viability during mycoparasitism. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 18, n. 3, p. 315–319, 1986.

BENINTENDE, S.M. et al. Soil microbiological indicators of soil quality in four rice rotations systems. **Ecological Indicators**, London, v.8, p.704-708, 2008.

BERNAL, M.P. et al. Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil. **Agriculture Ecosystem and Enviroments**, v.69, p.175-189, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 35, de 4 de julho de 2006. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 12 jul. 2006. Seção 1, 2006. 32 p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária Instrução Normativa nº 25, 8 de novembro de 2012. Ministério da

Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 21 nov. 2012. Seção 1, 2012. 14 p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. Portaria nº 69, 16 de março de 1982. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 19 mar. 1982.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 375** de 29 de agosto de 2006. 32 p Disponível em: < www.mma.gov.br/port/conama/res/res06/res37506.pdf.> Acesso em: 02 Abr. 2012.

BROWN, Geoge Gardner. Ecologia, biodiversidade e biogeografia das minhocas no Brasil. In: BROWN, Geoge Gardner, FRAGOSO, Carlos (Ed.). **Minhocas na América Latina: biodiversidade e ecologia**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 545 p.

BRUNNEMANN, K.D.; HOFFMANN, D. Analytical studies on *N*-nitrosamines in tobacco and tobacco smoke. **Critical Reviews in Toxicology**, New York, v. 17, p 71-112, 1991.

BENITO, M. et al. Blending green feedstocks at a Madrid composting facility. **Biocycle**, Madrid, v. 46, p.72–74, 2005.

BUTLER, T.A. et al. Compost age and sample storage effects on maturity indicators of biosolids compost. **Quality and Environmental Journal**, Madison, v.30, p.2141–2148, 2001.

CARNEIRO, M. A. C. et al. Produção de fitomassa de diferentes espécies de cobertura e suas alterações na atividade microbiana de solo de cerrado. **Bragantia**, Campinas v.67, n.2, p.455-462, 2008.

CESAR, R. G.; EGLER, S. G.; POLIVANOV, H. Biodisponibilidade de metilmercúrio, zinco e cobre em distintas frações granulométricas de solo contaminado utilizando oligoquetas da espécie *Eisenia andrei*. **Anuário Instituto de Geociências**, Rio de Janeiro, v.31, n.2, p.33-41, 2008.

CIVILINI, M. et al. Nicotine decontamination of tobacco agro-industrial waste and its degradation by micro-organisms. **Waste Managements Reseachs**, London, v 15, p. 349–358, 1997.

DE BOODT, M., VERDONCK, O. The physical properties of the substrates in horticulture. **Acta Horticulturae**, Belgium, v.26, p.37-44, 1972.

DE PAULA, A. M.; SOARES,C.R.F.S.; SIQUEIRA J.O. Biomassa, atividade microbiana de fungos micorrízicos em solo de “landfarming” de resíduos petroquímicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.10, n.2, p.448–455, 2006.

DICK, Richard P. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. In: ANKHHURST, B.M.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. (Ed.). **Biological indicators of soil health**, Wallingford Oxon, v.1, 1997, 437 p.

DOMINGUEZ, J.; EDWARDS, C. A.; ASHBY, J. The biology and population dynamics of *Eudrilus eugeniae* (Oligochaeta) in cattle waste solids. **Pedobiologia**, Berlin, v.45, p.341-353, 2001.

DRUMOND, M. A. et al. **Estratégias para o uso sustentável da biodiversidade da Caatinga**, Petrolina, 2000. 23 p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**, Rio de Janeiro, 2 ed, Embrapa Produção da Informação, 2006. 306 p.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Projections of tobacco production, consumption and trade to the year 2010**. Rome, 2003. p. 55-59

FUNASA. Fundação Nacional de Saúde. **Compostagem familiar**. Brasília, 2009.

HARADA, Y. et al. Maturing process of city refuse compost during piling. **Soil Science and Plant Nutrition**. Temuso, v. 27, p. 357–364, 1981.

HE, X.T. et al. Physical and chemical characteristics of selected U.S. municipal solid waste composts. **Quality Environmental Journal**, Madison, v. 24, p.543–552, 1995.

HECHT, S.S. Recent studies on mechanisms of bioactivation and detoxification of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), a tobacco-specific lung carcinogen.. **Critical Reviews in Toxicology**, New York, v. 26, p. 163–181, 1996.

HOFFMANN, D. et al. Five Leading U.S. Commercial Brands of Moist Snuff in 1994: Assessment of Carcinogenic *N*-Nitrosamines. **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v. 87, n. 24, p. 1862-1869, 1995.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Chemistry and analysis of tobacco smoke**. 1985. p. 83-126 (IARC Monograph on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Tobacco Smoking. Lion, v. 38)

ISO, Partie 1: Essai avec des vers de terre (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*) In: QUALITÉ du sol - Essai d'évitement pour contrôler la qualité des sols et les effets des produits chimiques sur le comportement, Geneva, 1 ed. International Organization for Standardization, 2005. 17512 p.

ISO, Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). SOIL quality: avoidance test for testing the quality of soils and effects of chemicals on behavior – part International Organization for Standardization. Geneva, 2007, 17512 p.

JENKINSON, D.S.; LADD, J.N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E.A.; LADD, J.N. (Eds.) **Soil Biochemistry**, New York, v.5, 1981, p.415-471.

JOERGENSEN R. G., ANDERSON T. -H. ; WOLTERS V. C and N relationships of the soil microbial biomass in soils of beech (*Fagus sylvatica* L.) forests. **Biology & Fertility of Soils**, Berlin, v. 19, p. 141-147, 1995.

KIEHL, J.E. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1985. 492p.

LAMBAIS, M. R. Poluição orgânica e seu controle. In: MICROBIOLOGIA do Solo. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 231-242.

LAUSCHNER, M.H. **Potencial de reciclagem agrícola de resíduo de agroindústria fumageria**. 2005, 165 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

MANUAL de métodos de análises de solo. Rio de Janeiro, EMBRAPA Comunicado de Transferência de Tecnologia, 1997, 212 p.

MANTOVANI, J. R. et al. Mineralização de carbono e de nitrogênio provenientes de composto de lixo urbano em argissolo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 4, p. 677-684, 2006.

MARCHIORI JÚNIOR, M.; MELO, W.J. de. Alterações na matéria orgânica e na biomassa microbiana em solo de mata natural e submetido a diferentes manejos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, p. 1177-1182, 2000.

MASTO, R.E. et al. Changes in soil biological biochemical characteristics in a long-term field trial on a sub-tropical inceptisol. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.38, p.1577-1582, 2006.

MATHUR, S.P. et al. Determination of compost biomaturity. I. Literature review. **Biologic Agriculture and Horticulture**, London, v.10, p. 87–108, 1993.

MATSUOKA, M. **Atributos biológicos de solos cultivados com videira na região da Serra Gaúcha**. 2006. 171f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

MOREIRA , F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2001, 221 p.

MUMBA, P. P.; PHIRI, R. Environmental Impact Assessment of Tobacco Waste Disposal. **International Journal of Environmental Research**, Tehran, v. 2, n.3, p 225-230, 2008.

MUSUMECI, M. R. Defensivos agrícolas e sua interação com a microbiota do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Coord.) **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992.

NAHMANI, J.; HODSON, M.E.; BLACK, S.. A Review of Studies Performed to Assess Metal Uptake by Earthworms. **Environmental Pollution**, Amherst, v. 145, p. 402-424, 2007.

NICOLAI, R.E.; JANI, K.A. Biofilter media mixture ratio of wood chips and compost treating swine odors. **Water Science and Technology**, Oxford, v.44, n.9, p.261-267, 2001.

NOVOTNY, T. E.; ZHAO, F. Consumption and production waste: another externality of tobacco use. **Tobacco Control**, London, v. 8, p. 75–80, 1999.

OKUR,N.; KAYIKCIO H.H ; OKUR, B. Organic Amendment Based on Tobacco Waste Compost and Farmyard Manure: Influence on Soil Biological Properties and Butter-Head Lettuce Yield . **Turkey Journal Agriculture**, Turkey, v. 32, p. 91-99, 2008.

PARKIN, T.B.; DORAN, J.W.; FRANCO-VIZCAINO, E. Field and laboratory tests of soil respiration. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (Eds.) **Methods for assessing soil quality**. Madison, 1996, p.231-246.

PERUCCI, P. et al. Effects of organic amendment and herbicide treatment on soil microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.32, p.17-23, 2000.

POWLSON, D.D.; BROOKES, P.C. Measurement of soil microbial biomass provides early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.19, n.2, p.159-164, 1987.

PRIMO, D.C. **Compostagem do resíduo sólido gerado na cultura do fumo (*Nicotiana tabacum* L.) e sua utilização para produção de mudas arbóreas**. 2009, 74 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia, 2009.

REINECKE, A.J. et al. Assessment of lead nitrate and mancozeb toxicity in earthworms using the avoidance response. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 68, p. 779–786, 2002.

ROIG, A. et al. Cation exchange capacity as a parameter for measuring the humification degree of manures. **Soil Science**. Madison, v.146, p. 311–316, 1988.

SATISHA G.C.; DEVARAJAN, L. Effect of amendments on windrow composting of sugar industry pressmud. **Waste Management**, London, v.27, p.1083–1091, 2007.

SCHNÜRER, J.;ROSSWALL, T. Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 43, n.6, 1982.

SEGATTO, M. P. **Efeito da aplicação de resíduos industriais no solo e nas plantas**. 2001.153 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

SILVA, F.R. **Diversidade florística e estrutura filogenética de ilhas arbustivas em uma restinga subtropical**. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Botânica. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

SINDITABACO - **A ameaça da instabilidade cambial ao setor de tabaco**. Junho de 2009. Disponível em: <<http://www.sinditabaco.com.br/>> Acesso em: 19 Set. 2012.

SLIEMAN, M. et al. **Formation of carcinogens indoors by surface-mediated reactions of nicotine with nitrous acid, leading to potential thirdhand smoke hazards**. . Boston: Stanford University's HighWire Press, 2010, p 15. (PNAS. v. 107)

STEFFEN, G. P. K. **Substratos à base de casca de arroz e esterco bovino para a multiplicação de minhocas e produção de mudas de alface, tomateiro e boca-de-leão**. 2008, 97 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2008.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. **Plant and Soil Science**, India, v.49, p.1-24, 1999.

STEPANOV,I et al. Tobacco-specific nitrosamines in new tobacco Products. **Nicotine & Tobacco Research**, Oxford, v.8, n.2, p.309–313, 2006.

TEDESCO, M. J. et al . Land disposal potential of tobacco processing residues. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n.2, 2011.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A. **Análise de solo, plantas e outros materiais**, 2 ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174 p.(Boletim técnico, 5).

VALENZUELA, O.R. et al. Modificación de las propiedades físicas, pH y Conductividad Eléctrica de lombricompuestos inducida por el agregado de arena. In: SUBSTRATO para Plantas. Porto Alegre: Genesis, 1999.

VERAS, L.R.V.; POVINELLI, J. A vermicompostagem do lodo de lagoas de tratamento de efluentes industriais consorciada com composto de lixo urbano. In: [ENGENHARIA sanitária e ambiental](#). 3 ed, Rio de Janeiro: ABES, 2004. 224 p.

WADA, E.; YAMASAKI, K.. Degradation of nicotine by soil bacteria **Journal American Chemistry Society**, Washington, v.76, p 155–157, 1954.

WANG P. et al. Maturity indices for composted dairy and pig manures. **Soil Biology and Biochemistry**, London, v.36, p. 767–776, 2004.

WANG, S.N. et al. Characterization of environmentally friendly nicotine degradation by *Pseudomonas putida* biotype A strain S16. **Microbiology**, Reading, v. 153, n.5, p. 1556- 1565, 2007.

ZHANG, Y.D. et al. Advances in microbial degradation of nicotine and its application (Chinese). **Tobacco Science and Technology**, Beijing, v.197, p 3-7, 2003.

,